

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SULTAN SAZLIĞI YÖRESİNDE SİVRİSİNEK TÜRLERİNDE
WOLBACHIA ENDOBAKTERİSİNİN PCR İLE ARAŞTIRILMASI VE
MOLEKÜLER GENOTİPLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Gamze YETİŞMİŞ**

**Danışman
Doç. Dr. Önder DÜZLÜ**

Yüksek Lisans Tezi

**Kasım 2015
KAYSERİ**

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

SULTAN SAZLIĞI YÖRESİNDE SİVRİSİNEK TÜRLERİNDE
WOLBACHIA ENDOBAKTERİSİNİN PCR İLE ARAŞTIRILMASI VE
MOLEKÜLER GENOTİPLENDİRİLMESİ

Hazırlayan
Gamze YETİŞMİŞ

Danışman
Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma, TÜBİTAK ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sırasıyla 114 O 646 ve TYL-2014-5176 kodlu projelerle desteklenmiştir.

Kasım 2015
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

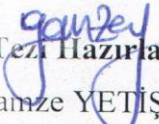
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

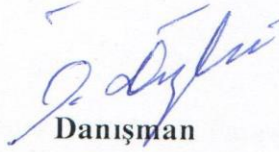
Adı-Soyadı: Gamze YETİŞMİŞ

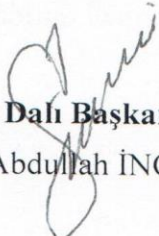
İmza : 

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sultan Sazlığı Yöresinde Sivrisinek Türlerinde *Wolbachia* Endobakterisinin PCR ile Araştırılması ve Moleküler Genotiplendirilmesi” başlıklı yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Tez Hazırlayan
Gamze YETİŞMİŞ


Danışman
Doç. Dr. Önder DÜZLÜ


Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Doç. Dr. Önder DÜZLÜ danışmanlığında **Gamze YETİŞMİŞ** tarafından hazırlanan “**Sultan Sazlığı Yöresinde Sivrisinek Türlerinde *Wolbachia* Endobakterisinin PCR ile Araştırılması ve Moleküler Genotiplendirilmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

20/11/2015

JÜRİ

İmza

Danışman : **Doç. Dr. Önder DÜZLÜ** (ERÜ Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

Üye : **Prof. Dr. Abdullah İNCİ** (ERÜ Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

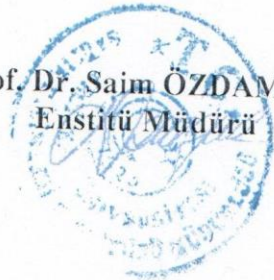
Üye : **Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ** (OMÜ Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 24.12.2015 tarih ve 709 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

24/12/2015

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın her aşamasında bilgi birikimiyle bana her zaman yol gösteren, ilgi ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Önder DÜZLÜ'ye, her türlü bilgi birikimlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Abdullah İNCİ ve Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM'a, laboratuvar çalışmalarında desteğini aldığım Öğr. Gör. Dr. Zuhale ÖNDER, Araş. Gör. Arif ÇİLOĞLU, Biyolog Gözde ŞAHİNGÖZ ile Biyolog Zekiye KOÇER'e, maddi ve manevi yönden desteklerini her zaman hissettiğim sevgili aileme ve yüksek lisans tezim süresince malzeme bazında 114 O 646 ve TYL-2014-5176 kodlu projelerle destek sağlayan TÜBİTAK ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürü borç bilirim.

Gamze YETİŞMİŞ
Kayseri, Kasım 2015

**SULTAN SAZLIĞI YÖRESİNDE SIVRİSİNEK TÜRLERİNDE *WOLBACHIA*
ENDOBAKTERİSİNİN PCR İLE ARAŞTIRILMASI VE MOLEKÜLER
GENOTİPLENDİRİLMESİ**

Gamze YETİŞMİŞ

T.C. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2015

Danışman: Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

KISA ÖZET

Bu çalışma, Kayseri'deki Sultan Sazlığı yöresinden toplanmış sivrisinek örneklerinde *Wolbachia* endobakterisinin moleküler olarak araştırılması ve saptanan pozitif izolatların genotiplendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TYL-2014-5176 kod no'lu araştırma projesi kapsamında, araştırma yöresinden toplanmış toplam 400 sivrisinek türünün 296'sı *Culex pipiens*, 63'ü *Aedes vexans* ve 41'i *Culiseta annulata* olarak tanımlanmıştır. İdentifikasyonları yapılan erkek ve dişi ergin sineklerden bireysel olarak genomik DNA ekstrakte edilmiş ve DNA'lar *Wolbachia* yüzey protein (*wsp*) gen bölgesinin amplifikasyonu yönünden incelenmiştir. DNA ekstraksiyonunu takiben *wsp* gen bölgesinin yaklaşık 600 bp'lik kısmını amplifiye eden *Wolbachia* spesifik primerler ile PCR analizleri yapılmıştır. İncelenen 119 (%40,2) *Cx. pipiens* dışısında *Wolbachia* pozitifliği saptanırken, erkek *Cx. pipiens* örneklerinin hiçbirinde pozitiflik belirlenmemiştir. Bunun yanında *Ae. vexans* ve *Cs. annulata* örneklerinde de *Wolbachia* DNA'sı saptanmamıştır. Pozitif izolatlardan seçilen 10 izolata (EruWolCpip1-10) ait amplikonlar PCR primerleri ile klonlanmış ve plasmid pürifikasyonundan sonra sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA dizilerinin GenBank kayıtları gerçekleştirilmiş (KT964223- KT964232) ve GenBank'ta kayıtlı mevcut diğer bazı *Wolbachia* suşları ile ikili analizleri ve çoklu hizalamaları yapılarak filogenisi araştırılmıştır. Filogenetik analiz sonucu EruWolCpip1-10 izolatlarının *Wolbachia* B süper grubu ve wPip grubu içinde yer aldıkları belirlenmiştir. Filogenetik kıyaslamalara göre EruWolCpip1-9 izolatlarının kendi aralarında %100 identik oldukları ve bu izolatların EruWolCpip10 izolatıyla %0,5 genetik farklılık gösterdikleri saptanmıştır. Türkiye'den daha önce Kayseri yöresindeki *Cx. pipiens* örneğinden izole edilmiş ve GenBank'a girilmiş olan WolKys1 (JX474753) izolatının EruWolCpip1-9 izolatlarıyla

%100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde EruWolCpip1-9 izolatlarının wPip grubunda yer alan *Cx. pipiens* (DQ900652, AF301012, AF020060-61), *Peribadotes rhomboidaria* (EU288014), *Agriocnemis femina femina* (Brauer) (AY173941) ve *Eurema hecabe* (AB278203) *Wolbachia* izolatlarıyla da %100 identik oldukları belirlenmiştir. Daha önce Çankırı yöresindeki Ankara keçilerinden toplanmış *Bovicola limbata* bit örneklerinden oluşturulmuş genomik DNA havuzlarından elde edilerek GenBank kaydı yapılan ve wPip grubunda yer alan TrERUWolLice1 (KJ700416) izolatının da EruWolCpip1-9 izolatlarıyla %100 identiklik gösterdiği görülmüştür. wPip grubu içindeki ortalama genetik farklılık $0,28 \pm 0,11$ olarak belirlenirken, wPip grubu ile aynı süper grup (B) içerisinde yer alan Dei, Con ve Ori grupları arasındaki ortalama genetik farklılık ise sırasıyla $16,9 \pm 2,3$, $12,5 \pm 1,9$ ve $19,9 \pm 2,5$ bulunmuştur. Bunun yanında A süper grubunda yer alan Haw, Riw, Mel, Aus, Mors, Uni, Pap ve Alba grupları ile B süper grubundaki wPip grubu arasındaki genetik farklılık ise sırasıyla $23,5 \pm 3,0$, $17,6 \pm 2,3$, $19,1 \pm 2,5$, $22,0 \pm 2,8$, $21,0 \pm 2,7$, $22,3 \pm 2,9$, $22,0 \pm 2,8$ ve $20,5 \pm 2,6$ olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Kayseri Sultan Sazlığı yöresindeki sivrisinek popülasyonlarında *Wolbachia* endobakterisinin moleküler yaygınlığı ve genetik karakterleri hakkında bilimsel veriler elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Sivrisinek, moleküler karakterizasyon, Türkiye, *Wolbachia*

**INVESTIGATION OF *WOLBACHIA* ENDOBACTERIA IN MOSQUITO
SPECIES IN KAYSERİ PROVINCE BY PCR AND MOLECULAR
GENOTYPING OF THE ISOLATES**

Gamze YETİŞMİŞ

Erciyes University, Graduate School of Health Science

Department of Veterinary Parasitology

M. Sc. Thesis, November 2015

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Onder DUZLU

ABSTRACT

This study was performed to investigate *Wolbachia* endobacteria molecularly in the mosquito specimens collected from Sultan Sazlığı ecosystem in Kayseri from Turkey and to genotype the positive isolates. For this aim, a total of 400 mosquito samples collected from the study area was identified as 296 *Culex pipiens*, 63 *Aedes vexans* and 41 *Culiseta annulata* within the scope of research Project (No: TYL-2014-5176) supported by Erciyes University Research Fund. Genomic DNA was extracted from the identified mosquito specimens and examined by using the amplification of surface protein gene (*wsp*) region of the *Wolbachia* individually. After the DNA extraction, PCR analyses were carried out with *Wolbachia* specific primer pair which was amplified an approximately 600 bp region of the *wsp* gene. *Wolbachia* was determined in 119 (40.2%) female *Cx. pipiens* whereas no positivity was found in any male *Cx. pipiens*. In addition, no positivity was detected in any *Ae. vexans* and *Cs. annulata* specimens. The amplicons belonging to 10 selected positive isolates (EruWolCpip1-10) were cloned and sequenced following the plasmid purification. The obtained DNAs were deposited to GenBank (KT964223- KT964232) and pair wise analyses of the sequences and multiple alignments with some other *Wolbachia* strains available in the GenBank were performed and phylogenies were investigated. The phylogenetic analyses revealed that the obtained EruWolCpip1-10 isolates belong to *Wolbachia* super group B and wPip group. According to the phylogenetic comparisons, the EruWolCpip1-9 showed 100.0% identity within each other whereas these isolates exhibited 0.5% genetic difference with the EruWolCpip10 isolate. The WolKys1 (JX474753) isolate which was deposited to GenBank from Turkey previously and

isolated from *Cx. pipiens* in Kayseri exhibited 100.0% identity with EruWolCpip1-9 isolates. Similarly, EruWolCpip1-9 isolates showed 100.0% identity with *Cx. pipiens* (DQ900652, AF301012, AF020060-61), *Peribadotes rhomboidaria* (EU288014), *Agriocnemis femina femina* (Brauer) (AY173941), and *Eurema hecabe* (AB278203) *Wolbachia* isolates in wPip group. TrERUWolLice1 (KJ700416) isolate in wPip group which was obtained from the genomic DNA pools constructed from *Bovicola limbata* louse specimens from Angora goats in Cankiri province previously was found 100.0% identical with EruWolCpip1-9 isolates. While the mean genetic difference within the wPip group was determined as $0.28\% \pm 0.11$, the mean genetic difference among wPip and the other Dei, Con and Ori groups which are in the same super group (B) with wPip was found as $16.9\% \pm 2.3$, $12.5\% \pm 1.9$ and $19.9\% \pm 2.5$, respectively. In addition, the genetic differences among the wPip and the other Haw, Riw, Mel, Aus, Mors, Uni, Pap and Alba groups which belongs to A super group was detected as $23.5\% \pm 3.0$, $17.6\% \pm 2.3$, $19.1\% \pm 2.5$, $22.0\% \pm 2.8$, $21.0\% \pm 2.7$, $22.3\% \pm 2.9$, $22.0\% \pm 2.8$ and $20.5\% \pm 2.6$. In conclusion, scientific data were obtained with this study about the molecular prevalence and genetic characters of *Wolbachia* endobacteria in mosquito populations in Sultan Sazligi ecosystem in Kayseri.

Key words: Molecular characterization, mosquito, Turkey, *Wolbachia*

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	I
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	II
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	III
KABUL VE ONAY	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VIII
İÇİNDEKİLER	X
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Wolbachia</i> Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri	3
2.2. <i>Wolbachia</i> Türlerinin Filogenisi	3
2.3. <i>Wolbachia</i> Türlerinin Yayılışı	5
2.4. Artropodlarda <i>Wolbachia</i> Türleri	5
2.4.1. Feminizasyon	5
2.4.2. Partenogenezis	6
2.4.3. Erkek Öldürücülük.....	6
2.4.4. Sitoplazmik Uyumsuzluk	7
2.5. <i>Wolbachia</i> Enfeksiyonlarında Yatay ve Dikey Taşınma	8
2.6. <i>Wolbachia</i> Türlerinin Moleküler Genetiği.....	9
2.7. Sivrisineklerle Nakledilen Hastalıkların Biyolojik Kontrolünde <i>Wolbachia</i> Türlerinin Rolü	10
2.8. Vektör Rolü Üstlenen Sivrisinek Türleri İle İlgili Genel Bilgi	12
2.8.1. Sivrisineklerin Sistematiği	12
2.8.2. Sivrisineklerin genel biyolojisi	16
2.8.2.1. Sivrisineklerin habitat tipleri.....	16
2.8.2.2. Çiftleşme ve yumurta bırakma (ovipozisyon).....	17
2.8.2.3. Larva ve pupa dönemi.....	19
2.8.2.4. Erişkin sivrisineklerin yaşam süreleri	20
2.8.2.5. Sivrisineklerde hibernasyon ve estivasyon	20
2.8.2.6. Erişkin sivrisineklerin beslenme tipleri.....	20
2.8.2.7. Sivrisineklerin uçuş gücü.....	21
2.8.3. Sivrisineklerin Vektörlük Rollerini.....	21
2.8.4. Türkiye'de Bulunan Sivrisinek Türleri.....	21

3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Araştırma Sahası ve Sivrisinek Örneklerinin Toplanması	25
3.2. Laboratuvar Çalışmaları	27
3.2.1. Sivrisinek Örneklerinin Tür Teşhisleri	27
3.2.2. DNA Ekstraksiyonu ve Konsantrasyonların Belirlenmesi.....	27
3.2.3. DNA Amplifikasyonu ve Elektroforez	29
3.2.4. Wsp Genlerinin Klonlanması ve Plasmid İzolasyonu	30
3.2.4.1. Ligasyon basamağı.....	30
3.2.4.2. Transformasyon Basamağı.....	31
3.2.4.3. Koloni Screening PCR.....	32
3.2.4.4. Plasmid DNA	33
3.2.4.5. Restriksiyon ve PCR Analizleri	34
3.2.5. Klonlanan Wsp Genlerinin Tür Tayini için Sekans ve Filogenetik Analizleri	35
4. BULGULAR	36
4.1. İdentifiye Edilen Sivrisinek Türleri	36
4.1.1. <i>Aedes vexans</i> türleri	36
4.1.2. <i>Culex pipiens</i> türleri.....	37
4.1.3. <i>Culiseta annulata</i> türleri	38
4.2. Wsp Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları	39
4.3. Wsp Gen Bölgesinin Klonlama Sonuçları.....	40
4.4. Wsp Geninin Sekans ve Filogenetik Analizleri	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	63
6. KAYNAKLAR	68
ETİK KURUL KARARI	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. <i>Wolbachia</i> türlerinin farklı konaklardaki karakterizasyonu.....	9
Tablo 4.1. İncelenen sivrisinek örneklerinde <i>Wolbachia</i> prevalansı.....	39
Tablo 4.2. Kayseri yöresinden toplanmış sivrisinek örneklerinde belirlenen <i>Wolbachia</i> izolatlarının gen bölgesi, izolasyon kaynağı ve GenBank aksesyon numaraları.....	43
Tablo 4.3. Dünyadan ve Türkiye’den filogenetik kıyaslaması yapılan diğer bazı <i>Wolbachia</i> izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler.....	49
Tablo 4.4. Çoklu hizalamaları yapılan <i>Wolbachia</i> pozitif izolatlar ve Dünyadan ve Türkiye’den diğer bazı <i>Wolbachia</i> izolatlarının nükleotid kompozisyonları.....	51

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 2.1. <i>Wolbachia</i> 'nın <i>ftsZ</i> , <i>groEL</i> , <i>gltA</i> ve <i>dnaA</i> gen sekanslarına bağlı olarak türlerle göre dağılımının gösterimi	4
Şekil 2.2. Sitoplazmik uyumsuzluğun şematize gösterimi	8
Şekil 3.1. Araştırma sahası.	25
Şekil 3.2 Örnek toplama alanları	26
Şekil 3.3. Araştırma sahasından toplanan sivrisinek örnekleri.....	26
Şekil 3.4. Sivrisinek örneklerinin sıvı azot yardımıyla ezilmesi	27
Şekil 3.5. Elektroforez tankına ampikonların yüklenmesi	30
Şekil 3.6. pJET1.2/blunt klonlama vektörü	31
Şekil 3.7. LB katı besi yeri hazırlanma prosedürü	32
Şekil 3.8. LB katı besi yerinde üreyen koloniler	32
Şekil 3.9. LB katı besi yerinden alınan kolonilerin ampisilinli LB sıvı besi yerlerine ekimi ve 37°C'de sallayıcı üzerinde inkubasyonu.....	33
Şekil 4.1. Erkek (a) ve dişi (b) sivrisinek ayrımı.....	36
Şekil 4.2. <i>Aedes vexans</i> örnekleri	37
Şekil 4.3. <i>Culex pipens</i> örnekleri.....	38
Şekil 4.4. <i>Culiseta annulata</i> örnekleri	39
Şekil 4.5. <i>Wolbachia</i> izolatlarının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesini amplifiye eden primerler ile PCR sonucu elde edilen ampikonların jel elektroforezde görünümü.....	40
Şekil 4.6. Transformasyon sonucu besi yerinde oluşan koloniler	41
Şekil 4.7. Transformasyon basamağında 2. inkübasyon basamağı sonucu oluşan koloniler.....	41
Şekil 4.8. Transforme hücrelerde <i>wsp</i> gen bölgesinin koloni PCR'ı sonucu ampikonların jel agarozda görünümü	42
Şekil 4.9. Saflaştırılan plasmidlerin restrüksiyon enzimleri ile kesimi sonucu izolatların <i>wsp</i> gen bölgesine ait DNA'ların agaroz jelde görünümü	42
Şekil 4.10. EruWolCpip1 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964223).....	44
Şekil 4.11. EruWolCpip2 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964224).....	44
Şekil 4.12. EruWolCpip3 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964225).....	45

Şekil 4.13. EruWolCpip4 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964226).....	45
Şekil 4.14. EruWolCpip5 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964227).....	46
Şekil 4.15. EruWolCpip6 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964228).....	46
Şekil 4.16. EruWolCpip7 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964229).....	47
Şekil 4.17. EruWolCpip8 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964230).....	47
Şekil 4.18. EruWolCpip9 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964231).....	48
Şekil 4.19. EruWolCpip10 izolatının parsiyel <i>wsp</i> gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964232).....	48
Şekil 4.20. <i>Culex pipiens</i> örneklerinde pozitif belirlenen <i>Wolbachia</i> izolatları ile Dünya'dan ve Türkiye'den analizleri yapılan diğer bazı izolatların <i>wsp</i> gen dizilimlerinin pairwise analizleri.....	53
Şekil 4.21. Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanmış <i>Cx. pipiens</i> örneklerinde belirlenen <i>Wolbachia</i> izolatları ile Dünya'daki ve Türkiye'deki diğer bazı <i>Wolbachia</i> izolatlarının partial <i>wsp</i> gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları.....	60
Şekil 4.22. Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanan <i>Culex pipiens</i> örneklerinde saptanan <i>Wolbachia</i> izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer <i>Wolbachia</i> izolatlarının <i>wsp</i> gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları	62

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Wolbachia türleri, Rickettsiaceae familyasına ait gram negatif endosymbiont bir alfa protoeobakteridir. Bu bakteriler insektlerde, arachnidlerde, crustaceanlarda ve filarial nematodlarda endosymbiont olarak bulunabilmektedir (1). İnsektlerdeki prevalans oranı oldukça yüksek olup insekt türlerinin yaklaşık %65'i bu bakteriyle enfektedir. *Wolbachia* türleri konaklarının üreme sistemleri üzerine etki ederek sitoplazmik uyumsuzluk, partenogenesis, erkeklerde feminizasyon gibi etkilere sebep olmaktadır (2-7). *Wolbachia* spp. ilk kez 1924 yılında Herting ve Wolbach tarafından *Culex pipiens*'in (Diptera: Culicidae) üreme ile ilgili dokularında bildirilmiştir. 1936 yılında bu bakteri *Wolbachia pipientis* olarak isimlendirilmiştir (8). 16S rDNA, protein-coding gen (groEL) ve *Wolbachia* surface protein (wsp) gen bölgelerine göre yapılan sınıflandırmada bu bakterinin, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* ve *Neorickettsia* türlerinin bulunduğu Anaplasmataceae ailesinde yer aldığı konfirme edilmiştir (1, 4). Filogenetik çalışmalarda *Wolbachia* soyunun “super groups” olarak adlandırılan 8 major cladde (A-H) yer aldığı görülmüştür. A ve B süper gruplarının artropodlarda (9), C ve D süper gruplarının filarial nematodlarda (10), E süper grubunun kanatsız insektlerde (11), F süper grubunun termit ve akrep gibi artropodlarda (12), G süper grubunun örümceklerde ve H süper grubunun ise termitlerde ve *Dipetalonema gracile*'de bulunduğu rapor edilmiştir (13, 14).

Bu çalışmada, Afrika, Avrupa ve Asya arasında göçmen kuşlar için Avrupa ve Ortadoğu'nun en önemli konaklama istasyonlarından biri olan Kayseri il sınırlarında Develi, Yahyalı ve Yeşilhisar ilçelerinin oluşturduğu üçgen içerisinde yer alan Sultan Sazlığı ekosistemindeki sivrisinek türlerinde endosymbiont *Wolbachia* bakterisinin PCR ile araştırılması ve saptanan pozitif örneklerin wsp gen bölgesi yönünden moleküler

analizlerinin yapılarak GenBank kayıtlarının gerçekleştirilmesi ve GenBank'ta Türkiye'den ve dünyadan daha önce bildirilmiş mevcut bazı *Wolbachia* izolatlarıyla olan filogenetik yakınlıklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Wolbachia* Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri

Wolbachia türlerinin Systema Naturae 2000'e göre sistematikteki yerleri aşağıdaki gibidir (15).

Biota

Domain: "***Bacteria***" (Haeckel 1894) C.R. Woese et al. 1990

Phylum: "***Proteobacteria***" Garrity et al. 2005

Class: ***Alphaproteobacteria*** Garrity et al. 2006

Order: ***Rickettsiales*** Gieszczykiewicz 1939

Family: ***Anaplasmataceae*** Philip 1957

Genus: ***Wolbachia*** Hertig 1936

Wolbachia melophagi (Nöller 1917) Philip 1956

Wolbachia persica Suitor & Weiss 1961

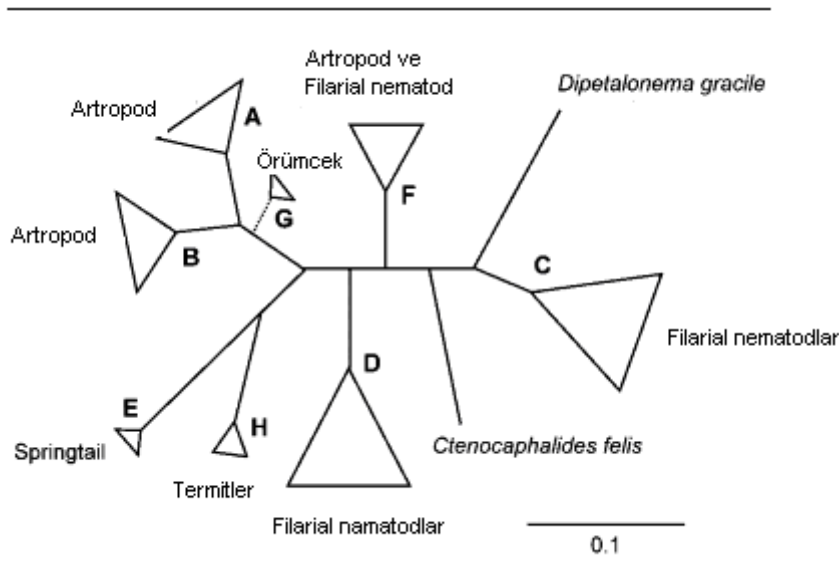
Wolbachia pipientis Hertig 1936

2.2. *Wolbachia* Türlerinin Filogenisi

Wolbachia spp. ilk kez 1924 yılında Hertig ve Wolbach tarafından sivrisineğin üreme dokularında saptanmış gram negatif bir bakteridir. Bu türün ilk tanımlanması 1936 yılında *Wolbachia pipientis* olarak aynı sinek türünde Hertig tarafından yapılmıştır (16, 17).

Wolbachia spp. ile ilgili iki buluş oldukça önemlidir. Bunlardan ilki Legrand ve ark. (18)'nın, isopodlarda feminizasyonu indükleyen sitoplazmik kalıtım faktörlerinin keşfi (18), diğeri ise Stouthamer ve ark. (5)'nın *Trichogramma* yaban arısının bazı suşlarında dişi partenogenezin antibiyotik tedavisi ile iyileştirilebileceğinin bulunmasıdır. Moleküler filogenetik yöntemlerin kullanılması ile hücre içi bu mikroorganizmanın identifiye edilmesi bilimsel çalışmaları kolaylaştırmıştır (9). DNA-DNA hibridizasyonu ve biyokimyasal parametreler gibi geleneksel yöntemlerle bakterilerin tür ve cinslerini belirlemek mümkün olamamıştır. *Wolbachia*'nın 16S rRNA gen sekansının filogenetik analizleri *Ehrlichia*, *Anaplasma* ve *Neorickettsia* gibi Rickettsia'lar ile filogenetik olarak yakın olduğunu göstermiştir (17, 9).

Wolbachia spp., *ftsZ* (hücre bölünmesi geni), *groEL* (bakteriyel ısı şok proteini), *gltA* (sitrat sentaz) ve *dnaA* gen sekanslarına bağlı olarak A'dan H'ye kadar altı süper gruba ayrılmıştır. *Wolbachia*'nın A ve B süper grupları artropodların büyük bir kısmını, C ve D süper grupları nematodları, E süper grubu yay kuruğu böceğini (springtail), F süper grubu bazı artropod ve nematodları, G süper grubu örümcekleri ve H süper grubu da termitleri ve *Dipetalonema gracile*'yi enfekte etmektedir (17, 19, 20). Filarial nematodlardan *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* ve *Litomosoides sigmodontis* D süper grubunda, *Onchocerca* ve *Dirofilaria* C süper grubunda yer almaktadır (Şekil 2.1) (17, 19, 21, 22).



Şekil 2.1. *Wolbachia*'nın *ftsZ*, *groEL*, *gltA* ve *dnaA* gen sekanslarına bağlı olarak türlere göre dağılımının gösterimi (17)

2.3. *Wolbachia* Türlerinin Yayılışı

Wolbachia türleri dünya genelinde çok yaygın görülen bir bakteridir (9). Yapılan araştırmalarda 63 artropod türünden (Aracnida 2, Insecta 61) 48'inde (%76), 20 filarial nematod türünün 18'inde (%90) *Wolbachia* türleri tespit edilmiştir. *Wolbachia*'nın yayılması ve yoğunluğunun sistematik incelemeleri PCR'a dayalı metodlarla mümkün olmaktadır. 16S rRNA, *ftsZ* ve *wsp* gen çalışmaları ve spesifik primerlerle yapılan PCR denemeleri *Wolbachia*'nın konaklarının bulunmasına olanak vermiştir. *Wolbachia*'nın saptandığı insekt takımları Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Orthoptera olarak belirtilmiştir (23). *Wolbachia* türlerinin artropodların yanında filarial nematodlarda da yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiştir (21, 23).

2.4. Artropodlarda *Wolbachia* Türleri

Wolbachia türleri ilk kez 1924 yılında *Rickettsia* benzeri mikroorganizma olarak keşfedilmiştir. 16S rRNA sekansları ile morfolojik olarak *Rickettsia* türlerine yakın olduğu doğrulanmıştır (23, 24). Üç ana artropod taksonunda (insektler, crustacea ve arachnidler) *Wolbachia* türleri tespit edilmiş olup bunlar içerisinde insektler en yaygın konak olma özelliği taşımaktadır (25, 26). Bütün insekt türlerinin en az %20'si bu bakteri ile enfektedir. Artropodların üreme dokularında bulunan *Wolbachia* spp., enfekte dişilerin yumurta sitoplazması yoluyla taşınır ve konağın üreme dokularını değiştirir. Bu değişiklikler; insektlerde sitoplazmik uyumsuzluk ve erkek öldürücülük, yaban arılarında partenogenez, kara isopodlarında feminizasyon ve sitoplazmik uyumsuzluktur (23, 24, 27). Artropodlarda *Wolbachia* spp., sitoplazmik uyumsuzluk ve cinsiyet oranını bozma gibi farklı fenotiplerin oluşması için gereklidir (24). Partenogenetik *Wolbachia* spp., *Wolbachia*'nın A ve B süper gruplarında tespit edilmiştir (23).

Sitoplazmik uyumsuzluk ilk kez kırmızı örümceklerden *Tetranychus urticae* ve *T. turkestani*'de saptanmıştır (28). Gotoh ve ark. (29) yaptıkları çalışmada, birçok örümcekte *Wolbachia* enfekte erkek ile enfekte olmayan dişileri çaprazladığında sitoplazmik uyumsuzluğun olmadığını göstermişlerdir. Hurst ve ark. (7) *ftsZ* gen çalışmaları ile iki insekt türünde (*Adalia bipunctata*, *Acraea encendon*) erkek öldürücü *Wolbachia* spp.'yi tespit etmişlerdir.

2.4.1. Feminizasyon

Kara isopodlarında (*Armadillidium vulgare*) *Wolbachia* endobakterisinin cinsiyet belirlenmesini bozarak ve genetik erkekleri fonksiyonel dişilere dönüştürerek

feminizasyonu (enfekte erkeklerin dişi ya da infertil yalancı dişiler olarak gelişmesi) teşvik ettiği rapor edilmiştir (9, 30, 31). Crustacea’larda cinsiyet farklılığı androjen bezler tarafından üretilen erkeklik hormonları ile kontrol edilmektedir. Eğer androjen bezleri farklılaşması varsa, hormon, erkek gelişimini teşvik etmektedir. Androjen bez farklılaşması yoksa dişi gelişmesi gerçekleşmektedir. *Wolbachia* spp., konağının feminizasyonunu teşvik eden bezlerin gelişimini baskılayarak erkekleri dişilere dönüştürmektedir. Bazı *Wolbachia* türleri, androjen bezler ve androjen hormon üzerinde etkili olarak feminizasyona neden olurken, bazı türler sadece androjen bez gelişimini engelleyerek etkili olmaktadır. *Wolbachia* endobakterisi, erkek konak hormonlarını dişi yönünde değiştirerek bu konakların yumurta üretmelerine neden olmaktadır (9, 29, 32, 33).

2.4.2. Partenogenezis

Partenogenezisi teşvik eden *Wolbachia* türleri, Hymenopter’lerde (*Trichogramma*, *Aphytis*, *Encarsia*, *Leptopilina* ve *Muscidifurax*) yaygın şekilde bulunur (9, 20, 34, 35). Fakat son yıllarda acar’larda ve thrips’lerde de bulunduğu belirtilmiştir (19). *Wolbachia* türleri, çiftleşmeye gerek olmadan sadece dişilerin doğmasına izin verecek şekilde konağa müdahale etmektedir. Döllenenmemiş yumurtalardan dişilerin gelişimi, ergin dişiler tarafından taşınan mikroorganizmaların varlığı ile artmaktadır. *Wolbachia* türleri, çekirdekteki gamet duplikasyonu sayesinde, döllenmemiş yumurtalardan dişilerin gelişimine izin vermekte olup partenogenetik dişilerin üretilmesini teşvik etmektedir. Bu partenogenik dişiler, seksüel erkeklerle çiftleştiklerinde diploid dişiler meydana gelmektedir (9, 35, 36). Bakteri anneden yavruya vertikal olarak taşındığı için, konakların üreme sistemlerindeki bu manipülasyon gelecek nesillere *Wolbachia* spp.’nin taşınımını artırmaktadır (34).

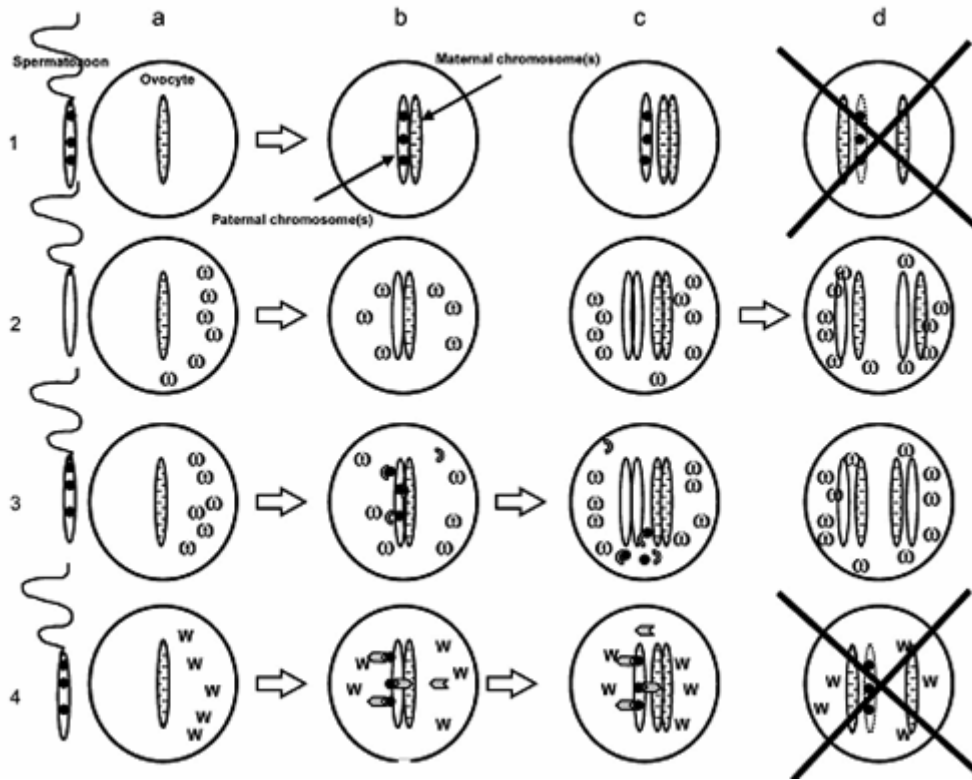
2.4.3. Erkek Öldürücülük

Erkek öldürücü *Wolbachia* türleri, Coleoptera (*Adalia bipunctata*), Lepidoptera (*Acraea encedon*) ve Diptera dizilerindeki insektlerde saptanmış olup bu *Wolbachia* türlerinin B süper grubunda yer aldıkları bildirilmiştir (7, 19, 20). Erkek embriyo öldürücü bakteriler, yumurtadan çıkan bireylerin henüz açılmayan kardeş yumurtalarla beslendiği türlerde ya da açılan yumurtadan çıkan kardeşler arasında besin açısından rekabet olan böceklerde yaygındır. Bunlarda dişi konaklar yumurtadan çıktığı zaman erkeklerle besin açısından rekabete girmemektedirler. Çünkü dişiler, erkekleri oluşturacak yumurtalarla beslenirler. Bu durumda erkek konakların ölümü, dişi olan kardeşlerinin hayatta kalma

oranını artırmakta ve *Wolbachia* ile enfekte dişilerin hayatta kalma şansı da artmaktadır (7, 32, 33, 36, 37).

2.4.4. Sitoplazmik Uyumsuzluk

1950’li yıllarda *Culex* türlerinde tür içi çaprazlamalarda uyumsuzluk olduğu ya çok az nesil üretebildikleri ya da hiç üretemedikleri keşfedilmiş olup bu durum sitoplazmik uyumsuzluk olarak isimlendirilmiştir. *Wolbachia* spp. ve *Culex* spp. arasında bir ilişkinin olduğu 1970’li yıllarda yapılan bir açılışmada belirlenmiş olup bu çalışmada, sitoplazmik uyumsuzluk ile antibiyotik tedavisi yapılarak elimine edilen *Wolbachia* spp. arasında bağlantı olduğu saptanmıştır (9). Sitoplazmik uyumsuzluk (CI), enfekte erkek ile enfekte olmayan dişiler arasında görülen bir döllenmiş yumurta ölümüdür (19, 38). Sitoplazmik uyumsuzluk mekanizması *Cx. pipiens*, *Drosophila simulans* ve *Nasonia vitripennis*’de çalışılmıştır (9, 20). Sitoplazmik uyumsuzluğun tek yönlü ve iki yönlü olmak üzere iki formu vardır. Tek yönlü uyumsuzluk, *Wolbachia* ile enfekte spermin, enfekte olmayan yumurtayı döllemesiyle olmaktadır. Karşıt bir çaprazlanmada, *Wolbachia* ile enfekte dişi ile enfekte olmayan erkek çiftleşmesi ise uyumludur. İki yönlü uyumsuzluk ise, *Wolbachia*’nın farklı suşları ile enfekte erkek ve dişi arasında olmaktadır (Şekil 2.2). CI’nın etkinliğinin belirlenmesinde bakteriyel ırk, konak genotipi ve bakteriyel yoğunluk olmak üzere birkaç faktör bulunmaktadır (9).



Şekil 2.2. Sitoplazmik uyumsuzluğun şematize gösterimi (içerisinde nokta olan spermatozoonlar *Wolbachia* enfekte, ω ve w farklı türlerde *Wolbachia* etkenleri) 1) *Wolbachia* ile enfekte olan erkeğin spermatozoonu ile enfekte olmayan dişinin yumurtası birleştiğinde (b) dişiden maternal kromozomları kendini eşlerken, erkekten gelen maternal kromozomlar dublike olamaz (c) ve erken embriyonik ölüm meydana gelir. 2) Enfekte olmayan erkek spermatozoonu ve enfekte olan dişi yumurtası birleştiğinde normal gelişim devam eder. 3) Erkek veya dişi aynı *Wolbachia* türü ile enfekte ise normal gelişim devam eder. 4) Erkek ve dişi farklı *Wolbachia* türleri ile enfekte ise maternal kromozomlar dublike olamaz ve erken embriyonik ölüm gerçekleşir (19).

2.5. *Wolbachia* Enfeksiyonlarında Yatay ve Dikey Taşınma

Artropodlarda, tür içindeki yeni *Wolbachia* enfeksiyonları yatay taşınma ile olmaktadır. *ftsZ* geni üzerinde yapılan çalışmalarda *Wolbachia* spp.'nin yatay taşındığı açıkça gösterilmiştir. Yatay taşınma *Wolbachia* spp.'nin B suşlarında gösterilmiştir. Parazitik arı *Nasonia giraulti* ve et sineğindeki her bir *Wolbachia* suşunun filogenetik olarak yakın akraba oldukları belirlenmiştir. Bu sonuç ile parazitler ve konakları arasında yatay taşınmanın olduğu rapor edilmiştir (9). Tesbih böceğinde bireyler arasındaki kandan kana olan temas yine yatay taşınma ile olmaktadır (20).

Bakterinin dişi sitoplazması yolu ile dikey olarak taşındığı ve erkek konakları öldürmesi ile ilgili ilk kayıt 1950'li yıllarda bildirilmiştir (39). *Wolbachia* spp., konak popülasyonunda anneden yavruya dikey olarak taşınmasına rağmen, moleküler filogenetik çalışmalar yatay taşınmanın daha yaygın olduğunu göstermiştir (Tablo 2.1) (40).

Tablo 2.1. *Wolbachia* türlerinin farklı konaklardaki karakterizasyonu (24)

Konak	Simbiosis	Taşınmaması	Etkileri	Lokalizasyonu
Artropodlar	Çoğunlukla parazit, bazı durumlarda mutualizm	Vertikal ve Horizotal	CI, MK, Partenogenesis, Feminizasyon, oogenesis	Ovaryumlar, testisler, embriyo, vücut boşlukları
Nematodlar	Mutualizm	Vertikal	Embriyogenesis, larval gelişim ve erişkinin hayatını devam ettirebilmesi	Ovaryumlar, embriyolar ve hipoderma

2.6. *Wolbachia* Türlerinin Moleküler Genetiği

Wolbachia türlerinin patojen etkileşimi ve reproduktif fenotiplerin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar genellikle transenfekte sivrisineklerde *Wolbachia* türlerinin invazyonu için temel destekçi olan CI mekanizmasını açıklığa kavuşturmaya yönelik olmuştur. *Drosophila* sp. ve sivrisineklerde CI uyarılması için önerilen efektörler arasında ankyrin (ANK) proteini önem arz etmektedir (41-44). Prokaryotlarda nispeten nadir görülmesine rağmen (45) ANK genleri özellikle *Wolbachia* genomunda yoğun olarak bulunmaktadır (44, 46, 47). ANK genleri, transkripsiyonel regülatörler, toksinler ve siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinde, hücre döngüsü düzenlenmesi ile alakalı proteinlerde bulunmaktadır (45, 48-50). Konaklarında farklı fenotipleri uyaran *Wolbachia* suşlarında ortholog ANK proteinleri büyük ölçüde değişkenlik göstermekte olup bazı suşlarda bulunmamaktadır. Bu değişkenliğin muhtemelen ANK proteinlerinin affinitesi, özgünlüğü, lokalizasyonu, ekspresyonu ve fonksiyonlarıyla alakalı olduğu bildirilmektedir (42).

İnsekt *Wolbachia* suşlarının %90'ından fazlasını enfekte eden WO *Wolbachia* bakteriyofajının, insektlerde CI'yı indüklediği, özellikle de *Wolbachia* ekstraktlarından elde edilen viral filtratların, *Nasonia* yaban arılarında CI'ı uyardığı bildirilmiştir (51-53). Virulens faktör VrlC gibi WO kodlayan bir kısım gen serilerinin, *Cx. pipiens* sivrisineklerinde CI'nın indüklenmesi ve bu genlerdeki sekans varyasyonu arasındaki korrelasyondan dolayı *Wolbachia* türlerinin patojenitesinde rol oynadığı saptanmıştır (54, 55). Buna karşın *Culex* soyundaki sivrisineklerde CI'nın indüklenmesi ve faj kapsid genlerinin varlığı arasında ise bir korrelasyon bulunamamıştır (56). Bordenstein ve ark. (57) daha düşük *Wolbachia* yoğunluğu ve daha az CI ile yüksek *Wolbachia*-faj yoğunluğu bağlantıları olan bir

model önermişlerdir. Hücresel seviyede CI, *Drosophila* ve *Nasonia* yaban arılarında çalışılmıştır (58). Fenotipik etkilerin moleküler bazının belirlenmesi, iki faktör tarafından engellenmiştir. *Wolbachia* spp.'nin zorunlu simbiyotik doğası, hücresiz kültürde bu bakterinin büyümesini imkansız kılmakta olup bu genetik testin gerçekleştirilmesini mümkün kılan herhangi bir genetik-transformasyon teknolojisi bulunmamaktadır (47, 59-63).

2.7. Sivrisineklerle Nakledilen Hastalıkların Biyolojik Kontrolünde *Wolbachia* Türlerinin Rolü

Wolbachia endobakterisinin kalıtsal olarak sivrisineklere transenfeksiyonu yeni bir biyokontrol yaklaşımı akla getirmiştir. Örneğin meyve sineklerindeki *Wolbachia* türü, sivrisinek popülasyonunda soyunu devam ettirebilir, yaşam süresini azaltabilir, üremelerini etkileyebilir ve patojen replikasyonuna engel olabilir. *Wolbachia* ile enfekte edilen *Aedes aegypti* sivrisinekleri, Avustralya'da dengue fever salgınının meydana geldiği bölgelerde yayılmıştır ve Güney ve Doğu Asya'da dengue fever'ın endemik olduğu bölgelerde bu teknoloji uygulanmaya başlanmıştır (64).

Özellikle sivrisinekler tarafından bulaştırılan insect-borne enfeksiyonlar, insanlarda mortalite ve morbiditenin önde gelen sebepleri arasındadır. Örneğin sıtmanın sık görüldüğü bölgelerde sağlık ve sosyo-ekonomik gelişmeler dramatik bir hal almış olup her yıl 1-2 milyon ölüm görüldüğü tahmin edilmektedir. Her yıl dengue humması, sarı humma, Japon ensefalitisi, Batı Nil virusu, Chikungunya ve lenfatik filariasisi gibi sivrisinek kaynaklı hastalıkların insidansı, insanların seyahatleri, hızlı kentleşme, koruyucu halk sağlığı tedbirlerinin başarısızlığı gibi nedenlerden dolayı artmaktadır (65-68). Dengue fever, insanlardaki arboviral hastalıkların en önemlilerinden biri olup 100'den daha fazla ülkede dünya popülasyonunun %40'ını tehdit etmekte ve yıllık 50-100 milyon vaka meydana geldiği tahmin edilmektedir (69, 70). Dengue virusları (DENV), öncelikli olarak enfekte dişi *Aedes aegypti*, nadir olarak da *Aedes albopictus* sivrisinekleri tarafından nakledilmektedir (71). Dengue fever'a karşı henüz etkili bir aşı ve tedavi olmayıp kontrol metodları hastalığın insidansındaki global artışa engel olmak için yeterli değildir (72, 73). Hedef sivrisinekler için kullanılan insektisidler, hastalık kontrolünün bir yolu olarak etkili olabilir fakat çok pahalı ve çevre için sakıncalıdır. Bu, yoğun popülasyonlu kentsel bölgelerde üreyen *A. aegypti* gibi antropofilik türler için özellikle belirgindir (74). Ayrıca, sivrisineklerin insektisidlere tekrarlayan maruziyetleri, insektisid

direnci gelişmesine yol açmış ve daha pahalı alternatif bileşimlerin kullanımına ihtiyaç artmıştır. İnsektisitler, salgın boyunca dengue fever'ın kontrolü için kullanılır fakat etkinliği şüphelidir (75, 76). Sivrisinek ısırmalarına karşı kişisel korunma (kovucu veya ağlarla), balık veya kopepod gibi sivrisinek predatörlerinin geliştirilmesi, sivrisineklerin yumurtlama alanlarının ortadan kaldırılması gibi çevre yönetiminde alternatif yaklaşımları amaçlamak bazı durumlarda faydalı olmuştur. Fakat bu stratejiler sürekli müdahale gerektirir ve kentsel alanlarda uygulaması zor ve pahalı olabilir (75, 76).

Sivrisinek kaynaklı hastalıkların kontrolü için sivrisineklere karşı kullanılan silahlara ek olarak yakın zamanda, simbiyotik bir bakteri olan *Wolbachia pipientis*'in potansiyel kullanımı ortaya çıkmıştır. Bu bakterinin kullanılması, çevreye karşı insektisid bazlı yaklaşımlardan daha zararsız ve daha az maliyetli olmasından dolayı oldukça yararlı bulunmuştur. 1967'lerde *Culex* soyundaki sivrisineklerin kontrolünde *Wolbachia* ile uyarılan sitoplazmik uyumsuzluk mekanizması bir aracı olarak önerilmiştir (77). 1970'lerde ise bu yöntem Hindistan'da sivrisineklerin eradikasyonu için denenmiştir. Fakat birkaç alanda deneme yapılmış olmasına karşın bu yöntemler saha çalışmalarında tam işlevsel olarak uygulanamamıştır (78).

Son yıllarda *Wolbachia* yoluyla insekt-borne hastalıkların kontrolüne olan ilgi yeniden artmıştır. *Wolbachia* türleri konaklarında feminizasyon, partenogenezis, erkek öldürücülük ve sitoplazmik uyumsuzluk gibi konaklarının zararına etki edebildikleri gibi; konağının beslenmesini, gelişimini, üretkenliğini veya oogenesisini etkileyerek ve patojenlere karşı direnç oluşturmalarını sağlayarak direkt konaklarının yararına da çalışabilmektedirler (79-93). Baz *Wolbachia* suşlarının ilginç bir şekilde konak hücreleriyle birlikte replikasyonlarını senkronize etme kabiliyetlerini kaybettikleri ve konaklarının ömürlerini dramatik şekilde azaltabildikleri görülmüştür. wMelPop *Wolbachia* suşunun, ergin *Drosophila*'nın yaşam süresini %50'den daha fazla oranda azalttığı tespit edilmiştir (94). Konaklarının beyin dokularında bulunan ve hızlı bir şekilde replike olan ve "popcorn" olarak isimlendirilen wMelPop suşu, ergin dişi sivrisineklerin yaşam sürelerini kısalttıklarından dolayı sivrisinek kaynaklı hastalıkların kontrolü için potansiyel bir biyolojik ajan olarak öngörülmüştür (95-97).

Sıtma ve denge fever gibi sivrisinek kaynaklı enfeksiyonların etkenleri doğal olarak

farklılık gösterbildikleri halde, bu etkenlerin nakli her zaman için sivrisineklerin yaşam sürelerinden etkilenmektedir. Bu durumun sebebi oldukça basittir; patojenler sivrisineğin tükrük bezlerine ulaşmadan önce, başarılı bir şekilde yeni bir insan konağa nakledilebilmesi için sivrisineğin vücudunda replike olmak zorundadır. Sivrisinekteki bu gelişimsel periyod ekstrasik inkubasyon periyodu (EIP) olarak isimlendirilmektedir. Bu nedenle, bu inkubasyon periyodundaki süreden (genellikle 10-14 gün) daha fazla yaşam süresine sahip dişi sivrisinekler epidemiyolojik olarak önemli vektör kabul edilmektedirler (98). Böylece sivrisineğin yaşam süresini azaltmayı amaçlayan hastalık kontrol yaklaşımları, patojenlerin naklini azaltmak amaçlı iyi bir yöntem olabilir (95, 97, 99, 100). Enfeksiyon kontrolünde wMelPop *Wolbachia* suşunun kullanımı, bu suşun EIP'den daha uzun yaşam süresine sahip sivrisineklere aktarılmasını gerektirmektedir. Populasyon alanlarının içinde *Wolbachia* enfeksiyonunun yayılımı ve devamı, bu stratejinin başarısı için can alıcı noktadır. Sivrisineklerin ömrünü azaltmak için gecikmeli etki eden insektisitler ya da sivrisinek tuzaklarındaki *Beauveria bassiana* gibi entomopatojenik mantarların sporlarının kullanımı gibi paralel yaklaşımlar da geliştirilmiştir (101-104).

2.8. Vektör Rolü Üstlenen Sivrisinek Türleri İle İlgili Genel Bilgi

2.8.1. Sivrisineklerin Sistematığı

Diptera takımına bağlı *Nematocera* alt takımında, *Chaoboridae*, *Dixidae* ve *Culicidae* aileleri bulunmaktadır. Sivrisinekler, *Culicidae* ailesinde yer almakta olup sadece bu ailedekilerde kan emme özelliği görülmektedir (105).

Erişkin *Culicid*'ler, öne doğru yönelmiş uzun bir hortuma sahip olup hortum boyu, baş ve gövdenin toplam uzunluğuna eşittir. Kanat damarları üzeri pullarla kaplıdır. Pullar kanat saçağını oluşturur. Subkostal damar dallara ayrılmadan kosta ve radius damarlarına paralel seyrederek. *Culicid* larvaları akuatiktir. Çok az bir kısmı predatördür (105). Bu güne kadar *Culicidae* ailesine ait toplam 3268 türün varlığı bildirilmiştir (106-110).

Culicidae'nin aile düzeyindeki monofilisi, bu aileye bağlı *Anophelinae*, *Culicinae* ve *Toxorhynchitinae* alt aileleri ile tanımlanmıştır (111). Bu sınıflandırma Belkin (112) ve Knight ve Stone (106) tarafından da kabul edilmiştir. Alt aileler içerisindeki yüksek filojeniye netleştirmek için tribus (kabile)'leri oluşturmak ilk defa Belkin (112) tarafından denenmiştir. Belkin (112), *Anophelinae* alt ailesinin, üst aile köküne daha yakın olduğu düşüncesi üzerinde tartışmış, Harbach ve Kitching (113) tarafından

yapılan çalışma ile Anophelinae'nin taksonomik yerinin alt aile olduğu kesinlik kazanmıştır. Yine bu çalışmanın sonucu olarak *Anophelinae* ve *Culicinae* geçerli monofiletik alt aileler olarak kabul edilirken, *Toxorhynchitinae*, *Culicinae* alt ailesi altında ayrı bir kabile seviyesine indirilmiştir.

Yapılan güncel değişiklikler sonucunda, *Culicidae* ailesinin alt cins düzeyinde sistematik sıralaması aşağıdaki listede verilmiştir (114).

Aile: Culicidae

1. Alt aile: Anophelinae

1.Cins: *Anopheles*

Alt cinsler: *Anopheles*, *Cellia*, *Kerteszia*, *Nyssorhynchus*

2.Cins: *Chagasia*

2. Alt aile: Culicinae

1.Tribus: Aedeomyiini

Cins: *Aedomyia*

Alt cinsler: *Aedeomyia*, *Lepiothauma*

2.Tribus: Aedini

1. Cins: *Aedes*

Alt cinsler: *Aedes*, *Aedimorphus*, *Alanstonea*, *Albuginosus*, *Belkinus*, *Bothaella*, *Cancraedes*, *Christophersiomyia*, *Diceromyia*, *Edwardsaedes*, *Fredwardsius*, *Huaedes*, *Indusius*, *Isoaedes*, *Leptosomatomyia*, *Lorrainea*, *Neomelaniconion*, *Paraedes*, *Pseudarmigeres*, *Scutomyia*, *Skusea*, *Stegomyia*

2. Cins: *Armigeres*

Alt cinsler: *Armigeres*, *Leicesteria*

3.Cins: *Ayurakitia*

4.Cins: *Eretmapodites*

5.Cins: *Haemagogus*

Alt cinsler: *Conopostegus*, *Haemagogus*

6.Cins: *Heizmannia*

Alt cinsler: *Heizmannia*, *Mattinglyia*

7.Cins: *Ochlerotatus*

1. Seksiyon Alt Cinsler: *Chaetocruimyia*, *Finlaya*, *Geoskusea*, *Halaedes*, *Kenknightia*, *Levua*, *Macleaya*, *Molpemyia*, *Mucidus*, *Nothoskusea*, *Ochlerotatus*, *Protomacleaya*, *Pseudoskusea*, *Rhinoskusea*, *Rusticoidus*, *Zavortinkius*

2. Seksiyon Alt Cinsler: *Abraedes*, *Aztecaedes*, *Gymnometopa*, *Howardina*, *Kompia*

8.Cins: *Opifex*

9.Cins: *Psorophora*

Alt cinsler: *Grabhamia*, *Janthinosoma*, *Psorophora*

10. Cins: *Udaya*

11. Cins: *Verrallina*

Alt cinsler: *Harbachius*, *Neomacleaya*, *Verrallina*

12.Cins: *Zeugnomyia*

3. Tribus: Culicini

1.Cins: *Culex*

Alt cinsler: *Acalleoemyia*, *Acallyntrum*, *Aedinus*, *Afroculex*, *Allimanta*, *Anoedioparpa*, *Barraudius*, *Belkinomyia*, *Carrollia*, *Culex*, *Culiciomyia*, *Deinocerites*, *Eumelanomyia*, *Kitzmilleria*, *Lasiosiphon*, *Lophoceraomyia*, *Lutzia*, *Maillotia*, *Melanoconion*, *Micraedes*, *Microculex*, *Neoculex*, *Phenacomyia*, *Thaiomyia*, *Tinolestes*

2.Cins: *Galindomyia*

4. Tribus: Culisetini

Cins: *Culiseta*

Alt cinsler: *Allotheobaldia*, *Austrotheobaldia*, *Climacura*, *Culicella*, *Culiseta*, *Neotheobaldia*, *Theomyia*

5. Tribus: Ficalbiini

1.Cins: *Ficalbia*

2.Cins: *Mimomyia*

Alt cinsler: *Etorleptiomyia*, *Ingramia*, *Mimomyia*

6. Tribus: Hodgesiini

Cins: *Hodgesia*

7.Tribus: Mansoniini

1.Cins: *Coquillettidia*

Alt cinsler: *Austromansonia*, *Coquillettidia*, *Rhynchotaenia*

2.Cins: *Mansonia*

Alt cinsler: *Mansonia*, *Mansonioides*

8. Tribus: Orthopodomyiini

Cins: *Orthopodomyia*

9. Tribus: Sabethini

1.Cins: *Isostomyia*

2.Cins: *Johnbelkinia*

3.Cins: *Limatus*

4.Cins: *Malaya*

5.Cins: *Maorigoeldia*

6.Cins: *Onirion*

7.Cins: *Runchomyia*

Alt cinsler: *Ctenogoeldia*, *Runchomyia*

8.Cins: *Sabethes*

Alt cinsler: *Davismyia*, *Peytonulus*, *Sabethes*, *Sabethinus*, *Sabeihoides*

9.Cins: *Shannoniana*

10.Cins: *Topomyia*

Alt cinsler: *Suaymyia*, *Topomyia*

11.Cins: *Trichoprosopon*

12.Cins: *Tripteroides*

Alt cinsler *Polylepidomyia*, *Rachionotomyia*, *Rachisoura*, *Tricholeptomyia*, *Tripteroides*

13.Cins: *Wyeomyia*

Alt cinsler: *Antunesmyia*, *Caenomyiella*, *Cruzmyia*, *Decamyia*, *Dendromyia*, *Dodecamyia*, *Exallomyia*, *Menolepis*, *Nunezia*, *Phorriomyia*, *Prosopolepis*, *JVyeomyia*, *Zinzala*

10. Tribus: Uranotaeniini

Cins: *Uranotaenia*

Alt cinsler: *Pseudoficalbia*, *Uranotaenia*

11. Tribus: Toxorhynchitini

Cins: *Toxorhynchites*

Alt cinsler: *Afrorhynchus*, *Ankylorhynchus*, *Lynchiella*, *Toxorhynchites*

2.8.2. Sivrisineklerin genel biyolojisi

Diptera takımının genel özelliği olarak sivrisinekler tam metamorfoz (holometabolar) geçirirler. Tüm sivrisinekler gelişimleri için akuatik habitatlara gereksinim duyarlar. Yumurtadan çıkıştan sonra dört larval dönem (L1-L4) ve pupa dönemini geçirerek erişkin döneme geçerler (115).

2.8.2.1. Sivrisineklerin habitat tipleri: Sivrisinekler, pratikte her çeşit durgun suda üreme potansiyeline sahiptirler. Az miktardaki sularda dahi çok fazla sayıda üreyebilirler. Atılmış teneke kutular, atılmış araba tekerlekleri, ağaç kovukları, yaprakların üzeri ve hayvanların ayak izlerinde biriken sularda, su depolarında, tuzlu bataklıklar gibi sularda ürerler (116). Su hayatına uyum sağlamış olan sivrisinek larvalarına hemen hemen her türlü su birikintisinde rastlamak mümkündür. Ancak, her sivrisinek türü her çeşit su birikintisinde bulunmayacağı gibi, türlere göre habitatlar bulunmaktadır (117). Ağaç kovuklarında biriken sular, *Ae. aegypti formosus*, *An. plumbeus* ve *Ae. afghanus* için üreme yerlerini teşkil eder. Su kapları, kavanozlar, atık araba lastikleri vb. gibi yapay su birikme yerleri *Ae. aegypti* için önemli üreme yerleridir. *Eretmapodites*, salyangoz kabuklarında ürer (105). Yengeç yuvaları ise doğal yer altı su kaynakları olup Neotropikal bölgede *Deinocerites* spp.'nın ürediği habitatlardır (105).

Culex ve *Culiseta* cinsleri kirli sulu habitatlarda bulunduğu halde, *Anopheles* ve *Aedes* cinsleri temiz sulu habitatlarda daha çok bulunmaktadır. *Anopheles sacharovi* her ne kadar çeltik tarlaları gibi temiz sulu habitatları tercih etse de fosseptik çukurlarında da rastlanmıştır (117). Yapılan çalışmalarla *Cx. pipiens* ve *Cs. longiareolata*'nın birinci derecede, *Cx. hortensis*'in de ikinci derecede olmak üzere belli bir habitat seçmedikleri, hemen her çeşit sularda bulunduğu belirlenmiştir (117).

Sivrisinek larvalarının bulunduğu habitatların tuzluluk derecesi geniş aralıklarda olabilir. Habitatların tuzluluğu, eriyen karların meydana getirdiği oligotropik sulardan, med cezirde sular çekilirken göllenen deniz suyunun buharlaşması ile tuzluluk derecesi deniz suyundan daha fazla olan sulara kadar farklı derecelerde bulunabilir. Herhangi belirli bir sivrisinek türü için, üreme yerinin genel özellikleri belirlenmiş olsa da istisnalarla her zaman karşılaşılmaktadır. Ovopozisyon sonrasında üreme yerindeki şartların değişimi, dişi sivrisineği larvanın tolere edebileceği farklı bir üreme yeri arayışına iter. Nitekim *An. multicolor* larvaları doğada yüksek tuz oranı içeren sularda

üremesine rağmen çeşme sularında gelişimlerini tamamlayabilmektedirler. *An. sergenti* larvaları ise, doğada tatlı sularda bulunmasına rağmen laboratuvarıda %0,5-0,75 NaCl tuzluluk oranında daha hızlı gelişim göstermektedir (105).

2.8.2.2. Çiftleşme ve yumurta bırakma (ovipozisyon): Dişilerin döllenmesi, pupadan erişkin döneme geçişten kısa bir süre sonra olur. Erkekler ilk önce pupadan erişkin döneme geçerler. Üreme yerleri etrafında kümeler halinde uçarak dişi sivrisineklerin çıkışını bekler halde görülebilirler. Dişi sivrisinek bu kümenin içine girer ve çiftleşme meydana gelir. Çiftleşmek için geniş alanlara ihtiyaç duyan türlere “eurygamous”, *An. sacharovi* gibi dar ve sınırlı alanlarda çiftleşebilen türlere ise "stenogamous" denir (116).

Sivrisinek türlerinin çoğunda, döllenmiş dişiler yumurtlamak için yılda bir ya da birkaç kez kan emme gereksinimi duyar. Dişi sivrisineklerin döllendikten sonra kan emerek yumurtlamalarına değin geçen süreye trofogoni dönemi denir. Her bir dönemin üç evresi vardır: a) Kan emmeye yönelik ve kan emme, b) Kanın sindirimi ve yumurtalıklarda yumurtaların gelişimi, c) Üreme yerlerine doğru uçmak ve burada yumurtlamak.

Yazın yeterli sıcaklıklarda bir kez kan emme yumurtaların gelişimi için yeterli olmaktadır. Kanın sindirimi süresince yumurtalıklardaki tüm yumurtalar olgunlaşır (trofogoni uyumu). Sonbaharda havaların soğuması ile kan emmiş sivrisinekteki yumurtalar olgunlaşamaz. İlkbaharda havaların ısınması ile sivrisinek tekrar kan emmeye başlar ve yumurta olgunlaşması kaldığı yerden devam eder (trofogoni uyumu bozulur) (118).

Çoğu sivrisinek türünde dişiler, kopulasyon sonrası yumurtaların gelişimini tamamlayabilmesi için kan emmek zorundadırlar (otojen olmayan gelişim). Az sayıdaki türün dişilerine (ör. *Cx. p. pipiens biotype molestus*) ait ilk parti yumurtalar kan emmeden de gelişebilirler (otojen gelişim). Dişi sivrisinekler, kan emmeyi takiben 2-4 gün içerisinde 50-500 adet yumurta bırakırlar (115).

Sivrisinekler bıraktıkları yumurta içerisindeki embriyonun dış etkilerle tetiklenen dinlenme periyoduna (uyku hali) girip girmemelerine göre ikiye ayrılmıştır. İlk gruptakiler uyku halinde olmayan (nondormant) yumurtalar olup *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*, *Mansonia*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* ve muhtemelen *Wyeomyia* cinsine ait

türlerdir. İkinci gruptakiler ise uyku halinde olan (dormant) yumurtalar olup, *Aedes* ve *Psorophora* cinslerine ait türlerdir. Dormant yumurtalar diğer gruptakilere göre kurumaya daha dirençlidirler (115).

İlk gruptaki (nondormant) yumurtalara sahip dişiler, yumurtalarını tek tek (*Anopheles*) veya kümeler halinde (*Culex*, *Uranotaenia*, *Coquillettidia*, *Orthopodomyia* ve Alt cins *Culiseta*) su yüzeyine bırakırlar (115). Bu gruptaki (nondormant) dişiler suyun üzerinde veya suya çok yakın durarak yumurtaları su yüzeyine bırakırlar. Bu tip yumurtaların embriyoları oda sıcaklığında (23°C) iki gün içerisinde gelişimini tamamlayarak kısa sürede yumurtadan çıkarlar. Bu tip yumurtalar kuru ortamda kısa süre içinde canlılığını yitirirler. Ancak çok nemli veya çok az su birikintisi içinde “karaya oturmuş” şekilde bir gün veya daha az canlılığını koruyabilirler (115).

Uyku haline girmeyen (nondormant) yumurtalara sahip türler yetiştirme sezonlarına bağlı olarak, senede bir kaç jenerasyon verebilirler. Bu gruptaki türler daha çok aynı sezon içinde birden fazla jenerasyonu kolayca oluşturabileceği kalıcı ve yarı kalıcı tipteki üreme yerlerinde bulunmaktadır. Genel görüş bu şekilde olsa da, *An. punctipennis* ve *Cx. pipiens* genellikle geçici su kaynaklarında bulunurlar (115).

İkinci gruptaki *Aedes* ve *Psorophora* cinslerine bağlı türler ise çok farklı bir davranış sergilerler. Bu türlere ait dişiler yumurtalarını suyun yüzeyinde değil, üreme kaynağının nemli kenarlarına tek tek bırakırlar. Yumurta belirli bir miktar gelişme gösterir fakat, yumurta gelişimi tamamlasa dahi yumurtadan larvanın çıkışı gerçekleşmez. Uygun şartlar sağlanıncaya kadar yumurtalar uyku halinde bekler. *Aedes aegypti*'nin laboratuvar yetiştirmelerinde, dişinin yumurtalarını suyun kenarına konulan kurutma kağıdının, su seviyesinin üstünde kalan nemli kısımlarına bıraktığı gözlemlenmiştir. Neme temas halinde bir iki gün kalan yumurtalar artık düşük nemli ortamlara daha dayanaklı hale gelir. Kurutulan (desikasyona tabi tutulmadan) yumurtalar bu şekilde uzun süre saklanabilmektedir. Bir iki ay sonra bu yumurtalardan larva çıkışında düşüşler başlar. Yumurtalardan larva çıkışını sağlamak için yumurtaları su ile temas ettirerek bir miktar besin maddesi eklemek yeterlidir (115).

Aedes vexans ve *Ochlerotatus caspius* türleri su seviyesinin sıkça alçalıp yükseldiği ve su taşkınlarının görüldüğü yerlerde ürerler. Bu habitat özelliği, *Ae. vexans* ve *Oc. caspius*'un uygun yumurta bırakma davranışlarını yerine getirebilmeleri ve yeni nesiller oluşturabilmeleri açısından önemlidir (115).

Embriyonik gelişim, yumurtalar suya bırakıldıktan hemen sonra başlar. Sıcaklığa bağlı olarak 2-7 gün veya daha uzun sürede embriyonik gelişim tamamlanır. Suyu bırakılan *Cx. p. pipiens* yumurtalarından larva çıkışı 30°C’de bir gün, 20°C’de üç gün ve 10°C’de on gün sonra gerçekleşir. 4°C’de ise embriyonik gelişim tamamlanamaz. *Aedes* ve *Ochlerotatus* yumurtalarının embriyonik gelişim süresine etki eden bir kaç çevresel faktör olduğundan dolayı, bu süre *Cx. p. pipiens*’inkine göre hemen hemen iki kat daha uzun olmaktadır. Suyu bırakılan *Ae. vexans* yumurtalarının, 20°C’de sekiz gün sonra % 50’si embriyonik gelişimini tamamlamaktadır (115).

2.8.2.3. Larva ve pupa dönemi: Yumurtadan çıkan larvadan erişkin evreye değin geçecek olan süre ortamın iklim, mevsim ve suyun sıcaklık durumuna göre değişir. Larvalar 24°C-26°C sıcaklıktaki suda en kısa sürede gelişirler (118). Optimum hava sıcaklığı ve besin alımında bu süre çoğu Culicinae alt ailesinde ortalama 7 gündür. Anophelinae alt ailesi ise biraz daha uzun süreye ihtiyaç duymaktadır (116).

Larvalar, sudaki mikroorganizmalar, algler, protozoonlar, omurgasız canlılar ve tortulardan beslenir. Beslenme tipleri filtre edenler, tarayıcılar ve predatörler olmak üzere üç grupta incelenebilir. Filtre edenler, tipik olarak suda baş aşağı asılı dururlar ve su yüzeyinin altından tabana doğru olan kısımda süspansiyon halinde bulunan gıda partiküllerini süzerler (*Culex*, *Coquillettidia*, Alt cins *Culiseta*, bazı *Aedes* ve *Ochlerotatus* larvaları). Tarayıcılar, su içinde kalan yüzeylerden (çoğu *Aedes* ve *Ochlerotatus* larvaları) veya hava ile su arasındaki mikrobiyal film katmanından (*Anopheles* larvaları) partikülleri, mikroorganizmaları, algleri tekrar süspansiyon ederek, kazıyarak veya parçalayarak toplarlar. Bitkiler ve ölü omurgasız canlıların küçük parçaları da ağız organelleri ile parçalanabilmektedir. Predatörler genellikle sivrisineklerin haricindeki diğer insektlerin larvaları ile beslenirler (*Toxorhynchites*, *Aedes*, *Psorophora* ve *Culex* larvaları). Predatör tip larvalara Avrupa’da rastlanmamaktadır (115).

Pupa akuatiktir. Metamorfozun şekillendiği bu dönem ortalama 2 gün sürer. Pupa, Diptera takımındaki diğer pupaların aksine, sudaki hareketlenmelere karşı çok hassas ve dikkat çekecek derecede hareketlidir. Suyu dalıştan sonra aktif hareketleri ile su yüzeyine çıkan larvaların aksine, pupalar su yüzeyine pasif olarak çıkarlar. Pupalarda kuraklığa göreceli olarak daha dayanıklı olup, üreme yerlerindeki su kurumaya yüz tutsa dahi erişkinler pupadan çıkabilmektedir. Larvanın aksine, pupa beslenemez (115).

2.8.2.4. Erişkin sivrisineklerin yaşam süreleri: Erkek sivrisinekler genellikle 6-7 gün arasında yaşarlar. Laboratuvar koşullarında, yüksek nem ve yeterli karbonhidrat beslenmesi ile yaşam süreleri bir ayı geçebilir. Dişiler özellikle hibernasyon durumunda ve bol gıda ile 4-5 ay süre ile canlı kalabilirler. Aktivitelerinin en yüksek olduğu dönemlerde ise dişilerin yaşam süresi, yaklaşık iki haftadır (116).

2.8.2.5. Sivrisineklerde hibernasyon ve estivasyon: Sivrisinekler kışın soğuk ve yazın kuraklık gibi uygun olmayan hava koşullarında etkinlik gösteremez ve dinlenme (diapoz) dönemine girerler. Bunların kan emme ve yumurtlama etkinlikleri durur (gerçek diapoz). Büyük çoğunluğu ölür. Bazı türler ise dişiler kötü hava koşullarında dahi (kışın ahır ve evlerde) kan emebilirler fakat yumurtlayamazlar. Bu durumda diapoz tam değildir (yumurtalık diapozu) (118). Hibernasyon, *Aedes* ve *Ochlerotatus* cinslerinde yumurta döneminde görülmektedir. *Anopheles claviger* ve *An. plumbeus* 3. veya 4. larval dönemde, *Oc. rusticus* ve *Cs. morsitans* 2. veya 3. larval dönemde hibernasyona girmektedir. *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia* ve *Anopheles* cinslerinde erişkin dönemde hibernasyon görülmektedir (115). Sıtma vektörlüğünü yapan bazı *Anopheles* türlerinde kışın tam olmayan yumurtalık diapozu gözlenir. Bu durum, sıtmanın kışın bulaştırılması açısından epidemiyolojik önem taşımaktadır (118).

Hibernasyona girecek dişiler, sonbaharın son günlerine doğru ahır ve evlere girerek kuytu bir köşe, aralık, çatlak veya bodrumlara sığınır. Havaaların soğuması ile sivrisineğin karnındaki yağ gözeleri sayıca artar ve yumurta gelişimi durur, yumurta yerleri yağla sarılır. Hibernasyona giren dişiler, su kaybını azaltmak için gliserol, trehaloz ve sorbitolü kullanmazlar, bunun yerine kutikular hidrokarbonları kullanarak su kaybını en aza indirirler (119). Sivrisinek ayaklarını iki yana açar ve karnını duvara dayarcasına yaklaştırır. Besin alamaz ve uyuşukluk (letarji) durumunda kalır. Hibernasyon esnasında tedirgin olduklarında çok yakın bir yere geçerek orada kışlamaya devam ederler. Havaaların ısınmasıyla hibernasyon sonlanır (118).

Çok sıcak ve kurak geçen yaz aylarında sıvı kaybı sonucu sivrisinek besin alamaz ve uyuşukluk durumuna girer. Bu duruma da estivasyon (yaz uyuşukluğu) denir (118).

2.8.2.6. Erişkin sivrisineklerin beslenme tipleri: Erkek sivrisineklerin ağız yapıları delmeye elverişli olmadığından kan ememezler. Beslenmeleri, nektarlar, bitki öz suları ve diğer sıvılar ile olmaktadır. Dişi sivrisineklerin beslenmeleri, birkaç tür haricinde (bitkilerden beslenen *Toxorhynchitinae* ve *Crematogaster* cinsleri karıncaların

regürgitasyon sonucu çıkardığı mide içeriği ile beslenen *Harpagomyia* cinsi gibi) çeşitli hayvanların derilerini delip, kan emerek olur. Sivrisineklerin büyük bir çoğunluğu zoofilik olup, insanlar haricindeki hayvanlar ve soğukkanlı omurgalılarından kan emer. Kan emmek için insanı tercih eden türler antropofilik olarak tanımlanır (116). Konak ayrımı yapmadan hayvanlardan ve insanlardan kan emenlere ise zooantropofilik denir (118).

2.8.2.7. Sivrisineklerin uçuş gücü: Havadaki nemin yükselmesi, sivrisineklerin uçuş mesafesini artırmaktadır. Erişkinler, nemin az olduğu havalarda dinlenme durumunda bulunurlar. Sivrisinekler üreme yerlerinden 2-3 km uzağa uçabilmektedirler. *Anopheles sacharovi* üreme yerinden 5-10 km, *An. superpictus* ise 3 km uzağa uçabilmektedir. Sivrisineklerin kendi güçleri ile yayılışına “aktif dispersiyon”, rüzgâr ve çeşitli hava, kara, su aracı ile daha uzak yerlere yayılışına ise “pasif dispersiyon” denir. Sivrisinekler 1000 m yüksekliğe değin çıkabilirler (118).

2.8.3. Sivrisineklerin Vektörlük Roller

Sivrisinekler, medikal açıdan önemli olan çeşitli patojenleri naklederler. Virüsler, bakteriler, protozoonlar ve nematodların etkeni olduğu önemli hastalıklar olan sıtma, dengue, sarıhumma, çeşitli viral ensefalitler ve filaryaz vb.’nin nakillerinden sorumludurlar. Sivrisineklerin vektörlük rolleri mekanik veya biyolojik olabilmektedir (105).

Asya, Afrika ve Güney Amerika’nın tropik bölgelerinde lenfatik filaryazın etkeni olan nematodlar, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* ve *Brugia timori*, yaklaşık 120 milyon insanı etkilemiştir. Bu vakaların % 90’ının etkeni *W. bancrofti*’dir. Hastalığın vektörlüğünü yapan en önemli türler, *Culex pipiens quinquefasciatus* ve *Mansonia spp.*’dir (115).

2.8.4. Türkiye’de Bulunan Sivrisinek Türleri

Türkiye sivrisinekleri ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunların içinde Türkiye’de bulunan tüm sivrisinek türlerine ait sistematik, biyolojik ve ekolojik bilgilerin yer aldığı en kapsamlı yayın Ahmet Merdivenci (118)’nin yazdığı “Türkiye Sivrisinekleri” adlı kitabıdır. Bu kitapta Türkiye’de 55 türün varlığı bildirilmiştir. Daha sonra Ramsdale ve ark. (120) yapılan çalışmaları gözden geçirerek Türkiye’de bulunan sivrisinek türlerinin güncel bir listesini yapmıştır. Bu listeye göre yurdumuzda

Anopheles (10 tür), *Aedes* (3 tür), *Ochlerotatus* (15 tür), *Culex* (13 tür), *Culiseta* (4 tür), *Mansonia* (1 tür), *Orthopodomyia* (1 tür) ve *Uranotaenia* (1 tür) cinslerine bağlı aşağıda isimleri yazılı toplam 48 türün varlığı bildirilmiştir. Ramsdale ve ark. (120)'nın listesinde yer alan türler aşağıda verilmiştir.

Aile: Culicidae

1. Alt aile: Anophelinae

Cins: *Anopheles* Meigen, 1818

1. Alt cins: *Anopheles* Meigen, 1818

1. Tür: *algeriensis* Theobald, 1903
2. Tür: *claviger* (Meigen, 1804)
3. Tür: *hyrcanus* s. 1. (Pallas, 1771)
4. Tür: *maculipennis* Meigen, 1818
5. Tür: *martert* Senevet ve Prunelle, 1927
6. Tür: *plumbeus* Stephens, 1828
7. Tür: *sacharovi* Favre, 1903
8. Tür: *subalpinus* Flackett ve Lewis, 1935

2. Alt cins: *Cellia* Theobald, 1902

1. Tür: *pulcherrimus* Theobald, 1902
2. Tür: *superpictus* Grassi, 1899

2. Alt aile: Culicinae

1. Tribus: Aedini

1. Cins: *Aedes*, Meigen, 1818

1. Alt cins: *Aedes*, Meigen, 1818

Tür: *cinereus*, Meigen, 1818

2. Alt cins: *Aedimorphus* Theobald, 1903

Tür: *vexans* (Meigen, 1830)

3. Alt cins: *Stegomyia* Theobald, 1901

Tür: *cretinus* Edwards, 1921

2. Cins: *Ochlerotatus* Lynch Arribálzaga, 1891

1. Alt cins: *Finlaya* Theobald, 1903

1. Tür: *echinus* (Edwards, 1920)

2. Tür: *geniculatus* (Olivier, 1791)

2. Alt cins: *Ochlerotatus* Lynch Arribâlzaga, 1891

- 1.Tür: *caspius* s. 1. (Pallas, 1771)
- 2.Tür: *communis* (De Geer, 1776)
- 3.Tür: *detritus* s. 1. (Haliday, 1833)
- 4.Tür: *dorsalis* (Meigen, 1830)
- 5.Tür: *excrucians* (Walker, 1856)
- 6.Tür: *flavescens* (Müller, 1764)
- 7.Tür: *nigrocanus* (Martini, 1927)
- 8.Tür: *phoeniciae* (Coluzzi & Sabatini, 1968)
- 9.Tür: *pulchritarsis* (Rondani, 1872)
- 10.Tür: *zammitii* (Theobald, 1903)

3.Alt cins: *Rusticoidus* Shevchenko & Prudkina, 1973

- 1.Tür: *lepidonotus* (Edwards, 1920)
- 2.Tür: *refiki* (Medschid, 1928)
- 3.Tür: *rusticus* (Rossi, 1790)

2. Tribus: Culicini

Cins: *Culex* Linnaeus, 1758

1. Alt cins: *Barraudius* Edwards, 1921

1. Tür: *modestus* Ficalbi, 1890
2. Tür: *pusillus* Macquart, 1850

2. Alt cins: *Culex* Linnaeus, 1758

1. Tür: *laticinctus* Edwards, 1913
- 2.Tür: *mimeticus*Noe, 1899
- 3.Tür: *perexiguus* Theobald, 1903
- 4.Tür: *pipiens* Linnaeus, 1758
- 5.Tür: *theileri* Theobald, 1903
- 6.Tür: *torrentium* Martini, 1925
- 7.Tür: *tritaeniorhynchus* Giles, 1901

3.Alt cins: *Maillotia* Theobald, 1907

- 1.Tür: *deserticola* Kirkpatrick, 1925
- 2.Tür: *hortensis* Ficalbi, 1889

4.Alt cins: *Neoculex* Dyar, 1905

- 1.Tür: *martinii* Medschid, 1930

2.Tür: *territans* Walker, 1856

3. Tribus: Culisetini

Cins: *Culiseta* Feh, 1904

1. Alt cins: *Allotheobaldia* Brokmann, 1919

Tür: *longiareolata* (Macquart, 1838)

2.Alt cins: *Culicella* Feit, 1904

1.Tür: *fumipennis* (Stephens, 1825)

2.Tür: *morsitans* (Theobald, 1901)

3.Alt cins: *Culiseta* Feit, 1904

Tür: *annulata* (Schrank, 1776)

4. Tribus: Mansoniini

Cins: *Coquillettidia* Dyar, 1905

Alt cins: *Coquillettidia* Dyar, 1905

Tür: *richiardi* (Ficalbi, 1889)

5. Tribus: Orthopodomyiini

Cins: *Orthopodomyia* Theobald, 1904

Tür: *pulcripalpis* (Rondani, 1872)

6. Tribus: Uranotaeniini

Cins: *Uranotaenia* Lynch Arribâlzaga, 1891

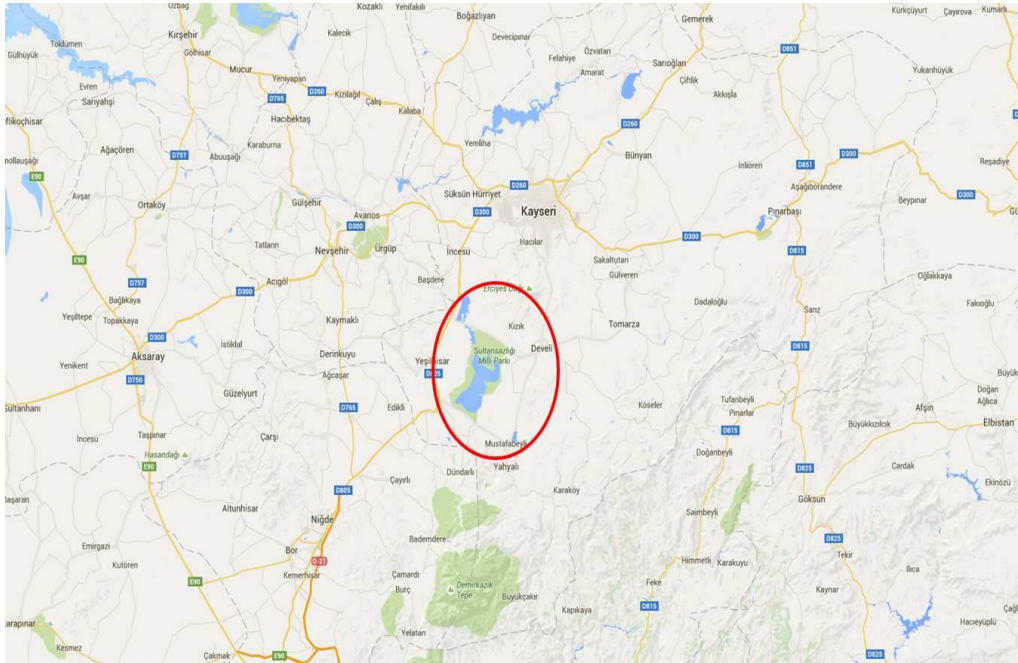
Alt cins: *Pseudoficalbia* Theobald, 1912

Tür: *unguiculata* Edvvars, 1913

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Sahası ve Sivrisinek Örneklerinin Toplanması

Çalışmada, Kayseri yöresi Sultan Sazlığı ekosisteminde (Şekil 3.1) Haziran-Ağustos 2014 ile “Sultan Sazlığı Ekosisteminde Kanatlı Haemosporidialarının Moleküler Ekolojisi” başlıklı ve 114 O 646 kodlu TÜBİTAK projesi kapsamında Haziran-Ağustos 2015 tarihleri arasında çeşitli odaklardan (Şekil 3.2) toplam 400 sivrisinek örnekleme yapılmıştır (Şekil 3.3). Ergin sivrisineklerin yakalanması amacıyla karbondioksitli (Kurubuz hazneli) CDC ışık tuzakları (All-Weather LED EVS Traps, 2780, BioQuip Products CA 90220, USA) kullanılmıştır. Tuzaklar 17.³⁰-19.⁰⁰ saatleri arasında aktive edilmiş ve ertesi gün 07.⁰⁰-08.³⁰ saatleri arasında geri toplanmıştır.



Şekil 3.1. Araştırma sahası



Şekil 3.2. Örnek toplama alanları (Orijinal)



Şekil 3.3. Araştırma sahasından toplanan sivrisinek örnekleri (Orijinal)

3.2. Laboratuvar Çalışmaları

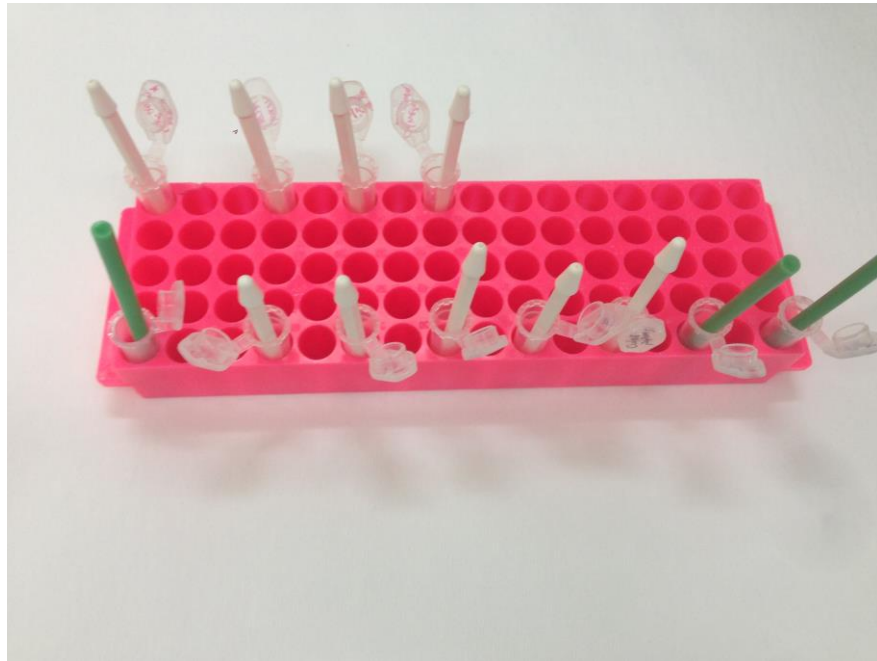
3.2.1. Sivrisinek Örneklerinin Tür Teşhisleri

Bilgisayar destekli stereo mikroskop altında çeşitli tür ayırımına ilişkin kaynaklar (121-128) ve elektronik ortamda yazılı Avrupa Sivrisinekleri Tür Ayırım Anahtarı (129) kullanılarak *Culex pipiens*, *Aedes vexans* ve *Culiseta annulata* türleri identifiye edilmiştir.

3.2.2. DNA Ekstraksiyonu ve Konsantrasyonların Belirlenmesi

İdentifiye edilen sivrisinek örneklerinden bireysel olarak genomik DNA'ların elde edilmesi amacıyla AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kiti (AP-MN-MS-GDNA-250, Axygen Biosciences, USA) üreticinin açıklamalarına göre kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlar moleküler analizlere kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Genomik DNA ekstraksiyonunun basamakları aşağıda verilmiştir.

a) Her bir sivrisinek örneği, ayrı olarak mikrosantrifüj tüplerine alınarak sıvı azot yardımıyla ezilmiş ve homojen hale getirilmiştir (Şekil 3.4). İşlenecek numune sayısına göre, örneklerin karışmaması amacıyla ependorf tüplerinin üzerine örneklere ait protokol numaraları yazılmıştır. Kit içerisinde bulunan Eluent, önceden ısısı 65°C'ye ayarlanmış su banyosu içerisine konulmuştur.



Şekil 3.4. Sivrisinek örneklerinin sıvı azot yardımıyla ezilmesi (Orijinal)

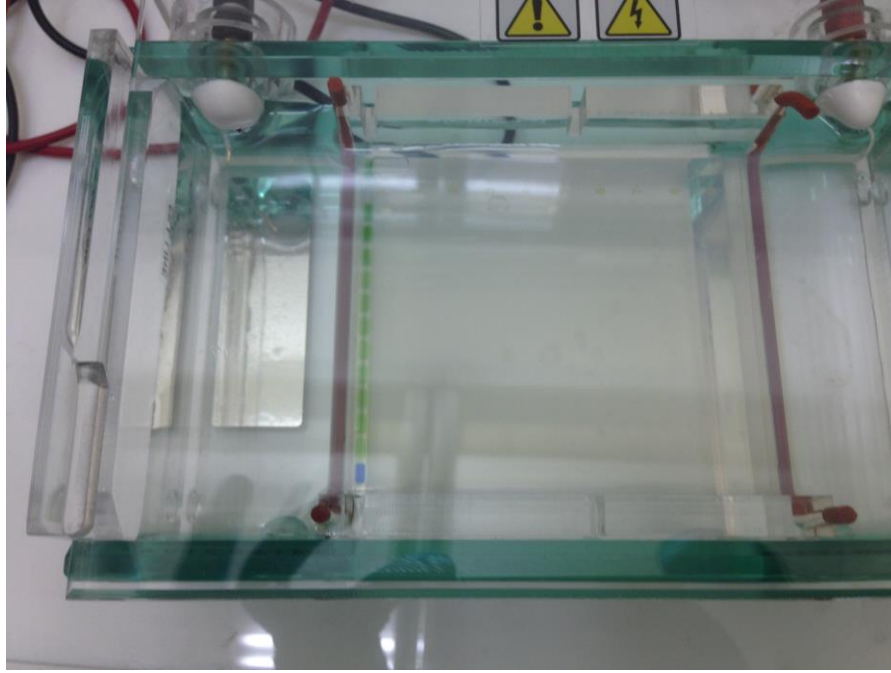
- b) Çözünmüş pellet üzerine 350 µl PBS (phosphate-buffered saline) ve 0,9 µl RNase A ilave edilmiş ve 30 sn el yardımıyla nazıkçe çalkalanmıştır.
- c) 350 µl homojenat pipet yardımıyla 2 ml microfuge tube (provided) içerisine alınmıştır.
- d) Tüp içine 20 µl Proteinase K ve 150 µl Buffer C-L ilave edilerek hemen 1 dk vortekslenmiştir.
- e) Tüpler 56°C'de 15 dk su banyosunda inkübe edilmiştir (Her 2-5 dk'da bir vortekslendi).
- f) Tüpler üzerine 350 µl Buffer P-D eklenerek 30 sn vortekslenmiştir.
- g) Daha sonra tüpler 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- h) Her bir örnek için 2 ml'lik ependorf tüplerine (provided) miniprep kolon yerleştirilmiştir. Santrifüj işlemi sonucu üstte kalan süpernatant pipet yardımıyla alınarak miniprep columnlar içerisine konularak 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- i) Süre sonunda dibe çöken süpernatantlar dökülmüş ve miniprep columnlar tekrar bu tüplerin içerisine yerleştirilmiştir. Miniprep columnlar içerisine ilk yıkama solüsyonu olan 500 µl Buffer W1 ilave edilerek 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- j) Miniprep columndan süzülerek ependorfun dibine çöken sıvı uzaklaştırılmış ve miniprep columnlar tekrar bu tüplerin içerisine yerleştirilmiştir. Miniprep kolonlar içerisine 700 µl of Buffer W2 ilave edilerek 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş ve bu işlemler 2 kez tekrarlanmıştır.
- k) Yıkama işlemi sonucu dibe süzülen sıvı kısım uzaklaştırılarak miniprep columnlar boş ependorflar içerisine yerleştirilmiştir. Herhangi bir solusyon eklenmeden boş tüpler 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek yıkama solüsyonları içerisindeki etanolün tamamen uçması sağlanmıştır.
- l) Her bir örneğe ait miniprep columnlar 1,5 ml'lik yeni ependorf tüplerine yerleştirilmiştir. Üzerlerine, önceden 65°C'lik su banyosuna konulmuş olan Eluent'den 100 µl ilave edilerek oda ısısında 1 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA'lar analize tabi tutulana kadar derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir.
- Bireysel olarak elde edilen genomik DNA ekstraktlarının konsantrasyonları ASP-3700 (ACT Gene) nanodrop spektrofotometrede belirlenmiştir. PCR aşamasından önce

saptanan genomik DNA konsantrasyonlarına göre örnekler için en uygun sulandırma hazırlanmıştır. Elde edilen DNA'lar kullanılabilecek -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. DNA Amplifikasyonu ve Elektroforez

Elde edilen genomik DNA ekstraktları *Wolbachia wsp* gen bölgesinden yaklaşık 600 bp'lik gen bölgesini amplifiye eden *wsp* 81F (5'-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC) ve *wsp* 691R (5'-AAAAATTAAACGCTACTCCA) primerleri kullanılarak PCR reaksiyonuna tabii tutulmuştur. Reaksiyon karışımı 25 µl final konsantrasyonda, 2,5 µl 10XPCR buffer, 2 mM MgCl₂, 0,5µM her bir primer, 0,5 mM her bir dNTP, 1.25U Taq DNA polymerase ve 50ng/µl template DNA olarak hazırlanmıştır. Thermal cyclerda protokol initial denaturation: 94°C'de 5 dk; 35 siklus, denaturation: 94°C'de 1dk, annealing: 55°C'de 1dk, extension: 72°C'de 1dk; final extension: 72°C'de 10 dk olacak şekilde programlanmıştır. PCR analizlerinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığını test edilmesi amacıyla her analizde pozitif kontrol olarak standardize edilmiş referans örnekler ait genomik DNA'lar, negatif kontrol olarak ise sterilize edilmiş deiyonize su kullanılmıştır. Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla yatay elektroforez tankı (CLP) kullanılmıştır. Toplam hacim 1 lt olacak şekilde; 980 ml deiyonize su üzerine 20 ml 1XTAE (Tris-acetate-EDTA) buffer eklenerek elde edilen solusyon, hem jel hazırlanmasında hem de elektroforez tankının içerisinde doldurulmasında kullanılmıştır. Ürünlerin görüntülenmesinde %1,5'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Jelin fazla kalın olmaması için 500 ml'lik bir beher içerisinde toplam hacim 50 ml olacak şekilde; 0,75 mg agaroz tartılarak üzerine 50 ml 1XTAE ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım; agaroz, sıvı içerisinde tamamen eriyene kadar ısıtılmıştır. Karışımın buharlaşmasını engellemek amacıyla beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Karışım hazır hale geldiğinde biraz soğumaya bırakıldıktan sonra üzerine 3 µl ethidium bromide ilave edilmiş ve ethidium bromidin sıvı içerisinde tamamen dağılması için yavaş bir şekilde bilek hareketleriyle solusyon karıştırılmıştır. Tamamen hazır hale gelen solusyon jel tablasına dökülmüş ve incelenecek örnek sayısına göre taraklar yerleştirilmiştir. Jel tamamen soğuduğunda jel tablası ile birlikte elektroforez tankına yerleştirilmiş ve 1XTAE solusyonu ile dolu tankın içerisinde taraklar yavaşça çıkarılmıştır. Elden edilen PCR ürünlerinin her birinden 10 µl alınıp, 1 µl 6X loading dye (Fermentas) ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. İlk gözlemlere bantların boylarının ölçülmesinde

kullanılan DNA ladder (Fermentas), son kuyucuklara ise pozitif ve negatif örnekler yüklenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Elektroforez tankına ampliconların yüklenmesi (Orişinal)

Yüklenen örnekler; sabit akımda, 90 V'da 50 dakika süreyle yürütölmüştür. Süre sonunda örnekler jel dokümantasyon sistemi (Gen Genuis) ile UV ışın altında görüntölenmiştir.

3.2.4. Wsp Genlerinin Klonlanması ve Plasmid İzolasyonu

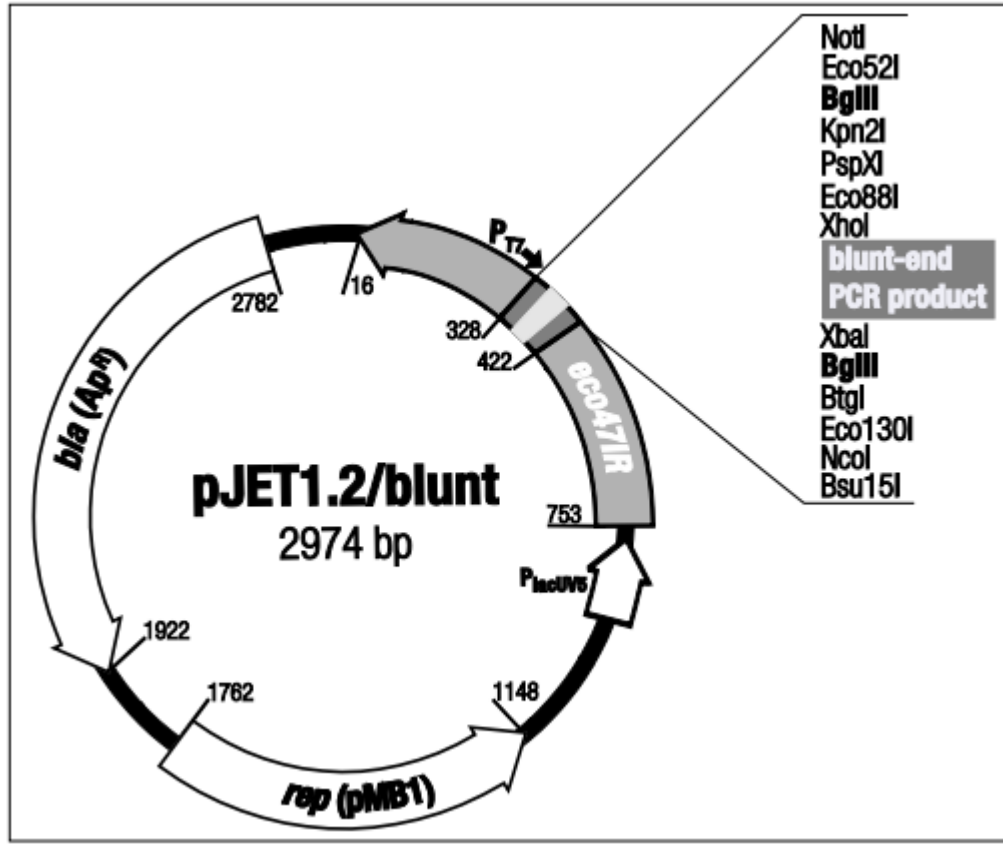
Sivrisinek örneklerinde PCR ile pozitif belirlenen 10 *Wolbachia* izolatu klonlanmış ve plasmid pürifikasyonu yapılmıştır. Klonlama basamakları aşağıda verilmiştir.

3.2.4.1. Ligasyon basamağı: Wsp gen bölgesi yönünden PCR analizleri sonucu jel üzerinde belirlenen ampliconlar High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) kullanılarak jel pürifiye edilmiştir. Jel pürifiye örneklerin klonlanmasında CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanılmıştır. Klonlama reaksiyonu kullanıcının önerileri doğrultusunda aşağıdaki şekilde hazırlanmış ve yapılmıştır:

2X Reaction Buffer	15 µl
PCR product (10 ng/ µl)	1.5 µl
DNA Blunting enzyme	1.5 µl
Toplam	18 µl

Hazırlanan karışım vortekslenip santrifüj edildikten sonra 70 °C’de su banyosunda 5 dk inkübe edilerek hemen buz üstüne alınmıştır.

Karışım üzerine daha sonra 1 µl pJET1.2/blunt CloningVector (50 ng/ µl) ve 1 µl T4 DNA Ligaz eklenerek son hacmi 20 µl’ye tamamlanmıştır. Karışım 5 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 5 µl’si transformasyon için kullanılmıştır. pJET1.2/blunt klonlama vektör haritası Şekil 3.6’da verilmiştir.



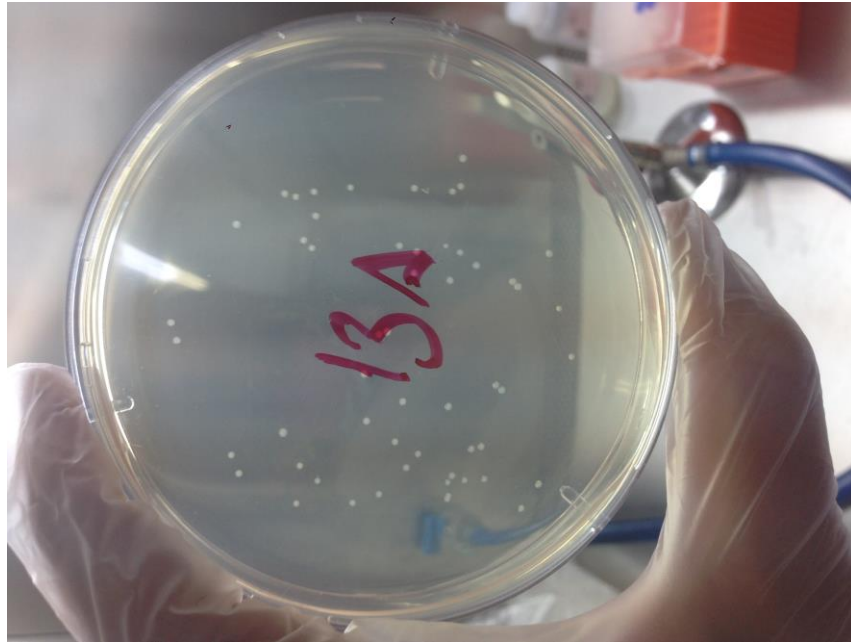
Şekil 3.6. pJET1.2/blunt klonlama vektörü

3.2.4.2. Transformasyon Basamağı: 5 µL’lik ligasyon ürünü buz üzerinde tutulan *E. coli* TOP 10 hücrelerine eklendi ve buz üzerinde 30 dk inkübe edildi. Karışım, önce 42°C’de 1 dk daha sonra buz üzerinde 2 dk bekletildikten sonra üzerine 250 µL SOC Medium eklenmiştir. 37°C’de çalkalayıcı üzerinde 1,5 saat inkübe edilen transformasyon karışımı LB (Lurie-Bertani) katı besiyeri yerine (Şekil 3.7) ekilerek bir gece inkübe edilmiştir.



Şekil 3.7. LB katı besi yeri hazırlanma prosedürü (Orijinal)

LB katı besiyerinde üreyen kolonilerden (Şekil 3.8) steril pipet uçları ile alınarak yeniden LB katı besiyerine ekilmiş ve 37°C’de 1 gece daha inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.8. LB katı besi yerinde üreyen koloniler (Orijinal)

3.2.4.3. Koloni Screening PCR: LB katı besi yerinde üreyen kolonilerin rekombinant plasmidi içerip içermediğini anlamak için koloni PCR yapılmıştır. Koloni PCR için 10 µl ITaq master mix’i, 0,4 µl pJET1.2 Forward ve pJET1.2 Reverse primerleri ile bir karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan karışıma katı besiyerinde üreyen kolonilerden steril pipet ucu ile alınan örnekler bulaştırılarak toplam 20 µL’lik karışımlar hazırlanmıştır.

Thermalcyclerda protokol initial denaturation: 95 °C'de 3 dk; 25 siklus, denaturation: 94 °C'de 30 s, annealing: 60 °C'de 30 s, extension: 72 °C'de 1 dk; final extension: 72 °C'de 10 dk olacak şekilde programlanmıştır. PCR sonucu elde edilen amplikonlar %1,5'luk agaroz jelde yürütülüp görüntülenmiştir.

3.2.4.4. Plasmid DNA: Pozitif bulunan kolonilerden plasmid DNA'sı elde etmek için LB katı besi yerinden steril özeler ile alınan koloniler ampicilinli 5 ml'lik LB sıvı besi yerlerine ekimi yapılarak (Şekil 3.9) 37°C'de sallayıcı üzerinde bir gece inkübe edilmiştir. Üreme gözlenen sıvı besi yerlerinden alınan örnekler 2 mL'lik ependorflar içerisine alınarak 6000g'de 15 dk santrifüj edilip, santrifüj sonrası üstteki sıvı kısım dökülerek pelet daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.9. LB katı besi yerinden alınan kolonilerin ampisilinli LB sıvı besi yerlerine ekimi ve 37°C’de sallayıcı üzerinde inkubasyonu (Orijinal)

Peletten plasmid izolasyonu için Axygen plasmid pürifikasyon kit prosedürü takip edilmiştir. Axygen plasmid pürifikasyon ticari kitinin önerileri doğrultusunda plasmid ekstraksiyon işlemi şu şekilde yapılmıştır:

1- -20 °C’de saklanan peletin oda sıcaklığında çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 250 µl Buffer S1 eklenmiş ve vortekslenmiştir.

2- Üzerine 250 µl Buffer S2 eklenmiş ve el ile 6 kez hafifçe çalkalanmıştır.

3- Daha sonra üzerine 350 µl Buffer S3 eklenmiş ve yine el yardımı ile hafifçe 8 kez çalkalanmıştır.

4- Karışım daha sonra 12,000×g’de 10 dakika santrifüj edilmiş

5- Santrifüj sonrası supernatant alınıp AxyPrep Plasmid Miniprep column içine konulup 12,000×g’de 1 dk santrifüj yapılmıştır

6- Alttaki toplama tüpüne süzülen sıvı boşaltılmış ve üstteki Miniprep column tekrar aynı toplama tüpü içerisine yerleştirilmiştir.

7- Yıkama amacıyla her bir Miniprep column üzerine 500 µl Buffer W1 ilave edilerek 12.000 ×g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir

8- Santrifügasyondan sonra alta süzülen sıvı uzaklaştırılmış ve Miniprep column aynı toplama tüpü içerisine yerleştirilmiştir

9- Tüp üzerine 700 µl Buffer W2 eklenerek 12.000 ×g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu basamak 2 kez tekrar edilmiştir.

10- Toplama tüpüne süzülen sıvı tekrar uzaklaştırılmıştır. Miniprep column bu kez, yeni 2 ml’lik DNA’se RNA’se free bir tüp içerisine yerleştirilmiş ve membrana bağlanan Buffer W2’yi uzaklaştırmak için 12.000×g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir

11- Santrifüj sonrası Miniprep column temiz bir 1.5 ml’lik tüp içerisine yerleştirilmiş ve plasmid DNA’sı elde etmek amacıyla üzerine 60 µl Eluent eklenmiş ve oda ısında 1 dk beklendikten sonra 12.000 ×g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir

12- Santrifüj işlemi sonrası 1,5 ml’lik steril tüp içerisine süzülen sıvı plasmid DNA’sı, sekanslamaya gönderilinceye kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4.5. Restriksiyon ve PCR Analizleri: İzole edilen rekombinant plasmidler, restriksiyon enzimleri ile kesilerek ve/veya vektör spesifik primerler ile PCR analizleri yapılarak klonlanan genin varlığı yönünden araştırılmıştır. Enzim kesimi için Aval ve XbaI (Thermo Scientific) enzimleri kullanılmıştır. Elde edilen plasmid DNA’sını restriksiyon enzimleri ile kesmek için aşağıdaki oranlarda master mix hazırlanmıştır:

Su	14 µl
10X FastDigest® buffer	2 µl
DNA	3 µl
FastDigest® enzyme	1 µl
Toplam	20 µl

Karışım vortekslenmiş ve 37 °C’de 5 dk su banyosunda inkübe edildikten sonra %1,5’lik agaroz jele yüklenerek klonlanan genin varlığı yönünden incelenmiştir. Plasmid DNA’ların amplifikasyonu amacıyla pJET1.2 Forward (5’-CGACTCACTAT AGGGAGAGCGGC-3’, Thermo Scientific) ve pJET1.2 Reverse (5’-AAGAACATCG ATTTTCCATGGCAG-3’, Thermo Scientific) primerleri kullanılmış ve PCR sonrası ampikonlar % 1,5’luk agaroz jel üzerinde görüntülenmiştir.

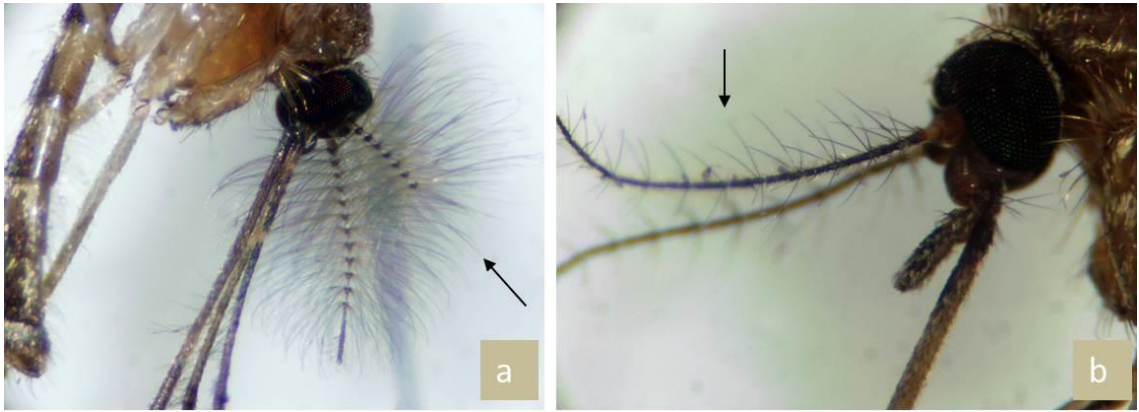
3.2.5. Klonlanan *Wsp* Genlerinin Tür Tayini için Sekans ve Filogenetik Analizleri

Wsp gen bölgesi için elde edilmiş olan plasmid DNA’lar pJET1.2 forward ve reverse primerleri çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Çift yönlü DNA dizisi belirlenen plasmidlere ait kromotogramlar dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious 5.5.5 (130) yazılımı ile forward ve reverse dizilimlerin pairwise alignmentları yapılarak vektör DNA’sı ile kıyaslanmış, insert olmuş hedef gen bölgesi belirlenmiş ve izolatlara ait final dizilimler elde edilmiştir. Elde edilen sekansların blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizleri ve Geneious 6.1.6 (130) genetik analiz yazılımıyla çoklu hizalamaları yapılarak konak filogenileri araştırılmış ve moleküler karakterizasyonları ortaya konmuştur. Elde edilen nükleotid dizilerinin GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İdentifiye Edilen Sivrisinek Türleri

Çalışmada *Aedes* soyunda *Ae. vexans*, *Culex* soyunda *Cx. pipiens* ve *Culiseta* soyunda *Cs. annulata* olmak üzere toplam 3 türe ait erkek ve dişi sivrisinek identifiye edilmiştir. Sivrisineklerin cinsiyet ayrımı, erkeklerde anten üzerindeki kılların yoğun ve uzun (Şekil 4.1), dişilerde ise seyrek ve kısa olmasına göre yapılmıştır.



Şekil 4.1. Erkek (a) ve dişi (b) sivrisinek ayrımı (Orijinal)

4.1.1. *Aedes vexans* türleri

Çalışmada saptanan *Ae. vexans* dişi ve erkek türlerinin bazı morfolojik kriterlere göre yapılmıştır (Şekil 4.2). Erkek *Ae. vexans* türleri; hortumunun median bölgesinin soluk renkli olması, prespiracular setae'ların görülmemiş, postspiracular setae'ların ise mevcut olması, arka bacaklarda tarsomerler üzerinde soluk renkli pulların oluşturduğu dar bazal halkaların görülmesi gibi morfolojik kriterlere göre belirlenmiştir. Dişi *Ae. vexans* türlerinin; maksiller palpler üzerinde soluk ve koyu renkli pulların karışık oluşu, hortumun median bölgesinin soluk renkli oluşu, arka bacaklarda tarsomerler üzerinde soluk renkli pulların oluşturduğu dar bazal halkaların mevcudiyeti, tarsomer II bazal halkasının eninin tarsomerin boyunun 1/5'inden kısa oluşu, abdominal tergumlarda

bulunan soluk renkli bantların medialinde bir çentik bulunması ve prespiracular setae'ların görülmemiş, postspiracular setae'ların ise mevcut olması gibi morfolojik identifikasyon kriterlerine göre ayrımları yapılmıştır.



Şekil 4.2. *Aedes vexans* örnekleri (Orijinal)

4.1.2. *Culex pipiens* türleri

Çalışmada saptanan *Cx. pipiens* dişi ve erkek türlerinin bazı morfolojik kriterlere göre yapılmıştır (Şekil 4.3). Erkek *Cx. pipiens* türleri; prespiracular ve postspiracular setae'ların mevcut olmaması, 3. çift bacaklarda tarsomer I'in tamamen koyu renkli pullarla kaplı oluşu, kanatlarda kostal venin tamamen koyu olması, kanatlarda subcostal damarın apeksi ile R2-R3 çatal kökü hizalarının incelenmesinde R2-R3 çatal kökünün kanat köküne daha yakın oluşu gibi morfolojik kriterlere göre identifiye edilmiştir. Dişi *Cx. pipiens* türleri ise; labiumda belirgin soluk renkli bir halka bulunmayışı, prespiracular ve postspiracular setae'ların olmaması, prealar bölgede pul görülmemesi, 1. çift bacaklarda tibia'nın tamamen koyu renkli pullarla kaplı oluşu, 3. çift bacaklarda tarsomer I'in uzunluğunun hemen hemen tibianın uzunluğuna eşit oluşu, 3. çift bacaklarda tibia'nın tamamen koyu renkli pullarla kaplı oluşu, kanatlarda subcostal

damarın apeksi ile R2-R3 çatal kökü hizalarının incelenmesinde R2-R3 çatal kökünün kanat köküne daha yakın oluşu gibi kriterler göz önüne alınarak identifikasyon gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.3. *Culex pipens* örnekleri (Orijinal)

4.1.3. *Culiseta annulata* türleri

Çalışmada saptanan *Cs. annulata* dişi ve erkek türlerinin bazı morfolojik kriterlere göre yapılmıştır (Şekil 4.4) Erkek *Cs. annulata* türleri; prespiracular setae'nın oluşu, kanat kökünün (alula) ornemantasyonunda saçak tarzında tüylerin varlığı, kanat üzerinde koyu renkli pulların oluşturduğu beneklerin varlığı, abdomenin 3., 4. ve 5. tergitlerinde soluk renkli bazal bant bulunması, bacakların tarsomerlerinde median beyaz halkaların oluşu gibi kriterlere göre identifiye edilmiştir. Dişi *Cs. annulata* türleri ise; palplerin ornamentasyonunda açık renkli pulların palp yüzeyince dağılmış olması, prespiracular setae'nın varlığı, tüm bacakların Tarsomer 1'inde median beyaz halkanın bulunması, kanat üzerinde koyu renkli pulların oluşturduğu beneklerin varlığı, abdomenin 3., 4. ve 5. tergitlerinde soluk renkli bazal bant bulunması gibi morfolojik ayırım kriterlerine göre teşhis edilmiştir.



Şekil 4.4. *Culiseta annulata* örnekleri (Orijinal)

4.2. Wsp Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları

Konvansiyonel PCR analizleriyle incelenen 400 sivrisinek örneğinde tespit edilen *Wolbachia* endobakterisinin dağılımı Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. İncelenen sivrisinek örneklerinde *Wolbachia* prevalansı

Sivrisinek Türü	İncelenen Örnek Sayısı		Wolbachia Yaygınlığı				Toplam
	Erkek	Dişi	Erkek		Dişi		
			n	%	n	%	
Culex pipiens	38	258	-	-	119	40,2	296
Aedes vexans	21	42	-	-	-	-	63
Culiseta annulata	13	28	-	-	-	-	41
Toplam	72	328	-	-	119	29,75	400

Tablo 4.1’de de görüldüğü üzere bireysel olarak incelemesi yapılan 296 *Cx. pipiens* türünün 119’unda (%40,2) *Wolbachia* pozitifliği belirlenmiştir. Pozitif belirlenen *Cx.*

pipiens örneklerinin hepsi dişi sivrisineklerdir. İncelenen *Ae. vexans* ve *Cs. annulata* örneklerinin hiçbirinde pozitiflik saptanmamıştır.

Tür teşhisleri yapıp PCR analizleri sonucu *Wolbachia* pozitif belirlenen *Cx. pipiens* örneklerinden seçilen bazı izolatların *wsp* geninin parsiyel amplifikasyonu sonucunda jel üzerinde yaklaşık 600 bp büyüklüğünde amplifikasyon gösterdikleri tespit edilmiştir. Bazı örneklerde parsiyel *wsp* gen bölgesinin PCR ile amplifikasyonu sonucu elde edilen amplikonların %1,5'lik jel agarozdaki görüntüleri Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. *Wolbachia* izolatlarının parsiyel *wsp* gen bölgesini amplifiye eden primerler ile PCR sonucu elde edilen amplikonların jel elektroforezde görünümü. M: Marker (100bp); 1-5, 9, 10: Pozitif örnekler; 6-8, 11, 12: Negatif örnekler; 13: Pozitif Kontrol; 14: No DNA

4.3. *Wsp* Gen Bölgesinin Klonlama Sonuçları

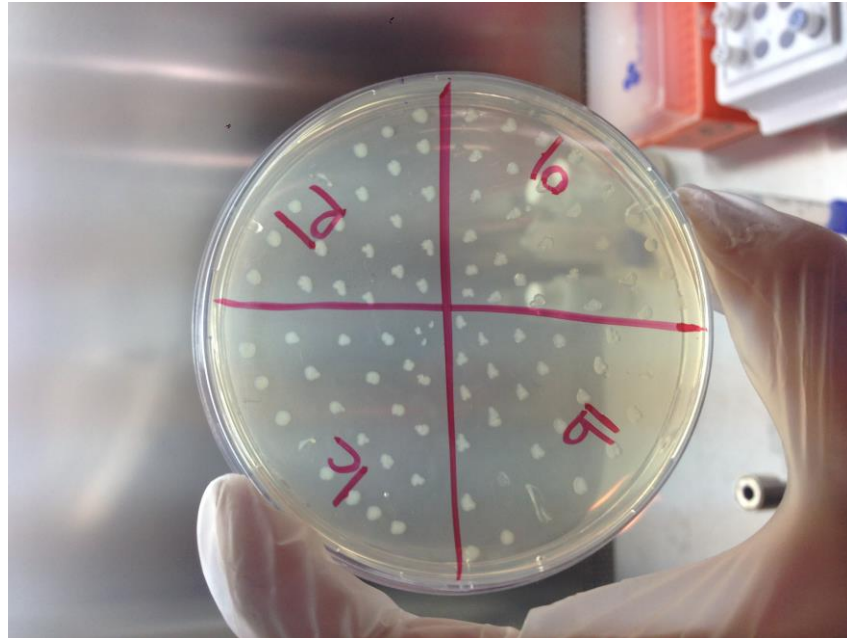
Sultan Sazlığı ekosistemindeki sivrisineklerden elde edilen 10 *Wolbachia* izolatı sekansların kayıpsız elde edilebilmesi için klonlanmıştır. Bu amaçla ilgili izolatların PCR analizleri sonucu jel üzerinde belirlenen amplikonlar High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) kullanılarak jel pürifiye edilmiştir.

Elde edilen jel pürifiye örnekler CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, USA) kullanılarak pJET1.2/blunt klonlama vektörüne insert edilmiştir. Daha sonra ligasyon ürünü *E. coli* TOP 10 kompetan hücrelere transforme edilmiştir. Bir gece inkubasyon sonrası ampicylin LB besi yerinde oluşan koloniler Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



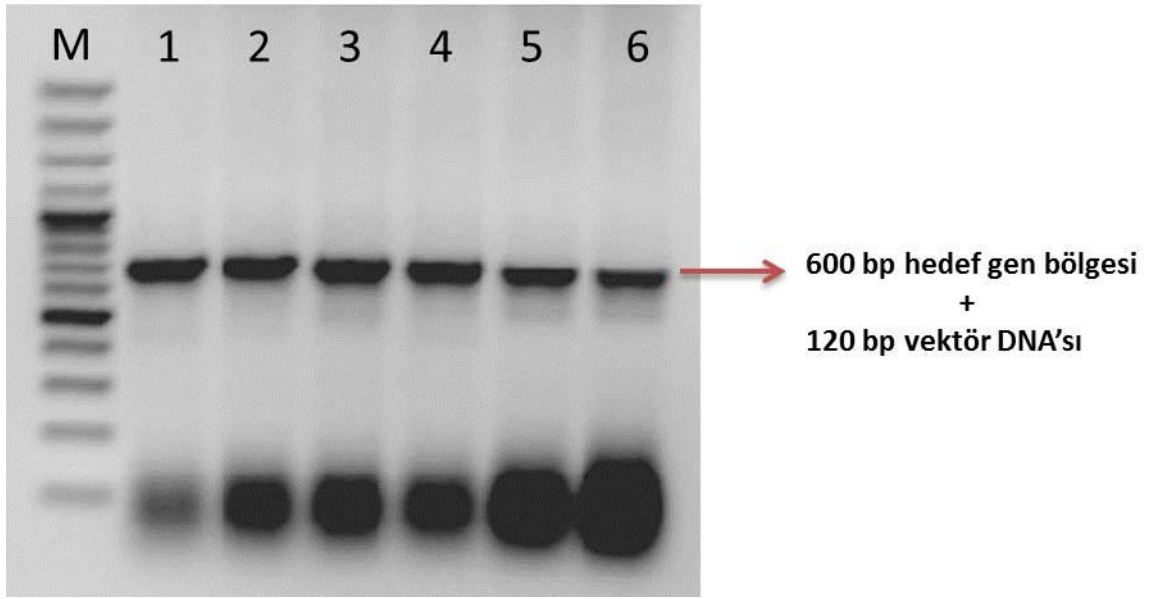
Şekil 4.6. Transformasyon sonucu besi yerinde oluşan koloniler (Orijinal)

LB katı besi yerinde üreyen kolonilerden seçilen tek koloniler, transformasyon etkinliğini artırmak amacıyla steril pipet uçları ile alınıp ayrı ayrı tekrar LB katı besi yerine ekilmiştir. Tekrar 37 °C’de 1 gece inkübe edilen kolonilerin katı besi yerinde görünüşleri Şekil 4.7’de verilmiştir.



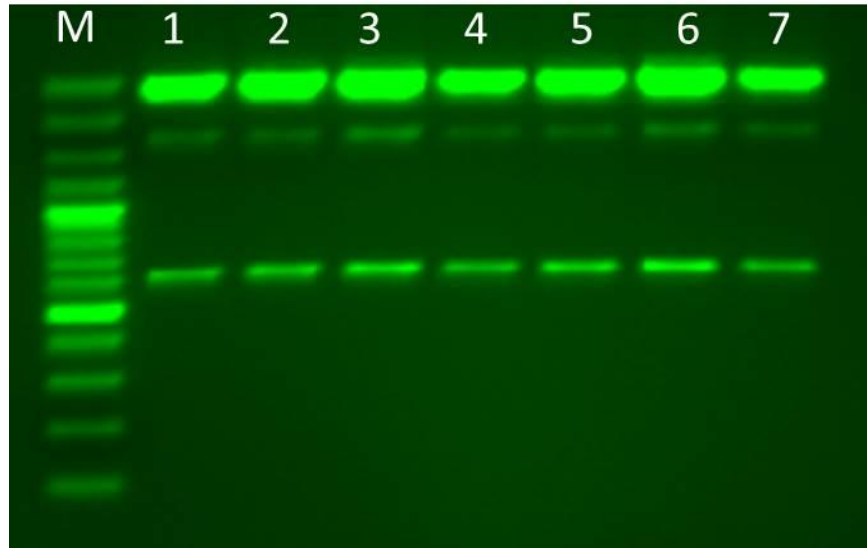
Şekil 4.7. Transformasyon basamağında 2. inkübasyon basamağı sonucu oluşan koloniler (Orijinal)

LB katı besi yerinde üreyen kolonilerde hedef gen bölgesinin vektöre insert olduğu ve transformasyon etkinliği vektör spesifik primerlerle koloni PCR yapılarak teyit edilmiştir. *Wsp* gen bölgesinin koloni PCR sonuçları Şekil 4.8’de gösterilmiş olup *wsp* gen bölgesine ait DNA’ların vektörlere başarılı bir şekilde insert olduğu görülmüştür.



Şekil 4.8. Transforme hücrelerde *wsp* gen bölgesinin koloni PCR'ı sonucu ampliconların jel agarozda görünümü. M: Marker (100bp); 1-6: İnsert *wsp* gen bölgesi

Koloni PCR sonuçlarını takiben ilgili gen bölgeleri yönünden pozitif saptanan tek bir koloni seçilerek sıvı besi yerine aktarılmış, bir gece 37°C'de inkubasyondan sonra üreyen transforme hücreler santrifüj ile çöktürülmüştür. Daha sonra transforme hücrelerden plasmid pürifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan rekombinant plazmidler, *Aval* ve *XbaI* (Thermo Scientific) restriksiyon enzimleri ile kesilerek klonlanan genin varlığı yönünden %1,5'luk jelde görüntülenmiştir (Şekil 4.9).



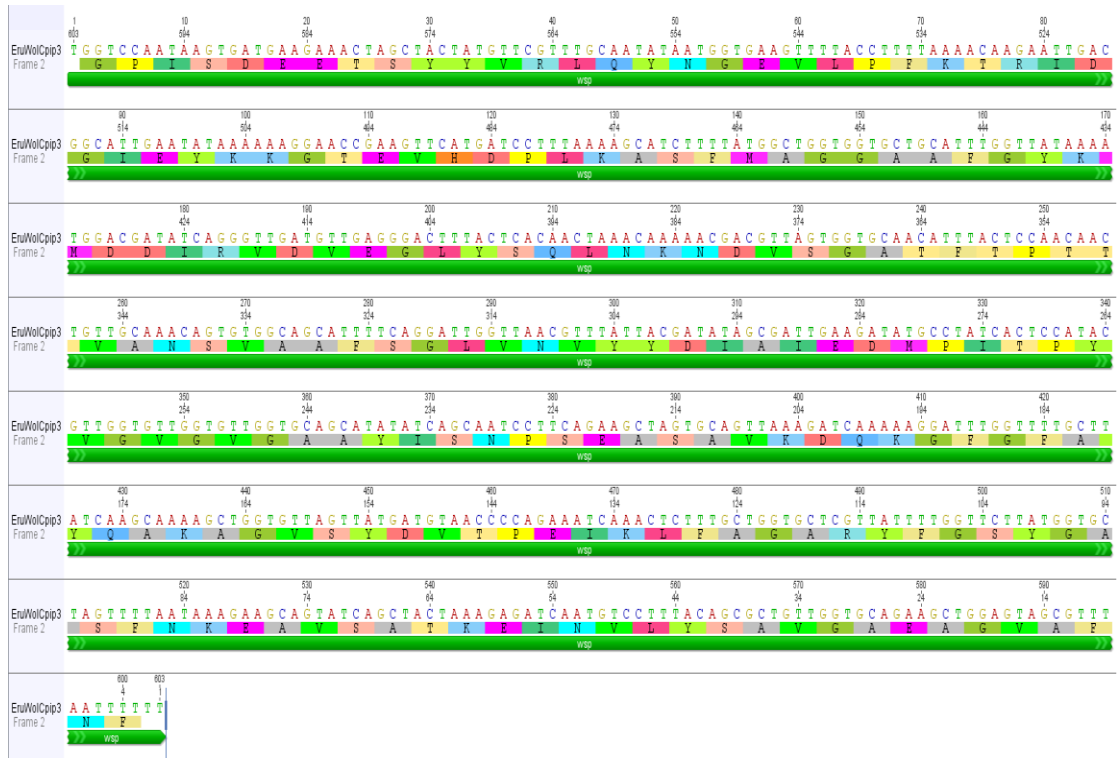
Şekil 4.9. Saflaştırılan plazmidlerin restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu izolatların *wsp* gen bölgesine ait DNA'ların agaroz jelde görünümü. M-100 bp'lik marker; 1-7: *Wolbachia* izolatları

4.4. Wsp Geninin Sekans ve Filogenetik Analizleri

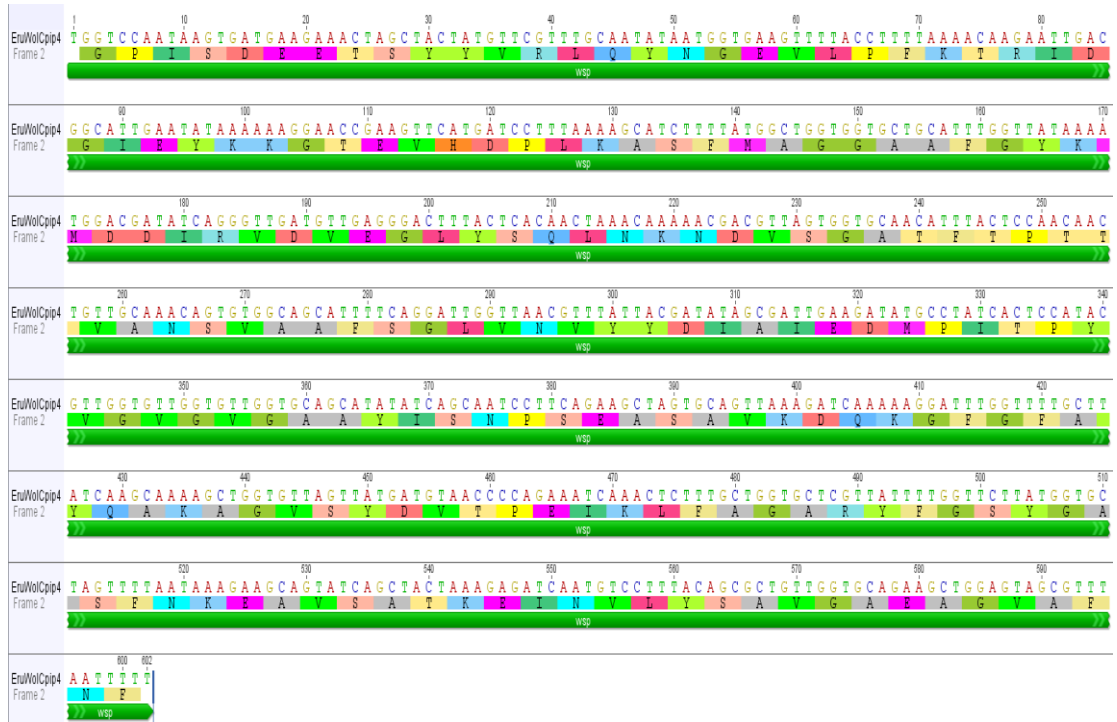
Wsp gen bölgesi yönünden elde edilen plasmidler, vektör spesifik primer çifti ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Elde edilen nükleotid dizileri vektör sekansı ile alignment yapılarak ilgili gen bölgesinin sekansları elde edilmiştir. *Wsp* gen bölgesi yönünden sekansları belirlenen *Wolbachia* izolatlarının, izolasyon kaynağı ve GenBank aksesyon numaraları Tablo 4.2'de, nükleotid kompozisyonları ise Şekil 4.10-4.19'da verilmiştir.

Tablo 4.2. Kayseri yöresinden toplanmış sivrisinek örneklerinde belirlenen *Wolbachia* izolatlarının gen bölgesi, izolasyon kaynağı ve GenBank aksesyon numaraları

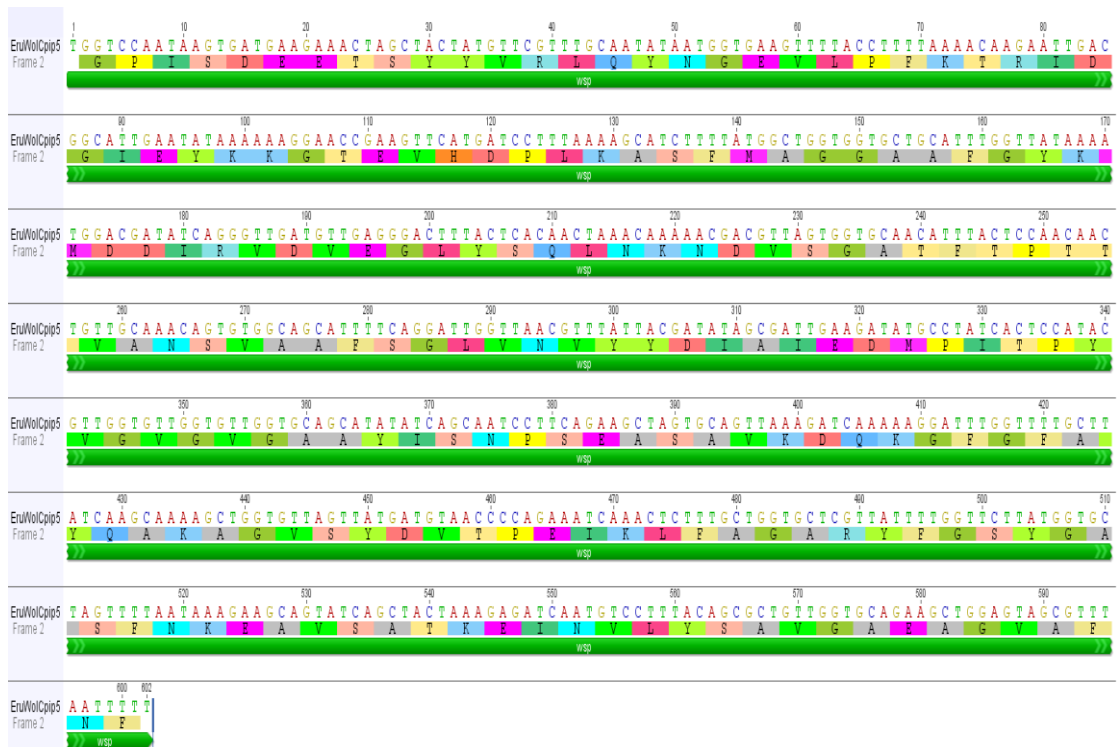
İzolat	Gen bölgesi	İzolasyon Kaynağı	GenBank Aksesyon Numarası
EruWolCpip1	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964223
EruWolCpip2	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964224
EruWolCpip3	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964225
EruWolCpip4	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964226
EruWolCpip5	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964227
EruWolCpip6	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964228
EruWolCpip7	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964229
EruWolCpip8	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964230
EruWolCpip9	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964231
EruWolCpip10	<i>wsp</i>	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i>	KT964232



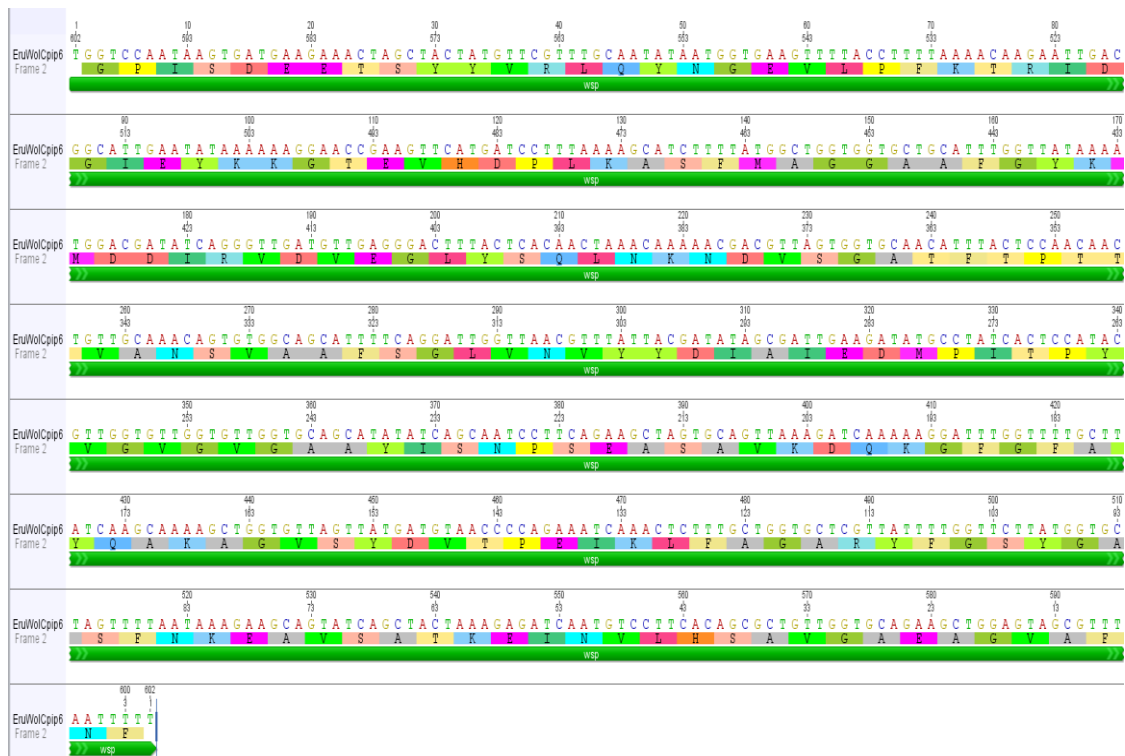
Şekil 4.12. EruWolCpip3 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964225)



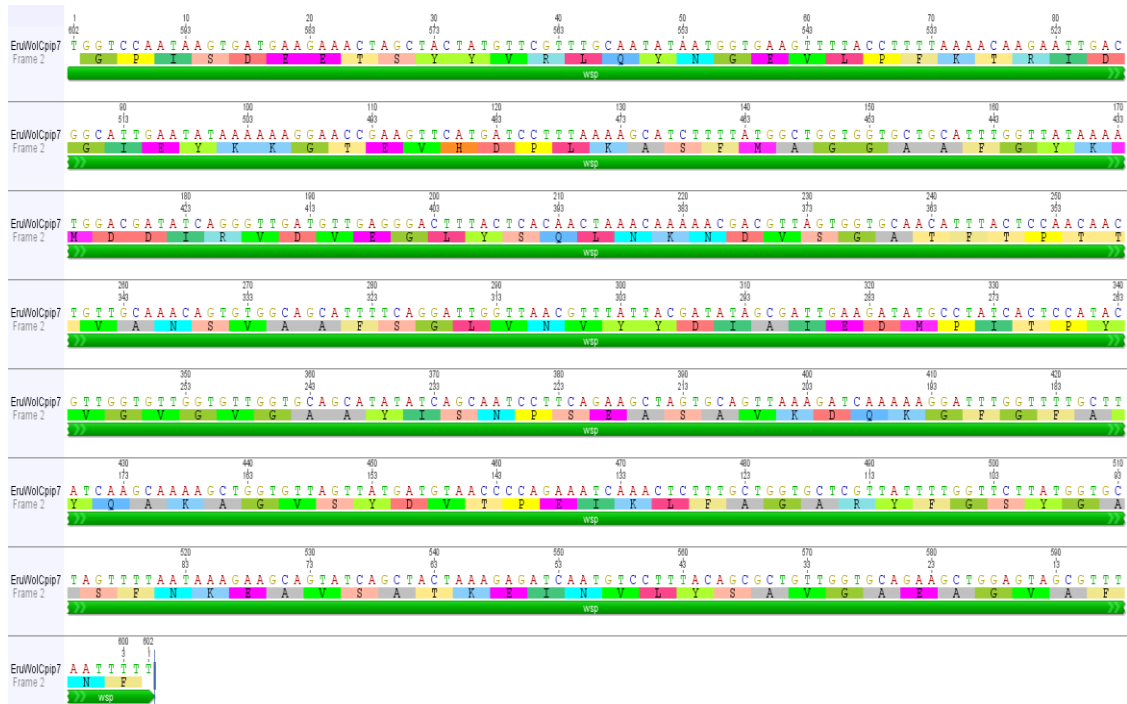
Şekil 4.13. EruWolCpip4 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964226)



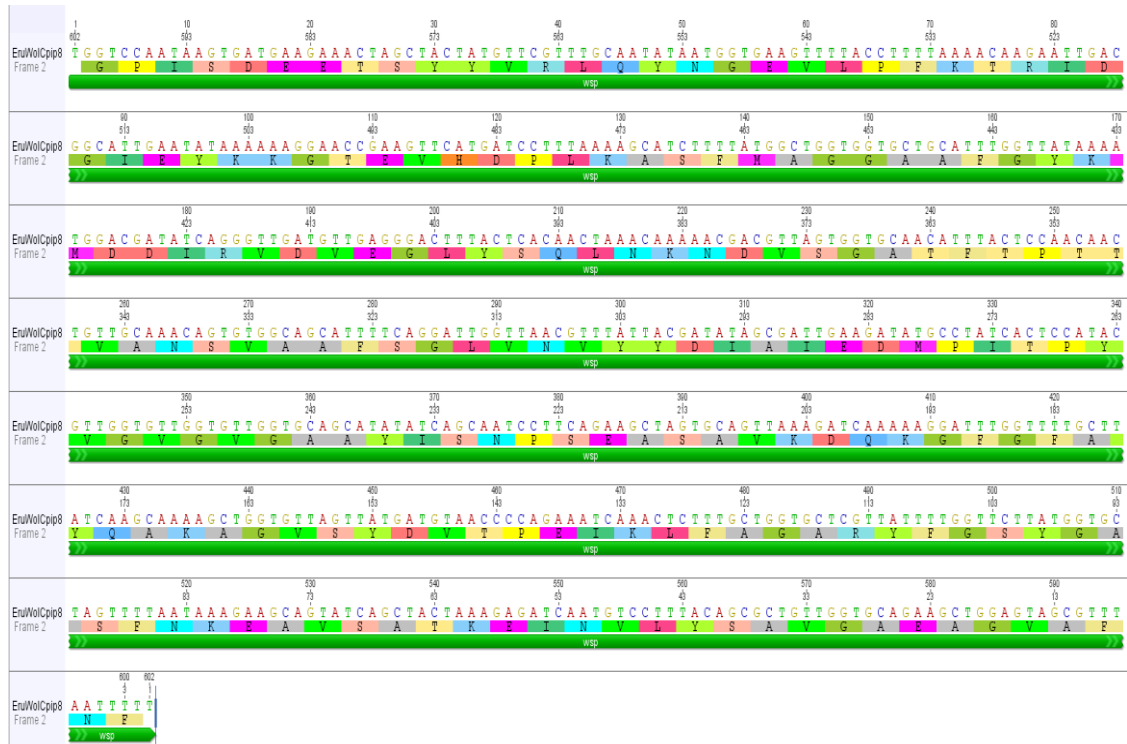
Şekil 4.14. EruWolCpip5 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964227)



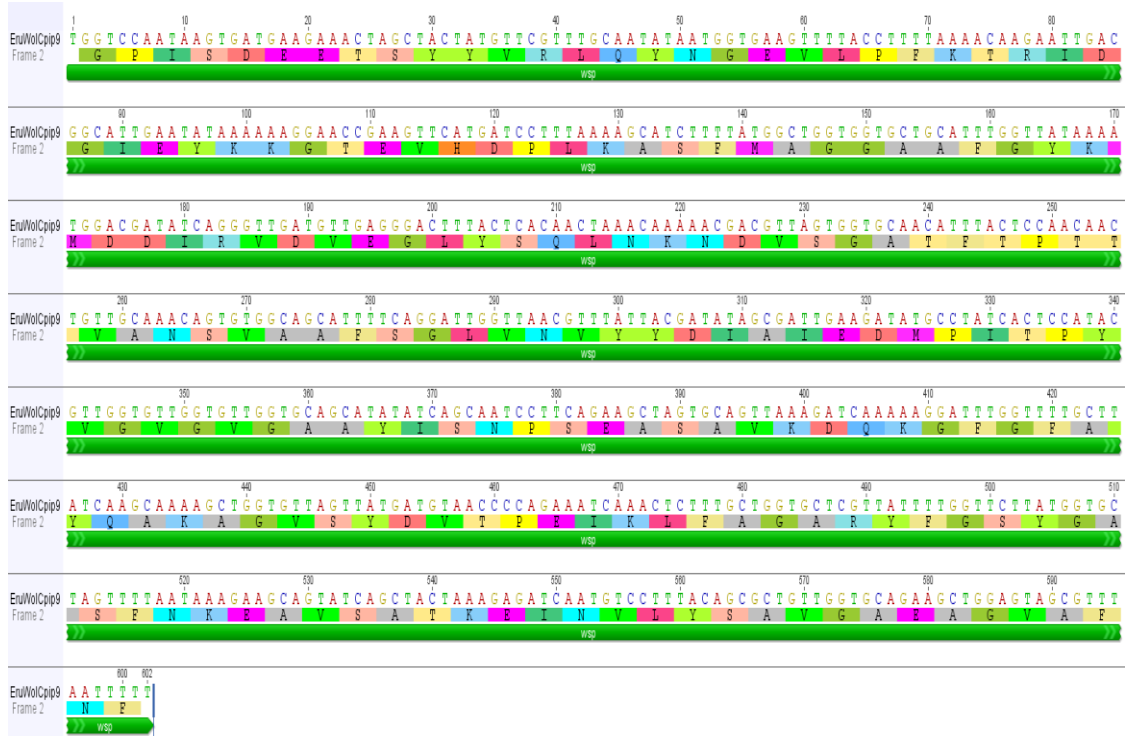
Şekil 4.15. EruWolCpip6 izolatının parsiyel wsp gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964228)



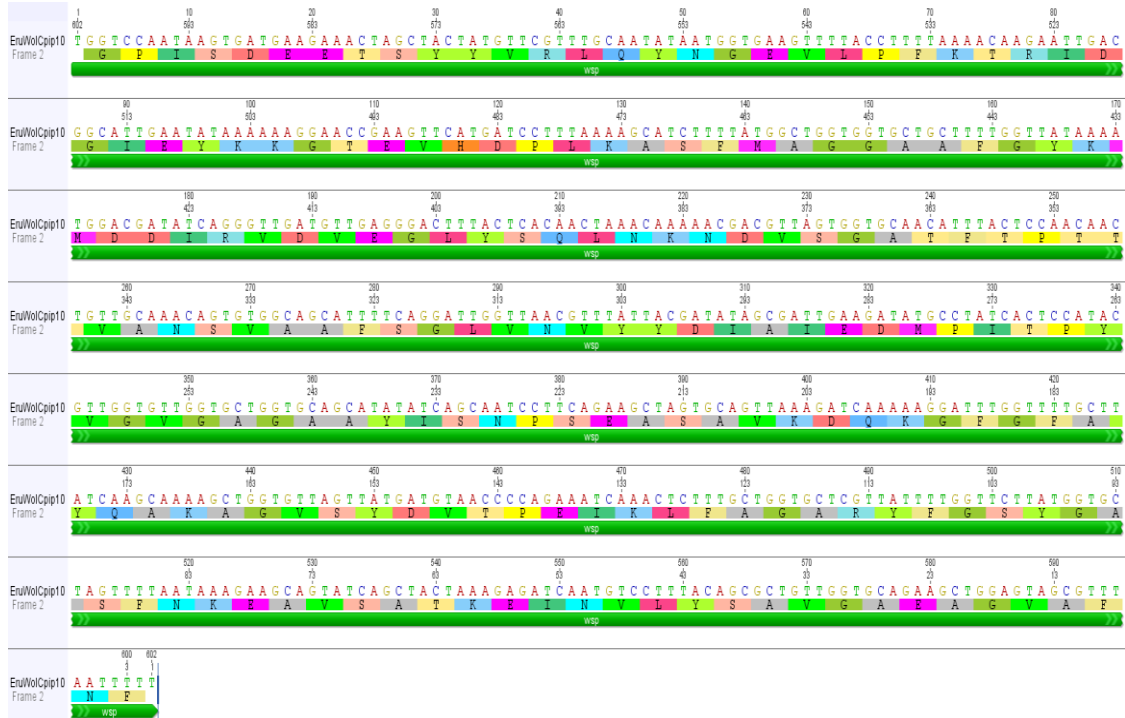
Şekil 4.16. EruWolCpip7 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964229)



Şekil 4.17. EruWolCpip8 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964230)



Şekil 4.18. EruWolCpip9 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964231)



Şekil 4.19. EruWolCpip10 izolatının parsiyel *wsp* gen bölgesi nükleotit ve aminoasit dizilimleri (KT964232)

Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanan *Cx. pipiens* örneklerinde saptanan *Wolbachia* izolatlarıyla *wsp* gen bölgesi yönünden blastn kıyaslaması yapılan GenBank veri tabanında kayıtlı Dünya'daki ve Türkiye'deki diğer bazı *Wolbachia* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Dünyadan ve Türkiye'den filogenetik kıyaslaması yapılan diğer bazı *Wolbachia* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler

İzolat	Orijin	İzolasyon kaynağı	Gen Bölgesi	Aksesyon Numarası
29	A.B.D.	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	DQ842461
Teh16	İran	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	EF539842
Nanjing	Çin	<i>Culex pipiens pallens</i>	<i>wsp</i>	JX050185
Isfahan Viniche 1	İran	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KM401551
Isfahan Diziche 5	İran	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KM401555
EruWolCpip1	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964223
EruWolCpip2	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964224
EruWolCpip3	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964225
EruWolCpip4	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964226
EruWolCpip5	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964227
EruWolCpip6	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964228
EruWolCpip7	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964229
EruWolCpip8	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964230
EruWolCpip9	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964231
EruWolCpip10	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	KT964232
WalbB	A.B.D.	<i>Aedes albopictus</i>	<i>wsp</i>	AF020059
WFemNR	Tayland	<i>Agriocnemis femina femina (Brauer)</i>	<i>wsp</i>	AY173941
WcauA	A.B.D.	<i>Cadra cautella</i>	<i>wsp</i>	AF020075
WcauB	A.B.D.	<i>Cadra cautella</i>	<i>wsp</i>	AF020076
ESPRO	A.B.D.	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	AF020061
Tg1226	İran	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	DQ900652
-	A.B.D.	<i>Culex pipiens quinquefasciatus</i>	<i>wsp</i>	AF301012
-	A.B.D.	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>wsp</i>	AF020060
17.8	A.B.D.	<i>Drosophila auraria</i>	<i>wsp</i>	AF020062
Aubiry 253	A.B.D.	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>wsp</i>	AF020063
Cairns	A.B.D.	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>wsp</i>	AF020064
CantonS	A.B.D.	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>wsp</i>	AF020065
S-9	A.B.D.	<i>Drosophila</i>	<i>wsp</i>	AF020073

		<i>sechellia</i>		
Coffs Harbour	A.B.D.	<i>Drosophila simulans</i>	<i>wsp</i>	AF020067
Hawaii	A.B.D.	<i>Drosophila simulans</i>	<i>wsp</i>	AF020068
Watsonville	A.B.D.	<i>Drosophila simulans</i>	<i>wsp</i>	AF020069
Riverside	A.B.D.	<i>Drosophila simulans</i>	<i>wsp</i>	AF020070
Noumea	A.B.D.	<i>Drosophila simulans</i> (Noumea strain)	<i>wsp</i>	AF020074
-	Japonya	<i>Eurema hecabe</i>	<i>wsp</i>	AB278203
-	A.B.D.	<i>Glossina austeni</i>	<i>wsp</i>	AF020077
-	A.B.D.	<i>Glossina morsitans centralis</i>	<i>wsp</i>	AF020078
Bristol	A.B.D.	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	<i>wsp</i>	AF020079
Yunnan Province	A.B.D.	<i>Laodelphax striatellus</i>	<i>wsp</i>	AF020080
-	A.B.D.	<i>Muscidifurax uniraptor</i>	<i>wsp</i>	AF020071
-	A.B.D.	<i>Nasonia vitripennis</i>	<i>wsp</i>	AF020081
-	Fransa	<i>Peribatodes rhomboidaria</i>	<i>wsp</i>	EU288014
Israel	A.B.D.	<i>Phlebotomus papatasi</i>	<i>wsp</i>	AF020082
-	A.B.D.	<i>Tagosedes orizicolus</i>	<i>wsp</i>	AF020085
-	A.B.D.	<i>Tribolium confusum</i>	<i>wsp</i>	AF020083
Texas 223	A.B.D.	<i>Trichogramma deion</i>	<i>wsp</i>	AF020084
WolKys1	Türkiye	<i>Culex pipiens</i>	<i>wsp</i>	JX474753
TrERUWolLice1	Türkiye	<i>Bovicola limbata</i>	<i>wsp</i>	KJ700416

Sultan Sazlığı ekosistemindeki *Cx. pipiens* örneklerinde pozitif belirlenen ve nükleotid dizisi ortaya konan *Wolbachia* izolatları ile Dünya'dan ve Türkiye'den çoklu hizalama analizlerine dahil edilen diğer izolatların *wsp* gen bölgesine göre nükleotid kompozisyonları Tablo 4.4'de, ikili kıyaslamaları ise Şekil 4.20'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Çoklu hizalamaları yapılan *Wolbachia* pozitif izolatlar ve Dünyadan ve Türkiye’den diğer bazı *Wolbachia* izolatlarının nükleotid kompozisyonları

İzolat	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	A+T (%)	G+C (%)	Toplam nükleotid sayısı
<i>Culex pipiens</i> DQ842461	30,8	15,7	31,5	21,9	62,3	37,7	483,0
<i>Culex pipiens</i> EF539842	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens pallens</i> JX050185	33,5	16,0	28,0	22,5	61,6	38,4	489,0
<i>Culex pipiens</i> KM401551	31,7	16,8	29,2	22,2	60,9	39,1	463,0
<i>Culex pipiens</i> KM401555	31,7	16,8	29,3	22,2	61,0	39,0	464,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip2	31,9	15,5	30,3	22,3	62,2	37,8	601,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip3	32,2	15,4	30,2	22,2	62,4	37,6	603,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip4	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip5	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip6	31,9	15,6	30,2	22,3	62,1	37,9	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip7	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip8	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip9	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip10	32,1	15,6	30,1	22,3	62,1	37,9	602,0
<i>Culex pipiens</i> EruWolCpip1	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Aedes albopictus</i> AF020059	32,1	15,6	29,9	22,4	62,0	38,0	558,0
<i>Agriocnemis femina</i> femina (Brauer)AY173941	31,9	15,9	30,1	22,0	62,0	38,0	558,0
<i>Cadra cautella</i> AF020075	30,6	18,4	28,1	22,9	58,7	41,3	576,0
<i>Cadra cautella</i> AF020076	33,9	13,6	29,9	22,6	63,8	36,2	552,0
<i>Culex pipiens</i> AF020061	32,0	16,0	30,0	21,9	62,1	37,9	556,0
<i>Culex pipiens</i> DQ900652	32,1	15,4	30,2	22,3	62,3	37,7	602,0
<i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF301012	31,9	15,9	30,1	22,0	62,0	38,0	558,0
<i>Culex quinquefasciatus</i> AF020060	32,0	16,0	30,0	21,9	62,1	37,9	556,0
<i>Drosophila auraria</i> AF020062	31,2	16,2	30,5	22,0	61,7	38,3	567,0
<i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	31,8	16,5	30,1	21,7	61,9	38,1	674,0
<i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	31,2	16,8	30,5	21,5	61,7	38,3	731,0
<i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	31,8	16,5	30,1	21,7	61,9	38,1	674,0
<i>Drosophila sechellia</i>	30,7	18,4	28,1	22,7	58,9	41,1	576,0

AF020073							
Drosophila simulans AF020067	32,6	16,5	29,9	21,0	62,5	37,5	823,0
Drosophila simulans AF020068	33,1	18,1	27,3	21,4	60,5	39,5	779,0
Drosophila simulans AF020069	32,9	15,9	29,3	22,0	62,1	37,9	642,0
Drosophila simulans AF020070	33,4	16,1	30,2	20,3	63,6	36,4	1075,0
Drosophila simulans (Noumea strain) AF020074	31,9	15,8	30,3	22,0	62,2	37,8	558,0
Eurema hecabe AB278203	32,2	15,7	30,0	22,0	62,2	37,8	540,0
Glossina austeni AF020077	32,5	16,2	28,3	23,1	60,7	39,3	619,0
Glossina morsitans centralis AF020078	31,7	15,8	30,0	22,5	61,7	38,3	564,0
Glossina morsitans morsitans AF020079	31,9	15,6	30,1	22,3	62,1	37,9	564,0
Laodelphax striatellus AF020080	32,4	14,6	30,8	22,2	63,2	36,8	555,0
Muscidifurax uniraptor AF020071	31,8	16,9	28,9	22,4	60,7	39,3	644,0
Nasonia vitripennis AF020081	31,6	16,0	30,0	22,4	61,6	38,4	563,0
Peribatodes rhomboidaria EU288014	31,9	15,9	30,1	22,0	62,0	38,0	558,0
Phlebotomus papatasi AF020082	31,3	18,1	27,4	23,3	58,6	41,4	563,0
Tagosedes orizicolus AF020085	32,8	14,3	29,9	23,0	62,7	37,3	552,0
Tribolium confusum AF020083	32,1	15,1	30,6	22,2	62,7	37,3	555,0
Trichogramma deion AF020084	32,8	13,7	30,6	22,9	63,4	36,6	555,0
Culex pipiens WolKys1 JX474753	32,0	15,9	30,4	21,7	62,4	37,6	553,0
Bovicola limbata TrERUWolLice1 KJ700416	31,7	15,2	31,3	21,9	63,0	37,0	540,0
Ortalama	31,4	16,7	31,4	20,4	62,9	37,1	582,0

[illegible]

Şekil 4.20. *Culex pipiens* örneklerinde pozitif belirlenen *Wolbachia* izolatları ile Dünya’da ve Türkiye’den analizleri yapılan diğer bazı izolatların wsp gen dizilimlerinin pairwise analizleri

Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanan sivrisinek örneklerinden elde edilen *Wolbachia* izolatları ile Dünya'da ve Türkiye'de GenBank'a kayıtlı benzer diğer bazı izolatların, partial *wsp* gen bölgelerinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları Şekil 4.21'de gösterilmiştir.

380

400

410

420

430

440

450

460

470

480

1. *Culex pipiens* (DQ842461)

2. *Culex pipiens* 2 (EF539842)

3. *Culex pipiens pallens* (JN050185)

4. *Culex pipiens* 3 (KM401551)

5. *Culex pipiens* 4 (KM401555)

6. *Culex pipiens* EruVolCpip2

7. *Culex 2* (pipiens EruVolCpip3)

8. *Culex 3* (pipiens EruVolCpip4)

9. *Culex 4* (pipiens EruVolCpip5)

10. *Culex 5* (pipiens EruVolCpip6)

11. *Culex 6* (pipiens EruVolCpip7)

12. *Culex 7* (pipiens EruVolCpip8)

13. *Culex 8* (pipiens EruVolCpip9)

14. *Culex 9* (pipiens EruVolCpip10)

15. *Culex 10* (pipiens EruVolCpip11)

16. *Aedes albopictus* AF020059

17. *Apicomemris femina femina* (Brauer)(AY173941)

18. *Cadra cautella* AF020075

19. *Cadra cautella* AF020076

20. *Culex pipiens* AF020081

21. *Culex pipiens* DO800652

22. *Culex pipiens quinquefasciatus* AF301012

23. *Culex quinquefasciatus* AF020060

24. *Drosophila auraria* AF020062

25. *Drosophila melanogaster* AF020063

26. *Drosophila melanogaster* AF020064

27. *Drosophila melanogaster* AF020065

28. *Drosophila sechellia* AF020073

29. *Drosophila simulans* AF020067

30. *Drosophila simulans* AF020068

31. *Drosophila simulans* AF020069

32. *Drosophila simulans* AF020070

33. *Drosophila simulans* (Noumea_strain) AF020074

34. *Eurema hecabe* AB278203

35. *Glossina austeni* AF020077

36. *Glossina morsitans centralis* AF020078

37. *Glossina morsitans morsitans* AF020079

38. *Laodelphax striatellus* AF020080

39. *Muscidifurax uniraptor* AF020071

40. *Nasonia vitripennis* AF020081

41. *Peritododes rhomboidaria* EU288014

42. *Phlebotomus papatasi* AF020082

43. *Tagosodes oriziculus* AF020085

44. *Tribolium confusum* AF020083

45. *Trichogramma deion* AF020084

46. *Culex pipiens 5* (WolKyst J4474753)

47. *Bovicola limbatia* TIERUWolC1 KJ700416

48. *Aedes (albopictus* EU271139)

49. *Trissolcus (ruviventris* HQ447079)

50. *Trissolcus 2* (flavipes HQ447078)

51. *Trissolcus 3* (grandis HQ447075)

AAAACAAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAGAAATTGACGGCATTGAATATAA

TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTACTATGTTGCTTTCGAATATAATGGTGAAGTTTACCTTTTAAAAACAAG

	400	500	510	520	530	540	550	560	570	580
1. <i>Culex pipiens</i> (D0842461)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
2. <i>Culex pipiens</i> 2 (EF33942)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
3. <i>Culex pipiens gallens</i> (JX050185)			TCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
4. <i>Culex pipiens</i> 3 (KM401551)		GAACCGAA	GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
5. <i>Culex pipiens</i> 4 (KM401555)		AGGAACCGAA	GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
6. <i>Culex pipiens</i> EruVolCpip2	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
7. <i>Culex</i> 2 (pipiens EruVolCpip3)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
8. <i>Culex</i> 3 (pipiens EruVolCpip4)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
9. <i>Culex</i> 4 (pipiens EruVolCpip5)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
10. <i>Culex</i> 5 (pipiens EruVolCpip6)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
11. <i>Culex</i> 6 (pipiens EruVolCpip7)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
12. <i>Culex</i> 7 (pipiens EruVolCpip8)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
13. <i>Culex</i> 8 (pipiens EruVolCpip9)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
14. <i>Culex</i> 9 (pipiens EruVolCpip10)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
15. <i>Culex</i> 10 (pipiens EruVolCpip1)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
16. <i>Aedes albopictus</i> AF020059	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
17. <i>Agriocnemis femina femina</i> (Brauer) (J173941)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
18. <i>Cadua caduella</i> AF020075	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
19. <i>Cadua caduella</i> AF020076	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
20. <i>Culex pipiens</i> AF020081	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
21. <i>Culex pipiens</i> DQ900852	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
22. <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF030102	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
23. <i>Culex quinquefasciatus</i> AF020080	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
24. <i>Drosophila auraria</i> AF020062	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
25. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
26. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
27. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
28. <i>Drosophila sechellia</i> AF020073	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
29. <i>Drosophila simulans</i> AF020067	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
30. <i>Drosophila simulans</i> AF020068	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
31. <i>Drosophila simulans</i> AF020069	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
32. <i>Drosophila simulans</i> AF020070	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
33. <i>Drosophila simulans</i> (Noumea strain) AF020074	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
34. <i>Eurema heurabi</i> AB278203	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
35. <i>Glossina austeni</i> AF020077	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
36. <i>Glossina morsitans centralis</i> AF020078	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
37. <i>Glossina morsitans morsitans</i> AF020079	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
38. <i>Laodelphax striatellus</i> AF020080	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
39. <i>Musculidixax unipartit</i> AF020071	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
40. <i>Nasonia vitripennis</i> AF020081	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
41. <i>Peritodotes rhomboidaria</i> EU288014	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
42. <i>Phlebotomus papatasi</i> AF020082	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
43. <i>Tagosodes orizolus</i> AF020085	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
44. <i>Tritolium confusum</i> AF020083	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
45. <i>Trichogramma deion</i> AF020084	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
46. <i>Culex pipiens</i> 5 (Wolfsy1 JX474753)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
47. <i>Bovicola limbat</i> TrERUVolC1 KJ700416	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
48. <i>Aedes (albopictus)</i> EU271739	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
49. <i>Trissolcus (ruvifentis)</i> HQ447079	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
50. <i>Trissolcus</i> 2 (flavipes HQ447078)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					
51. <i>Trissolcus</i> 3 (grandis HQ447075)	AAAAGGAACCGAA		GTTTCATGATCCTTTA	AAAGCATCTTTTATGGCTGGTGGTCTGCATT	TTGGTTATAAAATGGACGATAT					

	580	600	610	620	630	640	650	660	670	680
1. <i>Culex pipiens</i> (D0842461)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
2. <i>Culex pipiens</i> 2 (EF339842)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
3. <i>Culex pipiens pallens</i> (XJ050185)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
4. <i>Culex pipiens</i> 3 (XJ0401551)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
5. <i>Culex pipiens</i> 4 (XJ0401555)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
6. <i>Culex pipiens</i> EriWoCsp2	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
7. <i>Culex</i> 2 (pipiens EriWoCsp3)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
8. <i>Culex</i> 3 (pipiens EriWoCsp4)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
9. <i>Culex</i> 4 (pipiens EriWoCsp5)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
10. <i>Culex</i> 5 (pipiens EriWoCsp6)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
11. <i>Culex</i> 6 (pipiens EriWoCsp7)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
12. <i>Culex</i> 7 (pipiens EriWoCsp8)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
13. <i>Culex</i> 8 (pipiens EriWoCsp9)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
14. <i>Culex</i> 9 (pipiens EriWoCsp10)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
15. <i>Culex</i> 10 (pipiens EriWoCsp11)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
16. <i>Aedes albopictus</i> AF020053	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTG			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
17. <i>Agriocnemis femina femina</i> (Brauer) (XJ173941)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
18. <i>Cadra caudella</i> AF020075	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
19. <i>Cadra caudella</i> AF020076	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	TGAGTAAAG	CGAGT	GTGTGTA	GAATTT		CTCCAGCA	---GTTGAGAGT	TAACAGCA
20. <i>Culex pipiens</i> AF020081	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
21. <i>Culex pipiens</i> DQ090652	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
22. <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF301012	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
23. <i>Culex quinquefasciatus</i> AF020060	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
24. <i>Drosophila auraria</i> AF020082	CAGGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCAGC	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
25. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
26. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
27. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
28. <i>Drosophila sechellia</i> AF020073	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
29. <i>Drosophila simulans</i> AF020067	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
30. <i>Drosophila simulans</i> AF020068	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
31. <i>Drosophila simulans</i> AF020069	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
32. <i>Drosophila simulans</i> AF020070	CAGGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCAGC	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
33. <i>Drosophila simulans</i> (Noumea strain) AF020074	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
34. <i>Eurema hecabe</i> AB278203	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
35. <i>Glossina austeni</i> AF020077	CAGGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCAGC	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
36. <i>Glossina morsitans centralis</i> AF020078	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
37. <i>Glossina morsitans morsitans</i> AF020079	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
38. <i>Loa loa</i> AF020080	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
39. <i>Muscidifurax uniraptor</i> AF020071	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
40. <i>Nasonia vitripennis</i> AF020081	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
41. <i>Peritodonta rhomboidaria</i> U288014	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
42. <i>Phlebotomus papatasi</i> AF020082	CAGGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
43. <i>Tagosodes orizikos</i> AF020085	CAGGGTTGATGTTGAGGACTTTA	CTCACA	CTAAACAAAA	CAAGTTAAGTGA	AACATTGAC	CCAGCAAACTA	TTGCA	GACAGTGT	TAACAGCA	
44. <i>Tribolium confusum</i> AF020083	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
45. <i>Trichogramma deion</i> AF020084	CAGGTTGATGTTGAGGGCTTTA	CTCGCAGTAA	CAAGGA	---CAGTGTGAGT	CTCA			CTCCAG	---CTTCGAGAGT	TAACAGCA
46. <i>Culex pipiens</i> 5 (Wolflyst) (XJ474753)	CAGGGTTGATGTTGAGGGAC	CTTTACTCACA	CTAAACAAAA	ACGAGTTAGTGGT	GCAACATTTA			CTCCAACA	CTGTTGCAAA	CAGTGTGGCAGCA
47. <i>Boiccola limbatata</i> THERUWolLice1 (XJ700416)										
48. <i>Aedes albopictus</i> EU727139										
49. <i>Trissolcus fulviventris</i> HQ447079										
50. <i>Trissolcus</i> 2 (flavipes) HQ447078										
51. <i>Trissolcus</i> 3 (lorandis) HQ447075										

	690	700	710	720	730	740	750	760	770	780
1. <i>Culex pipiens</i> (D0842461)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
2. <i>Culex pipiens</i> 2 (EF339842)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
3. <i>Culex pipiens pallens</i> (X050185)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
4. <i>Culex pipiens</i> 3 (KM401551)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
5. <i>Culex pipiens</i> 4 (KM401555)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
6. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp12	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
7. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp13	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
8. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp14	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
9. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp15	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
10. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp16	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
11. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp17	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
12. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp18	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
13. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp19	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
14. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp10	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
15. <i>Culex pipiens</i> EuVolCp11	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
16. <i>Aedes albopictus</i> AF020053	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
17. <i>Agrocnemis femina femina</i> (Brauer)(AY173941)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
18. <i>Cadra cautella</i> AF020075	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
19. <i>Cadra cautella</i> AF020076	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
20. <i>Culex pipiens</i> AF020061	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
21. <i>Culex pipiens</i> DQ900652	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
22. <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF010112	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
23. <i>Culex quinquefasciatus</i> AF020060	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
24. <i>Drosophila auraria</i> AF020062	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
25. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
26. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
27. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
28. <i>Drosophila sechellia</i> AF020073	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
29. <i>Drosophila simulans</i> AF020067	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
30. <i>Drosophila simulans</i> AF020068	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
31. <i>Drosophila simulans</i> AF020069	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
32. <i>Drosophila simulans</i> AF020070	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
33. <i>Drosophila simulans</i> (Noumea_strain) AF020074	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
34. <i>Eurema hecabe</i> AB278203	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
35. <i>Glossina austeni</i> AF020077	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
36. <i>Glossina morsitans centralis</i> AF020078	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
37. <i>Glossina morsitans morsitans</i> AF020079	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
38. <i>Laodelphax striatellus</i> AF020080	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
39. <i>Muscidifurax uniraptor</i> AF020071	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
40. <i>Nasonia vitripennis</i> AF020081	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
41. <i>Peritodotes rhomboidaria</i> EU288014	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
42. <i>Phlebotomus papatasi</i> AF020082	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
43. <i>Tagosodes oriziculus</i> AF020085	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
44. <i>Tribolium confusum</i> AF020083	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
45. <i>Trichogramma deion</i> AF020084	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
46. <i>Culex pipiens</i> 5 (VolKys) JX447473)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
47. <i>Bovicola (limbata) TIERUWolLee1</i> KJ700416)	TTTCAGGAT	TGGTTAACGTT	ATTACGATATAGCGATT	GAAAGATATG	CCTATCACT	CCATACGTTGGT	GTTGGTGTGGT	GCAGCATATAT	CAGCAATC	
48. <i>Aedes (albopictus) EU727139)</i>										
49. <i>Trissolcus (fulvipes) HQ447079)</i>										
50. <i>Trissolcus 2 (fulvipes) HQ447078)</i>										
51. <i>Trissolcus 3 (orandis) HQ447075)</i>										

	790	800	810	820	830	840	850	860	870	880
1. <i>Culex pipiens</i> (DQ842461)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
2. <i>Culex pipiens</i> 2 (EF339842)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
3. <i>Culex pipiens pallens</i> (JN050185)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
4. <i>Culex pipiens</i> 3 (KM401551)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
5. <i>Culex pipiens</i> 4 (KM401555)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
6. <i>Culex pipiens</i> EriVolCpip2	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
7. <i>Culex 2 (pipiens</i> EriVolCpip3)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
8. <i>Culex 3 (pipiens</i> EriVolCpip4)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
9. <i>Culex 4 (pipiens</i> EriVolCpip5)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
10. <i>Culex 5 (pipiens</i> EriVolCpip6)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
11. <i>Culex 6 (pipiens</i> EriVolCpip7)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
12. <i>Culex 7 (pipiens</i> EriVolCpip8)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
13. <i>Culex 8 (pipiens</i> EriVolCpip9)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
14. <i>Culex 9 (pipiens</i> EriVolCpip10)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
15. <i>Culex 10 (pipiens</i> EriVolCpip1)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
16. <i>Aedes albopictus</i> AF020053	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAGCT								
17. <i>Agrionemexis femina femina</i> (BrauerjAY173941)	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
18. <i>Cadra cadella</i> AF020075	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTG AG TATGA TAAC CCAGAAATCAAAC									
19. <i>Cadra cadella</i> AF020076	CTT TAGTAACGAGATACTGG GAT AAAAA C CT GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAAATCAAGCT									
20. <i>Culex pipiens</i> AF020061	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
21. <i>Culex pipiens</i> DQ900652	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
22. <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF301012	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
23. <i>Culex quinquefasciatus</i> AF020060	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
24. <i>Drosophila auraria</i> AF020062	CTT TGNAAGACGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
25. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	CTT TGGAACCGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
26. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	CTT TGGAACCGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
27. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	CTT TGGAACCGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
28. <i>Drosophila sechellia</i> AF020073	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTG AG TATGA TAAC CCAGAAATCAAAC									
29. <i>Drosophila simulans</i> AF020067	CTT TGGAACCGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
30. <i>Drosophila simulans</i> AF020068	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTG AG TATGA TAAC CCAGAAATCAAAC									
31. <i>Drosophila simulans</i> AF020069	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAGCT								
32. <i>Drosophila simulans</i> AF020070	CTT TGNAAGACGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
33. <i>Drosophila simulans</i> (Nooume_strain) AF020074	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAGCT								
34. <i>Eureka hercabe</i> AB278203	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
35. <i>Glossina austeni</i> AF020077	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTG AG TATGA TAAC CCAGAGTCAAAC									
36. <i>Glossina morsitans centralis</i> AF020078	CTT TGNAAGACGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAG TATGATGTAAACCCGGAAGTCAAAC									
37. <i>Glossina morsitans morsitans</i> AF020079	CTT TGNAAGACGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGGAAGTCAAAC									
38. <i>Laodelphax striatellus</i> AF020080	CTTCAGAAGCTGGTGAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAG TATGATGTAAACCCAGAAATCAAAC								
39. <i>Musculifurax uniraptor</i> AF020071	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTGTAGTTA TATGATGTAAACCCAGAGTCAAAC									
40. <i>Nasonia vitripennis</i> AF020081	CTT TGNAAGACGGTG ---AAGATCAAAA AGTA AATTGTTTTGCT GG CAAGCAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGGAAGTCAAAC									
41. <i>Peritodotes rhomboidaria</i> EU280014	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
42. <i>Phlebotomus papatasi</i> AF020082	CTT TGGCAACCGGTG ---AGTAGTCAAAA GGA AATTGCTTTTGGT GG CAAGCAAGAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGGAAGTCAAAC									
43. <i>Tagosodes orizolus</i> AF020085	CTT TAGTAACGAGGTA CTGGGAT AAAAA C CT GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAGCT									
44. <i>Trilolium confusum</i> AF020083	CTTCAGAAGCTGATGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAG TATGATGTAAACCCAGAAATCAAAC								
45. <i>Trichogramma deion</i> AF020084	CTTCAGAAG CTGGTG AGTTAA GGATCAAAAGG	-- AGCTTTGG TTTTGCTTATCAAGCAAAAAG TGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
46. <i>Culex pipiens</i> 5 (WolKyst) JX474753	CTTCAGAAGCTAGTGCAGTTAAAGATCAAAAA	--GGATTGTTTTGCTTATCAAGCAAAAAGCTGGTGTAGTTATGATGTAAACCCGAAATCAAAC								
47. <i>Boiccola limbatata</i> TIEU001 WU01ce1 KU700416)										
48. <i>Aedes albopictus</i> EU727139)										
49. <i>Trissolcus (rufiventris</i> H0447079)										
50. <i>Trissolcus 2 (flavipes</i> H0447078)										
51. <i>Trissolcus 3 (orandis</i> H0447075)										

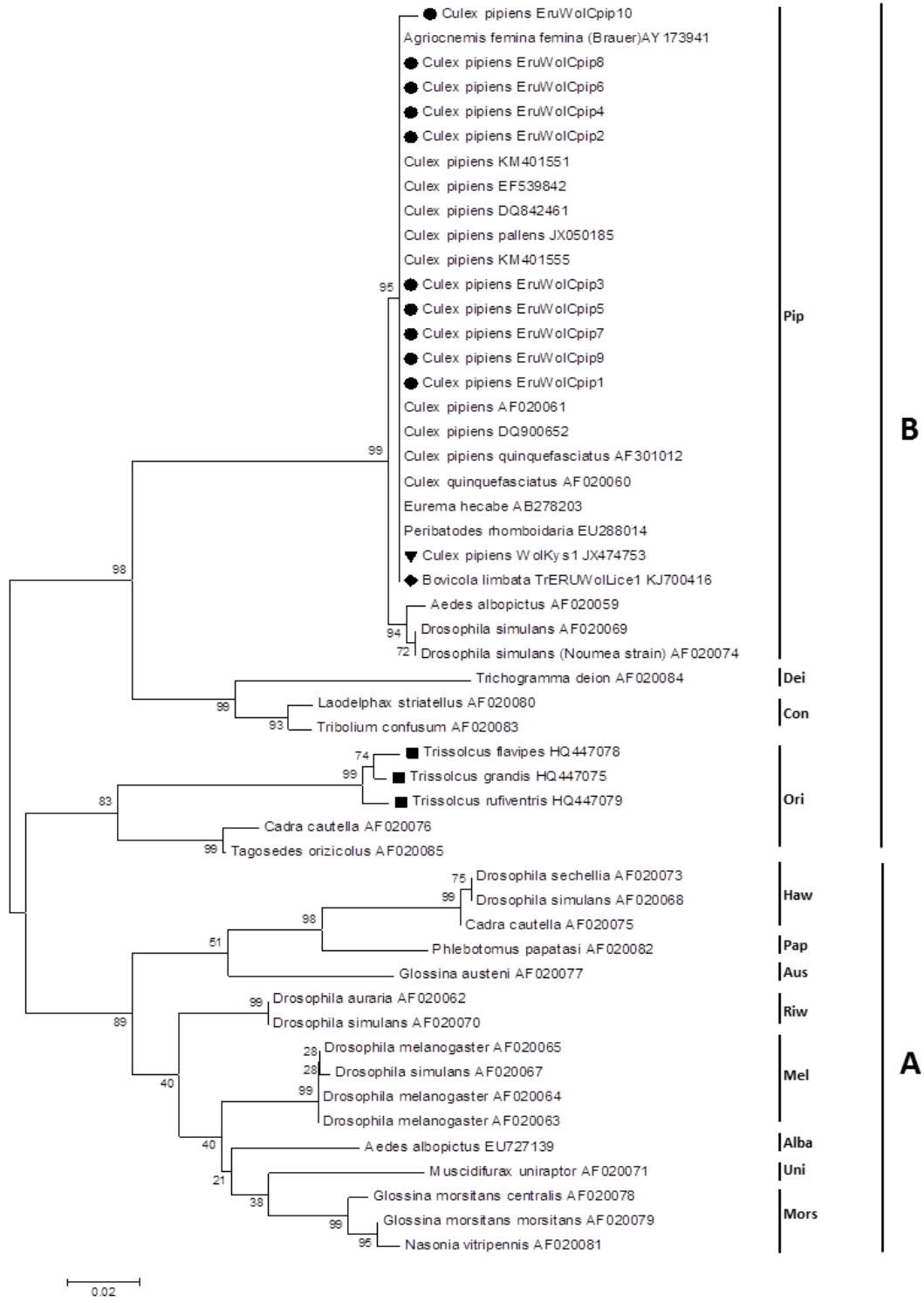
	880	900	910	920	930	940	950	960	970	980
1. <i>Culex pipiens</i> (D0842461)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
2. <i>Culex pipiens</i> 2 (EF538842)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
3. <i>Culex pipiens pallens</i> (XJ050185)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
4. <i>Culex pipiens</i> 3 (KM401551)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
5. <i>Culex pipiens</i> 4 (KM401555)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
6. <i>Culex pipiens</i> EuVolCpip2	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
7. <i>Culex 2 pipiens</i> EuVolCpip3	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
8. <i>Culex 3 pipiens</i> EuVolCpip4	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
9. <i>Culex 4 pipiens</i> EuVolCpip5	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
10. <i>Culex 5 pipiens</i> EuVolCpip6	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
11. <i>Culex 6 pipiens</i> EuVolCpip7	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
12. <i>Culex 7 pipiens</i> EuVolCpip8	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
13. <i>Culex 8 pipiens</i> EuVolCpip9	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
14. <i>Culex 9 pipiens</i> EuVolCpip10	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
15. <i>Culex 10 pipiens</i> EuVolCpip1	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
16. <i>Aedes albopictus</i> AF020059	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAACAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
17. <i>Agriocnemis femina femina</i> (Brauer) JAY173941	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
18. <i>Cadra cautella</i> AF020075	CTACGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AAAGATACCTGGCAGCAAGCAAGCAAGAGCAAGGGGGAT		
19. <i>Cadra cautella</i> AF020076	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TATTTTGGT				AAAGAGCAAGAG	ATATGGGGATAT	
20. <i>Culex pipiens</i> AF020061	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
21. <i>Culex pipiens</i> DQ900652	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
22. <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> AF010112	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
23. <i>Culex quinquefasciatus</i> AF020060	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
24. <i>Drosophila auraria</i> AF020062	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAAGATACCTGGCAGCAAGCAAGCAAGAGCAAGGGGGAT		
25. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020063	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT	GGAAAAAACAAGATCCAAATTTCAACCGGACAGGGGCTGATGACAGGGGAT								
26. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020064	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT	GGAAAAAACAAGATCCAAATTTCAACCGGACAGGGGCTGATGACAGGGGAT								
27. <i>Drosophila melanogaster</i> AF020065	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT	GGAAAAAACAAGATCCAAATTTCAACCGGACAGGGGCTGATGACAGGGGAT								
28. <i>Drosophila sechellia</i> AF020073	CTACGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAAGATACCTGGCAGCAAGCAAGCAAGAGCAAGGGGGAT		
29. <i>Drosophila simulans</i> AF020067	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT	GGAAAAAACAAGATCCAAAGATTTCAACCGACAGGGTATGATGACAGGGGAT								
30. <i>Drosophila simulans</i> AF020068	CTACGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAAGATACCTGGCAGCAAGCAAGCAAGAGCAAGGGGGAT		
31. <i>Drosophila simulans</i> AF020069	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
32. <i>Drosophila simulans</i> AF020070	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAAGATACCTGGCAGCAAGCAAGCAAGAGCAAGGGGGAT		
33. <i>Drosophila simulans</i> (Noumea_strain) AF020074	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
34. <i>Eurema hecabe</i> AB278203	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
35. <i>Glossina austeni</i> AF020077	TTACGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AAA---ACACAAAAG	ATGGCAAHAGGGGAT	
36. <i>Glossina morsitans centralis</i> AF020078	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AGAGATGCCTGG	CAGGCAAA-GCAAHAGGGGAT	
37. <i>Glossina morsitans morsitans</i> AF020079	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AAAGATGCCTGG	CAGGCAAA-GCAAHAGGGGAT	
38. <i>Laodelphax striatellus</i> AF020080	CTTTGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAGGAGCCAAAGG	ATGATGCTGGTAAAT	
39. <i>Muscidifurax uniraptor</i> AF020071	TTACGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AAA---ACACAAAAG	ATGGCAAHAGGGGAT	
40. <i>Nasonia vitripennis</i> AF020081	TTATGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATATTTTGAT							AAAGATGCCTGG	CAGGCAAA-GCAAHAGGGGAT	
41. <i>Peritadodes nomboidaria</i> EU280014	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
42. <i>Phlebotomus papatasi</i> AF020082	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TATTTTGAT				AAA---ACACAAAAG	ATGGCAAHAGGGGAT	
43. <i>Taposodes onchoculus</i> AF020085	TTATGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TATTTTGAT				AAGCAACCAAG	ATGATGGCGGAAT	
44. <i>Trinollum confusum</i> AF020083	CTTTGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAGGAGCCAAAGG	ATGATGCTGGTAAAT	
45. <i>Trichogramma deion</i> AF020084	CTTTGCTGGAGCTCGTATATTGGTTCTTATGGTGCATTTTGAT							AAGCAACCAAGG	GATGATGATGGTAAAT	
46. <i>Culex pipiens</i> 5 (MolKyst JX474753)	CTTTGCTGGTGC	TGTTATTTTGGT	TCTTATGGTGC	TAGTTTTAAT				AAAGAAGCAGTAT	CAGCTACTAAAGAC	
47. <i>Bovixola (limkata) TIERUWOLice1 KJ700416</i>										
48. <i>Aedes (albopictus) EU727139</i>										
49. <i>Trissolcus (rufiventris) HQ447079</i>										
50. <i>Trissolcus 2 (raipes) HQ447078</i>										
51. <i>Trissolcus 3 (grandis) HQ447075</i>										

	980	1,000	1,010	1,020	1,030
1. Culex pipiens (DQ842461)	ATCAAT				
2. Culex pipiens 2 (EF539842)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
3. Culex pipiens pallens (JX050185)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
4. Culex pipiens 3 (KM401551)	ATCAATGTCCTTTACAGCGC				
5. Culex pipiens 4 (KM401555)	ATCAATGTCCTTTACAGC				
6. Culex (pipiens EruWolCpip2)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
7. Culex 2 (pipiens EruWolCpip3)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
8. Culex 3 (pipiens EruWolCpip4)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
9. Culex 4 (pipiens EruWolCpip5)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
10. Culex 5 (pipiens EruWolCpip6)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
11. Culex 6 (pipiens EruWolCpip7)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
12. Culex 7 (pipiens EruWolCpip8)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
13. Culex 8 (pipiens EruWolCpip9)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
14. Culex 9 (pipiens EruWolCpip10)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
15. Culex 10 (pipiens EruWolCpip11)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
16. Aedes albopictus_AF020059	ATCAAAGTCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
17. Agriocnemis femina_femina ((Brauer)AY173941)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
18. Cadra cautella_AF020075	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
19. Cadra cautella_AF020076	IAA---GTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
20. Culex pipiens_AF020061	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
21. Culex pipiens_DQ900652	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
22. Culex pipiens quinquefasciatus_AF301012	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
23. Culex quinquefasciatus_AF020060	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
24. Drosophila auraria_AF020062	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
25. Drosophila melanogaster_AF020063	TACAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
26. Drosophila melanogaster_AF020064	TACAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
27. Drosophila melanogaster_AF020065	TACAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
28. Drosophila sechellia_AF020073	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
29. Drosophila simulans_AF020067	TACAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
30. Drosophila simulans_AF020068	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
31. Drosophila simulans_AF020069	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
32. Drosophila simulans_AF020070	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTT				
33. Drosophila simulans (Noumea_strain)_AF020074	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
34. Eurema hecabe_AB278203	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGT				
35. Glossina austeni_AF020077	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
36. Glossina morsitans centralis_AF020078	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
37. Glossina morsitans morsitans_AF020079	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
38. Laodelphax striatellus_AF020080	IAAAATGTTGTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
39. Muscidifurax uniraptor_AF020071	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGCTGGAGTAGCGTTTAAATTTCT				
40. Nasonia vitripennis_AF020081	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
41. Peribatodes rhomboidaria_EU288014	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGGTGCAGAAGC				
42. Phlebotomus papatasi_AF020082	CTCAAAGTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
43. Tagosodes orizicolus_AF020085	IAAG---GTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
44. Tribolium confusum_AF020083	IAAAATGTTCTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
45. Trichogramma deion_AF020084	IAAAATGTTGTTTACAGCACTGTTGGTGCAGAAGC				
46. Culex pipiens 5 (WolKys1 JX474753)	ATCAATGTCCTTTACAGCGCTGTTGG				
47. Bovicola (limbata TrERUWolLic1 KJ700416)					
48. Aedes (albopictus EU727139)					
49. Trissolcus (rufiventris HQ447079)					
50. Trissolcus 2 (flavipes HQ447078)					
51. Trissolcus 3 (grandis HQ447075)					

Şekil 4.21. Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanmış *Cx. pipiens* örneklerinde belirlenen *Wolbachia* izolatları ile Dünya'daki ve Türkiye'deki diğer bazı *Wolbachia* izolatlarının partial *wsp* gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları

Şekil 4.21'de görüldüğü gibi *wsp* gen bölgesine göre farklı insekt gruplarında belirlenen *Wolbachia* nesilleri arasında bu nesilleri çeşitli gruplara ayıran nükleotid varyasyonları belirlenmiştir. *Wolbachia* izolatlarının *wsp* gen bölgesine göre neighbor-joining metodu (Kimura 2 Parameter modeli) ile oluşturulan filogenetik ağacı Şekil 4.22'de verilmiştir. Şekil 4.22'de görüldüğü üzere Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanmış *Cx. pipiens* örneklerinde belirlenen *Wolbachia* izolatlarının B süper grubu ve wPip

grubunda yer aldığı belirlenmiştir. EruWolCpip1-9 izolatlarının kendi aralarında %100 identik oldukları ve bu izolatların EruWolCpip10 izolatıyla %0,5 genetik farklılık gösterdikleri saptanmıştır. Türkiye’den daha önce Kayseri yöresindeki *Cx. pipiens* örneğinden izole edilmiş ve GenBank’a girilmiş olan WolKys1 (JX474753) izolatının EruWolCpip1-9 izolatlarıyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde EruWolCpip1-9 izolatlarının wPip grubunda yer alan *Cx. pipiens* (DQ900652, AF301012, AF020060-61), *Peribadotes rhomboidaria* (EU288014), *Agriocnemis femina femina* (Brauer) (AY173941) ve *Eurema hecabe* (AB278203) *Wolbachia* izolatlarıyla da %100 identik oldukları belirlenmiştir. Daha önce Çankırı yöresindeki Ankara keçilerinden toplanmış *Bovicola limbata* bit örneklerinden oluşturulmuş genomik DNA havuzlarından elde edilerek GenBank kaydı yapılan ve yine wPip grubunda yer alan TrERUWolLice1 (KJ700416) izolatının da EruWolCpip1-9 izolatlarıyla %100 identiklik gösterdiği görülmüştür. wPip grubu içindeki ortalama genetik farklılık $0,28 \pm 0,11$ olarak belirlenirken, wPip grubu ile aynı süper grup (B) içerisinde yer alan Dei, Con ve Ori grupları arasındaki ortalama genetik farklılık ise sırasıyla $16,9 \pm 2,3$, $12,5 \pm 1,9$ ve $19,9 \pm 2,5$ bulunmuştur. A süper grubunda yer alan Haw, Riw, Mel, Aus, Mors, Uni, Pap ve Alba grupları ile B süper grubundaki wPip grubu arasındaki genetik farklılık ise sırasıyla $23,5 \pm 3,0$, $17,6 \pm 2,3$, $19,1 \pm 2,5$, $22,0 \pm 2,8$, $21,0 \pm 2,7$, $22,3 \pm 2,9$, $22,0 \pm 2,8$ ve $20,5 \pm 2,6$ olarak saptanmıştır.



Şekil 4.22. Kayseri Sultan Sazlığı ekosisteminden toplanan *Culex pipiens* örneklerinde saptanan *Wolbachia* izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer *Wolbachia* izolatlarının *wsp* gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları (Neighbour Joining - Kimura 2 Parameter modeli, 1000 bootstrap). Ölçek çizgisi bölgeye göre nükleotid değişimini göstermektedir. ●: Sultan Sazlığı yöresinden *Wolbachia* izolatları, ■: Türkiye'de *Trissolcus* türlerinde *Wolbachia* izolatları, ▼: Kayseri'de *Culex pipiens*'te *Wolbachia* izolatları, ◆: Kayseri'de *Bovicola limbata*'da *Wolbachia* izolatları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Wolbachia türleri, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Orthoptera gibi dizilerdeki insekt türlerinin %65'inden fazlasında görülen en yaygın hücre içi endobakterilerden biridir (23, 25, 79, 131). Bulundukları insekt türlerinin üremeleri üzerine etki ederek bu insektlerde sitoplazmik uyumsuzluk, partenogenesis, erkek öldürücülük ve feminizasyon şeklinde üreme değişikliklerine neden olan *Wolbachia* türleri, *ftsZ*, *groEL*, *gltA*, 16S rRNA, ANK ve *wsp* gibi gen sekanslarına bağlı olarak altı gruba (A-H) ayrılmıştır (17, 19, 20, 132). *Wolbachia* türlerinin A ve B grupları artropodların büyük bir kısmında, C ve D grupları filarial nematodlarda, E grubu *Folsomia candida*, *Mesaphorura italica*, *Mesaphorura macrochaeta* ve *Paratullbergia callipygos* gibi artropodlarda, F grubu filarial nematodlar ve seyrek olarak artropodlarda, G grubu örümceklerde ve H grubu da *Zootermopsis angusticollis* ve *Zootermopsis nevadensis* gibi termitlerde bulunmaktadır (17, 19, 20). *Wolbachia* enfeksiyonları konak popülasyonları arasında düşük seviyede genetik farklılıklara yol açabiliyorken, konakları ve konaklarında geçirdikleri evrim arasında ise yüksek seviyede genetik farklılaşma görülebilmektedir (133-137).

Wolbachia endosymbiontlarının en yaygın görüldüğü insekt türlerinden biri olan sivrisineklerde *Wolbachia* türlerinin genel olarak medikal öneme sahip olan *Cx. pipiens* (38, 138, 139), *Aedes albopictus* (4) ve *Ae. aegypti* türlerinde görüldüğü rapor edilmiştir. Ancak Tayland'da yapılan bir çalışmada (140) bu sivrisinek türlerinin yanısıra daha önce bildirilmemiş *Aedes lineatopennis*, *Aedes vexans*, *Aedes vittatus*,

Culex pallidothorax ve *Culex whitmorei* türlerinde de *Wolbachia* pozitifliği rapor edilmiştir. Çalışmamızda, *Wolbachia* endobakterisinin farklı sivrisinek türlerinde de bulunabileceği ve bulunacak muhtemel suşların moleküler karakterlerinin de farklılık gösterebileceği hipotezinden yola çıkarak *Cx. pipiens*, *Ae. vexans* ve *Cs. annulata* türlerindeki toplam 400 adet sivrisinek örneği incelenmiş ve bu örneklerden sadece *Cx. pipiens* türlerinde *Wolbachia* pozitifliği tespit edilmiştir. İncelemesi yapılan toplam 296 (258 dişi, 38 erkek) *Cx. pipiens* örneğinin 119'unda (%40,2) pozitiflik belirlenmiştir. Dünya'da ve Türkiye'de sivrisineklerde *Wolbachia* türlerinin araştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır. Behbahani (141) İran'ın güneybatısındaki Shoushtar bölgesinden topladıkları 44 *Culex pipiens quinquefasciatus* örneğinin tamamının *Wolbachia* ile enfekte olduğunu, 34 *Cx. tritaeniorhynchus* ve 20 *Cx. theileri* örneğinde ise enfeksiyon bulunmadığını rapor etmişlerdir. Güney Hindistan'da yapılan bir başka çalışmada Sunish ve ark. (142) PCR ile inceledikleri 750 ergin *Cx. pipiens quinquefasciatus* türünde %91,2 oranında *Wolbachia* prevalansı bildirmişler ve sekans analizleri sonucu *Cx. quinquefasciatus* *Wolbachia* suşlarının *wsp* gen bölgesine göre farklı coğrafik bölgelerdeki *Cx. pipiens* izolatlarıyla %99 identiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Fransa'nın dört farklı bölgesinden toplanan 178 *Cx. pipiens* örneğinde *Wolbachia* enfeksiyonu rapor edilmiştir (143). Hindistan'da Ravikumar ve ark. (13)'nün yaptığı bir çalışmada, 6 soydaki toplam 20 sivrisinek türünde *wsp* gen bölgesine özgü primerler kullanılarak PCR ile *Wolbachia* araştırması yapılmış ve *Aedes* soyundaki 5 türün %20'sinin, *Culex* soyundaki 8 türün %50'sinin, *Armigeres* soyundaki 2 türün tamamının (%100) ve yine *Toxorhynchites* soyundaki bir türün (%100) enfekte olduğu, *Anopheles* ve *Lutiza* soylarındaki türlerin hiçbirinde ise enfeksiyon saptanmadığı rapor edilmiştir. Kuzey Amerika'da yapılan benzer bir çalışmada ise 5 soydaki (*Aedes*, *Anopheles*, *Culiseta*, *Culex* ve *Ochlerotatus*) 14 sivrisinek türünde *Wolbachia* endobakterisi araştırılmış ve enfeksiyonun sadece *Cx. pipiens* türünde saptandığı bildirilmiştir (131). Kenya'nın farklı köylerinden toplanan *Anopheles*, *Mansonia*, *Aedes* ve *Culex* soylarındaki 9 sivrisinek türünde (toplam 165 sivrisinek örneği) *wsp* gen bölgesine göre PCR ile yapılan incelemede *Culex quinquefasciatus*, *Mansonia uniformis*, *Mansonia africana*, *Aedes bromeliae* ve *Ae. metallicus* türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonu saptandığı bildirilmiştir (144). Kittayapong ve ark. (145)'nün yaptığı çalışmada, yabani sivrisinek türlerinde *ftsZ* ve *wsp* gen bölgelerine göre PCR ile *Wolbachia* prevalansı araştırılmış ve 89 sivrisinek örneğinde %28,1 oranında pozitiflik belirlendiği rapor

edilmiştir. Ricci ve ark (146), İtalya ve Afrika'nın farklı bölgelerinden topladıkları farklı soylardaki toplam 4028 sivrisinek örneğinde (2479 *Culex* spp., 1186 *Aedes* spp., 359 *Anopheles* spp) 16S rRNA ve *wsp* gen bölgeleri açısından PCR ile *Wolbachia* varlığını araştırmışlar ve *Ae. punctator*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens*, *Cx. torrentium* ve *Cq. richiardii* türlerinde pozitiflik saptamışlardır. Türkiye'de yapılmış bir çalışmada (147), Kayseri yöresinden toplanmış toplam 118 *Cx. pipiens* örneğinden oluşan genomik DNA havuzlarında *wsp* gen bölgesini amplifiye eden primerlerle PCR yapılmış ve havuzların %60'nın *Wolbachia* ile enfekte olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların, bu konuda yapılmış bazı benzer çalışmalarda *Cx. pipiens* türlerinde saptanan *Wolbachia* prevalansı ile benzer olduğu görülmüştür. Bu durum, farklı coğrafik bölgelerdeki *Culex* türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonlarının benzer dinamik motiflere sahip olduğunu akla getirmiştir.

Çeşitli insekt türleri üzerinde yapılmış bazı çalışmaların [örn, *Cx. pipiens* (148, 149); *Aedes albopictus* (150); *Drosophila simulans* (151); iki planthopper türü (152)] sonuçlarına benzer olarak *Cx. pipiens* türlerinde saptanan *Wolbachia* türleri sadece dişi bireylerde belirlenmişken erkek sivrisinek türlerinde pozitiflik bulunmamıştır. Dişi ve erkek sivrisineklerdeki bu farklılık çeşitli sebeplere bağlı olarak şekillenebilmektedir. Berticat ve ark. (148) bu durumun erkek ve dişi sivrisineklerin organlarının büyüklük farklılıklarından kaynaklandığını rapor etmiştir. Bir başka teori ise *Wolbachia* türlerinin yumurta yoluyla vertikal olarak nakledilmesi sonucu bu farklılıkların oluştuğudur (153).

Son yıllarda *Wolbachia* ile enfekte insekt türlerinin sayısında hızlı bir artış görülmektedir. Özellikle moleküler düzeydeki ilerlemelere bağlı olarak *Wolbachia* türlerinin dağılımları, moleküler karakterleri ve genetik farklılıkları konusunda güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. *ftsZ*, *groEL*, *gltA*, 16S rRNA, *orf7*, ANK ve *wsp* gibi gen bölgeleri üzerine yapılan çalışmalar, farklı konaklardaki *Wolbachia* suşlarının genotiplendirilmesi gibi konularda farklı moleküler testlerin gelişmesine olanak sağlamıştır (44, 131, 154). Bu gen bölgeleri arasında *wsp* geni diğer gen bölgelerine oranla farklı insekt türleri arasında çok daha yüksek oranda değişken bölgeler ihtiva etmektedir. Bu gen bölgesinden elde edilen sekanslar, *Wolbachia* suşları arasındaki evrimsel yakınlıkların saptanmasında çok daha bilgilendirici sonuçlar içermektedir (155, 156). Bunun yanında farklı insekt grupları arasındaki *Wolbachia* türleri arasında, *wsp* gen bölgesinin 16S rRNA gen bölgesine göre 10 kat daha fazla filogenetik farklılık

içerdiği rapor edilmiştir (4, 156). *Wsp* gen bölgesindeki yüksek düzeyli bu farklılıklar, *Wolbachia* suşlarının bireysel olarak ve/veya grup düzeyinde tanınmasını ve filogenetik yakınlıklarının belirlenmesini sağlayan spesifik PCR primerlerinin dizayn edilmesine olanak sağlamaktadır (156).

Artropodlardaki *Wolbachia* türlerinin moleküler karakterizasyonları ve filogenetik analizlerinde 16S rRNA ve *ftsZ* gibi çeşitli gen bölgeleri kullanılmaktadır (7, 10, 22, 157, 158). Buna karşın bu gen bölgelerinin, A ve B süper gruplarındaki farklı ve geniş *Wolbachia* gruplarının genotiplendirilmesinde yetersiz kalabildiği bildirilmiştir (9, 156). Bu gen bölgelerinin bu dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla özellikle son yıllarda sıklıkla kullanılmaya başlanan *wsp* gen bölgesi ise farklı arthropod türlerindeki *Wolbachia* suşlarının dahi moleküler sınıflandırılmasında çok fayda sağlamaktadır (156). Çalışmamızda sivrisineklerdeki *Wolbachia* türlerinin genotiplendirilmesinde ve araştırılmasında, filogenetik analizlerdeki avantajları ve kolay kullanımı dolayısıyla *wsp* gen bölgesi tercih edilmiştir. Çalışmamızda filogenetik analizlere dahil edilen farklı arthropod türlerinde A süper grubunda 8, B süper grubunda ise 4 grup tespit edilmiştir. Araştırma sahamız olan Sultan Sazlığı ekosistemindeki *Cx. pipiens* örneklerinden elde edilen *Wolbachia* izolatlarının (EruWolCpip1-10) B süper grubu, wPip grubunda yer aldığı saptanmıştır. Bu sonucun, B süper grubu wPip grubunda yer alan farklı coğrafik bölgelerdeki ve Türkiye'deki *Cx. pipiens* örneklerinde rapor edilen *Wolbachia* suşlarıyla (138, 143, 147, 156, 159) uyumlu olduğu ve elde ettiğimiz tüz izolatların Dünya'dan ve Türkiye'den bildirilmiş benzer wPip grubu izolatlarla filogenetik olarak %99,5-100 identiklik gösterdiği görülmüştür. Ayrıca yine sekanslarını elde ettiğimiz tüm izolatların Çankırı yöresindeki Ankara keçilerinden toplanmış *Bovicola limbata* bit örneklerinden elde edilmiş TrERUWolLice1 (KJ700416) izolatıyla da aynı wPip grubunda yer aldığı ve tüm izolatlarla %99,5-100 identiklik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlarla Türkiye'de daha önce *Cx. pipiens* ve *Bovicola limbata* gibi insekt türlerinde yapılmış benzer çalışmaların (147, 160) paralellik göstermesi ve genotiplendirilmesi yapılan *Wolbachia* izolatlarının B süper grubu ve wPip grubunda bulunduğu belirlenmiş olması bu genotipin Türkiye'de farklı insekt gruplarında yaygın olabileceğini düşündürmüştür. A ve B süper gruplarında bulunan her grupta yüksek genetik farklılıkların bulunduğu, özellikle de B süper grubundaki türlerde A süper grubundakilere oranla genetik farklılığın çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (156). Buna benzer şekilde çalışmamızda, wPip grubu içindeki ortalama genetik

farklılık $0,28 \pm 0,11$ olarak belirlenirken, wPip grubu ile aynı süper grup (B) içerisinde yer alan Dei, Con ve Ori grupları arasındaki ortalama genetik farklılık oldukça yüksek ($16,9-19,9$) bulunmuştur. Aynı şekilde A süper grubunda yer alan Haw, Riw, Mel, Aus, Mors, Uni, Pap ve Alba grupları ile B süper grubundaki wPip grubu arasındaki genetik farklılığın da yine yüksek ($17,6-23,5$) olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten EruWolCpip1-10 izolatlarımızın, Türkiye’den daha önce sünelerin (*Eurygaster integriceps*) doğal düşmanları olarak bilinen *Trissolcus rufiventris*, *T. flavipes* ve *T. grandis* türlerinden izole edilen *Wolbachia* izolatlarıyla (161) da yüksek genetik farklılık ($19,9 \pm 2,5$) taşıdıkları saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmayla, Kayseri Sultan Sazlığı ekosistemindeki sivrisinek türlerinde *wsp* gen bölgesi yönünden *Wolbachia* endobakterisinin varlığı araştırılmış ve moleküler karakterleri ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular ve Türkiye’den daha önce bildirilmiş sonuçlar ışığında *Wolbachia* türlerinin Türkiye’nin farklı coğrafyalarındaki farklı artropod türlerinde bulunabileceği varsayılmakta olup bu hipotezin geçerli kılınması açısından Türkiye’de bu konudaki araştırmaların sayısının artması gerektiği kanaatine varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Sungpradit S, Nuchprayoon S. *Wolbachia* of arthropods and filarial nematodes: biology and applications. Chula Med J 2010; 54(6): 605-621.
2. Barr AR. Cytoplasmic incompatibility in natural populations of a mosquito, *Culex pipiens*. L. Nature 1980; 283: 71-72.
3. Breeuwer JAJ, Stouthamer R, Burns DA, et al. Phylogeny of cytoplasmic cytoplasmic incompatibility microorganisms in the parasitoid wasp genus *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae) based on 16s ribosomal DNA sequences. Insect Mol Biol 1992; 1(1): 25-36.
4. O'Neill SL, Giordano R, Colbert AM, Karr TL, Robertson HM. 16srRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89(7): 2699-2702.
5. Stouthamer R, Luck RF, Hamilton WD. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* to revert to sex. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87(7): 2424-2427.
6. Stouthamer R, Breeuwer JAJ, Luck RF, Werren JH. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. Nature 1993; 361(6407): 66-68.
7. Hurst GDD, Jiggins FM, von der Schulenburg JHG, et al. Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. Proc R Soc Lond B Biol Sci 1999;

266(1420): 735-740.

8. Hertig M. The rickettsia *Wolbachia pipientis* (gen. et. sp. n) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens*. Parasitol 1936; 28(4): 453-486.
9. Werren JH. Biology of *Wolbachia*. Annu Rev Entomol 1997; 42: 587-609.
10. Bandi C, Anderson TJ, Genchi C, Blaxter ML. Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes. Proc R Soc 1998; 265(1413): 2407-2413.
11. Vandekerckhove TT, Watteyne S, Willems A, et al. Phylogenetic analysis of the 16S rDNA of the cytoplasmic bacterium *Wolbachia* from then ovel host *Folsomia candida* (Hexapoda, Collembola) and its implications for Wolbachial taxonomy. FEMS Microbiol Lett 1999; 180(2): 279-286.
12. Baldo L, Prendini L, Corthals A, Werren JH. *Wolbachia* are present in southern African scorpions and cluster with supergroup F. Curr Microbiol 2007; 55(5): 367-373.
13. Ravikumar H, Ramachandraswamy N, Sampathkumar S, et al. A preliminary survey for *Wolbachia* and bacteriophage WO infections in Indian mosquitoes (Diptera: Culicidae). Trop Biomed 2010; 27(3): 384-393.
14. Rowley SM, Raven RJ, McGraw EA. *Wolbachia pipientis* in Australian spiders. Curr Microbiol 2004; 49(3): 208-214.
15. 20 Jan 2015. The Taxonomicon. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/>. 01.10.2015.
16. Hertig M, Wolbach SB. Studies on rickettsia- like microorganisms in insects. J.Med. Res. 1924; 44: 329-74.
17. Lo N, Paraskevopoulos C, Bourtzis K et al. Taxonomic status of the intracellular bacterium *Wolbachia pipientis*. Int J Syst Evol Microbiol. 2007; 57: 654-657.
18. Legrand JJ, Legrand-Hamelin E, Juchault P. Sex determination in Crustacea. Biol. Rev. 1987; 62: 439-70.
19. Merçot H, Poinso D. Infection by *Wolbachia*: from passengers to residents. C.R. Biologies 2009; 332: 284-297.
20. Stouthamer R, Breeuwer JAJ, Hurst GDD. *Wolbachia pipientis*: Microbial Manipulator of Artropod Reproduction. Annu Rev. Microbiol 1999; 53: 71-102.
21. Hise AG, Gillette- Ferguson I, Pearlman E. The rol of endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in filarial disease. Cell. Microbiol. 2004; 6(2): 97-104.
22. Van Meer MMM, Witteveldt J, Stouthamer R. Phylogeny of the artropod endosymbiont *Wolbachia* based on the wsp gene. Insect Mol Biol 1999; 8(3):

399-408.

23. Werren JH, Zhang W, Guo LR. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. Proc. R. Soc. London Ser. B. 1995; 261: 55-71.
24. Pfarr KM, Hoerauf A. A niche for *Wolbachia*. Trends Parasitol 2006; 23: 5-7.
25. Duron O, Bouchon D, Boutin S, et al. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. BMC Biol. 2008 Jun 24; 6: 27.
26. Ros VI, Fleming VM, Feil EJ, Breeuwer JA. How diverse is the genus *Wolbachia*? Multiple-gene sequencing reveals a putatively new *Wolbachia* supergroup recovered from spider mites (Acari: Tetranychidae). Appl Environ Microbiol. 2009 Feb; 75(4): 1036-43.
27. West SA, Cook JM, Godfray HCJ. *Wolbachia* in two insect host-parasitoid communities. Mol Ecol 1998; 7: 1457-1465.
28. Breeuwer JAJ. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in the spider mites *Tetranychus urticae* and *T. turkestanii*. J. Hered. 1997; 79: 41-47.
29. Gotoh T, Noda H, Hong XY. *Wolbachia* distribution and cytoplasmic incompatibility based on a survey of 42 spider mite species (Acari: Tetranychidae) in Japan. J. Hered 2003; 91: 208-216.
30. Cordaux R, Michel-Salzat A, Bouchon D. *Wolbachia* infection in crustaceans: novel hosts and potential routes for horizontal transmission. J. Evol. Biol 2001; 14: 237-243.
31. Moreau J, Rigaud T. Variable male potential rate of reproduction: high male mating capacity as an adaptation to parasite-induced excess of females? Proc. R. Soc. Lond B 2003; 270: 1535-1540.
32. Bandi C, Trees AJ, Bratting NW. *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. Vet. Parasitol. 2001; 98: 215-238.
33. Charlat S, Hurst GDD, Merçot H. Evolutionary consequences of *Wolbachia* infection. Trends Genet. 2003; 19: 217-223.
34. Huignes ME, Luck RF, Klaasen RHG, et al. Infections parthenogenesis. Nature 2000; 405: 178-179.
35. Topakçı N, Göçmen H. *Wolbachia* ve Entomolojideki Yeri. Bahçe 2003; 32(1-2): 63-68.

36. Doran T, Moore R. Application of the reproductive parasite *Wolbachia* to the biological control of flystrike. Proceedings of the FLICS Conference, 2001, Launceston.
37. Zimmer C. *Wolbachia*: A Tale of Sex and Survival. Science 2001; 292: 1092-1095.
38. Rasgon JL, Scott TW. *Wolbachia* and Cytoplasmic Incompatibility in the California *Culex pipiens* Mosquito Species Complex: Parameter Estimates and Infection Dynamics in Natural Populations. Genetics 2003; 165: 2029-2038.
39. Hurst GDD, Jiggins FM. Male- Killing Bacteria In Insects: Mechanisms, Incidence and Implications. Emerg. Infect. Dis. 2000; 6(4): 329-336.
40. Heath BD, Butcher RDJ, Whitfield WGF. Horizontal transfer of *Wolbachia* between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism. Curr. Biol. 1999; 9(6): 313-316.
41. Duron O, Boureux A, Echaubard P, et al. Variability and expression of ankyrin domain genes in *Wolbachia* variants infecting the mosquito *Culex pipiens*. J Bacteriol 2007; 189: 4442-4448.
42. Iturbe-Ormaetxe I, Burke GR, Riegler M, O'Neill SL. Distribution, expression, and motif variability of ankyrin domain genes in *Wolbachia pipientis*. J Bacteriol 2005; 187: 5136-5145.
43. Sinkins SP, Walker T, Lynd AR, et al. *Wolbachia* variability and host effects on crossing type in *Culex* mosquitoes. Nature 2005; 436: 257–260.
44. Walker T, Klasson L, Sebahia M, et al. Ankyrin repeat domain-encoding genes in the wPip strain of *Wolbachia* from the *Culex pipiens* group. BMC Biol 2007; 5: 39.
45. Sedgwick SG, Smerdon SJ. The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. Trends Biochem Sci 1999; 24: 311-316.
46. Klasson L, Westberg J, Sapountzis P, et al. The mosaic genome structure of the *Wolbachia* wRi strain infecting *Drosophila simulans*. Proc Natl Acad Sci USA 2009b; 106: 5725-5730.
47. Wu M, Sun LV, Vamathevan J, et al. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: A streamlined genome overrun by mobile genetic elements. PLoS Biol 2004; 2: 327-341.
48. Al-Khodori S, Price CT, Kalia A, Abu Kwaik Y. Functional diversity of ankyrin repeats in microbial proteins. Trends Microbiol 2010; 18: 132-139.

49. Bork P. Hundreds of ankyrin-like repeats in functionally diverse proteins: mobile modules that cross phyla horizontally? *Proteins* 1993; 17: 363-374.
50. Michaely P, Bennett V. The ANK repeat: a ubiquitous motif involved in macromolecular recognition. *Trends Cell Biol* 1992; 2: 127-129.
51. Bordenstein SR, Wernegreen JJ. Bacteriophage flux in endosymbionts (*Wolbachia*): infection frequency, lateral transfer, and recombination rates. *Mol Biol Evol* 2004; 21: 1981-1991.
52. Gavotte L, Vavre F, Henri H, et al. Diversity, distribution and specificity of WO phage infection in *Wolbachia* of four insect species. *Insect Mol Biol* 2004; 13: 147-153.
53. Williams EH, Fields S, Saul I, GB. Transfer of incompatibility factors between stocks of *Nasonia (=Mormoniella) vitripennis*. *J Invertebr Pathol* 1993; 61: 206-210.
54. Duron O, Bernard C, Unal S, et al. Tracking factors modulating cytoplasmic incompatibilities in the mosquito *Culex pipiens*. *Mol Ecol* 2006; 15: 3061-3071.
55. Kent BN, Bordenstein SR. Phage WO of *Wolbachia*: lambda of the endosymbiont world. *Trends Microbiol* 2010; 18: 173-181.
56. Gavotte L, Henri H, Stouthamer R, et al. A survey of the bacteriophage WO in the endosymbiotic bacteria *Wolbachia*. *Mol Biol Evol* 2007; 24: 427-435.
57. Bordenstein SR, Marshall ML, Fry AJ, Kim U, Wernegreen JJ. The tripartite associations between bacteriophage, *Wolbachia*, and arthropods. *PLoS Pathogens* 2006; 2: e43.
58. Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu Rev Genet* 2008; 42: 683-707.
59. Foster J, Ganatra M, Kamal I, et al. The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode. *PLoS Biol* 2005; 3: e121.
60. Klasson L, Kambris Z, Cook PE, Walker T, Sinkins SP. Horizontal gene transfer between *Wolbachia* and the mosquito *Aedes aegypti*. *BMC Genomics* 2009a; 10: 33.
61. Klasson L, Walker T, Sebaihia M, et al. Genome evolution of *Wolbachia* strain wPip from the *Culex pipiens* group. *Mol Biol Evol* 2008; 25: 1877-1887.
62. Salzberg SL, Hotopp JC, Delcher AL, et al. Serendipitous discovery of

- Wolbachia* genomes in multiple *Drosophila* species. *Genome Biol* 2005; 6: R23.
63. Salzberg SL, Puiu D, Sommer DD, Nene V, Lee NH. Genome sequence of the *Wolbachia* endosymbiont of *Culex quinquefasciatus* JHB. *J Bacteriol* 2009; 191: 1725.
 64. Iturbe-Ormaetxe I, Walker T, O' Neill SL. *Wolbachia* and the biological control of mosquito-borne disease. *EMBO Rep.* 2011; 12(6): 508-518.
 65. Adams B, Kapan DD. Man bites mosquito: understanding the contribution of human movement to vector-borne disease dynamics. *PLoS ONE* 2009; 4: e6763.
 66. Chen LH, Wilson ME. Dengue and chikungunya infections in travelers. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23: 438-444.
 67. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet* 2008; 371: 500-509.
 68. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol* 2002; 10: 100-103.
 69. Guzman MG, Kouri G. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 33-42.
 70. Kyle JL, Harris E. Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol* 2008; 62: 71-92.
 71. Lambrechts L, Scott TW, Gubler DJ. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e646.
 72. Wilder-Smith A, Ooi EE, Vasudevan SG, Gubler DJ. Update on dengue: epidemiology, virus evolution, antiviral drugs, and vaccine development. *Curr Infect Dis Rep* 2010; 12: 157-164.
 73. Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 2008; 5: e68.
 74. Wilder-Smith A, Gubler DJ. Geographic expansion of dengue: the impact of international travel. *Med Clin North Am* 2008; 92: 1377-1390.
 75. WHO (1998) Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vectors, BioEfficacy and Persistence of Insecticides on Treated Surfaces. report of the WHO informal consultation on WHO/HQ (document WHO/cDS/cpc/MaL/98.12), 28–30 September. geneva, Switzerland: World Health

Organization.

76. Zaim M, Guillet P. Alternative insecticides: an urgent need. *Trends Parasitol* 2002; 18: 161-163.
77. Laven H. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. *Nature* 1967; 216: 383-384.
78. Curtis CF, Adak T. Population replacement in *Culex fatigans* by means of cytoplasmic incompatibility. Laboratory experiments with non-overlapping generations. *Bull World Health Organ* 1974; 51: 249-255.
79. Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH. How many species are infected with *Wolbachia*? -a statistical analysis of current data. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 281: 215-220.
80. Jeyaprakash A, Hoy MA. Long pcr improves *Wolbachia* DNA amplification: wsp sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Molec Biol* 2000; 9: 393-405.
81. Werren JH, Baldo L, Clark ME. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 741-751.
82. Brownlie JC, Cass BN, Riegler M, et al. Evidence for metabolic provisioning by a common invertebrate endosymbiont, *Wolbachia pipientis*, during periods of nutritional stress. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000368.
83. Hosokawa T, Koga R, Kikuchi Y, Meng XY, Fukatsu T. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 769-774.
84. Aleksandrov ID, Aleksandrova MV, Goriacheva II, et al. Removing endosymbiotic *Wolbachia* specifically decreases lifespan of females and competitiveness in a laboratory strain of *Drosophila melanogaster*. *Genetika* 2007; 43: 1372-1378.
85. Dedeine F, Vavre F, Fleury F, et al. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6247-6252.
86. Bian G, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi Z. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000833.
87. Glaser RL, Meola MA. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila*

melanogaster and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus infection. PLoS ONE 2010; 5: e11977.

88. Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN. *Wolbachia* and virus protection in insects. Science 2008; 322: 702.
89. Kambris Z, Blagborough AM, Pinto SB, et al. *Wolbachia* stimulates immune gene expression and inhibits plasmodium development in *Anopheles gambiae*. PLoS Pathog 2010; 6: e1001143.
90. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, et al. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, chikungunya, and *Plasmodium*. Cell 2009a; 139: 1268-1278.
91. Osborne SE, Leong YS, O'Neill SL, Johnson KN. Variation in antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans*. PLoS Pathog 2009; 5: e1000656.
92. Panteleev D, Goriacheva II, Andrianov BV, et al. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* enhances the nonspecific resistance to insect pathogens and alters behavior of *Drosophila melanogaster*. Genetika 2007; 43: 1277-1280.
93. Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. PLoS Biol 2008; 6: e2.
94. Min KT, Benzer S. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 10792-10796.
95. Brownstein JS, Hett E, O'Neill SL. The potential of virulent *Wolbachia* to modulate disease transmission by insects. J Invertebr Pathol 2003; 84: 24-29.
96. McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, et al. Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*. Science 2009; 323: 141-144.
97. Sinkins SP, O'Neill SL. *Wolbachia* as a Vehicle to Modify Insect Populations. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2000.
98. Salazar MI, Richardson JH, Sanchez-Vargas I, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. BMC Microbiol 2007; 7: 9.
99. Cook PE, McMeniman CJ, O'Neill SL. Modifying insect population age

- structure to control vector-borne disease. *Adv Exp Med Biol* 2008; 627: 126-140.
100. Rasgon JL, Styer LM, Scott TW. *Wolbachia*-induced mortality as a mechanism to modulate pathogen transmission by vector arthropods. *J Med Entomol* 2003; 40: 125-132.
 101. Read AF, Thomas MB. Microbiology. Mosquitoes cut short. *Science* 2009; 323: 51-52.
 102. Blanford S, Chan BH, Jenkins N, et al. Fungal pathogen reduces potential for malaria transmission. *Science* 2005; 308: 1638-1641.
 103. Darbro JM, Thomas MB. Spore persistence and likelihood of aeroallergenicity of entomopathogenic fungi used for mosquito control. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80: 992-997.
 104. Thomas MB, Read AF. Can fungal biopesticides control malaria? *Nat Rev Microbiol* 2007; 5: 377-383.
 105. Kettle DS. *Medical and Veterinary Entomology* (2nd ed). Wallingford, UK: CAB International 1995.
 106. Knight KL, Stone A. *A catalog of the mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae)*. (2nd ed). Maryland: The Entomological Society of America 1977.
 107. Knight KL. Supplement to “A catalog of the mosquitoes of the World” (Diptera: Culicidae). Maryland: The Entomological Society of America 1978.
 108. Ward RA. Second supplement to “A catalog of the mosquitoes of the World” (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 1984; 16: 227-270.
 109. Ward RA. Third supplement to “A catalog of the mosquitoes of the World” (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 1992; 24: 177-230.
 110. Gaffigan TV, Ward RA. Index to the second supplement to “A catalog of the mosquitoes of the World” (Diptera: Culicidae), with corrections and additions. *Mosquito Systematics* 1985; 17: 52-63.
 111. Edwards FW. *Genera Insectorum Diptera, Family Culicidae*. Belgium: Desmet-Verteneuil 1932.
 112. Belkin J. *The mosquitoes of the South Pacific (Diptera: Culicidae)*. Los Angeles, University of California Press 1962.
 113. Harbach RE, Kitching IJ. Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). *Syst. Entomol.* 1998; 23: 327-370.
 114. Reinert JF. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae

- (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2001; 17(1): 51-55.
115. Becker N, Petric D, Zgomba M, et al. Mosquitoes and Their Control. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers 2003.
 116. James MT, Harwood RF. Herms's Medical Entomology. (6 th ed). New York: Macmillan Publishing Co. Inc 1969.
 117. Kasap M. Sivrisinek larvalarının habitat tiplerinin incelenmesi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 1985; 42(2): 269-274.
 118. Merdivenci A. Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo-morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılımı ve sağlık önemleri). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, İstanbul 1984. Yayın No: 3215.
 119. Benoit JB, Denlinger DL. Suppression of water loss during adult diapause in the northern house mosquito, *Culex pipiens*. J Exp Biol. 2007; 210: 217-226.
 120. Ramsdale CD, Alten B, Çağlar SS, et al. A revised, annotated checklist of the mosquitoes (diptera: Culicidae) of Turkey. European Mosquito Bulletin 2001; 9: 18-28.
 121. Postiglione M, Tabanlı S, Ramsdale CD. The *Anopheles* of Turkey. Rivista di Parassitologia, 1973; 34(2): 127-159.
 122. Kasap H, Kasap M, Türkiye Anophelinae türleri. Türk Hij Den Biyol Derg, 1983a; 40(1): 39-52.
 123. Kasap H, Kasap M, Relative abundance of mosquitoes breeding in septic tanks in the campus of Çukurova University. Çukurova Üniv Tıp Fak Derg, 1983b; 4: 301-10.
 124. Harbach RE, Pictorial keys to the genera of mosquitoes, subgenera of *Culex* and the species of *Culex* (*Culex*) occurring in southwestern Asia and Egypt, with a note on the subgeneric placement of *Culex deserticola* (diptera: culicidae). Mosquito Systematics, 1985; 17(2): 83-107.
 125. Cranston PS, Ramsdale CD, Snow KR, White GB. Keys to the adults, male hypopygia, fourth-instar larvae and pupae of the British mosquitoes (culicidae). Ambleside: Scientific Publication No: 48, Freshwater Biological Association, 1987.
 126. Glick J. Illustrated key to the female *Anopheles* of southwestern Asia and Egypt (diptera: culicidae). Mosquito Systematics, 1992; 24: 125-53.
 127. Darsie RE, Samanidou-Voyadjoglou A. Keys for the mosquitoes of Greece. J Am Mosq Control Assoc. 1997; 13(3): 247-54.

128. Samanidou-Voyadjoglou A, Harbach RE. Keys to the adult female mosquitoes (Culicidae) of Greece. *European Mosquito Bulletin*, 2001; 10: 13-20.
129. Schaffner E, Angel G, Geoffroy B, et al. The mosquitoes of Europe (CD-Rom). Institut de Recherche Pour le Développement, Montpellier, France, 2001.
130. Drummond AJ, Ashton B, Buxton S. Geneious" v5.5, <http://www.geneious.com>, 2011.
131. Rasgon JL, Scott TW. An initial survey for *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) infections in selected California mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2004; 41(2): 255-257.
132. Saridaki A, Bourtzis K. *Wolbachia*: more than just a bug in insect's genitals. *Curr Opin Microbiol* 2010; 13: 67-72.
133. Frati F, Negri I, Fanciulli PP, et al. High levels of genetic differentiation between *Wolbachia*-infected and non-infected populations of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae). *Pedobiol* 2004; 48: 461-468.
134. Marshall JL. The Allonemobius–*Wolbachia* host-endosymbiont system: evidence for rapid speciation and against reproductive isolation driven by cytoplasmic incompatibility. *Evolution* 2004; 58: 2409-2425.
135. Hiroki M, Ishii Y, Kato Y. Variation in the prevalence of cytoplasmic incompatibility inducing *Wolbachia* in the butterfly *Eurema hecabe* across the Japanese Archipelago. *Evol Ecol Res* 2005; 7: 931-942.
136. Opijnen T, Baudry E, Baldo L, Bartos J, Werren JH. Genetic variability in the three genomes of *Nasonia*: nuclear, mitochondrial and *Wolbachia*. *Insect Mol Biol* 2005; 14: 653-663.
137. Telschow A, Hammerstein P, Werren JH. The effect of *Wolbachia* versus genetic incompatibilities on reinforcement and speciation. *Evolution* 2005; 59: 1607-1619.
138. Almeida F, Moura AS, Cardoso AF, et al. Effects of *Wolbachia* on fitness of *Culex quinquefasciatus* (Diptera; Culicidae). *Infect Genet Evol* 2011; 11(8): 2138-2143.
139. Yen JH, Barr AR: New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. L. *Nature* 1971; 232: 657-658.
140. Wiwatanaratnabutr I. Geographic distribution of wolbachial infections in

- mosquitoes from Thailand. J Invertebr Pathol. 2013 Nov; 114(3): 337-40.
141. Behbahani A. *Wolbachia* infection and mitochondrial DNA comparisons among *Culex* mosquitoes in South West Iran. Pak J Biol Sci 2012; 15(1): 54-57.
 142. Sunish IP, Rajendran R, Paramasivan R, Dhananjeyan KJ, Tyagi BK. *Wolbachia* endobacteria in a natural population of *Culex quinquefasciatus* from filariasis endemic villages of South India and its phylogenetic implication. Trop Biomed 2011; 28(3): 569-576.
 143. Duron O, Raymond M, Weill M. Many compatible *Wolbachia* strains coexist within natural populations of *Culex pipiens* mosquito. Heredity 2011; 106(6): 986-993.
 144. Osei-Poku J. The evolution and genetics of vector competence in mosquito disease vectors, Doktora tezi, Clare College, University of Cambridge, Cambridge 2012: 211.
 145. Kittayapong P, Baisley KJ, Baimai V, O'Neill SL. Distribution and diversity of *Wolbachia* infections in Southeast Asian mosquitoes (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol 2000; 37: 340-345.
 146. Ricci I, Cancrini G, Gabrielli S, D'amelio S, Favia G. Searching for *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in Mosquitoes (Diptera: Culicidae): Large Polymerase Chain Reaction Survey and New Identifications. J. Med. Entomol 2002; 39: 562-567.
 147. Yildirim A, Inci A, Duzlu O, Onder Z, Ciloglu A. Detection and molecular characterization of the *Wolbachia* Endobacteria in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) specimens collected from Kayseri province of Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2013; 60: 189-194.
 148. Berticat C, Rousset F, Raymond M, Berthomieu A, Weill M. High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. Proc Biol Sci 2002; 269: 1413-1416.
 149. Echaubard P, Duron O, Agnew P, et al. Rapid evolution of *Wolbachia* density in insecticide resistant *Culex pipiens*. Heredity 2010; 104: 15-19.
 150. Dobson SL, Bourtzis K, Braig HR, et al. *Wolbachia* infections are distributed throughout insect somatic and germ line tissues. Insect Biochem Mol Biol 1999; 29: 153-160.
 151. Bourtzis K, Dobson SL, Braig HR, O'Neill SL. Rescuing *Wolbachia* have been

- overlooked. *Nature* 1998; 391: 852-853.
152. Noda H, Koizumi Y, Zhang Q, Deng K. Infection density of *Wolbachia* and incompatibility level in two planthopper species, *Laodelphax striatellus* and *Sogatella furcifera*. *Insect Biochem Mol Biol* 2001; 31: 727-737.
 153. Duron O, Labbe P, Berticat C, et al. High *Wolbachia* density correlates with cost of infection for insecticide resistant *Culex pipiens* mosquitoes. *Evolution* 2006; 60: 303-314.
 154. Werren JH, Windsor DM. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proc R Soc Lond B* 2000; 267: 1277-1285.
 155. Goward CR, Scawen MD, Murphy JP, Atkinson T. Molecular evolution of bacterial cell-surface proteins. *Trends Biochem Sci* 1993; 18(4): 136-140.
 156. Zhou W, Rousset F, O'Neill SL. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proc R Soc Lond Ser B* 1998; 265: 509-515.
 157. Bordenstein S, Rosengaus RB. Discovery of a novel *Wolbachia* super group in Isoptera. *Curr Microbiol* 2005; 51(6): 393-398.
 158. Lo N, Casiraghi M, Salati E, Bazzocchi C, Bandi C. How many *Wolbachia* supergroups exist? *Mol Biol Evol* 2002; 19(3): 341-346.
 159. Pidiyar VJ, Jangid K, Patole MS, Shouche YS. Detection and phylogenetic affiliation of *Wolbachia* sp. from Indian mosquitoes *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus*. *Curr Sci* 2003; 84(8): 1136-1139.
 160. İnci A, Dik B, Mumcuoglu YK, ve ark. Detection and Molecular Characterization of the *Wolbachia* Endobacteria in Chewing Lice Species Collected from the Angora Goats in Central Anatolia Region of Turkey. 5th International Conference on Phthiraptera, 76-76, 02-07 Ağustos 2014, Utah, United States.
 161. Guz N, Kocak E, Akpınar E, Gurkan O, Kılınçer N. *Wolbachia* infection in *Trissolcus* species (Hymenoptera: Scelionidae). *Eur J Entomol* 2012; 109: 169-174.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Gamze YETİŞMİŞ

Uyruğu: (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 23 Haziran 1988, Kocasinan/Kayseri

Medeni Durumu: Bekar

Tel: +90 536 985 15 35

e-mail: gamzeyet@hotmail.com

Yazışma Adresi: ERU Sağlık Bilimleri Ens. Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniv. Veteriner Fakültesi	2012
Lise	Mustafa Eminoğlu Anadolu Lisesi	2005

YABANCI DİL

İngilizce, Orta