

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EGE BÖLGESİ'NDEN ÖRNEKLENEN  
*Culex pipiens* KOMPLEKSİNE AİT SİVRİSİNEK  
POPULASYONLARINDA *Sitokrom Oksidaz I* GENİNİN  
KISMİ BAZ DİZİ ANALİZİNİN YAPILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURÇİN MORÇİÇEK

HAZİRAN 2019

MUĞLA

**T.C.**  
**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**EGE BÖLGESİ'NDEN ÖRNEKLENEN**  
***Culex pipiens* KOMPLEKSİNE AİT SİVRİSİNEK**  
**POPULASYONLARINDA *Sitokrom Oksidaz I* GENİNİN**  
**KİSMİ BAZ DİZİ ANALİZİNİN YAPILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BURÇİN MORÇİÇEK**

**HAZİRAN 2019**

**MUĞLA**

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

BURÇİN MORÇİÇEK tarafından hazırlanan EGE BÖLGESİ'NDEN ÖRNEKLENEN *Culex pipiens* KOMPLEKSİNE AİT SİVRİSİNEK POPULASYONLARINDA *Sitokrom Oksidaz I* GENİNİN KISMİ BAZ DİZİ ANALİZİNİN YAPILMASI başlıklı tezinin, 17/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Doç. Dr. Savaş İZZETOĞLU (Jüri Başkanı)

Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı,  
Ege Üniversitesi, İzmir

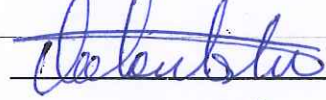
İmza:



Doç. Dr. Vatan TAŞKIN (Danışman)

Biyoloji Ana Bilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

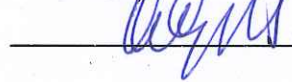
İmza:



Doç. Dr. Okan ÖZGÜL (Üye)

Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu/  
Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK

Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Doç. Dr. Vatan TAŞKIN

Danışman, Biyoloji Ana Bilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 17/06/2019

Tez çalışmalarım sırasında; tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini, tez içerisinde bulunan bilgilerin akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıfta bulunduğumu, atıfta bulunduğum eserlerin tümüne kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Burçin MORÇİÇEK

17/06/2019



## ÖZET

# EGE BÖLGESİ'NDEN ÖRNEKLENEN *Culex pipiens* KOMPLEKSİNE AİT SIVRİSİNEK POPULASYONLARINDA *Sitokrom Oksidaz I* GENİNİN KISMI BAZ DİZİ ANALİZİNİN YAPILMASI

Burçin MORÇİÇEK

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Vatan TAŞKIN

Haziran 2019, 59 sayfa

Birçok önemli hastalık patojen vektörü olan *Culex pipiens* kompleksi üyeleri için güvenilir risk değerlendirme analizlerinin yapılması önemlidir. Anasal kalıtım gösteren ve simbiyont olarak bulunan *Wolbachia* bakterisi birçok arthropod türünde yaygın olarak bulunabilmektedir. *Wolbachia* belirli çaprazların sonucunda sitoplazmik uyuşmazlıklara diğer bir deyişle yumurtadan çıkma oranının azalmasına neden olabilmektedir. Bu özelliğiyle bu organizma grubu hastalık vektörü olan sivrisineklerin populasyonlarının kontrolünde önemli bir araç olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Nüfus yoğunluğunun yüksek olmasının yanı sıra kırsal ve tarım alanlarıyla da karakterize olan Ege bölgesi aynı zamanda birçok göçmen kuş türünün de göç güzergâhı üzerinde bulunmaktadır. Çalışmamızda, bu bölgemizden toplanan *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerin moleküler yöntemlerle ayırımı yapabilmek amacıyla 658 baz çifti uzunluğunda mitokondriyal *sitokrom oksidaz I* (*COI*) barkod bölgesinin baz dizi analizi yapılmıştır. Aynı zamanda elde ettiğimiz komplekse ait türlerdeki *Wolbachia* bakterisinin bulunma sıklıkları da bu türe spesifik *wsp* geninin kısmi baz dizi analizinin yapılması suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlarımız Ege bölgesinde çok yaygın bir oranda (% 90' dan fazla, n =121 ) Batı Nil Virüsü vektörü olan *Culex quinquefasciatus*' un varlığını göstermiştir. Aynı zamanda bu populasyonlarda *Wolbachia* endosimbiyont bakterisinin % 62 oranında bulunduğu da tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarımız Ege bölgesinde bulunan *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerin kompozisyonu ve bu populasyonlardaki *Wolbachia* endosimbiyontunun yaygınlık oranı hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar aynı zamanda bu vektör organizmalarla gelecekte mücadelede çalışmalarını ve *Wolbachia* temelli kontrol stratejilerinin geliştirmesi açısından önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** *Culex pipiens* Sivrisinek Kompleksi, Mitokondriyal *COI*, Tür Dağılımı, *Wolbachia*, Sitoplazmik Uyumsuzluk.

## ABSTRACT

### THE COLLECTED SAMPLES IN THE AEGEAN REGION, PRELIMINARY WORK TO ANALYSIS OF PARTIAL BASE SEQUENCE OF *Cytochrome Oxidase I* GENE WHICH MOSQUITO POPULATIONS BELONGING TO THE *Culex Pipiens* COMPLEX.

Burçin MORÇİÇEK

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Vatan TAŞKIN

June 2019, 59 pages

The distribution pattern of members of the *Culex pipiens* complex is particularly important for establishing successful management programs as these mosquitoes are competent vectors for certain disease-causing pathogens. *Wolbachia*, which is a maternally inherited bacterial symbiont, are found in many different arthropod species and can lead to cytoplasmic incompatibility, i.e., reduced egg hatch, in certain crosses. It is being thought as a tool for population control of mosquito disease vectors. The Aegean region is on the route of the migratory birds and also characterized by agricultural areas and highly populated settlements. In the present study, we used the 658 bp region of the mitochondrial *cytochrome c oxidase subunit I* (COI) gene, also known as the barcode region, to differentiate *Cx. pipiens* complex species found in Aegean region. In addition, for the first time, the frequencies of *Wolbachia* endobacteria in these field populations was investigated employing *Wolbachia specific surface protein, wsp*, gene. Our results showed a widespread (more than 90%, n=121) presence of the highly efficient West Nile virus vector *Cx. quinquefasciatus* in the region. We also detected that *Wolbachia* infection is common; the average frequency was 62% in populations throughout the sampling area. This study revealed important knowledge about the composition of *Cx. pipiens* complex mosquitoes and the frequency of *Wolbachia* infection in Aegean populations. This knowledge will be useful in tracking mosquito-borne diseases and designing and implementing *Wolbachia*-based control strategies in the region.

**Keyword Index:** *Culex pipiens* Mosquito Complex, Mitochondrial COI, Species Distribution, *Wolbachia*, Cytoplasmic Incompatibility.

## ÖNSÖZ

Öncelikle tez çalışmamın konusunun belirlenmesinde ve araştırmalarımın her aşamasında beni destekleyen danışmanım sayın Doç. Dr. Vatan TAŞKIN' a teőekkür ederim. Laboratuvar çalışmaları ve araştırmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ersin DOĞAÇ' a ve Öğr. Gör. Dr. Taylan DOĞAROĞLU' na teőekkür ederim. Tez çalışmaları sırasında her zaman yanımda olan canım arkadaşım Ceren Naz ETİ' ye teőekkürü borç bilirim. Ayrıca hayatımın tüm aşamasında beni koşulsuz destekleyen sevgili anneme sonsuz teőekkür ederim. Yüksek lisans tez çalışmam Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında 15/162 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Sivrisineklerin Taksonomik Sınıflandırılması.....	3
1.2. Sivrisineklerin Genel Biyolojisi .....	4
1.2.1. Yumurta Evresi .....	5
1.2.2. Larva Evresi.....	5
1.2.3. Pupa Evresi .....	7
1.2.4. Ergin Evre .....	7
1.3. Sivrisineklerin Morfolojisi .....	8
1.4. Mücadelesi .....	13
1.4.1. Kültürel Mücadele .....	13
1.4.2. Mekanik (fiziksel) Mücadele .....	13
1.4.3. Biyolojik Mücadele .....	14
1.4.4. Kimyasal Mücadele .....	15
1.5. Türkiye’deki Sivrisinek Populasyonlarının Dağılımı.....	15
1.6. Mitokondriyal DNA (mtDNA).....	17
1.7. <i>Culex pipiens</i> Literatür Özeti.....	18
1.8. <i>Wolbachia</i> .....	21
1.8.1. <i>Wolbachia pipiens</i> ’ in Sistematiği .....	21
1.8.2. <i>Wolbachia</i> ’ nın Genel Biyolojisi .....	21
1.8.3. Sitoplazmik Uyumsuzluk (CI) .....	22
1.8.4. Bir Mücadele Aracı Olarak <i>Wolbachia</i> .....	23
1.9. <i>Wolbachia</i> Literatür Özeti .....	23
1.10. Çalışmamızın Amacı .....	25
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>27</b>
2.1. Sivrisinek Örneklerinin Toplanması.....	27
2.2. Genomik DNA İzolasyonu .....	28



2.3. MtDNA Haplotiplerinin oğaltılması Sırasında İzlenen PZR Koşulları .....	30
2.4. <i>Wolbachia wsp</i> Gen Bölgesinin oğaltılması .....	31
2.5. Jelden DNA İzolasyonu .....	32
2.6. Veri Analizi .....	34
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>37</b>
3.1. <i>Culex pipiens</i> Kompleksine Ait Türlerin Ayrımı .....	37
3.2. <i>Wolbachia</i> Yaygınlığı.....	39
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	<b>41</b>
4.1. <i>Culex pipiens</i> Kompleks Türlerinin Dağılımı .....	41
4.2. <i>Wolbachia</i> Enfeksiyonu.....	44
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>47</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>59</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Türkiye’ de bulunan sivrisineklerin alt cins seviyesine kadar taksonomik sınıflandırılması (Aldemir, 1997).....	3
Şekil 1.2. Sivrisineklerin hayat döngüsü (Anonim, 2015) değiştirilerek çizilmiştir.....	4
Şekil 1.3. Sivrisinek yumurta görüntüleri a: <i>Anopheles</i> türünün yumurtasını, b: <i>Culex</i> türünün yumurta paketlerini, c: <i>Culex pipiens</i> yumurta paketinin bırakılış anını göstermektedir. (Anonim, 2006). ....	5
Şekil 1.4. <i>Anophelinae</i> (solda) ve <i>Culicinae</i> (sağda) larvalarının su yüzeyindeki solunum sırasındaki duruş pozisyonları (Marshall, 1938). ....	6
Şekil 1.5. <i>Culicinae</i> larvalarının su yüzeyindeki duruş pozisyonları (Anonim, 2010)....	6
Şekil 1.6. <i>Culex pipiens</i> ’e ait pupa görüntüsü (Krebs, 2010) .....	7
Şekil 1.7. Dişi sivrisineğin dorsal bölümleri (Becker ve ark. 2010).....	8
Şekil 1.8. <i>Culex pipiens</i> sivrisinek türünün morfolojik görüntüsü (Anonim, 2017).....	9
Şekil 1.9. Sivrisineklerin vektörlüğünü yaptığı hastalıkların insanlar arasında taşınması (Pradeep ve Ma, 2015) .....	10
Şekil 1.10. Sivrisinek türlerinin morfolojik görüntüsü; a) <i>Culex quinquefasciatus</i> (Russell, 1999), b) <i>Culex tritaeniorhynchus</i> (Anonim, 2018), c) <i>Culex hortensis</i> (Anonim, 1889).....	11
Şekil 1.11. Sivrisinek popülasyonlarının Türkiye haritasındaki dağılımı.....	16
Şekil 1.12. Mitokondriyal DNA şematik gösterimi (Taşkesen, 2010) değiştirilerek çizilmiştir.....	17
Şekil 1.13. Bir böcek hücresi içinde bulunan <i>Wolbachia</i> bakterisinin görüntüsü (Anonim, 2014). ....	22
Şekil 2.1. Kullanılan sivrisinek popülasyonları için örnekleme yapılan lokasyonlar.....	27
Şekil 2.2. Muğla bölgesinden toplanan örneklerden izole edilen genom DNA’ları. (M: Baz dizi uzunlukları bilinen işaretleyici. Marker: 1 Kb).....	29
Şekil 2.3. LCO1490 ve HC02198 primerleri kullanılarak Muğla örneklerinden elde edilen PZR ürünlerine ait yaklaşık 650bç uzunluğundaki DNA bant görüntümleri. M: 1000 bç DNA Marker (DNA işaretleyici).....	31
Şekil 2.4. wsp81F ve wsp691R primerleri kullanılarak İzmir örneklerinden elde edilen PZR ürünlerine ait yaklaşık 535 bç uzunluğunda DNA bant görüntümleri. M: 1000 baz çifti DNA Marker (DNA işaretleyici). ....	32
Şekil 2.5. Muğla bölgesinden toplanan örneklerden yapılan jelden DNA izolasyon ürünleri. (LCO-HCO primerlerine ait görüntülenme) .....	34
Şekil 2.6. LCO-HCO primerlerinden elde edilen mtDNA baz dizileri FinchTV programında açılarak görsel olarak kontrol edilmiştir. ....	35

- Şekil 2.7. FinchTV programı kullanılarak Wolbachia bakterisinin wsp81F ve wsp691R primerleri ile elde edilen mtDNA baz dizileri görsel olarak kontrol edilmiştir ..... 35
- Şekil 2.9. *Wolbachia* bakterisinin wsp81F ve wsp691R primerleri ile elde edilen örneklerinin Clustal W programı ile sıraya dizilerek karşılaştırılması..... 36
- Şekil 3.1. *Cx. pipiens* kompleksine ait mitokondriyal *COI* gen bölgesine ait dizilerin GenBankası verileri ile Komşu-Birleştirme (NJ) analiz yöntemi kullanılarak karşılaştırılması. (*Aedes aegypti* *COI* gen dizisi aut grup olarak kullanılmıştır.) ..... 38



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar (Anonim, 2011) .....	14
Çizelge 1.2. Sivrisinekler ile kimyasal mücadelede kullanılan larvasitler (Tomlin 1997).....	15
Çizelge 2.1. Sivrisinek toplama bölgeleri ve koordinatları. N: her konumdan kullanılan örnek sayısı. ....	28
Çizelge 2.2. MtDNA <i>Sitokrom oksidaz I COI</i> gen bölgesinin çoğaltılması sırasında kullanılan PZR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları. (PZR bileşenleri olarak Fermantas (Litvanya) firmasına ait ürünler kullanılmıştır. ....	30
Çizelge 2.3. Eppendorf Mastercycler cihazı kullanılarak MtDNA <i>Sitokrom oksidaz I COI</i> gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PZR döngü koşulları .....	31
Çizelge 2.4. Eppendorf Mastercycler Gradient Thermalcycler cihazı kullanılarak <i>Wolbachia</i> bakterisinin varlığının tespiti için kullanılan PZR döngü koşulları. ....	32
Çizelge 3.1. <i>Culex pipiens</i> kompleksi üyelerinin Ege bölgesindeki farklı örnekleme yerlerindeki dağılımı ve bu populasyonlardaki <i>Wolbachia</i> enfeksiyon sıklıkları. N = kullanılan toplam örnek sayısı. ....	38

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
M	Molar
g	Gram
µl	Mikrolitre
l	Litre
ml	Mililitre
Na	Sodyum
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
DNA	Deoksiribonükleik asit
mtDNA	Mitokondriyal DNA
mtCOI	Mitokondriyal <i>Sitokrom Oksidaz I</i>
Kb	Kilo Baz
Bç (bp)	Baz Çifti
dH <sub>2</sub> O	Distile Su
COI	<i>Sitokrom Oksidaz I</i>
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
HCL	Hidroklorik asit
ITS	İnternal Ara Bölgeler (Internal Transcribed Spacer)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	Potansiyel hidrojen
RFLP	Kesilen parçaların uzuluk polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
rDNA	Ribozomal DNA
rRNA	Ribozomal RNA
RNaz	Ribonükleaz
Wsp	<i>Wolbachia</i> yüzey proteini
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
S	Bölge
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi

WNV	Batı Nil Virüsü
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
<i>Ae</i>	<i>Aedes</i>
<i>An</i>	<i>Anopheles</i>
<i>B</i>	<i>Brugia</i>
<i>Cx</i>	<i>Culex</i>
<i>Cs</i>	<i>Culiseta</i>
<i>Oc</i>	<i>Ochlerotatus</i>



# 1. GİRİŞ

Sivrisineklerin hastalık bulaştırmada etkin olan rollerinin değerlendirilmesi, bu organizma kaynaklı hastalıkların kontrol edilmesi ve etkin yönetim stratejilerinin geliştirilmesi açısından sivrisinek türlerinin dağılım şekillerinin ve popülasyon yapılarının anlaşılması önemlidir.

Yüksek adaptasyon yeteneğine sahip olan sivrisinekler birçok önemli patojenin insanlara ve hayvanlara taşınmasından sorumlu olan yaygın vektörlerdir (Marquardt, 2004). Bugün bilinen 182 arbovirüs (eklembacaklılar aracılığı ile bulaşan virüsler) enfeksiyonundan 147 tanesine sivrisinekler vektörlük yapmaktadır (Ramsdale ve Snow, 1995). Kan emerek beslenen dişi sivrisinek türleri Batı Nil Virüsü (Turell ve ark. 2001), Periyodik lenfatik filariasis (Farid, 2001), Malaria (Fonseca, 2000), St. Louis Ensefalit (Tsai ve Mitchell, 1989) ve diğer ensefalitler (Nasci ve Miller, 1996) gibi önemli birçok enfeksiyonun vektörlüğünü yaparak yayılımlarından sorumludurlar (James ve Harwood, 1969). Dünya genelinde her yıl bir milyondan fazla insan sivrisinekler tarafından bulaştırılan bu hastalıklardan ötürü hayatını kaybetmektedir (Ser ve Çetin, 2015).

Konak, uygun iklimsel faktörler (nem, sıcaklık, yağış vs.) ve su barındıran üreme alanlarının bulunması sivrisineklerin vektörlüğünü yaptıkları bu patojenlerin hastalık yaymasında önemli etmenlerdir (Becker ve ark. 2010). Bunlar arasında doğal yaşam alanları, diğer bir deyişle üreme alanları, popülasyonların dağılımlarında ve yüksek oranlara erişmelerinde oldukça önemlidir (Spencer ve ark. 2002).

Sağlık açısından önemi yüksek olan bu organizma grubuna ait popülasyonların kontrolü için farklı mücadele yöntemlerinin birlikte değerlendirildiği korunma programlarının daha etkin bir şekilde kullanılması gerekmektedir. Bu bağlamda kimyasal, biyolojik, kültürel ve mekanik (fiziksel) mücadele yöntemlerinin bir arada kullanıldığı yeni ve daha aktif olabilecek mücadele çalışmaları üzerine son yıllarda araştırmalar yapılmaktadır (Becker ve ark. 2010). Bununla birlikte sivrisinek mücadelelerinde en etkin ya da tercih edilen yöntem, organizma henüz larva ve pupa döneminde iken alınacak olan önlemlerdir. Bu sayede çevresel riskleri ve

kontaminasyonları önlemek amacıyla sivrisineklere karşı insan sağlığını da etkileyen kimyasal ilaçlar (insektisitler) kullanılmadan erken dönemlerde önlem alınmış olacaktır.

Mücadele edilmesi planlanan bölgedeki sivrisinek türlerinin bilinmesi kullanılacak olan yöntemin seçilmesi açısından kritik öneme sahip basamaktır. Tıbbi önemi yüksek olan bu sivrisinek vektörlerini tanımlamak ve sınıflandırmak için basit, hızlı, doğru ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi bu tür vektör organizmaların başarılı bir şekilde kontrol altına alınması açısından ön şarttır. Günümüzde sınıflandırma çalışmaları çoğunlukla organizmalarda bulunan morfolojik farklılıklara dayanmaktadır. Buna karşın morfolojik olarak yapılan tür tayinlerinin zaman alıcı olması, örneklerin toplama veya saklama sürecinde hasar görebilmesi ve sınıflandırma aşamalarında deneyimli bilim insanlarına ihtiyaç duyulması bu uygulamanın en önemli dezavantajlarıdır (Krzywinski ve Besansky 2003, Batovska ve ark. 2016). Bu nedenlerden dolayıdır ki bilim insanları sivrisinek türlerinin tayinleri sırasında daha doğru, hızlı, kesin ve bütün hayat formları (yumurta, larva, pupa, ergin) üzerinde uygulanabilir olmasından ötürü moleküler yöntemleri tercih etmektedirler.

Dünya genelinde *Culex* cinsi 770 tür ile temsil edilmektedir (Harbach, 2008d). Avrupa'da *Culex* kompleksine ait 7 adet tür bulunduğu bilinmektedir (Hubalek, 2008). Bu kompleksin en yaygın iki üyesi *Culex pipiens* L., kuzey yarımkürede ılıman iklim kuşağında bulunurken, *Culex quinquefasciatus* çoğunlukla Güney yarımküredeki tropik ve sıcak iklimlerde bulunur (Farajollahi ve ark. 2011). Ülkemizde *Culex* cinsine ait 13 türün varlığı bildirilmiştir (Alten ve ark. 2000b; Ramsdale ve ark. 2001). Günay ve ark. (2015) DNA barkodlama yöntemi ile bu 13 *Culex* türünün listelerini kontrol ederek, yeni belirledikleri dört türü listeye eklerken, daha önce bulunan ve yanlış teşhis edilen bir türü de listeden çıkarmışlardır.

*Culex pipiens* kompleks türlerinde kalıtsal olarak *Wolbachia* endosimbiontu en yaygın görülen konakçıdır. Bu konakçının *Cx. pipiens* kompleks türlerinin üremeleri üzerinde etkin rol oynadığı ve en çok sitoplazmik uyumsuzluğa (CI) neden olduğu bilinmektedir. *Cx. pipiens* kompleks türlerinde görülen sitoplazmik uyumsuzluk embriyonun ölümüne yol açarak yeni neslin oluşmamasına yol açmaktadır. Bilim insanları sivrisinekler ile yapılacak olan mücadelelerde, *Wolbachia* endosimbiontunu vektör olarak kullanarak hastalık taşıyan *Cx. pipiens* kompleks

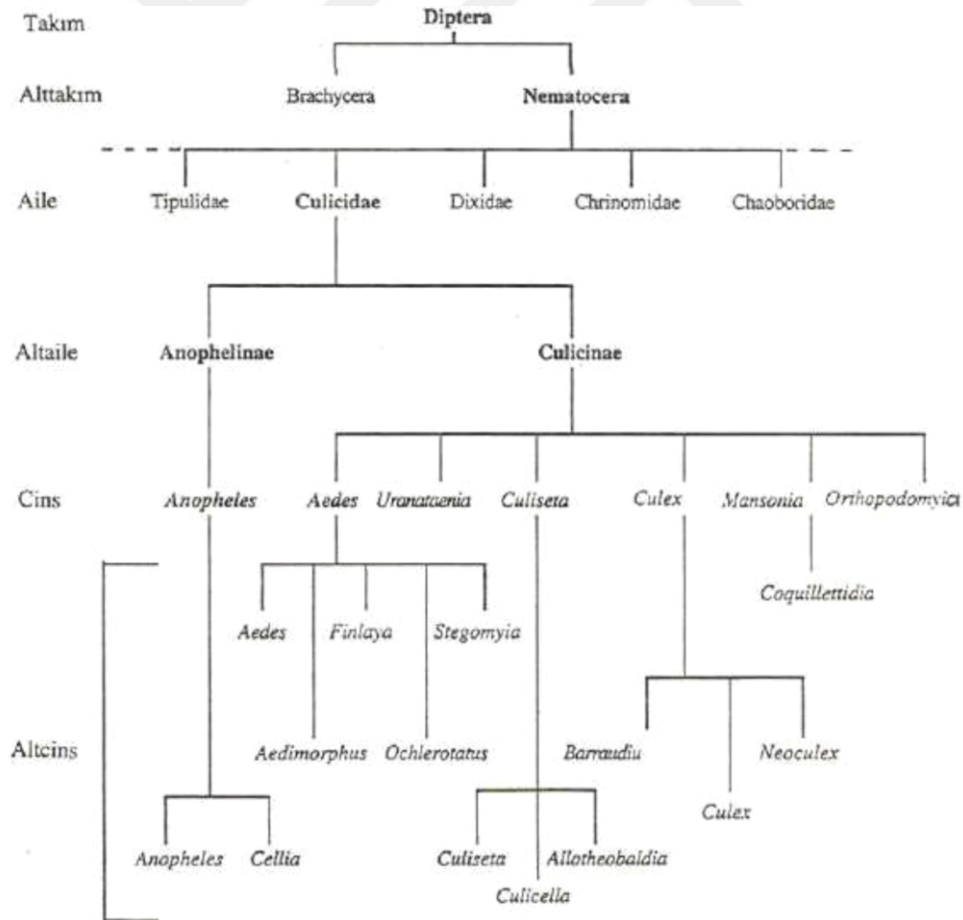


türlerinin yayılımlarının engellenmesinde etkin bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (Hancock ve ark. 2011).

Çalışmamızda Ege Bölgesinde bulunan *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerin moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi, yayılımlarının anlaşılması ve *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerde *Wolbachia* bakterisinin bulunma oranlarının tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

### 1.1. Sivrisineklerin Taksonomik Sınıflandırılması

Sivrisinekler; Arthropoda şubesinin, Insecta sınıfının Diptera takımının, Culicidae familyasına ait holometabol böceklerdir (Merdivenci, 1984). Fosil kayıtlar Diptera takımının yaklaşık 200 milyon yıl önce Jura devrinde, Culicinae alt familyasının ise 50 milyon yıl önce Eosen devrinde evrimleştiğini göstermektedir (Morse, 1996).

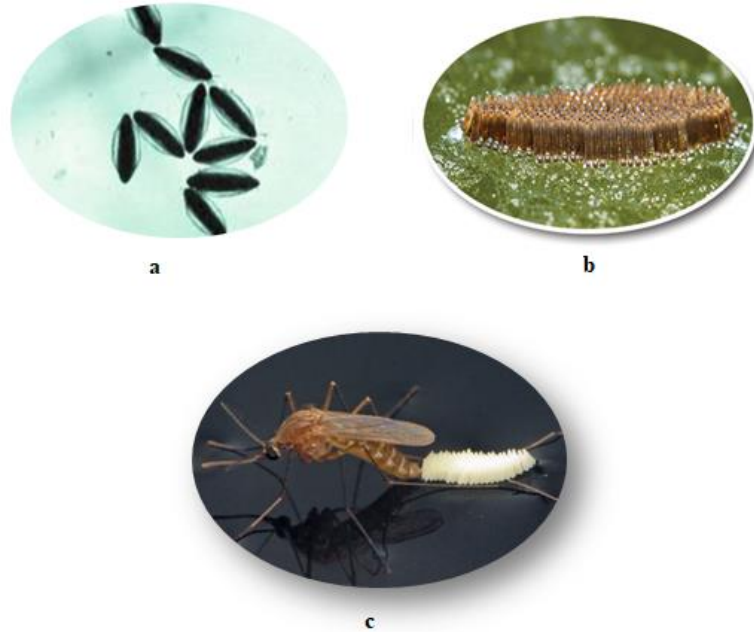


Şekil 1.1. Türkiye’ de bulunan sivrisineklerin alt cins seviyesine kadar taksonomik sınıflandırılması (Aldemir, 1997).



### 1.2.1. Yumurta Evresi

*Culex* türleri genellikle yumurtalarını su yüzeyine bırakırlar. Dişi sivrisineklerin bir seferde bıraktığı yumurta sayısı türe bağlı olarak değişim göstermektedir. Örneğin *Culex* türleri 75 ila 150 arası yumurta bırakabilirken iken, *Anopheles* türleri 200 ila 400 arasında yumurta bırakabilmektedir (Marshall, 1938). Yumurtlama ve yumurta şekillerinin farklı olmasından ötürü cinsler ve türler birbirlerinden ayırt edilebilirler. Sivrisinekler yumurta bırakma şekillerine göre iki gruba ayrılmaktadır. Şekil 1.3' te gösterildiği gibi *Culex* ve *Culiseta* türleri yumurtalarını paket şeklinde bırakır iken, *Aedes* ve *Ochlerotatus* türleri yumurtalarını tek tek su yüzeyine bırakmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998).

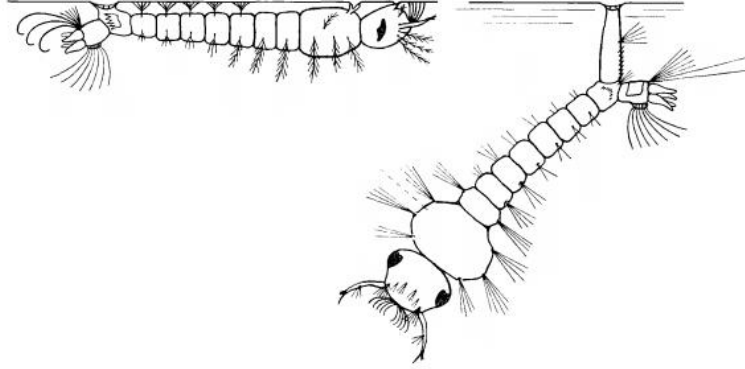


Şekil 1.3. Sivrisinek yumurta görüntüleri a: *Anopheles* türünün yumurtasını, b: *Culex* türünün yumurta paketlerini, c: *Culex pipiens* yumurta paketinin bırakılış anını göstermektedir (Anonim, 2006).

### 1.2.2. Larva Evresi

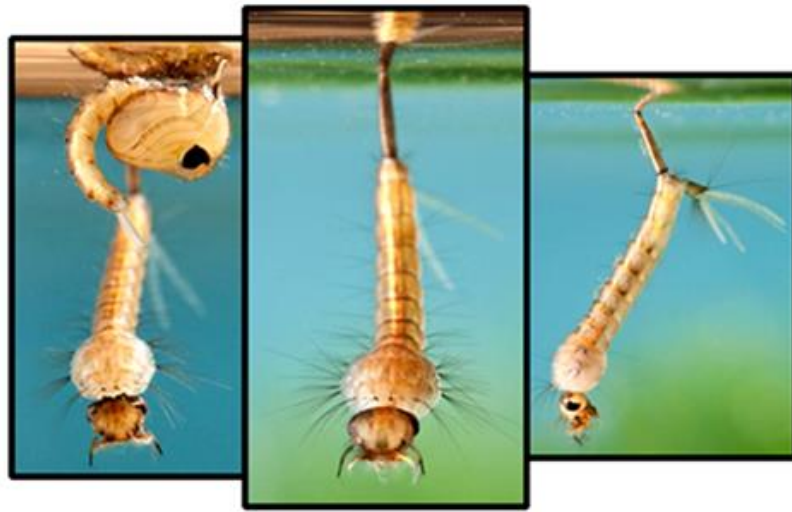
Yumurtadan çıkan larvalar dört instar evresine sahip olup daha sonra pupa evresine geçerler. Birinci evrede boyutları ortalama 0.5-1 mm arasında olup dördüncü evrede ise 5-15 mm boyutuna ulaşır. Yumurtadan çıkan larvanın rengi yarı saydam, parlak ve sarımsı-beyaz olup gelişimi ilerledikçe pigmentleşme meydana gelmektedir.

Larvalar filtrasyon yolu ile, buldukları ortamdaki çürümüş bitki kısımları, bakteriler, algler ve dipteki döküntüler gibi besinler ile beslenirler. Larvalar çok hareketli olup solunum için sıklıkla su yüzeyine çıkarlar. *Culicinae* üyeleri solunum sırasında vücutlarını suyun yüzeyine eğik pozisyonda tutarken, *Anophelinae* üyeleri suyun yüzeyinde yatay durumda solunumlarını gerçekleştirmektedir (Şekil 1.4, Şekil 1.5) (Merdivenci, 1984).



Şekil 1.4. *Anophelinae* (solda) ve *Culicinae* (sağda) larvalarının su yüzeyindeki solunum sırasındaki duruş pozisyonları (Marshall, 1938)

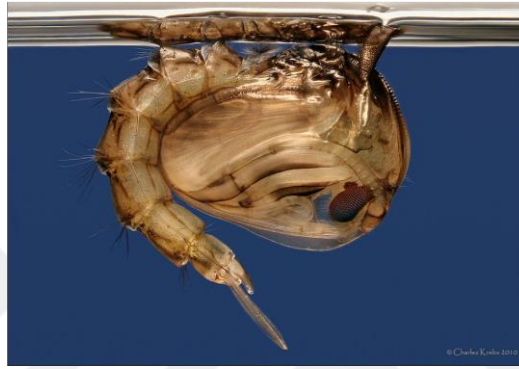
Larvalar baş, gövde ve karın olmak üzere üç kısımda incelenmektedir. Larva üzerinde bulunan sifon ve anten kıl demetlerinin dizilimleri tür tayininde önemli rol oynamaktadır (Marshall, 1938). Larvalar ideal koşullar içerisinde; suyun sıcaklığına, besin miktarına ve türe bağlı olarak ortalama 7 ile 16 günde pupa evresine geçmektedirler (Alten ve Çağlar, 1998).



Şekil 1.5. *Culicinae* larvalarının su yüzeyindeki duruş pozisyonları (Anonim, 2010)

### 1.2.3. Pupa Evresi

Pupa evresindeki *Culex* türleri larvalar gibi beslenmez. Pupa evresi metamorfozun şekillendiği evredir (Marshall, 1938) (Şekil 1.6). *Culex* pupaları aktif olup, su içerisinde hassastırlar. Diğer bir deyişle ortamda meydana gelen değişikliklere karşı, hızlı tepki verebilirler (Becker ve ark. 2003). Hareketleri yavaşladığı için suyun akıntısız, durgun yerlerine çekilebilirler. *Culex* pupaları uygun ortam koşullarında 3-5 günde ergin evreye geçmektedirler (Marshall, 1938).



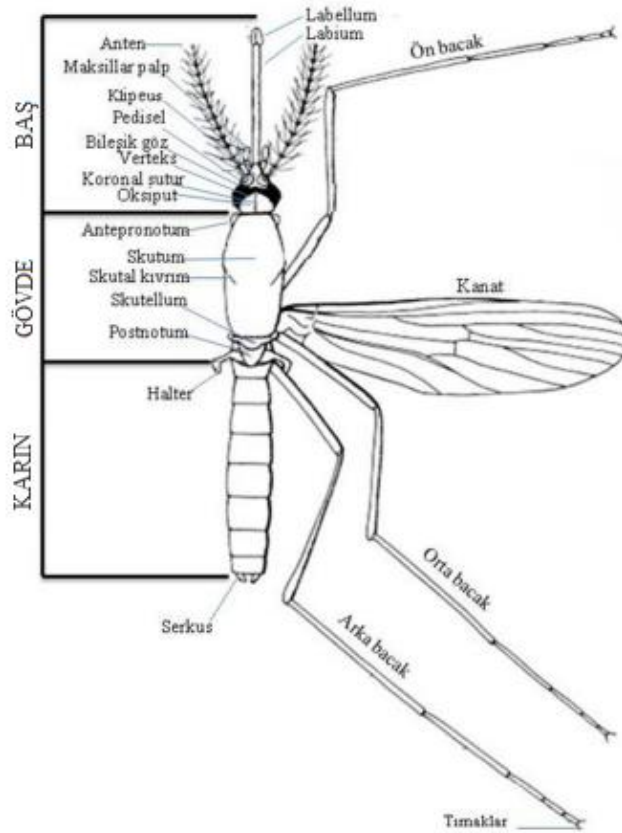
Şekil 1.6. *Culex pipiens*'e ait pupa görüntüsü (Krebs, 2010).

### 1.2.4. Ergin Evre

Pupadan çıkan ergin, dışarıdan gelebilecek herhangi bir etkiye karşı savunmasız durumdadır. Uçabilecek duruma gelen ergin birey 1-2 dakika içinde beslenme arayışına girmektedir (Marshall, 1938; Merdivenci, 1984). Ergin *Culex*, barınak ve konukçu tercihi bakımından farklılıklar göstermektedir. Ekzofilik (açık alanlarda faal olan) türler, mağaralar ve orman içlerinde çeşitli yerlerde yaşamaktadır. Endofilik (kapalı alanlarda faal olan) türler ise ahır, ev gibi yerleri tercih etmektedir. Dişi sivrisinekler gün boyunca insanlar ve hayvanlardan kan emerek beslenmektedirler (Harbach,1985). Koku, görünüm ve sıcaklık dişi bireyin antenlerindeki duyu reseptörleri ile algılanarak konağını seçmesinde sineği harekete geçirmektedir. Koku uyarıcıları karbon dioksit, aseton, oktanol, fenolik gibi bileşiklerdir (Akner,2009). Dişi bireylerde diyapoz görülür. Erkek sivrisinekler kan ile beslenmek yerine çiçek nektarları ile beslenmektedir (Marshall, 1938).

### 1.3. Sivrisineklerin Morfolojisi

Sivrisineklerin vücutları baş, gövde ve karın olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır (Şekil 1.7). Sivrisinekler, kanatları ve karnı uzun, bacakları ince, küçük başlı, anten ve hortumu ince uzun, birleşik iri gözlü, boyları 3-13 mm olan ince yapılı canlılardır. Dişilerin başının ön kısmında beş parçadan oluşmuş bir hortumu (proboskis) vardır. Beş parçayı saran labyum (alt dudak), kan emme sırasında deriyi delmede yardımcı olan dişli madibula (üst çene) ve maksilla (alt çene), kan emme sırasında kanın pıhtılaşmasını engellemek için tükürük salgısını akıtan hipofarinks (yutak) ve emilen kanın geçtiği labrum (üst dudak) bulunmaktadır (Merdivenci, 1984). Erkek bireyler dişî bireydeki bütün elemanları bulundurmaz veya bu organlar daha az gelişmiştir (Marshall, 1938). Hortumlarında buldukları iki antenin kıllanmalarına bakılarak cinsiyet tayini yapılmaktadır. Hortumun iki yanında bulunan palpus (dokunaç), *Culicinae* üyelerinin erkeklerinde hortumun boyunda iken dişîlerinde ise hortumdan daha kısadır. *Anophelinae* alt familyasının üyelerinde ise erkek ve dişî bireylerinde hortum boyutundadır (Merdivenci, 1984).



Şekil 1.7. Dişî sivrisineğin dorsal bölümleri (Becker ve ark. 2010).

Gövde, 3 ana bölümden oluşmuştur. Bunlar mezotoraks, protoraks ve metatoraks olup birbirleri ile kaynaşmış şekildedirler (Becker ve ark. 2003). Gövdede bulunan kıllar ve bunların dizilişleri türler arasında farklılıklar göstermektedir (Kılıç, 2015). Kanatlar gövde üzerinde bulunan zarımsı, ince ve şeffaf olan yapılardır. Arka kanatları değişime uğrayarak bireyin dengesini sağlamasına yardımcı olmaktadır. Tür tayinlerinde kanatların üzerinde bulunan damarlanmalara başvurulmaktadır. Bireyin bacaklarındaki renkler ve uçlarındaki tırnak yapıları türler arası değişiklik göstermektedir (Merdivenci, 1984).

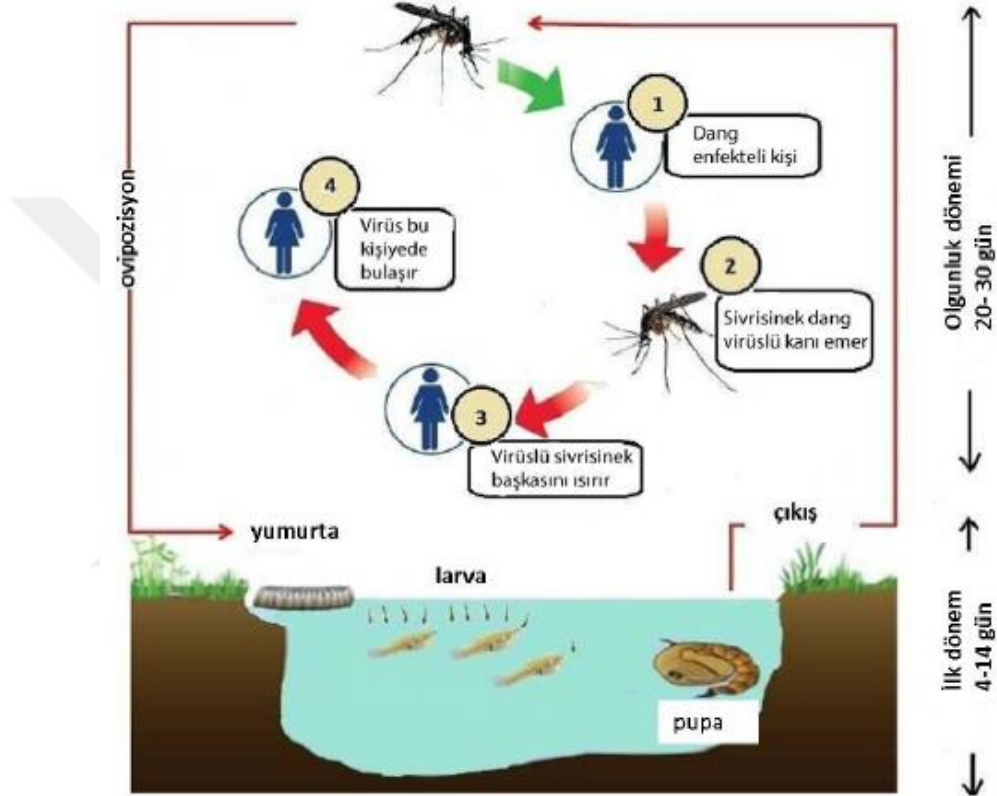
Scutellum ergin bireylerde sırt bölgesinin karın bölgesinden ayrıldığı kısma denir ve burada türlere göre değişik sayılarda kıl taşıyan bir çıkıntı olduğu bilinmektedir. Scutellum bütün cinslerde üç loblu iken *Anopheles* cinsinde lobsuz olarak bulunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998). Karın bölgesi 10 adet halka şeklinde bulunan segmentten oluşmuştur. Son iki segmentte erkekler hipopigiyum, dişiler ise cercus olarak adlandırılan genital organ bulundurmaktadır (Merdivenci, 1984; Becker et al., 2003). Tür tayini sırasında dişi genital organının bir önemi yok iken erkek genital organı bireyin belirlenmesi için önemli bir role sahiptir (Merdivenci, 1984; Becker et al., 2003).



Şekil 1.8. *Culex pipiens* sivrisinek türünün morfolojik görüntüsü (Anonim, 2017).

*Culex pipiens* kompleks üyelerine yurdumuzun her iklim bölgesinde rastlanılmaktadır (Şekil 1.8). *Cx. pipiens* dişi bireyleri memeliler, kuşlar ve insanları da içerisine bulunduran omurgalı hayvanlardan kan emerek hayatlarını sürdürmektedirler (Merdivenci, 1984). Yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere 4 evreden oluşan bir yaşam döngüsü bulunmaktadır (Şekil 1.9). Genellikle yaz

aylarında aktiftirler, erginleri kış aylarını rutubetli ve sıcak, kapalı alanlarda hareketsiz geçirmektedirler. Fakat daha sert koşullar karşısında diyapoza girmektedirler. *Cx. pipiens* kompleksine ait sivrisinekler birbirinden farklı habitatlara uyum sağlamıştır. Temiz sulardan kirli sulara kadar her yerde larvalarına rastlamak mümkündür. *Culex pipiens*' in Periyodik lenfatik filariazis, Dang humması, Sarıhumma, Sıtma ve Batı Nil Virüsü ile *Wuchereria bancrofti*' nin vektörlüğünü yapabildiği bilinmektedir (Özer, 2005).



Şekil 1.9. Sivrisineklerin vektörlüğünü yaptığı hastalıkların insanlar arasında taşınması (Pradeep ve Ma, 2015).

*Culex quinquefasciatus* türü ergin bireylerinin başı düz boz renkli pullarla örtülüdür. Gözlerinin arka kıyısında ve başın iki yanında beyaz pullu benekler bulunmaktadır. Dişi bireyin palpleri boz renkte ve çok kısa pullarla örtülü olup, bazı bireylerde üzerinde serpiştirilmiş beyaz pullar olduğu görülmektedir. Erkeklerde palpler çok uzundur ve seyrek kıllarla örtülüdür. Karın halkalarının ön kısımları beyazımsı pullarla örtülü olup yarım ay görünümünde bir şeridin bulunması ve sırt parçalarında düz, boz renkte pulların olmasından dolayı diğer türler ile ayırt edici bir özelliğe sahiptir (Şekil 1.10, a.). Hipopigiyum koksitinin kıllarının büyük ve kalın olması, koksitin tepe önü çıkıntısının geniş olması ve fallusun tepesinin dişli ve yuvarlak,



hipopigiyumun orta kısmının ise kanat biçiminde ve geniş olması, *Culex quinquefasciatus* türünün önemli sistematik özelliklerindedir (Service 1993, Merdivenci 1984).

*Culex tritaeniorhynchus* larvalarının vücut renkleri saydama yakındır (Merdivenci, 1984) ve sifonlarında bulunan kıl demetleri 5 subventral ve 1 lateral çift şeklinde olduğu bilinmektedir (DuBose ve Curtin, 1965). Sifondan çıkan ilk kıl demeti (seta 1-S) bulunmaktadır (Harbach, 1985). *Culex tritaeniorhynchus* türünün ergin dişi bireylerinin insanlardan ve hayvanlardan kan emerek beslendikleri bilinmektedir (Şekil 1.10, b.). Larvaları hayvan ayak izleri, su dolu çukurlar, güneş alan habitatlarda ve bataklıklarda görülmektedir (Darsie ve Samanidou-Voyadjoglou, 1997). Geniş bir dağılımı olan *Culex tritaeniorhynchus* türü Afrika'da Etiyopya bölgesinin kuzey kesiminde, Akdeniz havzasının doğu kesiminde ve Asya kıtasının tüm güney yarısında görülmektedir (Merdivenci, 1984).

*Culex hortensis* genelde zoofilik olarak beslenmektedir. Zaman zaman insanlardan da kan emdiği bilinmektedir (Merdivenci, 1984, Becker ve ark., 2003). Larvaları genelde çeşitli su bitkilerine sahip sularda ve belli oranlarda yosun bulunan sularda görülmektedir. Ergin dişiler kışı kilerlerde, harabelerde ve mağaralarda geçirirler. Bireyler gündüzleri karanlık ortamda dinlenerek geçirmektedir (Becker ve ark., 2003). *Cx. hortensis* Kuzey Afrika, Hindistan, Orta Asya ve Avrupa'nın genelde Akdeniz'e kıyısı olan bölgelerinde görülmektedir (Şekil 1.10, c.) (Becker ve ark., 2003).



Şekil 1.10. Sivrisinek türlerinin morfolojik görüntüsü; a) *Culex quinquefasciatus* (Russell, 1999), b) *Culex tritaeniorhynchus* (Anonim, 2018), c) *Culex hortensis* (Anonim, 1889)

*Culex martinii* gelişmek ve üremek amacıyla genelde insan yerleşim yerlerine yakın bölgeleri ya da yerleşim alanlarını habitatu olarak tercih etmektedir. *Cx. martinii* larvaları yarı gölgelik, güneş alan, durgun sularda ya da temiz akarsularda bulunabilirler (Rueda 2008, Harbach 2007, Orszagh 2001). Ülkemizde genellikle Akdeniz iklim bölgesinde geniş bir habitatta yayılım gösterdiği belirlenmiştir. *Cx. martini* Güneydoğu Anadolu Bölgesinde kış aylarına kadar bütün yaşam formlarıyla bulunabilirken, Ocak ayında ise pupa ve larva evreleri, Şubat aylarında sadece erginleri görülmektedir. Bu türe ait birey sayısı Ağustos-Ekim aylarında en üst seviyeye ulaşmaktadır (Kasap ve ark. 1997, Merdivenci 1984, Harbach 2007). *Culex martinii*' nin günümüzde herhangi bir hastalığın vektörü olduğu belirlenmemiştir (Orszagh, 2001).

*Culex laticinctus* larvalarının sekizinci segmentteki tarak pullarının uç kısmında diğer türlerden farklı olarak daha uzun sivri bir diken bulunmamaktadır. Bu türde anal segmentin en dorsalindeki demet 4 ya da 5 kıldan oluşmaktadır. *Culex laticinctus*' u diğer türlerden ayıran bir özelliği sifondan çıkan ilk 2 veya 3 kıl demetinin pektenin son dişinden önce başlamasıdır (Harbach, 1985). Erişkin dişi bireyleri zoo-antropofilik özellik göstermektedirler. Açık alanlarda (ekzofajik) ve evlerde (endofilik) bulunarak insanlardan kan emdikleri bilinmektedir (Merdivenci, 1984). Larvaları genelde kalıcı su birikintilerinde üreme göstermektedirler (Becker ve ark., 2003). Genellikle *Culiseta longiareolata* ve *Cx. pipiens* türlerinin larvaları ile beraber görülmektedir (Merdivenci, 1984). *Cx. laticinctus* türü Türkiye'de Akdeniz bölgesinde ve Afrika' da geniş dağılım göstermektedir (Becker ve ark., 2003).

*Culex fatigans*' in üreme bölgelerinin genellikle kent ve köylerde bulunan kirli su birikintileri olduğu bilinmektedir. Kırsal alanlarda çok ender bulunmaktadırlar. Dişi birey yumurtlamak için beslenme ihtiyacını çevresinde bulunan hayvanlardan ve en çokta insanlardan kolayca sağlayabilmektedir. Bu nedenle diyapozaya girmeden önceki bir yıl içerisinde birkaç kuşak yumurtlama yapabildiği bilinmektedir. *Cx. fatigans* çeşitli ensefaliti arbovirüslerini taşımaktadır. Dünyada ılıman ilkim kuşağında, tropikal ve subtropikal iklim kuşaklarının sıcak kesimlerinde dağılım göstermektedir. Türkiye'de ise Konya, Niğde, Ankara, İzmir, Adana ve Aydın yörelerinde bulunduğu bilinmektedir (Merdivenci, 1984)

## 1.4. Mücadelesi

Sivrisinekler insanlara hastalık taşıyan vektörlerin başında yer almaktadır. İnsanlar bu vektörlere karşı çeşitli mücadele yöntemleri geliştirmiştir. Dünyanın birçok yerinde ilgili coğrafik ve iklimsel şartlar göz önünde bulundurularak vektörlerin kontrol altında tutulması için çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde sivrisinek mücadelesi için temel olarak dört farklı yöntem bulunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998). Bunlar;

- Kültürel mücadele
- Mekanik (fiziksel) mücadele
- Biyolojik mücadele
- Kimyasal mücadele

### 1.4.1. Kültürel Mücadele

Sivrisinek mücadelesinde birinci adımı oluşturmaktadır ve mücadelenin temeli sivrisineklerin biyolojisi, yaşam biçimi ve savaşımlarının halk tarafından tanınması sağlanarak önlemlerin alınmasına dayanmaktadır. Halkın eğitilmesi sırasında özellikle üreme alanlarının tanıtılması aşamasında, Mülki idare amirleri, Belediyeler, Milli Eğitim Müdürlükleri ile koordinasyon sağlanmalıdır. Görsel ve yazılı basın aracılığıyla da halkın ve kuruluşların eğitimi faaliyetleri kültürel mücadele kapsamına girmektedir (WHO, 1982a, WHO, 1982c).

### 1.4.2. Mekanik (fiziksel) Mücadele

Mekanik (fiziksel) mücadelede temel amaç, fiziksel altyapının düzeltilmesi yoluyla sivrisineklerin yaşama alanlarının ortadan kaldırılmasıdır. Sivrisineklerin üreme alanını oluşturan çukurların doldurulması, kuyular, toplanma ve drenaj kanalları, foseptikler, birikinti ve bataklıkların kurutulması, havuzlar, alt yapı değişiklikleri vb. yerlerde sivrisineklerin ürememesi için ıslah çalışmaları yapılarak çevrenin düzenlenmesi ve bu düzenleme ile üremeyi kontrol altına alarak kalıcılığın sağlanması bu tür mücadelenin temelini oluşturmaktadır (WHO 1983b, Koçak 1997).

### 1.4.3. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadelede temel amaç, çevreye zarar vermeden canlıyı başka bir canlı ile yok etmeye dayanır. Doğada bütün canlıların olduğu gibi sivrisineklerin de birçok predatörü vardır. Günümüzde protozoalar, funguslar, nematodlar, predatör sinekler, yumuşakçalar ve balıklar biyolojik ajan olarak kullanılmaktadır. Sivrisineklerin mücadelesinde kullanılan bu ajanlar Çizelge 1.1’ de sunulmuştur (WHO, 1990b, Alten ve Çağlar, 1998).

Çizelge 1.1. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar (Anonim, 2011)

Bakteriler	<i>Bacillus thuringiensis H-14</i> <i>Bacillus sphaericus</i>
Funguslar	Chytridiomycetes (Coelomomyces ve Coelomycidium) Oomycetes (Lagenidium giganteum) Zygomycetes (Entomophthora) Deuteromycetes (Fungi imperfecti)
Protozoonlar	<i>Monomerphic microsporidia</i> <i>Dimetphic microsporidia</i>
Nematodlar	<i>Romanomermis culicivorax</i> <i>Romanomermis iyengari</i> <i>Octomyomermis muspratti</i>
Virüsler	Nükleer polihedros virüsleri Sitoplazmik polihedros virüsleri İridovirüsler
Predatör sinekler	<i>Toxorhynchites</i> türleri
Yumuşakçalar	<i>Thiara granifera</i> <i>Marisa cornuarietis</i>
Balıklar	<i>Oreochromis spilurus</i> Hemirhamphidae türleri Cyprinodontidae türleri Anabantidae türleri Cichlidae türleri <i>Gambusia affinis</i>

#### 1.4.4. Kimyasal Mücadele

Kimyasal mücadele, kimyasal maddenin (pestisit) hedef canlıya uygulanması olarak tanımlanır. Uygulanan kimyasal maddenin hedef canlı dışındaki biyotik ve abiyotik ortamı olumsuz etkilemesi, çevrede birikerek kirlilik yaratması, canlının direnç kazanması gibi dezavantajları olmasına karşın kısa bir zaman zarfında kesin sonuçlar verdiği için günümüzde en çok kullanılan mücadele yöntemidir. Sivrisineklerde kimyasal mücadele larva ve ergin mücadelesi olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmektedir (Alten ve Çağlar, 1998).

Larva mücadelesinde üreme alanları bulunarak larvasit uygulanır (Çizelge 1.2). Sivrisinek mücadelesinin en önemli aşamasıdır ve problemi %70-80 oranında çözmektedir (WHO, 1990b). Ergin mücadelesinde ise farklı kimyasal maddeler kullanılabilir. Ergin sivrisinek pupadan çıktıktan sonra 24-36 saat güç ve enerji depolayabilmek için üreme yerlerinde dinlenir. Söz konusu bu üreme yerleri tespit edilerek kimyasal maddeler uygulanabilir.

Çizelge 1.2. Sivrisinekler ile kimyasal mücadelede kullanılan larvasitler (Tomlin 1997).

Kimyasal Grubu	Larvasit Adı
Organik fosforlar	Chlorpyrifos etil, Chlorpyrifos metil, Fenitrothion, Fenthion, Malathion, Phoxim, Pirimphos metil, Temephos
Sentetik	Pyrethroidler Deltamethrin, Etofenprox, Permethrin
Gelişim Düzenleyiciler	Diflobenzuron, Methoprene, Pyriproxifen, Triflumuron
Biyolojik kökenli larvasitler	<i>B. thuringiensis</i> H-14, <i>B. Sphaericus</i>
Yüzey gerilim ilaçları	MMF ve Fuel oil

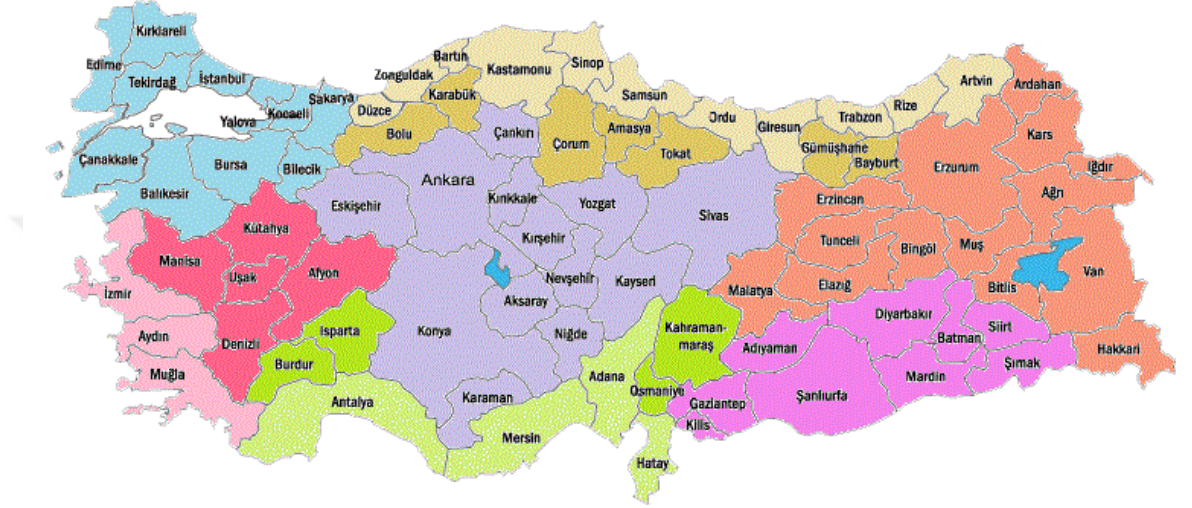
#### 1.5. Türkiye' deki Sivrisinek Populasyonlarının Dağılımı

Türkiye'de sivrisinekler üzerine çalışan bilim insanları, ülkemizi sivrisinek populasyonlarının dağılım kriterlerine göre dört alt bölgeye ayırmıştır (Alten ve ark. 1998, Günay ve ark. 2015). Bunlar;

- Birinci bölge; Marmara, Karadeniz, Ege ve Akdeniz' in kıyı alanını,

- İkinci bölge; Marmara, Doğu Anadolu, Ege, Karadeniz ve Akdeniz'in iç kısımlarıyla, İç Anadolu bölgesini,
- Üçüncü bölge; Doğu Anadolu bölgesini,
- Dördüncü bölge; Güneydoğu Anadolu bölgelerini kapsamaktadır.

Dört bölge geniş bir alanda birbirinden farklı sivrisinek mikrohabitatlarını ve habitatlarını barındırmaktadır (Şekil 1.11) (Postiglione ve ark, 1973, Parrish, 1959).



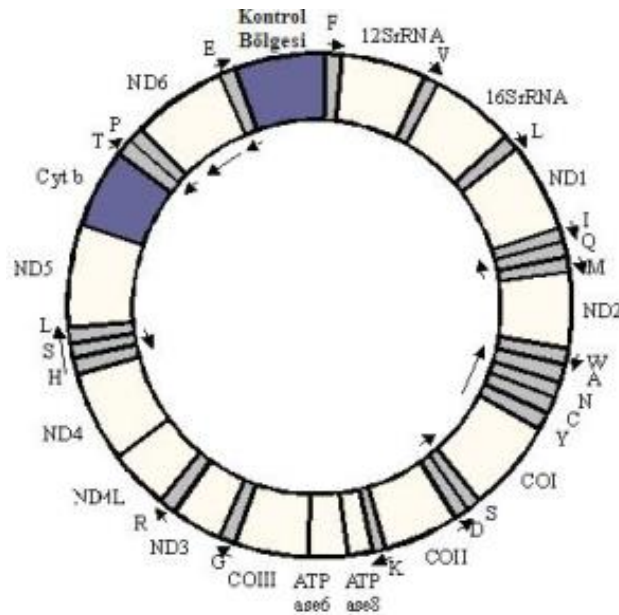
Şekil 1.11. Sivrisinek populasyonlarının Türkiye haritasındaki dağılımı.

Türkiye'nin üçte birinin İran-Anadolu, Kafkaslar ve Akdeniz gibi biyoçeşitlilik için gerekli olan sıcak noktalardan oluşması, buzul döneminde canlılar için sığınak olarak kullanılmış alanların bulunması ve coğrafi açıdan önemli geçiş yollarının bulunması, gibi etmenlerden dolayı ülkemizde biyolojik çeşitlilik oldukça yüksektir (Şekercioğlu ve ark. 2011).

Dünyadaki gelişime paralel olarak ülkemizde de sivrisineklerle ilgili biyolojik çeşitlilik ve populasyonların genetik yapılarının anlaşılmasına yönelik moleküler çalışmalar yaygın olarak yapılmaktadır (Ergünay ve ark. 2014, Günay ve ark. 2015, Morçişek ve ark. 2018, Kılıç ve ark. 2019)

## 1.6. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Genel olarak tüm ökaryotlarda bulunan mitokondri, hücrel reaksiyonlar için gereken enerjiyi sağlayan organeldir (Cummins, 1998). Mitokondri içerisinde, çok sayıda birbirinin tamamıyla aynı (homoplazmi) veya farklı (heteroplazmi) mitokondriyal DNA (mtDNA) kopyaları bulunmaktadır (Krawczak ve ark. 1998, Zischler, 1999). Mitokondriyal DNA; 12S ve 16S olmak üzere 2 adet rRNA genine, solunumla ilişkili proteinleri kodlayan 13 gene, 22 adet tRNA genine sahiptir (Şekil 1.12). Yapısında bulundurduğu bu genlerin ürünleri çoğunlukla aerobik solunum sırasında meydana gelen metabolik olaylarda görev almaktadır. MtDNA, nükleer DNA ile karşılaştırıldığında, türlerdeki ve türler arasındaki genetik çeşitliliğinin belirlenmesi açısından önemli avantajlara sahiptir (Tzen ve ark. 2001). Nükleer DNA’ da intron bölgelerinin bulunmasına karşılık, mtDNA’ da intron bölgeleri (protein ya da enzim karşılığı olmayan DNA bölgesi) bulunmamaktadır (Taşkesen, 2010). MtDNA’ nın nükleer DNA’ ya kıyasla rekombinasyona sınırlı şekilde maruz kalması, haploit özellikte olması ve maternal bir kalıtıma sahip olması gibi bir çok avantajı bulunmaktadır (Keskin ve ark. 2012).



Şekil 1.12. Mitokondriyal DNA şematik gösterimi (Taşkesen, 2010) değiştirilerek çizilmiştir.

Mitokondriyal DNA'nın bir kısmı nükleer DNA'ya göre daha hızlı evrimleşen genleri yapısında bulundurmaktadır (Brown ve ark. 1979). Gen bölgeleri akraba sivrisinek türlerinin günümüze kadar gelen değişimini ve tür içi veya türler arası genetik çeşitliliğini ve ilişkilerin belirlenmesi amacıyla popülasyon genetiği ve filogenetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Smith ve ark. 1991). Hızlı evrimleşen genlerin yanı sıra daha yavaş evrimleşen genler de birbirinden uzaklaşmış popülasyonlar arasındaki filogenetik soyağacını belirlememizde etkin bir rol oynamaktadır.

DNA barkod bölgesi olarak bilinen ve türler arasında varyasyon gösterebilen *sitokrom oksidaz I (COI)* gen bölgesi böcek türleri için evrensel bir biyolojik tanımlama sistemi olarak önerilmiştir (Hebert ve ark. 2003).

Tür tayinlerinde DNA barkodlama yönteminin başarılı olabilmesi için;

- Türler arasında belirgin ayırım gücüne ve yüksek genetik varyasyon sahip olması,
- Uygulanacak canlılarda evrensel primerler ile rahatlıkla çoğaltılabilecek DNA bölgelerine sahip olmaları gerekmektedir (Keskin ve ark. 2012).

### 1.7. *Culex pipiens* Literatür Özeti

Ülkemizde bulunan sivrisinek türlerini belirlemek amacıyla ilk çalışmalar Martini (1929) ve Hakkı (1931) tarafından yapılmıştır. Yapılan bu araştırmalar sonucunda ise 40 kadar sivrisinek türünün varlığı belirlenmiş olup bu türlerin *Aedes* ve *Culex* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir.

Iğdır bölgesinde bulunan sivrisinek türlerinin biyoekolojik özellikleri Demirci (2006) tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada 19 adet larva/pupa örnekleme alanı seçilmiş olup bu habitatların 7 tanesi gölet, 12 tanesi ise drenaj kanalıdır. Bu drenaj kanalı ve gölet habitatlarında 9' ar sivrisinek türü örneklenebilmiştir. Alandaki en yaygın popülasyona sahip tür *An. maculipennis* olarak belirlenmiştir. *Cx. modestus* ve *Cx. theileri* türlerinin ise Iğdır bölgesinde yoğunluk bakımından baskın tür kategorisine giren diğer türler olduğu belirtilmiştir.

Öter (2007) yılında yapmış olduğu çalışmada İstanbul bölgesindeki sivrisinek türlerini teşhis etmeyi amaçlamıştır. Araştırma sürecinde larva ve pupadan



yetiştirilerek 1163' ü dişi, 826' sı erkek üzere toplam 1989 ergin birey elde edilmiştir. Çalışılan örnekler 71 üreme alanına ait 14 farklı habitat (kalıcı doğal gölet, su deposu geçici doğal gölet, su kanalı, su birikintisi, kuyu, bodrum, dere, fosseptik çukuru, göl, havuz, araba lastiği, su saklama kapları, bataklık) içerisinden toplanmıştır. Bu üreme yerlerinde *Cx. pipiens*, *Cx. hortensis*, *Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *Cs. annulata*, *Cs. longiareolata*, *An. maculipennis* ve *An. claviger* türlerine rastlanmıştır.

Alkan (2008) yılında Aras Vadisi' ndeki kapalı alanlarda bulunan sivrisineklerin (Diptera: Culicidae) mevsimsel populasyon dinamiğini ve tür kompozisyonunu araştırmıştır. Çalışma sonucunda alanda bulunan türler arasından en yaygın olanlarını *Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *An. maculipennis* ve *Oc. dorsalis* olduğu tespit edilmiştir. Alandaki dominant türün ise *Oc. dorsalis* olduğu rapor edilmiştir.

Şimşek ve ark. (2010) yılında Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde yaşayan sivrisineklerin vektör ya da vektör olmayan, ekonomik ya da medikal sorunlara neden olan türlerinin belirlenmesi amacıyla temel sistematik çalışmalar yapmışlardır. Çalışılan alandaki sivrisinek tür ya da tür gruplarının sistematik olarak çözümlenmesine, türlerin dağılımı ve bu dağılımlar üzerinde ekolojik, coğrafik faktörlerin etkisini, faunalarının belirlenmesini, vektör türlerin yaşadıkları habitatlardaki risklerin saptanmasını ve laboratuvar kültürlerinin oluşturulmasını sağlamışlardır. Sonuç olarak ise araştırma alanında *Anopheles sacharovi*, *An. maculipennis* s.s, *An. superpictus*, *An. hyrcanus*, *An. claviger*, *An. melanoon*, *An. marteri*, *Aedes vexans*, *Ae. cretinus*, *Cx. hotensis*, *Cx. theileri*, *Cx. perexiquus*, *Cx. laticinctus*, *Cx. mimeticus*, *Cx. territans*, *Cx. pipiens*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. martinii*, *Cx. subochrea*, *Culiseta longiareolata*, *Cs. annulata*, *Ochlerotatus geniculatus*, *Oc. lepidonatus*, *Oc. zammitii*, *Oc. detritus*, *Oc. flavescens*, *Oc. pulchritarsis*, *Oc. caspius*, *Oc. phoeniciae* ve *Uranotaenia unguiculata* olmak üzere toplamda 30 türün varlığı tespit edilmiştir.

Ergünay ve ark. (2014) KKTC'den 4, ülkemizden ise 11 farklı ilden olmak üzere toplam 15 farklı lokasyondan toplamış oldukları sivrisinek popülasyonlarına ait örneklerde *COI* geninin baz dizi analizlerini yapmışlardır. Çalışma sonucunda ise ülkemizde 15 farklı sivrisinek türünün varlığı belirlenmiştir.

Günay (2015) yılındaki çalışmasında, Türkiye’de bulunan sivrisinek türlerinin *sitokrom oksidaz I (COI)* gen bölgesi kullanarak DNA barkodlama sistemi ile sınıflandırmayı amaçlamıştır. Yapılan çalışmaların sonucunda Türkiye’deki sivrisinek türlerinin 64 taksondan oluştuğu belirlenmiştir. Tür statüsünde olmayan iki önemli taksonun; *Culex pipiens f. molestus* ve *Anopheles hyrcanus var. pseudopictus*’ un ülkemizde geniş bir habitatta yayılım gösterdiği anlaşılmıştır. Yapılan tez çalışmasında, Türkiye’ de ilk kez bulunan türlerin *Cx. impudicus*, *Coquillettidia buxtoni*, *Aedes albopictus* türleri ile *An. hyrcanus var. pseudopictus* olduğu kaydedilmiştir.

Tüzün (2015) yılında Datça Yarımadası’ndaki sivrisineklerin üreme alanlarını ve türlerini belirlenmeyi amaçlamıştır. Tür tayini çalışmaları dördüncü evre larvaların morfolojilerine bakılarak yapılmıştır. Çalışmaların sonucunda 4 cinse ait 11 tür tespit edilmiştir. Bunlar *An. superpictus*, *An. claviger*, *An. algeriensis*, *Culiseta longiareolata*, *Culiseta annulata*, *Cx. pipiens*, *Cx. hortensis*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. laticinctus*, *Ochlerotatus detritus* ve *Oc. caspius*’tur.

Türkiye’ nin sahip olduğu ekolojik ve iklimsel özellikleri nedeniyle Ramsdele ve ark. (2001) sivrisineklerin toplamda 8 cinse ait olduğu belirtmişlerdir. Bu cinsler sırasıyla; *Uranotaenia* (1 tür), *Orthopodomyia* (1 tür), *Coquillettidia* (1 tür), *Aedes* (3 tür), *Culiseta* (6 tür), *Anopheles* (10 tür), *Culex* (13 tür), *Ochlerotatus* (15 tür)’ tur. Bu cinslere ait toplam 50 sivrisinek türünün olduğunu rapor etmişlerdir.

Dünyanın başka bölgelerinde de farklı moleküler yöntemler kullanılarak sivrisineklerin sınıflandırılmasına yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda çoğunlukla mitokondriyal *sitokrom oksidaz I (COI)* gen bölgesi kullanılmıştır. Buna göre Kumar ve ark. (2007), Daravath ve ark. (2015) Hindistan, Cywinka ve ark. (2006) Kanada, Batovshka ve ark. (2016) Avustralya, Werblow ve ark. (2014) Almanya, Hemmerter ve ark. (2009) Güney Asya ve Avustralya, Fedorova ve Shaikevich (2007) Rusya’ da DNA barkod bölgesi kullanılarak önemli vektör sivrisineklerde tür ayrımları başarıyla gerçekleştirmişlerdir. Yukarıda belirtilen çalışmaların yanı sıra yine dünya üzerindeki sivrisineklerin dağılım ve sınıflandırılmasına yönelik farklı DNA bölgeleri örneğin; *asetilkolinesteraz* geninin intron bölgesi ve mikrosatellit lokusları gibi bölgelerde kullanılarak araştırmalar yapılmıştır (Bourget ve ark. 1998, Smith ve Fonseka 2004, Smith ve ark. 2005,

Fonseka ve ark. 2006, Kothera ve ark. 2009, Gomes ve ark. 2012, Kothera ve ark. 2012, Dehghan ve ark. 2013, Kothera ve ark. 2013).

## **1.8. *Wolbachia***

*Wolbachia* başta böcekler olmak üzere, nematodlar, akarlar, kabuklular ve örümcekler gibi omurgasızları enfekte eden ve kalıtsal olarak aktarılabilen endosimbiyont bir bakteridir (Stouthamer ve ark. 1999). Böcek türlerinin yaklaşık olarak %20' sinin *Wolbachia* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (Werren ve ark. 2000). *Wolbachia* son zamanlarda eklembacaklı biyolojisinin en yaygın hücre içi bakterileri olarak bilinmektedir (Atyame ve ark. 2011).

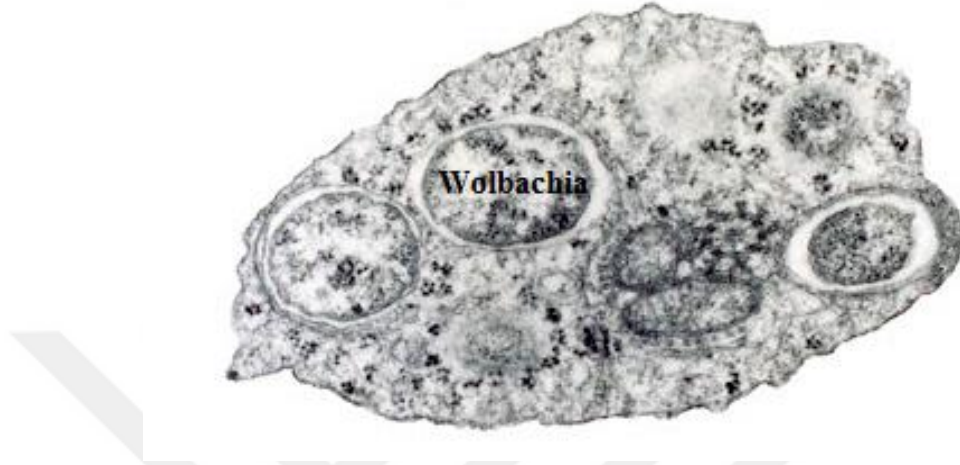
### **1.8.1. *Wolbachia pipiens*' in Sistematığı**

Endosimbiyotik bir bakteri olan *Wolbachia*, ilk kez 1924 yılında Hertig ve Wolbach tarafından farklı organizmaların yanı sıra *Culex pipiens* (L.) (Diptera: Culicidae)' de tespit edilmiştir. Hertig 1936 yılında bu endosimbiyont bakteriyi *Wolbachia pipiens* olarak adlandırılmıştır (Hertig, 1936). Bu endosimbiyont, alfa-Proteobacteria'nın Rickettsiaceae familyasında yer alan gram negatif bir bakteridir (Werren, 1997).

### **1.8.2. *Wolbachia*' nın Genel Biyolojisi**

*Wolbachia* türleri insanlar üzerinde herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır. Bu bakterilerin sebep olduğu sendromlar, sadece omurgasızlarda görülmektedir (Doran ve ark. 2001). *Wolbachia* bakterisinin önemi; direnç mekanizmasından üreme değişimlerine, savunma reaksiyonlarından, konukçu beslenmesine kadar geniş kapsamlıdır (Güz ve ark. 2015). *Wolbachia* endosimbiyontunun kalıtsal olarak bilinen en yaygın konakçısı sivrisineklerde *Cx. pipiens*' dir (Jeyaprakash ve Hoy, 2000, Werren ve Windsor, 2000). Konukçularının üremesi üzerine feminizasyon, erkek öldürücülük, partenogenesis ve sitoplazmik uyumsuzluk şeklinde anormal üreme değişikliklerine neden olmaktadır. Bununla birlikte popülasyonlarda cinsiyet oranının bozulması ve verimsiz döllerin oluşumunda da etkilidir. Konukçularının üremesi üzerindeki etkilerinden dolayı, *Wolbachia*, hastalık

vektörleri ve zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilecek potansiyele sahiptir (Topakcı ve ark. 2003). Şekil 1.13’ te konakçı içerisinde bulunan *Wolbachia* bakterisi gösterilmektedir. *Wolbachia* bakterisi bulunduğu konukçusunun üremesi üzerinde en sık olarak sitoplazmik uyumsuzluğu meydana getirmektedir.



Şekil 1.13. Bir böcek hücresi içinde bulunan *Wolbachia* bakterisinin görüntüsü (Anonim, 2014).

### 1.8.3. Sitoplazmik Uyumsuzluk (CI)

1950 yılında *Culex spp'* nin tür içi çaprazlamalarında uyumsuzluk olduğu veya az sayıda nesil üretebildikleri ya da hiç üretemedikleri ortaya çıkarılmıştır. Bu durum, sitoplazmik uyumsuzluk (CI) olarak adlandırılmıştır (Werren, 1997). Sitoplazmik uyumsuzluğun (CI) tek ve iki yönlü olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. Tek yönlü uyumsuzluk, *Wolbachia* enfekte olmayan yumurtanın, enfekte bir sperm ile döllemesiyle olmaktadır. Karşıt bir çaprazlanmada, enfekte olmayan erkeğin, enfekte dişiye döllemesi ise uyumludur. İki yönlü uyumsuzluk ise, dişi ve erkek bireyler farklı *Wolbachia* ırkları bulundurduğunda olmaktadır (Werren, 1997). Sitoplazmik uyumsuzluk etkinliğinin belirlenmesinde konukçu genotipi, bakteriyel ırk ve bakteriyel yoğunluk olmak üzere birkaç faktör bulunmaktadır (Topakcı ve ark. 2003). Araştırmacılar, CI' nin, böcek populasyonlarında, taşıyıcı dişi için seçici avantajlar sağladığı ve *Wolbachia'* nın hızla yayılmasına neden olduğunu bildirmiştir (Sinkins, 2004, Zabalou ve ark. 2004).

#### 1.8.4. Bir Mücadele Aracı Olarak *Wolbachia*

*Wolbachia*'nın konukçularının üremesi üzerine olan etkisi ve bulunduğu konukçu popülasyonunda hızlı şekilde yayılması nedeniyle, bitki zararlılarının veya vektörlerin mücadelesinde güçlü bir potansiyel araç olarak görülmektedir (Dunn ve ark. 2001). *Wolbachia*'nın sivrisinekler ve *Drosophila melanogaster* türlerini bazı virüslere karşı koruduğu da bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada araştırmacılar *Wolbachia* bakterisini Danga ve Sıtma gibi patojenlerin yayılmasını engellemek için vektör olarak kullanmayı düşünmektedir (Hancock ve ark. 2011). *Wolbachia* vektörünü kullanarak sinek popülasyonlarına nüfus edip, vektör kaynaklı hastalıkların kontrolü için alternatif veya en azından tamamlayıcı bir araç olarak kullanılması yönünde yeni stratejik uygulama çalışmaları yapılmaktadır (Sinkins ve O'Neill, 2000, Zabalou ve ark. 2004). Sıtma ve danga (Beaty, 2000) gibi başlıca vektör kaynaklı hastalıklar için etkili aşılardan veya ilaçların eksikliği ve çeşitli böcek ilaçlarına karşı direncin hızlı evrimi sayesinde, birçok böcek vektörü insan sağlığı ve çevre için kritik bir tehdit haline gelmektedir (Hemingway ve Ranson, 2000).

#### 1.9. *Wolbachia* Literatür Özeti

Topakcı ve ark. (2003) yılında *Wolbachia* spp. (Rickettsiaceae) biyolojisini araştırarak derleme olarak ortaya koymuşlardır. *Wolbachia*'nın böcek türlerinin %16' dan fazlasında bulunan hücre içi bakteriyel bir parazit olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Acarina, Crustaceae ve nematodları da içeren birçok omurgasız konukçuda bulunur ve yatay dikey olarak taşınan obligat bir bakteridir. Konukçularının üremesi üzerine farklı etkileri vardır. Bunlar feminizasyon, erkek öldürücülük, sitoplazmik uyumsuzluk ve partenogenesis şeklinde olan anormal üreme değişiklikleridir. Neden olduğu bu üreme değişiklikleri ile bireylerde verimsiz döllerin oluşumuna ve embriyoların cinsiyet oranının bozulması üzerine etkilidir. Bütün bu etkilerinin sonucunda *Wolbachia*'nın zararlı böcek ve hastalık vektörlerinin mücadelesinde kullanılabilme potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Yetişmiş ve ark. (2018) yılında Kayseri Sultan Sazlığı bölgesinden alınan 400 adet sivrisinek örneğinin DNA izolasyonları sonucunda 41' i *Culiseta annulata*, 63' ü *Aedes vexans*, 296' sı *Culex pipiens* olarak üç farklı sivrisinek türü belirlenmiştir.

Bulunan bu türlerin içerisinde *Wolbachia* endoparaziti *wsp* gen bölgesi kullanılarak araştırılmıştır. *Cs. annulata* ve *Ae. vexans* örneklerinde *wsp* geninde *Wolbachia* endoparaziti tespit edilememiştir. Erkek birey *Cx. pipiens* örneklerinde pozitiflik bulunamamış iken, *Cx. pipiens* dişi bireyleri *Wolbachia* pozitif olarak bulunmuştur.

Yıldırım ve ark. (2013) yılında *Wolbachia* endobakterisinin varlığını Kayseri yöresinden toplanmış olan *Culex pipiens* örneklerinde araştırmışlardır. *Wsp* gen bölgesi kullanılarak *Wolbachia* varlığı araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda *Wolbachia* endobakterisinin Türkiye’ de ilk kez *Cx. pipiens* popülasyonlarındaki varlığı moleküler olarak belirlenmiştir.

Baran (2014) yılındaki tez çalışmasında *Trichogramma* türlerinde *Wolbachia*’ nın parazitlenme kapasitesi ve ömür uzunluğu gibi bazı biyolojik özellikler üzerine olan etkisinin belirlenmesini amaçlamıştır. *Wsp*-PCR yöntemi ile *Trichogramma embryophagum* (Hartig)’ da *Wolbachia* bakterisinin varlığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucu olarak *Wolbachia* varlığının *T. embryophagum* türünün bazı biyolojik özellikleri üzerine herhangi bir etkiye sahip olmadığı ve *T. cacoeciae* türünde ise yapılacak biyolojik mücadele programlarında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Güz ve ark. (2015) yılında gerçekleştirdikleri çalışmalarında endosimbiyotik bakterilerin böcekler üzerine etkisini araştırmışlardır. Böceklerde yaygın olarak bulunan simbiyotik bakteriler konukçularında birbirinden farklı etkiler göstermektedir. Endosimbiyotik bir bakteri olan *Wolbachia* gibi parazitik bakteriler bulundukları bireylerde; partenogenezin teşvik edilmesi (PI), sitoplazmik uyumsuzluk (CI), erkek ölümü ve dişileşme (feminizasyon) gibi mekanizmalarla konukçularının popülasyon büyüklüklerini etkilemektedirler. Bunların üzerine yapılan bu çalışmada simbiyont konukçu ilişkisi ve simbiyontların zararlı mücadelesinde kullanım olanakları tartışılmıştır.

Duron ve ark. (2005) yılında dünyada geniş yayılım gösteren *Culex pipiens* popülasyonlarında bulunan *Wolbachia* varlığını tespit etmek amacıyla bir çalışma yapmıştır. *Culex pipiens* kompleksinin coğrafi dağılım analizinde İngiltere dışında *Wolbachia* suşu, sivrisinek alttür tipinden bağımsız bir şekilde güçlü bir farklılaşma göstermiştir.

Shaikevich ve ark. (2005) yılında yaptıkları çalışmada Rusya, Sibirya ve Avrupa' nın değişik bölgelerinden toplanan *Culex pipiens* popülasyonlarında toplamda 208 bireyi genetik yöntemlerle incelemişlerdir. Bireyler arasında M, P olmak üzere iki ana mitotip tespit edilmiştir. Bu mitotipler ele alındığı zaman 246. baz çiftinde mitokondriyal DNA (mtDNA) *sitokrom oksidaz I* gen fragmanında farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. *Culex pipiens* türünde bulunan *Wolbachia* gibi endosimbiyotik bakterilerle mitotip M varlığı belirlenmiş ve enfeksiyon ile karakterize edildiğini bildirmişlerdir.

Atyame ve ark. (2011) yılında çalıştıkları *Cx. pipiens* örneklerinde sitoplazmik uyumsuzluk (CI) görmüşlerdir. En çok varyasyon gösteren *Culex pipiens* türünde, kısaca wPip olarak bilinen *Wolbachia* bakterisinin hakkında genel bilgi verip, bu organizmanın evrimsel tarihini inceleyerek rapor etmişlerdir.

Duron ve ark. (2011) yılında 1990-2005 yılları arasında Fransa' nın güneyinde bulunan *Culex pipiens* kompleksine ait bireylerin üreme bölgelerinde sitoplazmik uyumsuzluk (CI) ve *Wolbachia* çeşitliliğini incelemiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda ise coğrafi olarak birbirine yakın *Culex pipiens* türlerinin *Wolbachia* bakterisini 15 yıldır popülasyonlarının içinde korunur bir şekilde barındırdığını tespit etmişlerdir. Bunun yanında *Wolbachia*' nın sivrisinek nüfusunun içinde büyük çaplı olarak sitoplazmik uyumsuzluk (CI) gösterdiği belirlenmiştir.

Muniaraj ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Wolbachia*' nın varlığını Artropod türlerinde tespit edebilmek için farklı yöntemler test etmişlerdir. Sonuç olarak kısa zamanda çok sayıda numunede endobakteri *Wolbachia* üyelerini tespit etmek amacıyla Gimenez boyama tekniğini geliştirmişlerdir.

#### **1.10. Çalışmamızın Amacı**

Türkiye' de 10 milyonu aşan nüfusa sahip olan Ege Bölgesi, yoğun yerleşim, ticaret ve sanayi alanları, tarım alanları ve ekilebilir arazilerden oluşan kırsal alanlara sahip olması, göçmen kuşların güzergâhlarının üzerinde bulunması ve çok sayıda vektör türlerinin taşınabileceği uluslararası havalimanlarına (gelen ve giden vektör türlerine yönelik potansiyel limanlar) sahip olması nedeniyle önemli bir bölgedir.

Gerçekleştirmiş olduğumuz alışmamızda Ege Denizi' ne kıyısı olan beş farklı ilden ve daha karasal bir iklime sahip olan Denizli İli' nden toplanan *Cx. pipiens* kompleksine ait sivrisinek popölasyonlarında mitokondriyal DNA (mtDNA) tarafından kodlanan *sitokrom oksidaz I (COI)* geninin yüksek polimorfizm gösteren bölgesinin kısmi baz dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Böylelikle bu komplekse ait türlerin genetik açıdan karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra yine bu bölgede bulunan *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerde *Wolbachia* endobakterisinin tespit edilmesine yönelik moleküler analizler de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarla *Wolbachia* endobakterisinin bu türlerde taşınma sıklığını ve dağılımının belirlenmesi, *Wolbachia* tabanlı kontrol programlarının planlanmasında temel bir başlangıç adımının atılması amaçlanmıştır.

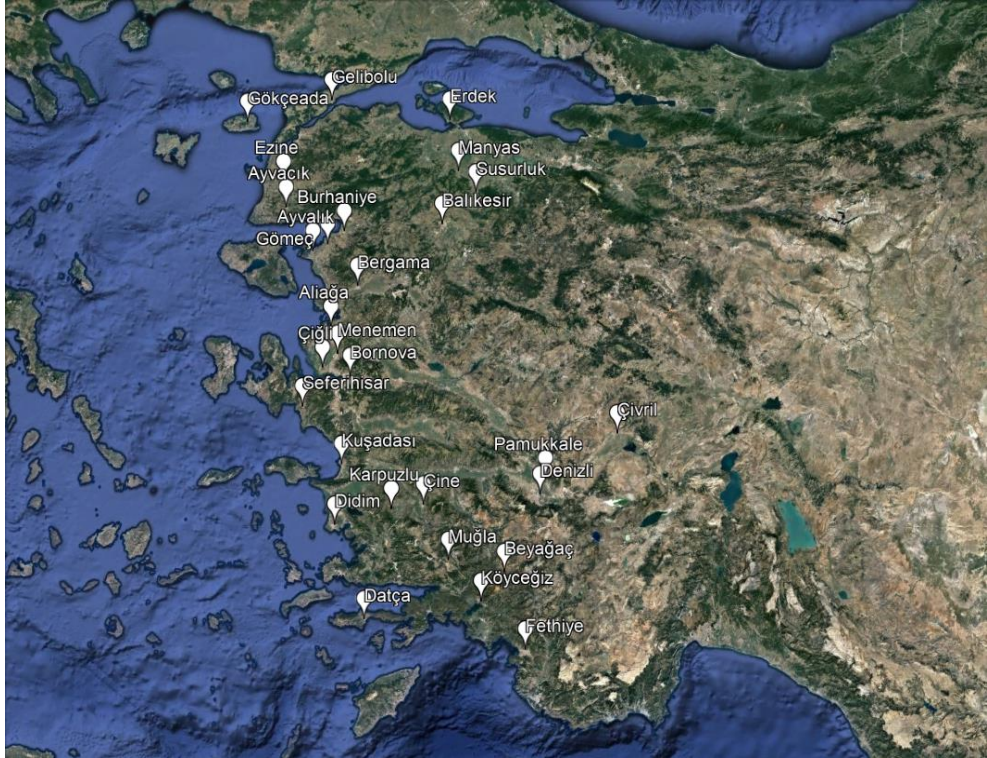




## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Sivrisinek Örneklerinin Toplanması

*Culex pipiens* kompleksine ait sivrisinek örnekleri 2012-2013 yıllarında Ege bölgesinde bulunan 6 ilden 25 farklı doğal üreme alanından, yumurta paketleri veya 1. 2. devre larvaları olarak toplanmıştır. Örnekleme yapılan bölgeler, araştırmamızda kullanılan her bir populasyon için birey sayıları ve toplama alanlarının spesifik koordinatları Çizelge 2.1’ de sunulmuştur. Her ili temsilen, ikisi tarım, ikisi de yerleşim ya da turizmin yoğun olduğu alanlardan olmak üzere, birbirinden farklı toplam 4 adet lokasyon seçilmiştir. İzmir ilinin daha büyük yerleşim, tarım ve turizm alanlarına sahip olması nedeniyle bu ilden örneklem amaçlı 5 farklı lokasyon seçilmiştir. Örnekleme yapılan 6 ile ait 25 farklı lokasyon aynı zamanda Şekil 2.1.’de harita üzerinde de gösterilmiştir. Arazi çalışmaları sonucu elde edilen örnekler laboratuara getirilmiş ve ergin hale gelinceye kadar laboratuvar şartları altında ( $25^{\circ}$  ile  $27^{\circ}$  arası oda sıcaklığı,  $70 \pm 5\%$  göreceli nem miktarı, 14:10 saat aydınlık karanlık periyotları) korunmuştur.



Şekil 2.1. Kullanılan sivrisinek populasyonları için örnekleme yapılan lokasyonlar

**Çizelge 2.1. Sivrisinek toplama bölgeleri ve koordinatları. N: her konumdan kullanılan örnek sayısı.**

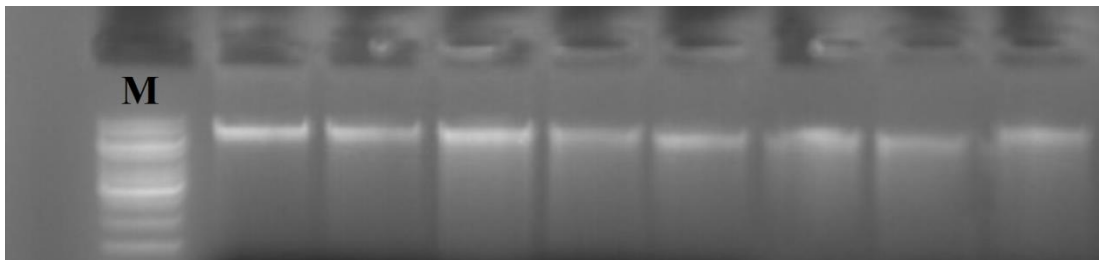
İl	İlçe	N	Koordinat
Çanakkale	Gökçeada	5	40°08'15.87"N 25°44'12.88"E
	Gelibolu	5	40°25'24.08"N 26°40'05.44"E
	Ezine	5	39°47'05.18"N 26°19'41.40"E
	Ayvacık	5	39°34'00.74"N 26°10'04.71"E
Balıkesir	Erdek	5	40°07'02.15"N 27°59'11.66"E
	Merkez	6	39°54'57.62"N 28°09'51.03"E
	Ayvalık	6	39°16'25.80"N 26°38'19.40"E
	Burhaniye	6	39°22'53.57"N 26°50'06.60"E
İzmir	Seferihisar	4	38°11'03.19"N 26°48'13.18"E
	Bergama	3	39°06'16.91"N 27°10'06.33"E
	Menemen	6	39°01'05.52"N 27°04'24.17"E
	Çiğli	4	38°29'34.04"N 26°57'22.01"E
	Bornova	4	38°27'26.32"N 27°14'01.35"E
Aydın	Çine	5	37°41'10.83"N 27°59'59.04"E
	Söke	5	37°40'21.87"N 27°21'46.15"E
	Karpuzlu	4	37°35'55.58"N 27°50'05.06"E
	Kuşadası	5	37°21'04.64"N 27°16'26.35"E
Muğla	Gökova	4	37°01'58.59"N 28°20'21.22"E
	Datça	5	36°47'16.99"N 28°01'53.41"E
	Fethiye	5	36°38'16.41"N 29°05'40.91"E
	Köyceğiz	5	36°57'15.30"N 28°42'01.72"E
Denizli	Çivril	6	38°19'20.75"N 29°51'01.28"E
	Merkez	5	37°47'36.00"N 29°04'46.08"E
	Beyağaç	5	37°14'14.51"N 28°53'48.10"E
	Pamukkale	6	37°54'55.25"N 29°06'53.78"E

Pupadan çıkan *Cx. pipiens* kompleksine ait erginlerin teşhisi DuBose ve Curtin (1965), Darsie ve Samanidou-Voyadjoglou (1997) tarafından verilen anahtarlar yardımı ile yapılmıştır. Teşhis edilen kompleks üyelerinin bir kısmı genom DNA'sının izole edilmesi amacı ile kullanılmış örneklerin geri kalan kısmı ise -80°C' de ilerdeki çalışmalarda kullanılmak amacıyla saklanmıştır. Aynı zamanda çalışmamızda iki *Cx. perexigus* örneği de analizler sırasında karşılaştırma amaçlı olarak çalışmamıza dahil edilmiştir.

## 2.2. Genomik DNA İzolasyonu

Toplanan 123 adet örnekten genom DNA izolasyonu Bender ve ark. (1983) tarafından geliştirilen lifton metodunun modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Buna göre özetle; örnekler steril ependorf tüplerine alınarak, öncelikle sıvı nitrojen

ile tüp içerisindeki sıvı sinek dondurulmuş ve homojenize edilmiştir. Ependorf tüp içerisindeki örnekler üzerine 200 µl lifton tanpon çözeltisi (0.1 Tris-HCl, 0.05M EDTA, pH 9.1) ve 50 µl 0.5M SDS eklenerek, 65 °C' ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Buna takiben tüpe 1 µl Proteinaz K (20 mg/ml) eklenerek 37 °C' ye getirilen su banyosunda 30 dakika süre ile tekrar inkübasyona bırakılıp, daha sonra 125 µl 0.6M potasyum asetat eklenerek 1 saat buz içerisinde bekletilmiştir. Daha sonraki aşamada buzdan alınan örnek 14.000 rpm' de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek tüpün içindeki sıvı olan üst faz (süpernatant) pipet yardımı ile çekilerek yeni tüpe aktarılmıştır. Sonraki basamakta tüp içerisine 1 damla kloroform: izoamilalkol (24:1) ve 250 µl fenol eklenerek 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı çekilerek yeni tüpe aktarılıp, üzerine 125 µl kloroform: izoamilalkol ve 125 µl fenol eklenerek 14.000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Devam eden aşamada süpernatant kısmı tekrar yeni bir tüp içerisine aktarılarak üzerine 250 µl kloroform: izoamilalkol eklenmiştir ve 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek tekrar süpernatant kısmı yeni bir tüpe alınarak 1µl RNaz (10 mg/ml) eklenmiştir. 37°C de olan su banyosunda 30 dakika süre ile inkübasyona bırakılıp, sonra üzerine %100'lük etanol eklenerek 14.000 rpm' de 17 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazda bulunan etanol tüp içerisinden uzaklaştırılarak üzerine %80' lik etanol eklenmiş ve tekrar 14.000 rpm' de 17 dakika santrifüj edilmiştir. Bu santrifüjden sonra ise tekrar etanol uzaklaştırılmıştır ve tüp içerisindeki DNA 1 saat boyunca kurumaya bırakılmıştır. Son aşama olarak tüp içerisinde kuruyan DNA üzerine 30 µl iki kez otoklavlanmış ddH<sub>2</sub>O eklenerek elde edilen DNA' nın tamamen çözünebilmesi için +4°C' de bir gece bekletilmiştir. Genom DNA'ları %1.2' lik agaroz jelde yürütülerek, miktarları görsel olarak izlenmiş ve daha sonraki aşamalarda kullanılmak üzere -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2. Muğla bölgesinden toplanan örneklerden izole edilen genom DNA'ları. (M: Baz dizi uzunlukları bilinen işaretleyici. Marker: 1 Kb)**

### 2.3. MtDNA Haplotiplerinin oğaltılması Sırasında İzlenen PZR Koşulları

Toplam 123 adet örnek kullanılarak DNA barkod analizleri ile bu örneklerdeki *Wolbachia* tarama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile mitokondriyal *sitokrom oksidaz I COI* barkod bölgesi Folmer ve ark. (1994) tarafından geliştirilen evrensel LCO1490: 5'-GTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' ve HC02198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Standart barkod MtDNA *COI* gen bölgesinin çoğaltılması sırasında kullanılan PZR bileşenleri ve konsantrasyonları Çizelge 2.2' de sunulmuştur. PZR Eppendorf Mastercycler cihazında gerçekleştirilmiş olup izlenen reaksiyon koşulları ise Çizelge 2.3' te gösterilmiştir.

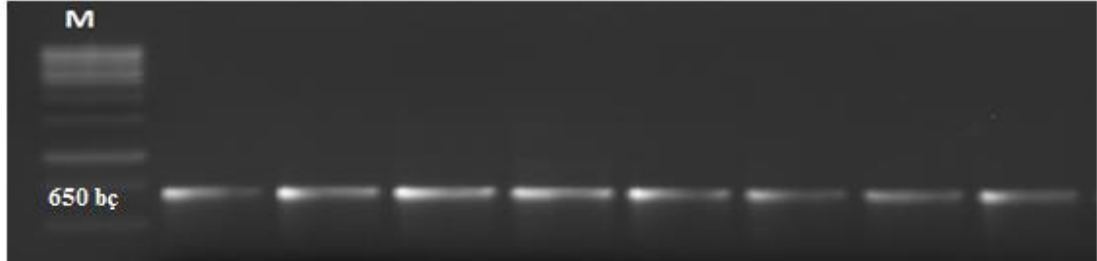
**Çizelge 2.2. MtDNA *Sitokrom oksidaz I COI* gen bölgesinin çoğaltılması sırasında kullanılan PZR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları. (PZR bileşenleri olarak Fermantas (Litvanya) firmasına ait ürünler kullanılmıştır.**

PZR Bileşenleri	
ddH <sub>2</sub> O	10,1 µl
dNTP (10 mM)	4 µl
PZR Tamponu (10X)	2.5 µl
Taq polimeraz (1unit)	0,2 µl
Genom DNA (10 ng/ml)	2 µl
Primer <sub>1</sub> ve primer <sub>2</sub> (50 pmol)	1,62 µl
MgCl <sub>2</sub> (1.5mM)	3 µl
Toplam reaksiyon hacmi	25 µl

**Çizelge 2.3. Eppendorf Mastercycler cihazı kullanılarak MtDNA *Sitokrom oksidaz I COI* gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PZR döngü koşulları**

PZR reaksiyonunun döngü koşulları			
İlk Denatürasyon	94 °C' de	4 dk	
Denatürasyon	95 °C' de	40 sn	} 37 Döngü
Bağlanma	51 °C' de	40 sn	
Uzama	72 °C' de	1 dk	
Son Uzama	72 °C' de	8 dk	
Son basamak	+4 °C		

Elde edilen PZR ürünlerini kalite ve miktar açısından kontrol etmek amacıyla %1.2'lik agaroz jelde 2 µl boya, 2 µl ürün karıştırılarak 80 Volt sabit akımda yürütülmüş ve görüntüleme cihazında görüntülenmiştir (Şekil 2.3, Şekil 2.4).



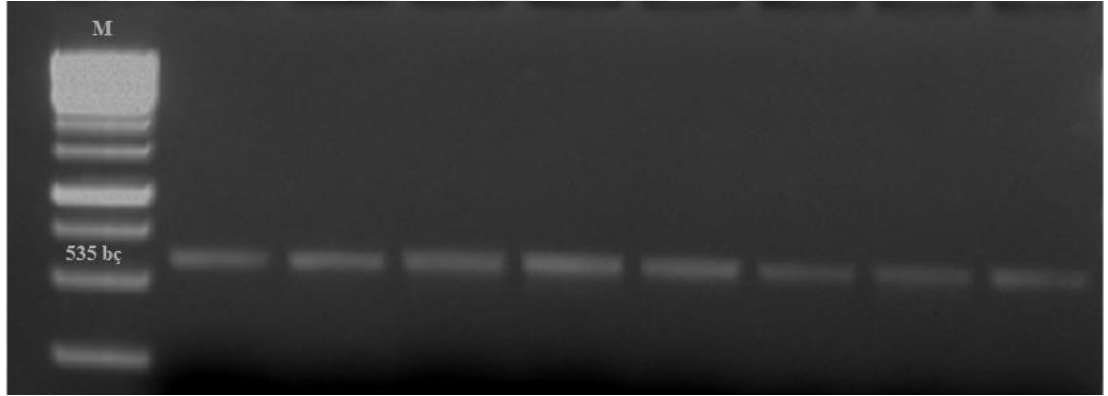
**Şekil 2.3. LCO1490 ve HC02198 primerleri kullanılarak Muğla örneklerinden elde edilen PZR ürünlerine ait yaklaşık 650bç uzunluğundaki DNA bant görünüşleri. M: 1000 bç DNA Marker (DNA işaretleyici).**

#### **2.4. *Wolbachia wsp* Gen Bölgesinin Çoğaltılması**

İncelenen 535 bç uzunluğundaki *wsp* gen bölgesi 81F 5'– TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3' ve 691R 5'– AAAAATTAAACGCTACTCCA-3' (Zhou ve ark 1998) primerleri kullanılarak PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır (Çizelge 2.3). İlgili gen bölgesinin çoğaltılması sırasında kullanmış olduğumuz PZR bileşen ve konsantrasyonları *MtCOI* barkod bölgesinin çoğaltılması sırasında kullanmış olduğumuz PZR bileşenleri ve miktarlarıyla aynıdır (Çizelge 2.2). Polimeaz zincir reaksiyonları sırasında kullanılan PCR döngüleri ise Çizelge 2.4' te detaylı olarak sunulmuştur.

**Çizelge 2.4. Eppendorf Mastercycler Gradient Thermalcycler cihazı kullanılarak *Wolbachia* bakterisinin varlığının tespiti için kullanılan PZR döngü koşulları.**

PZR reaksiyonunun döngü koşulları			
İlk Denatürasyon	95 °C' de	4 dk	
Denatürasyon	94 °C' de	45 sn	} 37 Döngü
Bağlanma	53 °C' de	45 sn	
Uzama	72 °C' de	1 dk	
Son Uzama	72 °C' de	10 dk	
Son Basamak	+4 °C		



**Şekil 2.4. wsp81F ve wsp691R primerleri kullanılarak İzmir örneklerinden elde edilen PZR ürünlerine ait yaklaşık 535 bp uzunluğunda DNA bant görünüşleri. M: 1000 baz çifti DNA Marker (DNA işaretleyici).**

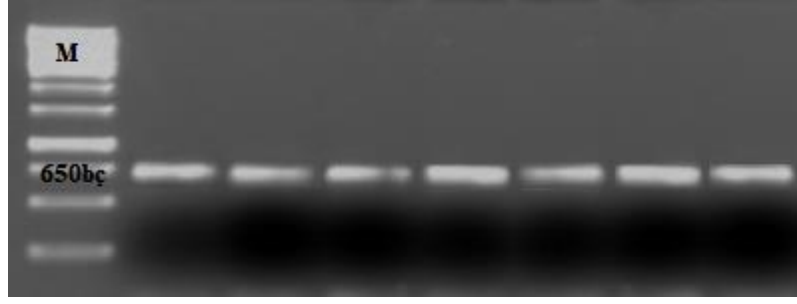
## 2.5. Jelden DNA İzolasyonu

Ürünler jelden DNA izolasyon kiti (Qiagen-QIAquick) aracılığı ile üretici firmanın önerdiği basamaklar takip edilerek izole edilmiştir. İzlenen basamaklar sırasıyla;

- Jelden kesilen ürünler 1.5 ml' lik eppendorf tüpe alınmıştır,
- Sonra tüplerin tartım miktarının 3 katı kadar QG (kit tarafından sağlanan) buffer eklenerek tüpler vortekslenmiş ve tüpler 50 °C' de 5 dk süre ile inkübe edilmek için etüve üzere konulmuştur,

- Tüplere tartım miktarı kadar izopropanol eklenmiş 10 kez ters düz yapılarak karıştırılmıştır,
- Tüp içerisindeki materyal jelden DNA izolasyon kiti içerisinde bulunan özel tüplere aktarılıp, daha sonraki basamakta tüpler 1 dakikada 13.500 rpm' de santrifüjlendikten sonra pellet (alt faz) kısmı dökülmüş, üzerine 500 µl QG buffer eklenerek yeniden 1 dakikada 13.500 rpm' de santrifüjlenmiştir.
- Bir sonraki basamakta tüplerin pellet kısımları tekrar dökülmüş, üzerine 750 µl PE (kit tarafından sağlanan) buffer eklenerek 2 dakika inkübe edilmiştir,
- 1 dakika 13.500 rpm'de santrifüjlendikten sonra tüplerin pellet kısımları dökülmüş sonraki aşamada 1 dakika 13.500 rpm' de tekrar santrifüjlenmiştir,
- Kit tarafında sağlanan özel tüplerinin üst kısımları yeni 1.5 ml' lik eppendorf tüplerine aktarılmış ve 17.3 µl dH<sub>2</sub>O eklenip 2 dakika süre ile inkübe edildikten sonra 1 dakikada 13.500 rpm' de santrifüjlenmiştir,
- Son basamakta da 15.3 µl dH<sub>2</sub>O tüplere eklenerek 1 dakikada 13.500 rpm' de santrifüjlenmiş ve tüpler etiketlenmiştir.

İstenilen uzunlukta elde edilen DNA ürünlerin agaroz jelde yürütülür (Şekil 2.5) spektrofotometrede miktar tayini yapıldıktan sonra PCR ürünleri baz dizi analizlerinin yapılması amacıyla yurt içinde ilgili firmaya gönderilmiştir. Baz dizi analizlerinde PZR reaksiyonları sırasında kullanmış olduğumuz LCO1490 ve HC02198 primerleri ve wsp81F ve wsp691R primer çiftleri kullanılmıştır. Baz dizi okumaları her bir örnek için ABI 3730 otomatik DNA sekans cihazı kullanılarak çift yönlü olarak şekilde yaptırılmıştır.



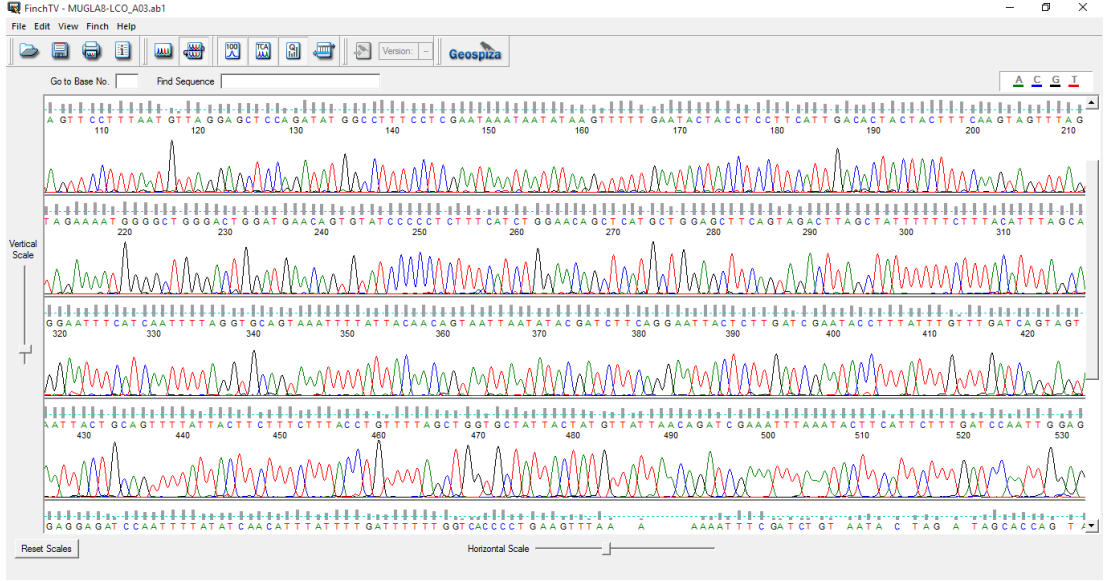
Şekil 2.5. Muğla bölgesinden toplanan örneklerden yapılan jelden DNA izolasyon ürünleri. (LCO-HCO primerlerine ait görüntülenme)

## 2.6. Veri Analizi

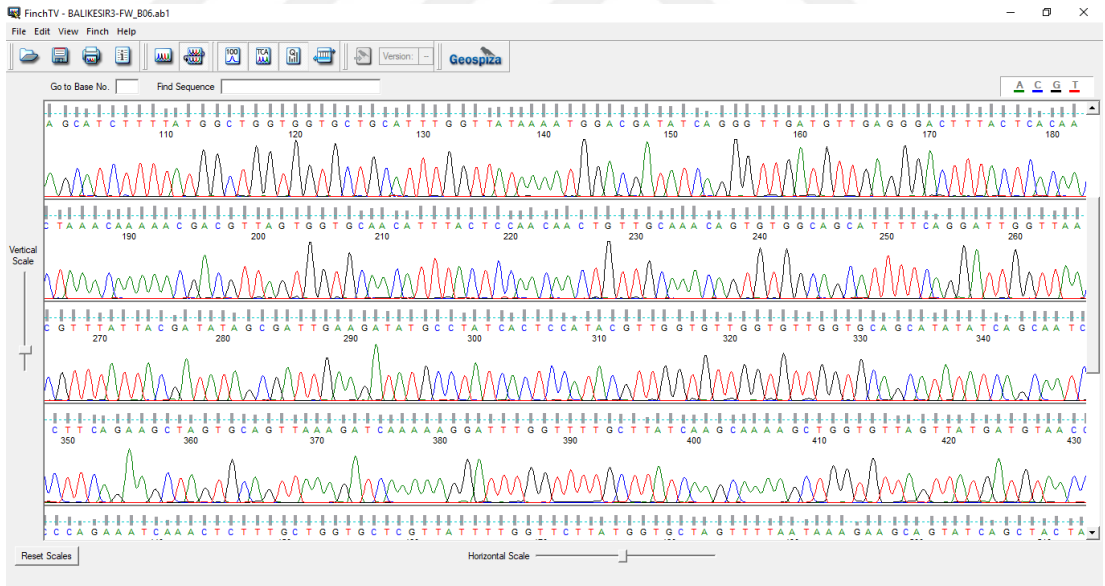
Tarafımıza gönderilen ABI formatlı kromatogram dosyasındaki diziler öncelikle FinchTV programında açılarak görsel olarak incelenmiştir (Şekil 2.6, Şekil 2.7.). Elde edilen DNA sekanslarından ilk olarak baz dizi analizi sırasında kullandığımız primer dizileri çıkarılmış olup ileri ve geri primerlerle dizilenen DNA zincirleri MEGA v6.0'da ClustalW programı kullanılarak hizalanmıştır (Tamura ve ark. 2013). *COI* barkod bölgesi için hizalan diziler GenBankasında (NCBI web sitesi, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) daha önce ilgili gen bölgesi için başka araştırmacılar tarafından saklanmış olan diziler ile karşılaştırılmış olup elde ettiğimiz diziler ile bu diziler arasındaki benzerlikler belirlenmiş ve türlerin moleküler olarak ayrımları gerçekleştirilmiştir. MEGA v6.0 paket programı kullanılarak baz dizileri için istatistiki analizler, Kimura2 parametresi (K2P) genetik uzaklıklarının hesaplanması (Kimura, 1980) ve komşu-birleştirme (Neighbour-Joining) ağacının oluşturulması aşamaları (Saitou ve Nei, 1987) gerçekleştirilmiştir.

Mitokondriyal *COI* baz dizilerinin, herhangi bir nükleer mitokondriyal yalancı gen (psödogenes) içerme ihtimallerine karşın protein dizileri de elde edilerek MEGA v6.0 ile incelenmiştir (Şekil 2.8). *Wsp* kısmi gen bölgesine ait nükleotit dizileri de yine başka araştırmacılar tarafından gen bankasına saklanan dizilerle karşılaştırılmış ve baz dizi benzerlikleri BLAST programı kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 2.9).





**Şekil 2.6. LCO-HCO primerlerinden elde edilen mtDNA baz dizileri FinchTV programında açılarak görsel olarak kontrol edilmiştir.**



**Şekil 2.7. FinchTV programı kullanılarak Wolbachia bakterisinin wsp81F ve wsp691R primerleri ile elde edilen mtDNA baz dizileri görsel olarak kontrol edilmiştir.**



**Şekil 2.8. LCO-HCO primerleri ile elde edilen mtDNA baz dizileri Clustal W programı ile sıraya dizilerek analizler sırasında kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.**



**Şekil 2.9. Wobachia bakterisinin wsp81F ve wsp691R primerleri ile elde edilen örneklerinin Clustal W programı ile sıraya dizilerek karşılaştırılması.**

### 3. BULGULAR

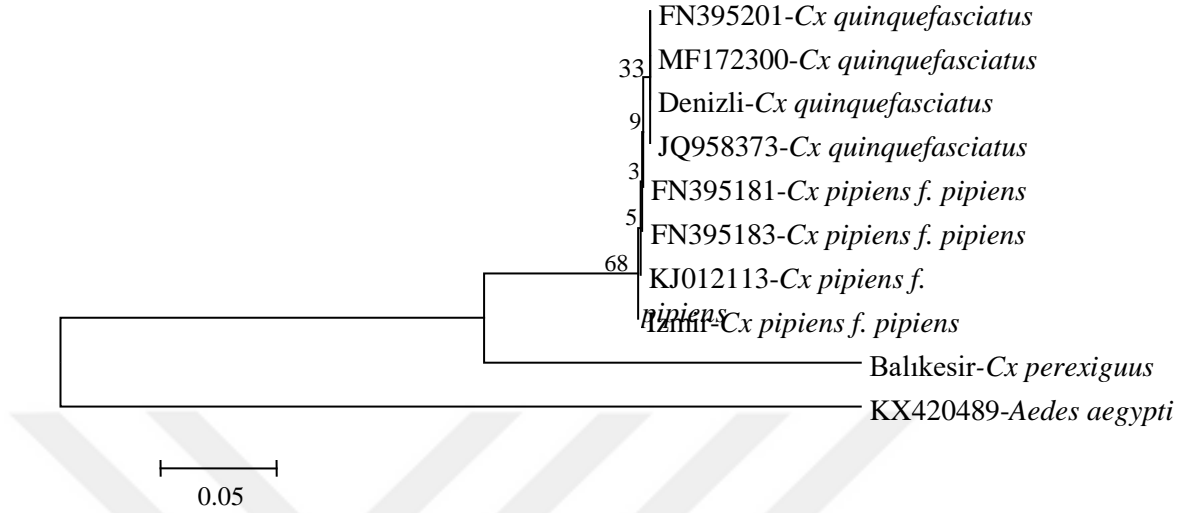
#### 3.1. *Culex pipiens* Kompleksine Ait Türlerin Ayrımı

25 farklı doğal üreme alanından toplanan *Culex pipiens* kompleksine ait 123 sivrisinek örneğinde *sitokrom oksidaz I* hedef gen bölgesi çoğaltılıp baz dizi analizleri tamamlanmıştır. Elde edilen baz dizilerinin yüksek oranda A+T çiftleri içerdiği gözlemlenmiştir (ortalama değer %70). Bununla birlikte incelenen baz dizileri insersiyon, delesiyon ve stop kodonları içermemektedir.

İncelenen gen bölgesi göz önünde bulundurulduğunda Ege bölgesine ait *Cx. pipiens* kompleks üyeleri arasında düşük bir genetik çeşitliliğinin varlığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz baz dizileri daha detaylı olarak incelendiğinde Ege bölgesi popülasyonlarında üç farklı haplotipin varlığı gözlemlenmiştir. Bu haplotiplerin GenBankasındaki diğer örnekler ile karşılaştırıldığında *Culex quinquefasciatus* (GenBank erişim numarası: JQ958373, MF172300, FN395201), *Culex pipiens f. pipiens* (GenBank erişim numarası: FN395181, KJ012113, FN395183) ve *Culex perexiquus* (GenBank erişim numarası: KJ012108, KF406802) haplotipleri ile tamamen aynı olduğu görülmüştür. *Cx. quinquefasciatus* türünün Ege bölgesinde en yaygın kompleks üyesi olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Bu üç sivrisinek türünün daha önce ülkemizde birlikte bulunduğu Günay ve arkadaşları (2015) tarafından da rapor edilmiştir. Araştırmamızda ilginç olarak *Wolbachia* endosimbiont bakterisi ile enfekte olmuş ve olmamış türlerde *COI* gen bölgesi %100 aynı olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda geniş coğrafik dağılım gösteren bölgelerdeki bireylerden elde edilen 658 bç uzunluğundaki DNA bölgesi göz önünde bulundurulduğunda *Cx. quinquefasciatus* ve *Cx. pipiens f. pipiens* arasında 316 numaralı pozisyonda tek bir baz değişiminin bulunduğu (G → A ) tespit edilmiştir. Gözlemlenen bu tek baz değişimi protein dizisinde herhangi bir değişikliğe sebep olmamaktadır. Bununla beraber *Cx. pipiens* kompleks üyeleri ve *Cx. perexiquus* örnekleriyle birlikte karşılaştırıldığında toplam oniki farklı noktada baz değişimlerinin varlığı gözlemlenmiştir. Bu baz değişimlerinin şifrelenen proteinde üç adet sinonim olmayan (non-synonymous) aminoasit değişikliğine yol açtığı bulunmuştur.

Elde edilen haplotipler yakın komşu-birleştirme (Neighbor Joining (NJ)) ağacı kullanılarak gruplandırılmıştır. *Cx. pipiens* kompleks üyelerinin bu grafikte birbirlerinden ayrıldıkları gözlemlenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Cx. pipiens* kompleksine ait mitokondriyal *COI* gen bölgesine ait dizilerin GenBankası verileri ile Komşu-Birleştirme (NJ) analiz yöntemi kullanılarak karşılaştırılması. (*Aedes aegypti* *COI* gen dizisi aut grup olarak kullanılmıştır.)

Çizelge 3.1. *Culex pipiens* kompleksi üyelerinin Ege bölgesindeki farklı örnekleme yerlerindeki dağılımı ve bu populasyonlardaki *Wolbachia* enfeksiyon sıklıkları. N = kullanılan toplam örnek sayısı.

İl	N	<i>Cx. quinquefasciatus</i>		<i>Cx. pipiens form pipiens</i>			<i>Cx. perexigus</i> sayısı	
		<i>Cx. quinquefasciatus</i> sayısı	<i>Wolbachia</i> sayısı		<i>Cx. pipiens form pipiens</i> sayısı	<i>Wolbachia</i> sayısı		
			N	%		n		%
Çanakkale	20	19	12	63	1	1	-	-
Balıkesir	23	22	7	32	-	-	-	1
İzmir	20	16	13	81	4	3	-	-
Aydın	19	17	17	100	2	1	-	-
Muğla	19	18	6	33	-	-	-	1
Denizli	22	21	15	71	1	-	-	-
<b>Total</b>	<b>123</b>	<b>113</b>	<b>70</b>		<b>8</b>	<b>5</b>		<b>2</b>

Ege bölgesinde incelenen 123 adet örnek arasında yaygın olarak 113 adet *Cx. quinquefasciatus* türü görülmüştür. *Cx. quinquefasciatus* türü en fazla sırasıyla Balıkesir, Denizli, Çanakkale, Muğla, Aydın, İzmir örneklerinde gözlemlenmiştir. Buna karşın *Cx. pipiens f. pipiens* türünün ise İzmir, Aydın, Denizli ve Çanakkale lokasyonlarında bulunduğu tespit edilmiş, Balıkesir ve Muğla illerindeki örneklerde rastlanılmamıştır. *Cx. perexigus* ise sadece Balıkesir ve Muğla örneklerinde birer adet görülmüştür. *Cx. perexigus* örnekleri deneylerimize kontrol amaçlı eklenmiştir (Çizelge 3.1).

### 3.2. *Wolbachia* Yaygınlığı

İncelenen *Culex pipiens* kompleks popülasyonlarının değişen oranlarda *Wolbachia* endosimbiyont bakterisi ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonlarda gözlemlenen *Wolbachia* yaygınlığının herhangi bir faktöre (coğrafik, iklimsel, insektisit kullanım oranlarına vb.) bağlı olmadığı görülmüştür, diğer bir deyişle dağılım tamamen tesadüfidir. İncelenen *Cx. quinquefasciatus* örneklerinin *Wolbachia* ile enfekte olma sıklığı %62 (70/113) olarak bulunmuştur. Enfeksiyon oranı en düşük %32 ile Balıkesir, en yüksek oranda %100 ile Aydın popülasyonlarında görülmüştür (Çizelge 3.1). İncelenen kısmi *wsp* geninin *mtCOI* geninde de olduğu gibi yüksek oranda A+ T içeriğine (%62) sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamız sırasında sınırlı sayıda *Cx. pipiens f. pipiens* örneği elde edildiğinden bu türde *Wolbachia* yaygınlığına yönelik istatistiksel analizler yapılamamıştır. Bununla birlikte incelenen iki adet *Cx. perexiquus* örneğinde de *Wolbachia* enfeksiyonuna rastlanılmamıştır. Çalışmamız sonucunda Ege bölgesi örneklerinden elde edilen *wsp* baz dizileri ile gen bankasında bulunan ve daha önce dünyanın farklı bölgelerinden yine bu kompleks üyeleri kullanılarak elde edilen diğer *wsp* baz dizileri karşılaştırılmıştır. Veriler Ege bölgesi *wsp* baz dizilerinin Hindistan (GenBank erişim numarası: EU194487, AF397413), Çin (AF216860), İran (DQ900653) ve Tayvan'dan (AY462861) elde edilen *Cx. pipiens* kompleks türlerindeki *wsp* baz dizileri ile %100 benzer olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra farklı arthropod türlerinden elde edilen *Wolbachia* türleri ile de örneğin *Operophtera brumata* (KY587651), *Corcyra cephalonica* (AY634679), *Pararge aegeria* (KC137224),

*Leptidea sinapis* (KC137222), *Pardosa mionebulosa* (KU958713), *Epirrita christyi* (JX310335), *Hercinothrips femoralis* (AB245521) ve *Mamestra brassicae* (AB094375) *wsp* baz dizilerimizin ortak olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımız aynı zamanda ülkemizde bulunan *wsp* gen dizilerini *Wolbachia* soyuna ait PIP- Grubu içerisinde B süper grubu (WPIPB) ile aynı olduğunu da göstermiştir (GenBank erişim numarası: AF020060 ve AF020061) (Zhoe ve ark. 1992).



## 4. TARTIŞMA

### 4.1. *Culex pipiens* Kompleks Türlerinin Dağılımı

Verimli vektör kontrol stratejileri ve takip sistemlerinin oluşturulması için vektör sivrisinek türlerinin yayılış alanlarının belirlenmesi önemlidir. Her ne kadar *Cx. pipiens* kompleksine ait vektör türlerin varlığı Türkiye' nin farklı bölgelerinde şu ana kadar rapor edilmişse de (Ergünay ve ark. 2014, Günay ve ark. 2015) çalışma alanımız olan Ege bölgesinde bulunan *Cx. pipiens* kompleksine ait vektör türlerin yayılım şekli ve popülasyonlarının yapıları hakkında henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Sonuçlarımız çalışılan popülasyonlarda *mtCOI* geni göz önünde bulundurulduğunda genetik çeşitliliğin düşük olduğunu göstermiştir. Gözlemlenen bu sonuçlar dünyanın diğer bölgelerinden yine bu kompleks üyeleri için rapor edilen sonuçlara çok benzerdir (Fedorova ve Shaikovich, 2007, Low ve ark. 2013, Werblow ve ark. 2014, Günay ve ark. 2015). Buna karşın Hindistan'dan incelenen *Cx. quinquefasciatus* türlerinde 16S rRNA gen bölgesinin incelenmesi sonucu yüksek bir genetik çeşitliliğin varlığı gözlemlenmiştir (Sharma ve ark. 2010). Bu sonuçlar hayvanlarda genetik çeşitliliğin belirlenmesinde mitokondriyal ve nükleer genetik belirteçlerin (marker) katkıları hakkında süre giden tartışmaları desteklemektedir (Hemmerter ve ark. 2009).

*Culex quinquefasciatus* ve *Culex pipiens* türlerinin genetik uzaklıkları karşılaştırıldığında K2P genetik uzaklık değerleri % 0.2 olarak bulunmuştur. Bu değer, *Cx. quinquefasciatus* ve *Cx. perexigus* türleri karşılaştırıldığında % 9.1, *Cx. pipiens* ve *Cx. perexigus* karşılaştırıldığında ise % 8.8 olarak bulunmuştur. Gözlemlenen bu değerler daha önce 658 baz çifti uzunluğunda *mtCOI* barkod bölgesi kullanılarak elde edilen K2P değerlerine benzerdir (Günay ve ark. 2015). Daha önceki çalışmalar birçok Diptera türünde *mtCOI* barkod bölgesi için >%2 genetik farklılık değerinin tür sınırlarının belirlenmesinde kritik bir değer olduğunu rapor etmiştir (Hebert ve ark. 2003 a,b). Çalışmamızda *Cx. pipiens* ve *Cx. quinquefasciatus* türleri arasında gözlemlenen bu % 0.2 oranındaki genetik farklılık değerinin yukarıda belirtilen türler arası genetik uzaklık değerinin yaklaşık olarak 1/10' u kadardır. Buna karşın bu iki tür arasında fizyolojik ve davranışsal farklılıklar bulunmaktadır.

Çalışmamızın temel amacı *Cx. pipiens* kompleks türlerinin ayrımını konu alan sistematik/taksonomik bir çalışma olmayıp, daha çok popülasyonların genetik olarak karakterize edilmesine yönelik bir araştırmadır. Mitokondriyal *COI* barkod bölgesinin yetersiz kaldığı durumlarda türler arasındaki sınırların genetik uzaklıklar temelinde belirlenebilmesi amacıyla daha fazla sayıda mitokondriyal ve nükleer belirteçlerin kullanılması gerekmektedir.

Çalışmamız sonucu *Cx. pipiens* kompleksine bağlı türlerin dağılımı ve lokasyonlara göre kompozisyonlarında belirli bir oranda bölgesel farklılıklar gözlemlenmiştir. Ege bölgesinde bütün örneklem alanları göz önünde bulundurulduğunda bu kompleks içerisinde yer alan *Cx. quinquefasciatus* türünün yaygınlık oranı %92 (n=121) olarak bulunmuştur. Daha önce *mtCOI* barkod bölgesi kullanılarak yapılan çalışmalar (Ergünay ve ark. 2014, Günay ve ark. 2015) ilk kez *Cx. quinquefasciatus*' un ülkemizin farklı bölgelerinde çok daha düşük oranlarda bulunduğunu rapor etmiştir. Aydın ili hem çalışmamız ve hem de yukarıda belirtilen çalışmalarda kullanılan ortak bir lokasyondur. Çalışmamız sonucu bu türün Ege bölgesinde çok geniş bir coğrafi dağılım göstermiş olduğunun anlaşılması türün ve diğer yakın türlerin zamanla bu bölgedeki yayılım oranlarının değiştiğine işaret etmektedir. Ege bölgesinde son yıllarda *Cx. quinquefasciatus* türünün çok daha yaygın ve baskın tür olarak ortaya çıkmasında bu türün bu bölgeye ekolojik adaptasyonu, bölgeler arası yüksek göç edebilme kapasitesinin ve insan kaynaklı yayılımının rol oynadığı düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar birçok sivrisinek türünün iklim değişikliklerine ve şehirleşmeye bağlı olarak yayılım alanlarını değiştirebildiklerini rapor etmiştir (Becker ve ark. 2010). Çalışmamız istilacı bir tür olan *Cx. quinquefasciatus*' un Avrupa'daki yayılışına paralel olarak (Shaikevich ve ark. 2016) ülkemizde de dağılım alanlarını genişlettiğini göstermektedir. Bu durum ülkemizde vektör mücadelesi ile ilgilenen kurumlar açısından dikkate alınması gereken önemli bir husustur.

GenBankasından elde edilen ve çalışmamız sonucu bulunan mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki gözlemlenen benzerlik ülkemizdeki *Culex quinquefasciatus* türününün bir veya birkaç farklı orijinden köken almış olabileceğine işaret etmektedir. Bu türün gerek insanla ve gerekse de diğer yayılım/taşıma araçlarıyla yakın ilişkide bulunması (Bataille ve ark. 2009, Medlock ve ark. 2012) ülkemize dünyanın başka yerlerinden taşınmış olabileceğine işaret etmektedir. Ege



bölgesinden elde edilen *Cx. quinquefasciatus* türüne ait *mtCOI* baz dizileri İran (JK958373, FJ210909), Hindistan (FN395201, FN395202), Pakistan (KF407371, KF407709) ve Uganda (GQ165791) ile %100 aynı bulunmuştur. Böcek türlerinin dağılım ve kolonizasyon yollarının daha iyi ve net olarak anlaşılabilmesi için popülasyonların genetik yapısına yönelik çalışmaların daha detaylı olarak yapılması gerekmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi eğer *Cx. quinquefasciatus* türü ülkemizde son yıllarda dağılım göstermiş ise daha düşük oranda genetik çeşitlilik göstermesi beklenmektedir. Bu amaca yönelik ülkemiz sivrisinek türleri kullanılarak daha detaylı genetik çalışmaların yapılması ve muhtemel orijin noktalarının anlaşılması bu türlerle mücadele açısından önemlidir.

Ege bölgesinin geniş yerleşim, tarım, ticaret ve endüstriyel alanlarına sahip olması *Culex pipiens* kompleksine ait türlerde gözlemlenmiş olduğumuz düşük genetik çeşitliliğin diğer önemli bir nedeni olabilir. Bu bölgelerde daha önceki yıllarda sivrisinek popülasyonlarına karşı kullanılan mücadele yöntemlerinin (pestisitler, insektisitler vb.) seçici süpürme etkisi (selective-sweep) göstermesi sonucu popülasyonlarda çok düşük genetik çeşitliliğe neden olduğu düşünülmektedir. Low ve arkadaşları (2013), Werblow ve arkadaşları (2014) yoğun insektisit baskısının *Culex* cinsine bağlı sivrisinek türlerinde genetik çeşitliliği düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Ülkemizde bulunan *Culex pipiens* kompleks türlerinde yüksek bir insektisit direncinin varlığı da daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Taşkın ve ark. 2016).

Batı Nil Virüsünün (WNV) önemli bir vektörü olan *Cx. quinquefasciatus* türünün ülkemizin Ege bölgesinde yaygın olarak bulunması ciddi riskler barındırmaktadır. Batı Nil Virüsü duyarlı organizmalarda nörolojik problemlere neden olabilmektedir. Her ne kadar bu virüs dünya üzerinde geniş bir dağılım gösteriyor olsa da en olumsuz etkileri şu ana kadar Yunanistan, Romanya, Rusya, İsrail ve Amerika'dan rapor edilmiştir (Calistri ve ark. 2010). Son yıllarda Ergünay ve arkadaşları (2014) kıtalar arası geçiş bölgesi olan ülkemizde de bu virüsün varlığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında Batı Nil Virüsü ülkemizde insanlarda, çeşitli hayvanlarda (at, koyun ve ördek) ve vektör *Cx. quinquefasciatus* türlerinde tespit edilmiştir. Ege bölgesinin kuş göç yolları üzerinde bulunduğu da düşünüldüğünde bu virüsün kuş göçleriyle ülkemizden diğer alanlara ve diğer alanlardan ülkemize taşınması muhtemeldir. Batı Nil Virüsüne yönelik etkili aşılama ve ilaç tedavileri bulunmamaktadır. Bu durumda

vektör sivrisinek türlerinin kontrol altında tutulması, bu virüsün yayılımını önlemek için en uygun yoldur. *Wolbachia* endobakterisinin Batı Nil Virüsüne karşı *Cx. quinquefasciatus* türünde direnç gelişimine yol açtığı rapor edilmiştir (Glaser ve Meola, 2010). Bu durum uzun vadede sivrisinek popülasyonlarıyla mücadelede önemli bir unsur olarak kullanılabilir.

Özetle her ne kadar DNA temelli moleküler tür ayırım çalışmalarının bir takım yetersizlikleri bulunsa da sınıflandırma açısından geleneksel taksonomik metotlara karşı hala önemli bir üstünlüğü bulunmaktadır. Moleküler tür teşhis yöntemleri daha duyarlı, rutin laboratuvar çalışmaları için daha uygun ve farklı gelişim aşamalarına uygulanabilir olmaları nedeniyle daha kesin ve gerçekçi bilgiler verebilme potansiyeline sahiptir. *Sitokrom oksidaz I* gen bölgesi tür ayrımlarının yapılmasında kullanılabileceği gibi evrimsel, tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin belirlenmesine yönelik çalışmalarda da kullanılabilir (Cywinska ve ark. 2006, Kumar ve ark. 2007, Werblow ve ark. 2014).

#### **4.2. *Wolbachia* Enfeksiyonu**

Bilgimiz dahilinde, *Cx. pipiens* kompleks türlerinde *Wolbachia* endobakterisinin yaygınlığına yönelik ülkemizde sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. (Yıldırım ve ark. 2013). Araştırmamızda ülkemizin Ege bölgesinden toplanmış olan *Cx. pipiens* kompleksine ait türlerde *Wolbachia* yaygınlığı %62 olarak bulunmuştur. Gözlemlenen bu oran dünyanın farklı bölgelerinden literatürde şu ana kadar rapor edilen oranlara benzerdir (Rasgon ve Scott, 2003, Sunish ve ark. 2011, Karami ve ark. 2016).

Geniş bir coğrafyadan topladığımız örneklerden elde etmiş olduğumuz *Wolbachia wsp* geninine ait baz dizilerinin herhangi bir farklılık göstermemesinin nedenleri olarak; a) Bu *Wolbachia* türünün çalışılan popülasyonları yeni enfekte etmeye başlamış olması diğer bir deyişle genetik çeşitlilik gösterebilecek kadar uzun bir süre geçmemiş olması (Morais ve ark. 2012) b) Werren ve ark. 2008' de de belirtildiği üzere endosimbiontun konağa özgüllüğü sayılabilir.

Birçok farklı arthropod türünden elde edilen *Wolbachia* soylarına ait baz dizi benzerlikleri bu endosimbiontun sadece anasal kalıtım (vertikal geçiş) göstermediği

aynı zamanda horizontal olarak türler arasında geçiş gösterebileceğini işaret etmektedir (Heath ve ark. 1999). Bu alanda çok daha fazla çalışmalar yapılması *Wolbachia* endosimbiyontunun türler arası geçiş mekanizmalarının anlaşılması ve bu türleri enfekte edebilme mekanizmalarının belirlenebilmesi açısından önemlidir.

Zhou ve ark. (1998) *wsp* gen dizisinin çok yüksek oranda mutasyona uğrayabildiğini ve bu nedenle de farklı *Wolbachia* soyları arasındaki evrimsel ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Buna karşın çalışmamızda *wsp* gen bölgesi için herhangi bir çeşitlilik gözlenmemiştir. Bu durum *wsp* geninin Ege bölgesindeki *Cx. pipiens* kompleks üyelerinde bulunan *Wolbachia* soylarının sınıflandırılmasına yönelik çalışmalar için uygun olmadığını işaret etmektedir.

*Wolbachia* endosimbiyotik bakterisinin varlığı *Culex pipiens* kompleksi üyeleri arasında gözlemlenen düşük mtDNA çeşitliliğinin diğer bir nedeni olabilir (Guillemaud ve ark. 1997, Rasgon ve Scott 2003). Guillemaud ve Rasgon seçici süpürme etkisi nedeniyle *Wolbachia* endosimbiyotik bakterisinin *Cx. pipiens*' te düşük genetik çeşitliliğe yol açtığını tespit etmişlerdir. Benzer bir durum *Culex quinquefasciatus* içinde rapor edilmiştir (Morais ve ark. 2012). Buna karşın DNA barkod kütüphanelerinin oluşturulması ve kullanımında *Wolbachia* DNAsının bulunmasının türlerin moleküler olarak ayrılmasında ve çeşitliliğinin belirlenmesinde herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı da belirtilmiştir (Smith ve ark. 2012).

Özetle, doğadaki biyolojik çeşitliliğin tür, sayı ve dağılımlarının detaylı olarak belirlenmesi, işgalci türlerin yeni alanlara yayılmasının anlaşılması, önlenmesi ve doğal dengenin korunması açılarından önemlidir. Çalışmamızda Ege bölgesinde *Cx. pipiens* kompleksine ait iki tür belirlenmiştir. Her ne kadar çalışmamız sırasında fazla sayıda örnek kullanılmış olsa da bu komplekse ait diğer üyelerinde bu bölgede düşük oranlarda bulunması ihtimali göz ardı edilemez. Batı Nil Virüsü ve diğer arbo virüsler için önemli bir vektör olan *Cx. quinquefasciatus* Ege bölgesinde çok yaygın olarak bulunmuştur. Bu türün küresel ısınmaya da paralel olarak güneydeki daha sıcak ilkim bölgelerinden ülkemize göç etmiş olabileceği mümkündür. Ege bölgesinin uygun ekolojik ve iklimsel şartları da göz önünde bulundurulduğunda bu faktörler nedeniyle türün bölgede hızla büyüüp yayılmasında diğer bir etkidir. Gelecekte *Cx. pipiens* kompleks üyelerinin kullanımına yönelik yapılacak olan daha

ileri genetik çalışmalar bu grup organizmaların vektör olma potansiyellerinin anlaşılması açısından önemli bilgiler sunacaktır.

Her ne kadar incelenen popülasyonlar coğrafi olarak geniş bir alandan seçilmiş olsa da bütün örneklerin aynı *Wolbachia* soyu ile enfekte olduğu görülmektedir. Ülkemizde sivrisinek türlerinde bulunan *Wolbachia* soylarının yaratmış olduğu sitoplazmik uyumsuzluk (incompatiblite) üzerine gelecekte yapılacak olan detaylı çalışmalar vektör popülasyonlarının kontrolünde/baskılanmasında önemli bilgiler sağlayacaktır. Günümüzde farklı hastalık vektörü olan artopod türlerinin kontrolünde *Wolbachia* soylarının biyolojik ajanlar olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar arttırılmalıdır.



## KAYNAKLAR

- Akdur, R., 1997, “*Sıtma Eğitim Notları*”, T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Sıtma Dairesi Başkanlığı, 71 S.
- Alkan S.S., 2008, “İğdır Ovası’nda Kapalı Alanlardaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Örneklenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Akiner M. M., Simsek F. M., Çağlar S. S., (2009). Insecticide Resistance Of *Culex Pipiens* (Diptera: Culicidae) İn Turkey, J. Pestic. Sci., 34(4), 259–264.
- Akiner M.M., 2009, “ Sivrisineklerde Direnç Tespiti Ve Direnç Gelişimini Sağlayan Enzimatik Mekanizmaların Araştırılması”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Alten, S.B., Çağlar, S.S., (1998). *Vektör Ekolojisi Ve Mücadelesi: Sıtma Vektörünün Biyo-Ekolojisi Mücadele Organizasyonu Ve Yöntemleri*. T.C. Sağlık Bakanlığı Sıtma Savaş Daire Başkanlığı Ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Bizim Büro Basımevi, Ankara, Pp: 242.
- Aldemir, A., 2003, “Ankara Golbası’nda Sivrisineklere Karşı Entegre Mucadele”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Anonim: [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/225139?lg=en](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/225139?lg=en). Erişim Tarihi 1889.
- Anonim: <https://www.iltav.com/wp-content/uploads/sivrisinek.pdf>. Erişim Tarihi 2006.
- Anonim: <https://www.flickr.com/photos/janhamrsky/6243235998>. Erişim Tarihi 2010.
- Anonim: [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Vektörlerle\\_e%20Mucadele.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Vektörlerle_e%20Mucadele.pdf). Erişim Tarihi 2011.
- Anonim: <https://blogs.biomedcentral.com/bugbitten/2014/10/23/wolbachia-as-a-weapon-in-the-war-against-malaria/>. Erişim Tarihi 2014.
- Anonim: [https://ipfs.io/ipfs/QmQP99yW82xNKPxXLroxj1rMYMGF6Grwj2o4svsdmGh7S/out/A/Biyolojik\\_ya%C5%9Fam\\_d%C3%B6ng%C3%BCs%C3%BC.ml](https://ipfs.io/ipfs/QmQP99yW82xNKPxXLroxj1rMYMGF6Grwj2o4svsdmGh7S/out/A/Biyolojik_ya%C5%9Fam_d%C3%B6ng%C3%BCs%C3%BC.ml). Erişim Tarihi 2015.
- Anonim: <https://www.flickr.com/photos/132574141@N04/34513061021/in/photolist>. Erişim Tarihi 2017
- Anonim : <https://alchetron.com/Culex-tritaeniorhynchus>. Erişim Tarihi 2018.
- Ashfaq M., Hebert P. D. N., Mirza J.H., Khan A.M., Zafar Y., Mirza S. 2014, Analyzing Mosquito (Diptera: Culicidae) Diversity İn Pakistan By Dna Barcoding. 9: E97268.
- Avise, J.C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution, Chapman and Hall, New York.

- Avise, J.C., 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland.
- Batovska J., M.J. Blackett, K. Brown, and S.E. Lynch. 2016. Molecular identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southeastern Australia. *Ecol. Evol.* 6: 3001–3011.
- Beaty, B.J. 2000. Genetic manipulation of vectors: a potential novel approach for control of vector-borne diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 10295–10297.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. Ve Ark. 2003. *Mosquitoes And Their Control*. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers.
- Becker, N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, M.B. Madon, C. Dahl, and A. Kaiser. 2010. *Mosquitoes and Their Control*. Springer, Heidelberg. pp. 433-439.
- Bender W., P Spierer., Hogness D. S., 1983, Chromosomal Walking and Jumping to Isolate DNA From The *Ace* and *Rosy* Loci and Bithorax Complex in *D. melanogaster*, *J. Mol. Biol.*, 168: 17-33.
- Bedir A., 2008, “Aras Vadisi Sivrisineklerinin (Diptera: Culicidae) Tür Kompozisyonu Ve Saldırı Periyotları”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Birley M. H. 1989, Guidelines For Forecasting Vector-Borne Disease. Joint WHO, FAO, UNEP Panel Of Experts On Enviromental Management For Vector Control.; 2:9-17.
- Bourguet D., Fonseca D., Vourcn G., Dubois M., Chandre F., Severinis C. And RaymondI M., 1998. The Acetylcholinesterase Gene *Ace*: A Diagnostic Marker For The *Pipiens* And *Quinquefasciatus* Forms Of The *Culex pipiens* Complex, *Journal oJthe American Mosquito Control Association*, 14(4):390\_396.
- Calistri, P., A. Giovannini, Z. Hubalek, A. Ionescu, F. Monaco, G. Savini, and R. Lelli. 2010. Epidemiology of West Nile in Europe and in the Mediterranean Basin. *Open Virol. J.* 4: 29– 37.
- Charrel RN, Brault AC, Gallian P, Lemasson JJ, Murgue B, Murri S, et al. Evolutionary relationship between Old World West Nile virüs strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology* 2003; 315: 381-8.
- Cummins J. 1998. Mitochondrial DNA İn Mammalian Reproduction. *Rev Reprod*, 3: 172-182.
- Cunha BA., 1999. West Nile Encephalitis. *Infectious Disease Practice for Clinicians*, 23(10): 85-89.
- Cywinska A., Hunter P.D., Hebert N., 2006, Identifying Canadian Mosquito Species Through Dna Barcodes. *Medical And Veterinary Entomology*, 20, 413–424.
- Çağlar S. S., Skavdis G., Özer N., Alten B., Şimşek F. M., Kaynaş S., Akner M. M., Kuyucu A. C., Vontas J., 2008, Study Of The Resistance İn Commonly Used Insecticides, Of Natural Mosquito Populations, İn The Province Of Thrace (Greece And Turkey) TÜBİTAK TBAG Proje 105T531, 1-128.

- Danabalan R., Ponsonby D. J., Lintoni Y.-M., 2012, A Critical Assessment Of Available Molecular Identification Tools For Determining The Status Of *Culex Pipiens* S.L. In The United Kingdom., *Journal Of The American Mosquito Control Association*, 28, Shaikevich 2007, 68–74.
- Daravath S.S., Siddaiah M., ReddyNaik B., 2015. Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of *Culex quinquefasciatus* by DNA Barcoding, *Advances in Entomology*, 3, 118-124.
- Darsie, R.F. Jr., Samanidou-Voyadjoglou, A., 1997, Keys for the Identification of the Mosquitoes of Greece. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(3):247-254.
- Dehghan H., Sadraei J. , Moosa-Kazemi S.H. , Baniani N. Akbari and Nowruzi F., 2013. ‘The molecular and morphological variations of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) in Iran, *J Vector Borne Dis* 50, June, pp. 111–120.
- Demirci B., 2006, “İğdir Ve Civarındaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Biyo-Ekolojileri Üzerine Araştırmalar”, Kafkas Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Kars.
- Drew WL., 2001, Viral Infection of the Central Nervous System. In: Wilson WR, Sande MA (eds) *Current Diagnosis and Management In Infectious Diseases*. New York: Lange/McGraw-Hill, 453-462.
- DuBose, W.P. and Curtin, T.J., 1965, Identification keys to the adult and larval mosquitoes of the Mediterranean Area, *Journal of Medical Entomology*, 1(4):349-355.
- Ergunay K., Gunay F., Kasap O.E., Oter K., Gargari S., Karaoglu T., Tezcan S., Cabalar M., Yıldırım Y., Emekdas G., Alten B., Ozkul A., 2014, Serological, Molecular And Entomological Surveillance Demonstrates Widespread Circulation Of West Nile Virus In Turkey. 8; E3028.
- Eutaxa, “Online Key for Culex Larvae”, <http://www.eutaxa.com> (Erişim tarihi: 13 Ocak 2010).
- Farajollahi, A., D.M. Fonseca, L.D. Kramer, and A.M. Kilpatrick. 2011. ‘Bird biting’ mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect. Genet. Evol.* 11: 1577–1585.
- Farid, H.A., R.E. Hammad, M.M. Hassan, Z.S. Morsy, I.H. Kamal, G.J. Weil, and R.M. Ramzy. 2001. Detection of *Wuchereria bancrofti* in mosquitoes by the polymerase chain reaction: a potentially useful tool for large-scale control programs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95: 29–32.
- Fedorova, M.V. and E.V. Shaikevich. 2007. Morphological and molecular-genetic distinctions between adult mosquitoes *Culex torrentium* Martini and *Cx. pipiens* Linnaeus (Diptera, Culicidae) from Moscow Province. *Entomol. Rev.* 87: 127–135.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA Primers For Amplification Of Mitochondrial Cytochrome C Oxidase Subunit I From Diverse Metazoan Invertebrates. *Molecular Marine Biology And Biotechnology.* 3(5):294-299.

- Fonseca DM, Atkinson CT, Fleischer RC, 1998. Microsatellite primers for *Culex pipiens* *Culex quinquefasciatus*, the vector of avian malaria in Hawaii. *Mol Ecol* 7: 1617–1619.
- Fonseca, D.M., D.A. LaPointe, and R.C. Fleischer. 2000. Bottlenecks and multiple introductions: population genetics of the vector of avian malaria in Hawaii. *Mol. Ecol.* 9: 1803–1814.
- Fonseca Dina M., Smith Julie L., Wilkerson Richard C., And Fleischer Robert C. 2006. ‘Pathways Of Expansion And Multiple Introductions Illustrated By Large Genetic Differentiation Among Worldwide Populations Of The Southern House Mosquito’, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74(2), 2006, pp. 284–289.
- Glaser, R.L. and M.A. Meola. 2010. The Native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus Infection. *PLoS ONE* 5: e11977.
- Gomes B., Alves J., Sousa Carla A., Santa-Ana M., Vieira I., Silva Teresa L., Almeida Antonio P.G., Donnelly Martin J., Pinto J., 2012. Hybridization and population structure of the *Culex pipiens* complex in the islands of Macaronesia, The Authors. *Ecology and Evolution* published by Blackwell Publishing.
- Guillemaud, T., N. Pasteur, and F. Rousset. 1997. Contrasting levels of variability between cytoplasmic genomes and incompatibility types in the mosquito *Culex pipiens*. *Proc. Biol. Sci.* 264: 245–251.
- Günay F., Alten B., Simsek F., Aldemir A., Linton Y. 2014. V: Barcoding Turkish *Culex* Mosquitoes To Facilitate Arbovirus Vector Incrimination Studies Reveals Hidden Diversity And New Potential Vectors. *Acta Tropica* 143: 112–120.
- Günay, F., B. Alten, F. Simsek, A. Aldemir, and Y.M. Linton. 2015. Barcoding Turkish *Culex* mosquitoes to facilitate arbovirus vector incrimination studies reveals hidden diversity and new potential vectors. *Acta Trop.* 143: 112–120.
- Günay F., 2015. “Türkiye Sivrisinek Faunası Üzerine Dna Barkodlama Yöntemiyle Moleküler Analizler”, Hacettepe Üniversitesi, Doktora Tezi, Ankara.
- Hall, R.D. and Gerhardt, R.R. 2002. Flies (Diptera). In: G.R. Mullen L.A. Durden (Editors), *Medical and Veterinary Entomology*, Academic Press, pp. 127-145, New York.
- Hayes, E.B., N. Komar, R.S. Nasci, S.P. Montgomery, D.R. O’Leary, and G.L. Campbell. 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1167–1173.
- Harbach E. R., 1985. “Pictorial Keys To The Genera Of Mosquitoes, Subgenera Of *Culex* And The Species Of *Culex* (*Culex*) Occuring In Southwestern Asia And Egypt, With A Note On The Subgeneric Placement Of *Culex Deserticola* (Diptera: Culicidae)”. *Mosq. Syst.* 17 (2): 83-107.
- Harbach, RE., 2007. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny *Zootaxa*; 1668: 591-638.



- Heath, B.D., R.D. Butcher, W.G. Whitfield, and S.F. Hubbard. 1999. Horizontal transfer of *Wolbachia* between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism. *Curr. Biol.* 9: 313–316.
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S. Ball, and J.R. deWaard. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 313–321.
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham, and J.R. deWaard. 2003b. Barcoding animal life: CO1 divergences among closely allied species. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 596-599.
- Hemingway, J. and H. Ranson. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 371–391.
- Hemmerter, S, J. Šlapeta, and N.W. Beebe. 2009. Resolving genetic diversity in Australasian *Culex* mosquitoes: incongruence between the mitochondrial cytochrome c oxidase I and nuclear acetylcholine esterase 2. *Mol. Phylogenet. Evol.* 50:317–25.
- Hertig M. 1936. *The rickettsia Wolbachia pipientis (gen.et. sp. n) and associated inclusions of the mosquito, Culex pipiens.* *Parasitol*, 28, 453-486.
- Hubálek, Z. and J. Halouzka. 1999. West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 643–650.
- Hubalek Z. 2008. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol Res*, 103, 29-43.
- James, M. T., Harwood, R. F. 1969. *Herms's Medical Entomology.* (6th Ed.). New York: Macmillan Publishing Co., Inc.
- Jeyaprakash, A. and M.A. Hoy. 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification *wsp* sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol. Biol.* 9: 393-405.
- Kang D. and C. Sim. 2013. Identification of *Culex* complex species using SNP markers based on high-resolution melting analysis. *Mol. Ecol. Res.* 13: 369-376.
- Karami M., S.H. Moosa-Kazemi, M.A. Oshaghi, H. Vatandoost, M.M. Sedaghat, R. Rajabnia, M. Hosseini, N. Maleki-Ravasan, Y. Yahyapour and E. Ferdosi-Shahandashti. 2016. *Wolbachia* Endobacteria in Natural Populations of *Culex pipiens* of Iran and its Phylogenetic Congruence. *J. Arthropod-Borne Dis.* 10: 347–363.
- Kasap H, Alptekin D. 1997. Sivrisinekler, Vektörlükleri ve Kontrolü. Özcel MA, Daldal N. (Ed). Parazitoloji'de Atropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi.
- Katagan, T., A. Tokaç, Ş. Beşiktepe, and B. Öztürk (eds.) 2015. *The Aegean Sea Marine Biodiversity, Fisheries, Conservation and Governance.* Turkish Marine Research Foundation (TUDAV), Publication No: 41, Istanbul, Turkey.
- Keskin E., Atar H.H., 2012, DNA Barkodlama: Mitokondriyal COI Geni Kullanılarak Moleküler Tanımlama, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 6 (2): 01-08.
- Kılıç S., 2015. “Ege Bölgesi’nden Örneklenen *Culex Pipiens* Kompleksi Sivrisinek Populasyonlarında *Ace-1* Genindeki Gly119ser Ve Phe290val

- Mutasyonlarının Saptanması Ve Bu Populasyonların Rapd Belirteçleriyle Karakterizasyonları” Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi.
- Kılıç S., Taşkın V., Doğaroğlu T., Doğaç E., Göçmen Taşkın B., 2019. Genetic characterization of field populations of *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) sampled from the Aegean region of Turkey, Turkish Journal of Zoology, 43: 1-11.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16: 111–120.
- Kothera L., Zimmerman Erin M., Richards Christopher M., Savage Harry M., 2009. Microsatellite Characterization of Subspecies and Their Hybrids in *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) Mosquitoes Along a North–South Transect in the Central United States, J. Med. Entomol. 46(2): 236, 248.
- Kothera L., Godsey Marvin S., Jr., Doyle Michael S., Savage Harry M., 2012. Characterization of *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) Populations in Colorado, USA Using Microsatellites, PLoS ONE 7(10): e47602.
- Kothera L., Brittany M.N., William K.R., Harry M.S., 2013. ‘Population Genetic and Admixture Analyses of *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) Populations in California, United States’ Am. J. Trop. Med. Hyg., 89(6), pp. 1154–1167.
- Krawczak M Ve J. S. 1998. DNA Fingerprinting, 2nd Edn. BIOS Scientific Publishers, New York, 128 P.
- Krebs, 2010. Dispersal of adult *Culex* mosquitoes in an urban west Nile virus hotspot: a mark-capture study incorporating stable isotope enrichment of natural larval habitats.
- Krzywinski, J. and N.J. Besansky. 2003. Molecular systematics of *Anopheles*: from subgenera to subpopulations . Annu. Rev. Entomol. 48: 111–139.
- Kuçlu Ö. Ve Dik B. 2018. Mosquito (Diptera: Culicidae) Fauna of Western Black Sea Region of Turkey. Turkiye Parazitolojisi Dergisi; 42: 138-43.
- Kumar N.P., A.R. Rajavel, R. Natarajan, and P. Jambulingam. 2007. DNA barcodes can distinguish species of Indian mosquitoes (Diptera:Culicidae). J. Med. Entomol. 44: 1-7.
- Low, V.L., P.E. Lim, C.D. Chen, Y.A.L. Lim, T.K. Tan TK, Y. Norma-Rashid, H.L. Lee, and M. Sofian-Azirun. 2013. Mitochondrial DNA analysis reveal low genetic diversity in *Culex quinquefasciatus* from residential areas of Malaysia. Med. Vet. Entomol. 28: 157–168.
- May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett AD. 2011. Phylogeography of West Nile virus; from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and The Americas. J Virol 85(6): 2964-2974.
- Marshall F. J., 1938. “The British Mosquitoes”, Johnson Reprint Corporation, London, 332p.
- Marquardt W. C., 2004. *Biology Of Disease Vectors*, 2nd. Edition, Elsevier Academic Press,141 – 151.

- Mer G., 1931. "Notes On The Bionomics Of *Anopheles Elutus*, Edw. (Diptera:Culicidae)" Bull. Ent. Res, London., 22: pt. 1, 137-145.
- Merdivenci, A., 1984. Türkiye Sivrisinekleri, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Rektörlük No:3215 Dekanlık No:136, Pp: 354.
- Morçişek B., Gocmen Taskin B., Doğaç E., Doğaroğlu T., and Taskin V., 2018. Evidence of natural *Wolbachia* infections and molecular identification of field populations of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) mosquitoes in western Turkey, Journal of Vector Ecology 43 (1): 44-51.
- Morse, S.S., 1996, Emerging Viruses – "Evolutionary Relationships Of Vectors And Viruses" By B.F. Eldridge, Oxford University Press, USA, 352pp.
- Morais, S.A., F. Almeida, L. Suesdek, and M.T. Marrelli. 2012. Low genetic diversity in *Wolbachia*-infected *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Brazil and Argentina. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 54: 325–329.
- Nasci, R.S. and B.R. Miller. 1996. Culicine mosquitoes and the agents they transmit. In: B.J. Beaty and W.C. Marquardt (eds.) *The Biology of Disease Vectors*. Niwot, CO. University of Colorado Press. pp. 85–97.
- Nurray KO, Mertens E, Despres P. 2010. West Nile virus and its emergence in the United States of America. Vert Res 41(6): 67.
- Oshaghi M. A., Shemshad K., Yaghobi-Ershadi M. R., Pedram M., Vatandoost H., Abaie M. R., Akbarzadeh K., Mohtarami F., 2007. Genetic Structure Of The Malaria Vector *Anopheles Superpictus* In Iran Using Mitochondrial Cytochrome Oxidase (COI And COII) And Morphologic Markers: A New Species Complex?, *Acta Tropica*, 101, 241–248.
- Orszagh I. 2001. *Culex martinii* Medschid (Diptera, Culicidae) in Slovakia. Acta Zoologica Universitatis Comenianae, Vol 44: 75-8.
- Öter, K., 2007. İstanbul'da Görülen Sivrisinek Türlerinin Tespiti. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji ABD, Doktora Tezi. İstanbul.
- Özer N. 2005. Emerging Vector-Borne Diseases In A Changing Environment. *Turk J Biol*. 29: 125-135.
- Parrish D., 1959. The Mosquitoes Of Turkey, *Mosquito News*, 19, 4, 264–266.
- Pesole, G; Gissi, C; De Chirico, A; Saccone, C. 1999. "Nucleotide Substitution Rate Of Mammalian Mitochondrial Genomes". Journal Of Molecular Evolution, 48(4), Pp. 427 – 434.
- Pradeep, A., Sampath, B., & Ma, W. 2015. Global Stability Of A Delayed Mosquito-Transmitted Disease Model With Stage Structure. *Electronic Journal of Differential Equations*, 2015.
- Postiglione M., Tabanlı B., Ramsdale C. D., 1973. The *Anopheles* Of Turkey, *Rivista Di Parassitologia*, 34, 2, 27–159.
- Ramsdale, C. D., Snow K.R., 1995. Mosquito Control In Britain, University Of East London, The KPC Group, Pp: 100.
- Ramsdale C. D., Alten B., Çağlar S. S., Özer N., 2001. A Revised, Annotated Checklist Of The Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Of Turkey, European

Mosquito Bulletin, 9:18-27.

- Rasgon, J.L. and T.W. Scott. 2003. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in the California *Culex pipiens* mosquito species complex: parameter estimates and infection dynamics in natural populations. *Genetics* 165: 2029–2038.
- Rasgon, J.L., A.J. Cornel, and T.W. Scott. 2006. Evolutionary history of a mosquito endosymbiont revealed through mitochondrial hitchhiking. *Proc. Biol. Sci.* 273: 1603–1611.
- Reiter P. 2010. West Nile virüs in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveill* 15: 19508.
- Rozendaal, J.A., 1997. Vector control: Methods for use by individuals and communities, World Health Organization, Geneva, 412pp.
- Rueda LM. 2008. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. *Hydrobiologia*; 595: 477-87.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- Saunders GW. 2005. Applying DNA Barcoding To Red Macroalgae: A Preliminary Appraisal Holds Promise For Future Applications. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences.* 360:1879-1888.
- Seifert KA, Samson RA, Dewaard JR, Houbraeken J, Levesque CA, Moncalvo JM, Louis-Seize G, Hebert PDN. 2007. Prospects For Fungus Identification Using CO1 DNA Barcodes, With *Penicillium* As A Test Case. *Proceedings Of The National Academy Of Science Of The United States Of America.* 104:3901-3906.
- Ser, O. and Cetin, H. 2015. Toxicity of mosquito larvicides on non-target mosquito predator insect, backswimmer (*Notonecta* sp.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 24 (1): 311-6.
- Serbus, L.R., C. Casper-Lindley, F. Landmann, and W. Sullivan. 2008. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu. Rev. Genet.* 42: 683–707.
- Service W. M., 1993. “The Anopheles Vector. In: Gilles”, H. M. And Warrell, D. A. (eds), *Bruce-Chwatt’s Essential Malariology*, Third Edition, London, 96–123 pp.
- Shaikevich E.V., Vinogradova E. B., Platonov A. E. Karan L. S Zakharov I. A., 2005. Polymorphism Of Mitochondrial DNA And Infection With Symbiotic Cytoplasmic Bacterium *Wolbachia Pipientis* In Mosquitoes Of The *Culex Pipiens* (Diptera, Culicidae) Complex From Russia. *Russian Journal Of Genetics*, 41, (3), 244–248.
- Shaikevich E.V. 2007. PCR-RFLP Of The *COI* Gene Reliably Differentiates *C. Pipiens*, *C. Pipiens F. Molestus* And *C. Torrentium* Of The *Pipiens* Complex. *Eur. Mosq. Bull.* 23: 25–30
- Shaikevich E.V, Ve Zakharov I.A. 2010. Polymorphism Of Mitochondrial *COI* And Nuclear Ribosomal *ITS2* In The *Culex Pipiens* Complex And In *Culex Torrentium* (Diptera: Culicidae). *Comparative Cytogenetics*, .4: 161-174.

- Shaikevich, E.V., E.B. Vinogradova, A. Bouattour, and A.P. Gouveia de Almeida. 2016. Genetic diversity of *Culex pipiens* mosquitoes in distinct populations from Europe: contribution of *Cx. quinquefasciatus* in Mediterranean populations. *Parasit. Vectors* 9: 47.
- Sharma, A.K., M.J. Mendki, S.N. Tikar, G. Kulkarni, V. Veer, S. Prakash, Y.S. Souche, and B.D. Parashar. 2010. Molecular phylogenetic study of *Culex quinquefasciatus* mosquitoes from different geographical regions of India using 16S rRNA gene sequences. *Acta Trop.* 116: 89-94.
- Shearer TL, Oppen MJ, Romano SL, Wörheide G. 2002. Slow Mitochondrial DNA Sequence Evolution In The Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Ecology.* 11:475-87.
- Singh, O.P., D. Chandra, N. Nanda, K. Raghavendra, S. Sunil, S. K. Sharma, V.K. Dua, and S.K. Subbarao. 2004. Differentiation of members of *Anopheles fluviatilis* species complex by an allele specific polymerase chain reaction based on 28S ribosomal DNA sequences. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70: 27-32.
- Sinkins, S.P. and S.L. O'Neill. 2000. *Wolbachia* as a vehicle to modify insect populations. In: A.A. James (ed.) *Insect Transgenesis: Methods and Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 271-288.
- Sinkins, S.P. 2004. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34: 723–729.
- Smith, D.R. 1991. *Mitochondrial DNA And Honey Bee Biogeography*, CO Westview, 176s.
- Smith, J.L. and D.M. Fonseca. 2004. Rapid assays for the identification of members of the *Culex (Culex) pipiens* complex their hybrids and other sibling species (Diptera: Culicidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70: 339–345.
- Smith J.L., Keyghobadi N., Matrone Michael A., Escher Richard L. And Fonseca Dina M. 2005. Cross-species comparison of microsatellite loci in the *Culex pipiens* complex and beyond, *Molecular Ecology Notes* 5, 697–700.
- Smith, M.A., C. Bertrand, K. Crosby, E.S. Eveleigh, J. Fernandez-Triana, B. L. Fisher, J. Gibbs, M. Hajibabaei, W. Hallwachs, K. Hind, J. Hreck, W. Huang, M. Janda, D.H. Janzen, Y. Li, S.E. R. Rougerie, M.R. Shaw, C. Sheffield, J.K. Stahlhut, D. Steinke, J. Whitfield, M. Wood, and X. Zhou. 2012. *Wolbachia* and DNA Barcoding insects: patterns, potential, and problems. *PLoS One* 7: e36514.
- Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. 1940. Neurotropic virus isolated from blood of native of Uganda. *Am J Trop Med* 20: 471-492.
- Sunish, I.P., R. Rajendran, R. Paramasivan, K.J. Dhananjeyan, and B.K. Tyagi. 2011. *Wolbachia* endobacteria in a natural population of *Culex quinquefasciatus* from filariasis endemic villages of south India and its phylogenetic implication. *Trop. Biomed.* 28: 569–576.
- Spencer M, Blaustein L, Cohen JE 2002. Oviposition habitat selection by mosquitoes (*Culiseta longiareolata*) and consequences for population size. *Ecology*, 83(3):669-679.
- Şekercioğlu Ç. H., Anderson S., Akçay E., Bilgin R., Can Ö. E., Semiz G., Tavşanoğlu Ç., Yokeş M. B., Soyumert A., Ipekdal K., Sağlam I. K., Yücel

- M., Nüzhet Dalfes H., 2011 Turkey's Globally Important Biodiversity In Crisis, *Biological Conservation*, 144, 12., 2752–2769.
- Talbalaghı A., Shaikevich V. 2011. Molecular Approach For Identification Of Mosquito Species (Diptera: Culicidae) In Province Of Alessandria, Piedmont, Italy. *Eur. J. Entomol.* 108: 35–40.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. ve Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) using maximum likelihood , evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Mol Biol Evol*, 28: 2731-2739.
- Tamura, K., G., Stecher, D. Peterson, A. Filipiski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725–2729.
- Taşkesen H. O., 2010. Denizli Tavuk Populasyonunda Mitokondriyal Dna D-Loop Polimorfizmi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Tomlin, C.D.S. (Ed). 1997. The Pesticide Manual, 11th Ed. British Crop. Protection Council, UK.
- Tsai, T.F. and C.J. Mitchell. 1989. St. Louis encephalitis. In: T.P. Monath (eds). *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Boca Raton, FL. CRC Press. pp. 113–143.
- Tsai TF. Flavivirüs. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds), 2000. Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition, NewYork: Churchill Livingstone, 1714-1736.
- Turell, M.J., M.L. O'Guinn, D.J. Dohm, and J.W. Jones. 2001. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J. Med. Entomol.* 38: 130–134.
- Tüzün N., 2010. “Datça Yarımadası’ndaki Sivrisinek Türleri Ve Üreme Alanları”, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Tzen, C, Wu, T., And Liu, H. 2001. "Sequence Polymorphism In The Coding Region Of Mitochondrial Genome Encompassing Position". 8389-8865. *Forensic Science International* 120. (3): 204-209.
- Vınogradova E. B., Shaikevich Elena V Morphometric, (2007). Physiological And Molecular Characteristics Of Underground Populations Of The Urban Mosquito *Culex Pipiens* Linnaeus F. *Molestus* Forskål (Diptera: Culicidae) From Several Areas Of Russia. *European Mosquito Bulletin*, 22: 17-24.
- Yetişmiş G., Düzlü Ö., Yıldırım A., Çiloğlu A., Önder Z., İnci A., 2018. Sultan Sazlığı yöresinde sivrisinek türlerinde *Wolbachia* endobakterisinin moleküler yöntemlerle araştırılması ve genotiplendirilmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 65, 229-237, 2018.
- Yıldırım, A., A. İnci, O. Duzlu, Z. Onder, and A. Ciloglu. 2013. Detection and molecular characterization of the *Wolbachia* Endobacteria in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) specimens collected from Kayseri province of Turkey. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 60: 189-194.

- Wang, G., C. Li, X. Guo, D. Xing, Y. Dong, Z. Wang, Y. Zhang, M. Liu, Z. Zheng, H. Zhang, X. Zhu, Z. Wu, and T. Zhao. 2012. Identifying the main mosquito species in China based on DNA barcoding. *PLoS One* 7: e47051.
- Waugh J. 2007. DNA Barcoding In Animal Species: Progress, Potential And Pitfalls. *Bioessays*. 29:188-197.
- Werblow, A., S. Klimpel, S. Bolius, A.W.C. Dorresteijn, J. Sauer, and C. Melaun. 2014. Population structure and distribution patterns of the sibling mosquito species *Culex pipiens* and *Culex torrentium* (Diptera: Culicidae) reveal different evolutionary paths. *PLoS One* 9: e102158.
- Werren, J.H. and D.M. Windsor. 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects: Evidence of a global equilibrium? *Proc. Biol. Sci.* 267: 1277-1285.
- Werren, J.H., L. Baldo, and M.E. Clark. 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 741–751.
- WHO. 1980. Technical Report Series 649: Environmental Management For Vectorcontrol. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1982a. Interim Document 9: Toxicology Of Pesticides. World Health Organization, Regional Office For Europe, Copenhagen.
- WHO. 1982b. Manual On Environmental Management For Mosquito Control. WHO Offset Publication No:66. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1982c. Technical Report Series 679: Biological Control Of Vectors Of Disease. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1983a. Operational Use Of *Bacillus Thuringiensis* Serotype H-14 And Environmental Safety. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1983b. Technical Report Series 688: Integrated Vector Control. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1988. Technical Report Series 767: Urban Vector And Pest Control. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1990a. Equipment For Vector Control, Third Ed. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1990b. Technical Report Series 791: Pesticide Application Equipment For Vector Control. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 1997. Chemical Methods For The Control Of Vectors And Pests Of Public Health Importance. Chavasse, D.C. And Yap, H.H. (Es). World Health Organization.
- WHO. 1997.2. Chemical Methods For The Control Of Vectors And Pests Of Public Health Importance Chavasse, D.C. And Yap, H.H. (Es). World Health Organization.
- Zabalou, S., M. Riegler, M. Theodorakopoulou, C. Stauffer, C. Savakis, and K. Bourtzis. 2004. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101: 15042–15045.

Zhou, W., F. Rousset, and S. O'Neill. 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. Proc. R. Soc. London, Ser. B 265: 509–515.

Zischler H; Gelsert H; Von Haeseler A; Paabo S. 1995. "A Nuclear 'Fossil\* Of The Mitochondrial D-Loop And The Origin Of Modern Humans". Nature, 378,489-492





## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Burçin MORÇİÇEK  
Uyruk : T.C.  
Doğum Yeri ve Tarihi: Bandırma - 23/09/1992  
Medeni Hali : Bekar  
E-posta : burcinmorcicek@gmail.com

### Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Kemal Pireci Lisesi	2010
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2014
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2019

### İş Tecrübesi

Yıl	Yer/ Şirket	Pozisyon/görev
2016 -	İzmir - GüneyTıp Tıbbi Cihazlar Kimyevi Madde Laboratuvar ve Cihazları	Klinik Destek Uzmanı

### Bilimsel Faaliyetler

1. Burçin Morçicek, Belgin Göçmen Taşkın, Ersin Doğaç, Taylan Doğaroğlu, Vatan Taşkın. DNA Barcoding and Detection of the *Wolbachia* Infections in the *Culex* Species Collected from Aegean Region of Turkey. International Second Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), Mayıs 2016, Antalya - Türkiye.

### Yayımlar

1. Burçin Morçicek, Belgin Gocmen Taskin, Ersin Doğaç, Taylan Doğaroğlu, and Vatan Taskin. 2018. Evidence of natural *Wolbachia* infections and molecular identification of field populations of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) mosquitoes in western Turkey, Journal of Vector Ecology 43 (1): 44-51.