

T. C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ARAS HAVZASI'NDAKİ SİVRİSİNEK (DIPTERA: CULICIDAE)
TÜRLERİNİN KONAK TÜR TERCİHLERİNİN REVERSE LINE
BLOTTING TEKNİĞİ İLE TESPİT EDİLMESİ**

(DOKTORA TEZİ)

Biyolog Hilal BEDİR

Danışman

Prof. Dr. Zati VATANSEVER

II. Danışman

Yrd. Doç. Dr. Berna DEMİRCİ

ARALIK-2015

KARS

Bu tez çalışması 114Z011 numaralı proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir

T. C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ARAS HAVZASI'NDAKİ SİVRİSİNEK (DIPTERA: CULICIDAE)
TÜRLERİNİN KONAK TÜR TERCİHLERİNİN REVERSE LINE
BLOTTING TEKNİĞİ İLE TESPİT EDİLMESİ

(DOKTORA TEZİ)

Biyolog Hilal BEDİR

Danışman

Prof. Dr. Zati VATANSEVER

II. Danışman

Yrd. Doç. Dr. Berna DEMİRCİ

ARALIK-2015






KARS

KABUL ONAY SAYFASI

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Hilal BEDİR'in Prof. Dr. Zati VATANSEVER'in danışmanlığında Doktora tezi olarak hazırladığı "Aras Havzası'ndaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Konak Tür Tercihlerinin Reverse Line Blotting Yöntemi İle Tespit Edilmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy...~~kr.ı~~..... ile kabul/~~red~~ edilmiştir.

Tarih

23.12.2015

	Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Mükremin Özkan ARSLAN	
Üye	: Prof. Dr. Zati VATANSEVER	
Üye	: Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK	
Üye	: Doç Dr. Esin GÜVEN	
Üye	: Yrd. Doç Dr. M. Mustafa AKINER	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../200. gün ve.../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL
Enstitü Müdürü



O hep gülerdi; yüzünün hiçbir çizgisini değiştirmeyen, fakat bir nehir coşkusuyla dökülen bir gülüşü vardı, hayat doluydu.

Değerli hocam bizleri aydınlatınız, ilham verdiniz, hedefi gösterdiniz, yolu gösterdiniz, bize biz olmayı öğrettiniz.

Şimdi aynı gökyüzü altında ayrı olsak bile, umutlarımızı kaybetmedik. Öğrencileriniz olarak sizi asla unutmayacağız ve daima yaşatacağız.

Değerli bilim adamı, Sayın Doç. Dr. Adnan ALDEMİR’i sevgi ve özlemlerle anıyoruz...

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK'a, tezimin yazım aşamasında yardımını benden esirgemeyen Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kemal ALTUNOĞLU'na,

Doktora eğitimim süresince karşılaştığımız her probleme pratik zekâsıyla çözümler üreten, bilimsel bilgisini ve maddi desteğini benden esirgemeyen, önerileriyle beni yönlendiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum ve çok sevdiğim danışman hocam, özgür ruhlu bilim adamı, Sayın Prof. Dr. Zati VATANSEVER'e

Tezimin proje olarak desteklenmesinde ve laboratuvar çalışmalarımı yapmamda bana yardımcı olan, çalışkanlığı ve bilgisi ile bana azim aşıl原因, yol gösteren, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen, bu hayattaki en güzel şansım ve eş danışmanım, sıra dışı bilim kadını, Sayın Yrd. Doç. Dr. Berna DEMİRCİ'ye,

Tanıdığım günden beri her zaman yanımda olan, tez izleme komitemde de yer alıp bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yardımcı olan, çok sevdiğim ve saygı duyduğum değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Mükremin Özkan ARSLAN'a,

Tez çalışmalarım sırasında bana güven aşıl原因 ve her zaman yanımda olduğuna inandığım değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Barış SARI'ya,

Neşeli ve sıcak bir ortamda çalışmalarımı yaptığım için Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Atila AKÇA, Sayın Yrd. Doç. Dr. Gencay Taşkın TAŞCI, Öğr. Gör. Neslihan GÜNDÜZ ve Arş. Gör. Nilgün PARMAKSIZOĞLU'na,

Doktora tez çalışmalarımda ihtiyacım olduğunda laboratuvar malzemelerini kullanmama izin veren, yardım ve desteklerini benden esirgemeyen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Salih OTLU, Sayın Prof. Dr. Mitat ŞAHİN, Sayın Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ, Sayın Yrd.

Doç. Dr. Fatih BÜYÜK ve çok değerli dostlarım Sayın Yrd. Doç.Dr. Aliye SAĞLAM GÜLMEZ ve Arş. Gör. Elif ÇELİK'e,

Tez çalışmalarım süresince sıklıkla yapmak zorunda kaldığım arazi çalışmalarında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ, Yrd. Doç. Dr. Hamit USLU, Uzm. Bio. Mehmet Nuri YILMAZ, Kenan ALAGÖZ'e,

Laboratuvar çalışmalarında yardımını ve desteğini benden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ'e

Arazi çalışmalarımı yapmamda bana yardımcı olan ve kalacak yer imkânı sağlayan Kuzeydoğa Derneği çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmalarında kontrol amaçlı kullanmak için ihtiyacım olan hayvan kanlarını temin eden Sayın Doç. Dr. Erdoğan UZLU ve Sayın Doç. Dr. Ali Haydar KIRMIZIGÜL'e,

Benim için çok değerli ve her zaman minnettar kalacağım Necmi DEMİRCİ, Nazangül DEMİRCİ, Yrd. Doç. Dr. Niyazi Savaş DEMİRCİ ve Feyzan DEMİRCİ'ye,

Tanıdığım günden beri her zaman yanımda olan değerli dostlarım Arş. Gör. Gül Esmâ AKDOĞAN, canım öğretmenim Şule AKDOĞAN, Uzm. Bio. Sedat İNAK'a,

Varlıklarıyla bana güç veren değerli arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. İnan KAYA, Uzm. Müge MAVİOĞLU KAYA, Arş. Gör. Ruhşen ALDEMİR, Yrd. Doç. Dr. Buğra AKBABA,, Yrd. Doç. Dr. Neslihan MUTLU ve Dr. Özge KUÇLU'ya,

Hayatım boyunca sonsuz sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen canım aileme teşekkür ederim.

KARS 2015

Hilal BEDİR

İTHAF

Bu tez çalışmasını Yüksek Lisans ve Doktora eğitimim boyunca bana emeği geçen değerli danışman hocalarım, Sayın Doç. Dr. Adnan ALDEMİR, Sayın Prof. Dr. Zati VATANSEVER ve Yrd. Doç. Dr. Berna DEMİRÇİ'ye ithaf ediyorum.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
RESİMLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
HARİTALAR DİZİNİ.....	xix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Sivrisineklerin Sınıflandırılması	4
2.2 Sivrisineklerin Vektörel Önemi	5
2.3 Sivrisineklerde Konak Tercihi ve Konak Tercihinin Evrimi	11
2.4 Konak Tercihini Etkileyen Faktörler.....	12
2.4.1 Genetik Faktörler.....	12
2.4.2 Fenotipik Plastisite ve Öğrenme.....	13
2.4.3 Coğrafi Bölge	16
2.4.4 İklimsel Faktörler	17
2.4.5 Mikrohabitat	18
2.4.6 Konak ile İlişkili Faktörler.....	18
2.4.6.1 Konak Bulunabilirliği.....	18
2.4.6.2 Konak Yoğunluğu ve Konakların Zamansal Dağılımları	19
2.4.6.3 Konakların Savunma Davranışları	20
2.4.7 Sivrisineklerde Konak Arama, Kan Emme ve Yumurtlama Davranışı	21
2.4.8 Kan Emme Başarısı ve Çoklu Beslenme Davranışı	23

2.4.9 Kanın Besinsel Değeri ve Sindirimin Maliyeti	24
2.5 Konak Tercihinde Tanı Yöntemleri	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1 Çalışma Alanı ve Genel Özellikleri	28
3.2 Çalışma Alanının İklimi	28
3.3 Sivrisineklerin Örneklenmesi	31
3.4 Laboratuvar Çalışmaları	34
3.4.1 Sivrisineklerin PZR-RLB için hazırlanması ve saklanması	34
3.5 Moleküler Çalışmalar	34
3.5.1 Klasik Yöntem DNA İzolasyonu	34
3.5.2 Kit Yöntemi ile DNA İzolasyonu	35
3.5.3 Genomik DNA Konsantrasyonunun Tespiti	36
3.5.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	36
3.5.5 PZR Ürünlerinin Elektroforezi	37
3.5.6 Reverse Line Blot (RLB) Hibridizasyon Tekniği	38
3.5.6.1 Prob Dizaynı	38
3.5.6.2 RLB'de Kullanılan Materyaller	38
3.5.6.3 RLB'de Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması	39
3.5.6.4 Biodin-C Membranın Hazırlanması	40
3.5.6.5 PZR Ürünlerinin Oligonükleotidlerle Hibridizasyonu	42
3.5.6.6. Biodin-C Membranın Yıkınması	44
3.6 Sivrisineklerin Mevsimsel Konak Tür Tercih İndeksleri	45
4. BULGULAR	46
4.1 Sivrisineklerin Tür Tayini	47
4.2 PZR Bulguları	47
4.3 RLB Bulguları	49

4.4 PZR-RLB Tekniğinde Karşılaşılan Problemler	60
4.5 Sivrisineklerin Mevsimsel Konak Tür Tercihleri	61
5. TARTIŞMA	66
6. KAYNAKLAR	76
7. ÖZGEÇMİŞ.....	114



ÖZET

Doğal sistemlerde sivrisineklerin konak tür tercihlerinin belirlenmesi patojen-vektör-konak üçlüsü arasındaki karmaşık ekolojik ve evrimsel ilişkilerin aydınlatılması ve vektör kaynaklı hastalıkların kontrolünde önemlidir. Sivrisineklerde konak tercihinin genetik temelli olmasına rağmen, konak türlerinin bulunabilirliğine ve ulaşılabilirliğine göre bu konak tercih durumu esneklik gösterebilir.

Bu tez çalışması 2012-2013 yılları arasında sivrisinek üreme dönemlerinde, Aras Havzası'ndan örneklenmiş sivrisinek türlerinin konak tür tercihlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) temelli, Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi kullanılarak tespit edilmesi amaçlanmıştır. Konak tercihinin belirlenmesine yönelik bu çalışma, Aras Havzası'ndan toplanan sivrisineklerle ilk kez yapılmıştır. Toplanan kan emmiş dişi sivrisineklerin abdomeninden elde edilen DNA'lara, omurgalıların 344 baz çiftlik sitokrom b bölgelerini amplifiye eden biotin ile işaretlenmiş genel primerler ile PZR yapılmıştır. PZR sonucu pozitiflik veren 7 farklı sivrisinek türünden toplam 916 bireyin konak tercihleri Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi ile tespit edilmiştir.

PZR-RLB hibridizasyon analizlerine göre, pozitif sonuç veren 654 bireyin 323 (%49,4)'ünün tek konak üzerinden beslendiği bulunmuştur. Tek konak üzerinden beslenen sivrisineklerin 219 (%68) tanesinin insan, 97 (%30,1) tanesinin sığır, 5 (%1,5) tanesinin koyun, 1 (%0,3) tanesinin at ve 1 (%0,3) tanesinin güvercin konakları üzerinden beslendiğini tespit edilmiştir. Diğer 331 (%50,6) bireyin karışık beslendiği, 290 (%44,3) tanesinin iki, 30 (%4,6) tanesinin üç, 10 (%1,6) tanesinin dört ve 1 (%0,15) tanesinin de beş konak türü üzerinden beslendikleri belirlenmiştir.

Bu çalışma ile alanda bulunan sivrisineklerin insan üzerinden beslenme oranlarının oldukça fazla olduğu, bu durumun sivrisinek kaynaklı patojenlerin bulaşım ve yayılımında ciddi problemlere neden olabileceği öngörülmektedir. Alanda sivrisinek kaynaklı hastalık bulaşımından kaçınmak ya da azaltmak için herhangi bir koruyucu önlem alınmaması bu sonucu doğurmaktadır. Çalışma sonucu olarak alanda sivrisinek kaynaklı hastalıkların araştırılmasının aciliyeti gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Vektör kaynaklı hastalıklar, Aras Havzası, sivrisinekler, konak tür seçimi, Reverse Line Blotting

ABSTRACT

In natural systems, detection of host preferences of mosquito species is important to clear up the ecological and evolutionary relationships between pathogen-vector-host and control of vector-borne diseases. Despite the fact that the host preference in mosquitoes is genetic it also shows flexibility due to availability and accessibility of host species.

In this project we aimed determination of host preference of the mosquito species of Aras Valley via blood meal analysis using the Polymerase Chain Reaction (PCR) based Reverse Line Blotting method. The proposed study aimed the determination of host preference of mosquito species in this location is done for the first time. DNA, extracted from blood fed mosquitoes collected from the field, were subjected to PCR with biotin labeled universal primers that amplify the 344 base pair cytochrome b gene region. Bloodmeal sources identified from 916 mosquitoes representing 7 different species by Reverse Line Blotting (RLB).

According to the Reverse Line Blotting (RLB) hybridization results of 654 polymerase chain reaction positive individuals, it was observed that 323 (%49,4) of the mosquitoes fed on single hosts. From these single hosts, it was determined that 219 (%68) fed on human, 97 (%30,1) fed on cow, 5 (%1,5) fed on sheep, 1 (%0,3) fed on equus and 1 (0,3) fed on pigeon. It was determined that other 331 (%50,6) individuals preferred fed on multiple hosts and 290 (%44,3) of them took double, 30 (%4,6) of them took triple, 10 (%1,6) of them took quadruple and 1 (%0,15) them took quintette blood meal.

In this study it was shown that blood feeding habits of mosquitoes on human is quite high in this area and therefore, this may cause a high risk for transmission and spread of the mosquito-borne pathogens to humans. This may be the consequence of humans not taking any precaution to avoid or to reduce the contact with mosquitoes. As a result, this study shows the urgent requirement of investigating mosquito-borne diseases in this area.

Key words: Vector borne diseases, Aras River Basin, mosquitoes, host species choice, Reverse Line Blotting

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>An.</i>	<i>Anopheles</i>
<i>Oc.</i>	<i>Ochlerotatus</i>
<i>Ae.</i>	<i>Aedes</i>
<i>Cx.</i>	<i>Culex</i>
<i>Cs.</i>	<i>Culiseta</i>
S.l.	Sensu Lato
<i>D.</i>	<i>Drofilaria</i>
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
<i>G.</i>	<i>Glossina</i>
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RLB	Reverse Line Blotting
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ITS2	Second Internal Transcribed Spacer
BNV	Batı Nil Virüsü
HI	Hemaglutinasyon İnhibisyon
RVF	Rift Valley Fever
RVFV	Rift Valley Fever Virus
WHO	World Health Organization
ITN	Insecticide Treated Nets
IRS	Indoor Residual Spraying

HBI	Human Bait Index
FR	Forage Ratio
FI	Feeding Index
ADP	Adenosine diphosphate
ATP	Adenosine 3'-triphosphate
Mm	Milimetre
mtDNA	Mitochondrial DNA
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Cytb	Cytochrome b
COI	Cytochrome oxidase I
TRFLP	Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism
°C	Santigrat Derece
Km	Kilometre
M	Metre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
PBS	Phosphate Buffer Saline
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELB	Erythrocytes Lysis Buffer
Dk	Dakika
Nm	Nanometre

DNTP	Deoksinükleosid trifosfat
TBE	Tris-Borate-EDTA
G	Gram
Bp	Base pair
UV	Ultraviyole
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
EDAC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide
ECL	Electro Chemi Luminescence
GK	Genel Kuş Türleri
TRF	Terminal Restriction Fragment
S	Sayı
A	Adenine
C	Cytosine
G	Guanine
T	Thymine

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 2012-2013 yıllarına ait Iğdır ili sıcaklık grafiği	29
Şekil 3.2 2012-2013 yıllarına ait Iğdır ili yağış grafiği	30
Şekil 3.3 Tür-spesifik oligonükleotidlerin membrana tutturulması	41
Şekil 3.4 Oligonükleotidler ve PZR ürünlerinin membrana uygulanış şekli	43
Şekil 3.5 Hibridizasyonun oluşması ve sinyallerin görüntülenmesi	44
Şekil 4.1 100 baz çiftlik marker kullanılarak pozitif ve negatif kontrollerle birlikte yürütülmüş bazı örneklerin 344 baz çiftlik jel görüntüleri	49
Şekil 4.2 Sivrisinek türlerinin kan konaklarına ait tür-spesifik oligonükleotidlerin, biotin işaretli PZR ürünleri ile hibridizasyonu.	49
Şekil 4.3 2012-2013 yılları arasında Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin, PZR-RLB analiz sonuçlarına göre konak tür tercih indeksleri	63
Şekil 4.4 Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin, PZR-RLB analiz sonuçlarına göre mevsimsel konak tür tercih indeksleri.....	64

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1 Örneklemenin yapıldığı yarı açık kümes.....	31
Resim 3.2 Örneklemenin yapıldığı açık alan	32
Resim 3.3 Örneklemenin yapıldığı açık alan	32
Resim 3.4 Örneklemenin yapıldığı yarı açık ahır	33
Resim 3.5 Örneklemenin yapıldığı ahır önü	33
Resim 3.6 PZR ürünlerinin buz üzerinde denatürasyonu ve membrana yüklenişi	43



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 RLB hibridizasyon tekniğinde kullanılan oligonükleotidler, sekansları ve sulandırma konsantrasyonları	41
Çizelge 4.1 2012-2013 yılları arasında tuzaklanan sivrisineklerin örnekleme yerleri, yükseklik ve koordinatları	46
Çizelge 4.2 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları süresince örneklenen sivrisinek türleri, sayıları ve örnekleme lokaliteleri	48
Çizelge 4.3 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>An. maculipennis</i> s.l. türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri	51
Çizelge 4.4 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>An. hyrcanus</i> türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri.....	52
Çizelge 4.5 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>Ae. caspius</i> türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri	53
Çizelge 4.6 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>Ae. vexans</i> türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri.....	54
Çizelge 4.7 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>Cx. theileri</i> türüne ait bireylerin tercih ettikleri konak türler ve beslenme şekilleri	55
Çizelge 4.8 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>Cx. pipiens</i> türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri	56
Çizelge 4.9 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen <i>Cs. annulata</i> türüne ait bireylerin tercih ettikleri konak türler ve beslenme şekilleri.....	56
Çizelge 4.10 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türleri ve beslenme şekilleri.....	57
Çizelge 4.11 PZR-RLB ile analiz edilen tek konak tercihlisi sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türleri.....	57
Çizelge 4.12 PZR-RLB ile analiz edilen iki konak tercihlisi sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler.....	58

Çizelge 4.13 PZR-RLB ile analiz edilen üç konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler.....	59
Çizelge 4.14 PZR-RLB ile analiz edilen dört ve beş konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler	60
Çizelge 4.15 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türlerinin konak tür tercih indeksleri	63
Çizelge 4.16 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türlerinin mevsimsel konak tür tercih indeksleri.....	65



HARİTALAR DİZİNİ

Harita 4.1 Sivrisineklerin örnekleme istasyonları.....	46
---	----



1.GİRİŞ

Artropod kaynaklı viral, bakteriyel ve paraziter hastalıklar sivrisinekler, keneler ve yakarcalar gibi kan emerek beslenen atropodlar tarafından bulaştırılır. Sivrisinekler tıpkı diğer kan emen atropodlar gibi yumurtalarını olgunlaştırmak için kana ihtiyaç duyarlar ve bunu insan ve/veya hayvan gibi çeşitli konakları kullanarak elde ederler.

Sivrisinek türleri genellikle genetik temelli olan konak tercihlerine göre, seçici konakçı veya genel konakçı olarak kategorize edilirler[1]. Seçici konakçı olarak sadece hayvanlardan kan emen sivrisinekler zoofilik, sadece insandan kan emen sivrisinekler antropofilik, genel konakçı olarak hem hayvan hem de insandan kan emen sivrisinekler zoo-antropofilik, kuşlardan kan emen sivrisinekler ornitofilik, kurbağa ya da sürüngenlerden kan emen sivrisinekler ise batrokofilik olarak adlandırılırlar.

Seçici konakçı sivrisinek türlerin sayısının fazlalığı, çok fazla ulaşılabilir kaynak varken neden sadece limitli kaynakların seçildiği paradoksunu da beraberinde getirir. Bu tür bir beslenmenin, farklı konaklar üzerinden beslenildiğinde elde edilen enerjinin sınırlı konaklar seçildiğinde elde edilen enerjiden daha az olduğu gibi durumlarda, genel konakçı durumunun ise farklı konaklar kullanıldığı zaman elde edilen enerji kazanımları arasında fark olmadığı durumlarda evrimleşmiş olduğu öngörülmektedir[2]. Bununla beraber konak seçimi konak bulunabilirliği, konağın kendini kan emilmesine karşı savunma davranışları, kanın besinsel değeri ve sindirimin maliyeti gibi birçok faktörün etkilediği ve bu nedenlerden dolayı uzamsal ve geçici olarak değişebilen oldukça kompleks bir süreç olduğu belirtilmiştir[3].

Clements (1999), Kuzey Yarımküre’de, Akdeniz Bölgesi’nde *Culex pipiens* türü sivrisineğin memeliler ya da memeliler ve kuşlardan beraber beslendiğini ancak daha kuzey enlemlerde sadece kuşlar üzerinden beslendiğini göstermiştir[4]. En önemli sıtma vektörlerinden biri olan *Anopheles gambiae* türü sivrisineğin Afrika’da tamamen insanlar üzerinden beslenirken, Sao Tome adasında konak olarak köpekleri tercih ettiği tespit edilmiştir[5]. Yine yüksek antropofilik özellik gösteren *Anopheles arabiensis* türü sivrisineğin insan olmadığı zaman sığırlar üzerinden beslendiği tespit edilmiştir[6]

Kuzey Amerika'da *Culex tarsalis* ve *Culex nigripalpus* türü sivrisineklerinin konak tercihlerini ilkbahar ve yazın başında memelilerden, yazın ilerleyen zamanlarında ve sonbaharda kuşlardan yana kullandıkları gözlenmiştir. Benzer şekilde Kenya'da *Culex univittatus* türü sivrisineğin konak seçimini uzun yağmurlar sırasında memelilerden kuşlara değiştirdiği bildirilmiştir[3]. Bütün bu farklılıkların en önemli nedeni ise konak bulunabilirliğinin coğrafi ve mevsimsel olarak değişmesidir. Konak dağılımındaki bu uzamsal ve geçici heterojenlik sivrisineklerin konak arama süresini etkiler. Bu durum sineğin enerji tüketimini ve araştırma sırasındaki hayatta kalma ve predasyon riskini de etkiler. Sivrisineklerde kan emmeden yumurta verilmesi durumu olan otogeninin omurgalı konak bulunabilirliğinin çok kısıtlı olduğu çevrelerle bağlantısı bulunmuştur[7]. Bu durum ekstrem bile olsa konak bulunabilirliğinin sivrisineğin kan emici olup olmamasını bile belirleyebildiğini göstermektedir.

Sivrisineklerin rastgele olmayan seçici beslenme davranışları, besinsel kazanımların çeşitliliği ve farklı konak tiplerinin getirdiği fitness (yumurta verimi ve hayatta kalabilme) farklılıklarıyla da açıklanabilir. Yapılan birçok çalışma sivrisineklerin kan emdikten sonra hayatta kalma oranlarının ve yumurta üretimlerinin kan emilen konakla beraber değiştiğini göstermektedir[8-19]. Kanın sindirim miktarını etkileyebilecek birçok hematolojik özellik omurgalı türleri arasında değişim gösterir[16, 20]. Beslenme sırasında sivrisinekler emilmiş kanı midenin arka tarafında bulunan pilorik kısımdan geçirirler ve burada bulunan iskeletleşmiş diş benzeri yapılar kandaki serumun geçişine izin verirken, sivrisineğin yumurta üretimi için kullandığı kırmızı kan hücrelerini tutarlar[21]. Bu iskeletleşmiş dişlerin yapısı ve sayısı tıpkı kırmızı kan hücrelerinin yapısının omurgalı canlılarda değişiklik gösterdiği gibi, sivrisinek türleri arasında da değişiklik gösterir[20, 22]. Bu durumdan dolayı sivrisineklerin kırmızı kan hücreleri pilorik kısımda en verimli şekilde filtre edilen omurgalı türlerini konak olarak seçiyor olabilecekleri varsayılmıştır[22]. Diğer bir varsayım ise kanın besinsel değerleri seçilen konaklarda benzer bile olsa sindirimleri sırasında harcanan enerjinin aynı olmayacağı yönündedir[3]. Gray ve Bradley (2003), *Cx. tarsalis* türü sivrisineğin kanı sindirirken harcadığı metabolik hızın, şeker sindirimine göre 2 kat fazla olduğunu göstermişlerdir[23]. Downe ve Archer (1975) ise *Cx. tarsalis* ile yaptıkları çalışmada, bu

türün asıl konakları olan tavuk kanlarını kemirgen kanlarından daha hızlı sindirdiğini bildirmişlerdir[24].

Hayvanlar kendilerini böcek ısırıklarından, deri ve tüyler gibi koruyucu dokularıyla, fiziksel hareketleriyle ve davranışsal önlemler olarak korurken[25], insanlar ise ev perdelemeleri, insektistidle muamele edilmiş koruyucular gibi sivrisineklerin beslenme başarılarını ciddi oranlarda düşüren yapay koruma önlemleri geliştirmişlerdir[26-28].

Doğal sistemlerde sivrisinek türlerinin kan konaklarının belirlenmesi patojen-vektör-konak arasındaki karmaşık ekolojik ve evrimsel ilişkilerin aydınlatılması ve hastalıkların epidemiyolojisi ve kontrolünde önemlidir. Bu çalışma ile 2012-2013 yılları boyunca sivrisinek üreme dönemlerinde Aras Havzası'nda sivrisinek üreme habitatları, potansiyel omurgalı konaklarının bulunabilirliği, çeşitliliği, dağılımları gibi birbirinden farklı ekolojik özelliklere sahip lokalitelerden toplanmış sivrisinek türlerinin konak seçimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma alanı olarak seçilen Aras Havzası, Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan ve çöl faunasının Anadolu'ya girişi yaptığı önemli bir ekolojik koridordur. Alan volkanik Ağrı Dağı'ndan materyaller ve Aras Nehri ile taşınan alüvyonlardan dolayı tuzlu toprağa sahip olup; tarım alanları ve sulama sistemleri ile kalıcı drenaj kanalları, göletler, drenaj suyu, selden kalan geçici sular ve iklimsel parametrelerin uygunluğu nedeniyle, sivrisinek türlerini yüksek populasyon yoğunluklarıyla barındırmaktadır. Ayrıca her sonbaharda Rusya ve Kafkaslar'dan gelen Ortadoğu ve Afrika'ya giden ve ilkbaharda geri dönen milyonlarca kuşun göç yolu üzerinde yer alan biyolojik açıdan da oldukça önemli bir havzadır. Alan sürdürülebilir tarım ve hayvancılık faaliyetlerinden dolayı, çok sayıda büyükbaş ve küçükbaş hayvan ile kümes hayvanlarını da barındırmaktadır.

Sivrisineklerin örneklenme yerlerine göre, konak tür seçimleri ve konak tür seçimlerindeki dönemsel değişimlerini doğru değerlendirebilmek için kan emmiş dişi bireyler seçilerek kan emdikleri omurgalı konaklarının DNA'ları elde edilmiştir. Daha sonra sitokrom b gen bölgeleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmış ve Reverse Line Blotting (RLB) ile PZR ürünleri değerlendirilerek sivrisineklerin konak tür tercihlerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sivrisineklerin Sınıflandırılması

Sivrisinekler yüksek adaptasyon ve yayılım yetenekleri sayesinde dünyada tropikal, sub-tropikal ve ılıman iklim kuşaklarında geniş yayılım gösteren, vektör organizmalar arasında biyolojik potansiyelleri en yüksek canlılar olarak bilinmektedirler. Sivrisinekler artropodların Insecta (böcekler) sınıfı Diptera takımı Culicidae familyası içinde yer alırlar[29-31]. Culicidae familyası *Anophelinae*, *Culicinae* ve *Toxorhychitinae* olmak üzere üç alt familyaya ayrılır. Culicidae familyası içinde bulunan, medikal açıdan önemli olan türler *Anophelinae* ve *Culicinae* alt familyaları içerisinde bulunmaktadır[32].

Dünya genelinde 3000'in üzerinde sivrisinek türünün varlığı tespit edilmiştir[33]. Türkiye sivrisinekleri üzerine yapılan ilk sistematik çalışma ile 7 cinse ait 55 türün varlığı bildirilmiştir[34]. Bunu takiben Ramsdale ve ark. (2001) tarafından düzenlenen Türkiye sivrisinekleri tür listesiyle, 8 cinse ait toplamda 48 türün varlığı kaydedilmiştir. Türkiye'de önceden varlığı bildirilmiş olan 6 tür (*Anopheles melanoon*, *Anopheles multicolor*, *Anopheles sergentii*, *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* ve *Culex adairi*) şüpheli veya hatalı kayıtlar olarak Ramsdale ve ark. (2001) tarafından listeye alınmamıştır. Ayrıca listede, taksonomide uzun yıllar tartışma konusu olan *An. melanoon* ve *Anopheles subalpinus* farklı iki tür olarak kabul edilmiştir[35]. Daha sonra yapılan ribozomal DNA-ITS2 sekanslarına dayalı araştırmalar sonucunda *An. melanoon* ve *An. subalpinus* türlerinin sinonim oldukları ortaya çıkarılmıştır[36].

Son yıllarda yapılan çalışmalarla Türkiye için yeni sivrisinek türlerinin varlığı gösterilmiştir. Kars platosunda yapılan araştırmalarda *Culiseta alaskaensis*, *Ochlerotatus cataphylla*, *Ochlerotatus pullatus*, *Ochlerotatus punctor*, *Ochlerotatus leucomelas* ve *Ochlerotatus cyprius*'un [37], Akdeniz bölgesinde yapılan araştırmalarda *Culiseta subochrea* ve *Anopheles maculipennis* tür kompleksi üyesi *An. melanoon*'un [38] ve Trakya yöresinde yapılan çalışmalarda ise *Aedes albopictus*'un (*Stegomyia albopicta*) varlığı kanıtlanmıştır[39]. Son olarak Türkiye'de bulunan sivrisinek türlerinin listelenmesi amacıyla DNA barkodlama yöntemiyle yapılan çalışma ile *Cs. subochrea* ve *Culex europaeus* türlerinin henüz şüpheli kayıtlar olduğu, daha önceden varlığı

bildirilen *Aedes annulipes*, *Anopheles messeae*, *Culex quinquefasciatus* türlerinin ve *Cx. pipiens* f. *molestus* formunun ülkemizde bulunduğu, çalışmada tespit edilen *Ae. albopictus*, *Coquillettidia buxtoni*, *Culex impudicus* ve *Anopheles hyrcanus* var. *pseudopictus* türlerinin ise Türkiye için yeni kayıtlar olduğu kanıtlanmıştır. Böylelikle Türkiye’de bulunan sivrisinek türlerinin 11 *Anopheles*, 25 *Aedes*, 5 *Culiseta*, 2 *Coquillettidia*, 15 *Culex*, 1 *Orthopodomyia* ve 1 *Uranotaenia* cinsine ait toplam 60 türden oluştuğu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca *An. hyrcanus* var. *pseudopictus* ve *Cx. pipiens* f. *molestus*’un da listeye eklenmesi durumunda bu sayı 62’ye çıkmaktadır[40].

2.2 Sivrisineklerin Vektörel Önemi

Literatürde sivrisineklerin hastalık vektörü oldukları ilk olarak 1878’de bildirilmiştir[41]. Sivrisinekler; sıtma, filariasis, sarıhumma, deng ateşi, Batı Nil Virüsü (BNV) enfeksiyonu ve diğer arboviral kökenli ensefalitler gibi birçok önemli hastalığın taşınması ve bulaşımından sorumlu vektör organizmalardır. Bu hastalıklardan her yıl milyonlarca insan vakası görüldüğü ve bunlardan bir kaç milyon kişinin hayatını kaybettiği belirtilmiştir[42]. Dünya Sağlık Örgütü raporlarına göre, her yıl sadece sıtma nedeniyle ölümlerin sayısının 3 milyon üzerinde olduğu bildirilmektedir[43].

Artropodların konaklarına dayatmış oldukları beslenme baskıları konak canlıları rahatsız etmenin yanı sıra, fitness ve hayatta kalma oranları üzerinde de etkili olmaktadır. Kan ile beslenen dipterlerin beslenme baskıları sığır [44] ve geyik [45] gibi büyük baş hayvanlarda kansızlığa yol açmakta, buna bağlı olarak hayvancılık sektöründe ciddi kayıplara neden olmaktadır[46]. Ayrıca kuş yuvalarına artropod infestasyonları yavru kuşların hayatta kalma oranlarını da etkilemektedir[47]. Bununla birlikte Hawai’deki kuş sıtmasına duyarlı, nesli tükenmekte olan orman kuş türleri üzerinde sivrisineklerin kan emme davranışlarıyla ilgili herhangi bir veri ise bulunmamaktadır[48, 49].

Sıtma, *Plasmodium* cinsine ait protozoonların (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* ve *Plasmodium vivax*) neden olduğu sivrisinek kaynaklı bir hastalıktır. *P. vivax* Asya, Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde tersiyana sıtmasına neden olurken, quartana sıtmasına neden olan *P. malaria* Hindistan, Asya ve tropikal Afrika’da

yaygındır. Bunun yanı sıra *P. ovale* Batı Asya'da yaygınlık gösterir. Tropik bölgelerde yıl boyunca iklim koşullarının uygunluğu, sivrisinek ve parazitin gelişimi için elverişli olduğundan sıtmanın aylara ve mevsimlere göre dağılımı eşittir. *P. falciparum* tropik bölgeler ve güneydoğu Asya'da geniş bir yayılım göstermekte ve en ölümcül protozoan türü olarak kabul edilmektedir[50-51].

Dünya genelinde, yaklaşık olarak 3,3 milyar insanın sıtma ile enfekte olma riski vardır. Son verilere göre, 2013'de 198 milyon sıtma vakası yaşanmış, bu vakaların 584,000'i ölümlle sonuçlanmıştır. Ölümlerin %90'ı Afrika'da görülmekte ve büyük çoğunluğunu (%78) beş yaşın altındaki çocuklar oluşturmaktadır[43].

Anopheles sivrisineklerinin dünyada yaklaşık 400 türü tanımlanmış, sadece 30'unun sıtmaya neden olduğu tespit edilmiştir[52]. Sıtma Amerika, Asya ve Afrika'nın bazı kesimleri de dahil tropikal ve sub-tropikal bölgelerde yaygınlık göstermektedir[53]. Ayrıca son yıllarda, Asya'nın güneydoğusundaki ormanlık bölgelerde yaşayan maymunlarda *Plasmodium knowlesi*'nin neden olduğu sıtma vakaları da bildirilmiştir[43].

Güney-Doğu Avrupa ve Batı Asya'nın kıyısında yer alan Türkiye, Avrupa kıtasının en sıcak iklim zonu içinde ve en doğusunda bulunur. Türkiye coğrafik konumu ve iklimsel özellikleri nedeniyle subtropikal iklim kuşağında yer almaktadır. Sıtma olguları mevsimsel sivrisinek aktivitelerine bağlı olarak Mart ayında artış göstermeye başlamakta, Temmuz-Eylül aylarında en yüksek seviyelere ulaşmakta ve Ekim ayından sonra düşüş göstermektedir[54].

Sivrisinekler içinde *An. maculipennis* grubu dünya üzerinde ikiz türler olarak tanımlanmış ilk gruptur ve paleartik bölgede 12 tür ile temsil edilmektedir[55]. *An. maculipennis* grubu türlerinden özellikle üç tanesi (*Anopheles atroparvus*, *Anopheles labranchiae* ve *Anopheles sacharovi*) en önemli sıtma vektörleri olarak kabul edilmiştir[56]. Türkiye'nin de bulunduğu Doğu Akdeniz Havzası'nda ise en önemli sıtma vektörü *An. sacharovi*, sıtma taşınmasından sorumlu ikincil türler ise *Anopheles superpictus*, *An. maculipennis* ve *An. melanoon* olarak bildirilmiştir[57].

Türkiye’de endemik sıtma Anadolu tarihinde Ege ve Akdeniz kıyılarında birçok medeniyetin çökmesinde önemli bir rol oynamıştır[54, 58, 59]. I. Dünya Savaşı sırasında Osmanlı ordusu sıtmadan dolayı büyük kayıplar vermiştir[60]. Kurtuluş savaşı sırasında, sıtma ve tifüsten ölenlerin sayısı savaşta ölenlerin sayısından daha fazla olmuştur[61]. Cumhuriyetin ilk yıllarında Antalya yöresinde insanların %75’i sıtmaya yakalanmıştır. Tüm bunlardan dolayı 1926’da Sıtma Mücadelesi Kanunu yayınlanmıştır. Bilinçli ve disiplinli bir şekilde yürütülen kontrol çalışmalarının sonucunda sıtma sayısında önemli azalmalar olmuştur. Ayrıca Adana’da 1928 yılında kurulan Sıtma Enstitüsü’nün, sıtmayı eradike etmeye yönelik çalışmaları başarılı olmuştur[51,58]. Ulusal Sıtma Eradikasyon Programından önce, 1940-1951 yılları arasında sıtma vakalarında önemli dalgalanmalar meydana gelmiştir. Anti-Sıtma Kampanyası sonrasında 1942’de 146,077 olan vaka sayısı, 1950’de 4,211 kadar düşmüştür[60]. Sıtma ülkemizde daha çok sulu tarım yapılan bölgelerde görülmektedir. 1957’de Ulusal Sıtma Eradikasyon Programına geçilerek, sıtma insidansı %0,8’e düşürülmüştür. Çukurova’da 1970’li yıllarda başlatılan Tarımsal Kalkınma Programı sıtma prevalansının yüksek olduğu doğu bölgelerinden çok sayıda işçinin bölgeye gelmesine neden olmuştur. Bu süreç 1977-78’de ciddi sıtma epidemileri ile sonuçlanmıştır. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamında 1985 yılında Harran Ovası’nda sulu tarıma geçilmiştir. Bunun sonucunda bölge ikliminde değişiklikler meydana gelmiş, iklimin daha ılıman ve yağışlı olması sıtmanın artmasına sebep olmuştur[51, 62].

Türkiye’de sıtma geçmişte olduğu gibi günümüzde de en önemli sağlık problemlerinden biri olmaktadır. Özellikle son yıllarda yürütülen disiplinli çalışmalar sonucunda hastalık morbiditesinde önemli azalmalar olmuş, 2003 yılında 9,182 olan sıtma vaka sayısı 2009’da 38’e düşmüştür. 2010 yılından itibaren yerli yeni sıtma vakası tespit edilmemiş olup sadece nüks vakalar ile yurtdışı kaynaklı sıtma vaka bildirimleri yapılmıştır[63]. 2011 yılında bildirilen 132 olgunun sadece dördü yerli nüks olgu iken [64], 2012 yılında Mardin’de *P.vivax*’a bağlı 200’den fazla olgu içeren bir salgın da bildirilmiştir[65].

Batı Nil Virüsü (BNV) Asya, Afrika ve Avrupa’da endemik artropod kaynaklı (arbo) filavivirüs olarak tanımlanmıştır[66]. Virüsün doğadaki devamlılığı kuşlar ve sivrisinekler (çoğunluğu *Culex* cinsi sivrisinekler) arasında gerçekleşen bir siklus ile

sağlanır. Kuşlar virüsün yüksek viremi düzeyi ile uzun süre korunmasını sağlayan primer konaklar, insanlar ve atlar gibi diğer omurgalı hayvanlar vireminin düşük ve kısa süreli seyretmesi sonucu son konaklar olarak kabul edilmektedir[67].

Batı Nil Virüsü çoğunlukla *Culex* cinsi sivrisinek türlerinden izole edilmiştir[68]. Virüs ilk olarak 1937 yılında, Uganda'da infekte bir kadından izole edilmiş[69] ve sonraki yıllarda Afrika, Orta Doğu, Hindistan, Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde sporadik salgınlar şeklinde görülmüştür[68]. İspanya'da BNV *Culex perexigus* türü sivrisineklerde saptanmıştır[70]. Fransa'da sulak bölgelerde virüs taşınımında *Culex modestus* ve *Ochlerotatus caspius*, şehir ve etrafındaki kırsal alanlarda ise *Culex pipiens*'in etkin rol oynadığı bildirilmiştir[71]. Portekiz'de insanlarda BNV olgularının ortaya çıkmasında *Cx. pipiens*, *Culex theileri* ve *An. maculipennis* türü sivrisineklerin ilişkili olduğu gözlenmiştir[72]. Rusya'da Volgograd bölgesinde, BNV salgınlarında şehirleşmiş alanlardaki bulaşlarda *Cx. pipiens* öne çıkarken, şehir çevresindeki kırsal bölgelerde ise *Cx. modestus*'un vektör olarak daha etkin rol oynadığı bildirilmiştir[73]. Romanya'da 1996 yılında ensefalit olarak bildirilen yüksek mortalite ile seyreden büyük salgında ise virüs *Cx. pipiens* 'ten izole edilmiştir[74,75].

New York'ta ensefalit salgını ilk kez batı yarımkürede 1999 yılında tespit edilmiştir[76]. En önemli vektör türler ülkenin kuzeyinde *Cx pipiens*, güney eyaletlerinde *Culex quinquefasciatus* ve batı eyaletlerinde *Cx. tarsalis* olarak bildirilmiştir[77-79]. *Culex salinarus* ise Kuzey Amerika'da en önemli enzootik ve epidemik vektörü olarak tanımlanmıştır[80-82].

Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde *Aedes cinereus*, *Aedes vexans*, *An. maculipennis*, *Ochlerotatus cantans* ve *Oc. caspius* türleri virüsün vektörleri olarak bildirilmiştir[73, 75, 83]. BNV'nün bulaş döngüsünde kenelerle yapılan çalışmalarda ise virüs, *Hyalomma marginatum* ve *Dermacentor marginatus* türlerinden izole edilmiştir[68].

Coğrafi açıdan bakıldığında Türkiye, BNV salgınlarının yaşandığı insan ve hayvan vakalarının sıklıkla tespit edildiği ülkelerle yakın ilişkili bir konumda yer almaktadır. Ayrıca iklim ve ekolojik koşulları, sivrisinek populasyon yoğunlukları, göçmen kuşların

göç yolları üzerinde bulunması gibi nedenlerden dolayı virüs prevalansı açısından da önemli bir konumdadır.

Türkiye’de BNV’nin serolojik prevalansının değerlendirilmesi ilk kez 1964 yılında yapılmıştır[84]. Virüsün Türkiye’deki aktivitesine ilişkin ilk veriler 1971 yılında Ankara ve Hatay bölgelerinde yapılan çalışma ile koyunlarda nötralizan antikorlar saptanmıştır[85]. Virüs insanlarda ise Ari (1972) ve Meço (1977) tarafından Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) testi kullanılarak çalışılmış ve sonuçlar gruba özgül antikor varlığı şeklinde rapor edilmiştir[86, 87]. Bununla birlikte, seroprevalans araştırmalarında özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde %9,4 oranında BNV nötralizan antikor varlığı tespit edilmiştir[88]. Hatay, Adana, Antalya, Muğla, İzmir, Şanlıurfa, Bursa ve Ankara yöresinden incelenen örneklerde; büyükbaş hayvanlarda %4, köpeklerde %37,7, atlarda %13,5, katırlarda %2,5, insanlarda %20,4 ve koyunlarda %1 oranlarında BNV nötralizan antikorları saptanmıştır. Orta Anadolu bölgesinde yapılan seroprevalans çalışmasında ise Ankara, Konya, Yozgat ve Sivas illerinde yaşayan sağlıklı kan donörlerinin %0,56’sında BNV nötralizan antikorlarının varlığı gözlenmiştir[89]. Kars Platosu ve Aras Havzası’nda BNV nükleik asitlerinin varlığı *An. maculipennis* s.l., *An. hyrcanus*, *Oc. caspius*, *Cx. theileri* ve *Cx. pipiens* türü sivrisineklerde tespit edilmiş olup, en yüksek enfeksiyon oranı *Cx. pipiens* türünde 97,53 olarak belirlenmiştir[90].

BNV olgularının sivrisinek popülasyonunun arttığı yaz dönemlerinde olması ve göçmen kuşların göç yolları üzerinde bulunan illerimizde gelişmesi, enfeksiyonların virüsün biyolojik döngüsü ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Güncel veriler BNV’ nin Türkiye’nin Batı, Orta, Güney ve Güneydoğu (İzmir, Muğla, Antalya, Balıkesir, Ankara, Konya, Adana, Mersin, Yozgat, Sivas, Şanlıurfa) [91] ve Doğu’da (Kars, Iğdır) aktivitesini sürdürdüğünü göstermektedir[90].

Dirofilariasis, filarial nematod *Dirofilaria immitis*’in neden olduğu paraziter bir hastalıktır. *D. immitis* tropikal, subtropikal ve ılıman iklim kuşaklarında geniş yayılım gösterir. Bu parazitin doğal konaklarını, başta köpekler olmak üzere kedi, tilki ve diğer karnivorlar, bazen de insanlar oluştururken[92-96], taşınımını sağlayan ara konaklar ise *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Anopheles*, *Armigeres* ve *Mansonia* cinslerine ait sivrisinek

türleridir[97-99]. *Dirofilariasis*, yeterli sayıda enfekte olmuş mikrofilaremik köpeklerin varlığı, sivrisinek vektörleri ve parazitin vektör içinde geçireceği dış inkübasyon periyodu için uygun iklimsel koşullara bağlı olarak devamlılığını sağlar[100].

Türkiye’de *D. immitis* geniş bir yayılım gösterir. Çeşitli bölgelerdeki çalışma verilerine göre, hastalığın prevalansının %0,2 ve %30,0 arasında değiştiği bildirilmiştir[101-103]. Orta Anadolu’da bu parazitin potansiyel sivrisinek vektörleri moleküler teknikler kullanılarak incelenmiş ve Kayseri ilinde *Ae. vexans* türü sivrisineğin *D. immitis*’in asıl vektörü olduğu bildirilmiştir[104]. Aynı zamanda Iğdır yöresinde sahipli köpeklerden alınan kan örneklerinde *D. immitis*’e ait antijen oranının %40 olduğu [105], Kars ve Iğdır illerinde köpeklerde *D. immitis* prevalansının belirlenmesi ve potansiyel vektör sivrisinek türlerinin saptanması amacıyla yapılan bir diğer çalışmada ise, *Oc. dorsalis*, *Cx. theileri*, *Ae. vexans*, *An. maculipennis* s.l. ve *Cx. pipiens* türlerinin *D. immitis*’in potansiyel vektörleri olabileceği bildirilmiştir[106].

Rift Valley Fever (RVF), Bunyaviridae familyasına ait *Phlebovirus* cinsinden Rift Valley Fever Virüs (RVFV)’nin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. İlk kez 1930’lu yıllarda, Kenya’nın Rift Vadisi’nde bir salgın sırasında izole edilmiştir[107]. 1930 ve 1977 yılları arasında RVF salgınları sub-Saharan Afrika’da sınırlı kalmıştır. Ancak 1977 yılında, Mısır’da ortaya çıkan salgınlar ilk kez Sahara’nın kuzeyinden bildirilmiş ve sonrasında virüs, Madagaskar ve Afrika’nın kıyı kesimlerinde bulunan küçük adalarda da bulunmuştur[108]. Afrika dışındaki salgınlar ilk olarak 2000 yılında, Suudi Arabistan ve Yemen Yarımadasında ortaya çıkmıştır[109]. Bu virüsün yayılımı ve neden olduğu salgınların Afrika dışında diğer bölgelerde artış göstermesi, özellikle Ortadoğu ve Avrupa yönüne doğru etki alanını genişletmesi ile önemli ölçüde risk oluşturabileceği düşünülmektedir[108].

RVFV’nin neden olduğu enfeksiyonlara çiftlik hayvanları, özellikle sığır, koyun, keçi ve deve gibi memeli hayvanların duyarlı olduğu [107, 110], bunun aksine domuz, at ve eşek gibi memeli hayvanların ise enfeksiyona karşı dirençli olduğu gösterilmiştir[110-112]. Enfeksiyon gebe hayvanlarda düşüklere, yeni doğan hayvanlarda ise ölümlere neden olmaktadır[113].

Sonuç olarak çevresel faktörler sivrisineklerin dağılımlarını ve vektörel kapasitelerini önemli ölçüde etkilemektedir[114]. Özellikle *Aedes* ve *Culex* cinsine ait sivrisinekler tarafından bulaştırılan RVFV'nün, Hollanda'da potansiyel vektörlerinin *Ae. vexans* ve *Cx pipiens* s.l. olduğu bildirilmiştir[112].

2.3 Sivrisineklerde Konak Tercih ve Konak Tercihinin Evrimi

Organizmaların yayılışında coğrafik bölgeler ve ekolojik özellikleri önemlidir. Çevresel faktörlere karşı uyum yetenekleri yüksek olan türlerin geniş alanlara yayılabildiği ve populasyon yoğunluklarının da diğer türlere göre, yüksek olduğu bilinmektedir. Dış çevreye uyum konusunda daha elverişli özelliklere sahip organizmaların bu özelliklere sahip olmayanlara göre yaşama ve üreme şansları daha yüksektir.

Sivrisineklerin konak tür seçimlerinin bugün ki örüntüleri, doğal seçilimin milyonlarca jenerasyonunun bir ürünüdür. Mevcut verilere göre sivrisineklerin insanlar üzerinden beslenme eğilimlerinin, tarımsal faaliyetlerin artmasından dolayı evrimleştiği öngörülmektedir[3, 115, 116]. Ormanların yok edilmesi ve kırsal tarımın yoğun bir şekilde yapılması insanlar ve sivrisinekler arasında yakınlaşmaya neden olmuştur[3]. Bununla birlikte küresel iklim değişiklikleri, demografik değişimler ve kentleşme nedeniyle, doğal ekolojik sınırların ortadan kalkması vektörler ve konakları arasındaki birlikteliğin daha çok artmasına olanak sağlamıştır. Hastalık taşınımında vektör türler ve omurgalı konakları arasında oluşan bu ekolojik örtüşme ve karmaşık ilişkinin doğal olarak da önemli çıkarımları vardır. Örneğin, Uttar Pradeş'de sıtma vektörü olan *Anopheles fluviatilis* türü sivrisineğin insanlardan emdiği kan oranı 1938-1939'da %1,4 iken, sonraki yıllarda ormanlık alanların yok edilmesi ve kırsal tarımın yoğun bir şekilde yapılmasından dolayı 1949-1952 yılları arasında bu oranın %41,2'ye yükseldiği bildirilmiştir[117]. Vittor ve ark. (2006) Amazon Havzası'nda *Anopheles darlingi* türü sivrisineğin kırsal alanlarda insan ısırma oranlarının ormanlık alanlara göre 278 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir[118].

Organizmaların buldukları habitat ve bölgelere göre, minimum enerji ve maksimum verimle konak tercihlerini belirlemeleri gereklidir. Besin kaynaklarının birçoğu ortamda

mevcut olduğu halde neden organizmalar bu kaynakların sınırlı bir kısmını tüketirler?[119]. Bu durum hem seçici konakçı hem de genel konakçı organizmaların varlığını da beraberinde getirir[2]. Evrimsel teoriye göre, seçici konakçı organizmaların seçim değerlerinin, tercih edilen besin kaynakları tüketildiği zaman en yüksek olduğu öngörülmektedir[120-122]. Bu durumda seçici konakçılığın, farklı konaklar üzerinden beslenildiğinde elde edilen enerjinin, spesifik konaklar üzerinden beslenildiğinde elde edilen enerjiden daha az olduğu durumlarda, genel konakçılığın ise farklı konaklar üzerinden beslenildiği zaman elde edilen enerji kazanımları arasında fark olmadığı durumlarda evrimleşmiş olduğu öngörülmektedir[2].

Sivrisinekler konak tercihleri genetik temellidir ve bu canlılar konak tercihlerine göre seçici konakçı veya genel konakçı olarak kategorize edilirler[1]. Seçici konakçı olarak sadece hayvanlardan kan emen sivrisinekler zoofilik, sadece insandan kan emen sivrisinekler antropofilik, genel konakçı olarak hem hayvan hem de insandan kan emen sivrisinekler zoo-anthropofilik, kuşlardan kan emen sivrisinekler ornitofilik, kurbağa ya da sürüngenlerden kan emenler ise batrokofilik sivrisinekler olarak adlandırılmaktadır.

2.4 Konak Tercihini Etkileyen Faktörler

Sivrisineklerin konak tercihleri, hem kalıtsal hem de çevresel faktörler tarafından etkilenir. Kalıtsal faktörler doğal seçim yoluyla sürdürülürken, çevresel faktörler konak bulunabilirliği ve çeşitliliği üzerinde etkili olmakla birlikte, vektör sivrisineklerin kan emme davranışlarını da etkilemektedir.

2.4.1 Genetik Faktörler

Sivrisineklerde konak tercihinin evrimi mevcut konak türleri arasında değişen fitness farklılıklarıyla birlikte [123], bir popülasyon içinde önceden var olan genetik varyasyonları da içermektedir[124]. *An. gambiae*, *Aedes simpsoni*, *Ae. aegypti* ve *Cx. quinquefasciatus* türü sivrisineklerin konak tercihlerinin genetik temeli olabileceğine dair birkaç çalışma yapılmıştır[125-127]. Ancak Gilles (1964), geri çaprazlama ve seçim

deneyleriyle *An. gambiae*'nin doğuştan var olan konak tercihinin genetik belirleyicilerini analiz etmiş, bu tür kompleksine ait insan ya da sığır beslenme tercihlili sivrisineklerin F1 döllerinden seçilen bireylerin, aileleri gibi aynı konağı tercih edip etmediklerini incelemiştir. Seçim deneylerinde *An. gambiae* tür kompleksine ait bireylerin, 5-6 nesil içinde insan ya da sığırlara karşı farklı beslenme tercihleri geliştirdikleri gözlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında, birkaç nesil içinde spesifik bir konağı seçmenin mümkün olduğu, ancak bu seçimin genetik polimorfizm tarafından sürdürüldüğü bildirilmiştir[127]. Bununla birlikte Lefevre ve ark. (2009a), çeşitli *An. gambiae* populasyonları arasında, koku aracılı konak tercihlerinde gözlenen davranışların, genetik farklılıklardan kaynaklı olabileceğini göstermişlerdir[128]. Konak tercihinin genetik belirleyicileri üzerine yapılan diğer çalışmalar ise, doğal koşullar altında konak tercihinde farklılıklara neden olan genleri belirlemek ve yakın akraba türlerin tür soyları ya da hibritlerinin analizlerini içermektedir. Mukwaya (1977)'de, zoofilik davranış gösteren *Aedes simpsoni* ile antropofilik davranış gösteren *Ae. aegypti* arasında çapraz-çiftleşme deneyleri yapmış ve konak tercihleri her iki tür soyu gibi olan hibritler oluştuğunu göstermiştir. Bulgular tür soyları arasındaki bu davranış farklılıklarının genetik olarak kontrol edilebilir olduğu halde, konak seçiminin bu populasyonlarda sabit olmadığını doğrulamıştır[126]. Ancak doğal populasyonlarında antropofilik davranışının sabit olduğu bilinen *An. gambiae*, zoofilik *Anopheles quadriannulatus* ile çiftleştirildiğinde benzer sonuçlar gözlenmemiştir. Bu durum antropofilik davranışın *An. gambiae*'da dominant bir özellik olduğunu gösteren alan çalışmalarıyla doğrulanmıştır[129, 130]. Sonuç olarak genetik belirleyicilerle birlikte, kromozomal inversiyonların da *Anopheles* sivrisineklerinde konak tercihinin ve endofilik davranış ifadelerini düzenlediği ileri sürülmektedir. Eğer sivrisineklerin konak tercihlerinin genetik bir temeli varsa, bununla ilgili daha çok çiftleşme deneyleri ve genetik analizler yapılmalı, ayrıca sivrisineklerin genetik yapısı ve konak tercihlerine neden olan fenotipik karakterler üzerinde çevrenin etkisi de araştırılmalıdır[131, 132].

2.4.2 Fenotipik Plastisite ve Öğrenme

Bir canlı organizmanın fenotipik özellikleri, onun sahip olduğu genotipi ile içinde yaşadığı çevrenin etkisine göre değişir. Fenotipik karakterlerde meydana gelen değişimler ise, biyolojik olarak organizmanın gelişimsel süreçlerine bağlıdır. Gelişimsel süreçlerde meydana gelen farklılıklar düşük ölçüde fenotipik varyasyona neden olabilir. Bazen de tek bir genotip çevresel faktörlere yanıt olarak, birbirinden son derece farklı fenotipler meydana getirebilir. Bu nedenle aynı genotipe sahip canlılar her zaman aynı fenotipe sahip olmayabilirler. Bu durum fenotipik plastisite ile açıklanır. Fenotipik plastisite, tek bir genotipin farklı çevresel ortamlarda farklı fenotipler üretebilme kapasitesidir[133]. Plastisite uygun olmayan çevresel koşullarda canlının hayatta kalmasını sağlayabildiği gibi, uygun koşullar altında ise uyumunu en yükseğe çıkarabilir. Bu bağlamda çeşitlilik ya da değişkenlik bir organizmada mevcut farklılıkları açıklarken, değişebilirlik organizmanın değişebilme yeteneğini açıklar[134]. Fenotipik karakterlerin evrimi ise, bu değişebilme potansiyelinin bir ürünüdür.

Yaşam öyküsü karakterleri; bireyler, populasyonlar ve türler arasında ve farklı çevresel ortamlarda varyasyon gösterir. Bu varyasyon, organizmaların yaşadıkları ortamda var olabilmelerini sağlayan temel uyum bileşenlerine bağlıdır. Bundan dolayı yaşam öyküsü karakterleri arasındaki değişebilirlik; canlının genetik yapısına, gelişimine, fizyolojisine bağlıdır ve organizmanın filogenetik altyapısının sınırları içerisinde belirlenir. Yani özelliklerin varyasyonu, seçilimin etkisi altında olup, özellikler arasında ödün-bedel/ (trade-off) ilişkisi vardır[135]. Sivrisineklerde ise ödün/bedel ilişkisi, maksimum yumurta verimi için konağın kendini kan emilmesi karşı yaptığı savunma davranışlarının neden olacağı ölüm riski ile beslenme arasındadır. Bu tür ödünler evrim süreci içinde aynı ortamı paylaşan vektörlerin, omurgalı konaklarının bulunabilirliği, çeşitliliği ve savunma davranışlarına bağlı olarak konak seçiciliğini şekillendirir. Bazen de konak bulunabilirliği ve konak erişebilirliği üzerinde etkili olan çevresel faktörler genetik temelli konak tercihini etkileyebilir. Örneğin, *Culex* sivrisineklerinin tercih ettikleri kuş konaklarının göç ettiği dönemlerde memeli konaklarına yöneldikleri [136, 137], aynı şekilde Afrika'da önemli sıtma vektörü *An. gambiae* türü sivrisineklerin insan konakları bulunmadığı çevrelerde diğer alternatif memeli konaklar üzerinden beslendiği

gösterilmiştir[138]. Bu durum, kolaylıkla ulaşılabilir konak türlerin çeşitliliği ve yoğunluğuyla doğrudan ilişkisi olan yüksek plastisite tarafından sürdürülmektedir.

Artropodlarda beslenme davranışı spesifik bir lokasyon ya da konak uyarıcılarıyla ilişkilendirilirse, bir sonraki beslenme başarısı artırılabilir. *Cx. quinquefasciatus* ve *An. gambiae* türü sivrisineklere kan, bir ödül olarak koku aracılığıyla sunulduğunda bu türlere ait bireylerin koşullu öğrenme yoluyla pozitif bir uyarıcıyı öğrendikleri gözlenmiştir[139, 140]. Aynı şekilde *Aedes* ve *Culex* cinsi sivrisinekler ile yapılan bir başka çalışmada, ilk beslendikleri konakları sığır ya da domuz olduğu bilinen sivrisineklerin ikinci kez beslenme davranışları izlenmiş ve *Aedes* sivrisineklerinde konak bağımlılığı gözlenmezken, *Culex* sivrisineklerinin aynı konaklar üzerinden tekrar kan emdikleri gözlenmiştir. Ancak bu davranış koşullanmasının yavrularda gözlenmemiş olması, konak bağımlılığının genetik yatkınlıktan daha çok öğrenmenin bir ürünü olabileceği kanaatine varılmıştır[141].

Hastalık kontrol çalışmalarında en önemli biyolojik engellerden biri patojenler ve vektörleri tarafından geliştirilen direnç mekanizmasıdır[142]. Vektör organizmalar konak türlerin geniş bir varyetesi üzerinden yaşam döngülerini tamamlarken, bulaşımından sorumlu patojenler çoğunlukla tek bir konak türüyle sınırlı kalır. Bu durum dikkate alınırsa vektör kontrol çalışmaları, organizmaların spesifik beslenme davranışları değiştirilerek hastalık iletim yetenekleri azaltılmış yeni fenotipler oluşturmak için tasarlanabilir[143, 144]. Sonuç olarak vektörlerin spesifik konak türler üzerinden beslenmesinden dolayı maksimum üreme başarıları manipüle edilebilirse, doğal seçim patojen taşıyan vektörler üzerinde oluşturulacak ve böylelikle hastalık iletimi azaltılabilecektir[53]. Zooprophylaxis olarak bilinen bu kavram 1982'den beri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından sıtma kontrol strateji olarak savunulmaktadır. Temel prensip olarak *Plasmodium* parazitlerinin insanlardan hayvanlara aktarılmasıyla bulaşımın azaltılabileceği amaçlanmıştır[145].

Anopheles sivrisineklerinin insanlar üzerinden beslenme eğilimi sıtma iletimi için en önemli biyolojik özelliktir[146]. Sıtmanın endemik olduğu Afrika'da insanlar tarafından *Anopheles* cinsi sivrisineklere karşı insektisidle muamele edilmiş cibinlikler (ITNs) en

yaygın kullanılan yapay korunma yöntemi olarak kullanılmıştır. Bu yöntemin sıtma vektörlerinin insanları ısırma oranlarını önlemekle birlikte, vektör populasyon boyutunu azaltmaya yönelik etkileri de vardır[147].

Antropofiliyi azaltmak için insektisidle muamele edilmiş cibinliklerin (ITNs) yaygın olarak kullanılması *Anopheles* sivrisineklerinin cibinlik altında uyuyan insanlara kokudan dolayı saldırma oranlarını azaltmış ve beslenme tercihlerinde diğer alternatif memeli konaklarına doğru geçişlere neden olmuştur[148-150]. Aynı zamanda kapalı alanlar ve evlerin çevrelerinde kalıcı spreyleme (IRS) yapılması, sıtma vektörlerinin İnsan Kan İndeksi (HBI) oranlarında önemli ölçüde azalmalara neden olduğu da bildirilmiştir[151]. Sivrisineklerin (ITNs) veya (IRS) gibi negatif koku uyarıcılarına karşı koşullu öğrenme deneyimleri ve antropofilide gözlenen azalmaların davranışsal plastisiteden mi yoksa vektör populasyonların genetik yapısından mı kaynaklandığı belirsiz kalmaktadır. Ancak doğal seçilim süreci bu fenotipler üzerinde etkisini gösterdiği için, uyumluluk ölçütü olarak kullanılan fenotipik bir karakterin güçlendiği varsayılmaktadır[152].

2.4.3 Coğrafi Bölge

Arazi yapısı özellikle yükseklik ve topoğrafya vektör ve omurgalı konak türlerinin dağılımı ve bulunabilirliği üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. *Cx. pipiens* türü sivrisineğin Kuzey Yarımküre ve Akdeniz bölgelerinde memeliler ya da memeliler ve kuşlar üzerinden, ancak daha kuzeyde ise sadece kuşlar üzerinden beslendiği gösterilmiştir[4]. Afrika'da en önemli sıtma vektörü olarak bilinen *An. gambiae* sadece insanlar üzerinden beslenirken, bu sivrisinek türü Sao Tome adasında köpekleri tercih etmektedir[5]. Benzer şekilde Uganda, Bwaise'de *Ae. simpsoni* türü sivrisinekler kemirgenler üzerinden beslenirken, Bwemba'da ise insanlar üzerinden beslendiği bildirilmiştir[4]. Bu nedenlerden dolayı vektör populasyonlarının uzaysal dağılımının hastalık epidemiyolojisi ve kontrolünde önemli olduğu düşünülmektedir[153, 154].

2.4.4 İklimsel Faktörler

İklim fizyolojik çevrenin en önemli elementlerinden biri olmakla birlikte, sıcaklık, bağıl nem, yağış ve rüzgâr gibi faktörlerin bileşiminden oluşur. Bu iklimsel faktörler vektör organizmaların vücut büyüklüğü, gelişimi, yumurta verimi (fecundite), hayatta kalma başarısı, bölgesel dağılımlarını ve vektörlük kapasitelerini, bazen de beslenme davranışlarını etkileyebilir. Kuzey Amerika'da, *Culicinea* sivrisineklerinden *Cx. tarsalis* ve *Cx. nigripalpus* türlerinin bahar ve yaz başların da kuşlardan, yaz sonu ve sonbaharda memelilerden beslendiği gösterilmiştir[137].

Böcek vektörler ve taşıdıkları patojenlerin yaşamsal faaliyetleri çevresel sıcaklığa bağlıdır. Saint Louis ensefaliti ve Batı Nil Virüsü'nün dağılımının sıcaklık arttıkça değiştiği tespit edilmiştir[155-159]. Emilen kanın sindirilme hızı ve yumurtaların olgunlaşması gibi biyolojik olaylar vektör organizma içinde gerçekleşir, dolayısıyla beslenme sıklığı çevresel sıcaklığa bağlı olarak değişir. Bazı *Plasmodium* türlerinde belirli bir sıcaklıkta sporogoni süresinin arttığı gösterilmiştir[160].

Atmosferik nem, genellikle bağıl nem olarak ifade edilir. Sivrisineklerin hayatta kalabilirliği ve nem arasında kesin bir ilişki olmamasına rağmen, yayılımları ve yaşam sürelerini kısıtlayan bir faktör olarak kabul edilir[161]. Böcekler küçük boyutları ve trake solunum sistemleri sayesinde çevrelerindeki diğer organizmalara göre daha hızlı oranda su kaybederler, bu nedenle kurumaya karşı çok hassastırlar. Belirli bir bölgedeki ergin sivrisineklerin yaşam süresinin havanın nemiyle arttığı tespit edilmiştir[160, 162]. Laboratuvar koşullarında Batı Nil Virüsü taşıyan sivrisineklerle yapılan çalışmalarda yüksek sıcaklık ve nemin, viral yükü artırıp ve inkübasyon periyodunu düşürerek virüsün taşınımını arttırdığı gösterilmiştir[156, 163, 164].

Yağış daha çok sivrisineklerin üreme aktiviteleri üzerine etki eder. Yağışın etkisi arazinin boyutu ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değişir[165]. Dünyanın bazı bölgelerinde yağmur sonrası yeni üreme alanlarının oluşması bağıl nemdeki artışa bağlı olarak vektör popülasyonların yoğunluğunu artırır, bunun sonucunda vektör organizmaların saldırı periyotları yoğunlaşır. Örneğin, sıtma olgularının en yoğun yaşandığı dönemlerin yağmurlu ayların sonu ve birkaç hafta sonrasına denk geldiği tespit edilmiştir[162]. Ayrıca

Kenya’da uzun süren yağmurlu dönemlerde *Culex univittatus*’un beslenme tercihinin memelilerden kuşlara doğru yön değiştirdiği gösterilmiştir[3, 166].

Sıcaklık, bağıl nem ve yağış dışında sivrisinek türlerinin populasyon yapısını etkileyen iklim elemanı rüzgârlardır. Şiddetli rüzgârlar vektör organizmaların uçuş ve kan emme aktivitelerini etkilediği için yumurta bırakmalarını zorlaştırabilir. Düşük hızlı rüzgârlar ise sivrisineklerin uçuş mesafelerini genişleterek yayılımlarını artırır[167].

2.4.5 Mikrohabitat

Sivrisineklerin konak seçimi, buldukları mikrohabitatlardaki koşullara bağlı olarak da değişebilir. Batı Kenya’da, bazı *Culicinea* sivrisineklerinin İnsan Kan İndeksi (HBI) oranlarının incelendiği bir çalışmada, kapalı alanlarda örneklenen sivrisineklerde insan kanının, açık alanlarda örneklenen sivrisineklerde ise sığır kanının yüksek olduğu tespit edilmiştir[168]. Bu durum sivrisineklerin konak tür seçimlerinin örneklenme yerlerine göre değiştiğini göstermektedir. Benzer şekilde evlerden toplanan *An. arabiensis*’in İnsan Kan İndeksi (HBI) oranının açık alan toplamlarına göre 3 kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir[169].

2.4.6 Konak ile İlişkili Faktörler

2.4.6.1 Konak Bulunabilirliği

Omurgalı konakların dağılımlarındaki zamansal ve mekânsal değişimler, sivrisineklerin konak arama davranışı ve süresini, enerji tüketimini ve ömür uzunluğunu etkiler. Dolayısıyla da konak bulunabilirliği ile beslenme arasında her zaman pozitif bir ilişki vardır. Özellikle sivrisineklerde kan emmeden yumurta verilmesi durumu olan otogeninin konak yoğunluğunun sınırlı olduğu çevrelerle ilişkili olduğu gösterilmiştir[7].

Kan ile beslenen artropodlarda konak bulunabilirliğine göre, konak tür seçimini analiz etmek için kullanılan iki yöntem vardır. Birincisi (en yaygın olanı) belirli konak türlerden emilen kanların oranının, konakların nispi yoğunluklarına göre değişip değişmediğinin

nitel olarak karşılaştırılmasıdır[170, 171]. Forage Ratio (FR) olarak adlandırılan bu yöntem, konak bulunabilirliğine göre konak seçiminin duyarlılığını değerlendirmek için kullanılabilir nitelikte olmaktadır. Konak popülasyonu içinde sadece belirli bir konak türünden emilen kanların oranı, kan emme oranı olarak hesaplanır[172]. Konak türler için FR değerleri >1 konak tercihinin, <1 kaçınmayı ve ~ 1 rastgele konak seçimini ifade etmektedir. Fakat popülasyon içinde konak sayımının doğru bir şekilde yapılması zor olduğu için pratikte pek kullanılmamaktadır. Ayrıca bir konağın varlığını ifade eden ‘bulunabilirlik’ kavramı bu varsayıma göre uygun bulunmamıştır[173]. Kay ve ark. (1979) tarafından alternatif olarak öne sürülen ikinci yöntem olan ‘Feeding Index (FI), konak tür seçiminin tamamen konak bulunabilirliğine göre değerlendirilmesi için daha nicel bir yaklaşım olmuştur. Bu yöntem ile iki farklı konak türünden beslenen sivrisineklerin beslenme oranları karşılaştırılarak konakların nispi yoğunlukları üzerine tahmin yapılabilmektedir. FR’de olduğu gibi 1’e göre değişen FI değerleri, rastgele olmayan konak seçimini ifade eder. FI [173, 174] ve FR’nin [172, 175] kullanıldığı çalışmalarda, değerler hemen hemen 1’den daha düşük ya da daha yüksek çıkmaktadır. Bu durumda nitel çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sivrisineklerde konak tercihinin konak bulunabilirliğine göre duyarlı olduğu ifade edilse de, doğru kabul edilen tercihlerin mevcut konak türleri üzerinden rastgele beslenme ile ilişkilendirilmemesi gerekir.

2.4.6.2 Konak Yoğunluğu ve Konakların Zamansal Dağılımları

Sivrisinekler beslenme davranışlarında fırsatçı iseler konak yoğunluğu çoğu zaman konak seçimi belirleyebilir[131]. Bazen de mevsimsel değişimler konak popülasyon yoğunluğunda azalmalara neden olabilir. Bu durum ise özellikle spesifik konak tercihlili sivrisineklerin beslenme davranışlarını etkiler[138, 176]. Örneğin, *Culex* cinsi sivrisineklerin tercih ettikleri kuş konaklarının göç ettiği dönemlerde beslenme tercihlerinin ortamda bulunan memeli konaklarına doğru kaydığı gözlenmiştir[136, 137]. Aynı şekilde Afrika’da önemli sıtma vektörü olduğu bilinen *An. gambiae*

türü sivrisineğin tercih ettiği insan konaklarının bulunmadığı çevrelerde diğer memeli konaklar üzerinden beslendiği bildirilmiştir[138].

2.4.6.3 Konakların Savunma Davranışları

Hayvanlar kendilerini böcek ısırıklarından, deri ve tüyler gibi koruyucu dokularıyla, fiziksel hareketleriyle ve davranışsal önlemleriyle korurken [25], insanlar ev perdeleme [26], kapalı alanları spreyleme (IRS) [27] ve insektisidle muamele edilmiş cibinlikler (ITNs) gibi savunma önlemleri olarak sivrisineklerin kan emme baskılarına karşı kendilerini korurlar[28].

Konak türler arasında savunma davranışlarında gözlenen farklılıkların, konak spesifitesi üzerinde hareket eden doğal seçimden kaynaklı olduğu varsayılmaktadır[177, 178]. Sivrisineklerin beslenme baskıları karşısında küçük konaklar, büyük konaklara göre kendilerini daha çok savunurlar. Örneğin, sivrisinek saldırılarına karşı ötücü kuşlar ve kemirgenlerin vücut ve baş sallayarak kendilerini korudukları gösterilmiştir[179]. Aynı şekilde böcek ısırılmalarına karşı buzağuların da sığırlara göre, kendilerini daha aktif savundukları bildirilmiştir[180].

Sivrisinekler sıtma, filariasis, deng ateşi ve diğer arbovirüslerin bulaşım ve taşınımındaki merkezi rollerinden dolayı, omurgalı canlılarda hastalıklara ve ölümlere neden olurlar[146, 181]. Sivrisineklerin insanlar ve diğer patojene duyarlı konaklar üzerinden beslenme sıklığı ve uzun süreli sağ kalımlılıkları, hastalık bulaşımının en önemli belirleyicileri olarak kabul edilebilir[182]. Bu gibi durumlar konak canlıların kendilerini kan emilmesine karşı yapmış oldukları savunma davranışları tarafından etkilenebilir. Bu tür savunma davranışları sivrisineklerin ısırılmalarını [183, 184] ya da beslenmelerini [185] engellediği takdirde vektör-konak etkileşim oranlarını indirgeyerek, parazit iletimini azaltmaya yönelik hareket edebilir[186, 187]. *Ae. aegypti* ve diğer ektoparazitler ile yapılan çalışmalarda, konak savunma davranışlarının emilen kan oranını azalttığı gösterilmiştir[181, 188-190]. Bunun aksine savunma davranışları sivrisinekleri diğer konaklara yönlendirirse, parazit iletimi artabilir[185, 191].

Sivrisineklerde üreme başarısı [192, 193] ve hayatta kalabilirlik emilen kan miktarı ile yakından ilişkilidir[11]. İnsanlar tarafından geliştirilen yapay savunma önlemlerinin de sivrisineklerin beslenme başarıları üzerinde olumsuz etkileri vardır. Örneğin, insektisidle muamele edilmiş cibinlikler veya ev perdeleme gibi etkili kontrol yöntemleri ile beslenmesi engellenen sivrisineklerin üreme ve hayatta kalma şansları azaltılabilir[187, 194].

2.4.7 Sivrisineklerde Konak Arama, Kan Emme ve Yumurtlama Davranışı

Konak arama davranışı sivrisineğin potansiyel omurgalı konağına doğru uçuş oryantasyonu olarak tanımlanır. Sutcliffe (1987)'ye göre, sivrisineklerin konaklarına oryantasyonu üç aşamada incelenir[195]. İlk aşama çekici konak arayışı, sivrisineklerin konak canlıların bulunduğu habitatlara doğru genel uçuş aktivitesi olarak adlandırılır. Bu aşama iç faktörlerden açlık (üreme fazına karşılık gelir), büyük olasılıkla fizyolojik yaş tarafından kontrol edilir. Teoride en makul konak arama süresi, açlık ve sivrisineklerin günlük aktivite döngülerinin en yüksek olduğu zamanlara denk gelir. Sivrisineklerde konak arama davranışları günlük (24 saatlik, sirkadiyen) ritim ile açıklanır. Gece aktif olarak konak arayan bazı *Culicinea* sivrisineklerinin (*Cx. salinarus*, *Cx. nigripalpus* ve *Cx. tarsalis*) uçuş aktivitelerindeki zirve (peak) seviyeleri gün batımından hemen sonra 1-3 saatlik dilim içinde olurken, bazen de ikinci küçük zirve seviyelerinin gün doğumundan kısa bir süre önce gerçekleştiği gösterilmiştir[196-201].

Aktivasyon, konak arama oryantasyonunun ikinci aşamasıdır. Konak arama davranışı başladığı zaman sivrisinek CO₂ ve spesifik konaklara ait uyarıcılarla aktive olmaya başlar. Bu uyarıcılar daha sonra sivrisineğin konağına doğru hareket yönünü belirler[195].

Değerlendirme ve kabul/red etme, konak oryantasyonunun üçüncü ve son aşamasıdır. Bu aşamada konak arama davranışını harekete geçiren iç faktörlerin aksine (endojen ritimler ve açlık), dış faktörler etkili olmaktadır. Aktive olmuş sivrisinek konağına yaklaştığı zaman görsel uyarıcılar konağına yönelimi sağlar. Sivrisinek konaktan kan emmeye başladıktan sonra konak arama davranışı son bulur[195].

Memeli hayvanlar ve kuşlar metabolik faaliyetleri sonucu açığa çıkan ısıyı, vücutlarından dışarı verirler. Aynı zamanda vücut sıcaklığı konveksiyonel akımlar oluşturarak, konağa ait kimyasalların yayılımını sağlayarak, sineğin konak arama davranışını etkiler[202, 203].

Omurgalı canlılar tarafından solunum sonucu atmosfere verilen karbondioksit, kimyasal içeriği ve miktarı bakımından en önemli konak uyarıcısıdır[204, 205]. CO₂ *Ae aegypti*, *An. gambiae* ve *Cx. quinquefasciatus* gibi sivrisineklerde güçlü bir davranış aktivatörü ve cezbedicisi olarak gösterilmiştir[204, 206-208]. CO₂ laktik asit ya da oktanol (1-octen-3-ol) ile birleştiğinde, *Aedes* ve *Anopheles* sivrisinekler için daha çok cezbedici olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır[209-214]. Benzer şekilde, CO₂ nonanal ile birleştiğinde, *Cx. quinquefasciatus* 'un örneklenme sayısının arttığı bildirilmiştir[215].

Sivrisineklerin çoğunda yolk sentezi ve yumurta gelişimi için gerekli olan protein hematofaji ile sağlanır. *Culex* ve *Aedes* sivrisineklerinde kan emme davranışının trombositler tarafından salınan ADP ve ATP ile uyarıldığı gösterilmiştir[216]. Dişi sivrisinek uygun bir konak bulduktan sonra beslenme lokasyonunu belirler ve kan emme hortumunu kan dokusuna ulaşıncaya kadar deri yüzeyinden yaklaşık olarak 0,5 mm aşağıya doğru ritmik hareketlerle sokar. Sivrisinek proplama süresince kan damarlarını parçalar. Kan damarlarının parçalanması trombosit toplanması, damar genişlemesi ve kanın pıhtılaşmasına neden olarak, konak hemostatik tepkilerini tetikler. Kan emme işlemi yaklaşık olarak 1-2 dakika kadar sürer. Bu sürede sivrisinek antihistaminler, vasodilatörler ve antikoagulantlar içeren tükürük enjekte ederek kan emilimini kolaylaştırır. Tükürük salgılama kan emme esnasında başlar, kan emme işleminin sonuna kadar devam eder[217]. Sivrisinek tamamen beslendikten sonra konağını terk eder[218].

Kan emme sivrisineklerin çoğunda yumurta gelişimini tetikler. Sivrisinekler bazen yumurtalarını olgunlaştırmadan önce birkaç kez kan emer (gonotropik uyumluluk), bazen de her kan emmeden sonra yumurtalar olgunlaşır (gonotropik uyumsuzluk). Ayrıca bir gonotropik döngüde bırakılan yumurta sayısı ile emilen kan miktarı arasında pozitif ilişki vardır[192]. Genellikle üretilen yumurta sayısı türler arasında farklılık gösterir. İlk gonotropik döngüde; *An. maculipennis melanon* yaklaşık olarak 500 yumurta [219], *Cx.*

pipiens 250-400 yumurta [220] ve *An. gambiae* ve *Ae. aegypti* türü sivrisineklerin ise 100'den daha az yumurta ürettiği gösterilmiştir[221-223].

2.4.8 Kan Emme Başarısı ve Çoklu Beslenme Davranışı

Konak savunma davranışları fiziksel olarak sivrisineklerin beslenme başarısını etkiler[183, 224]. Bu tür davranışlar sivrisineklerin beslenmelerini tamamen engellediği gibi, daha az kan emmelerine de neden olabilir[184, 185]. Bunlara ek olarak sivrisineklerin inaktif konaklar üzerinden beslenme başarılarının daha yüksek olduğu da bilinmektedir[225].

Beslenme analizlerinde sivrisineklerin emdiği kan miktarlarındaki artışların, genellikle bu organizmaların aynı konak üzerinden defalarca beslenmesi veya beslenme sırasında emdiği kan miktarının konağın kan akış hızıyla orantılı olarak artmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir[226]. Aktif olarak hareket eden konakların kan akış hızı, kontrol altında tutulanlara göre daha yüksektir. Bu durum konak hareketlerine paralel bir şekilde; ter üretimi, vücut ısısı ve kan akış hızının artmasına bağlı olarak, damar genişlemesi (vazodilatasyon) gibi metabolik aktivitelerdeki artış ile ilişkilendirilebilir. Sivrisinekler için bu fiziksel değişikliklerin, konağın cazibesini artırdığı varsayılmaktadır[227, 228].

Uzun süreli beslenmenin emilen kan miktarını artıracığı varsayıldığına göre, sivrisinek maksimum yumurta üretimi için konak savunma davranışlarından dolayı, yeterli miktarda kan emmeden konağını terk eder. Savunma davranışları, beslenmesi engellenen dişinin aynı konaktan tekrar beslenmesine veya farklı bir konağa yönelmesine neden olabilir[185]. Sivrisineklerde çoklu kan emme davranışı kapalı (aynı türün birden fazla konağından beslenme) olabildiği gibi açık da (farklı türlerin birden fazla konağından beslenme) olabilir[229].

Genel beslenme stratejisi sivrisineklerin vektörlük potansiyellerini etkileyebilir. Sivrisineklerde çoklu konak seçiminin yumurta üretimiyle pozitif bir ilişkisi vardır. *Anopheles* cinsi sivrisineklerde çoklu kan emmenin doğurganlığı artırdığı bildirilmiştir[230]. *Aedes albopictus* ile yapılan çalışma ile ikili, üçlü ve karışık beslenmenin yumurta verimini anlamlı bir şekilde artırdığı gösterilmiştir[231]. Çoklu

beslenmeler sadece yumurta verimini değil, aynı zamanda hastalık taşıyan vektörün aynı gonotrofik dönem içinde birden fazla konaktan beslenebilmesi olasılığını arttırabileceği için hastalığın taşınmasını ve yayılmasını da artırabilir.

2.4.9 Kanın Besinsel Değeri ve Sindirimin Maliyeti

Sivrisineklerde rastgele olmayan beslenme davranışları, besin kazanımındaki çeşitlilik ve farklı konak türlerinden elde edilen fitness farklılıkları ile açıklanabilir. Yapılan çalışmalara göre, sivrisineklerin kan emdikten sonra üreme başarıları ve hayatta kalma oranları konak türlere göre değişmektedir[8-24, 232, 233]. Kanın besin miktarını etkileyen hematolojik özellikler omurgalı türler arasında değişiklik gösterir[16, 20]. Beslenme sırasında sivrisinek emdiği kanı midenin arka tarafında bulunan pilorik kısımdan geçirir[21]. İskeletleşmiş diş benzeri bu yapılar, kandaki serumun geçişine izin verir. Fakat yumurta üretimi sırasında temel protein kaynağı olan kırmızı kan hücrelerini tutarlar[21]. Bu dişlerin sayısı ve yapısı sivrisinek türleri arasında değişiklik gösterir[22]. Benzer şekilde kırmızı kan hücrelerinin yapısı da omurgalı türler arasında değişiklik göstermektedir[20, 232]. Bundan dolayı sivrisineklerin pilorik kısımlarında etkili bir şekilde filtre ettikleri kanın kaynağı olan konak türler üzerinde seçici olabilecekleri varsayılmaktadır[16, 22]. Aynı zamanda omurgalı kanının izolösün içeriğinin sivrisineklerde yumurta üretimiyle ilişkili olduğu ve omurgalı türler arasında konak seçimini etkilediği ileri sürülmüştür[16]. Diğer bir varsayım ise omurgalı kanlarının besin değerlerinin, tercih edilen konaklarda benzer bile olsa, sindirimleri sırasında harcanan enerjinin aynı olmayacağı yönündedir[3].

Kanın sindirimi önemli ölçüde enerji tüketimi gerektirir. *Cx. tarsalis* türü sivrisineğin kanı sindirmek için şekere göre iki kat daha fazla metabolik enerji harcadığı gösterilmiştir[23]. Konak türler arasında emilen kanın sindirilme süreleri farklıdır. *Cx. tarsalis*'in konak olarak tercih ettiği tavuk kanlarını, kemirgen kanlarına göre daha hızlı sindirdiği gösterilmiştir[24].

Kan proteinlerinin sivrisinekler tarafından alınması için kırmızı kan hücrelerinin hemoliz edilmesi gerekir. Hemoliz sivrisineğin bağırsağında mekanik ya da enzimatik olarak gerçekleşir. Sivrisineğin ön bağırsağının ön kısmında yer alan cibarial armatür

mekanik hemolizin ilk yapıldığı yerdir. Cibarial armatürdeki dişlerin sayısı ve morfolojik yapısı sivrisinek türleri arasında farklılık göstermektedir[2]. Sivrisinekler cibarial armatürleri ile parçaladıkları kırmızı kan hücrelerinin kaynağı olan omurgalı konak türler üzerinde seçici olabilirler.

Omurgalı türler arasında kanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklı olması sivrisinek türlerinin üreme başarısını etkileyebilir. Bu durum aynı zamanda sivrisinekler için omurgalı konak türler üzerinde bir seçim oluşturabilir. Diğer bir varsayıma göre, konak kanlarının hematolojik özelliklerinin sivrisineklerin konak seçimlerinin evrimi üzerinde bir etkisi varsa, sivrisineklerin fitnessları ve tercih ettikleri konak türler arasında da bir evrimsel ilişki olmalıdır. Laboratuvar koşullarında, sivrisinekler farklı konak türleri üzerinden beslendikten sonra üreme başarıları ve hayatta kalımlılıklarını gösteren çalışmalar olmasına rağmen, doğal koşullarda çoğunlukla tercih ettikleri konaklar üzerinden beslendiklerinde üreme başarıları ve hayatta kalımlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir[8-24, 232, 233].

2.5 Konak Tercihinde Tanı Yöntemleri

Artropodların konak tercihlerini belirlemek amacıyla yapılan ilk çalışmalarda hayvan tuzakları kullanılarak vektör organizmaların davranışları gözlemlenmiştir. Ancak bu yöntemlerin spesifik kullanım alanları yapılan olumsuz eleştirilerle, sınırlı kalmıştır[234]. Artropodlarda beslenme sonrasında, orta bağırsakta emilen kana ait bileşenler immünolojik ya da moleküler temelli yöntemler kullanılarak tespit edilebilir [234-236]. Serum albümin ve tamamlayıcı protein (C3) ile emilen kan sindirildikten sonra, 24 saate kadar belirlenebilirken, IgG ve IgM birkaç gün içinde belirlenebilir[237]. Sivrisineklerde ise konağa ait mitokondriyal DNA (mtDNA) beslenmeden sonra, 1,5-7 güne kadar tespit edilebilir[235, 238, 239].

Kan ile beslenen artropodların konaklarını belirlemeye yönelik çeşitli serolojik teknikler kullanılmıştır[234]. İlk olarak presipitin test yöntemi konakları takım ve aile düzeyinde ayırt etmek için yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen [240-242], bu testin zayıf duyarlılığı ve özgünlüğü spesifik konaklara ait kanlar arasında ayırım yapmak

için yetersiz kalmıştır. Sonraki yıllarda ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) tekniği yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır[243-246]. ELISA tekniği taze kana ihtiyaç duyulmasını ve her bir omurgalı konak için tür-spesifik antikoların kullanılmasını gerektirmektedir[247]. Ancak immunolojik metodlar kanları analiz etmede sayısız değerli veriler sağlamasına rağmen, yakından ilişkili türlerde serum proteinlerinin çapraz reaksiyonlarını yok etmek için ön emme aşamalarına ihtiyaç duyulması gibi nedenlerden dolayı oldukça zahmetli ve zor tekniklerdir.

Son zamanlarda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli yaklaşımlar ve omurgalı DNA sekans bilgilerinin artması kan konaklarının analizlerinde spesifikliği tür ya da bireysel düzeye indirgemıştır. Konak analizi çalışmalarında, sitokrom b (cytb) ve sitokrom oksidaz 1 (CO1) gibi mitokondriyal genler, 18S, 5.8S ve 28S gibi ribozomal genler, nükleer genler, minisatellitler ve mikrosatellitler gibi tekrarlayan DNA dizileri ayırt edici belirteçler olarak kullanılırken, DNA sekanslama, grup-spesifik polimeraz zincir primerleri, PZR-RFLP, terminal RFLP, real time PZR, heterodubleks analizi, reverse line-blot hibridizasyonu (RLB) ve DNA profillemeye moleküler yöntemler olarak kullanılmaktadır[248].

PZR, sitokrom b gen bölgesinin belirli kısmını çoğaltmak için tür ya da grup spesifik primerler kullanılarak yapılan bir tekniktir. Bu teknik memeli ve kuş konaklarını ayırt etmek ve farklı kuş takımları arasında ayırım yapmak için kullanılmıştır[235]. Aynı zamanda tek [249] ve multiple PZR [250] ile sitokrom b geni için tür-spesifik primerler kullanılarak birden fazla memeli konaklarına ait kanları ayırt etmek için de kullanılmıştır. Yöntem basit ve ucuzdur. Ancak sivrisinek bir ya da birkaç konaktan kan emmiş ise, konakların sınıf ya da takım düzeyinde değerlendirilmesi için pratik bir yöntem olarak kabul edilmektedir (İnsan Kan İndeksini belirlemek gibi).

PZR-Heterodubleks tekniği, kan emmiş *Simulium damnosum* s.l. (Diptera: Simuliidae) ve *Glossina palpalis*'de (Diptera: Glossinidae) konakçıya ait kanları tür seviyesinde tespit etmek için geliştirilmiştir[251]. Bu teknik çoğaltılmış sitokrom b ürünleri (örnek) ve yakından ilişkili prob (driver) sekansının bağlanmasıyla oluşan heterodubleks moleküllerin değişkenliğine dayanarak konak DNA'sını ayırt etmeye yönelik

tasarlanmıştır. Aynı zamanda kan emmiş sivrisineklerin konaklarına ait DNA'ları tespit etmek için de kullanılmıştır[235, 238, 252-254]. Ancak kullanım alanı, diğer sitokrom b geni ile yapılan moleküler metodlara göre daha öznel ve daha az çoğaltılabilir olduğu için sınırlı kalmıştır[255].

Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (TRFLP) tekniği, restriksiyon enziminin bağlanma pozisyonuna göre tür seviyesinde konak DNA'sını belirlemek ve ayırt etmek için kullanılmıştır. TRFLP yöntemi ile *Ixodes ricinus* [256], *G. palpalis* [257] ve alandan toplanan kan emmiş sivrisineklerin konak DNA'ları, Terminal Restriction Fragment (TRF) uzunluk fragmentleri bilinen omurgalı türlerin TRF uzunluk profilleri ile karşılaştırılarak birkaç sivrisinek türünde konak DNA'sı başarılı bir şekilde belirlenmiştir[255, 259]. Ayrıca DNA profillemesi [260] ve DNA fingerprinting teknikleri de sivrisineklerin konaklarını belirlemek için kullanılan teknikler arasında yer almaktadır[261-263].

Şimdiye kadar artropod böceklerin kan konaklarını tespit etmeye yönelik geliştirilen teknikler ile başarılı sonuçlar elde edilmesine rağmen, Reverse Line-Blotting (RLB) çok sayıda örneği eş zamanlı olarak test etmeye dayanır. Bu yöntem ile *I. ricinus* kenelerinin kan konakları başarılı bir şekilde belirlenmiştir[264]. RLB farklı türlerin eş zamanlı olarak PZR ile amplifiye edilmesi ve ardından her bir tür için spesifik oligonükleotidler kullanılarak ayırt edilmesini sağlar. Bundan dolayı RLB, PZR ile amplifikasyonu takip eden hibridizasyon basamağından oluşmakta, PZR'ın tek başına kullanılmasından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında ise çok fazla duyarlılığa sahip olmaktadır. Ayrıca sonuçların görüntülenmesi için radyoaktif maddeler yerine kemilüminesans kullanılması testi yapan insanlar için zararlı etki oluşturmadığından, bu yöntemi daha cazip hale getirmektedir. Aynı zamanda, oligonükleotidleri içeren blotun en az 20 kez tekrar kullanılabilir olması da kullanıcılarına ekonomik olarak katkı sağlamaktadır[265, 266].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Alanı ve Genel Özellikleri

Doğu Anadolu Bölgesi'nde yüksek platolar ve dağlık alanların geniş yer kapladığı bir bölgede bulunan Aras Havzası'nın, Anadolu toprakları içinde iki önemli ovası bulunmaktadır. Bunlardan ilki Erzurum coğrafyası içinde kalan Pasinler Ovası, diğeri ise Sürmeli Çukuru olarak da bilinen Iğdır Ovası'dır. Iğdır Ovası, Aras Nehri'nin Anadolu sınırları içerisindeki Kars ve Iğdır illerindeki bölümünü içeren Orta Aras Havzası içinde yer alır. Iğdır Ovası, Arpaçay'ın Aras Nehri ile birleştiği Ergüder mevkiinden başlayıp, Aras Nehri'nin ülkemiz sınırlarını terk ettiği Türkiye-İran-Nahcivan sınırlarının birleşme noktasına kadar devam eder. Yükseltisi, batıda-doğuya ve güneyden kuzeye doğru azalan bu çukurluğun merkezinde Iğdır şehri kurulmuştur. Bölgenin, yaklaşık %74'ü dağlık, %26'sı da ovalık araziden oluşmakta, il genelinde en önemli yükseltiler batıdan doğuya doğru; Durak Dağı (2,811 m), Zor Dağı (3,196 m), Pamuk Dağı (2,639 m), Büyük Ağrı Dağı (5,165 m) ve Küçük Ağrı (3,986 m) yer almaktadır[267].

Yüzölçümü 832 km² olan Iğdır Ovası'nın bağıl yükseklikleri 60 metreyi geçmeyen Kireçtepe ve Ateştepe gibi yükseltiler hariç tutulursa, tamamen düz ve engebesiz olduğu söylenebilir. Ova'nın genel eğiliminin az oluşu ve taban suyu yükselmesi gibi nedenlerden dolayı bazı yerlerinde bataklık alanlar oluşmuştur[267].

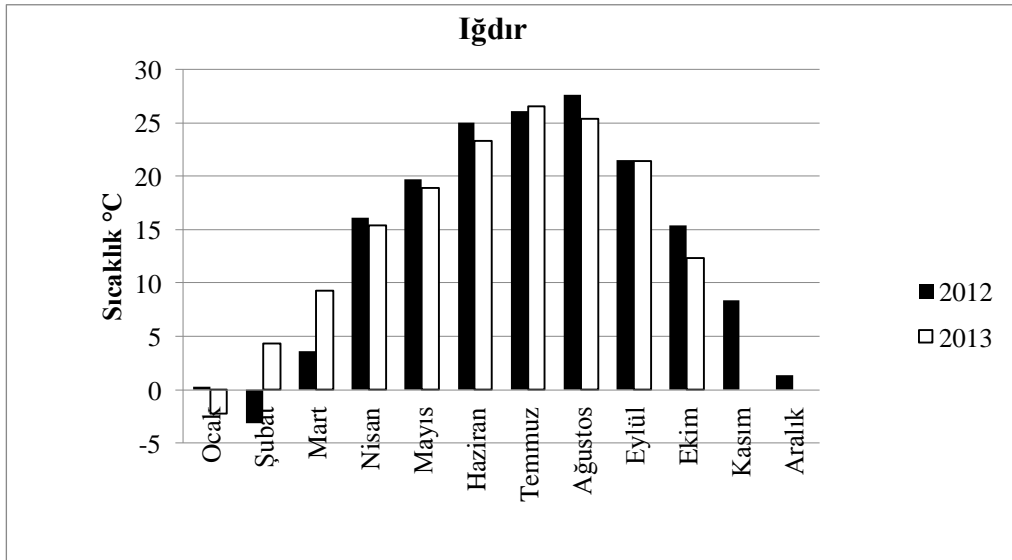
Aras Havzası Kuzeydoğu-Güney Göç Rotası üzerinde olup kuşların barınma, konaklama ve beslenme ihtiyaçlarını karşılayacağı bataklık, sazlık, çalılık ve meyve bahçelerini barındırmaktadır. Göçmen kuşların sonbahar ve ilkbahar göçlerini takibi için 2006 yılından bu yana Aras Havzası'nda kuş halkalama çalışmaları yapılmaktadır.

3.2 Çalışma Alanının İklimi

Aras Havzası ve çevresi, Türkiye ve Doğu Anadolu ölçüsünde kendine özgü "mikro-klima" iklim özelliğine sahiptir. Iğdır Rasat İstasyonu'nun 40 yıllık ölçümlerine göre, bu merkezde yıllık sıcaklık ortalaması 12,8°C ve yıllık ortalama sıcaklık farkı ise 29,2°C'dir.

En yüksek sıcaklık değerlerine Ağustos 41,8°C, en düşük sıcaklık değerlerine ise Aralık ayında -30,3°C rastlanmaktadır. Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün 2012-2013 yılları arasında kaydedilmiş Iğdır iline ait sıcaklık verilerine göre, sonuçların bu durumu desteklediği görülmektedir(Şekil 3.1) [268].

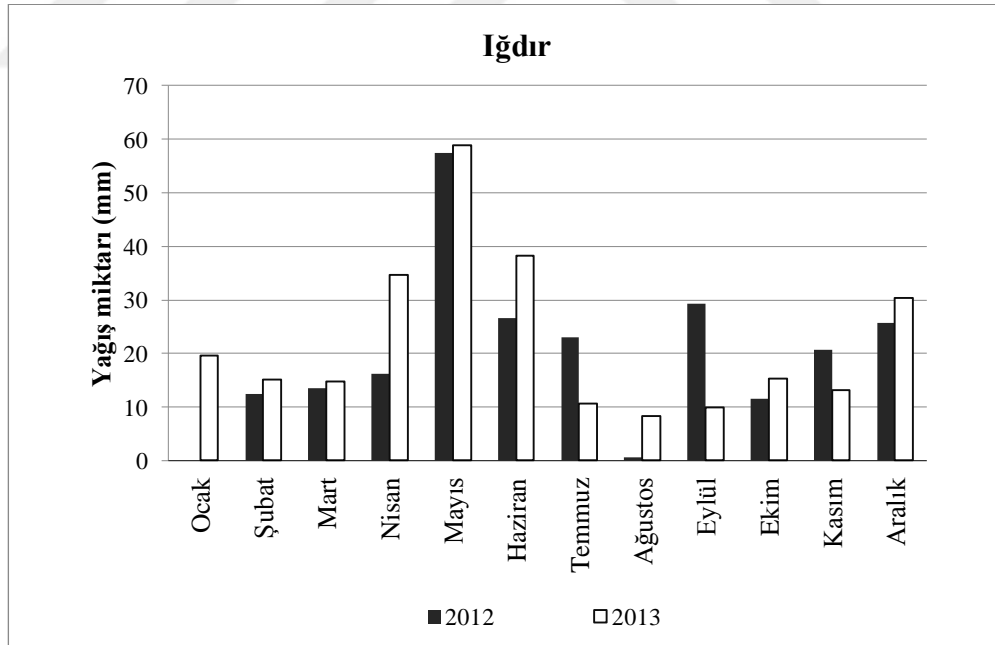
Yıllık sıcaklık ortalaması Iğdır'ın yaklaşık olarak 50 km güneyinde Doğubayazıt'ta 8,6°C, 85 km güneybatısında Ağrı'da 6,5°C ve 130 km kuzeybatısında bulunan Kars'ta 4,8°C kadardır. Aras Havzası etrafındaki yüksek dağlar ve plato bölgelerinden, sıcaklık farkları ile belirgin bir şekilde ayrılır. Kısa mesafede sıcaklığın bu ölçüde değişmesi, topoğrafik yapıdan kaynaklanan yükseltinin bir sonucu olarak düşünülmektedir. Aralık, Ocak ve Şubat aylarının sıcaklık ortalamasının fazla düşük olmaması, bölgede zaman zaman görülen aşırı soğuklar dışında kış mevsiminin fazla soğuk geçmediğini göstermektedir. İlkbahar mevsiminde sıcaklık ortalaması 10,0°C'nin üstünde olduğu zaman havanın ısınmaya başladığı anlaşılmaktadır. Yaz mevsiminde sıcaklık ortalaması 24°C'nin üstüne çıkmaktadır. Bu değer, yurdumuzun güney ve batısındaki bazı istasyonların (örneğin, Alanya 26,1°C) değerlerine yakın bulunmaktadır. Sonbahar mevsiminin ortalama sıcaklık değeri ise ilkbahar mevsimine benzerlik göstermektedir.



Şekil 3.1. 2012-2013 yıllarına ait Iğdır ili sıcaklık grafiği

Yıllık 98,8 güneşli güne sahip olan Iğdır'da, bu günlerin yıl içinde en çok görüldüğü ay Ağustos (16,3 gün), en az görüldüğü ay ise Nisan'dır (4 gün). Bölgede açık günler en fazla Haziran-Ekim periyodunda görülmektedir. Yıllık 65,8 günü bulan kapalı havalar ise, 10 günün üzerinde ortalamasıyla en fazla Aralık, Ocak ve Şubat aylarında görülmektedir.

Nisan ayından itibaren bölgeyi etkisi altına alan ve yaz periyodu süresince sık esen kuzey, doğu, batı ve güney yönlü yağışsız sıcak hava tipleri mutlak yaz kuraklığına sebep olmaktadır. Alanda havanın yıllık ortalama bağıl nem değeri % 63'tür. Bağıl nem oranı Aralık ayında %73'e kadar artarken, Temmuz ayında %53'e kadar düşmektedir. Ayrıca yağışlar en fazla ilkbahar ve yaz mevsimlerinde, en az yağış ise kış mevsiminde görülmektedir. Bununla birlikte Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün 2012-2013 yılları arasında kaydedilmiş Iğdır İli'ne ait yıllık ortalama yağış miktarı ise 285,6 mm'dir(Şekil 3.2) [268].



Şekil 3.2 2012-2013 yıllarına ait Iğdır ili yağış grafiği

3.3 Sivrisineklerin Örnekleme

Ergin sivrisinekler habitat tercihlerine göre uygun dinlenme, üreme, barınma ve kan emebilecekleri konak canlıların bulunabilecekleri eski tip ve toprak damlı alçak ahırlar, ev içleri, boş binalar, kümesler, vejetasyon ve yarı açık alanlardan New Jersey ışık tuzakları ve ağız aspiratörleri kullanılarak örneklemiştir.

New Jersey ışık tuzakları yerden en az 1,5 m yükseklikte olacak şekilde sivrisineklerin ısırma aktivite zamanları dikkate alınarak 18⁰⁰ ve 06⁰⁰ saatleri arasında yerleştirilmiş ve çalıştırılmıştır. Ağız aspiratörleri ile de gün içinde sivrisinekler için uygun beslenme, dinlenme ve barınma alanları olabilecek kapalı alanlardan örnekleme yapılmıştır (Resim 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5). Her iki yöntemle toplanan örnekler, örnekleme yerlerine ve tarihlerine göre ayrı ayrı kutular içine alınarak portatif mini soğutucu içinde laboratuvara getirilmiştir.



Resim 3.1 Örnekleme yapıldığı yarı açık kümes



Resim 3.2 Örneklemenin yapıldığı açık alan



Resim 3.3 Örneklemenin yapıldığı açık alan



Resim 3.4 Örneklemenin yapıldığı yarı açık ahır



Resim 3.5 Örneklemenin yapıldığı ahır önü

3.4 Laboratuvar Çalışmaları

3.4.1 Sivrisineklerin PZR-RLB için hazırlanması ve saklanması

Laboratuvar koşullarında sivrisineklere ait her bireyin abdomeni steril pensler kullanılarak baş/gövde kısmından ayrılmıştır. Daha sonra abdomenler 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere konulmuş ve üzerlerine 50 µl PBS (Phosphate Buffer Saline) eklenerek ezilmiştir. Bazıları ise PBS eklenmeden direkt olarak DNA izolasyonları yapılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmişlerdir. PBS eklenen sivrisineklerden DNA izole etmek için klasik DNA izolasyon yöntemi kullanılmışken, diğer sivrisineklerde DNA izolasyon kiti kullanılmıştır.

3.5 Moleküler Çalışmalar

3.5.1 Klasik Yöntem DNA İzolasyonu

PBS (Phosphate Buffer Saline) solüsyonu ile ezilmiş örneklerin DNA izolasyonları Sambrook ve ark. (1989), tarafından tanımlanan DNA izolasyon tekniği modifiye edilerek yapılmıştır[269].

50 µl PBS'li örnek üzerine,

- 400 µl dH₂O
- 100 µl EDTA
- 200 µl ELB Buffer
- 20 µl proteinaz-K
- 20 µl Tris-HCL pH: 8,0
- 10 µl 6M NaCl

ilave edildikten sonra karışım 5 dk hafif/kuvvetli vortekslenmiştir. Daha sonra karışım 60 dk boyunca 65°C ısıtıcıda inkübasyona bırakılarak 10 dakikalık aralıklarla vortekslenmiştir. Hücre süspansiyonuna kendi hacmi kadar (800 µl) Fenol: Kloroform: İzomil Alkol (25:24:1) ilave edilerek yavaş bir şekilde ters-düz edilmiş ve daha sonra 5

dk 13 000 rpm'de ve +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üsteki sıvı kısım pipet ile steril bir tüpe aktarılmıştır. Bu sıvının hacminin 1/10'u kadar (70µl) 3 M sodyum asetat (C₂H₃NaO₂) ve hacminin 2 katı kadar (ependorfu dolduracak kadar) absolut ethanol alkol eklenerek -20°C'de 24 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler 13 000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstteki sıvı kısım dökülerek altta kalan pelet oda ısısında 10-15 dk kadar kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan peletin üzerine 200 µl dH₂O eklenerek pelet çözündürülmüştür. Çözölmüş peletin üzerine hacminin 1/10'u kadar (20 ml) 0,3 M sodyum asetat (C₂H₃NaO₂) ve 440 ml ethanol eklenerek 1 gece boyunca -20 °C'de bekletilmiştir. Süre sonunda 13 000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatant dökülerek altta kalan pelet oda ısısında 10-15 dk kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan peletin üzerine 100ml dH₂O eklenerek pelet çözödürölmüştür. Elde edilen DNA'lar, PZR'da kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

3.5.2 Kit Yöntemi ile DNA İzolasyonu

Kan emmiş sivrisineklerin tam kandan genomik DNA izolasyonları Purelink^R Genomic DNA Purifikasyon Kiti (İnvitrogen) kullanılarak firmanın bildirdiği prosedüre göre yapılmıştır. Çalışmadan önce PureLink^R Genomic Elution Buffer izolasyon kiti blok ısıtıcıda 70°C sıcaklıkta ısınmaya bırakılmıştır. Aynı zamanda blok ısıtıcı inkübasyon işlemi için 56 °C'ye ayarlanmıştır. Laboratuvar koşullarında steril olarak sivrisineklerin baş/gövde kısımlarından ayrılan abdomenleri ayrı ayrı steril 1,5 ml'lik eppendorf tüplere konulmuş ve üzerlerine 180 µl Pure Link^R Genomic Digestion Buffer ve 20 µl Proteinaz-K eklendikten sonra iyice karıştırılarak homojenize edilmiştir. Karışım önceden ayarlanmış blok ısıtıcıda 56°C'de 1 saat hücre lizisi için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince tüpler 10 dakikalık aralıklarla vortekslenmiştir. İnkübasyon sonrasında tüp içindeki lizatlar oda sıcaklığında 3 dk maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstte kalan sıvı kısımlar yeni steril mikrosantrifüj tüpler içine alınarak üzerlerine 20 µl RNase eklendikten sonra vortekslenerek iyice karışması sağlanmıştır. Vorteksleme işleminin ardından oda sıcaklığında 2 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda lizatların üzerine 200 µl PureLink^R Genomic Lysis/Binding Buffer eklenerek tekrar vortekslenmiştir. Daha sonra lizatların üzerlerine 200 µl %96'lık absolut ethanol

eklendikten sonra 5 dk oda sıcaklığında tekrar vortekslenmiştir. Vorteksleme işlemi sonrasında kit içinde hazır bulunan PureLink kolon tüpler ayrı ayrı toplama tüpler içine yerleştirilmiş ve yaklaşık 640 µl olan lizatlar bu tüpler içine pipetlendikten sonra oda sıcaklığında 10,000x rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda toplama tüpleri atılmış ve kolon tüpleri yeni toplama tüpler içine yerleştirildikten sonra üzerlerine 500 µl Yıkama Solüsyonu 1 (ethanollü) eklenerek oda sıcaklığında 10,000 x rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında toplama tüpleri atılmış ve kolon tüpleri yeni toplama tüpleri içine yerleştirildikten sonra üzerlerine Yıkama Solüsyonu 2 (ethanollü) eklenerek oda sıcaklığında 3 dk maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında toplama tüpleri atılmış ve bu aşamada yeni steril 1,5 ml'lik eppendorf tüpler içine kolon tüpler yerleştirilerek üzerlerine 100 µl PureLink^R Genomic Elution Buffer eklendikten sonra oda sıcaklığında 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrasında elde edilen DNA'lar PZR-RLB'de kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.3 Genomik DNA Konsantrasyonunun Tespiti

Genomik DNA miktarının belirlenmesinde amaç DNA içeren suyun (distile su veya elution buffer) emdiği ultraviyole radyasyon miktarının spektrofotometre ile ölçülmesidir. Çalışma süresince DNA miktarı 260 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılarak belirlenmiş ve elde edilen genetik ürünün protein kirliliği taşıyıp taşımadığı ise 280 nm'de ölçüm yapılarak tespit edilmiştir.

3.5.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Her PZR reaksiyonu, pozitif ve negatif kontrol DNA örnekleri içermiştir. Pozitif kontrol örnekleri Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi çiftliğindeki potansiyel omurgalı konaklar olarak belirlediğimiz mevcut hayvanlardan alınan kanlardan elde edilmiştir.

Bu çalışmada moleküler belirteç olarak omurgalı mitokondriyal sitokrom b geninin yaklaşık 344 bp'lik kısmını amplifiye edecek forward ve reverse (Cyt1: 5'-CCA TCA

AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3' ve Cyto2: 5'biotin-CCC CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC-3') primer çifti kullanılmıştır[270].

1 reaksiyonluk PZR Çözeltisi: 50µl

- 10x PZR Buffer : 5 µl
- 10 µl dNTPs : 1µl
- Cyto 1-biotin : 1 µl
- Cyto 2 : 1 µl
- 5 U/ul Taq : 0,4 µl
- 25 Mm MgCl₂ : 1,5 µl
- dH₂O : 38,1 µl
- DNA : 2 µl

PZR şartları ise,

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94	3 dk	
Denatürasyon	94	30 sn	
Primer bağlanması	55	30 sn	35
Zincir uzaması	72	1 dk	
Son uzama	72	8dk	

3.5.5 PZR Ürünlerinin Elektroforezi

Elde edilen PZR ürünlerinin görüntülenmesi için agaroz jel elektroforez tekniği kullanılmıştır. Jel hazırlanmasında ve tank tamponu olarak 0,5x TBE kullanılmıştır. %2'lik agaroz jel için 1,25 g agaroz jel, 98 ml 0,5x TBE ile çözülürken mikrodalga fırında homojen hale gelinceye kadar ısıtılmıştır. Hazırlanan jel 10 dk kadar soğumaya bırakılmıştır. Süre sonunda üzerine 4,5 µl ethidium bromide solüsyonu eklendikten sonra

iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Jel hava kabarcığı oluşmaması için tarak yerleştirilmiş jel kutusunun kenarından yavaşça dökülmüştür. Daha sonra jelin donması için 25-30 dk kadar beklenilmiştir. Donan jelin içinden taraklar dikkatlice çıkartıldıktan sonra 0,5x TBE bulunan tank tamponu içine yatay olarak yerleştirilmiş jelin kuyucuklarına sırasıyla; birinci kuyucuğa bantların baz çifti değerlerini belirlemek amacıyla 100 bç'lik DNA cetveli, pozitif ve negatif kontroller yüklenmiştir. Sonrasında örneklerden 5 µl ve örneklerin 1/10'u kadar yükleme tamponundan karıştırılarak diğer kuyucuklara yükleme yapılmıştır. Yükleme işleminden sonra PZR ürünleri 90 voltta 45 dk kadar yürütülmüş ve DNA fragman büyüklükleri ultraviyole (UV) ışık altında incelenmiştir. Jel görüntülemesinin ardından kayıtları yapılan biotin işaretli PZR ürünleri Reverse Line Blotting için +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.6 Reverse Line Blot (RLB) Hibridizasyon Tekniği

3.5.6.1 Prob Dizaynı

Çalışma alanında bulunan potansiyel konak türleri için Abbasi ve ark. (2009)'a göre, omurgalı kanlarının sitokrom b PZR ürünüyle hibridizasyonları temel alınarak dizayn edilmiş tür spesifik oligonükleotidler kullanılmıştır[270].

3.5.6.2 RLB'de Kullanılan Materyaller

- 5'amin C6 modifiye edilmiş oligonükleotid proplar
- NaHCO₃ : 0,5 M (pH:8,4)
- NaOH : 0,1 M
- 20x SSPE Buffer
- SDS (Sodium dodecyl sulfat) : %10'luk stok solüsyon
- EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid) : 0,5 M (pH: 8,0)
- EDAC (3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimi : 20 ml, %16'lık solüsyon hydrochloride
- Biodin-C 0,45 µm naylon membran : 20x20 cm

- Deonize su
- Streptavidin-peroxidase conjugate
- Amersham ECL detection reagents
- OHP Transparency film
- Amersham hyperfilm ECL high performance chemiluminescent film: 18x24 cm

3.5.6.3 RLB'de Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

- %16'lık EDAC: 1,6 gr EDAC, 10 ml distile su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- 500 ml 2x SSPE: 50 ml 20x SSPE, 450 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- %10'luk SDS: 10 gr SDS, 100 ml su ile çözdürülmüştür. Karışımın 65 °C'ye kadar ısıtılarak daha iyi çözünmesi sağlanmıştır.
- 500 ml 2x SSPE-% 0,1 SDS: 50 ml 20x SSPE ve %10'luk 5 ml SDS, 445 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- 1000 ml 2x SSPE-% 0,5 SDS: 100ml 20x SSPE ve %10'luk 50 ml SDS, 850 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- 250 ml 0,5M NaHCO₃: 10,5 gr NaHCO₃, 250 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır. pH: 8,4
- 100 ml %1'lik SDS: 10 ml %10'luk SDS, 90 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- 1000 ml 0,5M Na-EDTA: Isıtıcı kullanılarak 146 gr Na-EDTA, 1000 ml su ile çözdürülmüştür (pH: 8,0 oluncaya kadar HCl eklendi, pH: 8,0, Stok çözelti)
- 1000 ml 5M NaOH: 200 gr NaOH, 1000 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- 200 ml 0,1M NaOH: 4 ml 5M NaOH, 196 ml su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.
- Geliştirme Solüsyonu: 500 ml geliştirme solüsyonu, 1500 ml su ile karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Sabitleme Solüsyonu: 500 ml sabitleme solüsyonu, 1500 ml su ile karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.5.6.4 Biodin-C Membranın Hazırlanması

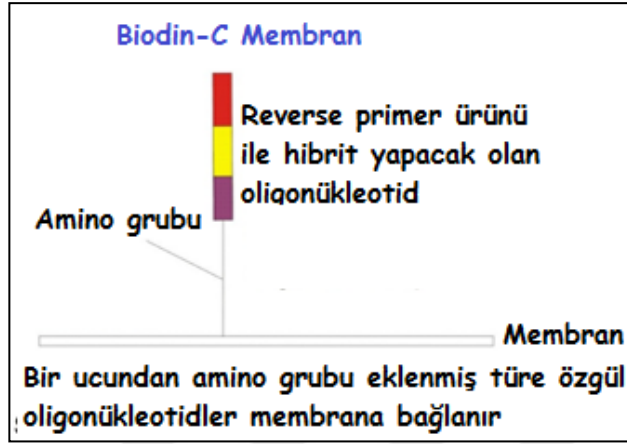
Kullanılan Solüsyonlar:

- 20 ml %16 EDAC
- 250 ml 0,1 M NaOH
- 250 ml 2x SSPE
- 250 ml 2x SSPE-%0,1 SDS (60°C su banyosuna önceden konulmuştur)
- 250 ml 20 mM EDTA

Miniblotter %70'lik ethanol alkol ile temizlenerek steril hale getirilmiştir. Biodin-C naylon membran 15x15 cm boyutunda olacak şekilde kesilerek kurşun kalem ile çalışma konusu ve hazırlanma tarihi yazılmıştır. Reverse Line Blotting (RLB) metodu Scott ve ark. (2012) tarafından tanımlanan RLB tekniğine göre yapılmıştır[271]. Reverse Line Blotting için Biodin-C membran ve 5'-amino gruplarıyla aktive edilmiş spesifik oligonükleotidler kullanılmıştır. Biodin-C membran 10 ml % 16 1-etil- 3 (3-dimetilaminopropil) karbodimid (EDAC) ile 9 dk oda sıcaklığında aktive edilmiştir. Aktive edilen membran daha sonra 30 sn distile su ile yıkanarak miniblottera yerleştirilmiştir. Miniblottera yerleştirilen membranın sıvı kısmı (EDAC ve distile su) aspire edilmiştir. Steril ependorf tüpler hazırlanarak tür spesifik oligonükleotidlerin herbirinden (100-500 pmol) alınarak 150 µl 0,5 M NaHCO₃ (pH 8.4) ile sulandırılmıştır. Kullanılan oligonükleotidler, sulandırma konsantrasyonları ve sekansları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Sulandırılan tür spesifik oligonükleotidler membrana yüklenmiştir (Şekil 3.3). Yükleme işleminin ardından 5 dk oda sıcaklığında inkube edilmiştir. Bu süre içerisinde oligonükleotidler aminolinkerler aracılığıyla membrana kovalent olarak bağlanmıştır. İnkübasyon sonunda oligonükleotidler membrandan aspire edilmiştir.

Membran daha sonra 10 ml 0,1 M NaOH ile 9 dk oda sıcaklığında inaktive edildikten sonra, 250 ml 2x SSPE ile 30 sn yıkanmıştır. Ardından 100 ml 2x SSPE-%0,1 SDS ile membran 60 °C'de 5 dk yıkanmıştır. 2x SSPE-%0,1 SDS döküldükten sonra membran üzerine 250 ml 20 mM EDTA eklenerek, 15 dk oda sıcaklığında yıkanmıştır. Süre

sonunda Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) dökülerek membran üzerine tekrar 10 ml EDTA konularak kullanım aşamasına kadar +4 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.3 Tür-spesifik oligonükleotidlerin membrana tutturulması[272]

Çizelge 3.1 RLB hibridizasyon tekniğinde kullanılan oligonükleotidler, sekansları ve sulandırma konsantrasyonları

Oligonükleotidler	Tür-spesifik Oligonükleotid sekansları (5'→ 3')	Sulandırma konsantrasyonu (100pmol/ µl)
İnsan (<i>Homo sapiens</i>)	5'-amino-ATG CAC TAC TCA CCA GAC GC	879
İnek (<i>Bos taurus</i>)	5'-amino-ATT ATG GGT CTT ACA CTT T	782
Koyun (<i>Ovis aries</i>)	5'-amino-TCC TAT TTG CGA CAA TAG CTTCCT	146
Köpek Türleri	5'-amino-CAG ATT CTA ACA GGT TTA	253
Eşek (<i>Equus asinus</i>)	5'-amino-CTA CTT TTC ACA GTT TAG CTA CA	209
Evcil kedi(<i>Felis domesticus</i>)	5'-amino-CAT TGG AAT CAT ACT ATT	488
Kirpi (<i>Hystrix indica</i>)	5'-amino-ACA CTG CCT ACA CAA CTA CA	944
Kahverengi sıçan (<i>Rattus rattus</i>)	5'-amino-CAG TCA CCC ACA TCT GC	660
Kaya sıçanı (<i>Procavia capensis</i>)	5'-amino-CCT ATT CTT CGT ATG TCT TTA	403
Genel Kuş 1 (Avian)	5'-amino-TAC ACA GCA GAC AC	278
Genel Kuş 2 (Avian)	5'-amino-GCC TCA TTC TTC AT	292
Tavuk (<i>Gallus gallus</i>)	5'-amino-CAT CCG GAA TCT CCA C	551
Güvercin (<i>Columbia livia</i>)	5'-amino-ACT ACT CGC CGC ACA TTA	416
Serçe (<i>Passer domesticus</i>)	5'-amino-GAG ACG TCC AAT TCG GAT	208
Kaya keklği (<i>Alectoris graeca</i>)	5'-amino-TCA CCG GCC TCC TCC TA	593
Hindi (<i>Meleagris gallopavo</i>)	5'-amino-CTT CTG TGG CCA ACA CAT	757
Genel Kuş 1 (Avian)	5'-amino-TAC ACA GCA GAC AC	609
Genel Kuş 2 (Avian)	5'-amino-GCC TCA TTC TTC TTC AT	857
Eşek (<i>Equus asinus</i>)	5'-amino-CTA CTT TTC ACA GTT TAG CTA CA	813
Köpek türleri	5'-amino-CAG ATT CTA ACA GGT TTA	531

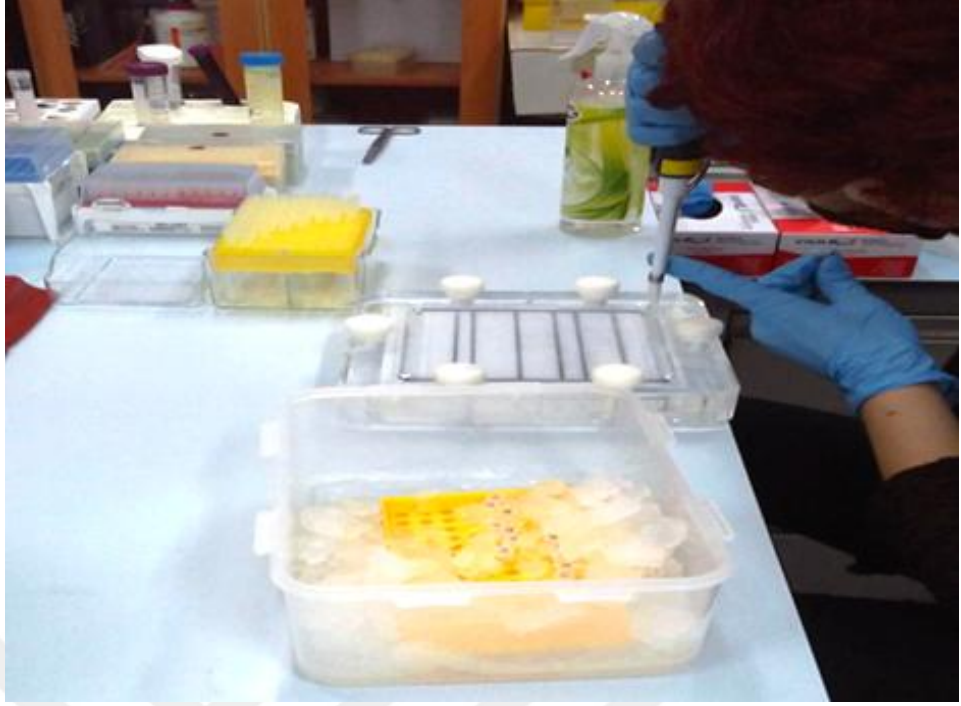
A: Adenine, C: Cytosine, G: Guanine, T: Thymine

3.5.6.5 PZR Ürünlerinin Oligonükleotidlerle Hibridizasyonu

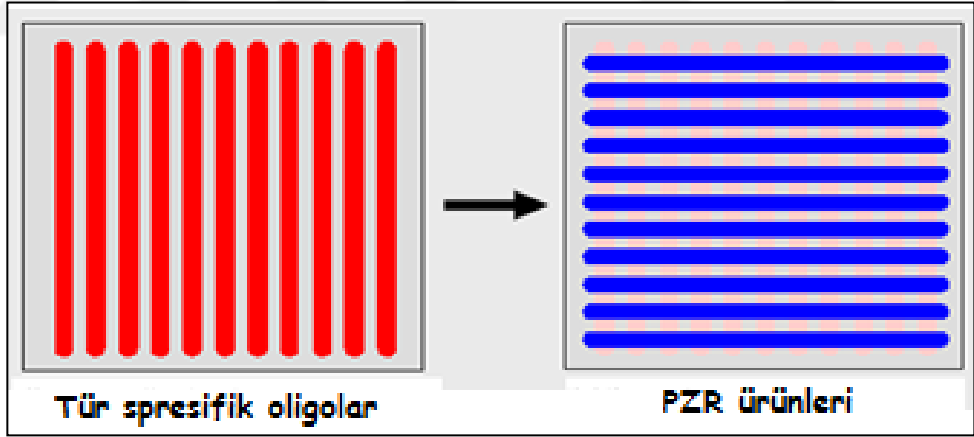
Kullanılan solüsyonlar:

- 100 ml 2x SSPE-%0,1 SDS (60°C su banyosunda)
- 500 ml 2x SSPE-% 0,5 SDS (60°C su banyosunda)
- 500 ml 2x SSPE-% 0,5 SDS (42°C hibridizatörde)
- 500 ml 2x SSPE (oda sıcaklığında)
- 500 ml %1 SDS (60°C su banyosunda)
- 250 ml 20 mM EDTA (oda sıcaklığında)

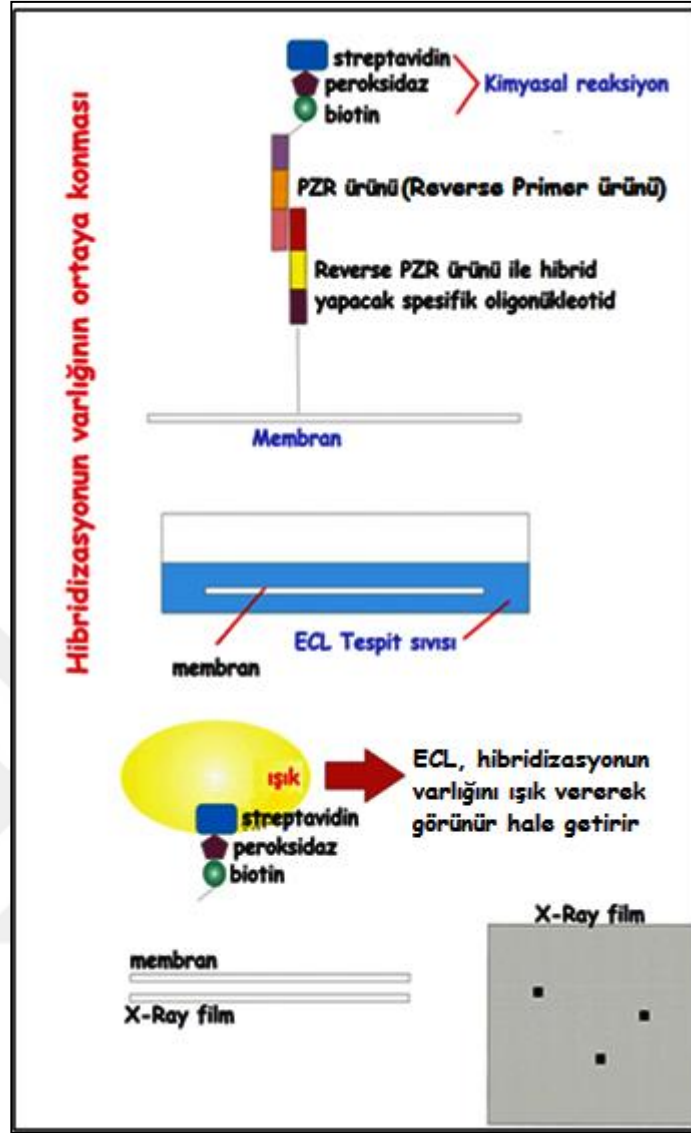
Biotin işaretli PZR ürünlerinden 20 µl alınarak, 150 µl 2x SSPE-%0,1 SDS ile sulandırılmıştır. Sulandırılan PZR ürünleri 100 °C'de 10 dk PCR thermal cycler'da denatüre edildikten hemen sonra buz üzerinde 5dk bekletilmiştir. Bu arada membran 100 ml 2x SSPE-%0,1 SDS ile 60 °C'de 5 dk yıkanmıştır. Membran uygulanan oligonükleotidlerin tersi yönünde 90° çevrilerek miniblotter'a yerleştirildikten sonra üzerinde kalan sıvılar pipetle aspire edilmiştir. PZR ürünlerinden 150 µl miniblotter'a yüklendikten sonra, etüvde 75 °C'de 30 dk ve 53 °C'de 60 dk hibridizasyona bırakılmıştır (Şekil 3.4). Biotin işaretli PZR ürünlerinin membrana yüklenme işlemi Resim 3.6'da gösterilmiştir. Süre sonunda membran üzerindeki PZR ürünleri pipetle aspire edilmiştir. Membran miniblotter'dan alınarak 100 ml 2x SSPE-%0,5 SDS ile 10 dk. 62°C'de iki kez yıkandıktan sonra 15 ml 2x SSPE- %0,5 SDS içine 3µl peroksidaz ile işaretli streptavidin konjugat konularak hazırlanan dilüsyonla 1 saat 42 °C'de hibridizatörde inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda konjugat dökülerek membran 100 ml 2x SSPE-%0,5 SDS ile 62 °C'de 10'ar dk iki kez yıkandıktan sonra membran oda sıcaklığında 100 ml 2x SSPE ile 5'er dk iki kez yıkanmıştır. Yıkama sonunda 2x SSPE dökülerek membran 10 ml ECL tespit sıvısında 5 dk bekletilmiştir. Membran bir film kasedi içine iki asetat kağıdı arasına konularak hazırlanan X-ray Film Hyperfilm altında 30 dk kadar bekletilmiştir. Filmin banyo edilmesinin ardından, oligonükleotidler ve PZR ürünlerinin kesiştiği yerlerde oluşacak olan siyah noktalar pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.5).



Resim 3.6 PZR ürünlerinin buz üzerinde denatürasyonu ve membrana yüklenişi



Şekil 3.4 Oligonükleotidler ve PZR ürünlerinin membrana uygulanış şekli [272]



Şekil 3.5 Hibridizasyonun oluşması ve sinyallerin görüntülenmesi [272]

3.5.6.6 Biodin-C Membranın Yıkınması

Membran tekrar kullanıma hazır hale getirilmek için 80°C’de 100 ml %1 SDS ile 2 (30 dakika) kez yıkanmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında ise 15 dk bir kez 20 mM EDTA ile yıkandıktan sonra az miktarda (10-15 ml) 20 mM EDTA eklenerek +4 °C’de kullanım aşamasına kadar saklanmıştır.

3.6 Sivrisineklerin Mevsimsel Konak Tür Tercih İndeksleri

Analiz edilen sivrisinek türlerinin her bir potansiyel konakları için (karışık beslenmelerde dahil olmak üzere) mevsimsel beslenme tercihleri ve konak tercih indeksleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır[273].

$$\text{Mevsimsel Konak Tercih İndeksi} = \frac{x \text{ konağından } y \text{ ayında kan emmiş sivrisinek sayısı}}{y \text{ ayında kan emmiş toplam sivrisinek sayısı}}$$

$$\text{Konak Tercih İndeksi} = \frac{x \text{ konağından kan emmiş sivrisinek sayısı}}{\text{Kan emmiş toplam sivrisinek sayısı}}$$

4. BULGULAR

2012 yılı Temmuz-Ağustos ve 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca her ay alandaki vektör ve konak türleri en iyi yansıtacak şekilde birbirinden farklı ekolojik özelliklere sahip 7 örnekleme lokalitesi (Mürşitali Köyü, Zülfikar Köyü, Yukarı Çamurlu Köyü, Pirlî Köyü, Küllük Köyü, Yukarı Çıyrıklı Köyü ve Aras Kuş Gözlem İstasyonu) belirlenmiştir (Harita 4.1). Örnekleme lokaliteleri yükseklik ve koordinatlarıyla birlikte Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Harita 4.1 Sivrisineklerin örnekleme istasyonları

Çizelge 4.1 2012-2013 yılları arasında tuzaklanan sivrisineklerin örnekleme yerleri, yükseklik ve koordinatları

Örnekleme İstasyonları	Rakım (m)	Koordinatlar	
		Y	X
Aras Kuş İstasyonu	978	378916,35°	4441999,87°
Yukarı Çıyrıklı Köyü	985	379355,20°	4442334,56°
Pirlî	944	40,065487°	43,787455°
Küllük	964	404244,20°	4424115°
Mürşitali	849	426362,22°	4430661,02°
Zülfikarköy	857	39,998953°	44,1465°
Yukarı Çamurlu Köyü	824	39,950938°	44,39°

4.1 Sivrisineklerin Tür Tayini

Çalışma alanından toplam 26,654 sivrisinek örneklenmiştir. Örneklenen sivrisinekler beslenme durumlarına göre aç, beslek ve gravid olarak ayrıldıktan sonra, kan emmiş toplam 11, 403 dişi birey belirlenmiştir. Bu bireylerin tür tayinleri Schaffner ve ark. (2001)'nin teşhis anahtarı kullanılarak yapılmış [274] ve *An. maculipennis* s.l., *An. hyrcanus*, *Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Ae. vexans*, *Oc. caspius* (*Ae. caspius*) ve *Cs. annulata* olmak üzere 7 sivrisinek türü tespit edilmiştir. Örnekleme lokalitelerine göre sivrisinek türlerinin konak tercihleri ve kan emme davranışlarının mevsimsel değişimlerini değerlendirmek için çalışmada kullanılmak üzere 916 tane birey seçilmiştir.

Araştırma alanından örneklenen ve analiz edilecek olan sivrisinek türleri birey sayılarıyla birlikte sırasıyla; 237 (%25,9) *An. maculipennis* s.l., 236 (%25,8) *Ae. caspius* (*Oc. caspius*), 208 (%22,7) *Ae. vexans*, 108 (%11,8) *Cx. theileri*, 24 (%2,6) *An. hyrcanus*, 16 (%1,7) *Cx. pipiens* ve 7 (%0,8) *Cs. annulata* olarak belirlenmiştir. Sivrisinek türlerinin örneklenme yerlerine ve dönemlerine göre dağılımları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

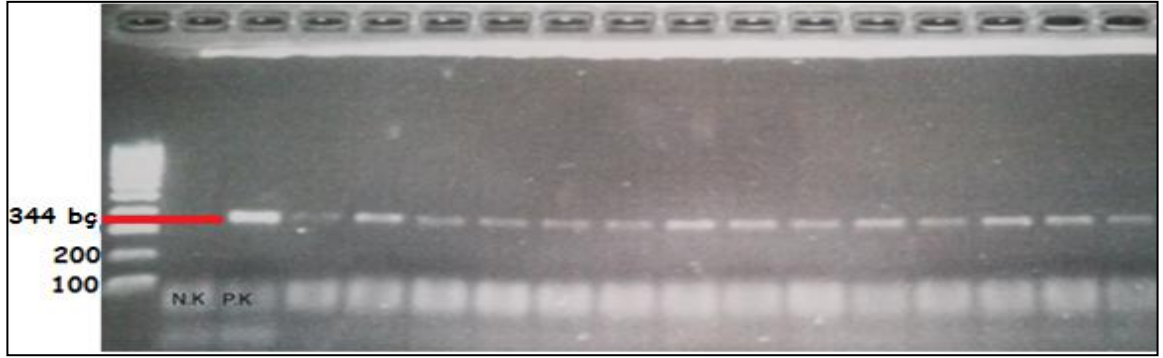
4.2 PZR Bulguları

Omurgalı mitokondriyal sitokrom b (cyto b) gen bölgesine ait spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR bulgularına göre, 916 bireyin 654 (%71,39)'ü pozitif sonuç vermiştir. Pozitif sonuç veren sivrisinek türleri birey sayıları ile birlikte sırasıyla; 206 (%31,49) *An. maculipennis* s.l., 174 (%26,6) *Ae. caspius* 130 (%19,87) *Ae. vexans*, 106 (%16,2) *Cx. theileri*, 18 (%2,75) *An. hyrcanus*, 13 (%1,98) *Cx. pipiens* ve 7 (%1,07) *Cs. annulata* olarak tespit edilmiştir. Sivrisinek türlerine ait pozitif bulunan örneklerin agaroz jel elektroforez görüntüleri, saptanan bantlar, DNA cetveline göre büyüklükleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları süresince örneklenen sivrisinek türleri, sayıları ve örnekleme lokaliteleri

Sivrisinek Türleri								
Ay/Yıl	Örnekleme Lokaliteleri	<i>An. mac.</i>	<i>An. hyrcanus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cs. annulata</i>
2012	Aras Kuş İst.	2	3					
	Temmuz Pirlı	72			4			
	Küllük				2			
2012	Ağustos Pirlı	25	5					
	Küllük	17						
2013	Haziran Pirlı	1		4	18			
	Zülfıkarköy			39	51			
2013	Aras Kuş İst.		1					
	Y. Çıyrıklı		3					
	Pirlı		1					
	Mürşitalı	23	3	36	34	39	5	
	Y. Çamurlu	3	2	42	1	49	1	2
2013	Aras Kuş İst		1	3				1
	Küllük	7						
	Zülfıkarköy		2	12	28	6	1	2
	Y. Çamurlu	2	2	43	22	52	6	
2013	Aras Kuş İst			2				
	Y. Çıyrıklı	50						
	Pirlı				16	15		
	Küllük	3						
	Zülfıkar				15	19	3	2
	Mürşitalı	32	1	22	17	6		
	Y. Çamurlu			33		2		
Toplam		237	24	236	208	188	16	7 916

Aras Kuş İst.: Aras Kuş İstasyonu , Y. Çıyrıklı: Yukarı Çıyrıklı , Y. Çamurlu: Yukarı Çamurlu *An. mac.:* *An.maculipennis* s.l.

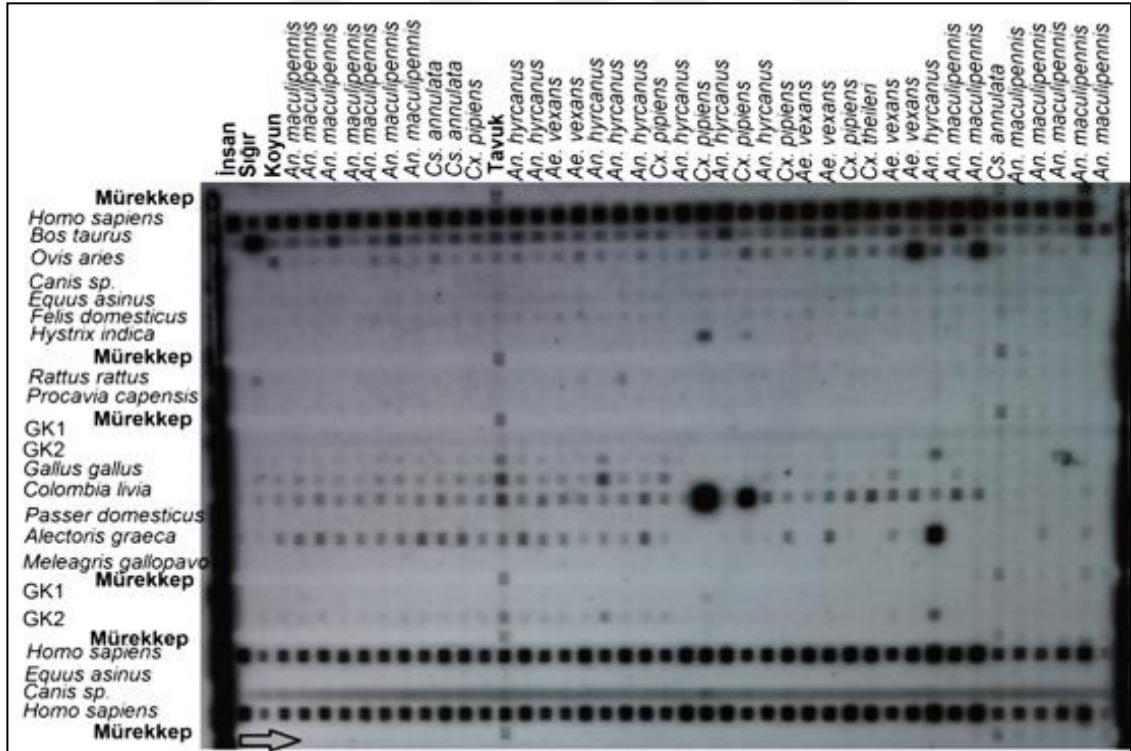


Şekil 4.1 100 baz çiftlik marker kullanılarak pozitif ve negatif kontrollerle birlikte yürütülmüş bazı örneklerin 344 baz çiftlik jel görüntüleri

N.K: Negatif Kontrol, P.K: Pozitif Kontrol

4.3 RLB Bulguları

Sivrisinek türlerine ait biotin işaretli PZR ürünlerinin tür-spesifik oligonükleotidlerle hibridizasyonu Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Sivrisinek türlerinin kan konaklarına ait tür-spesifik oligonükleotidlerin, biotin işaretli PZR ürünleri ile hibridizasyonu.

Biodin C membrana yüklenen tür-spesifik oligonükleotidler: 1.Homo sapiens: İnsan, 2. *Bos taurus*: Sığır, 3. *Ovis aries*: Koyun, 4. *Canis sp.*: Köpek türleri, 5. *Equus asinus*: Eşek, 6. *Felis domesticus*: Kedi, 7. *Hystrix indica*: Kirpi, 8. *Rattus rattus*: Kahverengi sıçan, 9. *Procavia capensis*: Kaya sıçanı, 10. GK1 ve 11. GK2: Genel Kuş, 12. *Gallus gallus*: Tavuk, 13. *Colombia livia*: Güvercin, 14. *Passer domesticus*: Serçe, 15. *Alectoris graeca*: Kaya kekliği, 16. *Meleagris gallopavo*: Hindi. Biodin C membrana yüklenen pozitif kontrol örnekleri ve PZR ürünleri: 1. İnsan, 2. Sığır, 3. Koyun, 4. *An. maculipennis*, 5. *An. maculipennis*, 6. *An. maculipennis*, 7. *An. maculipennis*, 8. *An. maculipennis*, 9. *An. maculipennis*, 10. *An. maculipennis*, 11. *Cs. annulata*, 12. *Cs. annulata*, 13. *Cx. pipiens*, 14. Tavuk, 15. *An. hyrcanus*, 16. *An. hyrcanus*, 17. *Ae. vexans*, 18. *Ae. vexans*, 19. *An. hyrcanus*, 20. *An. hyrcanus*, 21. *An. hyrcanus*, 22. *An. hyrcanus*, 23. *Cx. pipiens*, 24. *An. hyrcanus*, 25. *Cx. pipiens*, 26. *An. hyrcanus*, 27. *Cx. pipiens*, 28. *Ae. vexans*, 29. *Ae. vexans*, 30. *Cx. pipiens*, 31. *Cx. theileri*, 32. *Ae. vexans*, 33. *Ae. vexans*, 34. *An. hyrcanus*, 35. *An. maculipennis*, 36. *An. maculipennis*, 37. *Cs. annulata*, 38. *An. maculipennis*, 39. *An. maculipennis*, 40. *An. maculipennis*, 41. *An. maculipennis*, 42. *An. maculipennis*, 43. *An. maculipennis*.

PZR-RLB hibridizasyon bulgularına göre, 2012 yılı Temmuz-Ağustos ve 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *An. maculipennis* tür kompleksine ait 237 bireyin 206 (%86,9)'sının kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve bu tür kompleksine ait bireylerin 49 (%23,78) tanesinin tek, 129 (%62,62) tanesinin iki, 20 (%9,7) tanesinin üç ve 8 (%3,88) tanesinin dört konak türü üzerinden beslendiği belirlenmiştir. PZR-RLB sonuçlarına göre *An. maculipennis* tür kompleksine ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *An. maculipennis* s.l. türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Anopheles maculipennis</i> s.l.							
Tekli Konaklar	2012		2013				
	T	A	H	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	4(3,88)	10(9,7)			3(2,91)	11(10,67)	28(13,59)
Siğır	2(1,94)	1(0,97)	1(0,97)			15(14,56)	19(9,22)
Koyun						2(1,94)	2(0,97)
İkili Konaklar							
İnsan / Siğır	40(38,83)	10(9,7)		26(25,24)	5(4,85)	20(19,41)	101(49,02)
İnsan / Koyun	2(0,97)	2(1,94)				15(14,56)	19(9,22)
İnsan / Keçi	1(0,97)						1(0,48)
İnsan / Keklik	2(1,94)	1(0,97)				1(0,97)	4(1,94)
İnsan / Güvercin	3(2,91)	1(0,97)					4(1,94)
Üçlü Konaklar							
İnsan/Kedi/Güvercin	1(0,97)	2(1,94)					3(1,45)
İnsan/Keklik/GK2	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Keklik/Güvercin	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Tavuk/Güvercin	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Siğır/Güvercin	4(3,88)	2(1,94)					6(2,91)
İnsan/Koyun/Güvercin	2(1,94)						2(0,97)
İnsan/Siğır/Tavuk	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Siğır/Keklik		1(0,97)					1(0,48)
İnsan/Siğır/Koyun						4(3,88)	4(1,94)
Dörtlü Konaklar							
İnsan/Koyun/Güvercin/Keklik	2(1,94)	2(1,94)					4(1,94)
İnsan/Siğır/Keklik/Güvercin	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Siğır/Kedi/Güvercin	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Siğır/Güvercin/GK1	1(0,97)						1(0,48)
İnsan/Kedi/Güvercin/GK1		1(0,97)					1(0,48)
Toplam (%)	70(67,96)	33(32,03)	1 (0,97)	26 (25,24)	8 (7,76)	68(66,01)	206 (100)

H: Haziran, T:Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül, GK: Genel Kuş Türleri

2012 yılı Temmuz-Ağustos ve 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *An. hyrcanus* türüne ait 24 bireyin 18 (%75)'inin kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve türe ait bireylerin 13 (%72,22) tanesinin tek, 4 (%22,22) tanesinin iki ve 1 (%5,55) tanesinin üç konak türünden beslendiği bulunmuştur. PZR-RLB sonuçlarına göre

An. hyrcanus türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4 2012yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *An. hyrcanus* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Anopheles hyrcanus</i>					
	2012	2013			Toplam (%)
Tekli Konaklar	T	T	A	E	
İnsan	2(11,11)	4(22,22)	3(16,66)		9(50)
Sığır	1(5,55)		2(11,11)		3(16,66)
At	1(5,55)				1(5,55)
İkili Konaklar					
İnsan/Sığır		3(16,7)		1(5,55)	4(22,22)
Üçlü Konaklar					
İnsan/Sığır/At		1(5,55)			1(5,55)
Toplam (%)	4(22,22)	8(44,44)	5(27,77)	1(5,55)	18(100)

T:Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül

2013 yılı Haziran-Eylül ayları arasında örneklenen *Ae. caspius* türüne ait 236 bireyin 174 (%73,7)’ünün kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve türe ait bireylerin 100 (%57,47) tanesinin tek, 70 (%40,22) tanesinin iki, 3 (%1,72) tanesinin üç ve 1 (%0,57) tanesinin dört konak türünden beslendiği saptanmıştır. PZR-RLB’de analiz edilen *Ae. caspius* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *Ae. caspius* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Aedes caspius</i>					
2013					
Tekli Konaklar	H	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	3(1,72)	22(12,64)	17(9,77)	30(17,24)	72(41,37)
Siğır	7(4,02)	6(3,44)	7(4,02)	7(4,02)	27(15,51)
Koyun		1(0,57)			1(0,57)
İkili Konaklar					
İnsan/ Siğır	25(14,36)	5(2,87)	7(4,02)	8(4,59)	45(25,86)
İnsan/ Koyun		3(1,72)		1(0,57)	4(2,29)
İnsan/ Keklik		13(7,47)	1(0,57)		14(8,04)
İnsan/GK2		2(1,14)	2(1,14)		4(2,29)
İnsan/Serçe			2(1,14)		2(1,14)
Güvercin/ Keklik				1(0,57)	1(0,57)
Üçlü Konaklar					
İnsan/Keklik/ GK2		2(1,14)	1(0,57)		3(1,72)
Dörtlü Konaklar					
İnsan/Güvercin/ Serçe/ Kirpi			1(0,57)		-0,57
Toplam(%)	35(20,11)	54(31,03)	38(21,83)	47(27,01)	174(100)

H: Haziran, T: Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül, GK: Genel Kuş Türleri

2012 yılı Temmuz-Ağustos ve 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *Ae. vexans* türüne ait 208 bireyin 130 (%62,5)'unun kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve türe ait bireylerin 86 (%66,15) tanesinin tek, 40 (%30,76) tanesinin iki ve 4 (%3,07) tanesinin üç konak türünden beslendiği belirlenmiştir. PZR-RLB sonuçlarına göre *Ae. vexans* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 2012 yılı (Temmuz-Ağustos) ve 2013 yılı (Haziran-Eylül) ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *Ae. vexans* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Aedes vexans</i>						
	2012	2013				
Tekli Konaklar	T	H	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	4(3,07)	20(15,38)	6(4,61)	39(30)	2(1,53)	71(54,61)
Sığır		8(6,15)	1(0,76)		6(4,61)	15(11,53)
İkili Konaklar						
İnsan/ Sığır	1(0,76)	8(6,15)	1(0,76)	10(7,69)	19(14,61)	39(30)
İnsan/ Koyun					1(0,76)	1(0,76)
Üçlü Konaklar						
İnsan/Sığır/Köpek		1(0,76)				1(0,76)
İnsan/Sığır/Kedi			2(1,53)			2(1,53)
İnsan/Keklik/GK1				1(0,76)		1(0,76)
Toplam (%)	5(3,84)	37(28,46)	10(7,69)	50(38,46)	28(21,53)	130(100)

H: Haziran, T: Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül, GK: Genel Kuş Türleri

2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *Cx. theileri* türüne ait 188 bireyin 106 (%56,3)'sının kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş olup, türe ait bireylerin 63 (%59,43) tanesinin tek, 40 (%37,73) tanesinin iki, 1 (%0,94) tanesinin üç, 1 (%0,94) tanesinin dört konak türünden beslendiği bulunmuştur. Aynı zamanda *Cx. theileri* türüne ait 1 bireyin %0,94 oranında beş farklı konak türünden beslendiği de ortaya çıkmıştır. PZR-RLB sonuçlarına göre *Cx. theileri* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *Cx. theileri* türüne ait bireylerin tercih ettikleri konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Culex theileri</i>				
2013				
Tekli Konaklar	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	17(16,03)	3(2,83)	10(9,43)	30(28,3)
Siğır	3(2,83)	8(7,54)	20(18,86)	31(29,24)
Koyun			2(1,88)	2(1,88)
İkili Konaklar				
İnsan/Siğır	6(5,66)	28(26,41)	6(5,66)	40(37,73)
Üçlü Konaklar				
İnsan/ Siğır/ GK2		1(0,94)		1(0,94)
Dörtlü Konaklar				
GK1/GK2/Tavuk/Güvercin	1(0,94)			1(0,94)
Beşli Konaklar				
İnsan/ Siğır/Tavuk/GK1/GK2		1(0,94)		1(0,94)
Toplam (%)	37(34,9)	41(38,67)	38(35,84)	106 (100)

T: Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül, GK: Genel Kuş Türleri

2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *Cx. pipiens* türüne ait 16 bireyin 13 (%81,25)'ünün kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve türe ait bireylerin 9 (%69,23) tanesinin tek ve 4 (%30,76) tanesinin iki konak türü üzerinden beslendiği saptanmıştır. PZR-RLB sonuçlarına göre *Cx. pipiens* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *Cx. pipiens* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Culex pipiens</i>				
2013				
Tekli Konaklar	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	2(15,38)	4 (30,8)	1(7,69)	7(53,84)
Siğır			1(7,69)	1(7,69)
Güvercin		1(7,69)		1(7,69)
İkili Konaklar				
İnsan/Siğır	2(15,38)			2(15,38)
İnsan/Güvercin		2(15,38)		2(15,38)
Toplam (%)	4(30,76)	7(53,84)	2(15,38)	13 (100)

T: Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül

2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen *Cs. annulata* türüne ait 7 bireyin 7 (%100)'sinin kan emdikleri konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiş ve türe ait bireylerin 3 (%42,85) tanesinin tek, 3 (%42,85) tanesinin iki ve 1 (%14,28) tanesinin üç konak türünden beslendiği bulunmuştur. PZR-RLB sonuçlarına göre *Cs. annulata* türüne ait bireylerin tercih ettiği konak türler ve beslenme şekilleri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 2013 yılı Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen, PZR-RLB ile analiz edilen *Cs. annulata* türüne ait bireylerin tercih ettikleri konak türler ve beslenme şekilleri

<i>Culiseta annulata</i>				
2013				
Tekli Konaklar	T	A	E	Toplam (%)
İnsan	1(14,28)	1(14,28)		2(28,57)
Siğır	1(14,28)			1(14,28)
İkili Konaklar				
İnsan/Siğır		1(14,28)	2(28,57)	3(42,85)
Üçlü Konaklar				
İnsan/Siğır/Koyun		1(14,28)		1(14,28)
Toplam (%)	2(28,57)	3(42,85)	2(28,57)	7 (100)

T: Temmuz, A: Ağustos, E: Eylül

Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, analiz edilen sivrisineklere ait bireylerin 323 (%49,4)'ünün tek konak ve 331 (%50,6)'inin ise iki ve daha fazla konak türünden kan

emdiği belirlenmiştir. Ayrıca PZR-RLB’de analiz edilen sivrisinek türleri ve beslenme şekilleri Çizelge 4.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türleri ve beslenme şekilleri

Sivrisinek Türleri	Tekli Beslenme Sayı/(%)	Çoklu Beslenme Sayı/(%)			
		İkili	Üçlü	Dörtlü	Beşli
<i>An. maculipennis</i>	49 (15,17)	129 (44,48)	20 (66,66)	8 (80)	
<i>An. hyrcanus</i>	13 (4,02)	4 (1,37)	1 (3,33)		
<i>Oc. caspius</i>	100 (30,95)	70 (24,13)	3 (10)	1 (10)	
<i>Ae. vexans</i>	86 (26,62)	40 (13,79)	4 (13,33)		
<i>Cx. theileri</i>	63 (19,5)	40 (13,79)	1 (3,33)	1 (10)	1 (100)
<i>Cx. pipiens</i>	9 (2,78)	4 (1,37)			
<i>Cs. annulata</i>	3 (0,92)	3 (1,03)	1 (3,33)		
TOPLAM (%)	323(49,4)	290(87,61)	30(9,06)	10(3,02)	1(0,3)
			331(50,6)		

Tek konak türünden beslenen sivrisineklere ait bireylerin 219 (%68) tanesinin insan, 97 (%30,03) tanesinin sığır, 5 (%1,54) tanesinin koyun, 1 (%0,3) tanesinin at ve 1 (%0,3) tanesinin güvercin konakları üzerinden beslendikleri bulunmuştur. PZR-RLB’de analiz edilen tek konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türler Çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11 PZR-RLB ile analiz edilen tek konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türleri

Memeli Konakları	Sivrisinek Türleri							Toplam (%)
	<i>An. maculipennis</i>	<i>An. hyrcanus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cs. annulata</i>	
İnsan	28(8,66)	9(2,78)	72(22,29)	71(21,98)	30(9,28)	7(2,16)	2(0,61)	219(67,8)
Sığır	19(5,88)	3(0,92)	27(8,35)	15(4,64)	31(9,59)	1(0,3)	1(0,3)	97(30,3)
Koyun	2(0,61)		1(0,3)		2(0,61)			5(1,54)
At		1(0,3)						1(0,3)
Toplam (%)								322 (99,7)
Kuş Konakları								
Güvercin						1(0,3)		1 (0,3)
Toplam(%)	49(15,17)	13(4,02)	100(30,9)	86(26,6)	63(19,5)	9(2,8)	3(0,9)	323 (100)

Ayrıca analiz edilen sivrisineklerde çoklu beslenme davranışı gösteren birey sayısının, spesifik beslenme davranışı gösterenlere göre sayıca daha fazla olduğu bulunmuştur. Çoklu beslenmelerde iki konak türünden beslenen sivrisinek türleri birey sayılarıyla birlikte sırasıyla; 129 (%44,48) *An. maculipennis* s.l., 70 (%24,13) *Ae. caspius*, 40 (%13,79) *Ae. vexans* ve *Cx. theileri*, 4 (%1,37) *Cx. pipiens* ve 3 (%1,03) *Cs. annulata* olarak belirlenmiştir. PZR-RLB’de analiz edilen iki konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türler Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12 PZR-RLB ile analiz edilen iki konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler

Sivrisinek Türleri								
İkili Konaklar	<i>An. maculipennis</i>	<i>An. hyrcanus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cs. annulata</i>	Toplam (%)
Memeli Konakları								
İnsan/Sığır	101(34,8)	4(1,37)	45(15,51)	39(13,44)	40(13,8)	2(0,68)	3(1,03)	234(80,68)
İnsan/Koyun	19(6,55)		4(1,37)	1(0,34)				24(8,27)
İnsan/Keçi	1(0,34)							1(0,34)
Kuş Konakları								
Güvercin/Keklik			1(0,34)					1(0,34)
Memeli-Kuş Konakları								
İnsan/Keklik	4(1,37)		14(4,82)					18(6,2)
İnsan/Güvercin	4(1,37)					2(0,68)		6(2,06)
İnsan/GK2			4(1,37)					4(1,37)
İnsan/Serçe			2(0,68)					2(0,68)
Toplam (%)	129(44,5)	4(1,4)	70(24,1)	40(13,8)	40(13,8)	4(1,4)	3(1,03)	290(100)

GK: Genel Kuş Türleri

Bununla birlikte üç konak türünden beslenen sivrisinek türleri birey sayılarıyla birlikte sırasıyla; 20 (%66,66) *An. maculipennis* s.l., 4 (%13,33) *Ae. vexans*, 3 (%10) *Ae. caspius* ve 1 (%3,33) *An. hyrcanus*, *Cx. theileri* ve *Cs. annulata* olarak tespit edilmiştir. PZR-RLB’de analiz edilen üç konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türleri Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13 PZR-RLB ile analiz edilen üç konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler

Sivrisinek Türleri							
Üçlü Konaklar	<i>An. maculipennis</i>	<i>An. hyrcanus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cs. annulata</i>	Toplam (%)
Memeli Konakları							
İnsan/Sığır/Koyun	4(13,33)					1(3,33)	5(16,66)
İnsan/Sığır/At		1(3,33)					1(3,33)
İnsan/Sığır/Köpek				1(3,33)			1(3,33)
İnsan/Sığır/Kedi				2(6,66)			2(6,66)
Memeli-Kuş Konakları							
İnsan/Kedi/Güvercin	3(10)						3(10)
İnsan/Keklik/GK2	1(3,33)		3(10)				4(13,33)
İnsan/Keklik/Güvercin	1(3,33)						1(3,33)
İnsan/Tavuk/Güvercin	1(3,33)						1(3,33)
İnsan/Sığır/Güvercin	6(20)						6(20)
İnsan/Koyun/Güvercin	2(6,66)						2(6,66)
İnsan/Sığır/Tavuk	1(3,33)						1(3,33)
İnsan/Sığır/Keklik	1(3,33)						1(3,33)
İnsan/Sığır/GK2					1(3,33)		1(3,33)
İnsan/Keklik/GK1				1(3,33)			1(3,33)
Toplam (%)	20 (66,66)	1 (3,33)	3 (10)	4 (13,33)	1 (3,33)	1 (3,33)	30 (100)

GK: Genel Kuş Türleri

Son olarak dört konak türünden beslenen sivrisinek türleri birey sayılarıyla birlikte sırasıyla; 8 (%80) *An. maculipennis* s.l., 1 (%10) *Ae. caspius* ve *Cx. theileri* olarak belirlenmiştir. Beş farklı konak türünden beslenen *Cx. theileri* türüne ait 1 bireyin %10 oranında beslendiği ortaya çıkmıştır. PZR-RLB’de analiz edilen dört ve beş konak tercihli sivrisinek türleri ve tercih ettikleri konak türler Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14 PZR-RLB ile analiz edilen dört ve beş konak tercihlî sivrisinek türleri ve tercih edilen konak türler

Sivrisinek Türleri				
Dörtlü Konaklar	<i>An. maculipennis</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Cx. theileri</i>	Toplam (%)
Kuş Konakları				
GK1/GK2/ Tavuk/Güvercin			1(10)	1(10)
Memeli-Kuş Konakları				
İnsan/Koyun/Güvercin/Keklik	4(40)			4(40)
İnsan/Sığır/ Keklik/Güvercin	1(10)			1(10)
İnsan/Sığır/Kedi/Güvercin	1(10)			
İnsan/Sığır/Güvercin/GK1	1(10)			
İnsan/Kedi/Güvercin/GK1	1(10)			1(10)
İnsan/Güvercin/Serçe/Kirpi		1(10)		1(10)
Toplam (%)	8(80)	1(10)	1(10)	10(100)
Beşli Konaklar				
İnsan/Sığır/Tavuk/GK1/GK2			1(100)	1(100)

GK: Genel Kuş Türleri

4.4 PZR-RLB Tekniğinde Karşılaşılan Problemler

Çalışma başladığında proje için önerilen problemler ile ilgili olarak çeşitli sorunlarla karşılaşmıştır. Öncelikle Türkiye'de hizmet veren oligo üreticisi firmaların hiç biri biotin modifiyeli primer üretimine yanaşmamıştır. Bu nedenle problemler ilk olarak Hollanda'da bulunan Isogen Life Science firmasına yaptırılmıştır. Ancak bu problemlerle yapılan sayısız deneme sonucunda problemlerin kalitesiz olduğu, çok yüksek dozlarda kullanılmaları gerektiği, yine de çoğunun ya hiç çalışmadığı ya da yanlış çapraz reaksiyon verdikleri görülmüştür. Bunun üzerine aynı problemler bu defa Kore'de bulunan Ligo Scientific Collaboration firmasına yaptırılmıştır. Bu problemler denendiğinde büyük çoğunluğu yine yüksek dozlar da yükleme gerektirmesine rağmen, oldukça doğru bağlanmalar vermişlerdir ve sonuç olarak bu problemlerle çalışmaya devam edilme kararı alınmıştır. Karşılaşılan bu problemler RLB için kullanılacak oligoları sentezleyen firmaların dikkatli seçilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Ayrıca çalışmalar sırasında özellikle Taq DNA polimeraz, Sodyum dodesil sülfat (SDS), EDAC (1-Ethyl-3-[3-dimethylamino propyl] carbodiimide) gibi PZR ve RLB aşamalarında kullanılan sarf malzemelerinin kalitesinin reaksiyonları önemli ölçüde etkiledikleri gözlenmiştir.

Son olarak düşük ısılarda yapılan hibridizasyon aşamalarının istenmeyen bağlanmaları ve membran da oluşan kirliliği arttırdığı gözlenmiş ve bunun üzerine iki basamaktan oluşmak üzere hibridizasyon aşamaları yüksek ısılarda yapılmaya başlanmıştır.

4.5 Sivrisineklerin Mevsimsel Konak Tür Tercihleri

Aras Havzası'ndan Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin konak tür tercihlerinin örnekleme dönemlerine göre mevsimsel olarak değiştiği gözlemiştir. Elde edilen sonuçlar *An. maculipennis* tür kompleksine ait bireylerin çoğunlukla memeli kaynaklı beslendiklerini göstermiş olup, insan (Temmuz s=94, Ağustos s=41 ve Eylül s=51) ve sığır (Haziran s=1, Temmuz s=76, Ağustos s=19 ve Eylül s=39) gibi konak türlerini daha fazla sayılarda, buna karşılık diğer memeli hayvanlardan koyun (Temmuz s=6, Ağustos s=4 ve Eylül s=21), kedi (Temmuz s=2 ve Ağustos s=3) ve keçi (Temmuz s=1) gibi konak türlerini ise daha az sayılarda tercih ettikleri bulunmuştur. Ayrıca bu tür kompleksine ait bireylerin kuş kaynaklı beslenmiş oldukları da tespit edilmiş, özellikle güvercin (Temmuz s=17 ve Ağustos s=8) ve keklik (Temmuz s=7, Ağustos s=4 ve Eylül s=1) gibi konakların, diğer kanatlı türleri (Temmuz s=2 ve Ağustos s=1) ve tavuk (Temmuz s=2) gibi konaklara göre daha çok tercih edildikleri ortaya çıkmıştır.

An. hyrcanus türüne ait bireylerin yalnızca memeli kaynaklı beslendikleri ve bu türe ait bireylerin insanı (Temmuz s=10, Ağustos s=3 ve Eylül s=1), sığır (Temmuz s=5, Ağustos s=2 ve Eylül s=1) ve at (Temmuz s=2) gibi konaklara göre yaygın olarak tercih ettikleri bulunmuştur.

Ae. caspius türüne ait bireylerin hem memeli hem de kuş kaynaklı beslendikleri belirlenmiştir. Bu türe ait bireylerin memeli hayvanlardan insan (Haziran s=28, Temmuz s=47, Ağustos s=31 ve Eylül s=39) ve sığır (Haziran s=32, Temmuz s=11, Ağustos s=14

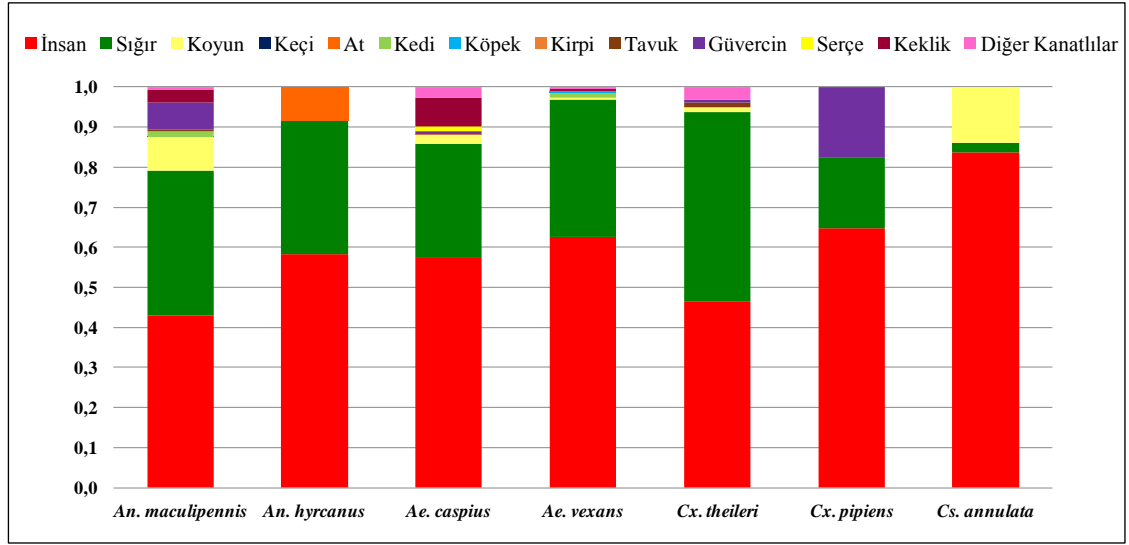
ve Eylül s=15) gibi konakları, koyun (Temmuz s=4 ve Eylül s=1) ve kirpi (Ağustos, s=1) gibi konaklara göre yaygın olarak tercih ettikleri bulunmuştur. Bununla birlikte kanatlı hayvanlardan keklik (Temmuz s=15, Ağustos s=2 ve Eylül s=1) çoğunlukla tercih edilen konak olmasına rağmen, diğer kanatlı türleri (Temmuz s=4 ve Ağustos s=3), serçe (Ağustos, s=3) ve güvercin (Ağustos, s=1) gibi konaklar ise nadiren tercih edilen konaklar olmuşlardır.

Ae. caspius'un aksine, *Ae. vexans* türüne ait bireylerin daha az sayıda konak türünden beslendikleri bulunmuştur. Genellikle memeli kaynaklı beslenen bu türe ait bireylerin insan (Haziran s=29, Temmuz s=15, Ağustos s=50 ve Eylül s=22) ve sığır (Haziran s=17, Temmuz s=6, Ağustos s=10 ve Eylül s=26) gibi konakları çoğunlukla tercih ettikleri ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte kedi (Temmuz s=2), koyun (Eylül s=1), köpek (Haziran s=1), diğer kanatlı türleri (Ağustos s=1) ve keklik (Ağustos s=1) gibi konakları ise daha düşük sayılarda tercih ettikleri belirlenmiştir.

Analiz edilen sivrisinekler arasında, *Cx. theileri*'nin daha fazla birey sayısı ile sığır kaynaklı beslenen tek sivrisinek türü olduğu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte türe ait bireylerin genellikle memeli kaynaklı beslendikleri, memeli hayvanlardan sığır (Temmuz s=9, Ağustos s=38 ve Eylül s=26) ve insan (Temmuz s=23, Ağustos s=33 ve Eylül s=16) gibi konakları yaygın olarak tercih ettikleri belirlenmiştir. Bunun aksine koyun (Eylül s=2), diğer kanatlı türleri (Temmuz s=2 ve Ağustos s=1), tavuk (Temmuz s=1 ve Ağustos s=1) ve güvercin (Temmuz, s=1) gibi konaklar ise düşük sayılarda tercih edilmişlerdir.

Cx. pipiens türüne ait bireylerin çoğunlukla memeli ve nadiren kuş kaynaklı beslendikleri belirlenmiştir. Türe ait bireylerin memeli hayvanlardan insan (Temmuz s=4, Ağustos s=6 ve Eylül s=1) ve sığır (Temmuz s=2 ve Eylül s=1) gibi konakları, kanatlı hayvanlardan ise yalnızca güvercin (Ağustos s=3) konağını tercih ettikleri gözlenmiştir.

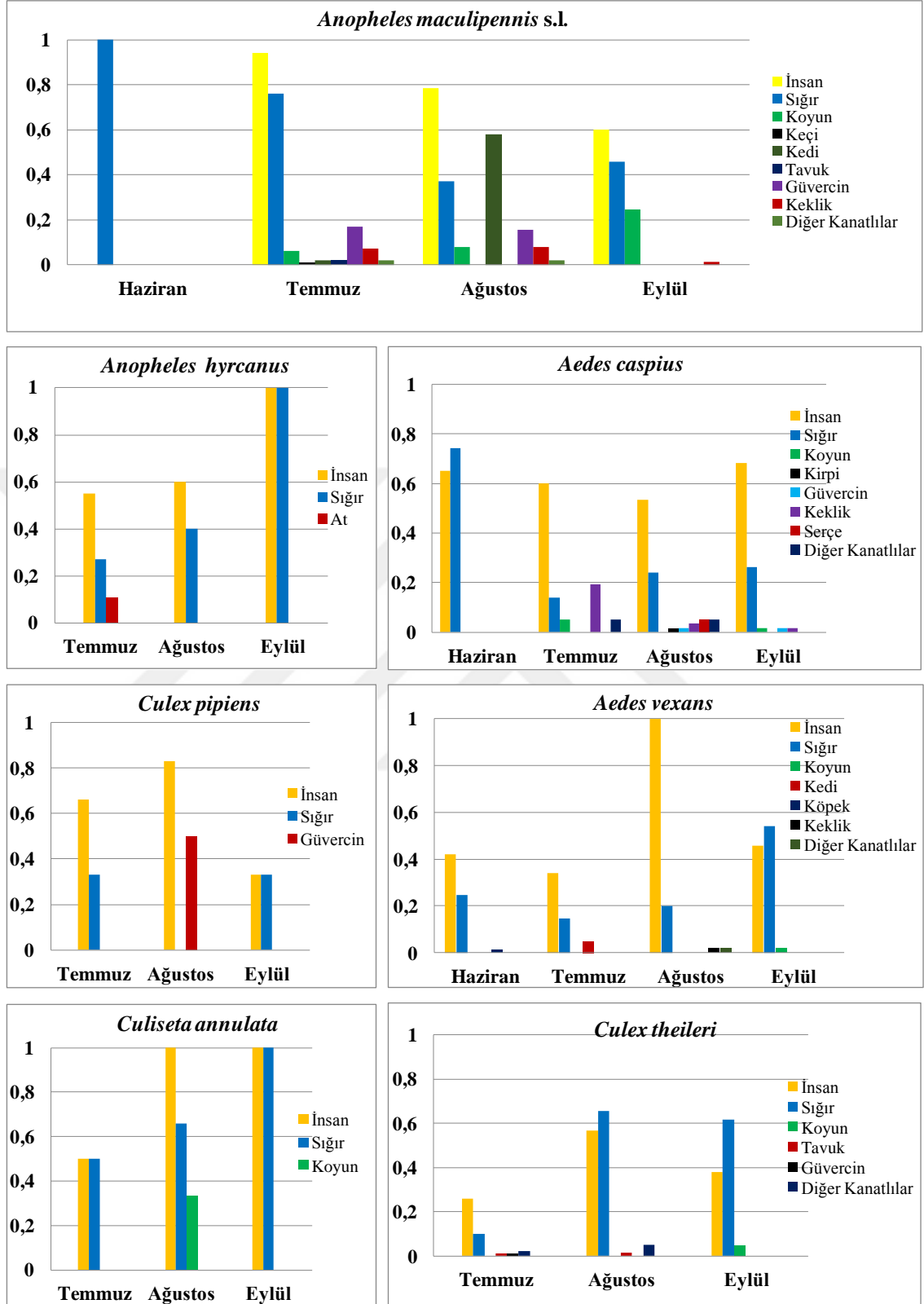
Cs. annulata türüne ait bireylerin düşük sayılarda da olsa yalnızca memeli kaynaklı beslendikleri ve insan (Temmuz s=2, Ağustos s=3 ve Eylül s=1), sığır (Temmuz s=1, Ağustos s=2 ve Eylül s=2) ve koyun (Ağustos s=1) gibi konak türlerini tercih ettikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.15-4.16 ve Şekil 4.3-4.4).



Şekil 4.3 2012-2013 yılları arasında Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin, PZR-RLB analiz sonuçlarına göre konak tür tercih indeksleri

Çizelge 4.15 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türlerinin konak tür tercih indeksleri

Sivrisinek Türleri							
Konak Türler	<i>An. maculipennis</i>	<i>An. hyrcanus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cs. annulata</i>
Memeli Konakları							
İnsan	0,78	0,875	0,833	0,884	0,679	0,846	0,857
Sığır	0,655	0,5	0,413	0,453	0,688	0,23	0,024
Koyun	0,15	-	0,028	0,007	0,018	-	0,142
Keçi	0,004	-	-	-	-	-	-
At	-	0,125	-	-	-	-	-
Kedi	0,024	-	-	0,015	-	-	-
Köpek	-	-	-	0,007	-	-	-
Kirpi	-	-	0,005	-	-	-	-
Kuş Konakları							
Tavuk	0,009	-	-	-	0,018	-	-
Güvercin	0,121	-	0,011	-	0,009	0,23	-
Serçe	-	-	0,017	-	-	-	-
Keklik	0,058	-	0,103	0,007	-	-	-
Diğer Kanatlılar	0,013	-	0,04	0,007	0,046	-	-



Şekil 4.4 Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin, PZR-RLB analiz sonuçlarına göre mevsimsel konak tür tercih indeksleri

Çizelge 4.16 PZR-RLB ile analiz edilen sivrisinek türlerinin mevsimsel konak tür tercih indeksleri

KONAK TÜRLER														
Aylar	Sivrisinek Türleri	Memeli Konakları								Kuş Konakları				
		İnsan	Sığır	Koyun	Keçi	Kedi	Köpek	At	Kirpi	Tavuk	Güvercin	Keklik	Serçe	Diğer Kuşlar
Haziran	<i>An. maculipennis</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ae. caspius</i>	0,651	0,744	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ae. vexans</i>	0,42	0,246	-	-	-	0,014	-	-	-	-	-	-	-
Temmuz	<i>An. maculipennis</i>	0,94	0,76	0,06	0,01	0,02	-	-	-	0,02	0,17	0,07	-	0,02
	<i>An. hyrcanus</i>	0,55	0,27	-	-	-	-	-	0,11	-	-	-	-	-
	<i>Ae. caspius</i>	0,6	0,14	0,051	-	-	-	-	-	-	-	0,192	-	0,051
	<i>Ae. vexans</i>	0,341	0,146	-	-	0,048	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cx. theileri</i>	0,261	0,102	-	-	-	-	-	-	0,011	0,011	-	-	0,011
	<i>Cx. pipiens</i>	0,66	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cs. annulata</i>	0,5	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ağustos	<i>An. maculipennis</i>	0,784	0,372	0,078	-	0,058	-	-	-	-	0,156	0,078	-	0,019
	<i>An. hyrcanus</i>	0,6	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ae. caspius</i>	0,534	0,241	-	-	-	-	-	0,017	-	0,017	0,034	0,051	0,051
	<i>Ae. vexans</i>	1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	-	0,02
	<i>Cx. theileri</i>	0,568	0,655	-	-	-	-	-	-	0,017	-	-	-	0,051
	<i>Cx. pipiens</i>	0,83	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-
Eylül	<i>An. maculipennis</i>	0,6	0,458	0,247	-	-	-	-	-	-	-	0,011	-	-
	<i>An. hyrcanus</i>	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ae. caspius</i>	0,684	0,263	0,017	-	-	-	-	-	-	0,017	0,017	-	-
	<i>Ae. vexans</i>	0,458	0,541	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cx. theileri</i>	0,38	0,619	0,047	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cx. pipiens</i>	0,33	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cs. annulata</i>	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5. TARTIŞMA

Doğal koşullar altında sivrisineklerde beslenme davranışı, konak tercihi ve konak seçimi olmak üzere iki önemli bileşene bağlı olarak değişebilmektedir. Bir sivrisinek için konak tercihi konak bulunabilirliği ya da konak savunma davranışları dikkate alınmazsa, belirli bir konak türünün diğer var olan konaklara göre spesifik (kan kaynağı) olarak tercih edilmesidir. Bu spesifik konak tercih durumu ise vektör organizma için doğuştan gelen fizyolojik bir davranış özelliğidir. Diğer taraftan konak arayan sivrisinekler için aynı zaman ve yerde öncelikli olarak kan emecekleri belirli konaklar bulunmuyorsa ya da ulaşılabilir değillerse ikinci bir seçenek olarak başka bir konağı seçmeye yönelme davranışı gözlenebilmektedir. Konaklara ulaşılabilirlik iklimsel faktörlerin yanı sıra konak yoğunluğu, erişilebilirliği, dağılımı ve coğrafik bölünmeler gibi birçok çevresel faktörlerden etkilenebilir. Bu tür çevresel faktörlerin etkisinden dolayı sivrisineklerin konak tercihlerinde farklılıkların meydana gelmesine neden olan davranışsal plastisitenin varlığından söz edilebilir.

Sivrisineklerde kan emme davranışı sivrisineklerin beslenme periyodu, konak bulunabilirliği ve bolluğu, konak savunma davranışları, kanın besinsel değeri ve sindiriminin maliyeti gibi birçok faktörün etkilediği ve dolayısıyla uzamsal ve geçici olarak değişebilen oldukça kompleks bir süreçtir[3]. Sivrisineklerin de dahil olduğu artropod vektörlerin kan konaklarını belirlemeye yönelik kullanılan serolojik testler uzun yıllar çok etkili yöntemler olarak kabul görmüşlerdir[1, 243, 275, 276]. Ancak bu testlerin kullanım alanları nispeten taze kana ihtiyaç duyulması ve her bir potansiyel hayvan konağı için tür spesifik antikor kullanımı gerektirmesinden dolayı sınırlı kalmıştır[247]. Serolojik yöntemlerde karşılaşılan eksiklik ve sınırlamalar, Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) tekniklerinin kullanılmasıyla önemli ölçüde giderilmiştir. PZR teknikleri vektör organizmaların kan konaklarının tespit edilmesini kolaylaştırmakla birlikte, elde edilen spesifik sonuçlar da bu tekniklerin duyarlılığını önemli ölçüde artmasına sebep olmuştur[278]. Ancak PZR temelli teknikler kalıp DNA'nın büyük miktarlarına ihtiyaç duyulması yönünden tek bir böcekte farklı canlılara ait kanları tanımlamakta yetersiz kalmıştır. Son zamanlarda Avrupalı bilim adamları tarafından geliştirilen Reverse Line Blot (RLB) metodolojisi sahada yakalanan kenelerin kan konaklarını belirlemek için kullanılmıştır[264, 279, 280-284]. Bununla birlikte mitokondriyal sitokrom b geninin

amplifikasyonu ve ardından Reverse Line Blot analizi ile tatarcık sineklerinin de kan konakları başarılı bir şekilde tespit edilmiştir[270, 285]. Bu teknik çok sayıda örneğin eş zamanlı olarak işlenmesine olanak sağlaması, her bir tür için spesifik oligonükleotidler kullanılması yönünden artropodların potansiyel kan konaklarını tür düzeyinde belirlemektedir. Ayrıca PZR amplifikasyonunu takip eden hibridizasyon basamağından oluşması, PZR'ın tek başına kullanılmasından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında çok fazla duyarlılığa sahip olması açısından da diğer tekniklere göre daha kullanışlı olduğu söylenebilir. Bu çalışmada alandan örneklenen kan emmiş sivrisineklerin kan konakları sitokrom b gen bölgesinin PZR amplifikasyonu ve ardından (RLB) tekniği kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak sivrisineklerin kan konaklarının belirlenmesine yönelik ilk kez kullanılan bu teknik ile önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Sivrisinek aktiviteleri doğal olarak günün aydınlık ve karanlık döngüleriyle ilişkili olarak değişir ve bu dönemlerde genellikle mevsimsel ya da günlük (yani gün ışığı ya da ay ışığı altında) dalgalanmalar olabilir[4]. Çalışma alanında Haziran-Eylül ayları boyunca örneklenen sivrisinek türlerinin mevsimsel olarak konak tercihlerinde farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen sivrisinek türlerinin konak tercihlerinde gözlenen bu mevsimsel değişimler, alanda önceden yapılmış “İğdir Ovası’ndaki sivrisinek larvalarının tür kompozisyonları ve mevsimsel dinamikleri” ve “İğdir Ovası’ndaki sivrisineklerin tür kompozisyonları ve saldırı periyotları” çalışmalardan elde edilen sonuçlar dikkate alınarak değerlendirilebilir. Öncelikle alanda iklimsel koşulların uygunluğu, sulu tarımın yapılması, geçici ve kalıcı üreme alanlarının bulunması gibi birçok neden sivrisineklerin yüksek popülasyonlarla var olmalarına olanak sağlamaktadır. İğdir Ovası’nda daha önce yapılmış bir çalışmada, *An. maculipennis* s.l. türlerinin Temmuz-Ağustos, *Aedes/Ochlerotatus* türlerinin Mayıs-Eylül, *Culex* türlerinin ise Temmuz-Ağustos dönemlerinde larva/pupa popülasyon yoğunluklarında yüksek oranlarda artışların gözlemlendiği rapor edilmiştir[286]. Diğer bir çalışmada insan tuzağı kullanılarak açık ve kapalı alanlarda örneklenen sivrisinek türlerinden, *An. hyrcanus* türünün *An. maculipennis* s.l. türlerine göre açık ve kapalı alanlarda daha yüksek oranlarda insana saldırdığı, *Aedes* ve *Culex* türlerinin ise daha çok açık alanlarda insana saldırdığı bildirilmiştir[287]. Bu çalışmada ise sivrisinek türlerinin beslenme tercihlerinde ortaya çıkan mevsimsel farklılıklar birkaç nedenle açıklanabilir. İlk olarak alanda yerleşik popülasyonlarda bulunan sivrisinek türlerinin larva/pupa popülasyon

yoğunluklarında gözlenen mevsimsel değişimler, türlere ait bireylerin erginleşme başarıları, sivrisinek türlerinin ışığa yönelimleri ile insan da dahil olmak üzere diğer hayvanlara yönelimlerindeki farklılıklar ve son olarak potansiyel konak hareketleri (yaz aylarında insanların yaylalara çıkması; insan ve hayvan popülasyonlarında gözlenen artış veya azalmalar) ya da potansiyel konakların bulunabilirliği ve ulaşılabilirliği söylenebilir.

Sivrisineklerin beslenme başarıları, artan ısırma baskısı ile anlamlı bir şekilde ters ilişkilidir. Bu durum muhtemelen sivrisinekler tarafından konaklarına dayatılan beslenme baskılarına karşı, konakların kendilerini kan emilmesine karşı yapmış oldukları savunma davranışlarının bir sonucu olarak varsayılabilir[179, 288]. Çünkü konak savunma davranışları fiziksel olarak sivrisineklerin beslenme başarılarını olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilmektedir[183, 224]. Bu tür davranışlar sivrisineğin kan emmesini tamamen engellediği gibi daha az kan emmesine de neden olabilir[184, 185]. Sonuçta beslenmesi engellenen dişi tekrar aynı konaktan kan emebilir ya da başka bir konağı seçmeye yönelebilir. Sivrisineklerin konak tür tercihlerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, analiz edilen sivrisinek türlerinin tek konak ve iki ya da daha fazla konak türü üzerinden beslendiği tespit edilmiştir. Ancak elde edilen sonuçlar konak savunma davranışlarının sivrisineklerin konak tür seçimleri ve beslenme başarılarını önemli ölçüde etkilediğini düşündürmektedir. Çünkü örnekleme yapılırken sivrisinek türlerinin konak arama dönemlerinde aktif oldukları zamanlar dikkate alınmış ve tuzaklar özellikle sivrisinekler için potansiyel konak türlerin nispi yoğunluk ve bulunabilirliklerine göre ahırlara, ev içlerine ve bu gibi yerlere yakın açık alanlara yerleştirilmiştir. Sonuç olarak analiz edilen sivrisinek türlerinin çoğunlukla memeli orjinli beslendiği, yaygın olarak da insan ve sığır konaklarını tercih ettikleri tespit edilmiştir. Diğer taraftan çalışma verileri birden fazla çıkarımı da beraberinde getirmektedir. Öncelikle konak bulunabilirliğinin sivrisinek türlerinin beslenme davranışlarında belirleyici bir rol oynadığı söylenebilir. Çünkü konak arayan sivrisinekler için en çok tercih edilen konaklar kolaylıkla bulunabilir ve ulaşılabilir olanlardır. Sivrisinek konağı ile temas fırsatı yakaladığı zaman ısırma baskısı yapar, sonrasında ilk kez kan emdiği konaktan ya tamamen doymuş halde ayrılır ya da beslenmesi yarım kaldığı için aynı konağa tekrar yönelebilir veya başka alternatif bir konağı seçebilir. Aynı zamanda sivrisineklerin inaktif konak canlılar üzerinden beslenme başarılarının daha yüksek olduğu da bilinmektedir[225]. Gözlemlerimize göre iklimsel parametrelerin uygunluğu nedeniyle yaz aylarında ahır camları ve kapıları açıktır

veya hayvanlar dışarıda bulunmaktadır. İnsanlar ise zamanlarının büyük çoğunluğunu dışarıda geçirmektedirler. Bu nedenle sivrisinekler için insan ve sığırlar daha az aktif ve daha fazla toleranslı konaklar olabilmektedir.

Mevcut veriler sivrisineklerin insanlar üzerinden beslenme eğilimlerinin tarımsal faaliyetlerin artmasından dolayı evrimleştiğini öngörmektedir[3, 115,116]. Ormanların yok edilmesi ve kırsal tarımın yoğun bir şekilde yapılması insanlar ve sivrisinekler arasında yakınlaşmaya neden olmuştur[3]. Bununla birlikte küresel iklim değişiklikleri, demografik değişimler ve kentleşme nedeniyle doğal ekolojik sınırların ortadan kalkması vektörler ve konakları arasındaki birlikteliğin boyutunun daha çok artmasına olanak sağlamıştır. Bugün dünya genelinde sivrisineklerin konak olarak insanı tercih etmesinde önemli ölçüde artışlar gözlenmektedir. Bu gibi artışların çoğu arazi kullanım aktivitelerinin sonucu olarak gelişmektedir. Örneğin Uttar, Pradeş’de sıtma vektörü olan *An. fluviatilis*’in insanlardan emdiği kan oranının 1938-1939’da %1,4 iken, sonraki yıllarda ormanlık alanların yok edilmesi ve kırsal tarımın yoğun bir şekilde yapılmasından dolayı, 1949-1952 yılları arasında bu oranın %41,2’ye çıktığını bildirmişlerdir[117]. Vittor ve ark. (2006) Amazon havzasında *An. darlingi*’nin kırsal alanlarda insanları ısırma oranlarının, ormanlık alanlara göre 278 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir[118]. Alanda yerleşik populasyonlarda bulunan *An. maculipennis* s.l. ve *An. hyrcanus* türü sivrisineklerin ise, açık ve kapalı alanlarda insana saldırdığı bilinmektedir[289]. Aras Havzası’nda bu türlerin insan kan emme oranları sırasıyla; %78 ve %87,5 olarak tespit edilmiştir. Bu durum bölgede olası sıtma geçişlerinde, *An. maculipennis* s.l ve *An. hyrcanus* türlerinin önemli rollerinin olabileceğini göstermektedir. Ayrıca diğer sivrisinek türlerinin de konak olarak daha çok insanı tercih etmelerinde alanın iklim koşulları ve coğrafik konumunun büyük etkisinin olduğu göz ardı edilmemelidir. Çünkü sivrisineklerin üreme dönemleri olan Mayıs-Eylül aylarının sıcak geçtiği alanda gündeğümü ve gün batımı insanların tarım alanlarında çalışmaları için uygun zamanlardır. Bu durum vektör-insan temas fırsatlarının artmasına neden olmaktadır.

İnsan ısırma oranı (human-baiting rate) arbovirüslerin esas üreme oranlarında (R0) anahtar değişkendir. R0 enfeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisinde en önemli

kavramdır ve genellikle hastalık taşınımından sorumlu bireylerin yer aldığı bir popülasyonda bir enfeksiyonlu bireyin sebep olduğu ikincil vakaların ortalama sayısı olarak veya yerel bir popülasyonda her birincil vaka başına düşen ikincil vakaların beklenen sayısı olarak tanımlanır[290]. Sivrisinek kaynaklı bir hastalık için R_0 genellikle $R_0 = ma^2 \cdot p^n \cdot b / \ln p \cdot r$ olarak hesaplanır ki, burada a insan ısırma oranı, m her gün için ısırma sayısı, p sivrisineğin günlük yaşama oranı, n virüsün ikincil döngü uzunluğu (virüsün vektör tarafından alınmasından vektör tarafından bulaştırılmasına kadar olan dönem), b vektörel kapasite ve $1=r$ sivrisinek için enfeksiyonlu dönemdir. Eğer insanların tek konak olduğunu düşünürsek a yüksek olacağından R_0 'da yüksek olacaktır. Omurgalı türlerinin son dönemlerde sayılarının ve çeşitliklerinin azalması sivrisinek popülasyonlarının konak olarak insan tercihlerinin artmasına ve dolayısıyla da sıtma, deng ve batı nil gibi arboviral hastalıkların da artmasına neden olmuştur. Bu nedenle, çalışmanın yapıldığı bu alanda da sivrisineklerde insan ısırma oranının yüksek olması sivrisineklerle bulaştırılacak herhangi bir hastalıkta enfeksiyon oranının artma eğilimi gösterebileceğini de öngörmektedir. Ayrıca analiz edilen sivrisineklerin %83,79 oranında insan kaynaklı beslendiği bulunmuştur. Çalışmada insanın bu kadar yüksek çıkmasında öncelikle örneklemeler yapılırken ağız maskesi ve eldiven kullanılmaması en önemli neden olarak gösterilebilir. Bununla birlikte hem ağız aspiratörleriyle örnekleme yaparken hem de ışık tuzaklarını kurma ve çalıştırma sırasında üzerimize konan sivrisineklerin toplanması ve laboratuvara getirilen sivrisineklerin teşhis edilmesi sırasında %70'den az da olsa insan temasının olduğu söylenebilir.

Türlerin diğer tüm çalışmalarda olduğu gibi, konak seçimlerinde yaşadıkları çevrede en fazla bulunan, kolaylıkla ulaşabildikleri ve maksimum verimi sağlayabildikleri konaklara daha fazla yöneldikleri görülmektedir. Alanın iklimsel özellikleri ve coğrafik konumu tarım ve hayvancılığın yoğun bir şekilde yapılmasına olanak sağlamaktadır. İnsanların tarım arazileri arasına ev ve hayvan ahırlarını birbirine yakın mesafede inşa etmelerinden dolayı, ulaşılabilir konakların daha çok insan ve büyükbaş hayvanlar olduğu söylenebilir. Bu çalışmada sivrisinek türleri için en fazla yönelimin tekli veya çoklu konak olarak insan ve büyükbaş hayvanlardan özellikle sığırları içinde barındıran kombinasyonlar olduğu gözlenmiştir. Dünyanın çeşitli bölgelerinden de bildirildiği gibi, sivrisinekler beslenme tercihlerinde çoğunlukla genel konakçı oldukları kabul edilmektedirler[291, 292]. Bu durum vektör türlerin örnekleme yerlerine göre konak seçimlerinin ortamda bulunan

belirli konak türlerinin nispi yoğunluğuna bağlı olarak gelişebileceğini gösterir. Bu çalışmada analiz edilen sivrisinek türlerinin de fırsatçı beslenme davranışı sergiledikleri ve bunlar arasında konak çeşitliliği en fazla olan türün *An. maculipennis* s.l. olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca memeli ve kuş orjinli çoklu konak kullanımı bu ve diğer türlerin vektörel potansiyelleri açısından da önemli olabileceği söylenebilir. Alanda yapılan önceki çalışmalarda *An. maculipennis* s.l. *Cx. theileri*, *Cx. pipiens*, *Ae. vexans* ve *Oc. caspius* türlerinin *D. immitis*'in potansiyel vektörleri olabileceği kabul edilmiştir[106]. Bir diğer çalışmada *Cs. annulata* dışındaki diğer türlerde BNV'ne ait nükleik asitlerin varlığı bildirilmiştir[90]. Bu bulgular alanın iklim ve ekolojik koşulları, sivrisinek populasyon yoğunlukları ve göçmen kuşların göç yolları üzerinde bulunması göz önüne alındığında hem arbovirüs hem de diğer patojenlerin bulaşımı açısından önemli olabilmektedir.

Sivrisineklerde çoklu konak seçiminin yumurta verimiyle pozitif ilişkisi vardır. Ayrıca genel konakçı olma durumu türün vektörlük kapasitesini büyük oranda artırır. Briegel ve Horler (1993) *Anopheles* cinsi sivrisineklerde çoklu beslenmenin üremeyi arttırıcı bir strateji olduğunu öne sürmüşlerdir[230]. Bu çalışmada, *An. maculipennis* kompleksine ait bireylerin tek konak türlerinden ziyade, çoklu konak türler üzerinden beslenmiş olmaları, ayrıca diğer türlerde de çoklu beslenmenin yaygın şekilde gözlenmiş olması bu stratejinin doğru olabileceğini düşündürmektedir. Xue ve ark. (2009), *Aedes albopictus* üzerinde yaptıkları çalışmalarda ikili, üçlü ve karışık beslenmenin yumurta verimini anlamlı şekilde arttırdığını ortaya çıkarmışlardır[231]. Çoklu beslenme stratejisi sadece yumurta verimini değil, aynı zamanda hastalık taşıyan bir bireyin aynı gonotrofik dönem içinde birden fazla konaktan beslenebilmesi olasılığını arttırabileceği için hastalık taşınımı ve yayılması riskini de arttırır.

An. maculipennis kompleksi üyeleri doğada zoofilik, antropofilik ve zoo-antropofilik davranış gösterirler. Aynı zamanda bu komplekse ait türlerin ekzofil ve endofil yaşam şekline sahip olmasının yanı sıra, sıtma etkeninin taşıyıcısı, yayıcısı ve bulaştırıcısı olduğu da bilinmektedir[293]. Bununla birlikte *An. hyrcanus* yarı endofilik [294] ve ekzofilik bir tür olup, konak seçimi çevre koşulu uygunluğuna, konak bulma kolaylığına ve kan emme alışkanlığına bağlı olarak değişir. *An. hyrcanus*'un özellikle Orta Asya ve Rusya'da yüksek derecede antropofilik davranış gösterdiği bilinmektedir[295]. Diğer

tarafından Türkiye, İran, Azerbaycan ve Ermenistan'ın sınır bölgelerinde birincil sıtma vektörleri *An. sacharovi* ve *An. maculipennis* iken, *An. superpictus* ve *An. hyrcanus* sekonder vektörler olarak kabul edilmişlerdir. Yapılan çalışmada farklı barınaklardan toplanan kan emmiş sivrisinekler ELISA tekniği kullanılarak analiz edilmiş, *An. maculipennis* türüne ait bireylerin %5'inin yalnızca insan, %25'inin sığır, %20'sinin eşek ve %50'sinin diğer hayvanlar üzerinden beslendiğini, *An. hyrcanus* türüne ait bireylerin ise insandan beslenmediklerini, ancak %71,4 sığır, %14,3 eşek ve %14,3 diğer hayvanlar üzerinden beslendikleri ortaya çıkmıştır. Sonuçlar *An. hyrcanus*'un zoofilik bir tür olduğunu ortaya çıkarmıştır[296]. Aras Havzası'nda yaptığımız çalışma bulgularımızda ise, alanda farklı lokalitelerden örneklenen *An. maculipennis* s.l. türünün %13,59'unun yalnızca insan, bunun aksine *An. hyrcanus* türünün ise %50'sinin yalnızca insan üzerinden beslendiği bulunmuştur. Ayrıca alanda yapılan başka bir çalışmada ise *An. hyrcanus* türünün açık ve kapalı alanlarda insan ısırma oranları sırasıyla; %18,57 ve %41,94 iken, *An. maculipennis* s.l. türlerinin insan ısırma oranları açık ve kapalı alanlarda sırasıyla; %2,32 ve %6,54 olarak belirlenmiş olup, *An. hyrcanus*'un daha yüksek derecede antropofilik davranış gösterdiği rapor edilmiştir[287]. Sonuç olarak yaptığımız çalışmada çoklu beslenme davranışları da dahil olmak üzere, *An. maculipennis* s.l. türünün %78,48'inin, *An. hyrcanus* türünün ise %58,33'ünün insan kaynaklı beslendiği ve bu türlerin önemli ölçüde insan affinitesi gösterdiği bulunmuştur.

Anopheles sivrisinekleri beslenmelerinde; insanlar, çiftlik hayvanları, kuşlar ve reptiller gibi hayvanları tercih ederler[297, 298]. Bu gibi tercihler vektörlerin çoklu beslenme stratejisi (iki ya da daha fazla konak üzerinden beslenme) sergilemesine neden olmakta, vektörlük potansiyelleri açısından önemli bir özellik olarak kabul edilmektedir. Özellikle sıtmanın prevalansı *Anopheles* sivrisineklerinin konak tercihleri tarafından etkilenir[299]. Çoklu beslenmelerin kriptik (aynı konak türler) ya da patent (farklı konak türler) olması, sıtma iletiminin yoğunluğunu etkileyebilir. Kesintiye uğrayan beslenmelerde özellikle kriptik-kriptik beslenme davranışlarının parazit bulaştırma olasılığını artırdığı ileri sürülmektedir[300]. Bu görüşün aksine kesintiye uğrayan beslenmelerde sıtma iletiminin artmayacağı, dahası beslenmesi kesilen dişiler daha az gametosit yutacağından dolayı, sivrisineklerde enfeksiyon oranlarının daha düşük olabileceği öngörülmektedir[299]. Bu çalışmada *Anopheles* cinsi sivrisineklerin özellikle insan ve diğer konak türler üzerinden çoklu beslenme davranışı sergilemesi,

alanda olası sıtma prevalansı açısından önemli olabilir. Ayrıca insan dışında diğer omurgalı konaklar üzerinden beslenmelerde, sporozoit oranlarında artma ya da azalmaların olabileceği dikkate alınır, ilerleyen zamanlarda etkili sıtma kontrol çalışmaları tasarlanabilir.

Genel olarak *Aedes* ve *Anopheles* gibi bazı sivrisinek türleri konak tercihlerinde, öncelikli olarak memeliler, bazen de kuşlardan beslenirler. Böyle konak tercihlili olan türler konak bulunabilirliğine göre, değişken ya da fırsatçı beslenme davranışı sergilerler[172]. Yapılan çalışmada analiz edilen sivrisinekler arasında fırsatçı beslenme davranışı sergileyen türler arasında yer alan, *Ae. caspius*'un Avrupa'da geniş bir yayılım alanı vardır[301]. Tür zootrofilik olup, alacakaranlıkta insan ve hayvanlara saldırır[302, 303]. Bu çalışmada ise türe ait bireylerin memeli, kuş ve memeli-kuş orjinli karışık beslendikleri ortaya çıkmıştır. Türün vektörlüğü ile ilgili yapılan çalışmalarda, Avrupa ve komşu ülkelerde RVV'nin beş vektöründen biri olduğu, *Cx. pipiens* ile birlikte Akdeniz Havzası'nda bu virüs için en duyarlı vektörler arasında yer aldığı rapor edilmiştir[304-307]. Ayrıca Mısır'da RVF virüsünün potansiyel vektörlerinden biri olmasının yanı sıra[308], *D. immitis* gibi filarial nematodları [309] ve Thyna virüs gibi arbovirüsleri ilettikleri de bilinmektedir[310]. Bunlara ek olarak Akhter ve ark. (1982) tarafından Pakistan'da, BNV'nü, bu türden başarılı bir şekilde izole edilmiştir[311]. Sonuç olarak *Ae. caspius* türü sivrisineğin yayılış yeteneği, diğer memeli türlerine göre insana olan yakınlığı, büyük olasılıkla insan konaklarının lokal yoğunluğu ve bulunabilirliğinin bir fonksiyonu olabilir.

Ae. vexans yıl içinde birkaç kez döl veren (multivoltine), su baskınları sonucu oluşan habitatlarda üreyen, dünya genelinde geniş bir yayılış gösteren bir türdür. Özellikle yarı kırsal alanlarda yoğun olarak bulunmasından ötürü, en önemli sivrisinek türleri arasında yer almaktadır[308]. *Ae. vexans* öncelikli olarak memeliler, nadiren de kuşlar üzerinden beslendiği bilinmektedir[82, 232, 252, 254, 297, 312-321]. Türün bulunduğu çevrelerde lokal yoğunluğu ve beslenme davranışlarından dolayı, BNV için potansiyel köprü vektör olabileceği kabul edilmektedir[77, 322]. Bununla birlikte kuşlar üzerinden düşük oranlarda beslenmesi, vektörlük potansiyelini sınırlayan bir faktör olarak öne sürülmüştür[77]. Beslenme davranışlarında daha çok büyük memeli hayvanları tercih ettiği gösterilmiştir[184, 235, 297, 315-317, 319, 320, 323, 324]. Bu sonuçlar *Ae. vexans* sivrisinek türünün konak arama davranışında oldukça fırsatçı olması

nedeniyle konak bulunabilirliğine bağlı olarak, bölgesel değişim sergilediğini göstermektedir[319]. Bu çalışmada analiz edilen *Ae. vexans* türüne ait bireylerin memeli ve kuş kaynaklı beslenmeleri ise, diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. *Ae. vexans* BNV için potansiyel bir vektör [82, 325-329] olmakla birlikte, Türkiye’de Kayseri yöresinde *D. immitis*’in asıl vektörü olduğu da bildirilmiştir[103]. Sonuç olarak *Ae. vexans* sivrisinek türünün alanda insan ve sığır dışında kedi, köpek gibi memeliler, ayrıca kanatlı hayvanlar üzerinde beslenmesi vektörlük potansiyeli açısından önemli kabul edilebilir.

Doğada *Culex* cinsi sivrisinekler yaygın olarak kuşlar üzerinden beslenirler ve BNV’nin en yetkin vektörleri olarak kabul edilirler[322, 325, 330], bu nedenle kuş-sivrisinek döngüsü ile virüsün devamlılığı sağlanabilmektedir[328]. Amerika’nın çeşitli bölgelerinde, bu türün konak olarak diğer kuş türlerine göre, çoğunlukla kızıl gergedan tercih etmektedir[19, 82, 137, 252, 320, 331]. Bu durum kızıl gergedan popülasyonlarının Kuzey Amerika genelinde kırsal, kentsel ortamlarda, açık ve ormanlık habitatlarda yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir[332, 333]. Ayrıca Amerika’da *Cx. pipiens* türünün konak beslenme davranışlarında önemli coğrafik varyasyonlar da rapor edilmiştir[19, 82, 252, 320, 334]. Bu sivrisinek türü bölgenin kuzeydoğusunda (>%94) kuş orijinli beslenirken [82, 252], daha güney ve orta batı bölgelerinde insan da dahil olmak üzere türe ait bireylerin önemli oranlarda memeliler üzerinden beslendiği ortaya çıkmıştır; Washington DC ve Maryland (%13) [137], Chicago (%22,4) [19], Tennessee (%24) ve New Jersey’den (%38) olarak bildirilmiştir[320]. Aras Havzası’nda *Cx. pipiens* türüne ait bireylerin çoğunlukla memeli, düşük oranlarda kuş kaynaklı beslenmeleri, diğer coğrafi bölgelerde yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir: Arizona Tucson’da, %32 kuş ve %65 memeli [335], Brezilya, Sao Paulo’da %22 kuş ve %70 memeli [17], Avustralya, Kuzey Queensland’da %29,7 kuş ve %62,9 oranında memeli orijinli beslendiği bildirilmiştir[173]. Sonuç olarak belirli lokalitelerde vektör-konak etkileşim oranlarının duyarlı konakların nispi bulunabilirliğine bağlı olarak değişebilir.

Cx. theileri Türkiye’nin kuzeydoğusunda en yaygın sivrisinek türlerinden biridir[336]. Bu tür çoğunlukla memeliler üzerinden beslenmekle birlikte, kuşlardan

da beslendiği bilinmektedir[337-340]. Bu çalışmada analiz edilen sivrisinekler içinde en fazla birey sayısı ile sığırı tercih eden tek türdür. Analizler *Cx. theileri* türünün çoğunlukla memelilerden, nadiren de kuşlardan beslendiğini göstermektedir. Bu sonuçlar türün vektörlük potansiyeli açısından önemli kabul edilebilir.

Alandan düşük birey sayısı ile örneklenen *Cs. annulata* türünün, öncelikli olarak kuşlar bazen de memeliler üzerinden beslendiği rapor edilmiştir[341]. Diğer türlerde olduğu gibi, bu türe ait analiz edilen bireylerin, memeli orjinli olarak öncelikle insanı tercih ettiği bulunmuştur. Ayrıca türün çoklu beslenme davranışı, doğal sistemlerde vektörlük potansiyeli açısından önemli olabileceği söylenebilir.

Doğal koşullarda vektör kaynaklı hastalıklarda bulaşma, daha önce enfekte konaktan kan emmiş vektörün, daha sonra duyarlı konaktan kan emmesi sırasında gerçekleşir[342, 343]. Patojenlerin bulaş dinamiği, artropod vektörün etkeni alabilme, idame etme ve aktarma yeteneği ile omurgalı konakların rezervuar potansiyeline bağlıdır. Bundan dolayı vektörlerin beslenme alışkanlıkları ve konak tür kompozisyonu, hastalıkların doğal bulaş dinamiklerinin ve yayılmasının anlaşılmasında kritik öneme sahiptir[137]. Sonuç olarak sivrisinek kaynaklı hastalıklara vektörlük yapan türleri mevcut potansiyel omurgalı konaklarıyla beraber bulunduran alanda yapmış olduğumuz çalışma sonucunda mevcut sivrisinek türlerinin insan üzerinden beslenme oranlarının oldukça fazla olduğu ve bu durumun ise sivrisinek kaynaklı patojenlerin bulaşım ve devamlılığında sıkıntı yaratabileceği görülmektedir. Alanda hastalık bulaşımından kaçınmak ya da azaltmak için şehir merkezi dışında (kırsal alanlar) herhangi bir koruyucu önlem alınmaması bu sonucu doğurmaktadır. Bu nedenle yaptığımız bu çalışmanın referans gösterilerek alanda sivrisinek kaynaklı hastalıkların araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

6. KAYNAKLAR

- [1]. Tempelis, C. H., “Host-feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology”, *Journal of Medical Entomology*, 11, s635- s653 (1975).
- [2]. Egas, M., Dieckmann, U. and Sabelis, M. W., “Evolution restricts the coexistence of specialists and generalists: the role of trade-off structure”, *American Naturalist*, 163, s518–s531 (2004).
- [3]. Lyimo, I. N. and Ferguson, H. M., “Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors”, *Trends Parasitology*, 25, s189-s196 (2009).
- [4]. Clements, A. N., “The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour”, vol. 2. CABI Publishing, NY, 1999.
- [5]. Sousa, C. A., Pinto, J., Paulo, A., Almeida, G., Ferreira, C., Rosario, V. E. D. and Charlwood, J. D., “Dogs as a favoured host choice of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae) of Sao Tome, West Africa”, *Journal of Medical Entomology*, 38, s122-s125 (2001).
- [6]. Mwangi, T. W., Ross, A., Marsh, K. and Snow, R.W., “The effects of untreated bednets on malaria infection and morbidity on the Kenyan coast”, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 97, s369-s372 (2003).
- [7]. Corbet, P. S., “Facultative autogeny in arctic mosquitoes”, *Nature*, 215, s662-s666 (1967).
- [8]. Shelton, R. M., “The effect of blood source and quantity on production of eggs by *Culex salinarius* Coquillett (Diptera:Culicidae)”, *Mosquito News*, 32, s31-s38 (1972).
- [9]. Shroyer, D. A. and Siverly, R. E., “Comparison of egg production of *Culex pipiens pipiens* L. fed on avian and mammalian hosts”, *Mosquito News*, 32, s636-s637 (1972).
- [10]. Cupp, E. W. and Stokes, G. M., “Feeding patterns of *Culex salinarius* Coquillett in Jefferson Parish, Louisiana”, *Mosquito News*, 36, s332-s335 (1976).

- [11]. Nayar, J. K. and Sauerman JR, D. M., “The effects of nutrition on survival and fecundity in Florida mosquitoes”, Part 4. “Effects of blood source on oocyte development “, *Journal of Medical Entomology*, 14, s167-s674 (1977).
- [12]. Nasci, R. S., “Differences in host choice between the sibling species of treehole mosquitoes *Aedes triseriatus* and *Aedes hendersoni*”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31, s411-s415 (1982).
- [13]. Mather, T. N. and Defoliart, G. R., “Effect of host blood source on the gonotrophic cycle of *Aedes triseriatus*”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32, 189 (1983).
- [14]. Crans, W. J., Mccuiston, L. J. and Sprenger, D. A., “The blood feeding habits of *Aedes sollicitans* Walker in relation to eastern equine encephalitis virus in coastal areas of New Jersey USA I. Host selection in nature determined by precipitin tests on wild caught specimens”, *Bulletin of the Society for Vector Ecology*, 15, s144-s148 (1990).
- [15]. Robertson, L. C., Prior, S., Apperson, C. S. and Irby, W. S., “Bionomics of *Anopheles quadrimaculatus* and *Culex erraticus* (Diptera: Culicidae) in the falls lake basin, North Carolina: Seasonal changes in abundance and gonotrophic status and host feeding patterns”, *Journal of Medical Entomology*, 30, s689-s698 (1993).
- [16]. Harrington, L. C., Edman, J. D. and Scott, T. W., “Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood?”, *Journal of Medical Entomology*, 38, s411-s422 (2001).
- [17]. Gomes, A. C., Silva, N. N., Marques, G. and Brito, M., “Host-feeding patterns of potential human disease vectors in the Paraiba Valley Region, State of Sao Paulo, Brazil”, *Journal of Vector Ecology*, 28, s74-s78 (2003).
- [18]. Ponlanwat, A. and Harrington, L. C., “Blood feeding patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand”, *Journal of Medical Entomology*, 42, s844-s849 (2005).
- [19]. Hamer, G. L., Kitron, U. D., Brawn, J. D., Loss, S. R., Ruiz, M. O., Goldberg, T. L. and Walker, E. D., “*Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): A bridge vector of West Nile virus to humans”, *Journal of Medical Entomology*, 45, s125-s128 (2008).

- [20]. Wintrobe, M. M., "Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates", *Folia Haematologica*, 51, s32-s49 (1933).
- [21]. Trembley, H. L., "Pyloric spines in mosquitoes", *Journal of the National Malaria Society*, 10, s213-s215 (1951).
- [22]. Vaughan, J. A., Noden, B. H. and Beier, J. C., "Concentration of human erythrocytes by anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) during feeding", *Journal of Medical Entomology*, 28, s780-s786 (1991).
- [23]. Gray, E. M. and Bradley, T. J., "Metabolic rate in female *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae): Age, size, activity, and feeding effects", *Journal of Medical Entomology*, 40, s903-s911 (2003).
- [24]. Downe, A. E. R. and Archer, J. A., "Effects of different bloodmeal sources on digestion and egg production in *Culex tarsalis* Coq (Diptera:Culicidae)", *Journal of Medical Entomology*, 12,s 431-s437 (1975).
- [25]. Lehane, M. J., "The biology of blood-sucking in insects", Cambridge University Press. 2005.
- [26]. Kirby, M. J., Ameh, D., Bottomley, C., Green, C., Jawara, M., Milligan, P. J., Snell, P. C., Conway, D. J. and Lindsay, S. W., "Effect of two different house screening interventions on exposure to malaria vectors and on anaemia in children in The Gambia: a randomised controlled trial", *Lancet (British edition)*, 374, s998-s1009 (2009).
- [27]. Musawenkosi, L. H. M., Brian, S. and Christian, L., "Historical review of malarial control in southern African with emphasis on the use of indoor residual house-spraying", *Tropical Medicine & International Health*, 9, s846-s856 (2004).
- [28]. Killeen, G. F., Kihonda, J., Lyimo, E., Oketch, F. R., Kotas, M. E., Mathenge, E., Schellenberg, J. A., Lengeler, C., Smith, T. A. and Drakeley, C. J., "Quantifying behavioural interactions between humans and mosquitoes: Evaluating the protective efficacy of insecticidal nets against malaria transmission in rural Tanzania", *BMC Infectious Diseases*, 6, 161 (2006).

- [29]. Chapman, R.F., “The Insects: Structure and Function”, fourth ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1998.
- [30]. Epstein, P., “Is global warming harmful to Health?”, Scientific American August, s36-s43 (2000).
- [31]. Odum, E. P., Barrett, G.W., “Ekolojinin Temel İlkeleri”, Palme Yayıncılık, Çeviri Editörü; Kani Işık, ISBN:0-534-42066-4, Ankara, 2008.
- [32]. Eldridge, B. F., “Mosquitoes, the Culicidae”, In: Marquardt, W.C., et al. (Eds.) “Biology of disease vectors”, Second. ed. pp. 95-111. San Diego: Elsevier Academic Press. ISBN 0-12- 473276-3, 2005.
- [33]. Harbach, R. E., Kitching, Ian J., Culverwell, C. L., Dubois, J. and Linton, Y. M., “Phylogeny of mosquitoes of tribe Culicini (Diptera: Culicidae) based on morphological diversity”, Zoologica Scripta, 41, s499-s514 (2012).
- [34]. Parrish, O. W., “The mosquitoes of Twkey”, Mosquito News, 19, s264-s266 (1959).
- [35]. Ramsdale, C. D., Alten, B., Çağlar, S. S., Özer, N., “A revised, annotated checklist of the mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey”, European Mosquito Bulletin, 9, s18-s28 (2001).
- [36]. Linton, Y. M., Smith, L., Harbach, R. E., “Observations on the taxonomic status of Anopheles subalpinus Hackett & Lewis and An. melanoon Hackett”, European Mosquito Bulletin, 13, s1-s7 (2002).
- [37]. Bedir, H., Kuçlu, Ö., Erdem, F., Demirci, B., Aldemir, A., “Türkiye İçin Altı Yeni Sivrisinek Kaydı”, In: 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, Kars, Türkiye, 161, 2011.
- [38]. Simsek, F. M., Ulger, C., Akıner, M. M., Gunerkan F., Cihangir, S. İ., Bardakçı, F., “Mosquito species in Southern Turkey (Mediterranean Region)”. In: 6th European Mosquito Control Association Workshop, Budapest, Hungary, 115, 2011a.

- [39]. Oter, K., Gunay, F., Tuzer, E., Linton, Y. M., Bellini, R., Alten, B., “First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding”, *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 13, s753-s761 (2013).
- [40]. Günay, F., “Türkiye Sivrisinek Faunası Üzerine DNA Barkodlama Yöntemiyle Moleküler Analizler”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2015).
- [41]. Woodbridge, A. F., Walker, E. D., “Mosquitoes (Culicidae)”, In Mullen and Durden (Ed), *Medical and Veterinary Entomology*, Academic Press, San Diego, CA, 203-262, 2002.
- [42]. World Health Organization, “Manual on practical entomology in malaria”, Part II. Geneva, WHO, WHO Offset Publication No. 13, 1995.
- [43]. WHO, World Health Organization, Available from: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/wmr-2014-no_profiles.pdf, 2014.
- [44]. Abbitt, B., Abbitt, L. G., “Fatal exsanguination of cattle attributed to an attack of salt marsh mosquitoes (*Aedes sollicitans*)”, *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 179, s1397–s1400, (1981).
- [45]. Budiansky, S., “Creatures of our own making”, *Science*, 298, s80–s86 (2002).
- [46]. Byford, R. L., Craig, M. E., Crosby, B. L., “A review of ectoparasites and their effect on cattle production”, *Journal of Animal Science*, 70, s597–s602 (1992).
- [47]. Fessl, B., Sinclair, B. J., Kleindorfer, S., “The life-cycle of *Philornis downsi* (Diptera: Muscidae) parasitizing Darwin’s finches and its impacts on nestling survival”, *Parasitology*, 133, s739–s747 (2006).
- [48]. Warner, R. E., “The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna”, *Condor*, 70, s101–s120 (1968).

- [49]. Atkinson, C. T., Dusek, R. J., Woods, K. L., Iko, W. M., “Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected Hawaii Amakihi”, *Journal of Wildlife Diseases*, 36, s197–s204 (2000).
- [50]. Anonymous, “Malaria in the World: Situation and Recent Press”, Report for the UN General Assembly, Division of Control Tropical Diseases World Health Organization CTD/TDT/96, s12-s21, 1996.
- [51]. Akdur, R., “Sıtmanın Epidemiyoloji”, Sıtma-Malaria. Parazitoloji Derneği, Yayın No:16, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, s51-s71, 1999.
- [52]. World Health Organization; Global plan for artemisinin resistance containment, http://www.who.int/malaria/publications/atoz/artemisinin_resistance_containment_2011.pdf), 2011.
- [53]. Snow, R. W., Guerra, C. A., Noor, A. M., Myint, H. Y., Hay, S. I., “The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria”, *Nature*, 434, s214-s217 (2005).
- [54]. Kasap, H., Kasap, M., Mimioğlu M. M. and Aktan, F., “Çukurova ve çevresinde sivrisinek ve malaria üzerinde araştırmalar”, *Doğa Bilim Dergisi*, 5, 141-150, 1981.
- [55]. Falleroni, D., “Fauna Anefelica İtaliana e suo “habitat” (paludi, risaie, canali). Metdi di lotta contro la malaria”, *Rivista di Malariologia*, 5, s553-s559 (1926).
- [56]. Akıner, M. M., Çağlar, S. S., “Birecik, Beyşehir ve Çankırı bölgelerinde *Anopheles maculipennis* grup türlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanarak araştırılması”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34, s50-s54 (2010).
- [57]. Alten, B., Bellini, R., Çağlar, S. S., Şimşek, F. M., Kaynaş, S., “Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes in the Belek region of Turkey”, *Journal of Vector Ecology*, 25, s146-s154 (2000).
- [58]. Akdur, R., “Sıtma Eğitimi Notları”, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Cem Web Ofset Limited Şirketi, 69 s., 1997.

- [59]. Alten, B., Çağlar S. S., “Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi”, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koord., Bizim Büro, Basımevi, Ankara 242, 1998.
- [60]. Suyev, M., “Sıtma Savaşı Çalışmaları Albümü”, Türkiye Cumhuriyet Sağlık ve Sosyal Yardım Vekaleti Yayınlarından 162, Hüsnütabiat Matbaası, İstanbul. 248 s., 1953.
- [61]. Erel, D., “Anadolu Vektörleri ve Mücadele Metodları”, T. C. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Hıfzısıhha Okulu, Yayın No: 47, 1973.
- [62]. Özcel M. A., “Sıtmanın önemi, korunma ve sıtma savaşı”, Özcel, M. A., Ed. Sıtma, Malaria., İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği, Ege Üniversitesi Basımevi, s237-s273, 1999.
- [63]. Özbilgin, A., Topluoglu, S., Es, S., Islek, E., Mollahaliloglu, S., Erkoc, Y., “Malaria in Turkey: successful control and strategies for achieving elimination”, Acta Tropica, 120, s15-s23 (2011).
- [64]. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2011, Ankara, 2012.
- [65]. Türk Tabipleri Birliği Merkez Konseyi. Mardin-Savur ilçesi sıtma salgınına inceleme ve değerlendirme raporu, Ankara, 2012,
- [66]. Dauphin, G., Zientara, S., Zeller, H., Murgue, B., “West Nile: worldwide current situation in animals and humans”, Comparative Immunology Microbiology Infection Disease, 27, s343–s355 (2004).
- [67]. Mackenzie, J. S., Gubler, D. J., Petersen, L. R., “Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses”, Nature Medicine 10, s98-s109 (2004).
- [68]. Hubalek, Z., Halouzka, J., “West Nile fever—a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe”, Emerging Infectious Diseases, 5, s643–s650 (1999).

- [69]. Smithburn, K. C., Hughes, T. P., Burke, A. W. and Paul, J. H., “A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20, s471–s492 (1940).
- [70]. Vázquez, A., Ruiz, S., Herrero, L., Moreno, J., Molero, F., Magallanes, A., et al. “West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008-2009”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85, s178-s181 (2011).
- [71]. Balenghien, T., Vazeille, M., Grandadam, M., Schaffner, F., Zeller, H., Reiter, P., Sabatier, P., Fouque, F., Bicout, D. J., “Vector competence of some French *Culex* and *Aedes* mosquitoes for West Nile virus”, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8, s589-s595 (2008).
- [72]. Almeida, A., Galao, R., Sousa, C., Novo, M., Parreira, R., Pinto, J., Piedade, J., Esteves, A., “Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection”, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102, s823-s832 (2008).
- [73]. Fyodorova, M. V., Savage, H. M., Lopatina, J. V., Bulgakova, T. A., Ivanitsky, A. V., Platonova, O. V., and Platonov, A. E., “Evaluation of potential West Nile virus vectors in Volgograd region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): species composition, bloodmeal host utilization, and virus infection rates of mosquitoes”, *Journal of Medical Entomology*, 43, s552–s563 (2006).
- [74]. Savage, H. M., Ceianu, C., Nicolescu, G., Karabatsos, N., Lanciotti, R. S., Vladimirescu, A., Laiv, L., Ungureanu, A., Romanca, C. and Tsai, T. F., “Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania, 1996, with serological and molecular characterization of a virus from mosquitoes”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61, s600–s611 (1999).
- [75]. Tsai, T. F., Popovici, F., Cernescu, C., Campbell, G. L., and Nedelcu, N. I., “West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania”, *Lancet*, 352, s767–s771 (1998).
- [76]. Nash, D., Mostashari, F., Fine, A., Miller, J., O’Leary, D., Murray, K., Huang, A., Rosenberg, A., Greenberg, A., Sherman, M., Wong, S., Layton, M., and 1999 West Nile

Outbreak Response Working Group “Outbreak of West Nile virus infection, New York City area, 1999”, *New England Journal of Medicine*, 344, s1807–s1814 (2001).

[77]. Andreadis, T. G., Anderson, J. F., Vossbrinck, C. R., and Main, A. J., “Epidemiology of West Nile Virus in Connecticut: A Five-Year Analysis of Mosquito Data 1999–2003”, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 4, s360-s378 (2004).

[78]. Kilpatrick, A. M., Daszak, P., Jones, M. J., Marra, P. P., Kramer, L. D., “Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission”, *Proceedings of the Royal Society Biological Science*, 273, s2327–s2333 (2006a).

[79]. Godsey, M. S., Nasci, Jr. R., Savage, H. M., Aspen, S., King, R., Powers, A. M., Burkhalter, K., Colton, L., Charnetzky, D., Lasater, S., Taylor, V. and Palmisano, C. T., “West Nile virus-infected mosquitoes, Louisiana, 2002”, *Emerging Infectious Diseases*, 11, s1399-s1404 (2005).

[80]. Anderson, J. F., Andreadis, T. G., Main, A. J., Kline, D. L., “Prevalence of West Nile virus in tree canopy-inhabiting *Culex pipiens* and associated mosquitoes”. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71, s112-s119 (2004).

[81]. Anderson, J. F., Main, A. J., Cheng, G., Ferrandino, F. J., Fikrig, E., “Horizontal and vertical transmission of West Nile virus genotype NY99 by *Culex salinarius* and genotypes NY99 and WN02 by *Culex tarsalis*”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, s134–s139 (2012).

[82]. Molaei, G., Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson J. F., and Vossbrinck, C. R., “Host Feeding Patterns Of *Culex* Mosquitoes And West Nile Virus Transmission, Northeastern United States”, *Emerging Infectious Diseases*, 12, s468-s474 (2006).

[83]. Higgs, S., Snow, K., and Gould, E., “The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom”, *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, s82-s87 (2004).

[84]. Heperkan, Y., Arı, A., “Türkiye’de Arbor Virusları Üzerinde Bir Araştırma”, *Türk Hij Tec Der*, 24, s113-s118. (1964).

- [85]. Radda, A., “Antibodies Against Group A and B Arboviruses in Domestic Animals from Turkey”, *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 10, 227 (1971).
- [86]. Arı, A., “Studies on activity and ecology of arboviruses in Turkey”, *Türkiye Hijyen Tecrubi Biyoloji Dergisi*, 32, s134–s143 (1972).
- [87]. Meco, O., “West Nile arbovirus antibodies with hemagglutination inhibition (HI) in residents of Southeast Anatolia”, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 11, s3–s17, (1977).
- [88]. Ergunay, K., Ozer, N., Us, D., Ozkul, A., Simsek, F., Kaynas, S., Ustacelebi, S., “Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: First evidence for tick-borne encephalitis virus infections”, *Vector -Borne Zoonotic Diseases*, 7, s157-s161 (2007).
- [89]. Özkul, A., Yıldırım, Y., Pınar, D., Akcalı, A., Yılmaz, V., Colak, D., “Serological evidence of West Nile virus (WNV) in mammalian species in Turkey”, *Epidemiology and Infection*, s1–s4 (2005).
- [90]. Kuçlu, Ö., “Aras Havzası ve Kars Platosu Sivrisineklerinde Batı Nil Virusu Varlığının Moleküler Yöntemlerle Araştırılması”, *Doktora Tezi*, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2015).
- [91]. Ergunay, K., Whitehouse, C. A., Ozkul, A., “Current status of human arboviral diseases”, *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 11, s731–s741 (2011).
- [92]. Agaoglu, Z., Akgul, Y., Ceylan, E., Akkan, H., “Van yoresi kopeklerinde *Dirofilaria immitis*'in yaygınlığı”, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11, s41–s43 (2000).
- [93]. Coskun, S. Z., Tinar, R., Akyol, C. V., Aydın, L., Demir, C., “Dogal enfekte kopeklerde *Dirofilaria immitis* mikrofilerlerine ivermektinin etkisi”, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11, s121–s128. (1992).
- [94]. Duran-Struuck, R., Jost, C., Hernandez, A. H., “*Dirofilaria immitis* prevalence in a canine population in the Samana Peninsula (Dominican Republic)–June 2001”, *Veterinary Parasitology*, 133, s323–s327 (2005).

- [95]. Vezzani, D., Eiras, D. F., Wisnivesky, C., “Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population”, *Veterinary Parasitology*, 136, s 259–s273 (2006).
- [96]. Montoya, J. A., Morales, M., Ferrer O., Molina, J. M., Corbera, J. A., “The prevalence of *Dirofilaria immitis*’ in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994–1996)”, *Veterinary Parasitology*, 75, s221–s226 (1998).
- [97]. Anyanwu, I. N., Agbede R. I. S., Ajanusi O. J., Umoh J. U. and İbrahim, N. D. G., “The incrimination of *Aedes (Stegomyia) aegypti* as the vector of *Dirofilaria repens* in Nigeria”, *Veterinary Parasitology*, 92, s319–s327 (2000).
- [98]. Cancrini, G., Pietrobelli, M., Frangipane di Regalbono, A. F., Tampieri, M. P., della Torre, A., “Development of *Dirofilaria* and *Setaria* nematodes in *Aedes albopictus*”, *Parassitologia*, 37, s141–s145 (1995).
- [99]. Pampiglione, S., Rivasi, F., “Human dirofilariasis due to *Dirofilaria* (Nochtiella) *repens*: an update of world literature from 1995 to 2000”, *Parazitologia*, 42, s231-s254 (2000).
- [100]. Medlock, J. M., Barras, I., Kerrod, E., Taylor, M. A., Leach, S., “Analysis of climatic predictions for extrinsic incubation of *Dirofilaria* in the United Kingdom”, *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 7, s4-s14 (2007).
- [101]. Bişkin, Z., Düzlü, Ö., Yıldırım, A., İnci, A., 2010. “Kayseri'nin Felahiye Yöresinde *Dirofilaria immitis*'in vektör sivrisineklerde moleküler biyolojik tanısı”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34, 200-205.
- [102]. Icen, H., Sekin, S., Simsek, A., Kochan, A., Celik, O. Y., and Altas, M. G., “Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* Infection in dogs from Diyarbakir in Turkey”, *Asian Journal of Animal Veterinary Advances*, 6, s371-s378 (2011).
- [103]. Yildirim, A., Ica, A., Atalay, O., Duzlu, O., Inci, A., “Prevalence and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs from Kayseri province, Turkey”, *Research in Veterinary*, 82, s358–s363 (2007).

- [104]. Yildirim, A., İnci, A., Düzlü, Ö., Bişkin, Z., İca, A., Sahin, İ., “*Aedes vexans* and *Culex pipiens* As The Potential Vectors Of *Drofilaria immitis* In Central Turkey”, *Veterinary Parasitology*, 178, s143-s147 (2011).
- [105]. Sari, B., Tasci, G. T., Kılıc, Y., “Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in Dogs in Iğdır Province, Turkey”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 19, 735-739 (2013).”
- [106]. Taşçı, G. T., Kılıç, Y., “Kars ve Iğdır Civarındaki Köpeklerde *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)’nin Prevalansı ve Potansiyel Vektör Sivrisinek Türleri Üzerine Araştırmalar”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18, s29-s34 (2012).
- [107]. Daubney, R., Hudson, J. R., Garnham, P. C., “Enzootic hepatitis or Rift Valley fever. An undescribed virus disease of sheep cattle and man from east Africa”, *Journal of Pathology Bacteriology*, 34, s545–s579 (1931).
- [108]. Chevalier, V., Pepin, M., Plee, L., Lancelot, R., “Rift Valley fever—a threat for Europe?”, *Euro Surveillance*, 15, s195-s206 (2010).
- [109]. Shoemaker, T., Boulianne, C., Vincent, M. J., Pezzanite, L., Al-Qahtani, M. M., Al- Mazrou, Y., Khan, A. S., Rollin, P. E., Swanepoel, R., Ksiazek, T. G., Nichol, S. T., “Genetic analysis of viruses associated with emergence of Rift Valley fever in Saudi Arabia and Yemen, 2000–2001”, *Emerging Infectious Diseases*, 8, s1415–s1420 (2002).
- [110]. Swanepoel, R., Coetzer, J. A. W., “Rift Valley fever. In *Infectious diseases of livestock*”, Volume 2, edn. Edited by Coetzer JAW, Tustin RC. Southern Africa: Cape Town: Oxford University Press, 2004.
- [111]. Easterday, B. C., Murphy, L. C., Bennett, D. G., “Experimental Rift Valley fever in calves, goats, and pigs”, *American Journal of Veterinary Research*, 23, s1224–s1230 (1962).
- [112]. EFSA Panel on Animal Health and Welfare: Opinion of the scientific panel on animal health welfare on a request from the commission related to “the risk of a Rift

Valley fever incursion and its persistence in the community”. The EFSA Journal, EFSA 238, 1–128, 2005.

[113]. Fischer, E. A. J., Boender, G. J., Nodelijk, G., de Koeijer, A. A. and van Roermund, H. J. W., “The transmission potential of Rift Valley fever virus among livestock in the Netherlands: a modelling study”, *Veterinary Research*, 44, 58 (2013).

[114]. Versteirt, V., Ducheyne, E., Schaffner, F. and Hendrickx, G., “Systematic literature review on the geographic distribution of rift valley fever vectors in Europe and the neighbouring countries of the Mediterranean Basin”, *Avia-GIS*, Risschotlei 33, B-2980 Zoersel, Belgium, N: 412, 2013.

[115]. Brown, J. E., McBride, C. S., Johnson, P., Ritchie, S., Paupy, C., Bossin, H., Lutomiah, J., Fernandez-Salas, I., Ponlawat, A., Cornel, A. J., Black, W. C., Gorrochotegui-Escalante, N., Urdaneta-Marquez, L., Sylla, M., Slotman, M., Murray, K. O., Walker, C. and Powell, J. R., “Worldwide patterns of genetic differentiation imply multiple 'domestications' of *Aedes aegypti*, a major vector of human diseases”, *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 278, s2446-s2454 (2011).

[116]. Chaves, L. F., Harrington, L. C., Keogh, C. L., Nguyen, A. M. and Kitron, U. D., “Blood feeding patterns of mosquitoes: random or structured”, *Frontiers in Zoology*, 7, 3, (2010).

[117]. Bruce-Chwatt, L. J., Garrett-Jones, C. and Weitz, B., “Ten years study (1955-64) of host selection by anopheline mosquitoes”, *Bulletin of W.H.O.* 35, s405- s439 (1966).

[118]. Vittor, A. Y., Gilman, R. H., Tielsch, J., Glass, G., Shields, T., Lozano, W. S., Pinedo-Cancino, V. and Patz, J. A., “The effect of deforestation on the humanbiting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of *falciparum* malaria in the Peruvian Amazon”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74, s3–s11 (2006).

[119]. Begon, M., Townsend, C. R. and Harper, J. L., “Parasitism and disease, in *Ecology: From Individuals to Ecosystems*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, s347-s380 (2006).

- [120]. Levins, R., “Theory of fitness in a heterogeneous environment. i. The fitness set and adaptive function”, *American Naturalist*, 96, s361–s373 (1962).
- [121]. Pyke, G. H., Pulliam, H. R. and Charnov, E. L., “Optimal foraging: a selective review of theory and tests”, *Quarterly Review of Biology*, 52, s137–s154 (1977).
- [122]. MacArthur, R. H. and Pianka, E. R., “On optimal use of a patchy environment”, *American Naturalist*, 100, s603–s609 (1966).
- [123]. Poulin, R., “Evolutionary Ecology of Parasites: from Individuals to Communities”, Chapman & Hall, London, 1998.
- [124]. Roff, D. A., “The Evolution of Life Histories: Theory and Analysis”, Chapman & Hall, New York, 1992.
- [125]. Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Marra, P. P., Daszak, P., Fonseca, D. M., “Genetic influences on mosquito feeding behavior and the emergence of zoonotic pathogens”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77, s667–s671 (2007).
- [126]. Mukwaya, L., “Genetic control of feeding preferences in the mosquitoes *Aedes* (*Stegomyia*) *simpsoni* and *aegypti*”, *Physiological Entomology*, 2, s133-s145 (1977).
- [127]. Gillies, M., “Selection for host preference in *Anopheles gambiae*”, *Nature*, 203, s852-s854 (1964).
- [128]. Lefèvre, T., Gouagna, L. C., Dabire, K. R., Elguero, E., Fontenille, D., Costantini, C. and Thomas, F., “Evolutionary lability of odour-mediated host preference by the malaria vector *Anopheles gambiae*”, *Tropical Medicine & International Health*, 14, s228-s236 (2009a).
- [129]. Takken, W., Knols, B. G., “Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes”, *Annual Review of Entomology*, 44, s131–s157 (1999).
- [130]. Costantini, C., Gibson, G., Brady, J., Merzagora, L. & Coluzzi, M., “A new odour-baited trap to collect host-seeking mosquitoes”, *Parassitologia*, 35, s5-s9 (1993).

- [131]. Takken, W. and Verhulst N. O., “Host Preferences of Blood-Feeding Mosquitoes”, *Annual Review of Entomology*, 58, s433–s53 (2013).
- [132]. Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V. and Di Deco, M. A., “Behavioural divergences between mosquitoes with different inversion karyotypes in polymorphic populations of the *Anopheles gambiae* complex”, *Nature (Lond.)*, 266, 832-833 (1977).
- [133]. Pigliucci, M., “Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now?”, *Trends Ecology & Evolution*, 20, s481–s486 (2005).
- [134]. Visser, M. E. et al., “Variable responses to large-scale climate change in European *Parus* populations”, *Proceedings of Royal Society*, 270, s367–s372 (2003).
- [135]. Stearns, S. C., “The evolution of life histories”, Oxford University Press, NY. 1992.
- [136]. Simpson, J. E., Folsom-O'Keefe, C. M., Childs, J. E., Simons, L. E., Andreadis T. G., Diuk-Wasser, M. A., “Avian host-selection by *Culex pipiens* in experimental trials”, *PLoS One*, 4, e7861, (2009).
- [137]. Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Marra, P. P. and Daszak, P., “West Nile Virus Epidemics in North America Are Driven by Shifts in Mosquito Feeding Behavior”, *PLoS Biol*, 4(4), e82. (2006).
- [138]. Lefèvre, T., Gouagna, L. C., Dabiré, K. R., Elguero, E., Fontenille, D., Renaud, F., Costantini, C. and Thomas, F., “Beyond nature and nurture: phenotypic plasticity in blood-feeding behavior of *Anopheles gambiae* s.s. when humans are not readily accessible”, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81, s1023-s1029 (2009b).
- [139]. Tomberlin J. K., Rains G. C., Allan S. A., Sanford M. R., Lewis W. J., “Associative learning of odor with food- or blood-meal by *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae)”, *Naturwissenschaften*, 93, s551-s556 (2006).
- [140]. Chilaka N., Perkins E., Triplet F., “Visual and olfactory associative learning in the malaria vector *Anopheles gambiae sensu stricto*”, *Malaria Journal*, 11, 27 (2012).

- [141]. Mwandawiro, C., Boots, M., Tuno, N., Suwonkerd, W., Tsuda, Y., Takagi, M., “Heterogeneity in the host preference of Japanese encephalitis vectors in Chiang Mai, northern Thailand”, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94, s238-s242 (2000).
- [142]. Roberts, D. R. and Andre, R. G., “Insecticide resistance issues in vector borne disease control”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50, s21-s34 (1994).
- [143]. Kurzban, R. and Egeth, M., “Applied Darwinian medicine: Artificial selection for less-harmful parasites”, *Medical Hypotheses*, 71, s976-s977, (2008).
- [144]. Ferguson, H., Gandon, S., Mckinnon, M. and Read, A., “Malaria parasite virulence in mosquitoes and its implications for the introduction and efficacy of GMM malaria control programmes”, *Genetically modified mosquitoes for malaria control*. Landes Bioscience, (2006).
- [145]. WHO, “Manual on environmental management for mosquito control: with special emphasis on malaria vectors”, WHO Offset Publication, 66, 2-284, 1982.
- [146]. Kiszewski, A., Mellinger, A., Spielman, A., Malaney, P., Sachs, S. E. and Sachs, J., “A global index representing the stability of malaria transmission”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70, s486-s498 (2004).
- [147]. Lengeler, C., “Insecticide-treated bednets and curtains for preventing malaria”, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, s1–s52 (2004).
- [148]. Kaburi, J. C., Githuto, J. N., Muthami, L., Ngure, P. K., Mueke, J. M. and Mwandawiro, C. S., “Effects of long-lasting insecticidal nets and zooprophylaxis on mosquito feeding behaviour and density in Mwea, central Kenya”, *Journal of Vector Borne Diseases*, 46, s184-s190 (2009).
- [149]. Bogh, C., Pedersen, E. M., Mukoko, D. A. and Ouma, J. H., “Permethrinimpregnated bednet effects on resting and feeding behaviour of lymphatic filariasis vector mosquitoes in Kenya”, *Medical and Veterinary Entomology*, 12, s52-s59 (1998).

- [150]. Lefevre, T., Gouagna, L. C., Dabire, K. R., Elguero, E., Fontenille, D., Renaud, F., Costantini, C. & Thomas, F., “Beyond Nature and Nurture: Phenotypic Plasticity in Blood-Feeding Behavior of *Anopheles gambiae* s.s. When Humans Are Not Readily Accessible”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81, s1023-s1029 (2009).
- [151]. Gillies, M. T. and Furlong, M., “An investigation into the behaviour of *Anopheles parensis* Gillies at Malindi on the Kenya coast”, *Bulletin of Entomological Research*, 55, s1-s16 (1964).
- [152]. Roff, D. A., “Age and size at maturity”, In: Fox, C. W., Roff, D. A., Fairbairn, D. J., eds. “Evolutionary ecology: concepts and case studies”, Oxford: Oxford University Press, 99–112, 2001.
- [153]. Gauthier, C. and Tibayrenc, M., “Population structure of malaria parasites, the driving epidemiological forces”, *Acta Tropica*, 94, s241-s250 (2005).
- [154]. May, R. M. and Anderson, R. M., “Epidemiology and genetics in the coevolution of parasites and hosts”, *Proceedings of the Royal Society of London*, 219, s281-s313 (1983).
- [155]. Monath, T. P, Tsai, T. F., “St. Louis encephalitis, lessons from the last decade”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 3, s40–s59 (1987).
- [156]. Shaman, J., Day, J., “Stieglitz, M., Drought-induced amplification and epidemic transmission of West Nile virus in southern Florida”, *Journal of Medical Entomology*, 2, s134-s141 (2005).
- [157]. Rogers, D. J., Randolph, S. E., “The global spread of malaria in a future”, warmer world, *Science*, 289, s1763–s1766 (2000).
- [158]. Teklehaimanot, H. D., Lipsitch, M., Teklehaimanot A., Schwartz J., “Weather-based prediction of *Plasmodium falciparum* malaria in epidemic-prone regions of Ethiopia I. Patterns of lagged weather effects reflect biological mechanisms”, *Malaria Journal*, 3, 41 (2004).

- [159]. Epstein, P. R. and Defilippo, C., “West Nile virus and drought”, *Global Change & Human Health*, 2, s105-s107 (2001).
- [160]. Molineaux, L. Muir, D. A, Spencer, H. C. and Wernsdorfer, W. H., “The epidemiology of malaria and its measurement. In *Malaria-Principles and practice of malariology*”, (ed. W.H. Wernsdorfer I, McGregor), Churchill Livingstone Edinburgh, 1022-1027 (1988).
- [161]. Lindsay, S. W. and Birley. M. H., “Climate change and malaria transmission”, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 90, s573–s588 (1996).
- [162]. Dutta and Dutt, “Malarial ecology: a global perspective”. *Social Science & Medicine*, 12, s69-s84 (1978).
- [163]. Reisen, W. K., Fang, Y. and Martinez,” V. M., “Effects of Temperature on the Transmission of West Nile Virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae)”, *Journal of Medical Entomology*, 43, s309-s317 (2006).
- [164]. Dohm, D. J., O’Guinn, M. L. and Turell, M. J., “Effect of incubation at environmental temperature on the on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus”, *Journal of Medical Entomology*, 39, s221-s225 (2002).
- [165]. World Health Organization, “Instructions For The Determining The Susceptibility of Resistance of Mosquito Larvae to Insecticides”, Mimeographed document WHO/VBC/75, 583, (1975).
- [166]. Chandler, J. A., Parsons, J., Boreham, P. F. L., Gill, G. S., “Seasonal variations in the proportions of mosquitoes feeding on mammals and birds at a heronry in western Kenya”, *Journal of Medical Entomology*, 14, s233-s240 (1977).
- [167]. Gilles, H. M., Warrell, D. A., “Bruce-Chwatt's essential malariology”, 3rd ed. London, United Kingdom: Edward Arnold, Hodder and Stoughton, 1993.
- [168]. Beier, J. C., Odago, W. O., Onyango, F. K., Asiago, C. M., Koech, D. K. and Roberts, C. R., “Relative abundance and blood feeding behavior of nocturnally active culicine mosquitoes in western Kenya”, *Journal of American Mosquito Control Association*, 6, s207-s212 (1990).

- [171]. Zimmerman, R. H., Galardo, A. K. R., Lounibos, L. P., Arruda, M. and Wirtz, R., “Bloodmeal hosts of *Anopheles* species (Diptera: Culicidae) in a malaria-endemic area of the Brazilian Amazon”, *Journal of Medical Entomology*, 43, s947–s956 (2006).
- [172]. Hess, A. D., Hayes, R. O., Tempelis, C. H., “Use of forage ratio technique in mosquito host preference studies”, *Mosquito News*, 28, s386-s387 (1968).
- [173]. Kay, B. H., Boreham, P. F. L. and Edman, J. D., “Application of the “feeding index” concept to studies of mosquito hostfeeding patterns”, *Mosquito News*, 39, s68-s72 (1979).
- [174]. Loyola, E. G., Gonzalez-Ceron, L., Rodriguez, M. H., Arrendondo-Jimenez J. I., Bennett, S., Bown, D. N., “*Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) host selection patterns in three ecological areas of the coastal plains of Chiapas, southern Mexico”, *Journal of Medical Entomology* 30, s518-s523 (1993).
- [175]. Lardeux, F., Loayza, P., Bouchite, B., Chavez, T., “Host choice and human blood index of *Anopheles pseudopunctipennis* in a village of the Andean valleys of Bolivia”, *Malaria Journal*, 6, s1–s14 (2007).
- [176]. Wekesa, J., Yuval, B., Washino, R. and De Vasquez, A., “Blood feeding patterns of *Anopheles freeborni* and *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae): effects of habitat and host abundance”, *Bulletin of Entomological Research* 87, s633-s641 (1997).
- [177]. Bryant, J. P., Provenza, F. D., Pastor, J., Reichardt, P. B., Clausen, T. P. and Du Toit, J. T., “Interactions between woody plants and browsing mammals mediated by secondary metabolites”, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22, s431-s446 (1991).
- [178]. Fox, L. R., “Defense and dynamics in plant-herbivore systems”, *American Zoologist*, 21, s853-s864, (1981).
- [179]. Edman, J. D., Webber, L. A. and Schmid, A. A., “Effect of host defenses on the feeding pattern of *Culex nigripalpus* when offered a choice of blood sources”, *Journal of Parasitology*, 60, s874-s883 (1974).

secondary metabolites”, Annual Review of Ecology and Systematics, 22, s431-s446 (1991).

[178]. Fox, L. R., “Defense and dynamics in plant-herbivore systems”, American Zoologist, 21, s853-s864, (1981).

[179]. Edman, J. D., Webber, L. A. and Schmid, A. A., “Effect of host defenses on the feeding pattern of *Culex nigripalpus* when offered a choice of blood sources”, Journal of Parasitology, 60, s874-s883 (1974).

[180]. Torr, S. J., Prior, A., Wilson, P. J. and Schofield, S., “Is there safety in numbers? The effect of cattle herding on biting risk from tsetse flies”, Medical and Veterinary Entomology, 21, s301-s311 (2007).

[181]. Weaver, S. C. and Reisen, W. K., “Present and future arboviral threats”, Antiviral Research, 85, s328-s345 (2010).

[182]. Killeen, G. F., Mckenzie, F. E., Foy, B. D., Schieffelin, C., Billingsley, P. F. & Beier, J. C., “A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 62, s535-s544 (2000).

[183]. Waage, J. K. and Nondo, J., “Host behaviour and mosquito feeding success: an experimental study”, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 76, s119-s122 (1982).

[184]. Edman, J. D. and Kale II, H. W., “Host behaviour: Its influence on the feeding success of mosquitoes”, Annals of the Entomological Society of America, 64, s513-s516 (1971).

[185]. Hodgson, J. C., Spielman, A., Komar, N., Krahforst, C. F., Wallace, G. T. and Pollack, R. J., “Interrupted blood-feeding by *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) on European starlings”, Journal of Medical Entomology, 38, s59-s66 (2001).

[186]. Darbro, J. M. and Harrington, L. C., “Avian defensive behavior and bloodfeeding success of the West Nile vector mosquito, *Culex pipiens*”, Behavioral Ecology, 18, 750 (2007).

- [187]. Anderson, R. A. and Ruitberg, B. D., “Modelling trade-offs between mortality and fitness associated with persistent blood feeding by mosquitoes”, *Ecology Letters*, 2, s98-s105 (1999).
- [188]. Hawlena, H., Abramsky, Z., Krasnov, B. R. And Saltz, D., “Host defence versus intraspecific competition in the regulation of infrapopulations of the flea *Xenopsylla conformis* on its rodent host *Meriones crassus*”, *International Journal for Parasitology*, 37, s919-s925 (2007).
- [189]. Bize, P., Jeanneret, C., Klopfenstein, A. and Roulin, A., “What makes a host profitable? Parasites balance host nutritive resources against immunity”, *American Naturalist*, 171, s107-s118 (2008).
- [190]. Khokhlova, I. S., Ghazaryan, L., Krasnov, B. R. and Degen, A. A., “Effects of parasite specificity and previous infestation of hosts on the feeding and reproductive success of rodent-infesting fleas”, *Functional Ecology*, 22, s530-s536 (2008).
- [191]. Davies, C. R., “Interrupted feeding of blood sucking insects: causes and effects”, *Parasitology Today*, 6, s19-s22 (1990).
- [192]. Briegel, H., “Protein catabolism and nitrogen partitioning during oogenesis in the mosquito *Aedes aegypti*”, *Journal of Insect Physiology*, 32, s455-s462 (1986).
- [193]. Edman, J. D. and Lynn, H. C., “Relationship between blood meal volume and ovarian development in *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae)”, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 18, s492-s496 (1975).
- [194]. Lindsay, S. W., Emerson, P. M. and Charlwood, J. D., “Reducing malaria by mosquito-proofing houses”, *Trends in Parasitology*, 18, s510-s514 (2002).
- [195]. Sutcliffe, J. F., “Distance orientation of biting flies to their hosts”, *Insect Science Application Journal*, 8, s611-s616, (1987).
- [196]. Reisen, W. K., Hardy, J. L., Presser, S. B., “Effects of water quality on the vector competence of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) for western equine encephalomyelitis (Togaviridae) and St. Louis Encephalitis (Flaviviridae) viruses”, *Journal of Medical Entomology*, 34, s631-s643 (1997).

- [197]. Meyer, R. P., Reisen, W. K., Eberle, M. E. and Milby, M. M., “The nightly host-seeking rhythms of several culicinea mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the southern San Joaquin Valley of California”, Procedure California Mosquito Vector Control Association, 54, 136 (1986b).
- [198]. Slaff, M. and Crans W. J., “The Host Seeking Activity Of *Culex salinarus* “, Mosquito News, 41, s443-s447 (1981).
- [199]. Carroll, M. K. and Bourg, J. A., “The night-time flight activity and relative abundance of fifteen species of Louisiana mosquitoes”, Mosquito News, 37, s661-s664 (1977).
- [200]. Provost, M. W., “The natural history of *Culex nigripalpus*. In.' St. Louis encephalitis in Florida-ten years of research, surveillance and control programs”, Floid, a State Board of Health Monograph, 12. Jacksonville, FL. 46-62 (1969).
- [201]. Reddy, M. R., Lepore, T. J., Pollack, R. J., Kiszewski, A. E., Spielman, A., Reiter, P., “Early evening questing and oviposition activity by the *Culex* (Diptera: Culicidae) vectors of West Nile virus in northeastern North America”, Journal of Medical Entomology, 44, s211–s214 (2007).
- [202]. Jong, R. de and Knols, B. G. J., “Olfactory responses of hostseeking *Anopheles gambiae* s.s. Giles (Diptera: Culicidae)”, Acta Tropica 59, s333–s335 (1995b).
- [203]. Olanga, E. A., Okal, M. N., Mbadi, P. A., Kokwaro, E. D., Mukabana, W. R., “Attraction of *Anopheles gambiae* to odour baits augmented with heat and moisture”, Malaria Journal, 9-6, (2010).
- [204]. Mboera, L. and Takken, W., “Carbon dioxide chemotropism in mosquitoes (Diptera: Culicidae) and its potential in vector surveillance and management programmes”, Review of Medical Veterinary Entomology, 85, s355-s368 (1997).
- [205]. Guerenstein, P. G. and Hildebrand, J. G., “Roles and effects of environmental carbon dioxide in insect life”, Annual Review of Entomology, 53, s161-s178 (2008).

- [206]. Dekker, T., Geier, M. and Carde, R. T., “Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours”, *Journal of Experimental Biology*, 208, s2963-s2972 (2005).
- [207]. Spitzen, J., Smallegange, R. C. and Takken, W., “Effect of human odours and positioning of CO₂ release point on trap catches of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* sensu stricto in an olfactometer”, *Physiological Entomology*, 33, s116-s122 (2008).
- [208]. Costantini, C., Gibson, G., Sagnon, N. F., Torre, A. D., Brady, J. and Coluzzi, M., “Mosquito responses to carbon dioxide in B West African Sudan savanna village”, *Medical and Veterinary Entomology*, 10, s220-s227 (1996).
- [209]. Kline, D. L., Takken, W., Wood, J. R., Carlson, D. A., “Field studies on the potential of butanone, carbon dioxide, honey extract, 1-octen-3-ol, 1-lactic acid and phenols as attractants for mosquitoes”, *Medical and Veterinary Entomology*, 4, s383-s391 (1990).
- [210]. Takken, W., Kline, D. L., “Carbon dioxide and 1-octen- 3-ol as mosquito attractants”, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5, s311-s316 (1989).
- [211]. Kline, D. L., and Lemire, G. F.,” Field Evaluation Of Heat As An Added Attractant to Traps Baited With Carbon Dioxide and Octenol for *Aedes taeniorhynchus*”, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 11, s454-s456 (1995).
- [212]. Burkett, D. A., Lee, W. J., Lee, K. W., Kim, H. C., Lee, H. I., Lee, J. S., Shin, E. H., Wirtz, R. A., Cho, H. W., Claborn, D. M., Coleman, R. E., Klein, T. A., “Light, carbon dioxide, and octenol-baited mosquito trap and host-seeking activity evaluations for mosquitoes in a malarious area of the Republic of Korea”, *Journal of the American Mosquito Control*, 17, s196–s205 (2001).
- [213]. Hoel, D. F., Kline, D. L., Allan, S. A. and Grant, A.,” Evaluation Of Carbon Dioxide, 1-octen-3-ol, and Lactic Acid As Baits In Mosquito Magnetm Pro Traps For

Aedes albopictus In North Central Florida”, Journal of the American Mosquito Control Association, 23, s11–s17 (2007).

[214]. Russell, R., “The Relative Attractiveness Of Carbon Dioxide And Octenol In Cdc- And Evs-Type Light Traps For Sampling The Mosquitoes *Aedes aegypti* (L.), *Aedes polynesiensis* Marks, And *Culex quinquefasciatus* Say In Moorea, French Polynesia”, Journal of Vector Ecology, 29, s309-s314 (2004).

[215]. Syed, Z. and Leal, W. S., “Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human-and bird-derived attractant”, Proceedings of the National Academy of Sciences 106, s18803-s18808 (2009).

[216]. Galun, R., Hagit, F., Frankenburg, S., “Gorging Response of Culicine Mosquitoes (Diptera: Culicidae) to Blood Fractions”, Journal of Medical Entomology, 30, s513-s517 (1993).

[217]. Golenda, C. F., Klein, T., Coleman, R., Burge, R., Ward, R. A. and Seeley, D. C., “Depletion of total salivary gland protein in blood-fed *Anopheles* mosquitoes”, Journal of Medical Entomology, 32, s300-s305 (1995).

[218]. Clements, A. N., “The Biology of Mosquitoes: Development, Nutrition and Reproduction”, Chapman & Hall, London, 1992.

[219]. Shannon, R. C. and Hadjinicolaou, J., “Egg production of Greek anophelines in nature”, Journal of Economic Entomology, 34, s300-s305 (1941).

[220]. Christophers, S. R., “Structure of the & Zex egg raft in relation to function (Diptera)”, Transactions of the Royal Entomological Society of London, 95, s25-s34 (1945).

[221]. Takken, W., Klowden, M. J., Chambers, G. M., “Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae): the disadvantage of being small”, Journal of Medical Entomology, 35, s639–s645 (1998).

- [222]. Day, J. F., Edman, J. D. and Scott, T. W., “Reproductive fitness and survivorship of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) maintained on blood, with field observations from Thailand”, *Journal of Medical Entomology*, 31, s611–s617 (1994).
- [223]. Woke, P., Ally, M. and Rosenberg, C., “The numbers of eggs developed related to the quantities of human blood ingested in *Aedes aegypti* (L.)”, *Annals of the Entomological Society of America*, 49, s435-s441 (1956).
- [224]. Walker, E. D. and Edman, J. D., “The influence of host defensive behavior on mosquito (Diptera: Culicidae) biting persistence”, *Journal of Medical Entomology*, 22, s370-s372 (1985).
- [225]. Day, J. F. and Edman, J. D., “The importance of disease induced changes in mammalian body temperature to mosquito blood feeding”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77, s447-s452 (1984b).
- [226]. Daniel, T. L. and Kingsolver, J. G., “Feeding strategy and the mechanics of blood sucking in insects”, *Journal of Theoretical Biology*, 105, s661-s672 (1983).
- [227]. Nacher, M., “Charming the mosquito: do malaria symptoms increase the attractiveness of the host for the vector?”, *Medical Hypotheses*, 64, s788-s791 (2005).
- [228]. Lacroix, R., Mukabana, W. R., Gougna, L. C. and Koella, J. C., “Malaria infection increases attractiveness of humans to mosquitoes”, *PloS Biology*, 3, s1590-s1593 (2005).
- [229]. Boreham, P. F. L. and Garrett-Jones, C., “Prevalence of mixed blood meals and double feeding in a malaria vector (*An. sacharovi* Favre)”, *Bull. W.H.O.* 48, s605-s614 (1973).
- [230]. Briegel, H. and Hörler, E., “Multiple blood meals as a reproductive strategy in *Anopheles* (Diptera: Culicidae)”, *Journal of Medical Entomology*, 30, s975-s985 (1993).
- [231]. Xue, R. D., Barnard, D. R., Ali, A., “Influence of Multiple Blood Meals on Gonotrophic Dissociation and Fecundity in *Aedes albopictus*”, *Journal of the American Mosquito Control Association* 25, s504-s507 (2009).

- [232]. Hawkey, C. M., Bennett, P. M., Gascoyne, S. C., Hart, M. G. and Kirkwood, J. K., “Erythrocyte size, number and haemoglobin content in vertebrates”, *British Journal of Haematology*, 77, s392-s397 (1991).
- [233]. Coluzzi, M., Concetti, A. and Ascoli, F., “Effect of cibarial armature of mosquitoes (Diptera, Culicidae) on blood-meal haemolysis”, *Journal of Insect Physiology*, 28, s885-s888 (1982).
- [234]. Washino, R. K., Tempelis, C. H., “Mosquito host bloodmeal identification: methodology and data analysis”, *Annual Review of Entomology*, 28, s179–s201 (1983).
- [235]. Ngo, K. A., Kramer, L. D., “Identification of mosquito bloodmeals using polymerase chain reaction (PCR) with orderspecific primers”, *Journal of Medical Entomology*, 40, s215–s222 (2003).
- [236]. Sato, T., Watanabe, T. and Otsuka, R., “Effect of layer charge, charge location, and energy change on expansion properties of dioctahedral montmorillonites”, *Clays and Clay Minerals*, 40, s103-s113 (1992).
- [237]. Tesh, R., Chen W. R. and Catuccio, D., “Survival of albumin, IgG, IsM, and complement (C3) in human blood after ingestion by *Aedes albopictus* and *Phlebotomus papatasi*”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39, s127-s130 (1988).
- [238]. Lee, J. H., Hassan, H., Hill, G., Cupp, E. W., Higazi, T. B., Mitchell, C. J., Godsey, M. S., Jr. Unnasch T. R., “Identification of mosquito avian-derived blood meals by polymerase chain reaction heteroduplex analysis”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66, s599–s604 (2002).
- [239]. Oshaghi, M. A., Taghilo, B., Moradi, M. T. and Vatandoost. H., “Detection of the *Anopheles culicifacies* complex, species A and B in Baluchistan using mtDNA PCR-RFLP assay; the first report of species B from Iran”, *Hakim*, (in Persian), 7, s35-s42 (2004).
- [240]. Savage, H. M., Niebylski, M. L., Smith, G. C., Mitchell, C. J., Craig Jr., G. B., “Hostfeeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) at a temperate North American site”, *Journal of Medical Entomology*, 30, s27–s34 (1993).

- [241]. Niebylski, M. L., Savage, H. M., Nasci, R. S., Craig, G. B. Jr., “Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States”, *Journal of American Mosquito Control Association*, 10, s447–s450 (1994).
- [242]. Tempelis, C. H., Galindo, P., “Host-feeding patterns of *Culex (Melanoconion)* and *Culex (Aedinus)* mosquitoes collected in Panama”, *Journal of Medical Entomology*, 12, s205–s209 (1975).
- [243]. Beier, J. C., Perkins, P. V., Wirtz, R. A., Koros, J., Diggs, D., Gargan II T. P. and Koech, D. K., “Blood meal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya”, *Journal of Medical Entomology*, 25, s9–s16 (1988).
- [244]. Gomes, L. A. M., Duarte, R., Lima, D. C., Diniz, B. S., Serrão, M. L., Labarthe, N., “Comparison between precipitin and ELISA tests in the bloodmeal detection of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes fluviatilis* (Lutz) mosquitoes experimentally fed on feline, canine, and human hosts”, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96, s693–s695 (2001).
- [245]. Gomez, B., Sanchez, E., Feliciangeli, M. D., “Man-vector contact of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in north-central Venezuela as assessed by blood meal identification using dot-ELISA”, *Journal of American Mosquito Control Association*, 14, s28–s32 (1998).
- [246]. Svobodova, M., Sadlova, J., Chang, K. P., Volf, P., “Short report: distribution and feeding preference of the sand flies *Phlebotomus sergenti* and *P. papatasi* in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68, s6–s9 (2003).
- [247]. Blackwell, A., Mordue, A. J., Mordue, W., “Identification of bloodmeals of the Scottish biting midge, *Culicoides impunctatus*, by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)”, *Medical and Veterinary Entomology*, 8, s20–s24 (1994).
- [248]. Kent, R. J., “Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-borne disease studies”, *Molecular Ecology Resource*, 9, s4–s18 (2009).

- [249]. van den Hurk, A. F., Smith, I. L., Smith, G. A., “Development and evaluation of real-time polymerase chain reaction assays to identify mosquito (Diptera: Culicidae) blood meals originating from native Australian mammals”, *Journal of Medical Entomology*, 44, s85–s92 (2007).
- [250]. Kent R. J. and Norris D. E., “Identification Of Mammalian Blood Meals In Mosquitoes By a Multiplexed Polymerase Chain Reaction Targeting Cytochrome b”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73, s336–s342 (2005).
- [251]. Boake, D. A., Tang, J., Truc, P., Merriweather, A., Unnasch, T. R., “Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis”, *Medical and Veterinary Entomology*, 13, s282–s287 (1999).
- [252]. Apperson, C. S., Harrison, B. A., Unnasch, T. R., Hassan, H. K., Irby, W. S., Savage, H. M., Aspen, S. E., Watson, D.W., Rueda, L. M., Engber, B. R. and Nasci, R. S., “Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes”, *Journal of Medical Entomology*, 39, s777-s785 (2002).
- [253]. Cupp, E. W., Tennessen, K. J., Oldland, W. K., Hassan, H. K., Hill, G. E., Katholi, C. R., Unnasch, T. R., “Mosquito and arbovirus activity during 1997–2002 in a wetland in northeastern Mississippi”, *Journal of Medical Entomology*, 41, s495–s501 (2004a).
- [254]. Hassan, H. K., Cupp, E. W., Hill, G. E., Katholi, C. R., Klingler, K., Unnasch, T. R., “Avian host preference by vectors of eastern equine encephalomyelitis virus”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69, s641–s647 (2003).
- [255]. Meece, J. K., Reynolds, C. E., Stockwell, P. J., Jenson, T. A., Christensen, J. E., Reed, K. D., “Identification of mosquito bloodmeal source by terminal restriction fragment length polymorphism profile analysis of the cytochrome b gene”, *Journal of Medical Entomology*, 42, s657–s667 (2005).
- [256]. Kirstein, F., Gray, J. S., “A molecular marker for the identification of the zoonotic reservoirs of Lyme borreliosis by analysis of the blood meal in its European

vector *Ixodes ricinus*”, Applied and Environmental Microbiology, 62, s4060–s4065 (1996).

[257]. Steuber, S., Abdel-Rady, A., Clausen, P. H., “PCR-RFLP analysis: a promising technique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae)”, Parasitology Research, 97, s247–s254 (2005).

[259]. Oshaghi, M. A., Chavshin, A. R., Vatandoost, H., Yaaghoobi, F., Mohtarami, F., Noorjah, N., “Effects of post-ingestion and physical condition on PCR amplification of host blood meal DNA in mosquitoes”, Experimental Parasitology, 112, s232–s236 (2006).

[260]. Coulson, R. M. R., Curtis, C. F., Ready, P. D., Hill, N. and Smith, D. F., “Amplification and analysis of human DNA present in mosquito bloodmeals”, Medical and Veterinary Entomology, 4, s357-s366 (1990).

[261]. Chow-Shaffer, E. C., Sina, B., Hawley, W. A., Benedictis, J. D., Scott, T. W. , “Laboratory and field evaluation of polymerase chain reaction-based DNA profiling for use in identification of human blood meal sources of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)”, Journal of Medical Entomology, 37, s492–s502 (2000).

[262]. De Benedictis, J., Chow-Shaffer, E., Costero, A., Clark, G. G., Edman, J. D., Scott, T. W., “Identification of the people from whom engorged *Aedes aegypti* took blood meals in Florida, Puerto Rico, using polymerase chain reaction-based DNA profiling”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 68, s437–s446 (2003).

[263]. Michael, E., Ramaiah, K. D., Hoti, S. L., Barker, G., Paul, M. R., Yuvaraj, J., Das, P. K., Grenfell, B. T., Bundy, D. A. P., “Quantifying mosquito biting patterns on humans by DNA fingerprinting of bloodmeals”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 65, s722–s728 (2001).

[264]. Humair, P. F., V. Douet, F., Mora'n Cadenas, L., Schouls, I., Van De Pol, and Gern, L., “Molecular identification of blood meal source in *Ixodes ricinus* ticks using 12S rDNA as a genetic marker”, Journal of Medical Entomology, 44, s869-s880 (2007).

- [265]. Gubbels, J. M., DE Vos, A. P., VAn DER Weide, M., Viseras, J., Schouls, L. M., De Vries, E. and Jongejan, F., “Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization”, *Journal of Clinical Microbiology*, 37, s1782-s1789 (1999).
- [266]. Georges, K., Loria, G. R., Riili, S., Greco, A., Caracappa, S., Jongejan, F. and Sparagano, O., “Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridization with a note on the distribution of ticks in Sicily”, *Veterinary Parasitology*, 99, s273-s286 (2001).
- [267]. T. C. Iğdır Valiliği, e-posta: igdir@icicleri.gov.tr
- [268]. T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü
- [269]. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., “Molecular Cloning – A Laboratory Manual, 2nd Edition”, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, (1989).
- [270]. Abbasi, I., Cunio, R. ve Warburg, A., “Identification of blood meals imbibed by phlebotomine sand flies using cytochrome *b* PCR and reverse line blotting”, *Vector-Borne Zoonotic Diseases* (doi:10.1089/vbz.2008.0064), (2008).
- [271]. Scott, M.C., Harmon, J.R., Tsao, J.I., Jones, C.J. ve Hickling, G.J., “Reverse line blot probe design and polymerase chain reaction optimization for bloodmeal analysis of ticks from the eastern United States”, *Journal of Medical Entomology*, 49, s697-s709 (2012).
- [272]. Aysul, N., “İstanbul İli Köpeklerinde Bulunan *Babesia* Türlerinin Teşhisinde Mikroskopik ve PCR-RLB Bulgularının Karşılaştırılması”, Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (2006).
- [273]. World Health Organization, “Manual on practical entomology in malaria, Part II, Methods and Techniques”, WHO Offset Publications, 13, Geneva.
- [274]. Schaffner, E., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.P., Rhaiem, A., Brunhes, J., “The Mosquitoes of Europe (CD-Rom)”, Institut de Recherche Pour le Développement, Montpellier, France, 2001.

- [275]. Hunter, F. F. and Bayly, R., “ELISA for identification of blood meal source in black flies (Diptera, Simuliidae)”, *Journal of Medical Entomology*, 28, s527–s532 (1991).
- [276]. Clausen, P. H., Wiemann, A., Patzelt, R., Kakaire, D., Poetzsch, C., Peregrine, A. and Mehlitz, D., “Use of a PCR assay for the specific and sensitive detection of *Trypanosoma* spp. in naturally infected dairy cattle in peri-urban Kampala, Uganda”, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 849, s21-s31 (1998).
- [278]. Mukabana, W. R., Takken, W. and Knols, B. G., “Analysis of arthropod blood meals using molecular genetic markers”, *Trends Parasitology*, 18, s505-s509 (2002).
- [279]. Pichon, B., Egan, D., Rogers, M. and Gray, J. S., “Detection and identification of pathogens and host DNA in unfed host-seeking *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae)”, *Journal of Medical Entomology*, 40, s723-s731 (2003).
- [280]. Pichon, B., Rogers, M., Egan, D. and Gray, J. S., “Bloodmeal analysis for the identification of reservoir hosts of tick-borne pathogens in Ireland”, *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 5, s172-s180 (2005).
- [281]. Pichon, B., Kahl, O., Hammer, B. And Gray, J. S., “Pathogens and host DNA in *Ixodes ricinus* nymphal ticks from a German forest”, *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 6, s 382-s387 (2006).
- [282]. Estrada-Pefia, A., Osicar, J. J., Pichon, B. and Gray, J. S., “Host and pathogen detection for immature stages of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in north-central Spain”, *Experimental and Applied Acarology*, 37, s257-s268 (2005).
- [283]. Cadenas, F. M., Rais, O., Humair, P. F., Douet, V., Moret, J. and Gern, L., “Identification of host bloodmeal source and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in field-collected *Ixodes ricinus* ticks in Chaumont (Switzerland)”, *Journal of Medical Entomology*, 44, s1109-s1117 (2007a).
- [284]. Cadenas, F. M., Rais, O., Jouda, F., Douet, V., Humair, P. F., Moret, J. and Gern, L., “Phenology of *Ixodes ricinus* and infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato

along a north- and south-facing altitudinal gradient on Chaumont Mountain, Switzerland”, *Journal of Medical Entomology*, 44, s683-s693 (2007b).

[285]. Garlapati, R. B., Abbasi, I., Warburg, A., Poche´ D. and Poche´ R., “Identification of Bloodmeals in Wild Caught Blood Fed *Phlebotomus argentipes* (Diptera: Psychodidae) Using Cytochrome b PCR and Reverse Line Blotting in Bihar, India”, *Journal of Medical Entomology*, 49, s515-s521 (2012).

[286]. Aldemir, A., Demirci, B., Kirpik, M. A., Alten, B. and Baysal, A., “Species composition and seasonal dynamics of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in Iğdir Plain, Turkey”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, s103–s110 (2009).

[287]. Aldemir, A., Bedir, H., Demirci, B., Alten, B., “Biting Activity of Mosquito Species (Diptera: Culicidae) in the Turkey-Armenia Border Area, Ararat Valley, Turkey”, *Journal of Medical Entomology*, 47, s22-s27 (2010).

[288]. Nelson, R. L., Tempelis, C. H., Reeves, W. C., Milby, M. M., “Relation of mosquito density to bird: mammal feeding ratios of *Culex tarsalis* in stable traps”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25, s644–s654 (1976).

[289]. Anufrieva, V. N., “Ecology of malaria vectors in the countries of the European region. Malaria vectors and activities on their control: Materials of the meeting of the WHO European region countries, confronted by resurgence of malaria”, *Almaty, Kazakhstan*, May 3-5, s28-s37 (2001).

[290]. Diekmann, O. & Heesterbeek, J. A. P., “Mathematical Epidemiology of Infectious Diseases: Model Building, Analysis and Interpretation”, John Wiley and Sons, New York, 2000.

[291]. Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C. & Kaiser, A., “Mosquitoes and Their Control”, Springer, Heidelberg, Dordrecht, New York, s577, 2010.

[292]. Silver, J.B., “Mosquito Ecology: Field Sampling Methods”, 3rd ed. The Netherlands, Springer, s- 1477, 2008.

- [293]. Alten, B. ve Çağlar, S. S., “ Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi”, T. C. Sağlık Bakanlığı, Sıtma Savaş Daire Bakanlığı, Ankara, 1998.
- [294]. Kasap, M., “Ankara Çevresinde Culicidae (Diptera) Familyasına Bağlı Önemli Türlerin Ekolojisi Üzerine Çalışmalar”, Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 137 s. (1979).
- [295]. Sergiev, V. P., Baranova, A. M, Orlov, V. S., Mihajlov, L. G., Kouzletsov, R. L., Neujmin, N. I., Arsenieva, L. P., Shahova, M. A, Glagolova, L. A. and Osipova, M. M., “Importatioo of malaria into the USSR from Afghanistan, 1981-89”, Bulletin of the World Health Organization 71, s385-s388 (1993).
- [296]. Vatandoost, H., Abdoljabari Boonab, R., Abai M. R., Oshaghi, M. A., Rassi, Y., Gholizadeh, S., Mashhadi-Esmail, K., Kousah, A., Haghi, M., Gorghani, M., Aliakbarie-Sharabiani, B., Seif Farshid, M., Piazak, N., “Entomological survey in Kalibar, a resurgent malaria focus in East-Azerbaijan, Iran”, Pakistan Journal of Biological Scienses, 8, s1466-s1471 (2005).
- [297]. Irby, W. S., Apperson, C. S., “Hosts of mosquitoes in the Coastal Plain of North Carolina”, Journal of Medical Entomology, 25, s85-s93 (1988).
- [298]. Subbarao, S. K., “Anopheline species complexes in South-East Asia”, WHO Tec Pub, 18, s82 (1998).
- [299]. Burkot, T. R., “Non-random host selection by anopheline mosquitoes”, Parasitology Today, 4, s156-s162 (1988).
- [300]. Garrett-Jones, C., “Prognosis for interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito’s vectorial capacity”, Nature, 204, s1173–s1175 (1964b).
- [301]. Gabinaud, A., “Écologie de deux Aedes halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes* (Ochlerotatus) *caspius* (Pallas, 1771) *Aedes* (Ochlerotatus) *detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera-Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l’établissement d’une carte écologique”, Application en dynamique des populations, Ph. D. dissertation, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, s.465, (1975).

- [302]. Aldemir, A., “Ankara-Gölbaşı’nda Sivrisineklere Karşı Entegre Mücadele”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 188 s. 2003.
- [303]. Merdivenci, A., “Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda Varlığı Bilinen Sivrisineklerin Biyo-Morfolojisi, Biyo-Ekolojisi, Yayılışı ve Sağlık Önemleri), İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Yayın No: 3215-3136, İstanbul, 1984.
- [304]. Gargan, T. P., 2nd, Bailey, C. L., Higbee, G. A., Gad, A., El Said, S., “The effect of laboratory colonization on the vector pathogen interactions of Egyptian *Culex pipiens* and Rift Valley fever virus”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 32, s1154–s1163 (1983).
- [305]. Turell, M. J., Presley, S. M., Gad, A. M., Cope, S. E., Dohm, D. J., Morrill, J. C., Arthur, R. R., “Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley fever virus”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 54, s136–s139 (1996).
- [306]. Gad, A. M., Feinsod, F. M., Soliman, B. A., El Said, B., “Survival estimates for adult *Culex pipiens* in the Nile Delta”, Acta Tropica, 46, s173-s179 (1989).
- [307]. Moutailler, S., Krida, G., Schaffner, F., Vazeille, M. and Failloux, A. B., “Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean region”, Vector Borne and Zoonotic Diseases, 8, s749-s753 (2008).
- [308]. Beier, J. C., Zimmerman, J. H., Kenawy, M. A., El Said, S. and Abbassy, M. M., “Host-feeding Patterns, Of The Mosquito Community (Diptera: Culicidae) In Two Faiyum Governorate Villages, Egypt”, Journal of Medical Entomology, 23, s34-s40 (1987).
- [309]. Roubaud E. and Colas-Belcour, J., “Nouvelles recherches sur l’évolution expérimentale de *Dirofilaria immitis* chez quelques culicidés indigènes”, Bulletin de la Société Pathologie Exotique, 30, s480-s484 (1937).
- [310]. Hannoun, C., Panthier, R. and Corniou, B., “Isolation of Tahyna virus in the South of France”, Acta Virology, 10, s362–s364 (1966).
- [311]. Akhter, R., Hayes, C. G., Baqar, S. and Reisen, W. K., “West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other

species of mosquitoes”, Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene, 76, s449-s453 (1982).

[312]. Tempelis, C. H., Reeves, W. C., Bellamy, R. E. and Lofy, M. F. “A three-year study of the feeding habits of *Culex tarsalis* in Kern County, California”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 14, s170-s177 (1965).

[313]. Wright, R. E. & DeFoliart, G. R., “Associations of Wisconsin mosquitoes and woodland vertebrate hosts”, Annals of the Entomological Society of America 63, s777-s786 (1970).

[314]. Cupp, E. W. and Stokes, G. M., “Identification of bloodmeals from mosquitoes collected in light traps and dog-baited traps”, Mosquito News, 33, s39-s41 (1973).

[315]. Magnarelli, L. A., “Host feeding patterns of Connecticut mosquitoes (Diptera: Culicidae)”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 26, s547-s552 (1977a).

[316]. Magnarelli, L. A., “Physiological age of mosquitoes (Diptera: Culicidae) and observations on partial bloodfeeding”, Journal of Medical Entomology, 13, s445-s450 (1977b).

[317]. Ritchie, S. R. and Rowley, W. A., “Blood-feeding patterns of Iowa mosquitoes”, Mosquito News, 41, s271-s272 (1981).

[318]. Burkot, T. R. and DeFoliart, G. R., “Bloodmeal sources of *Aedes triseriatus* and *Aedes vexans* in a southern Wisconsin forest endemic for La Crosse encephalitis virus”, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 31, s376-s381 (1982).

[319]. Nasci, R. S., “Variations in the bloodfeeding patterns of *Aedes vexans* and *Aedes trivittatus* (Diptera: Culicidae)”, *Journal of Medical Entomology*, 21, s95-s99 (1984).

[320]. Apperson, C. S., Hassan, H. K., Harrison, B. A., Savage, H. M., Aspen, S. E., Farajollahi, A., Crans, W., Daniels, T. J., Falco, R. C., Benedict, M., Anderson, M., McMillen, L., Unnasch, T. R., “Host Feeding Patterns of Established and Potential Mosquito Vectors of West Nile Virus in the Eastern United States”, *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 4, s71-s82 (2004).

- [321]. Gingrich, J. B. and Williams, G. M., “Host-feeding patterns of suspected West Nile virus mosquito vectors in Delaware, 2001–2002”, *Journal of American Mosquito Control Association* 21, s194–s200 (2005).
- [322]. Turell, M. J., Dohm, D. J., Sardelis, M. R., O’Guinn, M. L., Andreadis, T. G., Blow, J. A., “An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus”, *Journal of Medical Entomology*, 42, s57–s63 (2005).
- [323]. Tempelis, C. H., Francy, D. B., Hayes, R. O., Lofy, M. F., “Variations in feeding patterns of seven Culicine mosquitoes on vertebrate hosts in Weld and Larimer Counties, Colorado”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16, s111–s119 (1967).
- [324]. Suyemoto, W., Schiefer, B. A. and Eldridge, B. F., “Precipitin tests of blood-fed mosquitoes collected during the VEE surveillance survey in the southern United States in 1971”, *MosquitoNews*, 33, s392-396 (1973).
- [325]. Turell, M. J., O’Guinn, M. L., Dohm, D. J., Jones, J. W., “Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus”, *Journal of Medical Entomology*, 38, s130–s134 (2001).
- [326]. Cupp, E. W., Zhang, D., Yue, X., Cupp, M. S., Guyer, C., Sprenger, T. R. and Unnasch, T. R., “Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an Eastern Equine Encephalomyelitis virus focus in central Alabama”, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71, s272-s276 (2004).
- [327]. Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Campbell, S. R., Alleyne, E. O., Dobson, A. P., Daszak, P., “West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm”, *Emerg Infectious Diseases* 11, s425–s429 (2005).
- [328]. DiMenna, M. A., Bueno, R Jr, Parmenter, R. R., Norris, D. E., Sheyka, J. M., Molina, J. L., LaBeau, E. M., Hatton, E. S., Glass, G. E., “Emergence of West Nile virus in mosquito (Diptera:Culicidae) communities of the New Mexico Rio Grande Valley”, *Journal of Medical Entomology*, 43, s594–s599 (2006).

- [329]. Blitvich, B. J., “Transmission dynamics and changing epidemiology of West Nile virus”, *Animal Health Research Review*, 9, s71–s86 (2008).
- [330]. Goddard, L. B., Roth, A. E., Reisen, W. K., Scott, T. W., “Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus”, *Emerging Infectious Diseases*, 8, s1385–s1391 (2002).
- [331]. Montgomery, M. J., Thiemann, T., Macedo, P., Brown, D. A., Scott, T. W., “Blood-feeding patterns of the *Culex pipiens* complex in Sacramento and Yolo Counties, California”, *Journal of Medical Entomology*, 48, s398–s404 (2011).
- [332]. Martin, K., “Breeding density and reproductive success of robins in relation to habitat structure on logged areas of Vancouver Island”, *British Columbia [M.S. thesis]*, University of Alberta, Edmonton, Canada, 89 s., 1973.
- [333]. Hutto, R. L., “The composition of bird communities following stand-replacement fires in northern Rocky Mountain conifer forests”, *Conservation Biology* 9, s1–s19 (1995).
- [334]. Savage, H. M., Aggarwal, D., Apperson, C. S., Katholi, C. R., Gordon, E., Hassan, H. K., Anderson, M., Charnetzky, D., McMillen, L., Unnasch, E. A., Unnasch, T. R., “Host choice and West Nile virus infection rates in blood-fed mosquitoes, including members of the *Culex pipiens* complex, from Memphis and Shelby County, Tennessee, 2002–2003”, *Journal of Vector-Borne Zoonotic Diseases*, 7, s365–s386 (2007).
- [335]. Zinser, M., Ramberg, F. and Willot, E., “*Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a potential West Nile virus vector in Tucson, Arizona: blood meal analysis indicates feeding on both humans and birds”, *Journal of Insect Science*, 4, s20–s22 (2004).
- [336]. Demirci, B., Lee, Y., Lanzora, G. C. and Alten, B., “Altitudinal genetic and morphometric variation among populations of *Culex theileri* Theobald (Diptera: Culicidae) from northeastern Turkey”, *Journal of Vector Ecology*, 37, s197–s209, (2012).

- [337]. Alcaide, M., Rico, C., Ruiz, S., Soriguer, R., Muñoz, J. and Figuerola, J., “Disentangling vector-borne transmission networks: a universal DNA barcoding method to identify vertebrate hosts from arthropod bloodmeals”, *PLoS ONE*, 4, e7092 (2009).
- [338]. Muñoz, J., Ruiz, S., Soriguer, R., Alcaide, M., Viana, D. S., Roiz, D., Vazquez, A., Figuerola, J., “Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south–west Spain”, *PLoS One*, 7, s395-s349 (2012).
- [339]. Osorio, J., Ciuoderis, K., Lopera, J., Piedrahita, L., Murphy, D., Levasseur, J., Carrillo, L., Ocampo, M. C., Hofmeister, E., “Characterization of West Nile Viruses isolated from captive American flamingoes (*Phoenicopterus ruber*) in Medellin, Colombia”, *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 87, s565–s572, (2012).
- [340]. Jupp, P. G., McIntosh, B. M. and Nevill, E. M., “A survey of the mosquito and Culicoides faunas at two localities in the Karoo region of South Africa with some observations of bionomics Onderstepoort”, *Journal of Veterinary Research*, 47, s1-s6 (1980).
- [341]. Service, M. W., “Observations on the ecology of some British mosquitoes”, *Bulletin of Entomological Research*, 59, s161–s194 (1969).
- [342]. Taylor, L. H., Latham, S. M., Woolhouse, M. E. J., " Risk factors for human disease emergence", *Philosophical transactions of the royal society biological sciences*, 356,s983-s989 (2001).
- [343]. Keesing, F., Holt, R. D., Ostfeld, R. S.," Effects of species diversity on disease risk", *Ecology Letters*, 9, s485–s498, (2006).

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hilal BEDİR

Doğum Yeri : ERZURUM/Şenkaya

Doğum Yılı : 1983

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : Nene Hatun Kız Lisesi

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Bilim Uzmanlığı : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim

Dalı

Yabancı Dil : İngilizce