

**T.C.**  
**RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE BULUNAN *Anopheles*  
TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ ve *Anopheles maculipennis*  
KOMPLEKS TÜRLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK  
TANIMLANMASI**

**ELİF ÖZTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI**  
**YRD. DOÇ. DR. M. MUSTAFA AKINER**

**TEZ JÜRİLERİ**  
**DOÇ. DR. MAHMUT KABALAK**  
**YRD. DOÇ. DR. FATİH Ş. BERİŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

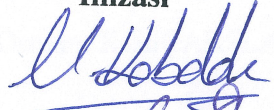
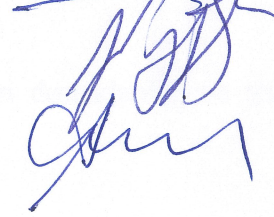

**RİZE-2016**

**Her Hakkı Saklıdır**

T.C.  
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE BULUNAN *Anopheles*  
TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ ve *Anopheles maculipennis* KOMPLEKS  
TÜRLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK TANIMLANMASI**

Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER danışmanlığında, Elif ÖZTÜRK tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 04/01/2016 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan :	Doç. Dr. Mahmut KABALAK	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER	



Prof. Dr. Selami ŞAŞMAZ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

## ÖNSÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında hazırlanan bu çalışma ile özellikle insan sağlığını tehdit eden vektörlerden biri olan *Anopheles maculipennis* tür kompleksinin moleküler tür tayininin yapılması ve yapılacak araştırmalara destek sağlanması amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans öğrenciliğim ve tez çalışmam sürecinde benden desteğini esirgemeyen, her seferinde bana ilham veren ve çalışma azmimi artıran çok değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmalarında yanımda olan arkadaşım Ercan ÖZTEMİR ve Gülbeyaz AKINER'e de teşekkür ederim.

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca beni destekleyen ve her zaman daha iyisini yapabileceğime beni inandıran saygıdeğer babam Atilla ÖZTÜRK ve annem Azize ÖZTÜRK'e, abim Murat ÖZTÜRK, kardeşim İsmail ÖZTÜRK, hem ablam hem meslektaşım olan Esra ÖZTÜRK'e ve hayat arkadaşım Osman KILIÇARSLAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca değerli jüri üyesi hocalarıma bana verdikleri desteklerden ve tezime katkılarından ötürü çok teşekkür ederim.

Hazırlanan bu yüksek lisans tezinde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenen 2012.102.03.8 nolu projenin olanaklarından faydalanılmıştır.

Elif ÖZTÜRK

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde bulunan *Anopheles* türlerinin belirlenmesi ve *Anopheles maculipennis* kompleks türlerinin moleküler olarak tanımlanması” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 04/ 01/ 2016

Elif ÖZTÜRK

**Uyarı:** *Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

## ÖZET

### ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE BULUNAN *Anopheles* TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ ve *Anopheles maculipennis* KOMPLEKS TÜRLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK TANIMLANMASI

Elif ÖZTÜRK

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Ana Bilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER

Yapılan bu tez çalışmasında Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde bulunan *Anopheles* türlerinin belirlenmesi ve sıtma gibi çeşitli arbovirusların taşıyıcısı konumunda olan *Anopheles maculipennis* tür kompleksinin moleküler olarak tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Sinop ilinden Gürcistan sınırına kadar 27 noktadan örnekleme yapılmıştır. *Anopheles maculipennis* tür kompleksi üyelerinin belirlenmesi amacıyla rDNA'da bulunan ITS2 bölgesi farklılıklarına dayanan yöntemle değerlendirme yapılmıştır. Yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonucunda örnekleme yapılan 26 bölgede *Anopheles maculipennis* s.s. türünün var olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin DNA dizi analizi sonucunda elde edilen diziler karşılaştırıldığında örneklerin genbank HQ878024 numaralı örnekle yüksek oranda örtüştüğü gözlenmiştir. Dizilenen bölge aşırı polimorfik bulunmuş ve tür içi en yüksek baz farklılık değerinin %0,03 (Artvin Borçka Güreşen) olduğu görülmüştür.

2016, 42 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Orta ve Doğu Karadeniz, *Anopheles maculipennis* tür kompleksi, moleküler tür teşhisi, ITS2

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF THE *Anopheles* SPECIES and MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE *Anopheles maculipennis* complex SPECIES IN THE MIDDLE and EASTERN BLACKSEA REGION

Elif ÖZTÜRK

Recep Tayyip Erdoğan University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master Thesis  
Supervisor: Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER

The aim of this thesis to determine the species of *Anopheles* that take place in the Middle and Eastern Black Sea Region and identify the species of *Anopheles maculipennis* species complex molecularly which is in the vector position of malaria and various arboviruses. For this reason, the sampling has been done in 27 certain point from the city of Sinop to Georgia. Evaluating has been done according to method of differences of ITS2 rDNA region. As a result of polymerase chain reaction, it is identified that the species of *Anopheles maculipennis* s.s. is in existence in the 26 certain point where the sampling is done. It is observed that the samples coincide with the sample of genbank HQ878024 after the comparing the obtained sequence results. It is found out that the sequencing region is so polytomic and the rate of base differences in the species is %0,03 (Artvin Borçka Güreşen).

2016, 42 Pages

**Keywords:** Middle and Eastern Blacksea, *Anopheles maculipennis* complex, Molecular Identification of Species, ITS2

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET .....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Sivrisinekler .....	3
1.2.1. Sivrisineklerin sınıflandırılması .....	3
1.2.2. Sivrisineklerin sağlık açısından önemi.....	4
1.2.3. <i>Anopheles</i> (Meigen, 1818) cinsi sivrisineklerin önemi .....	5
1.2.4. <i>Anopheles</i> cinsi sivrisineklerin biyolojik ve ekolojik özellikleri .....	6
1.2.4.1 Yumurta evresi .....	6
1.2.4.2 Larva evresi .....	6
1.2.4.3 Pupa evresi .....	7
1.2.4.4 Ergin evresi .....	7
1.3. <i>Anopheles maculipennis</i> Tür Kompleksi (Van Thiel, 1927).....	9
1.3.1. <i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksinin sağlık önemi .....	9
1.3.2. <i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksinin sistematigi .....	10
1.3.3. <i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksi üzerine klasik sistematik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalar.....	11
1.3.4. Moleküler yöntemler sonrası sistematik araştırmalar .....	11

1.3.5.	<i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksinin ülkemizdeki durumu .....	12
1.3.6.	<i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksinin biyolojik ve ekolojik özellikleri .	13
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	16
2.1.	Alan Çalışmaları.....	16
2.1.1.	Yumurta, larva ve pupa örneklerinin toplanması .....	16
2.1.2.	Ergin örneklerinin toplanması .....	16
2.2.	Sivrisinek Örneklemesi ve Örneklerin Laboratuvara Getirilmesi.....	16
2.3.	Laboratuvar Çalışmaları .....	17
2.3.1.	Klasik sistematik yöntemlerle tür teşhislerinin yapılması.....	17
2.3.2.	<i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksi örneklerinden DNA izolasyonu.....	17
2.3.3.	<i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksinin moleküler olarak teşhis edilmesi.	18
2.3.4.	PZR sonucunda elde edilen örneklerin DNA dizi analizlerinin yapılması ....	19
3.	BULGULAR .....	20
3.1	Alan Çalışmalarında Elde Edilen Bulgular .....	20
3.2	Moleküler Bulgular .....	20
3.3	Dizileme Verilerinin Değerlendirilmesi.....	24
4.	TARTIŞMA ve SONUÇ .....	31
5.	ÖNERİLER .....	34
	KAYNAKLAR .....	35
	ÖZGEÇMİŞ .....	42



## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** Sinop ve Samsun örnekleri ITS2 gen bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..... 21
- Şekil 2.** Çorum ve Ordu örnekleri ITS2 gen bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..... 22
- Şekil 3.** Giresun ve Trabzon örnekleri ITS2 gen bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..... 22
- Şekil 4.** Rize ve Artvin bölgesi örnekleri ITS2 gen bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..... 23
- Şekil 5.** Artvin bölgesi örnekleri ITS2 gen bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..... 23
- Şekil 6.** Örneklem yapılan bölgelerden elde edilen örneklerin ITS2 gen bölgesi dizilerinin hizalanması sonucu çizilen dendogram (Dış grupsuz). ..... 28
- Şekil 7.** Örneklem yapılan bölgelerden elde edilen örneklerin ITS2 gen bölgesi dizilerinin hizalanması sonucu çizilen dendogram (Dış gruplu). ..... 29

## TABLULAR DİZİNİ

- Tablo 1.** Örneklem noktaları ve noktalara göre tespit edilen *Anopheles* türleri veya kompleks türleri..... 20
- Tablo 2.** Örneklem noktalarından toplanan örneklerin Gen Bankası örnekleri ile eşleştirilmiş ITS2 dizileri ..... 25

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
<b>°C</b>	Santigrat
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>ACE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>ITS</b>	Internal transcribed spacer
<b>COI</b>	Sitokrom Oksidaz I geni
<b>mtDNA</b>	Mitokondriyal DNA
<b>rpm</b>	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı)
<b>RNAz</b>	Ribonükleaz
<b>UV</b>	Ultraviyole ışınları
<b>rDNA</b>	Ribozomal DNA
<b>dNTP</b>	Nükleozit trifosfat
<b>Taq</b>	<i>Thermus aquaticus</i> bakterisinden elde edilen DNA polimeraz enzimi
<b>U</b>	Unit (Enzim Birimi)
<b>pmol</b>	Pikomol
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>mM</b>	Milimolar
<b>ml</b>	Mililitre
<b>sn</b>	Saniye
<b>bç</b>	Baz çifti
<b>s.s.</b>	Subspecies (alttür)
<b>An.</b>	Anopheles

# 1. GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Dünya genelinde çok çeşitli kontrol çalışmaları ve başarıları olmasına rağmen günümüzde Arthropod (Eklembacaklılar) vektörler aracılığı ile taşınan parazit hastalıkları nedeni ile her yıl milyonlarca insan enfekte olup hayatını kaybetmektedir (WHO, 1995). Hem dünyada hem de ülkemizde çok sayıda ölüme neden olan en önemli vektörlerden biri olan sivrisinekler canlılar âleminin en büyük grubu olan Arthropoda'nın Insecta (böcekler) sınıfında yer almaktadır. Bu sivrisineklerin dişileri hayatta kalma ve üreme amacı ile amfibiler, sürüngenler, kuşlar ve memeliler gibi canlıları da içine alan çok geniş canlı gruplarından kan emebilir (WHO, 2004). Kan emmeleri sırasında pek çok hastalık etkenini taşımaları nedeni ile insan gruplarını etkileyerek ciddi sağlık problemlerine hatta ölümlere bile neden olmaktadır. Sivrisineklerin bilinen 4000'e yakın türünden 200 kadarının vektörlük potansiyeline sahip olup Sıtma, Batı Nil humması, Sarıhumma, Rift Vadisi ateşi, St. Louis ensefaliti, Japon ensefaliti, Dengue humması ve Filariasis gibi hastalıklarının vektörlüğünü yaptığı bilinmektedir (Gratz, 1999; Reinert, 2001; Becker, 2003; Takken ve Knols, 2007). Sivrisinekler yüksek bir biyolojik potansiyele sahiptir. Bu biyolojik potansiyellerini sağlayan etmenler; hızlı üremeleri, hızlı uçuşa kabiliyetleri, ergin ve larva döneminde farklı habitatlarda bulunup larva evresinde geniş bir hoşgörüyeye sahip olmalarıdır.

Türkiye'nin sıtma ile mücadelesi 1930'lara dayanırken 1950'lerde yürütülen program neticesinde pek çok bölgede sıtma sorun olmaktan çıkmış, Dünya Sağlık Örgütü raporlarına göre ise sıtma bulaşmasına rastlanmadığı belirtilmiştir (WHO, 2011). Mücadelenin gevşetildiği dönemlerde vaka sayıları (1970 sonrası ve 1990 sonrası yıllar) tekrardan 100000 ve üzeri rakamlara ulaşmasına rağmen, 2010 yılında otonom vaka kaydı gözlenmeyen ülkemizde daha sonraki dönemde ise sadece bir bölgede otonom vakalar (Mardin) gözlenmiş, diğer vakalar ise transport sıtma şeklinde kayda girmiştir. Son yıllarda hepsi yurtdışı kaynaklı 300'ü geçmeyen vaka sayıları ile sıtma elimine edilmiş gözükmektedir. Ancak 2013 yılında gözlenen yurt dışı kökenli 285 vakadan 3 tanesinde ölüm meydana gelmiştir (WHO, 2014).

Sıtma önemini hala korumaya devam ederken, Afrika ya da Asya kıtalarından köken alan arbovirüs enfeksiyonları önce Avrupa, Amerika gibi kıtalarda gözlenmeye başlanmış (Danis vd., 2011), 2010 ve 2011 yıllarında ise ülkemizde Batı Nil virüsünün neden olduğu vakalara rastlanmıştır (Kalaycıoğlu vd., 2012).

Hâlihazırda önemini koruyan sıtma ve son dönemlerde rastlanan çeşitli arboviral enfeksiyonlar, hem ülkemizin coğrafî konumu hem de turizm ve ticari faaliyetlerden kaynaklanan hareketliliğinden dolayı, yeni vektör sivrisinek türlerinin ve patojen organizmaların (özellikle de arbovirusların) ülkemize girmeye devam edeceğini göstermektedir. Ayrıca son dönemde coğrafyamızda yaşanan iç karışıklar nedeni ile ülkemize göçmen akınının artması da diğer bir risk faktörünü oluşturmaktadır. İklim değişikliklerinden dolayı hem vektör sivrisineklerin hem de patojen organizmaların dağılımına bağlı olarak riskli alanların sayısı ve yüzölçümü de artmaktadır. Uzun yıllardır birçok ülkede bilinçsizce kullanılan insektisitlere karşı vektör sivrisineklerin ve tedavi ilaçlarına karşı da patojen organizmaların direnç kazanması durumun daha ciddi problemlere neden olabileceğini göstermektedir.

Ülkemizde *Anopheles (An.) maculipennis* tür kompleksi (van Thiel, 1927) ile ilgili yürütölen çalışmalar genellikle mücadele temelli olup ne sistematik anlamdaki durumları ne de zoocoğrafik dağılım temelinde yayılım alanları ve kesin vektör türlerin tespitini içermemektedir. Çeşitli araçlarla yürütölen mücadele sadece vektörlerin sayısının azalmasını sağladığından hastalıkların epidemiyolojisini anlamada ve yayılımının önlenmesinde etkili olmamaktadır. Sivrisinek türlerinin sistematik konumlarının, zoocoğrafik ve biyo-ekolojik özelliklerinin belirlenmesi, mücadelede anahtar konumda olan tür teşhisleri ve etkili mücadele geliştirilmesi açısından önemlidir (Beebe ve Cooper, 2000).

Hem ülkemizde hem de Palearktîk coğrafyada *An. maculipennis* tür kompleksi için yapılan moleküler çalışmalar içerisinde 1999 yılından beri yaygın olarak kullanılan belirteçler rDNA'da bulunan ITS2 gen bölgesi ve mtDNA üzerinde bulunan COI bölgeleridir. Bu gen dizileri ile *Anopheles maculipennis* tür kompleksi içerisinde yer alan türlerin kendi içlerinde ve türler arasında birbirlerine olan genetik uzaklıklarının belirlenmesi çalışmalarında etkin sonuçlar vermektedir (Porter ve Collins, 1991).

Yukarıda değinilen durumlar da göz önüne alındığında bu tez çalışmasının amacı; ülkemizin önemli kavşak noktalarından biri olan ve Karadeniz sahil hattının büyük bölümünü oluşturan Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde dağılım gösteren *An. maculipennis* tür kompleksinin tanımlanması ve hangi türlerin alanda dağılım gösterdiğinin belirlenerek risk durumunu ortaya koyacak verilerin elde edilmesi olarak belirlenmiştir. Bu amaç doğrultusunda klasik taksonomi yoluyla tanımlamaları yapılamayan kompleks üyelerinin moleküler yöntemlerle tanımlanması ve alandaki dağılım profillerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 1.2. Sivrisinekler

Sivrisinekler taşıdıkları hastalıklar nedeniyle tüm dünyada entomoloji çalışmalarının merkezinde yer almaktadır. Dünya nüfusunun yarısından fazlası sivrisinek kökenli hastalık tehdidi altında olup bunlardan en önemlileri sıtma, sarıhumma, filariasis ve ensefalitistir. Sivrisinekler yüksek adaptasyon kabiliyetleri nedeniyle çok başarılı organizmalar olarak kabul edilirler. Dünya üzerinde ekstrem iklim koşullarına sahip çöl ve sürekli donmuş alanlar hariç her alanda bulunabilirler. Larvaları geçici ve kalıcı su toplulukları, aşırı kirlenmiş sular, akıcı ve durgun sular, çok küçük su birikintisi, hayvan ayak izinde biriken su gibi pek çok alanda bulunabilir. Erginleri ise konak seçimi, ısırma, göç özellikleri ve üreme stratejileri gibi çok çeşitli özelliklere sahiptirler (Akıner, 2009).

### 1.2.1. Sivrisineklerin Sınıflandırılmaları

Sivrisinekler, Diptera takımının Nematocera alt takımında yer alan Culicidae familyasının üyeleri olup, günümüzde 113 cinse bağlı 4000'e yakın tür ile temsil edilmektedirler (Harbach, 2007; Service, 2012).

En son veriler ışığında Culicidae familyası Anophelinae ve Culicinae olmak üzere iki alt familyadan oluşmaktadır (Harbach and Kitching 1998). Anophelinae, *Anopheles* (Meigen, 1818) ve *Chagasia* (Lutz, 1904) cinslerinden, Culicinae ise *Aedes* (Meigen, 1818), *Aedeomyia* (Theobald, 1901), *Uranotaenia* (Arribáizaga, 1891), *Toxorhynchites* (Theobald, 1901), *Culiseta* (Felt, 1904), *Culex* (Linnaeus, 1758),

*Mansonia* (Blanchard, 1901), *Coquillettidia* (Dyar,1905), *Orthopodomyia* (Theobald, 1904), *Ochlerotatus* (Lynch Arribálzaga, 1891) ve diğer bir çok cinsten oluşmaktadı (Merdivenci, 1984; Harbach ve Kitching, 1998; Becker vd., 2003).

Henüz kesinleştirilememiş sonuçlara rağmen son yapılan çalışmalar ışığında ülkemizde 8 cinse ait 64 sivrisinek türü bulunduğu belirtilmiştir (Günay, 2015). Dünya genelinde 2004 yılı itibariyle 444 tür ile tür komplekslerine ait henüz isimlendirilememiş 40 türü içeren *Anopheles* cinsi ülkemizde 10 tür ile temsil edilmektedir (Ramsdale vd., 2000; şimşek vd., 2011; Günay, 2015).

### **1.2.2. Sivrisineklerin Sağlık Açısından nemi**

Kan emme davranışları ve bu davranışları sonucunda taşıdıkları hastalıklar nedeniyle sivrisinekler, kan emen böcekler arasında sağlık ve ekonomik yönden en önemli yeri işgal ederler (şahin, 1984).

Günümüzde bilinen 182 arbovirüs (eklembacaklılar aracılığı ile bulaştırılan virüsler) enfeksiyonundan 147'sine sivrisinekler vektörlük yapmaktadır (Ramsdale ve Snow, 1995). İnsanlar ve diğer omurgalı hayvanlara sivrisinekler ile taşınan en önemli virüsler Togaviridae, Flaviviridae ve Bunyaviridae olmak üzere üç familyada bulunmaktadır. Sindbis virüs, Sarıhumma virüsü, Dengue 1-4 virüsleri, Japon ensefalit virüsü ve Batı Nil virüsü bu familyalarda bulunan ve çok sıklıkla sorunlara neden olan virüslerden bazılarıdır. Dağılım açısından bakıldığında kutup dairesi ve çöller ile bir kaç ada hariç dünyanın her yerinde bulunabilen sivrisinekler, deniz seviyesinin 1250 metre altından 3500 metre ykseklige kadar yayılım gösterebilirler (Service, 2012). Vektörel öneme sahip türler *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Psorophora* (Robineau-Desvoidy, 1827), *Mansonia*, *Haemagogus* (Williston, 1896) ve *Sabethes* (Robineau-Desvoidy, 1827) cinslerine dâhil olan türlerdir. *Anopheles* türleri sıtma, *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), *Brugia malayi* (S.L. Brug, 1927) ve *Brugia timori* (Partono et al. 1977) gibi filariasislerin ve bazı arbovirslerin vektrdrleri (Service, 2012). Aynı zamanda *Culex* türleri çeşitli arbovirus, Batı Nil virüsü ve *Wuchereria bancrofti*'nin; *Aedes* ve *Ochlerotatus* türleri Sarıhumma, Dengue, Batı Nil Hummasına ek olarak çok dar ve kısıtlı bir alanda *Wuchereria bancrofti* ve *Brugia malayi*'nin

vektörü olabilmektedirler. *Mansonia* türleri *Brugia malayi* ve bazen *Wuchereria bancrofti* ile bir kaç arbovirüsün, *Haemagogus* ve *Sabethes* türleri ise Orta ve Güney Amerika'da sarıhumma ve birkaç diğer arbovirüsün vektörüdür. Bu son iki cinsin aksine *Psorophora* türleri Kuzey ve Güney Amerika'da çeşitli arbovirüslerin vektörü konumundadır (Becker vd., 2003).

### 1.2.3. *Anopheles* Cinsi Sivrisineklerin Önemi

*Anopheles* cinsi sivrisinekler alacakaranlık ve gececil davranış sergilerler. Kan emme ve yumurtlama aktiviteleri genellikle akşamüzeri, gece ya da sabah erken saatlerde gerçekleştirirler. Bazı türler eksofajik davranış gösterirken (*An. albimanus*; Wiedemann, 1820 ) bazıları ise endofajik davranış gösterir ve ev içinde sokma davranışı gösterir (*An. gambiae* kompleks; Giles, 1902). Pek çok *Anopheles* ise türü ne eksofajik ne endofajik ne eksofilik ne endofilik özellik gösterir ve genellikle bunların karışımından oluşan ekstrem davranışlar sergileyebilirler. Aynı şekilde bazı *Anopheles* türleri yaygın olarak insan ya da hayvandan beslenmeyip genellikle iki konağı birden tercih ederler (Becker vd., 2003; Service, 2012). *Anopheles* cinsi sivrisineklerin en büyük önemi insanda sıtmaya neden olan dört *Plasmodium* (Marchiafava ve Celli, 188) 5 türüne kesin konaklık yapmaları ve sokma aktiviteleri ile sıtma etmenini ara konak olan insana bulaştırmalarıdır.

Avrupa, Kuzey Afrika ve Orta Doğu coğrafyasında en önemli vektör türler *An. atroparvus* (Van Thiel 1972), *An. labranchiae* (Falleroni, 1926), *An. pharoensis* (Giles, 1899), *An. sacharovi* (Favre 1903), *An. sergentii* (Theobald 1907), *An. stephensi* (Liston 1901), *An. superpictus* (Grassi 1899) olarak bilinmektedir. Bu türlerden üç tanesi *An. maculipennis* komplekse ait olup bunlar; *An. atroparvus*, *An. labranchiae*, *An. sacharovi*'dir. Bu üç türün haricinde *An. messeae* (Falleroni 1926) ve *An. maculipennis* s.s.(Meigen, 1818)'nin kümes hayvancılığının ve çiftlik hayvancılığının çok az yapıldığı alanlarda ve yüksek yoğunlukta bulunmaları durumunda sıtma bulaştırılmasından sorumlu olabilecekleri belirtilmektedir (Becker vd., 2003).

Bazı *Anopheles* türleri *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* ve *Brugia timori*'nin taşıyıcılığını yapmaktadır. Ancak bu türler ülkemizde bulunmamaktadır. Bu



türler arasında *An. arabiensis* (Patton, 1905), *An. funestus* (Giles 1900), *An. gambiae*, *An. albimanus*, *An. sinensis* (Wiedemann 1828), *An. subpictus* (Grassi, 1899) gibi tropikal Amerika, Sahara Afrika ve Hindistan gibi ülkelerde dağılım gösteren türler bulunmaktadır. Aynı şekilde *Anopheles* türlerinin 20 kadar arbovirusun taşıyıcılığını yaptıkları da belirtilmektedir (Service, 2012).

#### **1.2.4. *Anopheles* Cinsi Sivrisineklerin Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri**

Genel olarak sivrisineklerin hayat döngüleri yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evreden oluşur. Bu evrelerden üç tanesini suda, ergin evresini ise karada geçirirler (Merdivenci, 1984; Snow, 1990).

##### **1.2.4.1. Yumurta Evresi**

Yumurta gelişiminin sağlanması için kan emmeye gereksinim duyan *Anopheles* türleri iklimsel değişikliklerden yüksek oranda etkilenirler. İklimsel faktörler, emilen kanın sindirilmesi, yumurtanın geliştirilmesi, ovipozisyon süreleri üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bir seferde 200-400 yumurta bırakabilen *Anopheles* türleri kayık şeklinde olan yumurtalarını tek tek bırakırlar ve yumurtalar su yüzeyinde kümelenip dantele benzer şekiller oluşturabilirler. Yumurta açılımı tropikal ülkelerde en geç 2-3 günde gerçekleşirken daha soğuk alanlarda 2-3 haftayı alan sürelerde yumurta açılımı olur ve bu süre tamamen sıcaklığa bağlıdır (Service, 2012).

##### **1.2.4.2. Larva Evresi**

Su yüzeyi ile yeterli oranda temas eden yumurtadan koşulların uygunluğuna göre değişen sürelerde larvalar çıkar. Larva baş kısmında bulunan kesiciler yardımıyla yumurtanın alt yüzeyini kesip çıkar (Merdivenci, 1984; Alten ve Çağlar, 1998). Larva evresi 3 gömlek değiştirme ve 4 evreden oluşur. Larvanın başında ve vücudunda çok sayıda almaç ve denge işlevi gören seta bulunur. Larvaların solunumunu sağlayan sifonlarının bulunmaması nedeniyle su yüzeyine paralel durarak stigmalar yardımıyla solunum yaparlar (Snow, 1990; Service, 2012). Bu özellikleri *Anopheles* cinsine ait larvalar *Culex* ve *Aedes* cinsi sivrisineklerin larvalarından kolayca ayırt edilmesine

yardımcı olur. Larvalar hemen su yüzeyinden beslenirler ve besin partiküllerinin filtre edilmesi yoluyla beslenirler. Yosun, bakteri, protozoa, mantar sporları genel diyetlerinde yer alsa da, diğer sivrisineklerin larvalarını ve gömlek değiştirme esnasında attıkları gömlekleri besin olarak alabilirler (Service, 2012).

Larva döneminin süresi su sıcaklığına, iklimsel koşullara, fiziko kimyasal özelliklere, besine ve pH'ya bağlılık gösterir. İdeal larva gelişim sıcaklığı 25 °C civarındadır ve 15 °C'de 40-45 günde, 25 °C'de 15 günde ve 30 °C'de 12 günde gelişim gösterirler. Her çeşit larval alanda bulunsalar da oksijeni bol, temiz ve sığ sularda bol bulunurlar (Snow, 1990; Alten ve Çağlar, 1998).

#### **1.2.4.3. Pupa Evresi**

Tüm sivrisinek pupaları sucul olup virgül şeklindedir. Baş ve gövde birleşerek cephalotorax şeklini almıştır. Başı üzerinde solunum organı olarak görev yapan bir çift boru bulunur (Respiratory trumpets). Karın (Abdomen) on segmentli olmasına karşın sadece 8 tanesi görülebilir. Pupa beslenmez ve sadece başkalaşımın geçirildiği evredir. Pupa evresi sıcaklık koşuluna göre 2-3 günden 9-12 güne kadar uzayabilir. Pupa dönemi cephalotoraxın dorsal yüzeyinin pupal derinin yarılması ile ergin çıkışıyla son bulur.

#### **1.2.4.4. Ergin Evresi**

Pupadan çıkan ergin korunmasız ve güçlü rüzgârlardan etkilenebilir durumdadır. Pupadan çıkıştan belli bir süre sonra yumuşak olan kutikula sertleşmeye başlar ve ergin uçabilecek duruma gelir. Ergin erkekler eşeyssel olarak tam olgunluğa bir iki gün içerisinde ulaşır ve genellikle bir kuşağa ait erkek bireyler dişi bireylerden önce pupadan çıkarlar. Dişiler ise pupadan çıkar çıkmaz eşeyssel olgunluğa ulaştıkları için eşleşme, beslenme ve yumurtlama için hazır durumdadırlar. Ergin erkekler kümeler şeklinde uçuş gerçekleştirirler ve dişi bireyler swarm olarak isimlendirilen bu kümenin içine girdiğinde çiftleşme gerçekleşir. Çiftleşme dişi ve erkek uçarken yüz yüze şekilde gerçekleşir. Eşleşme yarım dakika kadar sürer ve spermatazodan spermatekaya sperm transferi ile biter. Dişiler spermi depoladıktan sonra yeterli oranda sperm

bulundukları için bir daha çiftleşmez. Bunun aksine erkekler birdefadan daha çok çiftleşme gerçekleştirebilirler. Eşleşme kümesi olarak bilinen Swarmin zamanı ve yeri türden türe değişiklik gösterir. Tüm türler bu tip bir eşleşmeye (Eurygamy) ihtiyaç duymayıp çiftleşebilirler (Stenogamy). Eşleşme davranışından sonra dişiler kan emebileceği konak aramaya başlar.

Koku, görünüm ve sıcaklık konağın saptanmasında önemli uyarıcılardır. Dişiler konak kokularını saptayabilmek için pek çok alıcıya sahiptir. En önemli koku uyarıcıları karbon dioksit, laktik asit, octenol, aseton, butanone ve fenolik bileşiklerdir. Konağını bulan ve onun üzerine konan dişi birey deriyi yoklayarak en uygun alanı ve kılcıl damarı bulup deriyi deldikten sonra kan emmeye başlar. Kanın pıhtılaşmasını önlemek için bir sıvı salgılar ve beslenmesinin sonuna kadar antikoagulant içeren bu sıvı salınımı devam eder. Bu sıvının salınması konağın immun sisteminde reaksiyona neden olduğu için o bölgede yangı hissedilmeye başlar. Kan emme davranışı bittikten sonra dişi sivrisinek bunu sindirebilecek uygun alan bulur ve bu alanda bunu sindirirken aynı zamanda yumurta üretmeye başlar. Kan emme davranışını takip eden 2-4 gün içerisinde sindirim tamamlanmış ve yumurta üretimi gerçekleşmiştir. Bu durumda olan dişi yumurtlayacağı uygun alan bulmak üzere tekrardan açık alana çıkar ve yumurtlama aktivitesini gerçekleştirerek döngüsünü tamamlar. Ergin erkek bireyler çiftleşme davranışından kısa bir süre sonra ölürken, dişi bireyler bir kaç kez yumurtlama gerçekleştirebilir ve ömür uzunlukları erkeklere göre yüksektir. İlk yumurtlama işlemi takip eden süreçte dişi tekrardan uygun konak aramaya başlar ve sorun bu aşamadan sonra başlar. İlk konağından potansiyel paraziti almış olan dişi bunu ikinci ve üçüncü kan emme davranışı esnasında diğer konaklarına bulaştırarak hastalık etmeninin yayılmasına yol açar. Sivrisinekler beslenme ve dinlenme alışkanlıklarına göre gruplandırılırlar. Eğer içeride besleniyorsa endofajik, dışarıda besleniyorsa eksofajik olarak isimlendirilir. Beslenmeden sonra eğer içeride dinleniyorsa endofil, eğer dışarıda dinleniyorsa eksofil olarak isimlendirilir. Eğer kuştan besleniyorsa ornitofilik, hayvanlardan besleniyorsa zoofilik, insandan besleniyorsa antropofilik olarak isimlendirilirler.

### 1.3. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksi

Ülkemizde tanımlanan *Anopheles* cinsine ait 10 türden üç tanesi *An. maculipennis* tür kompleksi içerisinde yer almakta olup, bu türler Türkiye'nin de bulunduğu Doğu Akdeniz havzasında en önemli sıtma vektörleri arasında yer alan *An. sacharovi* ve *An. maculipennis s.s.*, ve *An. melanoon* (Hackett, 1934) olarak belirtilmektedir (Şimşek vd., 2011).

#### 1.3.1. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksinin Sağlık Önemi

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de vektöriyel kökenli hastalıklar (özellikle sıtma) tüm kontrol çalışmalarına rağmen önemli sağlık sorunlarından biridir. Her ne kadar Avrupa kıtasında sıtma hastalığı 20. Yüzyıl ortalarına kadar rastlanan endemik durumdan çıksa da halen dış kaynaklı sıtma vakaları görülmektedir (Becker vd., 2003). Sivrisineklerin vektörlükleriyle oluşturdukları tehdidin en önemli kısmı ise *Anopheles* cinsine bağlı özellikle ülkemizde de yer alan *An. sacharovi*, *An. maculipennis s.s.* ve *An. melanoon* gibi bazı sivrisinek türlerinin bazı *Plasmodium* türlerine vektörlük yapımlarıyla ortaya çıkmaktadır (Martens ve Hall, 2000). Ülkemizde ise, vaka sayıları geçmiş yıllara göre çok azalmış olmakla birlikte, özellikle en önemli sıtma vektörlerinden biri olan *An. sacharovi*'nin geniş bir dağılıma sahip olduğu Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde endemizim devam etmektedir.

Türkiye'de Batı Nil Virüsünün varlığı bilinmesine karşın ilk olarak 2010 yılında tanımlanmış, hastalık neticesinde 11 vatandaşımızın ölümüne neden olduğu belirtilmiştir (Kireççi vd., 2011; Tapısız vd., 2011). Batı Nil Ensefaliti etkeninin Avrupa'da *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* ve *Mansonia* cinsi sivrisineklerde *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) ve *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) türü kenelerde bulunduğu tespit edilmiştir (WHO, 2004).

Ülkemizde birçoğu vektörel hastalıklara kaynaklık eden bu komplekslere ait türleri ve dağılımlarını bilmediğimiz sürece hem kontrol hem de mücadele çalışmalarından yeterli verim alınamayacaktır. Çünkü bu türler simpatrik türler olsalar

da, beslenme davranışları, sıtma parazitlerine karşı duyarlılıkları ve buna bağlı olarak da vektör kapasiteleri oldukça farklılık göstermektedir (Jetten ve Takken, 1994).

### 1.3.2. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksinin Sistematığı

*An. maculipennis* tür kompleksi, Culicidae familyasının Anophelinae alt familyasının içinde yer alan *Anopheles* cinsinde bulunmaktadır. İlk olarak 1927 yılında van Thiel tarafından tanımlanan ilk sivrisinek tür kompleksidir. Dünya genelinde 16 türü bulunan kompleksin 5 üyesi Nearktik'de (*An. aztecus* Hoffmann, 1936; *An. earlei* Vargas, 1943; *An. freeborni* Aitken, 1939; *An. hermsi* Barr ve Guptavanij, 1989; *An. occidentalis* Dyar ve Knap, 1906) ve diğer 11 tanesi de Palearktik'de (*An. artemievi* Gordeev, Zvantsov, Goryacheva, Shaikovich ve Yezhov, 2005; *An. atroparvus*; *An. beklemishevi* Stegnii ve Kabanova, 1976; *An. daciae* Linton, Nicolescu ve Harbach, 2004; *An. labranchiae*; *An. maculipennis* s.s.; *An. martinius* Shingarev, 1926; *An. melanoon*; *An. messeae*; *An. persiensis* Linton, Sedaghat & Harbach, 2003 ve *An. sacharovi*) yer almaktadır (Kampen, 2005; Linton vd., 2007).

*An. maculipennis* tür kompleksinin kendi içerisinde gösterdiği farklılıklar (özellikle yumurta, larva, pupa ve ergin morfolojileri ile biyolojik, ekolojik ve davranışsal) sınıflandırma birimlerinde daha farklı kavramların da (popülasyon, ırk, varyasyon, alt tür vb.) kullanılmaya başlanmasını gerekli kılmıştır (Hackett ve Lewis, 1935; Hackett, 1937; Bates, 1940).

Hızla gelişen teknikler ve çalışmalar sonucunda tespit edilen farklı özelliklerin aynı ve farklı zoocoğrafik bölgelerde aşırı polimorfik olması pek çok sorunu beraberinde getirmiş ve araştırmacıların farklı karakterleri kullanmaya başlaması yeni yöntemlerin ortaya çıkışına yol açmıştır.

Yumurta morfolojisindeki farklılıklar (Falleroni, 1926; Corradetti, 1934;), melezleme deneyleri (De Buck vd., 1934), ekolojik araştırmalar (Hackett ve Missiroli, 1935), larva, pupa ya da ergin morfolojisine ait karakterler (Diemer, 1935; Bates, 1939; Boccolini vd., 1986; Suzzoni-Blatger vd., 1990) ve DNA karşılaştırmaları (Frizzi,

1952,1953; White, 1978) sistematik problemlerin çözümünde uzun yıllar kullanılmış ve ayırımı yardımcı olmuştur.

Ancak bu yöntemlerin günümüzde yeterli olmadığı ve alt tür olarak verilen türlerin aslında yeni türler olduğu yeni yöntemlerle ortaya çıkmıştır. Günümüzde yaygın bir kullanım alanına sahip moleküler sistematik yöntemlerin sivrisineklerin sınıflandırılmasında da kullanılmaya başlanması ile klasik yöntemler (allozimler, politen kromozom yapıları, yumurta morfolojisi vb.) artık sadece moleküler ayırım sonucunda kısmi anlamda destekleyici yöntemler olarak kullanılmaktadır (Sevgili, 2009).

### **1.3.3. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksi Üzerine Klasik Sistematik Yöntemler Kullanılarak Yapılan Çalışmalar**

Sivrisineklerin sistematigi çalışmaları 1920'li yıllardan itibaren uzun bir süre daha çok yumurta, larva ve erginlerin morfolojik farklılıklarına dayanarak yapılmıştır. 1927 yılında Van Theil'in *An. maculipennis* tür kompleksini tanımlamasından sonra yumurta morfolojisi temeline dayanan farklılıklar hibritleme çalışmaları, politen kromozomlardaki farklılıklar temeline dayanan ayrımlar yapılmıştır. Ancak bu yöntemlerin her biri varyasyon düzeylerinin yüksek olması ve tanımlamada barındırdıkları pek çok sıkıntı nedeniyle günümüzde kullanılamaz duruma gelmiştir.

### **1.3.4. Moleküler Yöntemler Sonrası Sistematik Araştırmalar**

Moleküler yöntemlerin araştırmalarda kullanılmaya başlanması ile böcekler üzerinde sistematik çalışmalar artırılmıştır. Özellikle 1990'lı yıllarda PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniklerinin gelişmesi ve farklı DNA bölgelerinin taksonlarda farklılık göstermesi bu yöntemin önem kazanmasına neden olmuştur (Kumar ve Rai, 1993; Hwang ve Kim, 1999). Örneğin DNA üzerinde bulunan ACE2 (Asetilkolinesteraz 2) bölgesi *Culex* türleri için ITS (Internal transcribed spacer) ve COI (Sitokrom Oksidaz I geni) bölgelerinin hem *Culex* hem *Anopheles* türleri için ve tür komplekslerinde bulunan benzer türler için kullanılabilir alanlar içermektedir (Dehghan vd., 2013).

En önemli vektör türleri içinde barındıran *An. maculipennis* tür kompleksinin hem Nearktik Bölge türlerine (Porter ve Collins, 1991) hem de Palearktik Bölge türlerine (Marinucci vd., 1999) yönelik moleküler sistematik araştırmalar 1990'lı yıllardan itibaren hızlanmıştır. Palearktikte Marinucci ve arkadaşları komplekse ait 7 türü (*An. atroparvus*, *An. labbranchiae*, *An. maculipennis*, *An. messeae*, *An. melanoon*, *An. sacharovi* ve *An. martinius*) (Marinucci vd., 1999) ve Proft ve arkadaşları komplekse ait 6 türü (*An. atroparvus*, *An. labbranchiae*, *An. maculipennis*, *An. messeae*, *An. melanoon* ve *An. sacharovi*) ITS2 gen bölgesini kullanarak filogenetik ilişkilerini ortaya koymuşlardır (Proft vd., 1999). ITS2'nin yanında mtDNA'da bulunan COI bölgesi de kompleks türlerin ayırımında kullanılmıştır (Linton vd., 2001).

Yeni moleküler teknikler *An. maculipennis* tür kompleksinin sistematığıne yönelik kompleks içerisinde önemli sistematik değişikliklere neden olmuştur. Daha önceleri yumurta morfolojisine göre tanımlanmış olan *An. subalpinus* türü ITS2 dizileri bakımından *An. melanoon* ile karşılaştırıldığında, diziler arasındaki farkın sadece % 0,46 olduğu belirlenmiş ve buna bağlı olarak da *An. subalpinus* olarak tanımlanan türün *An. melanoon* türünün sinonimi olduğuna karar verilmiştir (Linton vd., 2002). 2003 yılında Boccolini ve arkadaşlarının ITS2 dışında COI dizi analizi ile yaptığı çalışmalarla bu sonuç desteklenmiştir (Boccolini vd., 2003).

*An. beklemishevi* ile yapılan ilk moleküler çalışmalarla Palearktik coğrafyada yer alan bu türün, Nearktik Bölge'deki türlere daha yakın olduğu görülmüştür (Gordeev vd., 2004; Kampen, 2005).

Yeni çalışmalar ile birlikte *An. maculipennis* tür kompleksi içerisinde üç yeni tür de moleküler olarak tanımlanmıştır; *An. persiensis*, *An. daciae*, *An. artemievi*.

### **1.3.5. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksinin Ülkemizdeki Durumu**

Parrish ilk olarak 1959 yılında yaptığı çalışmasında ülkemizde geniş bir alana yayılan, *An. maculipennis* tür kompleksine ait *An. maculipennis s.s.*, *An. maculipennis melanoon* ve *An. maculipennis messeae* olarak bir tür, iki de alttürün varlığını belirtmiştir.

1970 yılında Postiglione ve arkadaşları ülkemizde *An. maculipennis s.s.*, *An. messeae*, *An. melanoon* ve *An. subalpinus* (Hackett ve Lewis, 1935)'un ülkemizde bulunduğunu bildirmiştir (Postiglione vd., 1970).

1973 yılında yaptığı çalışma sonucunda da Postiglione ve arkadaşları Türkiye'de kaydı daha önce bilinen *An. messeae* ve *An. melanoon* türlerinin hatalı olduğunu bildirmiş ve daha önce *An. elutus* (Martini,1930) olarak anılan *An. sacharovi*'nin varlığını desteklemiştir. Türkiye'nin özellikle Kuzey, Kuzeybatı, Orta ve Doğu Anadolu bölgeleri olmak üzere *An. maculipennis s.s.* türü yaygın olarak bulunmakta, *An. sacharovi* ise karakteristik olarak Göller Bölgesi ve Orta Anadolu'nun güneyleri ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yayılış göstermektedir. *An. subalpinus*'un da *An. melanoon*'un alt türü olarak Göller Bölgesi, Marmara ve Orta Karadeniz bölgesinde sınırlı alanlarda bulunduğu belirtilmiştir. Ergin dişi, larva ve yumurta morfolojilerinin kullanıldığı bu sistematik çalışmada komplekse ait taksonlardan *An. melanon* ve *An. subalpinus* türleri için henüz bir çözüm bulunamamıştır (Postiglione vd., 1973).

Ülkemizde de, *Anopheles* cinsine ait bir çok kompleks ve türün sistematik konumunun ve türlerin coğrafik dağılımlarının belirlenebilmesi için ITS2 bölgesi 2010'lu yıllarda kullanılmaya başlanmıştır (Akiner ve Çağlar, 2010; Şimşek vd., 2011; Öter ve Tüzer, 2014). Çalışmalarda tanımlanan türler ülkemiz için sadece 3 türün varlığını göstermiş ve bunlar *An. maculipennis s.s.*, *An. sacharovi* ve *An. melanoon* olarak betimlenmiştir. 2015 yılında hazırlanan bir doktora tez çalışmasında ise COI bölgesi kullanılarak *An. messeae* türünün varlığı da bir noktada saptanmıştır (Günay, 2015).

### **1.3.6. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksinin Biyolojik Ve Ekolojik Özellikleri**

*An. artemievi*: *An. artemievi* dağlık alanların alçak bölgelerinde yer alır. Durgun su birikintilerini, bataklıkları veya çakıllı derelerin iyi ısınan yataklarını yumurta bırakmak için tercih eder (WHO, 2008).



*An. atroparvus*: Vejetasyonu düşük mineralli sulara ve kısmen acı soğuk sulara yumurta bırakır. Akışkan ve temiz sulara bulunur. Ortam uygunluğu durumunda *An. messeae* ve *An. maculipennis* s.s türlerinden daha hızlı aktifleşir (Hackett ve Missiroli, 1935; Cambournac vd., 1938). Zoofil eğilimli olsa da popülasyon seviyesi arttıkça önemli parazit taşıyıcılarından biri olabilir. Riga (Letonya)-Astrakhan (Rusya) hattının batısında yayılış alanına sahiptir (WHO, 2005).

*An. beklemishevi*: Daha çok soğuk iklimi seven ve 60° Kuzey enleminin güney sınırında tayga ormanları ve yüksek ovalarda dağılım gösteren bir türdür (Ramsdale ve Snow, 2000). Yumurtalarını durgun ve soğuk sulara bırakır. Zooantropofil eğilimli olup insan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir (White, 1978).

*An. labranchiae*: Yumurtalarını tuzlu sulara bırakabilirler. Diyapoz da olsalar bile hava sıcaklığı yükseldiğinde kışın da yumurta bırakabilmektedir (Kettle ve Sellick, 1947).

*An. maculipennis* s.s: Soğuk iklime adaptasyonundan dolayı komplekse ismini veren türdür. 0 metreden 2300 m'ye kadar çıkabilirler (Postiglione vd., 1973). Soğuk iklime uyumlarında; kışın yağ kütle artışı, diyapoz, düşük sıcaklıklarda daha hızlı yumurta bırakabilmesi karakteristiktir (Kettle ve Sellick, 1947). Hafif akıntılı oksijence zengin sulara yumurta bırakırlar (Hackett ve Missiroli, 1935; White, 1978).

*An. melanoon*: Kışlama davranışı sıcak uygun alanlarda olan bu türün bireyleri kışın da kan emebilir. Zoofilik olsalar da önemli vektör türlerden biridir (WHO, 1988). Bitki örtüsü bakımından zengin, aşırı sulak ya da güneş alan bataklık ve pirinç tarlalarını yumurtlama alanı olarak seçerler (Bates ve Hackett, 1939).

*An. messeae*: Avrupa'daki en önemli vektör olarak bilinen *An. messeae* özellikle Kuzey Avrupa'da daha yoğun olarak bulunur (WHO, 1988). Yumurtlama için daha çok durgun ve soğuk suları tercih eder.

*An. martinius*: Ergin halde sıcak yerleri tercih ederler. Larvalarının tuzluluk toleransı yüksektir. Zooantropofil eğilimlidir, ancak daha çok insanı tercih eder.

Yumurtalarını vejetasyonlu durgun sulara bırakır. Eylül-Şubat aylarını diyapozda geçirir (Becker vd., 2003). 46° Kuzey enlemini alt sınır alacak şekilde Türkmenistan, Özbekistan ve Kazakistan'da dağılır.

*An. sacharovi*: Üreme alanları *An. labranchiae*'ye benzer. Larvaların tuzluluk toleransı yüksektir. Vejetasyonca zengin, güneş alan, durgun suları tercih eder. Endofil eğilimli olup daha çok evleri tercih ederler. Bu nedenle vektörel anlamda önemlidir (Postiglione vd., 1973 ).

*An. persiensis*: Kompleks içerisinde tanımlanan en yeni türlerden biridir. Daha çok kıyı bölgeleri tercih ederler. Yumurta morfolojisi *An. melanoon*'a benzemektedir (WHO, 2008). Biyo-ekolojik özellikleri konusunda henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır.

*An. daciae*: *An. messeae* ile moleküler açıdan yakınlıkları yüksektir. Hatta tür konumu ile ilgili tartışmalar devam etmektedir (Nicolescu vd., 2004; Bezzhonova ve Goryocheva, 2008; WHO, 2008).

Avrupa'da *An. atroparvus*, *An. labranchiae* ve *An. sacharovi* en etkin vektör türler iken, Rusya ve Ukrayna için de *An. messeae* potansiyel bir vektördür (Linton vd., 2007). Ülkemizde ise en önemli vektör *An. superpictus* ve *An. claviger* (Meigen, 1804) olarak tespit edilmiş ancak yaz aylarında özellikle *An. sacharovi*'nin en etkin sıtma vektörü olduğu bildirilmiştir. (Şimşek, 2005; Djadid vd., 2007; WHO, 2008).

## **2. YAPILAN ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Alan Çalışmaları**

#### **2.1.1. Yumurta, Larva Ve Pupa Örneklerinin Toplanması**

Yumurta, larva ve pupa örnekleri Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerindeki sivrisineklerin yumurta bırakabilecekleri göl, gölet, akarsu, dere, bataklık, kuyu ve havuz gibi doğal ve yapay alanlar taranarak klasik kepçe yöntemi kullanılarak örnekler alınmıştır. Bu alanlardan toplanan örneklerin her biri ayrı kaplara alınarak toplandığı alan ve örneğin alındığı tarih belirtilerek etiketleme yapılmıştır. Larva ve pupa örneklemeleri 27 noktadan gerçekleştirilmiş olup örneklem noktaları Batıda Sinop Çırnık'tan Doğuda Artvin Borçka Güreşen'e kadar gerçekleştirilmiştir.

#### **2.1.2. Ergin Örneklerinin Toplanması**

Erginlerin toplanmasında ağız aspiratörü ve ışık tuzağı tercih edilmiş, örnekler büyükbaş hayvan ahırlarından ağız aspiratörü yardımı ile toplanmıştır. Işık tuzağı kullanılan alanlarda ise tuzaklar gün batımından gün doğumuna kadar olan sürede çalıştırılarak örneklem yapılmıştır. Işık tuzakları ahır içi ve ev önü olmak üzere iki farklı noktada kurulup örneklem yapılmıştır. Ergin örneklemeleri larva örneklemelerine paralel yapılmış olup sadece 9 noktadan ergin örneği toplanabilmiştir. (Çorum-Osmancık-Durucasu, Çorum-Laçın-Gökgözlü, Ordu-Ünye, Trabzon-Çarşıbaşı, Rize-Merkez Işık Tuzağı, Rize-Çayeli-Limanköy, Artvin-Arhavi, Artvin-Kemalpaşa)

### **2.2. Sivrisinek Örneklemesi ve Örneklerin Laboratuvara Getirilmesi**

Larva örnekleri buldukları sudan da bir miktar alınarak hava alabilecekleri şekilde plastik kaplar içerisine konulmuş, ergin sivrisineklerin ise bir kısmı canlı olarak bir kısmı da öldürülüp uygun koşullarda saklanarak Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Vektör Ekolojisi ve Kontrol Laboratuvarına getirilmiştir. Toplanan larva örnekleri laboratuvarda erginleşmeleri sağlanana kadar gerekli besin desteği ve uygun ortamda

tutulmuştur. Erginleşen örnekler ise *An. maculipennis* tür kompleksi üyesi ya da diğer türler olarak ayrılmıştır.

### **2.3. Laboratuvar Çalışmaları**

#### **2.3.1. Klasik Sistemik Yöntemlerle Tür Teşhislerinin Yapılması**

Toplanan örneklerin tür teşhisleri Glick, 1992 ve Schaffner vd., 2001'in anahtarları kullanılarak yapılmıştır.

#### **2.3.2. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksi Örneklerinden DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu yapılırken örnekler saklanma koşuluna göre alınarak ya direkt eppendorflara ya da alkol içinde muhafaza edilen örnekler kurutma kâğıdı üzerine alınıp alkolün uçması beklendikten sonra tekrar eppendorf tüplere alınmıştır. Eppendorfa alınan örneklerin üzerine 100 mikrolitre homojenizasyon tamponu ve 25 mikrolitre liziz tamponu eklenip örnekler kontes pellet pestle motor ® yardımı ile ezilmiştir. Ezilen örnekler 65 °C'de yarım saat inkübe edilmiştir. 30 dakikanın ardından 17 mikrolitre potasyum asetat eklenen örnekler buz üzerinde yarım saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Yarım saat sonunda örnekler 15000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan supernatant yeni eppendorflara alınarak 400 mikrolitre %96'lık alkol eklenmiş alt üst işlemi yapıldıktan sonra 15 dakika 15000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra eppendorflardaki sıvılar boşaltılıp üzerlerine 250 mikrolitre %70'lik alkol eklenmiş ve 5 dakika 15000 rpm'de yeniden santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj işleminden sonra eppendorflardaki alkol boşaltılıp içerisinde kalan alkolünde uçması sağlanmak amacıyla 37 °C ısıtıcı tabla üzerinde bekletilmiştir. Alkol tamamen uçtuktan sonra 85 mikrolitre TE çözeltisi (pH 8) eklenip izole edilen DNA'nın çözülmesi sağlanmıştır. Son olarak 1 mikrolitre RNAz eklenip 37 °C ısıtıcı plakada 15 dakika inkübe edilip uygun koşullarda saklanmak üzere 4 °C'de muhafaza altına alınmıştır. DNA izole edilip edilmediğinin kontrol edilmesi amacıyla % 0,8'lik Agaroz jel dökülerek 100 voltta 15 dakika yürütülerek UV transilluminatörde DNA varlığı teyit edilmiştir.

### 2.3.3. *Anopheles maculipennis* Tür Kompleksinin Moleküler Olarak Teşhis Edilmesi

Palearktikte dağılım gösteren *An. maculipennis* tür kompleksinin ayırımında en genel yöntem olan ITS2 sekanslarındaki farklılıklar temeline dayanan yöntem kullanılarak teşhisler gerçekleştirilmiştir. ITS2 sekanslarındaki farklılık temeline dayanan ayırım yöntemi için Proft vd., 1999 ana referans olarak alınmış ve Akıner ve Çağlar, 2010'da belirttikleri protokol uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler olarak türlerin ayrılması için yapılan PZR protokolünde kullanılan ve iki kaynakta da belirtilen 6 ikiz *An. maculipennis* kompleks türünün ayırımı için 1 genel (ileri) ve 6 türe özgü (geri) primer kullanılmıştır.

#### Primerler

İleri primer olarak 5.8S rDNA (5'-TGT GAA CTG CAG GAC ACA TG-3')

Geri primerler olarak

*An. maculipennis* s.s (5'- TAT TTG AGG CCC ATG GGC TA-3'),

*An. atroparvus* (5'-CGT TTG GCT TGG GTT ATG A-3'),

*An. messae* (5'-GAC GCC TCA CGA TGA CCT T-3'),

*An. melanoon* (5'-TGC AAG TTG AAA CCT GGG GC-3'),

*An. labbranchiae* (5'-GTA TCT CTG CTG CTA TGG TC-3'),

*An. sacharovi* (5'-CAA GAG ATG GAT GTT TTA CG-3') primerleri kullanılmıştır.

PZR, 25 µl hacimde her bir bireyden elde edilen DNA ve dizisi verilen 7 primerden 10'ar pmol kullanılarak gerçekleştirilmiştir (PZR karışımı, 13.4 µl steril distile su, 2.5 µl 10x tampon, 1 µl 25 mM dNTP, 1 µl 50 mM MgCl<sub>2</sub> ve 0.1 µl (5U/ml) Taq DNA polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır. Amplifikasyon işlemi Biorad T100 ® kullanılarak gerçekleştirilmiş olup PZR, 39 döngü boyunca 94 °C'de 30 saniye (sn) denatürasyon, 55 °C'de 30 sn. primer bağlanması, 72 °C'de 30 sn. uzama koşulunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünü %2'lik agaroz jel içinde 100 volt'da yarım saat süre ile yürütülmüştür. Türler yürütme işleminden sonra bant büyüklüklerine göre sınıflandırılmıştır. Yürütme esnasında 100 baz çiftlik belirteç kullanılmıştır.

Türlerin bilinen bant büyüklükleri ise;

*An. maculipennis* s.s. 410 baz çift,

*An. atroparvus* 117 baz çift,

*An. messae* 305 baz çift,

*An. melanoon* 224 baz çift,

*An. labbranchiae* 374 baz çift,

*An. sacharovi* 180 baz çift (Proft vd., 1999).

#### **2.3.4. PZR Sonucunda Elde Edilen Örneklerin DNA Dizi Analizlerinin Yapılması**

Elde edilmiş olan PZR ürünleri gerekli koşullarda muhafaza edilmiş ve dizileme aşaması için hazırlanmıştır. Dizilenecek örnekler ayrıldıktan sonra örnekler Macrogen Inc. firmasına gönderilmiş ve ham diziler elde edilmiştir. PZR ile çoğaltılan bölgelere ait kromatogramların hizalanması sonucu elde edilen DNA dizileri hizalama yapıldıktan sonra karşılaştırılmıştır. Gruplar arası uzaklıklar hesaplanarak, filogenetik ağaçları çizilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Alan Çalışmasında Elde Edilen Bulgular

Arazi gözlemleri sırasında 27 noktadan örneklem gerçekleştirilmiş ve örneklem neticesinde gözlenen ve klasik taksonomi yöntemleri ile yapılan teşhislere göre elde edilen sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir. Alanda *An. maculipennis* tür kompleksi üyelerinin haricinde *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) tür kompleksi üyelerine de rastlanmıştır.

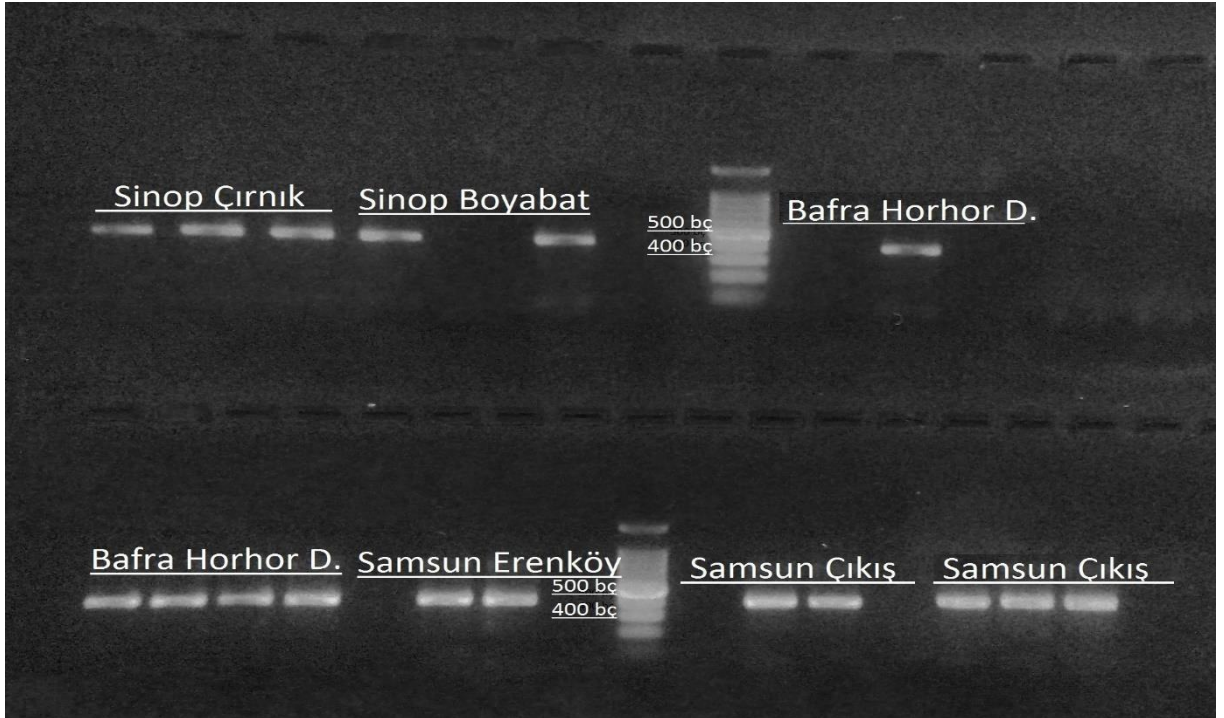
**Tablo 1.** Örneklem noktaları ve noktalara göre tespit edilen *Anopheles* türleri veya kompleks türleri

Bölge	Koordinat Kuzey	Koordinat Doğu	Yükseklik	Tür veya Tür kompleksi
Sinop Çırnak	41 50 21,2	35 05 37,8	73	<i>Anopheles maculipennis</i>
Sinop Boyabat	41 27 55,6	34 49 18,2	266	<i>Anopheles maculipennis</i>
Bafra Horhor Deresi	41 30 58,0	36 00 55,0	3	<i>Anopheles maculipennis</i> <i>Anopheles hyrcanus</i>
Samsun Erenköy	41 27 08,7	36 07 40,4	3	<i>Anopheles maculipennis</i>
Samsun Çikiş	41 15 18,3	36 10 22,8	229	<i>Anopheles maculipennis</i>
Çorum Laçın Gökgözler köyü	40 48 55,8	34 51 32,0	430	<i>Anopheles maculipennis</i>
Çorum Osmançık Durucasu	40 59 00,2	34 44 53,8	402	<i>Anopheles maculipennis</i>
Ordu Ünye	41 06 98,2	37 18 73,5	4	<i>Anopheles maculipennis</i>
Ordu Fatsa Elekçi dere	41 01 38,4	37 29 08,8	9	<i>Anopheles maculipennis</i>
Ordu Çaybaşı yolu	41 09 05,4	37 13 22,1	2	<i>Anopheles maculipennis</i>
Ordu Turnasuyu	40 58 54,4	38 00 10,6	2	<i>Anopheles maculipennis</i>
Giresun Çavuşlu	41 02 50,4	39 04 41,0	4	<i>Anopheles maculipennis</i>
Trabzon Çarşıbaşı	41 04 59,0	39 22 52,7	33	<i>Anopheles maculipennis</i>
Trabzon Akçaabat	41 05 20,0	39 29 45,5	22	<i>Anopheles maculipennis</i>
Trabzon Merkez	40 59 01,1	39 49 35,6	24	<i>Anopheles maculipennis</i>
Trabzon Oylum yolu	40 54 92,1	40 03 74,9	23	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize İkizdere yolu	40 55 55,6	40 24 57,3	86	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize Merkez	41 02 13,6	40 29 31,5	28	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize Gündoğdu	41 03 35,9	40 37 26,4	5	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize Güneysu Yolu	41 56 43,2	40 09 21,7	436	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize Çayeli Limanköy	41 04 34,1	40 21 20,7	0	<i>Anopheles claviger</i>
Rize Hemşin Yolu	41 9 44,9	40 53 56,8	19	<i>Anopheles maculipennis</i>
Rize Çamlıhemşin Yolu	41 04 24,8	41 00 46,1	264	<i>Anopheles maculipennis</i>
Artvin Arhavi	41 21 51,6	41 16 52,8	4	<i>Anopheles maculipennis</i>
Artvin Hopa	41 23 15,4	41 29 59,1	134	<i>Anopheles maculipennis</i>
Artvin Kemalpaşa	41 29 07,4	41 31 31,0	1	<i>Anopheles maculipennis</i>
Artvin Borçka Güreşen	41 27 22,1	41 38 07,7	240	<i>Anopheles maculipennis</i>

#### 3.2. Moleküler Bulgular

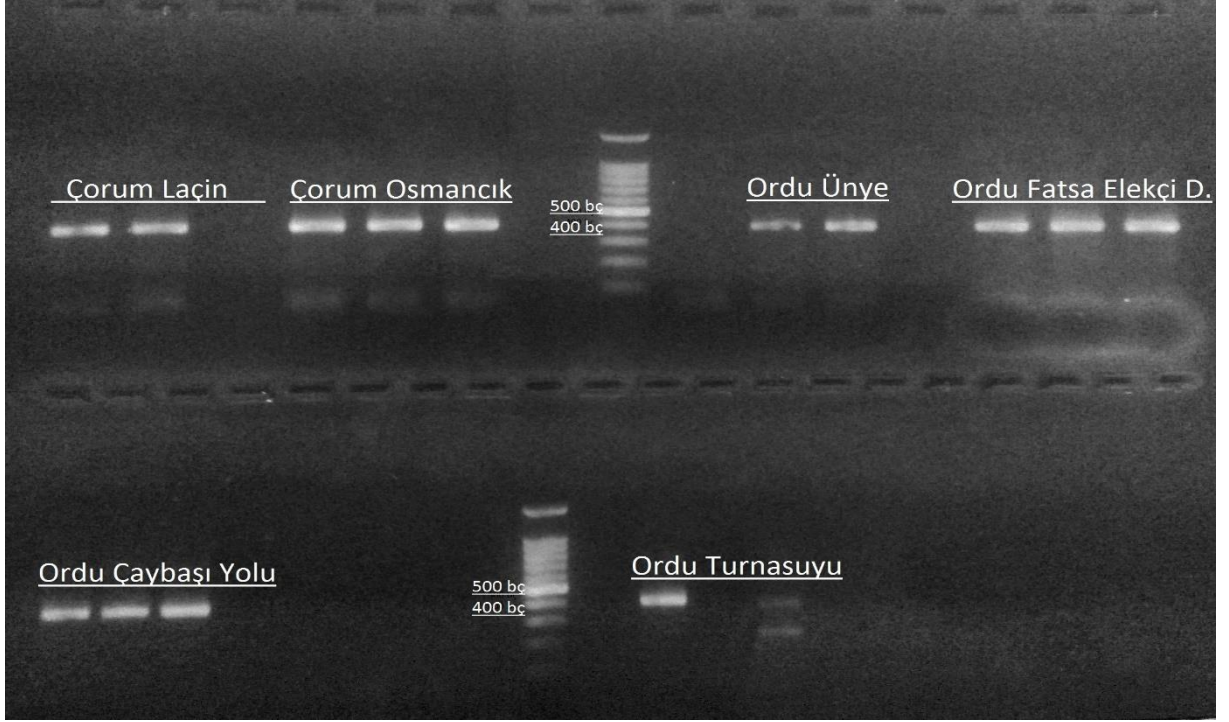
Alanda 27 örneklem noktasından yapılan örneklem neticesinde alanlarda bir tanesi hariç diğer bölgelerin hepsinde *An. maculipennis* tür kompleksi üyelerine rastlanmıştır. Ayrıca alanda birer bölgede *An. hyrcanus* (Pallas, 1771) örneği (Bafra-

Horhor Deresi) ve *An. claviger* örneği (Rize-Çayeli Limanköy) tespit edilmiştir. *An. maculipennis* tür kompleksi örneğine rastlanan 26 bölgede ise palearktikte dağılım gösteren *An. maculipennis* tür komplekslerinin ayırımında ITS2 sekanslarında farklılıklar temeline dayanan ve 1999 yılında Proft vd. tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak ayırım yapılmıştır. Tüm bölgelerden örneklenen ergin bireyler arasından 5'er birey rastgele seçilerek moleküler tür tespiti yapılmış ve sonuçların tamamı, örnekleme yapılan bölgelerin tamamında *An. maculipennis* s.s. oldukları tespit edilmiştir. Yapılan PZR sonuçlarının agaroz jel elektroforezi görüntüleri Şekil 1-4'te verilmiştir.

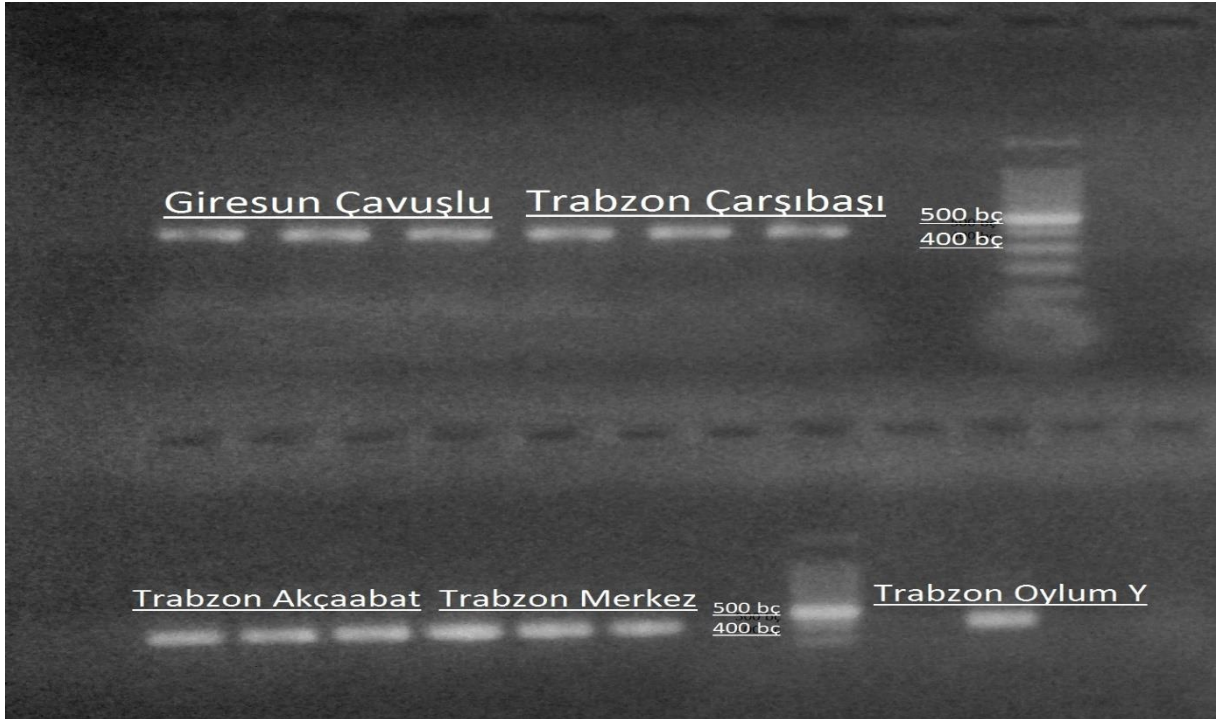


**Şekil 1.** Sinop ve Samsun örnekleri ITS2 bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü (100 bazçiftlik belirteç kullanılmıştır)

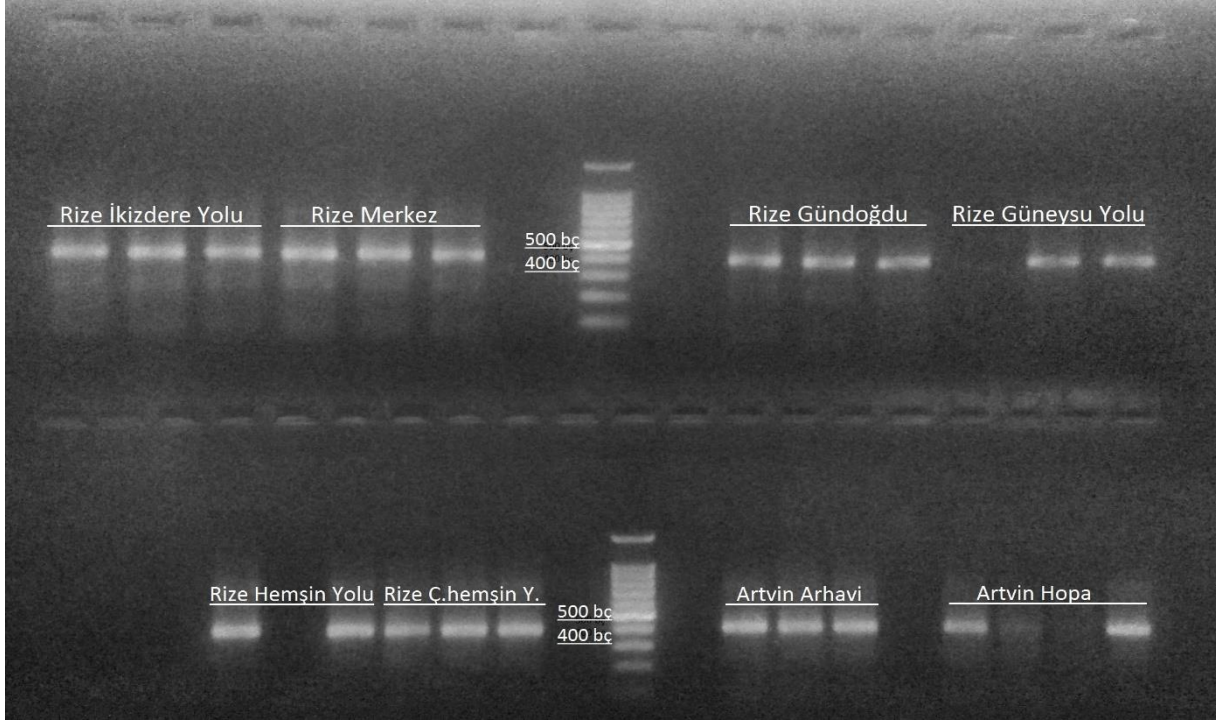




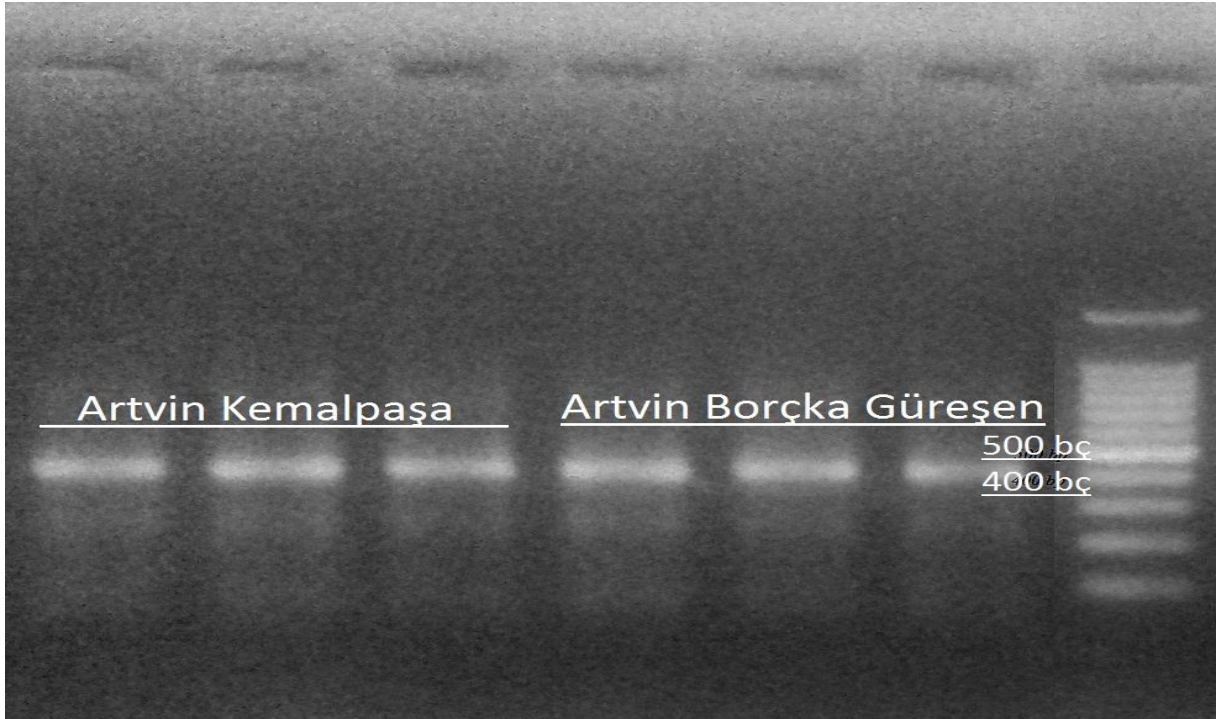
**Şekil 2.** Çorum ve Ordu örnekleri ITS2 bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü (100 bazçiftlik belirteç kullanılmıştır)



**Şekil 3.** Giresun ve Trabzon örnekleri ITS2 bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü (100 bazçiftlik belirteç kullanılmıştır)



**Şekil 4.** Rize ve Artvin bölgesi örnekleri ITS2 bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü (100 bazçiftlik belirteç kullanılmıştır)



**Şekil 5.** Artvin bölgesi örnekleri ITS2 bölgesi PZR sonucu agaroz jel elektroforezi görüntüsü (100 bazçiftlik belirteç kullanılmıştır)

### 3.3. Dizileme Verilerinin Değerlendirilmesi

Moleküler çalışmalarla elde edilen DNA sekansları hem kendi içlerinde hem de veri madenciliğiyle Gen Bankası'ndan elde edilen daha önceki çalışmalara ait DNA dizileri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen dizilerin eşleştirilmesi sonucu veriler Tablo 2'de verilmiştir. PZR ile çoğalttığımız bölgelere ait kromatogramların hizalanması sonucu elde ettiğimiz DNA sekansları çoklu hizalama (multiple alignment) yapıldıktan sonra karşılaştırılmıştır. Hizalama için Bioedit programı kullanılmıştır. Hizalama yapıldıktan sonra ise Mega 7 programı kullanılarak Neighbour-joining ağacı çizilmiştir (Şekil 6). Elde edilen Neighbour- Joining ve dizilerin karşılaştırılması sonucunda tüm bölgelerden örneklenen örnekleri genbank örneği (HQ878024) ile yüksek oranda örtüştüğü gözlenmiştir. Çorum-Laçın-Gökgözler köyü, Rize-Çamlıhemşin Yolu, Trabzon-Oylum Yolu, Artvin-Borçka-Güreşen örnekleri hariç diğer bölgelerin büyük oranda uyum gösterdiği ve aynı kladda yer aldıkları belirlenmiştir. Dış grupsuz oluşturulan Neighbour- Joining'de en uzak örneğin %0,03 oranında farkla Artvin-Borçka-Güreşen örneği olduğu görülmüştür (Şekil 6). Dış grupların ve yakın türlerin bulunduğu ikinci bir dendogram çizilmiş ve Şekil 7'de verilmiştir. Çizilen ağaçta *An. maculipennis s.s.* örneği olarak HQ878024 (Şimşek vd., 2011), *An. melanoon* örneği olarak AF466744.1 (Linton vd., 2002), *An. messae* örneği olarak AJ555482.1 (Gordeev vd., 2003), *An. sacharovi* örneği olarak AF533586.1 (Linton vd., 2002), *An. beklemishevi* örneği olarak HE659701.1 (Vaulin ve Novikov, 2012) numaralı genbank örnekleri kullanılmıştır. Dış grup olarak ise *An. occidentalis* L78472.1 numaralı genbank örneği kullanılmıştır (Porter ve Collins, 1996).

**Tablo 2.** Örneklem noktalarından toplanan örneklerin Gen Bankası örnekleri ile eşleştirilmiş ITS2 dizileri

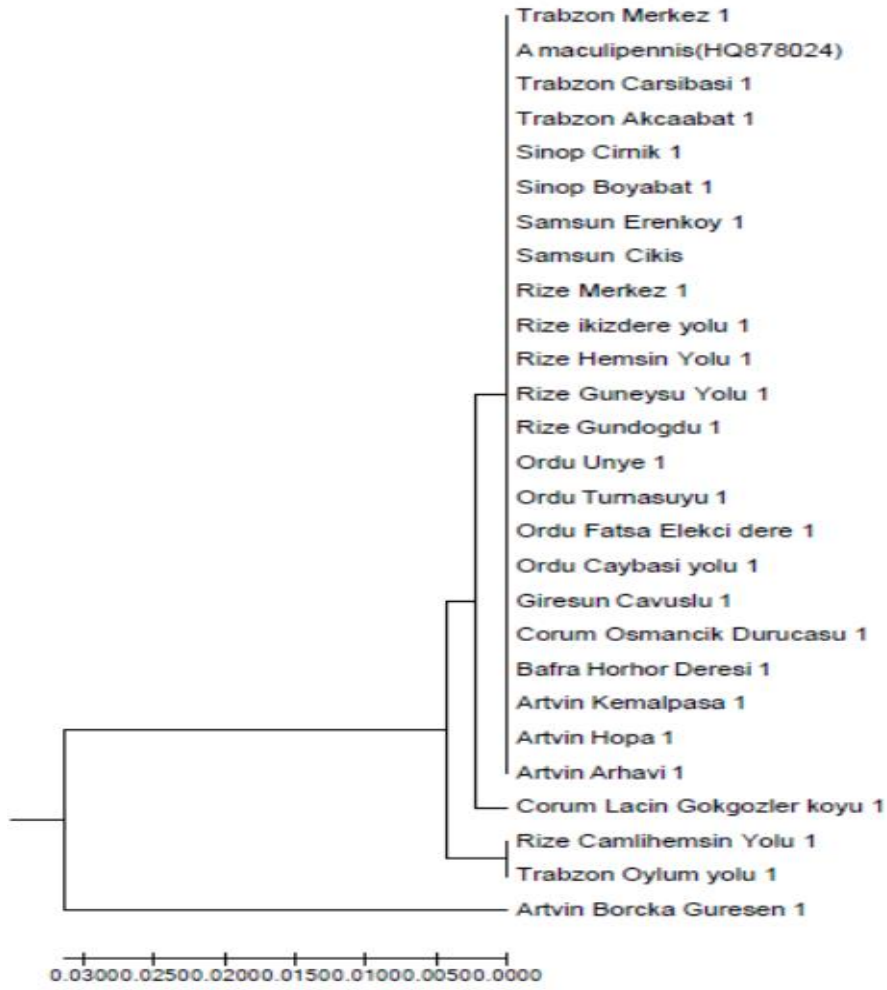
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	5	15	25	35	45	55
Artvin_Arhavi_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Artvin_Borcka_Guresen_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Artvin_Hopa_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Artvin_Kemalpasa_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Bafra_Horhor_Deresi_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Corum_Osmancik_Durucasu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Giresun_Cavuslu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Ordu_Caybasi_yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Ordu_Turnasuyu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Ordu_Unye_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_Gundogdu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_Guneyisu_Yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_Hemsin_Yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_ikizdere_yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Rize_Merkez_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Samsun_Cikis	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Samsun_Erenkoy_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Sinop_Boyabat_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Sinop_Cirnik_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Trabzon_Akcaabat_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Trabzon_Carsibasi_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Trabzon_Merkez_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
Trabzon_Oylum_yolu_1	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
A_beklemishevi_(HE659701.1)	GA--GTGC--	--CCATATTT	GA-----C	ATATCCAAGT	CAAACACGT	CGGCGAGGCC
A_sacharovi(AF533586.1)	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	CATCAGAAGT	CAAACACGT	-----
A_occidentalis(_L78472.1)	GATAGTGCAG	CACTAAGTGG	GAGGTAAACT	C---CTTCT	AAAGCTAAAT	-----
A_maculipennis(HQ878024)	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	C---CAGGT	CAAACACGT	-----
A_melanoon(AF466744.1)	GA--GTGC--	--CTATATTT	GA-----C	T-ATCCAAGT	CAAACACGT	-----
A_messae(AJ555482.1)	GA--GTGC--	--CCATATTT	GA-----C	CCATTCAAGT	CAAACACGT	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	65	75	85	95	105	115
Artvin_Arhavi_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Artvin_Borcka_Guresen_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Artvin_Hopa_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Artvin_Kemalpasa_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Bafra_Horhor_Deresi_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Corum_Osmancik_Durucasu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Giresun_Cavuslu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Ordu_Caybasi_yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Ordu_Turnasuyu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Ordu_Unye_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_Gundogdu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_Guneyisu_Yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_Hemsin_Yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_ikizdere_yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Rize_Merkez_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Samsun_Cikis	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Samsun_Erenkoy_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Sinop_Boyabat_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Sinop_Cirnik_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Trabzon_Akcaabat_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Trabzon_Carsibasi_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Trabzon_Merkez_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
Trabzon_Oylum_yolu_1	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
A_beklemishevi_(HE659701.1)	AGGCC----	---TTGCC--	--GTGCGTGC	ATAGATGATG	AAAGAGTATG	G-GACCTAAA
A_sacharovi(AF533586.1)	----	---GGCGGGC	CCGTACGTGC	ATAGATGATG	AAAGATTTTG	G-GACGTTAA
A_occidentalis(_L78472.1)	--ACCACCAT	GAGACCAGTA	GCGAACAAGT	AC-CGTGAGG	GAAG--TTG	A-AA-----
A_maculipennis(HQ878024)	--ACC----	---TCCGG--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
A_melanoon(AF466744.1)	--ACC----	---TCCGT--	--GTACGTGT	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	GAAAC----
A_messae(AJ555482.1)	--ACC----	---TCCGT--	--GTACGTGC	AT-GATGATG	AAAGAGTTTG	G-AAC----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	125	135	145	155	165	175
Artvin_Arhavi_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Artvin_Borcka_Guresen_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGAAGCAACC
Artvin_Hopa_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Artvin_Kemalpasa_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Bafra_Horhor_Deresi_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Corum_Osmancik_Durucasu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Giresun_Cavuslu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Ordu_Caybasi_yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Ordu_Turnasuyu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Ordu_Unye_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_Gundogdu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_Guneyisu_Yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_Hemsin_Yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_ikizdere_yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Rize_Merkez_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Samsun_Cikis	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Samsun_Erenkoy_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Sinop_Boyabat_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Sinop_Cirnik_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Trabzon_Akcaabat_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Trabzon_Carsibasi_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Trabzon_Merkez_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
Trabzon_Oylum_yolu_1	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
A_beklemishevi_(HE659701.1)	CCATCCCGTT	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AGCGTAGCG	TGT-----TACC
A_sacharovi(AF533586.1)	ACATCCCATC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	TACCGTAGTG	TGTAACA--CC
A_occidentalis(_L78472.1)	GCACCTC--	-----GAATAG	AGAGTCAAAG	AGTACGTGAA	-ACTGCCATG	GGGAACAACC
A_maculipennis(HQ878024)	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AACGCAGCG	TGTAGCAACC
A_melanoon(AF466744.1)	CCATCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AGCGCAGCG	TGTAGCAGCC
A_messae(AJ555482.1)	CCTTCCT-TC	TCTTGCAT--	-----	-----TGAA	-AGCGCAGCG	TGTAGCAACC

**Tablo 2 (devam).** Örneklem noktalarından toplanan örneklerin Gen Bankası örnekleri ile eşleştirilmiş ITS2 dizileri

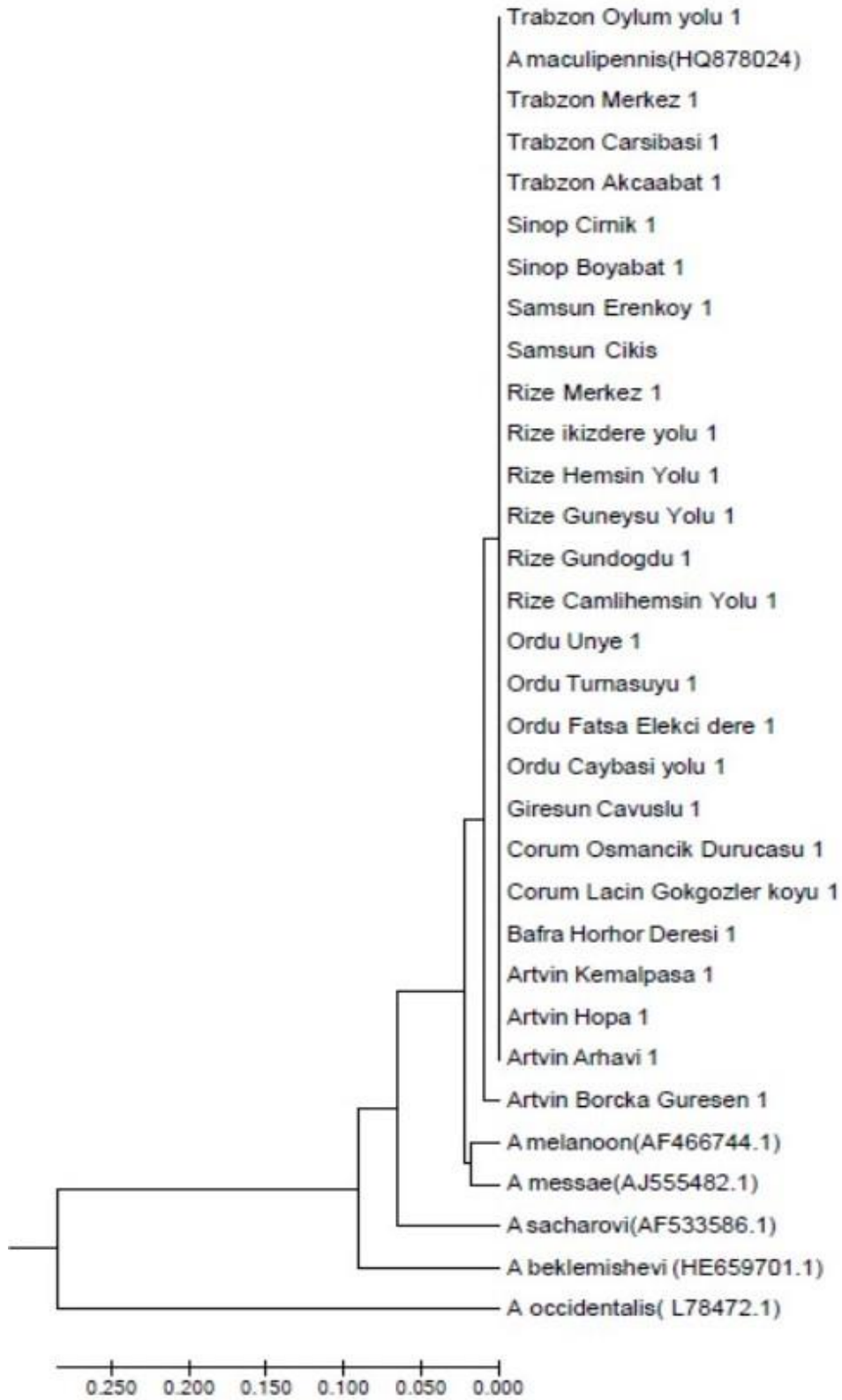
	.... ....  185	.... ....  195	.... ....  205	.... ....  215	.... ....  225	.... ....  235
Artvin_Arhavi_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Artvin_Borcka_Guresen_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	GGGCCATGGG	GTTGACACCT	CACCAC-CAT	CTGCGTGT-G
Artvin_Hopa_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Artvin_Kemalpasası_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Bafra_Horhor_Deresi_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GTTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Corum_Osmancik_Durucasu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Giresun_Cavuslu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Ordu_Caybasi_yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Ordu_Turnasuyu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Ordu_Unye_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GTTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_Gundogdu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_Guneyusu_Yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_Hemsin_Yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_ikizdere_yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Rize_Merkez_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Samsun_Cikis	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Samsun_Erenkoy_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Sinop_Boyabat_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Sinop_Cirnik_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Trabzon_Akcaabat_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Trabzon_Carsibasi_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Trabzon_Merkez_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
Trabzon_Oylum_yolu_1	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GTTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
A_beklemishevi_(HE659701.1)	CAGGGACTCA	ACTTGCAAAG	TGTCCT-TG	GCGAATACCT	CACCAC-CAT	TAGGTGTA--
A_sacharovi(AF533586.1)	CAGGGCTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCCAAACACTT	CACCGC-CAT	CT-TGTGCAT
A_occidentalis(L78472.1)	CCG---TTGA	ACTC---AAT	AGACCAGGGT	GGCGACATTC	AGCCCGCGCT	CGGTGCGC-C
A_maculipennis(HQ878024)	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
A_melanoon(AF466744.1)	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCAT---	---	---	---
A_messae(AJ555482.1)	CCAGGTTTCA	ACTTGCAAAG	TGGCCATGGG	GCTGACACCT	CACCAC-CAT	CAGCGTGC-T
	.... ....  245	.... ....  255	.... ....  265	.... ....  275	.... ....  285	.... ....  295
Artvin_Arhavi_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Artvin_Borcka_Guresen_1	GTGTGGGGTG	TC---CAA	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Artvin_Hopa_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Artvin_Kemalpasası_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Bafra_Horhor_Deresi_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Corum_Osmancik_Durucasu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Giresun_Cavuslu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Ordu_Caybasi_yolu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Ordu_Turnasuyu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Ordu_Unye_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	GTGTGGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_Gundogdu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_Guneyusu_Yolu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_Hemsin_Yolu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_ikizdere_yolu_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Rize_Merkez_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Samsun_cikis	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Samsun_Erenkoy_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Sinop_Boyabat_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Sinop_Cirnik_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Trabzon_Akcaabat_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Trabzon_Carsibasi_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Trabzon_Merkez_1	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
Trabzon_Oylum_yolu_1	GTGTGGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
A_beklemishevi_(HE659701.1)	---WAGGTG	TC---TTG	CTGA-----	-----	GTCGGGCCAT	CGTGAGGCGT
A_sacharovi(AF533586.1)	GTGTAGTGTT	TT---CGG	CCCA-----	-----	GCTTGGTTAA	CGTGAGGCGT
A_occidentalis(L78472.1)	TCCGGGCGTG	CTGGCCGCGG	TGCACCTTGTC	GATCCGCAGC	ATCCGACAT	CGCGATCCAT
A_maculipennis(HQ878024)	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTTCCGGTCAT	CGTGAGGCGT
A_melanoon(AF466744.1)	---	---	---	---	---	---
A_messae(AJ555482.1)	GTGTAGCGTG	TT---CGG	CCCA-----	-----	GTAAGGTCAT	CGTGAGGCGT
	.... ....  305	.... ....  315	.... ....  325	.... ....  335	.... ....  345	.... ....  355
Artvin_Arhavi_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Artvin_Borcka_Guresen_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCAGGGT	T---AC----
Artvin_Hopa_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Artvin_Kemalpasası_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Bafra_Horhor_Deresi_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCAGGGT	T---AC----
Corum_Osmancik_Durucasu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Giresun_Cavuslu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Ordu_Caybasi_yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Ordu_Turnasuyu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCAGGGT	T---AC----
Ordu_Unye_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_Gundogdu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_Guneyusu_Yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_Hemsin_Yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_ikizdere_yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Rize_Merkez_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Samsun_Cikis	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Samsun_Erenkoy_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Sinop_Boyabat_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Sinop_Cirnik_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Trabzon_Akcaabat_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Trabzon_Carsibasi_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Trabzon_Merkez_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
Trabzon_Oylum_yolu_1	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	ACACT---G	TTGCGC--GT	ATCTCATGGT	T---AC----
A_beklemishevi_(HE659701.1)	-----	---AGCCCA	ACCGTACAAG	TCCGGG--GT	ATCTCAGGGT	GGACACAGTG
A_sacharovi(AF533586.1)	AACTAACGG	AGGAAGACATA	ATACA---A	CTGCGC--GT	ATCTCATGGT	TCTAAC----
A_occidentalis(L78472.1)	TA-CGAACGG	---GGCAT	---TGGGG	---	---	A---AT----
A_maculipennis(HQ878024)	TACCTAACGG	-GGAGGCAC-	A-----	GTGCGC--GT	GCCTCTAGC	-----
A_melanoon(AF466744.1)	---	---	---	---	---	---
A_messae(AJ555482.1)	C-----	---	---	---	---	---

**Tablo 2 (devam).** Örneklem noktalarından toplanan örneklerin Gen Bankası örnekleri ile eşleştirilmiş ITS2 dizileri

	365	375	385	395	405	415
Artvin_Arhavi_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Artvin_Borcka_Guresen_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	AAAATAA----
Artvin_Hopa_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Artvin_Kemalpasa_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Bafra_Horhor_Deresi_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Corum_Osmancik_Durucasu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Giresun_Cavuslu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Ordu_Caybasi_Yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Ordu_Turnasuyu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Ordu_Unye_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	AAAATAC----
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	AAAATAC----
Rize_Gundogdu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Rize_Guneyysu_Yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Rize_Hemsin_Yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Rize_ikizdere_yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Rize_Merkez_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Samsun_Cikis	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Samsun_Erenkoy_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Sinop_Boyabat_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Sinop_Cirnik_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Trabzon_Akcaabat_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Trabzon_Carsibasi_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
Trabzon_Merkez_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	AAAATAC----
Trabzon_Oylum_yolu_1	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAGCA	GAGATAC----
A_beklemishevi_(HE659701.1)	GACAGGGAGT	CCACTATAAA	CACAAAGGT-	-----	-----CAAGA	GAGATGT----
A_sacharovi(AF533586.1)	-----C	CAACCATAG-	-----	-----	-----CAACA	GAGATAC----
A_occidentalis_(L78472.1)	-----C	CAACACTTGG	TCCCAGACTC	GCGCGGTCGA	CCCTCCAGTA	GTGGCACTTA
A_maculipennis(HQ878024)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
A_melanoon(AF466744.1)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
A_messiae(AJ555482.1)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	425	435				
Artvin_Arhavi_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Artvin_Borcka_Guresen_1	-----AACA	CGGGTCCTAA	GAA			
Artvin_Hopa_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Artvin_Kemalpasa_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Bafra_Horhor_Deresi_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Corum_Lacin_Gokgozler_koyu_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Corum_Osmancik_Durucasu_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Giresun_Cavuslu_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Ordu_Caybasi_Yolu_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Ordu_Fatsa_Elekci_dere_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Ordu_Turnasuyu_1	-----AACA	CGGGCTCCTA	GTA			
Ordu_Unye_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_Camlihemsin_Yolu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_Gundogdu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_Guneyysu_Yolu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_Hemsin_Yolu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_ikizdere_yolu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Rize_Merkez_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Samsun_Cikis	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Samsun_Erenkoy_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Sinop_Boyabat_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Sinop_Cirnik_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Trabzon_Akcaabat_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Trabzon_Carsibasi_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Trabzon_Merkez_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
Trabzon_Oylum_yolu_1	-----AACA	CGGGTCCTA	GTA			
A_beklemishevi_(HE659701.1)	-----CA	ATGG	---			
A_sacharovi(AF533586.1)	-----AAAA	CCAGCTCCTA	GCT			
A_occidentalis_(L78472.1)	GCTCAGAAGG	CCTGTGCCGC	GAA			
A_maculipennis(HQ878024)	-----	-----	---			
A_melanoon(AF466744.1)	-----	-----	---			
A_messiae(AJ555482.1)	-----	-----	---			



**Şekil 6.** Örnekleme yapılan bölgelerden elde edilen örneklerin ITS2 bölgesi dizilerinin hizalanması sonucu çizilen dendrogram (Dış grupsuz).



**Şekil 7.** Örnekleme yapılan bölgelerden elde edilen örneklerin ITS2 bölgesi dizilerinin hizalanması sonucu çizilen dendrogram (Dış gruplu) .



Elde edilen dizilerin hizalanması sonucunda elde edilen dendogramda tüm bölgelerin bir klad oluşturduğu ve Artvin-Borçka-Güreşen örneğinin ayrıldığı gözlenmektedir. Bu örnekte görülen farklılığın örneğin sınır bölgesine yakın olan Artvin ilinden alınması ve bölgenin sahil kıyısından daha içerde yer almasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. En yakın türler olarak ise *An. melanoon* ve *An. messae* olarak gözlenmiştir. Kompleks içerisinde yer alan *An. sacharovi*'nin ise daha uzak bir tür olduğu, komplekste yer alan diğer bir tür olan *An. beklemishevi*'nin ise %10'a yaklaşan oranda farklılık içerdiği gözlenmiştir. Dış grup olarak kullanılan *An. occidentalis* türünün ise %25'ten daha fazla oranda bir uzaklığa sahip olduğu belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

*An. maculipennis* tür kompleksi tanımlandıklarından beri sistematik anlamda problemlili olduklarının farkına varılmış ve 1926 yılında yumurta morfolojisi ile başlayan sistematik problemlerinin çözümüne dair çalışmalar günümüzde moleküler araçların yaygın kullanımı ile devam etmektedir (Falleroni, 1926; Hackett ve Missiroli 1935; Nicolescu vd.,2004; Şimşek vd., 2011; Günay 2015). Palearktık coğrafyada dağılım gösteren ve en önemli sıtma vektörü olarak kabul edilen grubun Avrupa ve ülkemizle birlikte Orta Asya ülkelerine kadar bulunan coğrafyada tam tanımlamalarının yapılabilmesi ve hangi türlerin vektörel önemlerinin olduğunun belirlenmesi pek çok araştırmada ele alınmış ve halende çalışılmaya devam etmektedir (Di Luca, 2004; Gordaev 2004; Djadid vd., 2007; Akıner ve Çağlar, 2010; Ivanescu vd., 2015; Günay, 2015). Ülkemizde bu konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar 2000’li yıllardan sonra hız kazanmış ve bu kapsamda çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Akıner, 2009; Sevgili, 2009; Şimşek vd., 2011; Günay, 2015). Yapılan çalışmalar neticesinde *An. maculipennis* tür kompleksi üyelerinin doğru teşhisinin yanısıra dağılım profillerinde ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Çalışmamızın ana hedeflerinden biride Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde dağılım gösteren kompleks türlerinin net olarak belirlenmesi ve buna paralel olarak da Karadeniz sahil hattında ve yakın alanlarda bu kompleks üyelerinin dağılım tipinin ortaya çıkarılması olmuştur. Çalışmamızda kullanılan temel belirleme yöntemi rDNA ITS2 bölgesi analizi hem ülkemizde hem palearktık coğrafyada kullanılmış ve kullanılmakta olan en genel yöntemlerden biri olup grup içerisinde sadece *An. messae* ve *An. daciae* türlerinin ayırımında etkin sonuç vermediği bilinmektedir (Bezzhonova ve Goryacheva, 2008; Şimşek vd., 2011; Günay 2015).

Araştırmamızda yapılan klasik taksonomi ve moleküler araçların kullanılmasıyla gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde örneklem gerçekleştirilen 27 noktadan 26 tanesinde kompleks üyelerinin varlığı doğrulanmış, bir noktada sadece *An. claviger* (Çayeli-Limanköy) bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca bir noktada ise *An. maculipennis* tür kompleksi üyesi ile *An. hyrcanus*’un aynı larval habitatı paylaştıkları belirlenmiştir. Çalışılan bölge Sinoptan Gürcistan sınırına kadar olan bölgede sahil hattı ve sahil hattına yakın alanları içermektedir. Bölge yaklaşık 600 km uzunluğunda olup birbirinden farklı habitat tiplerinde içermesi bakımından önemlidir. Yapılan

örneklemeler ve örneklem metodları göz önüne alındığında ülkemizde bulunan diğer *Anopheles* cinsi üyelerinin ve aynı zamanda kompleks üyelerinin tamamının örneklenememiş olması da mümkündür. Bu nedenle tam olarak bir zoocoğrafik örüntü çıkarılamamıştır. Bu durum Sevgili (2009)'da da belirtilmiş olup neden olarak ülkemizde geniş ve kısa mesafelerde çok farklı coğrafik alanların bulunuşu gösterilmiştir.

Moleküler analizler sonucunda elde edilen PZR sonuçları ve dizi analizleri çalışılan bölgede örneklem alınan 26 noktada da *An. maculipennis s.s.* türünün var olduğunu göstermiştir. Proft vd., 1999 temel alınarak Akıner, 2009'a göre uygulanan yöntemle yapılan PZR sonucunda 400 bç civarında bantlar elde edilmiş ve bu bantlar dizileme öncesinde *An. maculipennis s.s.* olarak teşhisi yapılmıştır. Dizileme sonrasında elde edilen veriler de bu durumu doğrulamış ve Genbankta kayıtlı olan HQ878024 (Şimşek vd., 2011) nolu örnekle büyük oranda uyumlu diziler elde edilmiştir. Elde edilen diziler birbirinden en fazla %0,03 oranında farklılık (Şekil 6) göstermiş olup çoğaltılan alan politomik bir bölgedir. Bu durum Sevgili, 2009'da belirtilmiş olup yapılan çalışmada belirlenen üç türünde (*An. sacharovi*, *An. melanoon*, *An. maculipennis s. s.*) kendi içerisinde baz kompozisyonu açısından büyük oranda uyumlu olduklarını belirtmiştir. Di Luca vd., 2004'te *An. maculipennis s. s.*, *An. martinius*, *An. labranchiae* ve *An. sacharovi*'de tür içi farklılığın olmadığını sadece *An. melanoon*'da %0,12 farklılık görüldüğünü belirtmişlerdir. Proft vd., 1999'da yaptıkları çalışmada kompleks içerisinde yer alan türlerin farklarının %7,3 ile % 24 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Marunicci vd., 1999'da ise en düşük farklılık değerinin %5 ile *An. maculipennis s.s.* ile *An. sacharovi* arasında en yüksek farklılığın ise %25,2 ile *An. atroparvus* ile *An. sacharovi* arasında olduklarını belirtmişlerdir. Nicolescu vd., 2004 ise COI bölgesi analizi ve ITS2 bölgesi analizini beraber yapmış ve yeni tanımladıkları *An. daciae* ve *An. messae* arasındaki uzaklığı ITS2 bölgesi açısından %1'in altında olduğunu göstermişlerdir. Linton vd., 2007'de ise ITS2 genetik uzaklığı *An. maculipennis s. s.* ve *An. melanoon* arasında %3,8, *An. sacharovi* ile *An. melanoon* arasında ise %14 bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada ise örneklenen ve dizilenen örneklerin genbank örnekleri ile karşılaştırılması sonucunda en yakın grup olarak *An. melanoon* ve *An. messae* bulunmuş olup aralarındaki fark %2,5 civarında, *An. sacharovi* ile %6 civarında *An. beklemishevi* ile %9 civarında bir genetik uzaklık bulunmuştur.

Çalışmamız daha önceki çalışmalarla tutarlı olsa da genetik uzaklık bakımından arada fark olması doğaldır. Genetik uzaklık olarak farklılık çoğaltılan baz dizisinin fazla ya da az olmasından kaynaklanabilmektedir.

Orta ve Doğu karadeniz bölgelerinde yapılan çalışmamız neticesinde alanın neredeyse tamamında hâkim olan Anopheles cinsi türünün *An. maculipennis* tür kompleksi üyesi olduğu ve bu türünde *An. maculipennis* olduğu görülmüştür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda halihazırda 4 kompleks üyesi tespit edilmiş olup bunlar *An. sacharovi*, *An. melanoon*, *An. maculipennis s.s.* ve *An. messae* olup *An. messae* sadece bir noktada tespit edilebilmiştir (Şimşek vd., 2011; Günay, 2015). Kompleks türlerinin ülkemizdeki dağılım profiline bakıldığında ise çalışılan alanda örneklem yapılan iki noktadan birinde sadece *An. messae* hariç diğer üç türün varlığı belirlenmiştir. Ancak *An. sacharovi* ve *An. melanoon* türleri sadece Samsun'da belirlenmiş olup alanda *An. sacharovi*'nin %18, *An. melanoon*'un ise %1 oranında varlığı belirlenebilmiştir (Sevgili, 2009). Çalışmamızda ise Sinoptan başlayarak Gürcistan sınırına kadar sadece *An. maculipennis s.s.* türüne rastlanmıştır.

## 5. ÖNERİLER

Bulduğumuz coğrafyanın en önemli halk sağlığı sorunlarından biri olan sıtma kimi zaman çok düşük düzeyde seyrederken kimi zamanda 100000'leri bulan insidans oranlarına ulaşmıştır. Özellikle 1950'li yıllarda başlayan ve WHO desteğiyle yürütülen eradikasyon programları neticesinde 2000'li yıllara gelindiğinde insidans oranları oldukça düşüş göstermiş ve son yıllarda vaka sayıları yurt dışı kökenliler dâhil 100-300 arasında bir seyire kadar düşürülmüştür. Ancak otonom vakalar hali hazırda görülebilmektedir (TTB, 2012). Bu nedenle sıtmanın bulaşımından ve yayılımından sorumlu olan vektör türlerin ve dağılımlarının daha detaylı ve titizlikle çalışması gerekmektedir. Bu anlamda yapmış olduğumuz çalışma Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerinde potansiyel sıtma taşımını gerçekleştirebilecek türlerin incelenmesi açısından bir adım olup ileride yapılacak çalışmalar açısından bir başlangıç olacaktır.

Bölgemiz tarihsel olarak cumhuriyetin ilk dönemleri ve 1950'li yıllara kadar sıtma açısından önemli bölgeler kabul edilen Samsun, Ordu, Trabzon ve ikinci derecede önemli kabul edilen Sinop, Giresun, Rize ve Artvin alanları içermektedir (Lütfi ve Fikri, 1926). Sınır ticareti ve insan hareketliliğinin giderek artması, yeni dış kaynaklı olarak başlayıp otonom hale gelebilecek yeni salgınların çıkmasına neden olabilir. Bu nedenle bölge açısından kesin türlerin tanımlanması ve vektörlük potansiyellerinin belirlenmesi önemlidir.

## KAYNAKLAR

- Akner, M.M., Çağlar, S.S., 2010.** Identification of *Anopheles maculipennis* Group Species using Polymerase Chain Reaction (PCR) in the Regions of Birecik, Beyşehir and Çankırı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34(1), 55-60.
- Akner, M.M., 2009.** Sivrisineklerde direnç tespiti ve direnç gelişimini sağlayan enzimatik mekanizmaların araştırılması. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Alten, B., ve S.S. Çağlar, 1998.** Vektör Ekolojisi ve kontrolü. I. Sıtma Vektörünün Biyoekolojisi, Mücadele Organizasyonu ve Yöntemleri, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Yayınları, Bizim Büro Basımevi, 240 s.
- Bates, B.M., 1939.** Variation in the antepalpmate hairs of larvae of the *Anopheles maculipennis* complex. *Rivista di Malariologia*, 5, 299-312.
- Bates, B.M., 1940.** The nomenclature and taxonomic status of the mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex. *Annals Entomological Society of America*, 33, 343-356.
- Bates, M. and Hackett, L.W., 1939.** The distinguishing characteristics of the populations of *Anopheles maculipennis* found in southern Europe. *Verh. VII. International Congress Entomology*, 3. pp. 1555-1569, Berlin.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. and Kaiser, A., 2003.** Mosquitoes and their control. Kluwer Academic, Plenum publishers, USA, 498 s.
- Beebe, N.W. and Cooper, R.D., 2000.** Systematics of malaria vectors with particular reference to the *Anopheles punctulatus* group. *International Journal for Parasitology*, 30, 1-17.
- Bezzhonova, O.V. and Goryacheva, I.I., 2008.** Intragenomic heterogeneity of rDNA Internal Transcribed Spacer 2 in *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 45(3), 337-341.
- Boccolini, D., Di Luca, M., Marinucci, M. and Romi, R., 2003.** Further molecular and morphological support for the formal synonymy of *Anopheles subalpinus* Hackett and Lewis with *An. melanoon* Hackett. *European Mosquito Bulletin*, 16, 1-5.
- Boccolini, D., Sabatini, A. and Coluzzi, M., 1986.** Valore diagnostico del numero del rami delle setole antepalpmate per l'identificazione delle specie italiane del complesso *Anopheles maculipennis*. *Annali d'Istituto Superiore di Sanita*, 22, 201-204.

- Cambournac, F.J.C. and Hill, R.B., 1938.** The Biology of *Anopheles maculipennis*, Variation atroparvus in Portugal. Tropical Medicine and Malaria, 2, 178-184.
- Corradetti, A., 1934.** Ricerche sugli incroci tra le varietà di *Anopheles maculipennis*. Rivista di Malariologia, 13, 707-720.
- Danis, K., Papa, A., Theocharopoulos, G., Dougas, G., Athanasiou, M., Detsis, M., Baka, A., Lytras, T., Mellou, K., Sonovas, S. and Panagiotopoulos, T., 2011.** Outbreak of West Nile Virus infection in Greece, 2010. Emerging Infectious Diseases 17(10), 1868-1872.
- De Buck, A., Schoute, E. and Swellengrebel, N.H., 1934.** Cross-breeding experiments with Dutch and foreign races of *Anopheles maculipennis*. Rivista di Malariologia, 13, 237-263.
- Dehghan, H., Sadraei, J., Moosa-Kazemi, S.H., Akbari Baniani, N. and Nowruzi, F., 2013.** The molecular and morphological variations of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) in Iran. Journal of Vector Borne Disease, 50, 111-120.
- Di Luca, M., Boccolini, D., Marinuccil, M. and Romi, R., 2004.** Intrapopulation polymorphism in *Anopheles messeae* (*An. maculipennis* complex) inferred by molecular analysis. Journal of Medical Entomology, 41(4), 582-586.
- Diemer, J., 1935.** La methode de Heincke de combinaison des caracteres pour la determination raciale d'un exemplaire isole *Anopheles maculipennis*. Bulletin de la Societe de Pathologic Exotique, 28, 932-936.
- Djadid, N.D., Gholizadeh, S., Tafhiri, E., Romi, R., Gordeev, M. and Zakeri, S., 2007.** Molecular identification of Palearctic members of *Anopheles maculipennis* in northern Iran. Malaria Journal, 6(6), 1-10.
- Falleroni, D., 1926.** Fauna anofelica italiana e suo "habitat" (paludi, risaie, canali). Metodi di lotta contro la malaria. Rivista di Malariologia, 5, 553-559.
- Frizzi, G., 1952.** Symposia Genetica, 3, 231-265.
- Frizzi, G., 1953.** Extension of the salivary chromosome method to *Anopheles claviger*, *quadrimaculatus* and *aquasalts*. Nature, 171, 1072.
- Glick, J.I., 1992.** Illustrated key to the female *Anopheles* of Southwestern Asia and Egypt (Diptera: Culicidae). Mosquito systematics, 24, 125-153.
- Gordeev, M.I., Goryacheva, I.I. and Shaikevich, E.V., 2003.** The internal transcriber spacers from the sibling species of *maculipennis* complex. Genbank accession number AJ555482.1. Baskida.
- Gordeev, M., Goriacheva, I., Shaikevich, E. and Ejov, M., 2004.** Variability of the second internal transcribed spacer of the ribosomal DNA among five Palearctic species of Anopheline mosquitoes. European Mosquito Bulletin, 17, 14-19.

- Gordeev, M., Zvantov, A.B., Goriacheva, I.I., Shaikovich, E.V. and Ezhov, M.N., 2005.** Description of the new species *Anopheles artemievi* sp.n. (Culicidae) Medical Parasitology, 74, 4-5.
- Gratz, N., 1999.** Emerging and Resurging vector-borne diseases. Annual Review of Entomology, 44(1), 51-75.
- Günay, F., 2015.** Türkiyede Sivrisinek Faunası Üzerine DNA Barkodlama Yöntemiyle Moleküler Analizler. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 120 s.
- Hackett, L.W., 1937.** Recent additions to our knowledge of "*Anopheles maculipennis*" races. Bulletin of the Health Organisation of the League Nations, 6(1), 116.
- Hackett, L.W. and Lewis, D.J., 1935.** A new variety of *Anopheles maculipennis* in southern Europe. Rivista di Malariologia, 14, 1-10.
- Hackett, L.W. and Missiroli, A., 1935.** The varieties of *Anopheles maculipennis* and their relation to the distribution of malaria in Europe. Rivista di Malariologia, 14, 1-67.
- Hall, T.A., 2013.** About Bioedit version 7.2.5, Ibis Biosciences, Carlsbad, 41: 95-98.
- Harbach, R.E., 2007.** The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. Zootaxa 1668, 591–638.
- Harbach, R.E. and Kitching, I.J., 1998.** Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). Systematic Entomology, 23, 327-370.
- Hwang, U-W. and Kim, W., 1999.** General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. The Korean Journal of Parasitology, 37, 215-228.
- Ivanescu, M.L., Acatrinei, D., Pavel, I., Sulesco, T. and Miron, L., 2015.** PCR Identification of Five Species From the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) in North-Eastern Romania. Acta Parasitologica 60(2), 283-289.
- Jetten, T.H. and Takken, W., 1994.** Anophelism without malaria. Wageningen Agricultural University Papers, 94, 5.
- Kalaycioglu, H., Korukluoglu, G., Ozkul, A., Oncul, O., Tosun, S., Karabay, O., Gozalan, A., Uyar, Y., Caglayik, D.Y., Atasoylu, G., Altas, A.B., Yolbakan, S., Ozden, T.N., Bayraktar, F., Sezak, N., Pelitli, T.S., Kurtcebe, Z.O., Aydın, E. ve Ertek, M., 2012.** Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. Euro Surveillance 17(21).



- Kampen, H., 2005.** Integration of *Anopheles beklemishevi* (Diptera: Culicidae) in a PCR assay diagnostic for palearctic *Anopheles maculipennis* sibling species. Parasitological Research, 97, 113-117.
- Kampen, H., 2005.** The ITS2 ribosomal DNA of *Anopheles beklemishevi* and further remarks on the phylogenetic relationships within the *Anopheles maculipennis* group of species (Diptera: Culicidae). Parasitological Research, 97(2), 118-128.
- Kettle, D.S. and Sellick, G., 1947.** The duration of the egg stage in the races of *Anopheles maculipennis* Meigen (Diptera, Culicidae). The Journal of Animal Ecology, 16, 38-43.
- Kireççi, E., Özer, A. ve Uçmak, H., 2011.** Artropod Kaynaklı Önemli Bir Sağlık Sorunu:“Batı Nil Virüsü”. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 18(2), 132-6.
- Kumar, A. and Rai, K.S., 1993.** Molecular organization and evolution of mosquito genomes. Compared. Biochemical Physiology, B106, 495-504.
- Linton, Y.M., Samanidou-Voyadjoglou, A., Smith, L. and Harbach, R.E., 2001.** New occurrence records for *Anopheles maculipennis* and *An. messeae* in northern Greece based on DNA sequence data. European Mosquito Bulletin, 11, 31-36.
- Linton, Y-M., Smith, L. and Harbach, R.E., 2002.** Observations on the taxonomic status of *Anopheles subalpinus* Hackett & Lewis and *An. melanoon* Hackett. European Mosquito Bulletin, 13, 1-7.
- Linton, Y-M., Smith, L., Koliopoulos, G., Zounos, A.K., Samanidou-Voyadjoglou, A., Patsoula, E. and Harbach, R.E., 2007.** The *Anopheles (Anopheles) maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) in Greece. Journal of Natural History, 41(41-44), 2683-2699.
- Lütfi, A. ve Fikri, A., 1926.** Türkiye’de sıtmanın coğrafyası. Birinci Milli Türk Tıp Kongresi Müzakeratı, 233, İstanbul
- Marinucci, M., Romi, R., Mancini, P., Di Luca, M. and Severini, C., 1999.** Phylogenetic relationships of seven palearctic members of the *Maculipennis* complex inferred from ITS2 sequence analysis. Insect Molecular Biology, 8(4),469-480.
- Martens, P. and Hall, L., 2000.** Malaria on the Move Human Population Movement and Malaria Transmission. Emerging Infectious Diseases, 6(2).
- Merdivenci, A., 1984.** Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo-morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılışı ve sağlık önemleri). İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 119-129. 340 s, İstanbul.
- Nicolescu, G., Linton, Y.M., Vladimirescu, A., Howard, T.M. and Harbach, R.E., 2004.** Mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* group (Diptera: Culicidae) in

- Romania, with the discovery and formal recognition of a new species based on molecular and morphological evidence. *Bulletin of Entomological Research*, 94, 525-535.
- Öter, K. ve Tüzer, E., 2014.** İstanbul'da Sivrisinek Türlerinin (Diptera: Culicidae) Kompozisyonu. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 40(2), 249-259.
- Parrish, D.W., 1959.** The Mosquitoes of Turkey. *Mosquito News*, 19, 264-266.
- Porter, C.H. and Collins, F.H., 1991.** Species-diagnostic differences in a ribosomal DNA internal transcribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera: Culicidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45, 271-279.
- Porter, C.H. and Collins, F.H., 1996.** Phylogeny of nearctic members of the *Anopheles maculipennis* species group derived from the D2 variable region of 28S ribosomal RNA. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 6(2), 178-188.
- Postiglione, M., Smiraglia, B.C., Lavagnino, A., Gökberk, C. and Ramsdale, C., 1970.** A preliminary note on the occurrence in Turkey of the subalpinus form of the *An. maculipennis* complex. *Rivista Di Parassitologia*, 31, 155-159.
- Postiglione, M., Tabanlı, B. and Ramsdale, C., 1973.** The *Anopheles* of Turkey. *Rivista Di Parassitologia*, 34, 128-159.
- Proft, J., Maier, W.A. and Kampen, H., 1999.** Identification of six sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) by a polymerase chain reaction assay. *Parasitology Research*, 85, 837-843.
- Ramsdale, C.D. and Snow, K.R., 1995.** *Mosquito Control in Britain*. University of East London Press, 100 s., 1-20.
- Ramsdale, C.D., Alten, B., Çağlar, S.S. and Özer, N., 2001.** A revised, annotated checklist of the mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey. *European Mosquito Bulletin* 9, 18-28.
- Ramsdale, C. and Snow, K., 2000.** Distribution of the genus *Anopheles* in Europe, *European Mosquito Bulletin*, 7, 1-26.
- Reinert, J.F., 2001.** Comparative Anatomy of the Female Genitalia of Genera and Subgenera in Tribe Aedini (Diptera: Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 32(4), 1-50.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.P., Rhaïem, A. and Brunhes, J., 2001.** The mosquitoes of Europe: An identification and training programme. Montpellier, France, IRD Editions and EID Méditerranée. CD-ROM

- Sedaghat, M.M., Linton, Y.M., Nicolescu, G., Smith, L., Koliopoulos, G., Zounos, A.K., Oshagi, M.A., Vatandoost, H., 2003.** Morphological and molecular characterization of *Anopheles (Anopheles) sacharovi* Favre, a primary vector of malaria in the Middle East. *Systematic Entomology*, 28, 241-256.
- Service, M., 2012.** *Medical Entomology for Students*. 5th edition. Cambridge University Press, ISBN. 9781107668188, 333 pp.
- Sevgili, E., 2009.** Türkiye’de *Anopheles maculipennis* kompleksinin (Diptera: Culicidae) moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.
- Snow, KR., 1990.** Mosquitoes. Naturalist’s Handbooks Series. London: Richmond Publishers; 66 s.
- Suzzoni-Blatger, I., Cianchi, R. and Bullini, L., 1990.** Le complexe *Anopheles maculipennis*: criteres morphologique et enzymatiques de determination. *Annales de Parasitologie humaine et comparee*, 65, 37-40.
- Şahin, İ., 1984.** Antalya ve Çevresindeki Sivrisinekler (Diptera:Culicidae) ve Filariose Vektörü Olarak Önemleri Üzerinde Araştırmalar II. Sivrisinek Faunasını Belirlemek Amacıyla Yapılan Çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, A2, 8,3, 385-396.
- Şimşek, F.M., 2005.** Seasonal frequency and relative density of larval populations of mosquito species (Diptera: Culicidae) in Şanlıurfa province, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 30, 383-392.
- Şimşek, F.M., Ulger, C., Akiner, M. M., Tuncay, S.S., Kiremit, F. and Bardakci F., 2011.** Molecular identification and distribution of *Anopheles maculipennis* complex in the Mediterranean region of Turkey. *Biochemical Systematic Ecology*, 39, 4–6, 258– 265.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S., (2011)** MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Takken, W. and Knols, B.G.J., 2007.** Novel mosquito control strategies in the fight against malaria. *Bulletin of the Netherlands Society of Tropical Medicine and International Health*, 46, 3-4.
- Tapısız, A., Emiralioğlu, N., Vural, Ö., Özcan, B., Öznur, N., Bedir ,T. And Derinöz, O., 2011.** The first report of West Nile virus infection in a child from Turkey. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 53, 317-319.
- Türk Tabipler Birliği, 2012.** Mardin-Savur İlçesi Sıtma Salgını İnceleme ve Değerlendirme Raporu. 29 s. ISBN 978-605-5867-67-6.

- Vaulin, O.V. and Novikov, Y.M., 2012.** Polymorphism and Interspecific Variability of Cytochrome Oxydase Subunit I (COI) Gene Nucleotide Sequence in Sibling Species of a and b *Anopheles messeae* and *An. beklemishevi* (Diptera: Culicidae). Вавиловский журнал генетики и селекции, 2 358-368
- White, G.B., 1978.** Systematic reappraisal of the *Anopheles maculipennis* complex. Mosquito Systematics, 10(1), 13-44.
- WHO, 1988.** Vector Bionomics in the Epidemiology and Control of Malaria. World Health Organisation document. WHO, Mondiale, 91 p.
- WHO, 1995.** Vector control fo malaria and other mosquito borne diseases. WHO Technical Report Serie 857, Geneva, 91 pp.
- WHO, 2004.** Regional Office for Europe, Vector-borne human infections of Europe Their distribution and burden on public health. Denmark, 144 s.
- WHO, 2005.** Scaling up the Response to Malaria in The WHO European Region. Progress towards curbing an epidemic 2000–2004, 55 p.
- WHO, 2008.** Meeting on progress achieved with malaria elimination in the WHO European Region. Ashgabat, Turkmenistan, 47 p.
- WHO, 2011.** World Malaria Report. ISBN:978 924 156440 3. 185 s.
- WHO, 2014.** World Malaria Report. ISBN:978 92 4 156483 0. 242 s.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Ankara’da doğdu. İlkokulu Vehbi Dinçerler İlköğretim Okulu’nda okuduktan sonra ortaokulu Kurtuluş Ortaokulu’nda okudu. Lise öğretimini Kurtuluş Lisesi’nde tamamlayan Elif ÖZTÜRK 2004 yılında Hacettepe Üniversitesi’de Biyoloji Öğretmenliğini kazanarak bir yıl Almanca yabancı dil hazırlığının arkasından Biyoloji Öğretmenliğini okudu. Üniversite öğrenimi sürecinde Proje ve laboratuvarlarda gönüllü olarak çalıştı ve ERASMUS öğrenci değişim hareketliliği ile bir dönemlik eğitimini Almanya’nın Dortmund ilinde okudu. 2010 yılında mezun olduktan sonra 2011 yılında MEB’na Biyoloji öğretmeni olarak atandı. İlk görevini Rize ilinin Çayeli ilçesinde yaptıktan sonra öğretmenlik görevini Çorum ilinin Bayat ilçesinde sürdürmektedir. 2015 yılında okulunda düzenlenen TÜBİTAK Bilim Fuarı’nda koordinatörlük yaparak bilime olan ilgi ve merakını öğrencileri ile paylaşmayı amaçladı.