



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI



NİĞDE YÖRESİ KAPLUMBAĞA KENELERİNDE *SPIROPLASMA*  
ENDOSİMBİYONTLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

FATMA MUTLU

AĞUSTOS 2024



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ  
ANABİLİM DALI

NİĞDE YÖRESİ KAPLUMBAĞA KENELERİNDE *SPIROPLASMA*  
ENDOSİMBİYONTLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

FATMA MUTLU

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

Ağustos 2024

**Fatma MUTLU** tarafından **Prof. Dr. Mustafa KARATEPE** danışmanlığında hazırlanan “**Niğde Yöresi Kaplumbağa Kenelerinde *Spiroplasma* Endosimbiyonlarının Moleküler Karakterizasyonu**” isimli bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoteknoloji** Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM (Erciyes Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi)

**ONAY:**

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ....../....../20. tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../....../20. tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

**Prof. Dr. Mustafa KARATEPE**

**MÜDÜR**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatma MUTLU

## ÖZET

### NİĞDE YÖRESİ KAPLUMBAĞA KENELERİNDE *SPIROLASMA* ENDOSİMBİYONTLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

MUTLU, Fatma

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

Ağustos 2024, 52 sayfa

Bu tez çalışması Niğde yöresi kaplumbağa kenelerinde *Spiroplasma* endosimbiontlarının moleküler olarak belirlenmesi için yapılmıştır. Bu amaçla Haziran'da 17, Temmuz'da 22, Ağustos'ta 21 ve Eylül ayında 28 olmak üzere Haziran-Eylül 2022 tarihleri arasında toplam 88 kaplumbağa incelenmiştir. Toplanan keneler tür tanımlaması yapılana kadar %70'lik etil alkol içerisinde saklanmıştır. Enfeste belirlenen kaplumbağalardan toplam 184 kene toplanmış (167 erkek ve 17 dişi) ve bu kenelerin tamamı *Hyalomma aegyptium* olarak teşhis edilmiştir. Kaplumbağalardan toplanan 184 kene örneği her bir kaplumbağaya ait olacak şekilde erkek ve dişi olarak separe edilmiş ve sonrasında toplam 68 kene havuzu oluşturulmuştur. Kene havuzlarından ticari kit ile genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu yapılmıştır. gDNA izolatları *Spiroplasma* 16S rRNA (1000 bp) gen bölgesi yönünden spesifik primerlerle PCR analizine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucunda *Spiroplasma* spp. için toplam 88 kaplumbağanın 4'ünden (%4.5) toplanan kenelerde pozitiflik tespit edilmiştir. Toplanan 184 kenede *Spiroplasma* pozitifliği %3.2 (6 kene) olarak belirlenmiştir. Pozitif çıkan keneler; Temmuz ve Eylül aylarında tespit edilmiş ve tamamı erkek kene olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, Niğde yöresinde kaplumbağa kenelerinde *Spiroplasma* spp. moleküler olarak ilk kez bu çalışma ile saptanmıştır.

*Anahtar sözcükler:* Kaplumbağa, *Hyalomma aegyptium*, Niğde, PCR, *Spiroplasma*,

## SUMMARY

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *SPIROPLASMA* ENDOSYMBIONTS IN TICKS ON TORTOISES IN NIĞDE PROVINCE

MUTLU, Fatma

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

August 2024, 52 pages

The study was carried out to molecularly identify *Spiroplasma* endosymbionts in tortoise ticks in the Niğde province. For this purpose, a total of 88 tortoises were examined between June and September 2022, including 17 in June, 22 in July, 21 in August and 28 in September. The collected ticks were stored in 70% ethyl alcohol until examination and species identification. A total of 184 ticks were collected from the infested tortoise (167 males and 17 females) and all of these ticks were identified as *Hyalomma aegyptium*. 184 tick samples collected from tortoise were separated into male and female for each tortoise, and then a total of 68 tick pools were created. Genomic DNA (gDNA) was extracted from tick pools with a commercial kit. gDNA isolates were subjected to PCR analysis with primers specific for the *Spiroplasma* 16S rRNA (1000 bp) gene region.

As a result of the study, *Spiroplasma* spp. positivity was detected in ticks collected from 4 of a total of 88 tortoise (4.5%). *Spiroplasma* positivity was determined as 3.2% (6 ticks) in 184 ticks collected. Positive ticks were detected in July and September and all of them were identified as male ticks. In conclusion, this study was the first molecular detection of *Spiroplasma* spp. in tortoise ticks in Niğde province.

*Keywords:* Tortoise, *Hyalomma aegyptium*, Niğde, PCR, *Spiroplasma*

## ÖN SÖZ

Keneler insanlar ve hayvanları etkileyen ve çeşitli hastalıkları nakleden önemli ektoparazitlerdendir. Beslenmek için belirli konakları tercih eden keneler gelişimlerinin her döneminde kan emmek zorundadırlar. Kaplumbağa kenesi olarak bilinen *Hyalomma aegyptium* 3 konaklı bir gelişim göstermekte ve ülkemizde yaygın olarak bulunmaktadır.

Bu çalışmada, Niğde yöresinde farklı çalışma merkezlerinde incelenen kaplumbağalardan toplanan kenelerde PCR analizi ile *Spiroplasma* endosimbiontlarının moleküler karakterizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmam boyunca bana yol gösteren, bilgi birikim ve deneyimleri ile her zaman destek olan ve maddi manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Mustafa KARATEPE'ye, laboratuvar çalışmamda desteğini gördüğüm Prof. Dr. Bilge KARATEPE ve Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL'a, çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Yüksek Lisans öğrencisi arkadaşım Zeynep ERGÜLEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımda olan babam Beytullah MUTLU ve annem Zeliha MUTLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmaya SAT 2022/8-BAGEP numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederim. Bu araştırma, aynı materyali ve laboratuvar koşullarını kullanarak "Niğde Yöresi Kaplumbağa Kenelerinde *Wolbachia* Endosimbiontlarının Moleküler Karakterizasyonu" başlıklı çalışma ile koordineli olarak yürütülmüştür. Bu iki çalışmanın sonuçları, kenelerde *Wolbachia* ve *Spiroplasma* endosimbiontlarının saptanması açısından birbirini tamamlayıcı bilgiler sunmaktadır.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ÖN SÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
FOTOĞRAF DİZİNİ .....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR .....	xii
BÖLÜM I GİRİŞ.....	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Kaplumbağalar Hakkında Genel Bilgi.....	3
2.2 Kenelerin Morfolojisi .....	3
2.3 Kenelerin Biyolojisi.....	4
2.3.1 Bir konaklı kenede gelişme.....	4
2.3.2 İki konaklı kenede gelişme .....	4
2.3.3 Üç konaklı kenede gelişme .....	5
2.4 Kenelerin Sınıflandırılması.....	5
2.5 <i>Hyalomma</i> Cinsi Keneler.....	6
2.6 <i>Hyalomma aegyptium</i> Sınıflandırılması .....	6
2.7 <i>Hyalomma aegyptium</i> Hakkında Genel Bilgi .....	7
2.8 <i>Hyalomma aegyptium</i> 'ların Morfolojik Özellikleri .....	8
2.9 Kenelerden Korunma ve Kontrol.....	8
2.9.1 Biyolojik mücadele .....	8
2.9.2 Kültürel mücadele.....	9
2.9.3 Fiziksel mücadele .....	9
2.9.4 Kimyasal mücadele.....	9
2.10 Kaplumbağalarda Keneler ve Endosimbiontları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar .....	10
2.11 <i>Spiroplasma</i> Hakkında Genel Bilgi .....	14
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT .....	16

3.1	Çalışma Alanı.....	16
3.1.1	Çalışma merkezi.....	16
3.1.2	Niğde yöresinde kaplumbağa bulunan merkezler .....	17
3.2	Metot.....	22
3.2.1	Laboratuvar analizleri .....	22
3.2.2	Genomik DNA ekstraksiyonu.....	22
3.2.3	PCR amplifikasyonu.....	24
3.2.4	Agaroz jel.....	26
3.2.5	Sekanslama ve filogenetik analizler .....	27
3.2.6	İstatistiksel değerlendirmeler .....	30
BÖLÜM IV BULGULAR .....		31
BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ .....		40
KAYNAKLAR .....		43
ÖZ GEÇMİŞ .....		52

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Hyalomma aegyptium</i> sınıflandırılması .....	7
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler ve dizilimleri.....	26
Çizelge 3.2. Haplotip listesi.....	29
Çizelge 4.1. Aylar açısından kaplumbağalarda kene enfestasyonu oranı .....	32
Çizelge 4.2. Aylara göre toplanan kenelerin dağılımı .....	33
Çizelge 4.3. Kenelerde <i>Spiroplasma</i> pozitifliği .....	34
Çizelge 4.4. Aylara göre kenelerde <i>Spiroplasma</i> pozitifliği.....	35
Çizelge 4.5. Cinsiyete göre kenelerde <i>Spiroplasma</i> pozitifliği .....	36
Çizelge 4.6. Çalışılan örneklerin NCBI veritabanındaki türlerle karşılaştırılması.....	37
Çizelge 4.7. GenBank'ta kayıt altına alınan sekanslara ait aksesyon numaraları .....	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kenelerin morfolojik görüntüsü .....	3
Şekil 2.2. Kenelerin morfolojisi.....	4
Şekil 2.3. Bir konaklı, iki konaklı ve üç konaklı kenede gelişme.....	5
Şekil 2.4. Ixodidae ailesinde bulunan soylardaki kenelerin gnathosomalarının görüntüsü .	6
Şekil 2.5. Tam ve yarı doymuş dişi ile erkek <i>Hyalomma aegyptium</i> .....	7
Şekil 2.6. <i>Hyalomma aegyptium</i> .....	8
Şekil 2.7. <i>Spiroplasma</i> türünün Giemsa boya ile görüntüsü .....	15
Şekil 3.1. Niğde yöresinin Türkiye haritasındaki gösterimi .....	167
Şekil 4.1. Aylara göre kenelerde cinsiyet dağılımı.....	33
Şekil 4.2. Aylara göre toplanan kenelerin dağılımı .....	34
Şekil 4.3. Aylara göre <i>Spiroplasma</i> pozitifliği .....	34
Şekil 4.4. <i>Spiroplasma</i> 16S rDNA primerleri ile amplifiye edilen PCR ürünleri .....	36
Şekil 4.5. <i>Spiroplasma</i> spp. 16S rDNA gen bölgesine göre filogenetik ağacı .....	38
Şekil 4.6. Haplotiplere göre elde edilen ML ağacı.....	39

## FOTOĞRAF DİZİNİ

Fotoğraf 3.1. Bor Toki .....	19
Fotoğraf 3.2. ODTÜ koleji bahçesi .....	19
Fotoğraf 3.3. Merkez kampüs yerleşkesi .....	19
Fotoğraf 3.4. Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu Bahçesi .....	20
Fotoğraf 3.5. Niğde Amas bağları .....	20
Fotoğraf 3.6. Kemerhisar .....	20
Fotoğraf 3.7. Bor Başpınar Mezarlığı .....	21
Fotoğraf 3.8. Acıgöl Mezarlığı .....	21
Fotoğraf 3.9. Derbent Mezarlığı .....	21
Fotoğraf 3.10. Kent Ormanı .....	22
Fotoğraf 3.11. Numuneler için kullanılan malzemeler .....	22
Fotoğraf 3.12. Numunelerin saklanması .....	23
Fotoğraf 3.13. DNA ekstraksiyonu için kullanılan cihazlar .....	23
Fotoğraf 3.14. DNA ekstraksiyonu için kullanılan solüsyonlar .....	24
Fotoğraf 3.15. Kenelerin parçalanması .....	24
Fotoğraf 3.16. DNA ekstraksiyonu için kullanılan tüpler ve santrifüj .....	25
Fotoğraf 3.17. PCR solüsyonları .....	26
Fotoğraf 3.18. PCR için kullanılan cihazlar .....	27
Fotoğraf 3.19. Jel elektroforez için kullanılan cihazlar .....	28
Fotoğraf 3.20. PCR sonuçlarının okunması .....	28
Fotoğraf 4.1. <i>Hyalomma aegyptium</i> dorsal görüntüsü .....	31
Fotoğraf 4.1. <i>Hyalomma aegyptium</i> ventral görüntüsü .....	31
Fotoğraf 4.3. <i>Hyalomma aegyptium</i> coxa .....	32
Fotoğraf 4.4. <i>Hyalomma aegyptium</i> morfolojik özellikleri .....	32

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
%	Yüzde
µl	Mikrolitre
♂	Erkek
♀	Dişi
km	Kilometre
m	Metre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
°C	Derece
rpm	Dakikada devir sayısı
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
A	Anaplasma
bp	Baz çiftleri
B	Borrelia
C	Coxiella
D	Dermacentor
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
F	Francisella
H	Hyalomma
Hae	Haemaphysalis
I	Ixodes
ML	Maksimum Likelihood
R	Rickettsia
Rh	Rhipicephalus
T	Testudo
CCHV	Kırım Kongo Kanamalı Ateşi
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

MALDI-TOF MS	Matriks-destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyonu
PCR	Polimer Zincir Reaksiyonu
SPSS	Statistical Programme for Social Science
UV	Ultraviyole





## BÖLÜM I

### GİRİŞ

Ülkemiz bulunduğu coğrafi konum nedeniyle kenelerin çok yaygın görüldüğü bölgededir (Aydın vd., 2002). Keneler dünya genelinde birçok bakteriyel, viral ve paraziter patojenlerin ana rezervuarı olduklarından halk sağlığı için önemli ektoparazitlerdendir. Pek çok hastalık etkenine vektörlük eden keneler gelişimlerinin her döneminde kan emmek zorundadırlar. Keneler, Artropoda anacında, Chelicerata anaç altında bulunur ve sıcakkanlı hayvanların yanı sıra çeşitli sürüngenlerden de kan emmektedirler. Kan emme sırasında tükürük salgılarını konağa vermek suretiyle zehirlenmelere ve felçlere yol açarlar (Karaer vd. 1997; Aktaş, 2015; Altay vd. 2021). Dünya çapında 900'den fazla kene türü tanımlanmıştır. Türkiye'de bilinen 48 kene türünden 31 tanesi insanları enfeste ederken, 19 kene kaynaklı hastalık hayvanlar ve insanlarda tespit edilmiştir (Karatasova vd., 2018). Kaplumbağa kenesi olarak bilinen *Hyalomma aegyptium*'un başlıca kara kaplumbağası, sürüngen hayvanlar, yabani kemiriciler, koyun, sığır ve insanlarda enfestasyona yol açtığı tespit edilmiştir (Yılmaz vd., 2013). *Hyalomma aegyptium* 3 konaklı yaşam döngüsüne sahiptir ve ergin keneler için ana konak *Testudo* cinsi kaplumbağalardır. Bunlara çoğunlukla bahçe ve ormanlık alan bölgelerinde rastlanır. *Hyalomma*'lar dünya genelinde yaygın olarak görülmekte olup özellikle bu cinse ait kene türleri Afrika, Güney Avrupa, Asya ve Akdeniz Bölgesi'yle beraber Pakistan'a kadar olan Orta Doğu Bölgesi'nde bulunurlar (Paştıu vd., 2012; Arslan, 2013; Barradas vd., 2021).

Kara kaplumbağaları dünyada geniş bir alana sahiptir ve Türkiye'de de bütün coğrafi bölgelerde görülen kara kaplumbağaları genellikle kuru, taşlı ve kumlu arazilerde yaşarlar (Aysul vd., 2010). *Spiroplasma* türleri *Spiroplasmataceae* familyasında bulunan sarmal mikoplazmalardır. Bazı *Spiroplasma* türleri omurgalılar için potansiyel patojen olarak suçlanmaktadır. Birincil yaşam alanları bitki ve artropodlardır. Bu bakteriler tek katmanlı hücrelere sahiptirler (Henning vd., 2006). Üzerinde en çok çalışılan endosimbiontlardan olan *Spiroplasma*'lar tüm böceklerin %5'inden fazlasında mevcuttur. *Spiroplasma* türleri esas olarak hücre dışında hemolenfte bulunur ve sıklıkla erkek ölümüne neden olur. *Spiroplasma* endosimbiontu artropodları

enfeksiyonlardan korumakta ve bu nedenle vektör kaynaklı hastalıkların kontrolü için araç olarak kullanılmaktadır (Anbutsu ve Fukatsu 2010; Ventura vd., 2012; Shokal vd., 2016).



## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Kaplumbağalar Hakkında Genel Bilgi

Kaplumbağalar Türkiye’de hemen hemen tüm bölgelerde oldukça geniş bir alanda dağılım gösterirler. Kara kaplumbağaları kuru, taşlı ve kumlu arazilerde yaşayan canlılardır. Dünyada özellikle Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Avrupa’da görülür (Aysul vd., 2010). Türkiye’de kara kaplumbağaları *Testudo* cinsine aittir (Arslan, 2013; Türkozan vd., 2005; Türkozan vd., 2010) ve keneler kaplumbağalarda en sık görülen ektoparazitlerdendir (Bizhga vd., 2022). Kaplumbağalar bağlık ve bahçelik bölgelerde sık dolaştığından kene ile enfeste olma olasılıkları çok yüksektir. *Hyalomma aegyptium* kaplumbağa kenesi olarak bilinen bir kene türüdür (Aydın vd., 2002).

#### 2.2 Kenelerin Morfolojisi

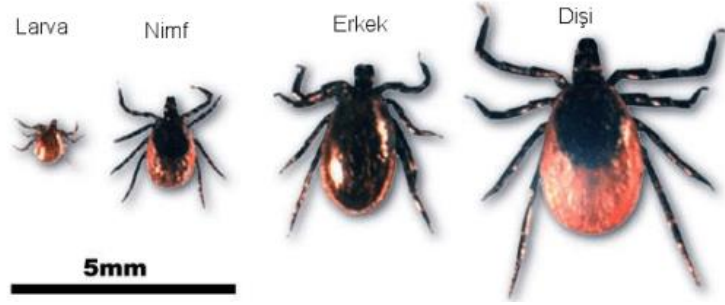
Keneler capitulum ve vücut kısımlarının bulunduğu idiosoma olarak adlandırılan iki kısımdan meydana gelirler. Kene larvaları 6 bacağına sahipken nimf ve erginleri 8 bacağına sahiptir. Belirgin baş yapıları bulunmazken, ağız parçaları capitulumda bulunur (Tilgen, 2010).



Şekil 2.1. Kenelerin morfolojik görüntüsü (Kişi, 2024)

Ixodid kenelerin vücut yüzeyi sert kitin tabakasıyla kaplıdır. Bu kitin erkek kenelerde tüm vücudu kaplar ve conscutum adını alırken dişi kenelerde vücudun ön kısmında yaka şeklinde yer alır ve scutum olarak adlandırılır. Ağız organellerinin bulunduğu

capitulumda bir çift palp, bir çift chelicer ve tek parça hipostom bulunur. Vücudun ventral kısmında bacaklar, ventral yüzün ön kısmında genital delik, arka tarafında da anüs bulunur. Argasid keneleri ise dorso ventral basıktır ve bu ailede yer alan kenelerin vücut yüzeyi kitin tabakası ile kaplı değildir (Dumanlı vd., 2016).



Şekil 2.2. Kenelerin morfolojisi (Vatansever, 2012)

### 2.3 Kenelerin Biyolojisi

Keneler kan emerek beslenen ektoparazitlerdir. Bunlar ağız organellerini deri içine sabitleyerek aynı yerden kan emerler ve hayatları boyunca kan emmek zorunda olan artropodlardır. Erkek ve dişi keneler kan emme sırasında çiftleşirler. Biyolojik gelişimine göre Ixodidae ailesindeki keneler 3 grupta toplanırlar (Vatansever, 2012; Dumanlı vd., 2016).

#### 2.3.1 Bir konaklı kenede gelişme

Yumurtadan çıkan larvalar konak hayvana gelir ve kan emerler, doyduktan sonra konak hayvan üzerinde nimfe dönüşürler. Aç nimf de aynı konak üzerinde kan emip doyarak konak üzerinde gömlek değiştirir. Ortaya çıkan aç ergin keneler çiftleşir ve dişi kene konak hayvanı terkedip toprağa düşer, yumurtlar ve ölür. Böylece gelişimini bir konakta tamamlamış olur (Vatansever vd., 2008; Dumanlı vd., 2016).

#### 2.3.2 İki konaklı kenede gelişme

İki konaklı keneler, larva ve nimf dönemini bir konakta, ergin dönemini ise başka bir konakta geçirirler. Bu şekilde iki konaklı kenede gelişim gösteren kenelere örnek olarak *H. detritum* ve *Rh. bursa* türleri verilebilir (Karaer vd. 1997; Dumanlı vd., 2016).

### 2.3.3 Üç konaklı kenede gelişme

Üç konaklı keneler larva, nimf ve olgun dönemlerini ayrı konaklarda geçirir ve gömlek değiştirmeler toprakta gerçekleşir. Bütün dönemler aynı hayvanda olabileceği gibi farklı hayvanlarda da olabilir (Vatansever, 2012; Dumanlı vd., 2016).



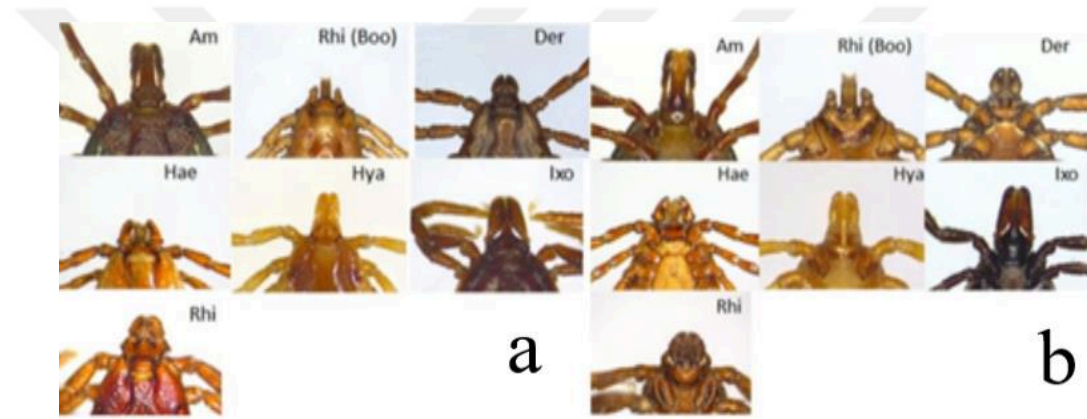
Şekil 2.3. Bir konaklı, iki konaklı ve üç konaklı kenede gelişme (Vatansever, 2012)

### 2.4 Kenelerin Sınıflandırılması

Metastigmata dizisinde yer alan keneler sistematikteki yeri aşağıdaki gösterilmiştir (Karaer vd., 1997). Bu dizide *Ixodidae*, *Argasidae* ve *Nuttalliellidae* olmak üzere üç ailede 907 kene türü yer almaktadır (Aktaş, 2015; Altay vd., 2021).

## 2.5 *Hyalomma* Cinsi Keneler

*Hyalomma* cinsi keneler karakteristik özellikleri nedeniyle diğer kene cinslerinden kolayca ayrılabilir ve bunlar uzun ağız organeline sahiptirler. Bacaklarındaki bağlantı noktalarında halkalar bulunur. Bu halkalar bazı türlerin tanımlanmasında önemli kriterlerdendir. *Hyalomma* kenelerin yaşam döngüsü çoğunlukla üç konaklı özellik göstermektedir (Paştiu vd., 2012; Barradas vd., 2021). *Hyalomma* keneleri gelişmelerinin her safhasında kan emmek zorundadır. Keneler gömlek değiştirmeden önce konakçıdan ayrılmalı ve yeni konakçı bulmalıdır. Her yaşam döngüsü (larva, nimf ve olgun) farklı konakçılarda gerçekleşebilir (Silveira, 2016). *Hyalomma* keneleri doku hasarının yanı sıra bakteriyel, viral ve protozoal hastalıkların taşınmasında rol oynar (Kumar vd., 2020).



**Şekil 2. 4.** *Ixodidae* ailesinde bulunan soylardaki kenelerin gnathosomalarının görüntüsü (a) Dorsal (b) Ventral (Silveira, 2016)

Am: *Amblyomma*, Rhi (Boo): *Rhipicephalus (Boophilus)*, Der: *Dermacentor*, Hae: *Haemaphysalis*, Hya: *Hyalomma*, Ixo: *Ixodes*, Rhi: *Rhipicephalus*

## 2.6 *Hyalomma aegyptium* Sınıflandırılması

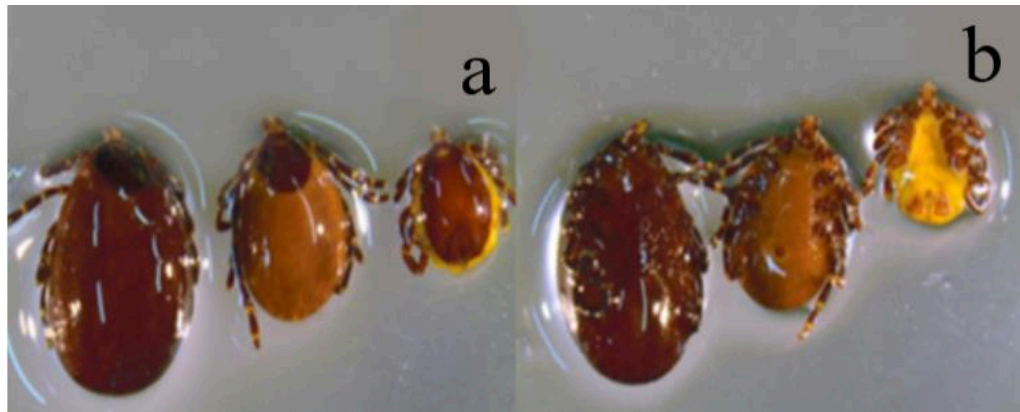
*Ixodidae* ailesi *Hyalomma* cinsinde yer alan *H. aegyptium*'ların sınıflandırılması aşağıda gösterilmektedir (Karaer vd., 1997).

Çizelge 2.1. *Hyalomma aegyptium* sınıflandırılması

<b>Alem</b>	Animalia
<b>Kök</b>	Arthropoda
<b>Kök Altı</b>	Chelicerata
<b>Sınıf</b>	Arachnida
<b>Sınıf Altı</b>	Acarina
<b>Dizi</b>	Metastigmata
<b>Aile</b>	Ixodidae
<b>Cins</b>	Hyalomma
<b>Tür</b>	<i>Hyalomma aegyptium</i>

### 2.7 *Hyalomma aegyptium* Hakkında Genel Bilgi

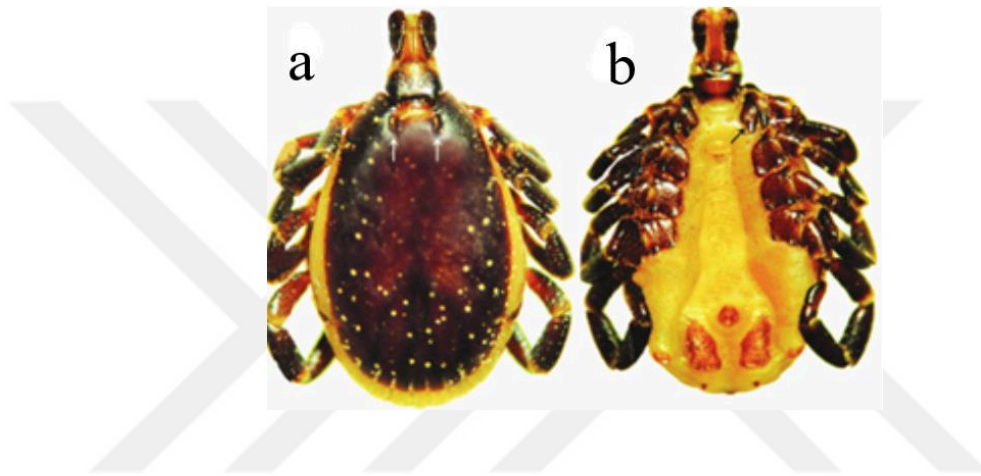
*Hyalomma aegyptium* kaplumbağa kenesi olarak bilinmekte ve kaplumbağalar ile özdeşleşmiş bir kene türüdür. Erişkin gelişme döneminin kaplumbağalar dışında diğer konaklarda görülmesi nadirdir (Aysul vd.,2010; Silveira, 2016). *Hyalomma* cinsine ait kene türleri; Afrika, Güney Avrupa, Asya ve Akdeniz bölgeleriyle beraber, Pakistan ve Orta Doğu bölgelerinde yaygın olarak bulunurlar (Arslan, 2013; Aysul vd., 2010). *Hyalomma aegyptium* 3 konaklı gelişim özelliği gösteren sert kenelerdir (Koç, 2013). Konak olarak başlıca kara kaplumbağalarında bulunmakla birlikte kertenkele, kuş, küçük memeliler ve bazen de insanlardan kan emmektedir (Karaer vd., 1997; Paştıu vd., 2012; Barrdas vd., 2021).



Şekil 2. 5. Tam ve yarı doymuş dişi ile erkek *Hyalomma aegyptium* (a) Dorsal görünüm, (b) Ventral görünüm (Silveira, 2016)

## 2.8 *Hyalomma aegyptium*'ların Morfolojik Özellikleri

*Hyalomma aegyptium* kenelerinin conscutumları yumurta biçimindedir ve siyah renge sahiptir. Erkek keneler 3 mm genişliğinde 5 mm uzunluğunda, dişi keneler ise 3 mm genişliğinde ve 6 mm uzunluğundadır (Karaer vd., 1997). Erkek *Hyalomma* kenelerinde capitulum uzun ve basis capitulum 6 köşelidir. Hipostom uzundur, scutum yuvarlak, mat koyu kahverengi siyahımsı renktedir. On adet festonu olup aynı büyüklüktedir ve parması belirgindir. Gözleri derin bir çukurlukta yerleşmiştir ve dişilerin vücudu siyahımsı kahverengi olup ovaldir (Bursalı, 2009; Karaer vd., 1997).



Şekil 2. 6. *Hyalomma aegyptium* (a) Dorsal görüntü (b) Ventral görüntü (Chegeni vd., 2015).

## 2.9 Kenelerden Korunma ve Kontrol

### 2.9.1 Biyolojik mücadele

Biyolojik mücadele canlıyı başka bir canlı organizmayla öldürmek anlamına gelmektedir. Kenelerle biyolojik mücadelede bazı bakteri, mantar, nematod ve parazitoidler kullanılmaktadır. Mücadele için kullanılan canlıların kenelere konak olup olmaması göz önüne alınarak mücadele işlemi gerçekleştirilmelidir (Koç, 2016). Kenelerde biyolojik kontrol, kimyasal mücadelede kullanılan ilaçlardaki fiyat artışı, kenelerin direnci gibi faktörler nedeniyle daha fazla tercih edilir olmuştur (Tilgen, 2010).

### 2.9.2 Kültürel Mücadele

Kültürel mücadelede bireysel korunma esastır. Keneler mücadele yapılmadan önce halkın keneler hakkında bilinçlendirilmesinin iyi yapılması gerekir. Kenelerin nerelerde

yaşadığını, yaşam döngüsü, konak tercihleri gibi bazı biyolojik ve ekolojik özellikleri bilinmeli ve bu bilgiler ışığında mücadele yapılması gerekmektedir. Kene ısırması durumunda neler yapılacağı ile ilgili halkın bilinçlendirilmesi gerekir ve halkın bilinçlenmesi için gerekli yerlere ve gerekli kişilere seminer ve eğitimler verilmelidir (Koç, 2016).

### **2.9.3 Fiziksel Mücadele**

Kimyasal herhangi bir madde kullanılmadan yapılan mücadele yöntemidir. Özellikle kırsal kesimde yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan kişiler bazı önlemler alarak kenelerle temasını azaltabilirler. Bu önlemler insanların ev etrafında sıklıkla vakit geçirdiği yerlerde uygulanmalıdır. Örneğin evin yakınında yer alan çimler biçilerek kenelerin daha görülür hale getirilmesi sağlanır. Ahır gibi yerlerde kenelerin yumurta bırakabileceği çatlak ve yarıklar kapatılarak kenelerin yumurta bırakması ve gizlenmesi azaltılabilir (Koç, 2016).

### **2.9.4 Kimyasal Mücadele**

Kimyasal mücadele yapılırken doğaya ve hayvanlara zarar verilmektedir. Buna rağmen sık kullanılan yöntemlerden biridir. Kimyasal mücadelenin doğru yapılması esastır. Yapılan ilaçlama çevre, insan ve hayvan sağlığına dikkat edilerek yapılmalıdır (Koç, 2016). Konak üzerine uygulanacak olan kimyasal maddeler konağa zarar vermeyen türde olmalıdır. Et ve sütünden faydalanılan canlıların etine ve sütüne kimyasal maddelerin geçmemesi gerekir. Yapılan çevre ilaçlamalarında son yıllarda özellikle sentetik piretroidler ağırlıklı olarak kullanılmaktadır ve konak canlıların yaşam ve barınma alanlarına uygulanmalıdır. Ormanlık alanlar ve doğal habitatlara kimyasal madde atmak doğaya verdiği zarardan dolayı tercih edilmemelidir (Koç, 2016).

## **2.10 Kaplumbağalarda Keneler ve Endosimbiontları Üzerinde Yapılmış Çalışmalar**

Aydın vd. (2002) Marmara bölgesindeki kaplumbağa türlerinde kenelerin yaygınlığını araştırdığı çalışmada 32 kaplumbağayı incelemişler ve kaplumbağaların %40.6'sında keneye rastlamışlardır. Tespit edilen kaplumbağa kenelerinin tamamı *H. aegyptium* olarak tanımlanmıştır.

Güner vd. (2003) İstanbul ilinde *T. graeca* türü 150 kaplumbağayı muayene etmiş ve bunlardan topladıkları kenelerden 153 ergin, 185 nimf ve 20 larvanın hepsinin *H. aegyptium* olduğunu belirlemiş ve kenelerde *Borrelia* sp.'yi tespit etmiştir.

Siroky vd. (2006) Balkan ülkelerinde *H. aegyptium*'un konak tercihlerini araştırdıkları çalışmalarında, 211 *Testudo* cinsi kaplumbağadan 1327 adet *H. aegyptium*, *Hae. sulcata*, *Hae. inermis* ve *Rh. sanguineus* türlerine ait kene toplamışlar ve en yaygın tür olarak *H. aegyptium*'u bulmuşlardır.

Tavassoli vd. (2007) İran'da *T. graeca* türü kaplumbağalarda *H. aegyptium* keneleri üzerinde yaptıkları çalışmada 32 kaplumbağanın 14'ünde toplam 117 kene toplamışlar ve tümünü *H. aegyptium* olarak teşhis etmişlerdir.

Aysul vd. (2010) Trakya bölgesindeki kaplumbağalarda *H. aegyptium*'un yaygınlığını araştırmak için 56 kara kaplumbağası incelemiş ve kaplumbağaların %98.21'de kene bulunmuştur. Toplanan 436 kenenin tümünün *Hyalomma* cinsine ait olduğu ve bunlardan 81'inin (%18.57) *H. aegyptium* erişkini, 188'inin (%43.11) *Hyalomma* spp. nimfi ve 167'sinin (%38.3) de *Hyalomma* spp. larvası olduğu anlaşılmıştır.

Bursalı vd. (2010) Tokat ilinde insanları enfekte eden Ixodid kene türlerini araştırmışlardır. İnsanlardan topladıkları 5999 ergin kene arasında *H. marginatum*, *H. detritum*, *Rh. bursa*, *Rh. (Boophilus) annulatus*, *Hae. punctata*, *D. marginatus* ve *I. laguri*'yi en yaygın kene türleri olarak belirlerlerken bölgede *H. aegyptium*'un insanlarda çok yaygın olduğunu belirtmişlerdir.

Gazyacı vd. (2010) Orta Anadolu'da Temmuz 2008'de bir genç bir de ergin kirpiden, *Erinaceus concolor*, genç olanda daha çok keneye rastlamışlar ve toplamda 32 adet buldukları kenelerin hepsinin *H. aegyptium* olarak teşhis ederek bu kaplumbağa kenesinin bir kirdide parazit olduğuna dair ikinci bir kayıt olduğunu belirtmişlerdir.

Kar vd. (2011) Trakya yöresinde doğal yaşam alanlarında saptanan 26 kaplumbağadan 423 kene toplamışlar ve kenelerin tamamını *H. aegyptium* olarak belirlemişlerdir. Nested-PCR ile oluşturdukları 28 örnek grubundan 8 tanesini sadece *Rickettsia* spp., 2 tanesini de hem *Rickettsia* spp. hem de *B. burgdorferi* sl. ile enfekte bulmuşlardır.

Paştiu vd. (2012) Romanya’da muayene ettikleri 45 *Testudo graeca* türü kaplumbağalardan topladığı 448 adet keneyi *H. aegyptium* olarak teşhis etmişlerdir. Daha sonra *H. aegyptium*’un PCR analizinde *A. phagocytophilum* (%18.8), *E. canis* (%14.1) ve *C. burnetii* (%10) varlığını saptamışlardır. Kaplumbağalardaki enfestasyon oranını %60 (27/45) olarak tespit etmişler ve kenelerin %32.4’ünün en az bir patojenle enfekte olduğunu, %9.8’inde koenfeksiyon olduğu belirlemişlerdir.

Yılmaz vd. (2013) Van ili Erciş ilçesindeki kara kaplumbağalarında (*Testudo graeca*, Linnaeus, 1758) kene enfestasyonlarını belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmalarında 37 kara kaplumbağasından 171 dişi ve 67 erkek olmak üzere 238 adet ergin kene toplamışlar ve kenelerin tamamını *H. aegyptium* türü olarak tanımlamışlardır.

Kireççi vd. (2013) Kahramanmaraş’da kaplumbağalarda (*T. graeca*) yaptıkları çalışmada 84 kaplumbağanın 60’ında 272 kenede tür tayini yapmışlar ve tüm keneleri (180 erkek, 92 dişi) *H. aegyptium* olarak saptamışlardır. Kene örneklerinde CCHV antijenini belirlemek için ticari ELISA testi kullanmışlar ayrıca bu örneklerin aerobik ve anaerobik olarak kültürlerini yapmışlardır. Kenelerin bakteriyolojik incelemelerinde 98 (38 *Bacillus* sp., 23 difteroid basil, 21 CNS, 7 *Pasteurella* sp., 6 *Micrococcus* sp. ve 3 *E. aerogenes*) aerobik bakteri izole ettiklerini bildirmişler buna karşılık ELISA testinde CCHV tespit edememişlerdir.

Koç (2013) Antalya’da çeşitli hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında 74 kaplumbağanın 36’sını kenelerle enfeste olarak belirlemişler ve bunların tümünün *H. aegyptium* olarak tespit etmişlerdir.

Bakırcı (2016) İzmir ve Aydın yöresi kaplumbağalarında *H. aegyptium*’un prevalansını araştırmıştır ve 12 kaplumbağadan 228 adet ergin kene (147 erkek, 81 dişi) toplamış, toplanan tüm keneleri *H. aegyptium* türü olarak tanımlamıştır.

Azagi vd. (2017) İsrail’de *Hyalomma* türü kenelerin *Francisella* benzeri endosimbiontlarını ve *Rickettsia* türlerini incelemiş ve 7 kaplumbağadan toplanan 28 kenenin tamamının *Hyalomma aegyptium* olduğunu tanımlamıştır. Bu kenelerin moleküler analizinde *Francisella* benzeri endosimbiontları %100 ve *Rickettsia* türlerini ise %19.2 olarak belirlemişlerdir.

Yılmaz ve Hekimoğlu (2017) Beytepe kampüsü ormanlık alanının kene faunasını araştırmışlar ve kaplumbağalar üzerinden topladıkları 21 keneyi *H. aegyptium* olarak teşhis etmişlerdir.

Bursalı vd. (2017) Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığını araştırmıştır. Topladıkları *H. aegyptium* türündeki kenelerin hiç birinde Riketsiyal DNA varlığına rastlanmadıklarını bildirmişlerdir.

Boucheikhchoukh vd. (2018) Cezayir’de çeşitli hayvanlarda yaptığı çalışmada 2 kaplumbağadan topladıkları PCR taraması ile 3 *H. aegyptium* kenesinde *Rickettsia* spp. %66.6 oranında ve 2 kenede ise *Borrelia* spp. tespit etmişlerdir. Buna karşılık *C. burnetii* ve *Bartonella* spp. ise belirleyemediklerini bildirmişlerdir.

Uslu vd. (2019) Konya’nın mahmuzlu akdeniz kaplumbağa (*T. graeca iberica*) popülasyonunda sert kenelerin (Acari: Ixodidae) yaygınlığını araştırdıkları çalışmalarında, 65 kaplumbağanın tümünü keneler ile enfeste bulmuşlar ve kaplumbağalarda 3 kene türü (*H. aegyptium*, *H. marginatum* ve *Rh. turanicus*) tespit etmişlerdir. Kaplumbağaların % 89.2’sinin sadece *H. aegyptium* ile, buna karşın 7 kaplumbağanın (%10.8) 2 kene türü (4’ü *H. aegyptium* ve *Rh. turanicus*, 3’ü ise *H. aegyptium* ve *H. m. marginatum*) ile enfeste olduğunu tespit etmişlerdir.

Akveran vd. (2020) Çorum’da *T. graeca* türündeki 26 kaplumbağadan topladığı 261 *H. aegyptium* türü keneyi bakteriyel ve protozoal etkenler yönünden incelemiştir. Topladığı kenelerin tamamını *H. aegyptium* (133 erkek, 29 dişi ve 99 nimf) olarak belirlemişler ve toplam 212 keneye PCR analizi sonucunda %51.9 *H. mauritanica*, %32.6 *R. aeschlimannii*, %30.2 *Ehrlichia* spp. ve %0.8 *Bartonella bovis* tespit etmişler buna karşılık *C. burnetii*, *F. tularensis*, *Babesia* spp., *Hepatozoon* spp., *Theileria* spp. ve *A. phagocytophilum* saptayamamışlardır.

Demir vd. (2020) Aydın, İzmir ve Şanlıurfa illerinde çeşitli hayvanlardan topladıkları kenelerde PCR analizi ile *Rickettsia* spp. ve *Francisella tularensis* araştırmışlar ve kaplumbağa üzerinden topladıkları keneleri *H. aegyptium* olarak teşhis ederek bu kenelerde *Rickettsia* spp. pozitifliği saptadıklarını bildirmişler, buna karşılık *F. tularensis* tespit edememişlerdir.

Kar vd. (2020) Doğu Trakya'da kaplumbağa kenelerinde CCHV'yi Nested-PCR ile araştırdıkları çalışmalarında 71 kaplumbağanın 65'inde saptadıklarını kenelerin hepsini *H. aegyptium* olarak belirlemişler 106 kene havuzunun 13'ünde (3 havuzda 18 nimf, 10 havuzda 52 erkek ve 8 dişi) virus saptamışlardır.

Barradas vd. (2021) Katar'da *T. graeca* türü kaplumbağalardan topladığı 21 yetişkin kenenin tamamını *H. aegyptium* olarak belirlemiş ve bu kenelerde PCR ile *Hemolivia mauritanica* (28.6%), *Candidatus Midichloria mitochondrii* (9.5%) ve *Ehrlichia spp.* (4.7%) olarak bulmuştur.

Benyahia vd. (2022) Cezayir'de *Testudo* cinsi kaplumbağalardan topladığı kenelerin tamamı *H. aegyptium* olarak belirlemiş ve MALDI-TOF MS karakterizasyonu ve moleküler olarak incelenen 230 kenede *Rickettsia spp.*, (33%) *Borrelia spp.* (75.6%) ve *Anaplasmataceae* (3.9%) bulunmuştur. *Bartonella spp.*, *C. burnetii*, *Theileria spp.* veya *Babesia spp.*'de pozitiflik bulamamıştır.

Bizhga vd. (2022) Arnavutluğun farklı bölgelerinde 145 *Testudo hermanni boettgeri* türü kaplumbağanın 36'sını kenelerle enfeste bulmuş ve hepsini *H. aegyptium* olarak teşhis etmişlerdir.

Kaya (2022) Kırşehir'de keneler üzerinde yaptıkları çalışmalarında hayvan barınaklarından topladıkları kenelerde endosimbiyotik bakterileri araştırmışlar ve *Hae. sulcata*'da *Spiroplasma*, diğer tüm kenelerde de *Rickettsia* türlerini bulduklarını bildirmişlerdir.

Mumcuoğlu vd. (2022) İsrail'de yaptıkları çalışmalarında 30 kaplumbağayı incelemişler ve buldukları kenelerin tümünü *H. aegyptium* olarak tanımlamışlar ve 84 *H. aegyptium* örneğinden 31 havuz oluşturarak PCR ile incelemişler ve sonuçta *Rickettsia africae*, *R. aeschlimannii*, *R. endosymbiontu*, *Coxiella burnetii*, *Hemolivia mauritanica*, *Babesia microti*, *Theileria sp.*, ve *Leishmania infantum* belirlemişlerdir. Buna karşılık *Anaplasma/Ehrlichia*, *Listeria monocytogenes*, *Bartonella spp.*, *Hepatozoon spp.* ve *Toxoplasma gondii*'yi ise kenelerin hiçbirinde tespit edememişlerdir.

Norte vd. (2022) Kuzey Afrika ve Anadolu'da 92 kaplumbağadan (*Testudo graeca*) topladığı 131 ergin *H. aegyptium* kenesinde mikroorganizmaların çeşitliliğini PCR kullanarak araştırmışlar ve *Hemolivia mauritanica* (%22.9), *Midichloria mitochondrii* (%11.4), döneke ateşi (%8.4), *Ehrlichia* spp (%7.6), *Rickettsia* spp (%3.4), *Borrelia burgdorferi* s.l. (%0.9), *Francisella* spp (%0.9) ve *Wolbachia* spp. (%0.8) tespit etmişlerdir.

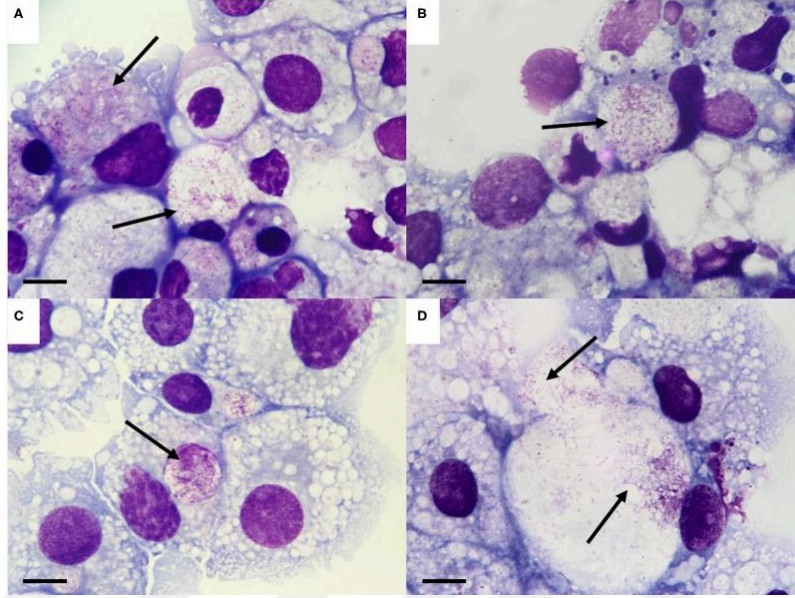
Segura vd. (2023) Fas'ta kaplumbağalardan topladıkları 163 kenenin tamamını *H. aegyptium* olarak belirlemişler ve yaptıkları moleküler analiz ile bu kenelerde *Eh. ewingii*, *Candidatus* *Midichloria mitochondrii* ve *Rickettsia africae* belirlerken *Babesia* spp., *Borrelia* spp., *C. burnetii*, CCHFV ve *Hepatozoon* spp./*H. mauritanica* tespit etmemişlerdir.

## 2.11 *Spiroplasma* Hakkında Genel Bilgi

*Spiroplasma* sarmal, hareketli, hücre duvarı olmayan, küçük gram pozitif Mollicutes sınıfı içinde yer alan bir bakteridir. Hemolenfte hücre dışında bulunur ve maternal olarak bulaştırılır (Anbutsu ve Fukatsu 2010; Ventura vd.,2012; Shokal vd., 2016; Ballinger ve Perlman, 2019; Harne vd., 2020). Konak ile arasında karşılıklı etkileşim gösteren *Spiroplasma*'ların çoğunluğu böcekler veya bitkilerde bulunduğu, az sayıda türünün ise bitki, böcek ve kabukluların patojeni olduğu tespit edilmiştir (Cisak vd., 2015).

*Spiroplasma* enfeksiyonu ile ilgili çalışmalar genellikle meyve sinekleri üzerinde yapılmış olmakla birlikte arı, sivrisinek, kene, kelebek ve uğurböceği gibi çeşitli artropod türlerinde de araştırmalar vardır (Jiggins vd., 2000; Sokolova vd., 2002; Henning vd., 2006; Anbutsu ve Fukatsu, 2010; Bastian vd., 2012; Ventura vd., 2012; Meeus vd., 2012; Shokal vd., 2016; Galal 2017). Üzerinde en çok çalışılan endosimbiontlardan biri olan *Spiroplasma*'lar tüm insektlerin %5'inden fazlasında mevcuttur. Artropodların endosimbiyotik bakteriler ile sıkı ilişki içerisinde olduğu ve buna bağlı olarak bu bakterilerin partenogenez, erkek öldürücülük, feminizasyon, sitoplazmik uyumsuzluk (CI) gibi üreme üzerine etkiyen çeşitli etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. Artropod-endosimbiont arasındaki bu tür etkileşimlerin ortaya konması patojenlere karşı biyolojik mücadele açısından önem taşımaktadır. *Spiroplasma*'ların insektlerde erkeklerin ölümüne neden olarak popülasyonda dişi sineklerin artmasına sebep olduğu çeşitli

çalışmalarla ortaya konulmuştur. Erkeklerin ölümü ile endosimbiont taşıyan dişiler daha fazla besine ulaşabileceğinden hayatta kalma şansları yükselecek ve böylece bu durum endosimbiontların yayılışını artıracaktır (Anbutsu ve Fukatsu 2010; Shokal vd., 2016; Regassa ve Gasparich, 2006; Ventura vd., 2012).



Şekil 2.7. *Spiroplasma* türünün Giemsa boya ile görüntüsü (Beliavskaia vd., 2021)

Tüm böcek türlerinin %20-70'inde bulunan Spiroplasma gibi endosimbiontların patojenik ve patojenik olmayan bakterilerin enfeksiyonuna karşı konakçıları korudukları saptanmıştır. Ixodidae ailesinde bulunan keneler insan ve hayvan sağlığını tehdit eden hastalıkların taşınmasında rol oynamaktadır. Endosimbiont bakterilerin, kenelerin biyolojisi, ekolojisi ve üreme değişiklikleri üzerindeki rolleri çok önemlidir. *Spiroplasma* endosimbiontunun artropodları enfeksiyonlardan koruyabildiği ve bu nedenle vektör kaynaklı hastalıkların kontrolü için biyolojik kontrol amaçlı kullanılması üzerine çalışılmaktadır (Shokal vd., 2016)

## BÖLÜM III

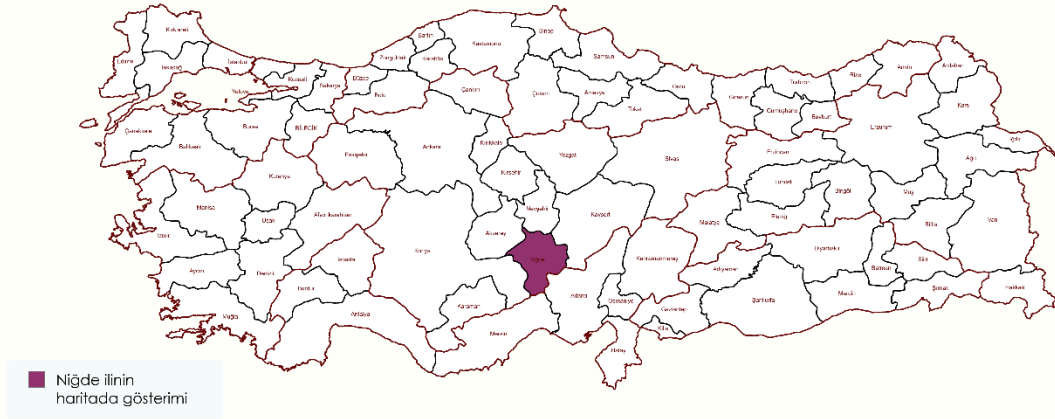
### MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Çalışma Alanı

Bu çalışmada; Niğde yöresinde Haziran 2022-Eylül 2022 tarihleri arasında Haziran'da 17, Temmuz'da 22, Ağustos'ta 21 ve Eylül ayında 28 kaplumbağa olmak üzere toplamda incelenen 88 kaplumbağanın 62'sinden elde edilen keneler araştırma materyalini oluşturmuştur.

##### 3.1.1 Çalışma merkezi

Niğde, Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'nin güneydoğusunda, 1.299m yükseklikte bulunan bir ildir. Rakımı 1.229 m olan Niğde ilinin 2022 yılı itibarıyla nüfusu 363.725'dir. Bor Niğde'nin 14km güneyinde yaklaşık 1100m rakımda Bor Ovası'nda yer almaktadır. Niğde Bor ilçesi 2020 yılı itibarıyla nüfusu 60.233'tür. Kemerhisar ise Türkiye'nin Niğde ilinin Bor ilçesine bağlı bir beldedir.



Şekil 3. 1. Niğde yöresinin Türkiye haritasındaki gösterimi

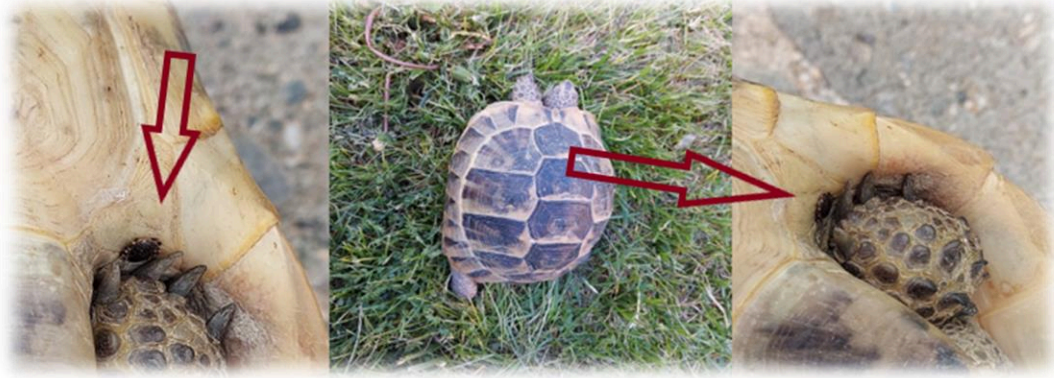
Niğde'de kara iklimi görülür. Kara iklimi nedenleri ise; etrafının dağlarla çevrili olması, deniz seviyesinden 1200 m yükseklik göstermesi, denizin bunaltıcı etkilerini ve denizden gelen rüzgârları alamaması, kuzeyden gelen soğuk rüzgârlara açık olmasındandır. Bu durumda Niğde'nin genel iklim özelliği, yazları sıcak ve kurak, kışları soğuk ve kar

yağışlıdır. Yağışlara kar halinde kışın, yağmur halinde ilkbaharda rastlanmaktadır. Niğde’de yağış ortalaması 0.9 mm’dir. Yağış en fazla olduğu ay 78.5 mm ile Nisan, en az olduğu ay ise 0.2 mm ile Temmuz ayıdır. Niğde kuzey yarımkürenin orta kuşağında bulunmaktadır, en sıcak ay ortalaması Temmuz ayına, en soğuk ay ortalaması ise Ocak ayına rastlar. Gerek mevsimler arasındaki sıcaklık farkı, gerekse gece ve gündüz arasındaki sıcaklık farkı kara iklimin en açık örneğidir. Bu durumda Niğde’de 16 yılda yapılan gözlemlere göre sıcaklık ortalaması 10 °C’dir. Tespit edilen maksimum sıcaklık (37.7 °C) Temmuz ayına, minimum sıcaklık ise (en düşük 21 °C) Şubat ayına rastlar.

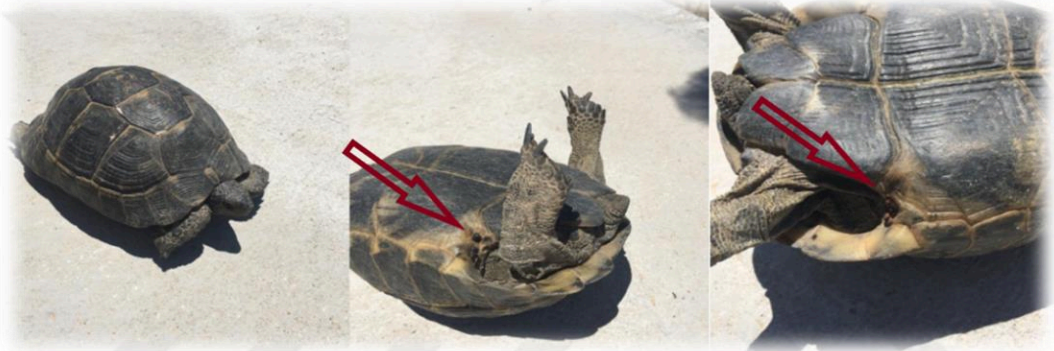
### **3.1.2 Niğde yöresinde kaplumbağa bulunan merkezler**

Niğde ilinde belirlenen 10 farklı çalışma merkezinden Haziran 2022-Eylül 2022 ayları arasında mesire alanları, mezarlıklar, bağ ve bahçelerde bulunan 88 kaplumbağa muayene edilmiştir. Kaplumbağalar ve muayene edildikleri merkezler aşağıda gösterilmiştir.

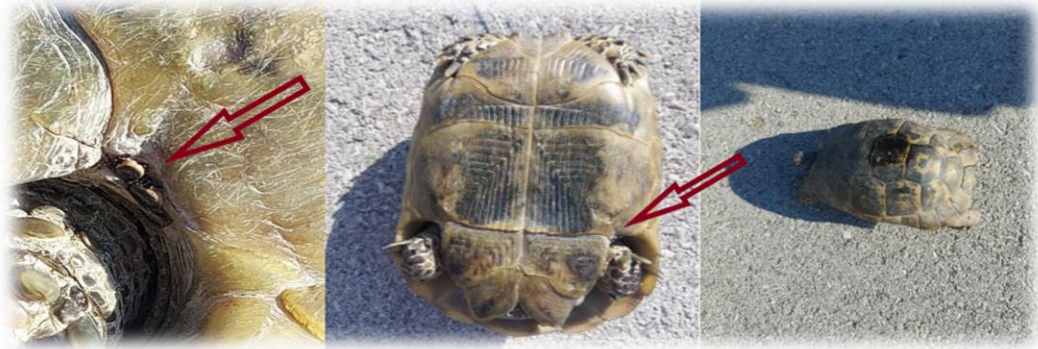
- Bor Toki (Fotoğraf 3.1)
- ODTÜ Koleji Bahçesi (Fotoğraf 3.2)
- Merkez Kampüs Yerleşkesi (Fotoğraf 3.3)
- Niğde Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu Bahçesi (Fotoğraf 3.4)
- Niğde Amas Bağları (Fotoğraf 3.5)
- Kemerhisar (Fotoğraf 3.6)
- Bor Başpınar Mezarlığı (Fotoğraf 3.7)
- Bor Acıgöl Mezarlığı (Fotoğraf 3.8)
- Niğde Merkez Derbent Mezarlığı (Fotoğraf 3.9)
- Niğde Merkez Kent Ormanı (Fotoğraf 3.10)



**Fotoğraf 3.1. Bor Toki**



**Fotoğraf 3.2. ODTÜ koleji bahçesi**



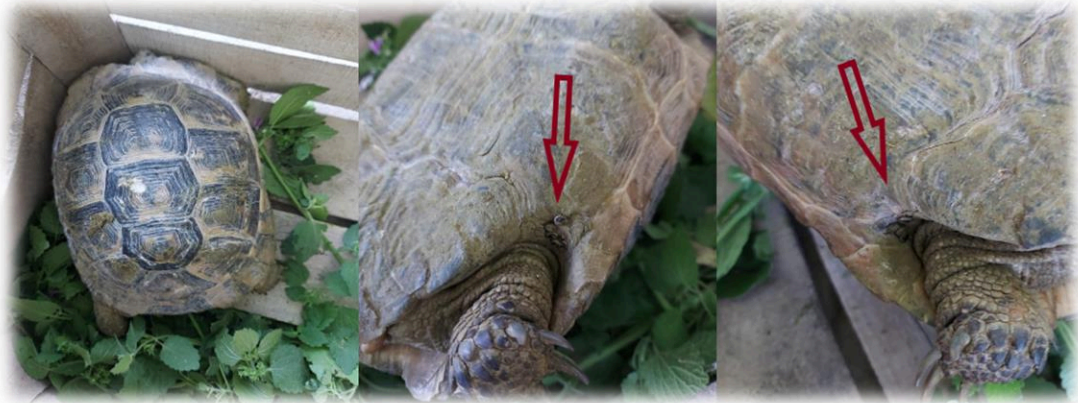
**Fotoğraf 3.3. Merkez kampüs yerleşkesi**



**Fotoğraf 3.4.** Sosyal Bilimler Meslek  
Yüksekokulu Bahçesi



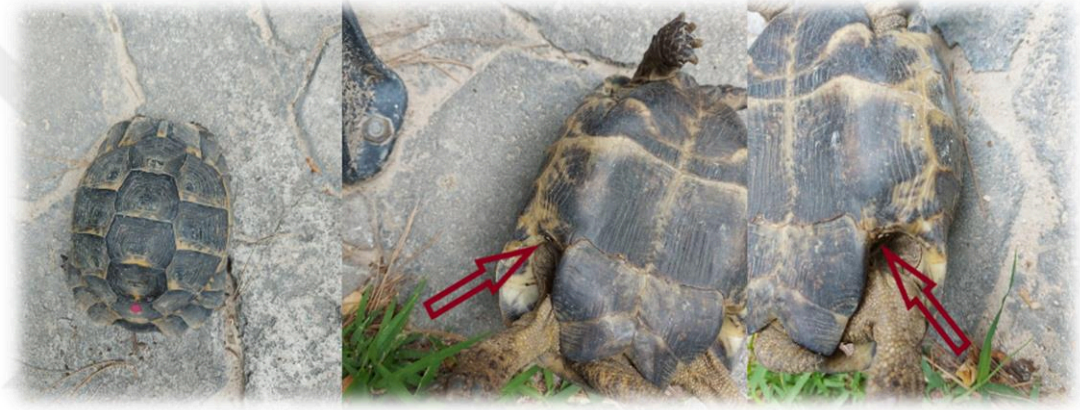
**Fotoğraf 3.5.** Niğde Amas Bağları



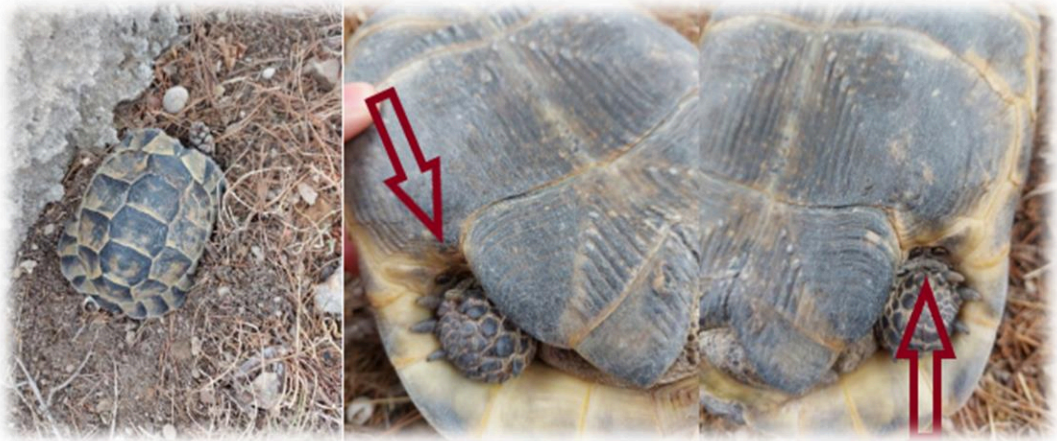
**Fotoğraf 3.6.** Kemerhisar



**Fotoğraf 3.7.** Bor Başpınar Mezarlığı



**Fotoğraf 3.8.** Acıgöl Mezarlığı



**Fotoğraf 3.9.** Derbent Mezarlığı



**Fotoğraf 3.10.** Kent Ormanı

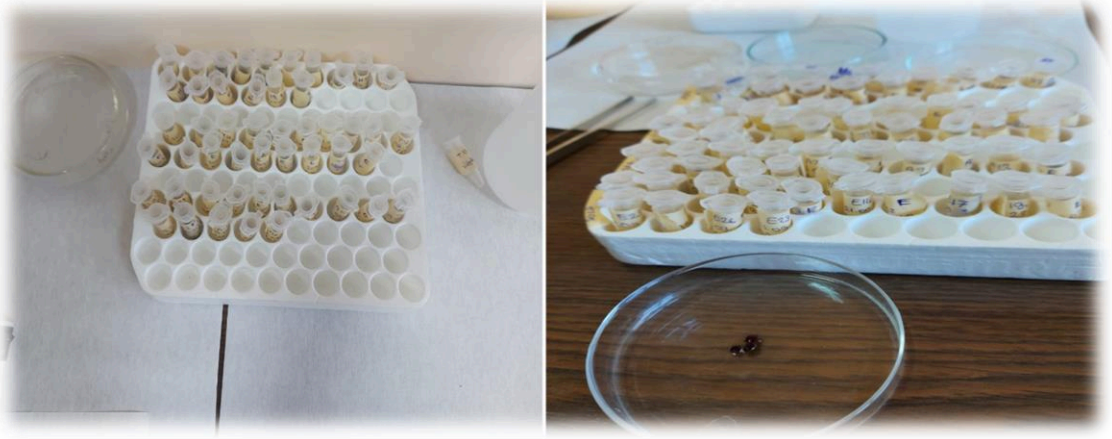
## 3.2 Metot

### 3.2.1 Laboratuvar analizleri

Enfestasyon belirlenen kaplumbağalardan keneler pens yardımı ile toplanmış ve %70'lik etil alkol bulunan şişelere ayrı ayrı alınarak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarda keneler stereo-mikroskop altında incelenerek tür identifikasyonları gerçekleştirilmiştir (Estrade-Pena vd., 2004) (Fotoğraf 3.11). Tüm keneler DNA izolasyonu yapıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.



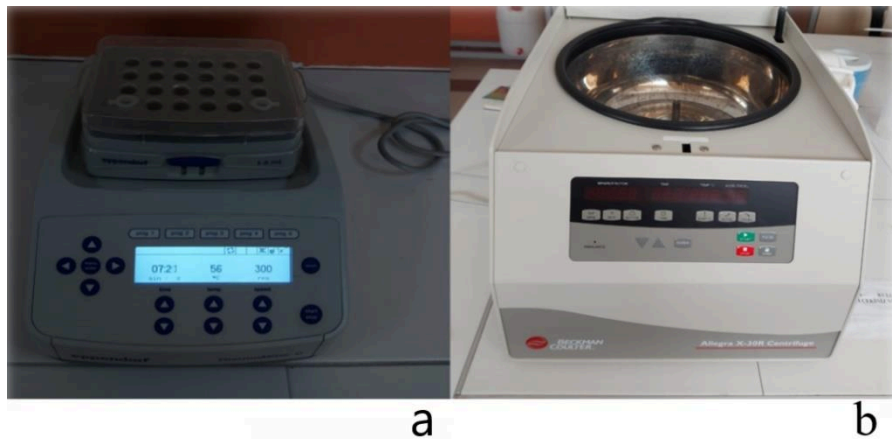
**Fotoğraf 3.11.** Numuneler için kullanılan malzemeler



**Fotoğraf 3.12.** Numunelerin saklanması

### 3.2.2 Genomik DNA ekstraksiyonu

Teste başlanmadan önce, kullanılacak test solüsyonları ve mikropleytlar oda sıcaklığına çıkartılmıştır. İnkübatör cihazı 56°C'ye ayarlanmıştır. Donmuş olan numuneler oda ısısına getirilmiştir. Kullanılacak olan Buffer AL ve Buffer ATL solüsyonlarında oluşan çökelti çözündürülmüştür. Buffer AW1 ve Buffer AW2 solüsyonlarına etanol eklenmiştir. Bütün santrifüj aşamaları oda ısısında gerçekleşmiştir. Kenelerden genomik DNA ekstraksiyonu, ticari DNA ekstraksiyon kiti (QIAGEN, Hilden Germany) kullanılarak kit protokolüne göre yapılmıştır. Kaplumbağalardan toplanan 184 kene örneği her bir kaplumbağaya ait olacak şekilde erkek ve dişi kenelerden ayrı ayrı olacak şekilde toplam 68 kene havuzu oluşturulmuş ve bunların herbiri ayrı ependorf tüplere alınarak numaralandırılmıştır. Herbir ependorftaki keneler havan içerisinde sıvı azot yardımı ile toz haline gelinceye kadar ezilmiştir.



**Fotoğraf 3.13.** DNA ekstraksiyonu için kullanılan cihazlar (a) inkübatör, (b) santrifüj



**Fotoğraf 3.14.** DNA ekstraksiyonu için kullanılan solüsyonlar



**Fotoğraf 3.15.** Kenelerin parçalanması

Parçalanmış kene örnekleri üzerine 180 µl Buffer ATL eklenip mini homojenizatör aleti ile iyice parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra üzerine 20 µl Proteinaz-K eklenmiş ve her aşamada vorteksten geçirilmiştir. Vortekslenme işleminden sonra ependorf tüpleri parafilm ile kaplanmış ve 56°C’de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Bir gece inkübasyonda bekletildikten sonra her bir ependorf 15 saniye vortekslenmiş daha sonra üzerine 200 µl Buffer AL eklenerek vortekslenmiş ve %96-100’lük etanolden 200 µl eklenip vorteksten geçirilmiştir. Bu işlemi takiben mini spin columnlardan örnek sayısı kadar çıkarılıp üzerine aynı protokol numaraları yazılmış ve ependorftaki örneklerin tamamı pipet yardımı ile bunlara aktararak önceki tüpler atılmıştır. Daha sonra tüpler 6000xg’de 1dk santrifüj edilmiş ve hazırlanan yeni boş ependorflar numaralandırılmış ve santrifüjden çıkan tüplerin üst kısmındaki mini spin kolonlar bunlara aktarılmıştır. Bu yeni tüpe 500µl Buffer AW1 eklenerek 6000xg’de 1 dk santrifüj edilmiştir. Yine benzer şekilde üstteki mini spin kolonlar yeni tüpe konulup öncekiler içinde kalan sıvı dökülerek atılmıştır. Bunlara 500 µl Buffer AW2 eklenerek 20.000xg’de 3 dk santrifüj edilmiş,

alttaki sıvı dökülüp aynı tüpte 20.000xg'de 1 dk tekrar santrifüj edilmiştir. Bu arada 1.5ml'lik ependorfların üzerine aynı numaralar yazılarak içlerine mini spin kolonlar konulmuş ve tam ortasına gelecek şekilde 100µl Buffer AE eklenerek 1 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Daha sonra 8.000rpm'de (6000xg) 1dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin sonunda mini spin kolonlar atılmış ve ependorf tüplerin kapakları kapatılmıştır.

Son aşamada elde edilen genomik DNA'ların konsantrasyonu ve saflığı Nanodrop spektrofotometre cihazında A260/280nm dalga boyunda ölçülmüştür. İzole edilen genomik DNA izolatları, PCR çalışmasında kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza altına alınmıştır.



**Fotoğraf 3.16.** DNA ekstraksiyonu için kullanılan tüpler ve santrifüj

### 3.2.3 PCR amplifikasyonu

*Spiroplasma* spesifik primerleri ile pozitif kontroller Prof. Dr. Serap AKSOY'dan (Aksoy Lab., Yale Üniversitesi, ABD) temin edilmiştir. Havuzlardan DNA ekstraksiyonunu takiben *Spiroplasma* spesifik primerleri (Çizelge 3.1) ile PCR analizleri yapılmıştır.

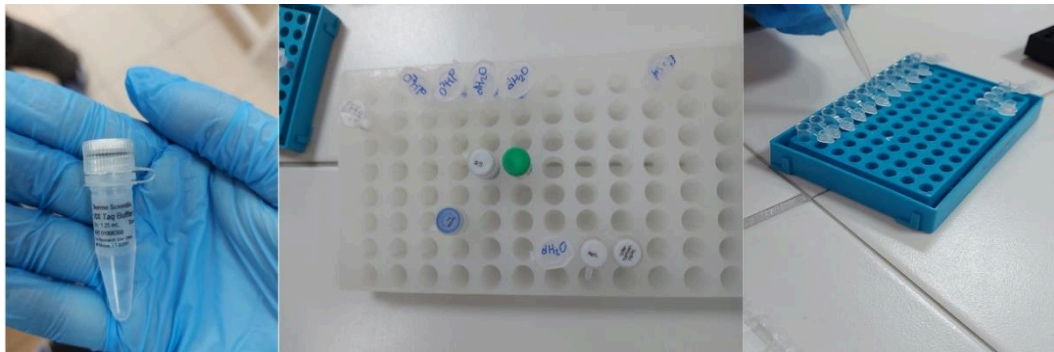
**Çizelge 3.1.** Çalışmada kullanılan primerler ve dizilimleri

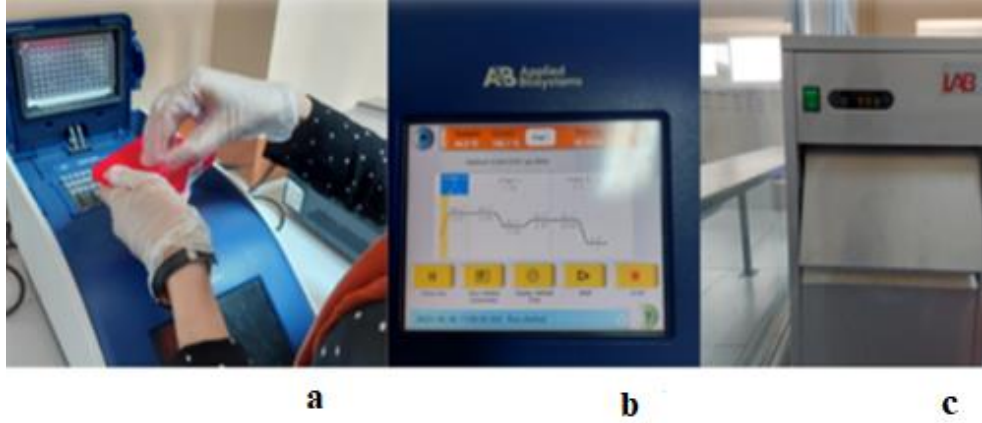
Etken	Hedef gen	Primer adı	bp	Kaynak
<i>Spiroplasma</i> sp.	16S rDNA	SPI-rRNA-5'- GGGTGAGTAACACGTATCT- 3'	1000	Sanada-Morimura vd., 2013
		SPI-rRNA-5'- CCTTCCTCTAGCTTACTA- 3'		

Polimeraz zincir reaksiyonu işlemi thermal cycler (Applied Biosystems® PCR) cihazında gerçekleştirilmiştir (Fotoğraf 3.18). PCR yapılacak olan laboratuvar ortamı alkol ile sterilize edilmiştir. Toplam 25µl hacimde hazırlanan PCR mix karışımı için; MgCl<sub>2</sub> (2 µl), 10xBuffer (3 µl), forward ve reverse primerler (forward 1 µl, reverse 1 µl), dNTP(1 µl), Taq DNA Polimeraz (Thermo Scientific™) (0.5 µl), template DNA (3 µl) ve distile su ile hacim tamamlanmıştır. Her reaksiyonda pozitif ve negatif kontroller kullanılmış ve tüm aşamalar buz üzerinde gerçekleştirilmiştir. PCR cihazı çalışmaya başlamadan önce *Spiroplasma* için döngü sıcaklıklarına göre ayarlanmıştır.

*Spiroplasma* 16S rDNA için;

- |          |                             |                   |
|----------|-----------------------------|-------------------|
| 1- 94 °C | 3 dakika ilk denatürasyon   | } Toplam 38 döngü |
| 2- 94 °C | 30 saniye denatürasyon      |                   |
| 3- 55 °C | 30 saniye primer bağlanması |                   |
| 4- 72 °C | 1.30 dakika uzama           |                   |
| 5- 72 °C | 10 dakika son uzama         |                   |

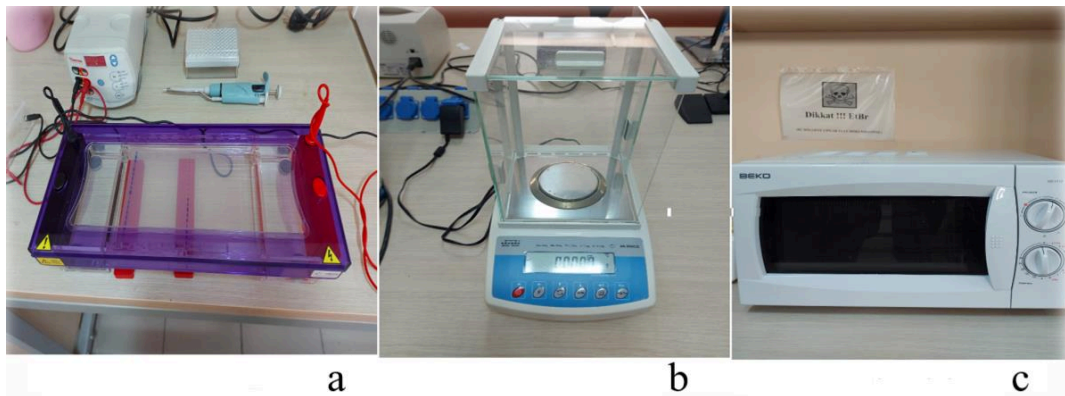
**Fotoğraf 3.17.** PCR solüsyonları



**Fotoğraf 3.18.** PCR için kullanılan cihazlar (a) PCR ürünlerinin cihaza yerleştirilmesi, (b) PCR cihazı, (c) Buz cihazı

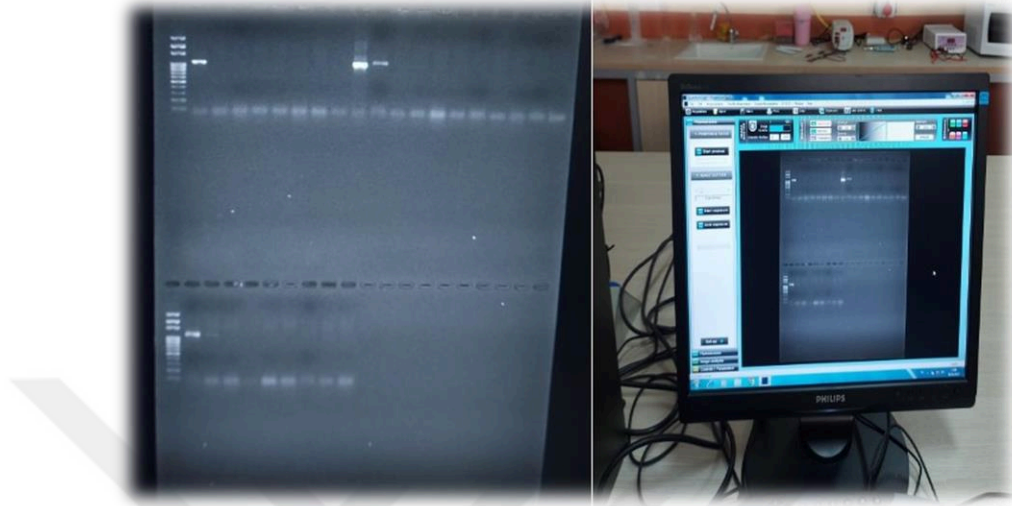
### 3.2.4 Agaroz jel

PCR analizinin sonucu %1'lik agaroz jel elektroforezinde koşturularak değerlendirilmiştir. Bu amaçla 1 gram agaroz, 100 ml 1x Tris-asetat-EDTA (TAE) tamponu ile birlikte erlenmayer içine konulmuştur. Karışım, mikrodalgada 2-3 dakika ısıtılıp agarozun tamamen erimesi beklenmiştir. Takiben musluk suyu altında eriyen agarozun soğuması sağlanmıştır. Daha sonra üzerine EtBr eklenmiştir. Hazırlanan jel elektroforez tankına dökülmeden önce jelde kuyucuklar elde etmek için uygun taraklar konulmuştur. Jel dökülürken kabarcık oluşmaması için dikkat edilmiş ve dökülen jel polimerize olması için beklenmiş, katılaştıktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkarılmış ve elektroforez tankına, 1xTAE tamponu eklenmiştir. Kuyucuklardan ilkinde 6 µl ladder (100 bp DNA), diğer kuyucuklara ise yükleme boyası ile 8 µl (4 µl örnek ve 4 µl yükleme boyası) örnek yüklenmiştir. Daha sonra elektroforez cihazı bağlanmış ve 110 voltta 40 dakika yürütülmüştür.



**Fotoğraf 3.19.** Jel elektroforez için kullanılan cihazlar (a) Elektroforez, (b) Hassas terazi, (c) Mikrodalga

Agaroz jel elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra ayrılan DNA Ladder ve DNA örnekleri UV ışığı altında görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat Quantum-ST4 1100/20M) kullanılarak jellerde bulunan bantlar görüntülenmiştir. İstenen bölgenin çoğalıp çoğalmadığı UV ışını ile ortaya çıkan bantlarla anlaşılmıştır.



**Fotoğraf 3.20.** PCR sonuçlarının okunması

### 3.2.5 Sekanslama ve filogenetik analizler

Dizilerin hizalanması Türkiye kaplumbağalardan elde edilen kenelerde tespit edilen suşlar, genbanktan elde edilen datalar ve dış grup olarak seçilen *E. coli* suşuna ait veriler alınarak BioEdit v.7.7.1. program kullanılarak ClustalW çoklu dizi hizalama ile gerçekleştirilmiştir (Thompson vd., 1994). 16S rRNA gen bölgesine ait son veri seti 355 bç'lik toplam 25 diziden oluşmaktadır. En iyi evrimsel model Mega v.11 (Tamura vd., 2021) programı ile Kimura 2 olarak belirlenmiştir. Filogenetik ağaç oluşturmada Kimura 2 modeli ile Maksimum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmış ve ML ağacı 1000 tekrarlı olarak elde edilmiştir. Haplotipler DnaSp v.6.12.03 kullanılarak belirlenmiş ve haplotip listesi Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Haplotip listesi

Haplotip Numarası	GenBank Erişim Numarası	Tür Adı ve Konak
1	OQ448934.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. clone endosymbiont of <i>Glossina</i> sp.
	OQ448933.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. clone endosymbiont of <i>Glossina</i> sp.
	KX159388.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina palpalis palpalis</i>
	KX159391.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina fuscipes fuscipes</i>
	KX159390.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina tachinoides</i>
2	OQ448932.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. clone endosymbiont of <i>Glossina</i> sp.
3	OQ448931.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. clone endosymbiont of <i>Glossina</i> sp.
4	MN900682.1	<i>Escherichia coli</i> strain
5	T2 (PP905403)	
	T4 (PP905404)	
	E7 (PP905405)	
	E9 (PP905406)	
6	NR043177.1	<i>Spiroplasma penaei</i> strain endosymbiont of <i>Penaeus vannamei</i>
	NR104720.1	<i>Spiroplasma atrichopogonis</i> strain
7	HM037701.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Apis mellifera</i>
	KF706370.1	<i>Spiroplasma melliferum</i> endosymbiont of <i>Apis mellifera</i>
8	KP982850.1	<i>Spiroplasma citri</i> endosymbiont of <i>Citrus microcarpa</i>
	FJ657180.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Drosophila melanogaster</i>
	NR044672.1	<i>Spiroplasma poulsonii</i> endosymbiont of <i>Drosophila willistoni</i>
	KP231340.1	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Drosophila neotestacea</i>
	NR104721.1	<i>Spiroplasma leucomae</i>
9	AB809073.1	<i>Spiroplasma</i> secondary symbiont of <i>Antestiopsis thunbergii</i>
10	AB753848.1	<i>Spiroplasma</i> sp. endosymbiont of <i>Orius sauteri</i>
11	KF249044.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. endosymbiont of <i>Mycocephurus goeldii</i>
12	KF249151.1	Uncultured <i>Spiroplasma</i> sp. endosymbiont of <i>Mycocephurus goeldii</i>

Belirlenen haplotiplere ait en iyi evrimsel model Mega v.11 (Tamura vd., 2021) programı ile Kimura 2 olarak belirlenmiştir. Filogenetik ağaç oluşturmada Kimura 2 modeline bağlı olarak Maksimum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmış ve ML ağacı 10000 tekrarlı olarak elde edilmiştir.

Agaroz jel elektroforezinde spesifik primerler ile tek (saf) bandlaşma gösteren örneklerin PCR ürünleri (yaklaşık 20-25µl) forward ve reverse primerleri ile çift yönlü olarak ticari bir firmaya (BM Laboratuvar Sistemleri, Ankara) sekanslattırılmıştır. Daha sonra her bir örneğe ait sekans sonuçları titizlikle kontrol edilmiş ve BioEdit programı kullanılarak hizalanmış ve BLAST analizi ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)) yapılarak GenBank'ta (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) bulunan referans dizi analizleri ile karşılaştırılarak benzerlik oranları saptanmıştır. Elde edilen DNA dizilimleri GenBank'a kaydedilerek aksesyon numaraları alınmıştır.

İşlenen ve temizlenen tüm diziler, filogenetik analizleri yapılmak üzere DnaSp ve MegaX yazılım programları ile analiz edilmiş, moleküler karakterizasyonları ortaya konarak birbirleri ile akrabalık ilişkileri açığa çıkarılmış ve değerlendirilmiştir.

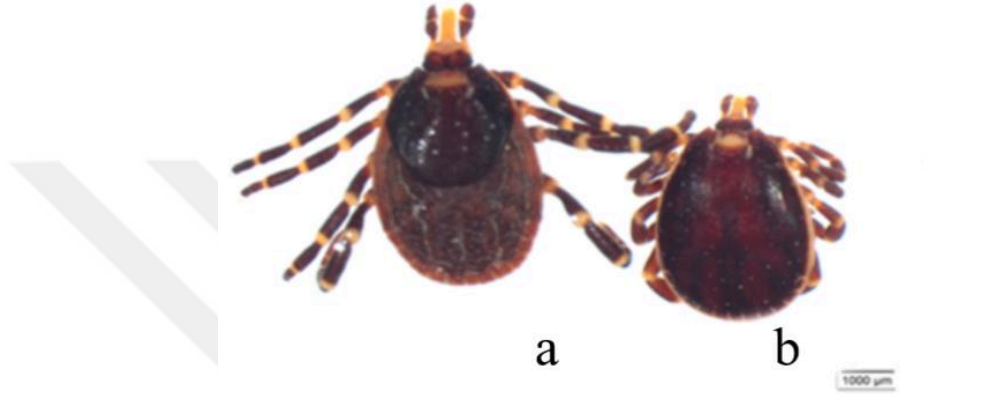
### **3.2.6 İstatistiksel değerlendirmeler**

Yapılan çalışmada kene örneklerinin toplandığı aylar ve kenelerin cinsiyetlerine göre pozitiflik oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Bu SPSS (Statistical Programme for Social Science) for Windows 24.0 İstatistik Paket Programından yararlanılmıştır.

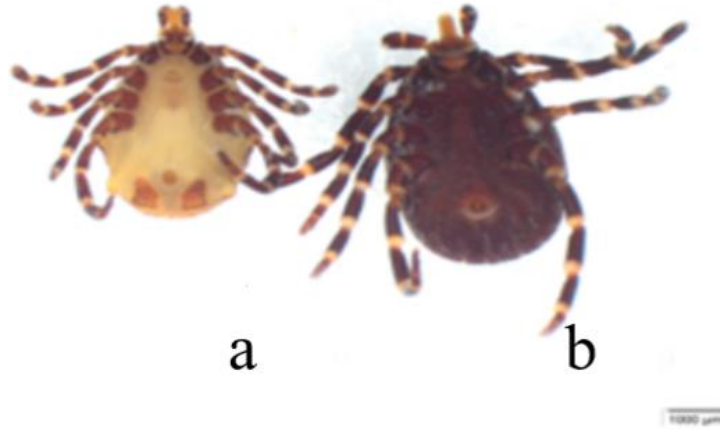
## BÖLÜM IV

### BULGULAR

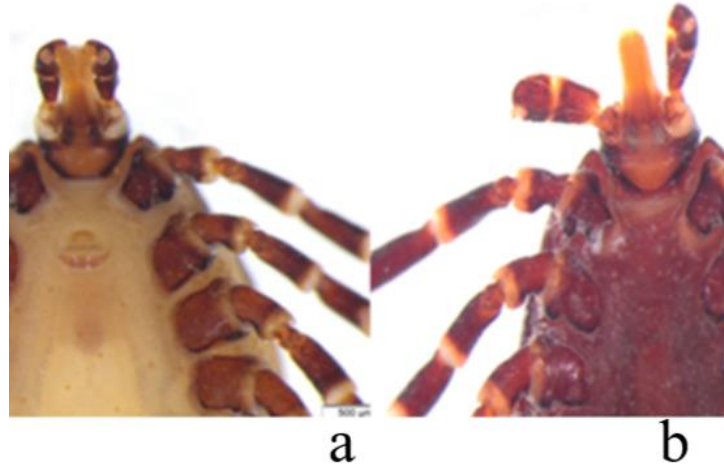
Niğde yöresinde muayene edilen 88 kaplumbağanın 62 tanesi (%70.4) kenelerle enfeste olarak bulunmuştur. Enfeste 62 kaplumbağadan toplam 184 kene toplanmış ve kenelerin 167 (%90.8)'si erkek, 17 (%9.2)'si ise dişi olarak belirlenmiştir. Kenelerin tümü *H. aegyptium*'un ergin şekli olarak teşhis edilmiştir.



**Fotoğraf 4.1.** *Hyalomma aegyptium* dorsal görüntüsü (a) Dişi, (b) Erkek (Orijinal)



**Fotoğraf 4.2.** *Hyalomma aegyptium* ventral görüntüsü (a) Erkek, (b) Dişi (Orijinal)



Fotoğraf 4.3. *Hyalomma aegyptium* coxa (a) erkek (b) dişi (Orijinal)

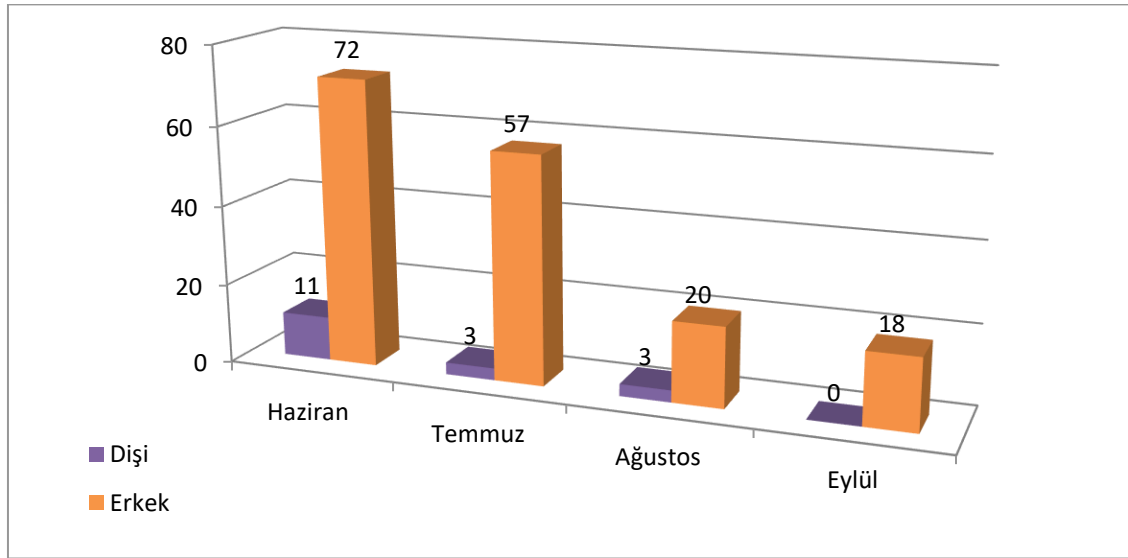


Fotoğraf 4.4. *Hyalomma aegyptium* morfolojik özellikleri (Orijinal)

Çizelge 4.1. Aylar açısından kaplumbağalarda kene enfestasyonu oranı

Aylar	İncelenen kaplumbağa sayısı	Enfeste kaplumbağa sayısı	Toplam kene sayısı	Dişi kene sayısı (%)	Erkek kene sayısı (%)
Haziran	17	14	83	11 (%13.3)	72 (%86.7)
Temmuz	22	19	60	3 (%5)	57 (%95)
Ağustos	21	15	23	3 (%13)	20 (%87)
Eylül	28	14	18	0	18 (%100)
<b>Toplam</b>	<b>88</b>	<b>62</b>	<b>184</b>	<b>17 (%9.2)</b>	<b>167 (%90.8)</b>

Çizelge 4.1’de aylara göre muayene edilen kaplumbağalarda kene enfestasyonu oranı verilmiştir. Buna göre toplanan kaplumbağaların; Haziran ayında 17’sinin 14’ü, Temmuz ayında 22’sinin 19’u, Ağustos ayında 21’in 15’i ve Eylül ayında 28’inin 14’ü enfeste olarak tespit edilmiştir. İncelenen kaplumbağalardan toplam 184 *H. aegyptium* (167 ♂ ve 17 ♀) identifiye edilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu, kaplumbağalar arasında aylar açısından enfestasyonun önemli olduğu ( $p<0.05$ ) belirlenirken muayene edilen enfeste kaplumbağalardaki kene cinsiyetinin ise önemli olmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ).



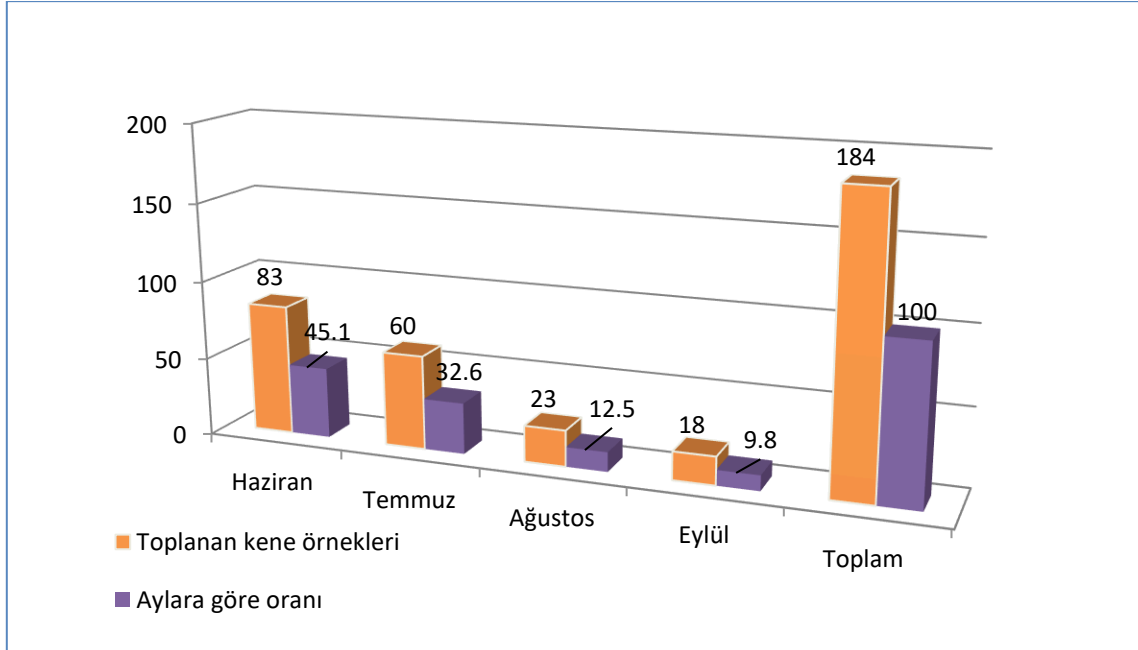
Şekil 4. 1. Aylara göre kenelerde cinsiyet dağılımı

Şekil 4.1’de gösterildiği gibi Niğde yöresinde toplanan kene örneklerinden 167 tanesi erkek, 17 tanesi dişi olarak belirlenmiştir. En çok kene toplanan ay Haziran, en az kene toplanan ay ise Eylül ayıdır. Haziran ayı en çok dişi ve erkek kenenin toplandığı ay olarak belirlenirken, Eylül ayında dişi kene hiç toplanmamıştır.

Çizelge 4.2. Aylara göre toplanan kenelerin dağılımı

Aylar	Toplanan kene örnekleri	Oran (%)
<b>Haziran</b>	83	45.1
<b>Temmuz</b>	60	32.6
<b>Ağustos</b>	23	12.5
<b>Eylül</b>	18	9.8
<b>Toplam</b>	<b>184</b>	<b>100</b>

Çizelge 4.2’de aylara göre toplanan kenelerin oranları verilmiştir. Buna göre Haziran ayında 83 kene incelenmiş ve oranı % 45.1 olarak bulunmuş, Temmuz ayında 60 kene incelenmiş ve oranı %32.6 bulunmuş, Ağustos ayında 23 kene incelenmiş ve oranı %12.5 bulunmuş, Eylül ayında 18 kene incelenmiş ve oranı %9.8 olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 2. Aylara göre toplanan kenelerin dağılımı

Şekil 4.2’de gösterildiği gibi Niğde yöresinde toplanan kene örneklerinde en çok Haziran ayında %45.1 en az ise Eylül ayında %9.8 kene toplanmıştır.

Toplam 184 kenenin PCR analizi sonucunda *Spiroplasma* spp. için toplam 88 kaplumbağanın 4’ünde (%4.5) (Temmuz ayında 2 kaplumbağa ve Eylül ayında 2 kaplumbağa) pozitiflik (1000bp) tespit edilmiştir. Toplanan 184 kenede *Spiroplasma* pozitifliği %3.2 (6 kene) olarak saptanmıştır (Şekil 4.2).

Çizelge 4.3. Kenelerde *Spiroplasma* pozitifliği

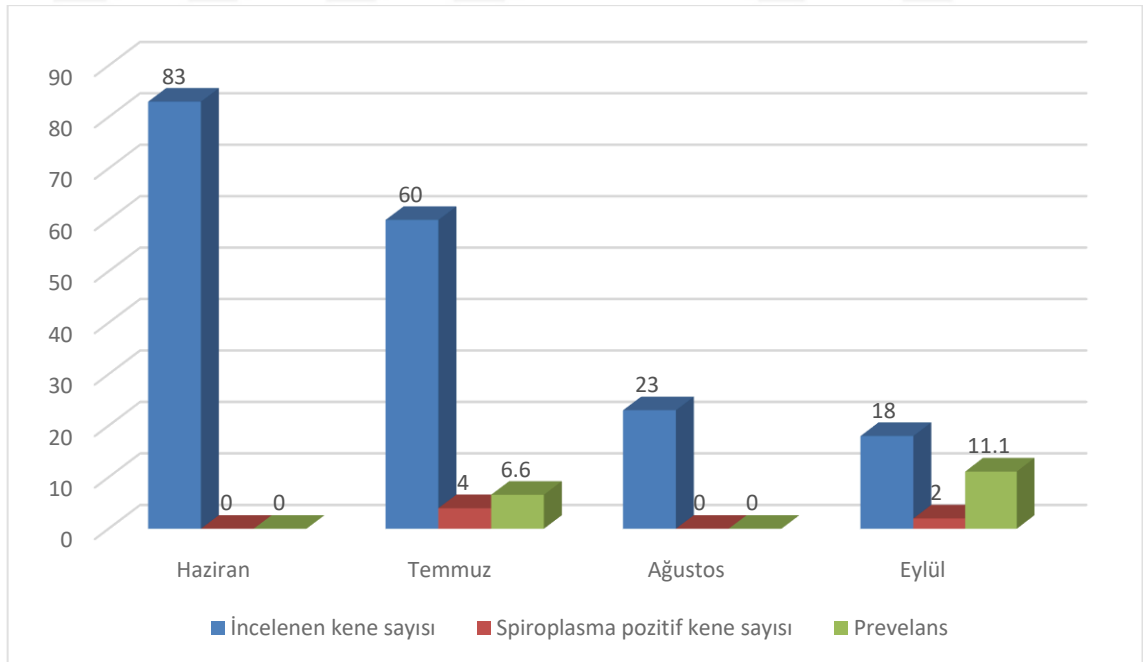
<i>Spiroplasma</i>	Kene havuzu sayısı	Pozitiflik oranı
Pozitif	4 (6 kene)	5.9
Negatif	64 (178 kene)	94.1
<b>Toplam</b>	<b>68 (184 kene)</b>	<b>100</b>

Çizelge 4.3’de toplanan kene örneklerinde *Spiroplasma* yönünden pozitiflik incelenmiştir. Toplam 184 kene örneğinin bulunduğu 68 havuzun 64’ü (%94.1, 178 kene) *Spiroplasma* negatif, 4 havuz ise (%5.9, 6 kene) *Spiroplasma* pozitif olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.4.** Aylara göre kenelerde *Spiroplasma* pozitifliği

Aylar	İncelenen kene sayısı	<i>Spiroplasma</i> pozitif kene sayısı	Prevalans (%)
Haziran	83	0	-
Temmuz	60	4	6.6
Ağustos	23	0	-
Eylül	18	2	11.1
<b>Toplam</b>	<b>184</b>	<b>6</b>	<b>3.2</b>

Çizelge 4.4’de aylar açısından *Spiroplasma* pozitifliği verilmiştir. Buna göre, Haziran ve Temmuz aylarında incelenen kenelerde *Spiroplasma* pozitifliği saptanamazken, Temmuz ayında incelenen 60 kenenin 4’ü (%6.6) ve Eylül ayında incelenen 18 kenenin 2’si (%11.1) *Spiroplasma* pozitif olarak saptanmıştır.



**Şekil 4. 3.** Aylara göre *Spiroplasma* pozitifliği

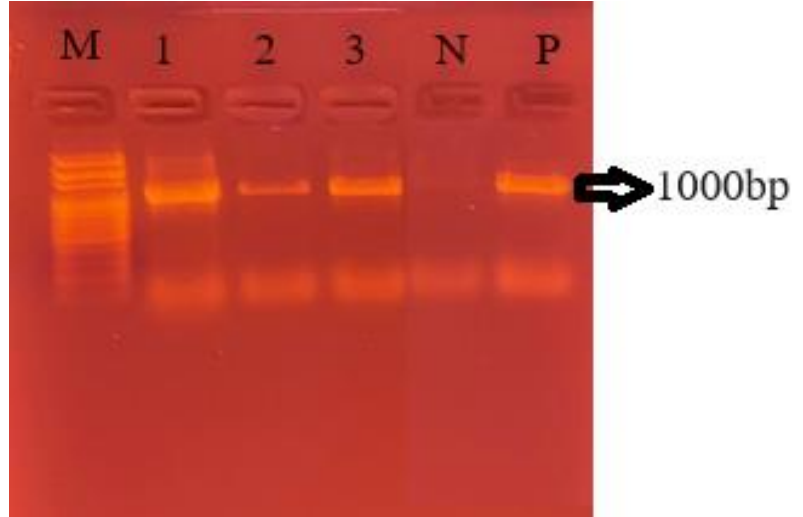
Şekil 4.3’de gösterildiği gibi Niğde yöresinden toplanan kenelerde Haziran ve Ağustos aylarında pozitiflik saptanmazken, Temmuz ayında 4, Eylül ayında ise 2 kenede pozitiflik saptanmıştır. Toplanan 184 kene örneğinden 6 (%3.2) kenede *Spiroplasma* pozitifliği belirlenmiştir.

**Çizelge 4.5.** Cinsiyete göre kenelerde *Spiroplasma* pozitifliği

Cinsiyet	İncelenen kene havuzu sayısı	<i>Spiroplasma</i> pozitif kene havuzu sayısı	Prevalans (%)
Erkek	60 (167 kene)	4 (6 kene)	6.6
Dişi	8 (17 kene)	0	-
<b>Toplam</b>	<b>68 (184 kene)</b>	<b>4 (6 kene)</b>	<b>5.8</b>

Çizelge 4.5’de cinsiyete bağlı olarak kenelerde *Spiroplasma* pozitifliği değerlendirilmiştir. Toplanan 68 kene havuzunun 60’ı erkek, 8’i ise dişilerden oluşmuştur. İncelenen 60 erkek kene havuzunun 4’ünde (%6.6) *Spiroplasma* açısından pozitiflik saptanırken 8 dişi kene havuzundaki kenelerin tamamı negatif olarak belirlenmiştir.

Pozitif saptanan kene örneklerin tamamı DNA dizi analizine gönderilmiş ve BLAST analizi ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)) yapılarak benzerlik oranları karşılaştırılmıştır. Niğde yöresinde kaplumbağalar üzerinden toplanan *H. aegyptium* kenelerinden elde edilen T2, T4, E7 ve E9 numaralı dört örneğin sekans verileri kullanılarak NCBI Blast veritabanında taranmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, dört örneğin de NCBI’da bulunan sekans dizileriyle aynı eşleşmeye sahip olduğu belirlenmiştir. NCBI’da eşleşme gösteren dizilerden ilk beşi, benzerlik derecesine göre Tablo 1’de gösterilmiştir. Buna göre eşleşme gösteren ilk üç dizi bu tez çalışmasındaki örneklerin tümüyle %98.88 oranında benzerlik derecesine sahiptir. Eşleşen bu türler *Spiroplasma* (*Spiroplasma* endosymbiont of *Glossina fuscipes fuscipes*)’ya ait olup, *Glossina fuscipes fuscipes* konak organizmasında çalışılmıştır. Dördüncü ve beşinci en benzer diziler ise %98.67 oranında benzerlik değerine sahiptir. Bu diziler *Spiroplasma* (*Spiroplasma* endosymbiont of *Glossina tachinoides*)’ya ait olup, *Glossina tachinoides* türü konak organizma olarak çalışılmıştır.



**Şekil 4.4.** *Spiroplasma* 16S rDNA primerleri ile amplifiye edilen PCR ürünleri, M: DNA ladder (100 bp), 1-3: Pozitif örnekler, N: Negatif kontrol, P: Pozitif kontrol (1.000 bp)

**Çizelge 4.6.** Çalışılan örneklerin NCBI veritabanındaki türlerle karşılaştırılması

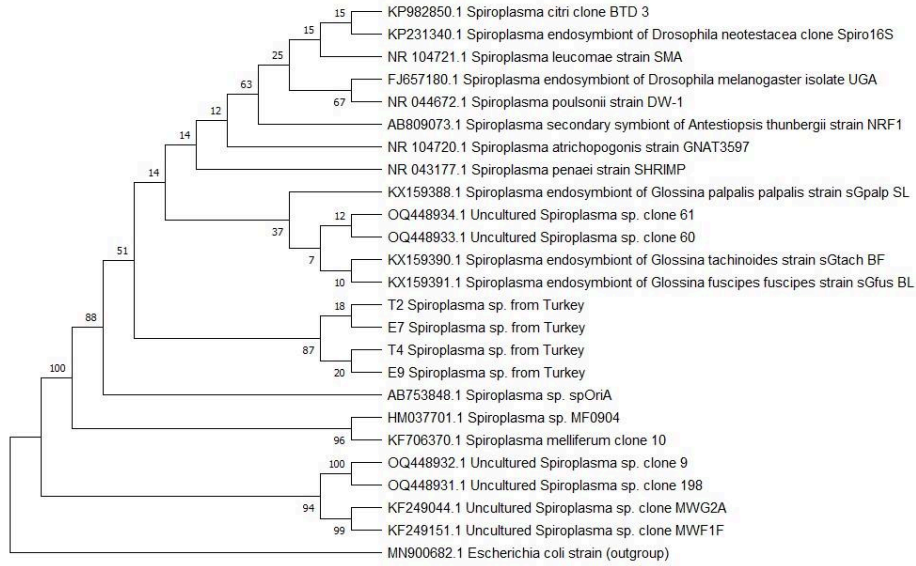
Örnek Kodu	Benzerlik Yüzdesi	GenBank Accession No	Ülke	Konak	Tür	Referans
T2	%98.88	KX159391	Uganda	<i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	Doudoumis vd., 2017
	%98.88	KX159388	Uganda	<i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina palpalis palpalis</i>	Doudoumis vd., 2017
T4	%98.88	<a href="#">KX159383</a>	Uganda	<i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina fuscipes</i>	Doudoumis vd., 2017
E7	%98.67	KX159390	Burkina Faso: Folonzo	<i>Glossina tachinoides</i>	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina tachinoides</i>	Doudoumis vd., 2017
E9						
	%98.67	KX159386	Burkina Faso	<i>Glossina tachinoides</i>	<i>Spiroplasma</i> endosymbiont of <i>Glossina tachinoides</i>	Doudoumis vd., 2017

Elde edilen DNA dizilimleri GenBank'a kaydedilmiş ve *Spiroplasma* 16S rDNA *Hyalomma aegyptium* için erişim numaraları (accession number) alınmıştır.

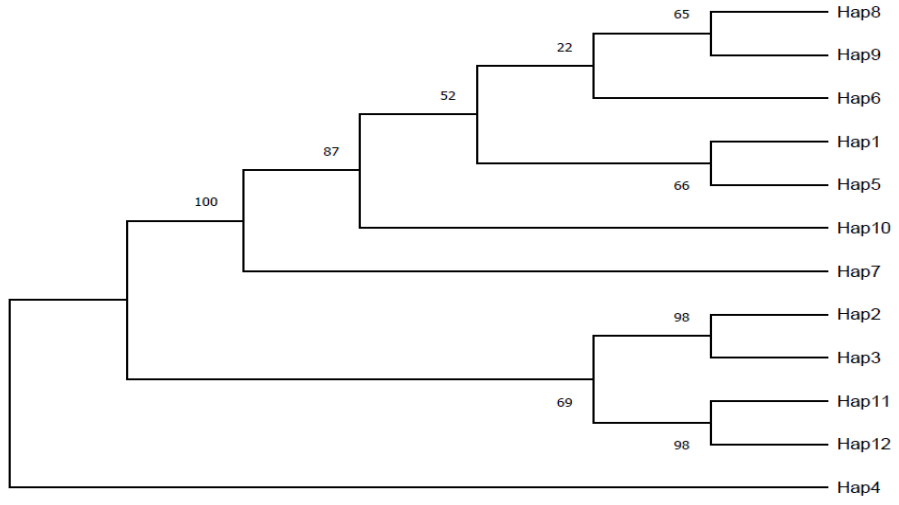
Çizelge 4.7. GenBank'ta kayıt altına alınan sekanslara ait aksesyon numaraları

İzolot Adı	Sekans Boyutu	Aksesyon Numarası
T2	1000 bp	PP905403
T4	1000 bp	PP905404
E7	1000 bp	PP905405
E9	1000 bp	PP905406

Evrimsel ağaç, Mega X programı kullanılarak Maksimum Likelihood (ML) yöntemi ve Kimura 2 parametrelili modelle oluşturulmuştur. 1000 kopyadan elde edilen bootstrap konsensüs ağacı, incelenen taksonların evrimsel tarihini temsil etmektedir. Bu analiz, 25 nükleotid dizisi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve dış grup olarak veritabanındaki *E. coli* suşuna ait sekans verisi seçilmiştir. Son veri seti toplamda 355 bp'lik diziden oluşmaktadır.

Şekil 4.5. *Spiroplasma* spp. 16S rDNA gen bölgesine göre filogenetik ağacı

Kimura 2 parametresine göre 1000 tekrarlı olarak gerçekleştirilen ML analizine göre Türkiye kene endosimbiont suşları birarada kümelenmiş olup, *Drosophila* spp., *Antestiopsis thunbergii* ve *Glossina* spp. endosimbiont suşlarıyla aynı monofiletik grup içinde yer almıştır. Türkiye suşlarının yer aldığı grup ile QQ448932, QQ448931, KF249044 ve KF249151 erişim numaralı örnekler birbirinden uzak gruplanmıştır (Şekil 4.5). Haplotiplere göre elde edilen ML ağacı da benzer bir topoloji göstermiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Haplotiplere göre elde edilen ML ağacı

## BÖLÜM V

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Keneler zorunlu kan emici ektoparazitlerdir ve gelişmelerinin her döneminde kan emmek zorundadırlar. Konakları genellikle memeliler, kuşlar ve sürüngenlerdir. Bununla beraber insanlarda parazitlik yapan türler bildirilmiştir (Karaer vd. 1997; Aktaş, 2015; Altay vd. 2021). Kara kaplumbağaları dünyada yaygın dağılım göstermekte ve Türkiye’de de hemen hemen tüm bölgelerde bulunmaktadır (Yılmaz, 2013). Kaplumbağaları enfeste eden *H. aegyptium* türü keneler 3 konaklıdır. Gelişme safhalarında özellikle erginleri kaplumbağalarda, larva ve nimfleri ise diğer memeli türlerinde parazitlik yapmaktadır (Hoogstral ve Kaiser, 1960). *Hyalomma aegyptium* türü keneler ayırıcı özellikleri sayesinde stereo-mikroskop yardımı ile teşhis edilmekte ve bu kenelerde PCR gibi moleküler testler ile *Spiroplasma* varlığı tespit edilebilmektedir. Türkiye subtropik iklim kuşağında bulunması nedeni ile kenelerin biyolojik aktivitelerini sürdürmesi için uygun koşullara sahip bir ülkedir. Keneler hayvanlarda büyük ekonomik kayıplara neden olmalarının yanısıra insanlarda da önemli sağlık sorunları oluşturmaktadırlar (Aktaş, 2015; Altay vd., 2021; Uslu vd., 2019).

Dünyanın birçok ülkesinde kaplumbağa keneleri ve endosimbiontları ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda; Siroky vd., (2006) Balkan ülkelerinde kaplumbağalardan topladıkları 1327 adet kene arasında en yaygın tür olarak *H. aegyptium*, Tavassoli vd., (2007) İran’da kaplumbağalardan topladıkları kenelerin tümünü *H. aegyptium*, Paştıu vd., (2012) Romanya’da muayene ettikleri kaplumbağalardan topladıkları keneleri *H. aegyptium* olarak belirlerken bunların PCR analizinde *A. phagocytophilum* (%18.8), *E. canis* (%14.1) ve *C. burnetii* (%10) varlığını saptamışlardır. Azagi vd., (2017) İsrail’de kaplumbağalardan topladıkları kenelerin tamamını *H. aegyptium* olarak belirlemiş ve bu kenelerde *Francisella* benzeri endosimbiontları %100 ve *Rickettsia* türlerini ise %19.2 olarak belirlemiştir. Boucheikhchoukh vd., (2018) Cezayir’de kaplumbağalardan topladıkları keneleri *H. aegyptium* olarak belirlemiş ve bunlarda *Rickettsia* spp. ile *Borrelia* spp. tespit etmişler, buna karşılık *Coxiella burnetii* ve *Bartonella* spp. ise belirleyememişlerdir. Barradas vd.

(2021) Katar'da kaplumbağalardan topladığı kenelerde *Hemolivia mauritanica* (28.6%), *Candidatus Midichloria mitochondrii* (9.5%) ve *Ehrlichia* spp. (4.7%) saptamıştır. Benyahia vd., (2022) Cezayir'de kaplumbağalardan topladığı kenelerin tamamını *H. aegyptium* olarak belirlemiş ve bunlarda *Rickettsia* spp., (33%), *Borrelia* spp. (75.6%) ve Anaplasmataceae (3.9%) tespit ederken *Bartonella* spp., *C. burnetii*, *Theileria* spp. ve *Babesia* spp. açısından pozitiflik saptayamamıştır. Bizhga vd., (2022) Arnavutluk'ta kaplumbağalardan topladıkları kenelerin hepsini *H. aegyptium* olarak teşhis etmiştir. Mumcuoğlu vd., (2022) İsrail'de kaplumbağalardan buldukları kenelerin tümünü *H. aegyptium* olarak tanımlamışlar ve bunlarda *Rickettsia africae*, *Rickettsia aeschlimannii*, *Rickettsia* endosymbiontu, *Coxiella burnetii*, *Hemolivia mauritanica*, *Babesia microti*, *Theileria* sp., ve *Leishmania infantum* belirlerken *Anaplasma/Ehrlichia*, *Listeria monocytogenes*, *Bartonella* spp., *Hepatozoon* spp. ve *Toxoplasma gondii*'yi ise kenelerin hiçbirinde tespit edememişlerdir. Norte vd. (2022) Kuzey Afrika ve Anadolu'da kaplumbağalardan topladıkları *H. aegyptium*'larda *Hemolivia mauritanica* (%22.9), *Midichloria mitochondrii* (%11.4), dönek ateşi (%8.4), *Ehrlichia* spp (%7.6), *Rickettsia* spp (%3.4), *Borrelia burgdorferi* s.l. (%0.9), *Francisella* spp (%0.9) ve *Wolbachia* spp. (%0.8) tespit etmişlerdir. Segura vd. (2023) Fas'ta kaplumbağalardan topladıkları kenelerin tamamını *H. aegyptium* olarak saptamışlar ve bu kenelerde *Ehrlichia ewingii*, *Candidatus Midichloria mitochondrii* ve *Rickettsia africae* belirlerken *Babesia* spp., *Borrelia* spp., *C. burnetii*, CCHFV ve *Hepatozoon* spp./*H. mauritanica* tespit etmemişlerdir.

Çalışmamızda ise Niğde yöresinde toplam 88 kaplumbağanın 62'sinde %70.45 oranında kene enfestasyonu tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç ile kaplumbağalar üzerinde yapılan diğer çalışmalarda belirlenen yüksek enfestasyon oranları benzerlik göstermektedir. Taşıdıkları hastalık etkenleri nedeni ile keneler hem halk sağlığını hem de insan sağlığını tehdit eden önemli ektoparazitlerdendir. Kaplumbağaların yaşam alanlarının insanlara yakınlığı da düşünüldüğünde keneleri bu kadar yoğun taşımalarının insanlarda enfestasyon riskini artırabileceğini akla getirmektedir. Bu çalışmada *Spiroplasma* endosimbiontunun varlığı araştırılmış ve yapılan çalışmalar sonucunda *Spiroplasma* toplam 6 kenede pozitif olarak saptanmıştır. Pozitif saptanan kenelerin tamamı erkek kene olup, pozitiflik oranı ise %3.2 olarak belirlenmiştir.

Türkiye’de kaplumbağalarda bulunan keneler ve taşıdıkları endosimbiontları ile ilgili yapılan çalışmalarda; Marmara bölgesindeki 32 kaplumbağada %40.6 oranında kene enfestasyonu tespit edilmiş ve toplanan kenelerin tamamı *H. aegyptium* olarak tanımlanmış (Aydın vd., 2002), İstanbul’da muayene edilen 150 kaplumbağada bulunan kenelerin tümü *H. aegyptium* olarak belirlenmiş ve bunlarda *Borrelia* sp. saptanmış (Güner vd., 2003), Trakya bölgesinde incelenen 56 kaplumbağada %98.21 enfestasyon oranı belirlenmiş ve bunların % 18.57’si *H. aegyptium* erişkini olarak saptanmış (Aysul vd., 2010), yine Trakya’da 26 kaplumbağadan toplanan kenelerin tamamı *H. aegyptium* olarak belirlenmiş ve bunlar *Rickettsia* spp. ve *B. burgdorferi* sl. ile enfekte bulunmuş (Kar vd., 2011), Van’ın Erciş ilçesinde 37 kaplumbağada toplanan kenelerin tamamı *H. aegyptium* olarak tanımlanmış (Yılmaz vd., 2013), Kahramanmaraş’da incelenen 84 kaplumbağanın 60’ından toplanan kenelerinin hepsi *H. aegyptium* olarak saptanmış ve bunların bakteriyolojik incelemesinde *Bacillus* sp., difteroid basil, CNS, *Pasteurella* sp., *Micrococcus* sp. ve *E. aerogenes* izole edilmiş (Kireççi vd. 2013), Antalya’da 74 kaplumbağanın 36’sından toplanan kenelerin tümü *H. aegyptium* olarak tespit edilmiş (Koç, 2013), İzmir ve Aydın yöresinde 12 kaplumbağadan toplanan tüm keneler *H. aegyptium* olarak tanımlanmış (Bakırcı, 2016), Beytepe kampüsü ormanlık alanında kaplumbağalardan toplanan kenelerinin tamamı *H. aegyptium* olarak tanımlanmış (Yılmaz ve Hekimoğlu 2017), Konya’da incelenen 65 mahmuzlu akdeniz kaplumbağalarının tümü keneler ile enfeste bulunmuş ve bunlar *H. aegyptium*, *H. marginatum* ve *R. turanicus* olarak tespit edilmiş ve en yaygın türün *H. aegyptium* olduğu vurgulanmış (Uslu vd., 2019), Çorum’da 26 kaplumbağadan toplanan keneler *H. aegyptium* olarak saptanmış ve PCR analizi sonucunda bunlarda *H. mauritanica*, *R. aeschlimannii*, *Ehrlichia* spp. ve *B. bovis* tespit edilmiş buna karşılık *C. burnetii*, *F. tularensis*, *Babesia* spp., *Hepatozoon* spp., *Theileria* spp. ve *A. phagocytophilum* saptanamamış (Akveran vd., 2020), Aydın, İzmir, Şanlıurfa’da kaplumbağalar üzerinden toplanan keneler *H. aegyptium* olarak teşhis edilmiş ve bu kenelerde *Rickettsia* spp. saptanırken *F. tularensis* tespit edilmemiş (Demir vd., 2020), Doğu Trakya’da kaplumbağalarda saptanan kenelerin hepsi *H. aegyptium* olarak belirlenmiştir (Kar vd., 2020). Yapılan bu çalışmada Niğde yöresinde kaplumbağalardan toplanan kenelerin tümü *H. aegyptium* olarak belirlenmiş ve yüksek (%70.45) enfestasyon oranı saptanmıştır. Elde

edilen bu sonuçların ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Yapılan literatür taramasında, Türkiye’de kene kaynaklı hastalıklar üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmasına karşılık kenelerde bulunan *Spiroplasma* endosimbiontu hakkında az sayıda araştırma yapıldığı görülmüştür. Kaya (2022) Kırşehir’de keneler üzerinde yaptıkları çalışmada *Ha. sulcata*’da *Spiroplasma* bulduklarını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada Niğde yöresinde kaplumbağalardan toplanan *H. aegyptium*’larda *Spiroplasma* endosimbiontlarının varlığı araştırılmış ve %3.2 oranında *Spiroplasma* spp. pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen endosimbiontlarla ilgili sonuçların diğer çalışmaların sonuçları ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Sonuç olarak, Niğde yöresindeki kaplumbağaların %70.4’ünün kenelerle enfeste olduğu belirlenmiş ve kaplumbağalardan toplanan 184 kenenin tümünün *H. aegyptium* olduğu saptanmıştır. Yapılan moleküler analizlerde ise *Spiroplasma* varlığı %3.2 olarak saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, kaplumbağalarda bulunan kenelerin insan ve hayvanlara nakledebileceği hastalıklar nedeni ile kenelerin kontrolünü ve önemini vurgulamaktadır. Kenelerde bulunan *Spiroplasma* benzeri endosimbiontların belirlenmesi ve bunların artropodların biyolojik kontrolünde kullanım potansiyellerinin ortaya çıkarılabilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

Akveran, G.A., “Bacterial and protozoan agents found in *Hyalomma aegyptium* (L., 1758) (Ixodida: Ixodidae) collected from *Testudo graeca* L., 1758 (Reptilia: Testudines) in Corum Province of Turkey”, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 11, 101458, 2020.

Arslan, G., Kapadokya bölgesi’nde (Nevşehir) kara kaplumbağası (*Testudo graeca* Linnaeus, 1758) üzerine biyo-ekolojik çalışmalar, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Nevşehir, 1-168, 2013.

Anbutsu, H. ve Fukatsu, T. “Evasion, suppression and tolerance of *Drosophila* innate immunity by a male-killing *Spiroplasma* endosymbiont”, *Insect Mol. Biol.*, 19, 481-488 2010.

Aktaş, M., Keneler, In: Arthropodoloji, Editörleri, Karaer K.Z, Dumanlı, N, *Medisan Yayınevi*, Ankara, 2015.

Altay, K., Aktaş, M., Dumanlı, N. ve Şahin Ö.F., Türkiye’de Önemli Arthropodlar ve Vektörlükleri, 93, ed, Uslu, U., Altay, K., *Medisan Yayınevi*, Ankara, 2021.

Aydın, L., Yıldırımhan, S.H. ve Uğurtaş, İ.H.,” Marmara bölgesindeki bazı kaplumbağa ve kertenkele türlerinde kenelerin yaygınlığı”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 26, 84-86, 2002.

Aysul, N., Yılmaz, S.N., Alp, H.G. ve Gargılı, A., “Trakya yöresi’ndeki kaplumbağalarda (*Testudo graeca*) *Hyalomma aegyptium* (Linnaeus, 1758)’un Yaygınlığı”, *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* , 37, 2010.

Azagi, T., Klement, E., Perlman, G., Lustig, Y., Mumcuoglu, K.Y., Apanaskevich, D.A. ve Gottlie, Y.,” *Francisella*-Like Endosymbionts and *Rickettsia* Species in local and imported *Hyalomma* ticks”, ***American Society For Microbiology***, 83, 2017.

Bakırcı, S.,” Prevalence of *Hyalomma aegyptium* (Linnaeus, 1758) on *Tortoises* (*Testudo graeca*) in Izmir and Aydin province, Turkey”, ***Etlik Vet Mikrobiyol Dergisi***, 27,5-7, 2016.

Ballinger, M.J. and Perlman, S.J., “The defensive *Spiroplasma*” ***Current Opinion in Insect Science***, 32, 36–41, 2019.

Barradas, P.F., Lima, C., Cardoso ,L., Amorim, I., Gärtner, F. and Mesquita, J.R., “Molecular Evidence of *Hemolivia mauritanica*, *Ehrlichia* spp. and the Endosymbiont *Candidatus* Midichloria Mitochondrii in *Hyalomma aegyptium* Infesting *Testudo graeca* Tortoises from Doha, Qatar”, ***Animal***, 11, 2021.

Bastian, F.O., Elzer, P.H. and Wu, X., “*Spiroplasma* spp. biofilm formation is instrumental for their role in the pathogenesis of plant, insect and animal diseases”, ***Exp Mol Pathol*** 93(1), 116-128, 2012.

Beliavskaia, A., Hönig, V., Erhart, J., Vyhlidalova, T., Palus, M., Cerny, J., Kozlova, I., Ruzek, D., Palomar, A.M. and Sakyi, L.B.,” *Spiroplasma* Isolated From Third-Generation Laboratory Colony *Ixodes persulcatus* Ticks”, ***Frontiers in Veterinary Science***, 8, 1-10, 2021.

Benyahia , H., Diarra , A.Z., Gherissi, D.E., Berenger, J.M., Benakhla, A. and Parola, P.,” Molecular and MALDI-TOF MS characterisation of *Hyalomma aegyptium* ticks collected from turtles and their associated microorganisms in Algeria”, ***Ticks and Tick-borne Diseases***,13,101858, 2022.

Bizhga, B., Sonmez, B., Bardhaj, L., Sherifi, K., Gündemir, O. ve Duro, S., “*Hyalomma aegyptium* the dominant hard tick in tortoises *Tesdudo hermanni boettgeri* found in different regions of Albania”, *International Journal for Parasitology*, 17, 199-204, 2022.

Boucheikhchoukha, M., Larocheb, M., Aouadia, A., Diba, L., Benakhlaa, A., Raoultd, D., ve Parola, P.,” MALDI-TOF MS identification of ticks of domestic and wild animals in Algeria and molecular detection of associated microorganisms”, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 57, 39-49, 2018.

Bursali, A., Tekin, S., Orhan, M., Keskin, A. ve Ozkan, O.,” Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) infesting humans in Tokat Province of Turkey: species diversity and seasonal activity”, *Journal of Vector Ecology*, 35, 180-185, 2010.

Bursalı, A., Keskin, A., Keskin, A., Köprülü, T.K. ve Tekin, Ş.,” Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması” *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 74 (4), 293-298, 2017.

Chegeni, A.S., Hosseini, R., Tavakoli, M., Telmadarraiy, Z. ve Abdigoudarzi, M.,” The Iranian *Hyalomma* (Acari: Ixodidae) with a key to the identification of male species”, *Persian Journal of Acarology*, 2, 3, 503–529, 2013.

Demir, S., Alak, S.E., Köseoğlu, A.E., Ün, C., Nalçacı, M. ve Can, H., “Molecular investigation of *Rickettsia spp.* and *Francisella tularensis* in ticks from three provinces of Turkey”, *Exp. Appl. Acarol.*, 81, 239–253, 2020.

Dumanlı, N., Altay, K. ve Aktaş, M., “Keneler ve kenelerle taşınan hastalıklar”, *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6 (2), 45-54, 2016.

Elliot, S., Molecular characterisation of microorganisms within the stump-tailed lizard tick, *Amblyomma albolimbatum*, in Western Australia. Bachelor of Science, Thesis, *School of Veterinary and Life Sciences Murdoch University*, 2021.

Galal, F.H., AbuElnasr, A., Abdallah, I., Zaki, O., Seufi, A.M., “Culex (culex) pipiens mosquitoes carry and harbor pathogenic fungi during their developmental stages”, *Erciyes Medical Journal*, 39(1), 1-6, 2017.

Gazyacı, S., Aşan, N. ve Demirbaş, Y.,” A common tortoise tick, *Hyalomma aegyptium* Linne 1758 (Acari: Ixodidae), identified on eastern hedgehog (*Erinaceus concolor*, Martin,1838) in Central Anatolia”, *Turkish Veterinary Journal*, 34 (2), 211-213, 2008.

Gazyacı, S. ve Aydınöz, M., “Keneler ve Kenelerin Taşıdığı Bazı Önemli Hastalıklar”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34 (2), 131-136, 2010.

Güner, E.S., Watanabe, M., Hashimoto, N., Kadosaka, T., Kawamura, Y., Ezaki, T., Kawabata, H., Imai, Y., Kaneda, K. ve Masuzawa, T.” *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from the hard tick *Hyalomma aegyptium* in Turkey”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1649–1652, 2004.

Haine, E.R., “Symbiont-mediated protection”, *The Royal Society*, 275, 353–361, 2008.

Henning, K., Fischerb, S.G., Hotzel, H., Ebsend, M. ve Theegarten, D.,” Isolation of *Spiroplasma* sp. from an *Ixodes* tick”, *Int. J. Med. Microbiol.*, 296, 157–161, 2006.

Hoogstraal, H., ve Kaiser, M.N.,” Some Host Relationships of The Tortoise Tick, *Hyalomma (Hyalommasta) aegyptium* (L.) (Ixodoidea, Ixodidae) In Turkey”, *Annals of the Entomological Society of America*, 1960.

Jabbarpour, S., “Türkiye’de dağılışı gösteren bazı kertenkelelerde ektoparazit yaşayan akarlar (Arachnida: Acarina)”, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bornova-İzmir, 2016.

Jiggins, F.M., Hurst, G.D., Jiggins, C.D., Schulenburg, J.H. ve Majerus, M.E.,” The butterfly *Danaus chrysippus* is infected by a male-killing *Spiroplasma* bacterium”, *Parasitology*, 120, 439-446, 2000.

Kar, S., Yılmaz, N., Midilli, K., Ergin, S., Alp, H. ve Gargılı, A.,” Presence of the Zoonotic *Borrelia burgdorferi* sl. and *Rickettsia* spp. in the Ticks from Wild Tortoises and Hedgehogs”, *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(3):166-170, 2011.

Kar, S., Rodriguez, S.E., Akyildiz, G., Cajimat, M.N.B., Bircan, R., Mears, M.C., Bente, D.A. and Keles, A.G.,” Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in tortoises and *Hyalomma aegyptium* ticks in East Thrace, Turkey: potential of a cryptic transmission cycle”, *BioMed Central*, 13, 201, 2020.

Karaer, Z., Yukarı, B.A. ve Aydın, L., Parazitoloji’de Artropod Hastalıkları ve Vektörleri, 13, ed., Özcel, M.A., Daldal, N., *Türk Parazitoloji Derneği*, İzmir, 1997.

Karasartova, D., Gureser, A.S., Gokce, T., Celebi, B., Yapar, D., Keskin, A., Celik, S., Ece, Y., Erenler, A.K., Usluca, S., Kosta Y. Mumcuoglu, K.Y. ve Ozkan, A.T.,” Bacterial and protozoal pathogens found in ticks collected from humans in Corum province of Turkey”, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-19, 2018.

Keskin, A., Bursali, A., Kumlutas, Y., Ilgaz, Ç. and Tekin, S.,” Parasitism of Immature Stages Of *Haemaphysalis sulcata* (Acari: Ixodidae) On Some Reptiles In Turkey” *Journal of Parasitology*, 99(5) ,752-755, 2013.

Keskin, A., Keskin, A., Bursali, A. ve Tekin, S.,” Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing humans in Corum and Yozgat provinces, Turkey”, *Experimental and Applied Acarology*, 67, 607–616, 2015.

Keskin, A., Bursali, A., Snow, D.E., Dowd, S.E. ve Tekin, S.,” Assessment of bacterial diversity in *Hyalomma aegyptium*, *H. marginatum* and *H. excavatum* ticks through tag-encoded pyrosequencing”, *Experimental and Applied Acarology*, 73, 461–475, 2017.

Kireçci, E., Özer, A., Balkaya, İ., Tanış, H. ve Deveci, S.,” Identification of Ticks on Tortoises (*Testudo graeca*) and Investigation of Some Pathogens in these Ticks in Kahramanmaraş, Turkey”, *KSÜ Doğa Bil. Dergisi*, 16 (1), 2013.

Kişi, M.,”Keneler aracılığı ile aktarılan önemli patojenik hastalıklar kenelerin bulaştırdığı hastalıklar”, Yörüngesiz, Keneler Aracılığı ile Aktarılan Önemli Patojenik Hastalıklar - Kenelerin Bulaştırdığı Hastalıklar - Yörüngesiz.com (yorungesiz.com), 22 Şubat 2024.

Koç, S., Antalya kenti kene (acari: ıxodida) türlerinin tespiti, mevsimsel ve bölgesel dağılımlarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya*, s.1-78, 2013.

Kumar, B., Manjunathachar, H.V. ve Ghosh, S.,” A review on *Hyalomma* species infestations on human and animals and progress on management strategies”, *Heliyon* ,6 e05675, 2020.

Meeus, I., Vercruyse, V. ve Smaghe, G.,” Molecular detection of *Spiroplasma apis* and *Spiroplasma melliferum* in bees”, *Journal of Invertebrate Pathology*, 109, 172-174, 2012.

Mumcuoglu, K.Y., Akveran, G.A., Aydogdu, S., Karasartova, D., Kosar, N., Gureser,A.S., Shacham, B. ve Ozkan,A.T.,” Pathogens in ticks collected in Israel: I. Bacteria and protozoa in *Hyalomma aegyptium* and *Hyalomma dromedarii* collected from tortoises and camels”, *Ticks and Tick-borne Diseases* 13, 101866, 2022.

Norte, A.C., Harris, D.J., Silveira, D., Nunes, C.S., Nuncio, M.S., Martínez, E.G., Giménez, A., Sousa, R., Carvalho, I.L. and Perera, A.,” Diversity of microorganisms in *Hyalomma aegyptium* collected from spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) in North Africa and Anatolia”, *Transboundary and Emerging Diseases*, 69, 1951-1962, 2022.

Över, L., İnceboz, T., Yapar, N., Bakırcı, S., Günay, T. ve Akısü, Ç.,” Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi’ne kene tutması yakınması ile başvuran olguların araştırılması”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 36 , 75-81, 2012.

Paştiu, A., Matei, J.A., Mihalca, A.D., D’Amico, G., Dumitrache, M., Kalmár, Z., D Sándor, A., Lefkaditis, M., Gherman, C.M. ve Cozma, V.,” Zoonotic pathogens associated with *Hyalomma aegyptium* in endangered tortoises: evidence for host-switching behaviour in ticks?”, *Parasites & Vectors* , 5, 301, 2012.

Shokal, U., Yadav, S., Atri, J., Accetta, J., Kenney, E., Banks, K., Katakam, A., John Jaenike, J. ve Eleftherianos, I.,” Effects of co-occurring *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts on the *Drosophila* immune response against insect pathogenic and non-pathogenic bacteria”, *BMC Microbiology*, 16, 2016.

Siroky, P., Petrzalkova, K.J., Kamler, M., Mihalca, A.D.ve Modry, D.,” *Hyalomma aegyptium* as dominant tick in tortoises of the genus *Testudo* in Balkan countries, with notes on its host preferences”, *Exp Appl Acarol*, 40, 279–290, 2006.

Sokolova, M.I., Zinkevich, N.S. ve Zakharov, I.A., “Bacteria in ovarioles of females from maleless families of ladybird beetles *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) naturally infected with *Rickettsia*, *Wolbachia*, and *Spiroplasma*”, *J Invertebr Pathol*, 79(2), 72-79, 2002.

Silveira, D.J.M., “Characterization of the ticks infecting tortoises in the Mediterranean Basin and their role in parasite transmission”, *MSc in Biodiversity, Genetics and Evolution Faculty of Sciences of the University*, Porto, 2016.

Tamura, K., Stecher, G. ve Kumar, S.,” Molecular evolutionary genetics analysis version “, *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027, 2021.

Tavassoli, E., Asiabi, N.R. ve Tavassoli, M.,” *Hyalomma aegyptium* on Spur-thighed Tortoise (*Testudo graeca*) in Urmia Region West Azerbaijan, Iran”, *Iranian J Parasitol*, 2, 40-47, 2007.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. ve CLUSTAL, W., "Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice", *Comparative Study Nucleic Acids Res*, 11, 22(22), 4673-80, 1994.

Tilgen, C., Çorum ili civarında yayılış gösteren kemiricilerde (Ordo: Rodentia) kene enfestasyonunun ve Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) taşıyıcılığının araştırılması, Yüksek Lisans Tez, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, s. 1-180, 2010.

Türkozan, O. ve Olgun, K., "A Preliminary Survey of *Testudo graeca* Linnaeus 1758 Specimens from Central Anatolia, Turkey", *Türkiye Zooloji Dergisi*, 29, 255-262, 2005.

Türkozan, O., Kiremit, F., Parham, J.F., Olgun, K. ve Taskavak, E., "A quantitative reassessment of morphology-based taxonomic schemes for Turkish tortoises (*Testudo graeca*)", *Amphibia-Reptilia*, 31, 69-83, 2010.

Uslu, U., Muhammad Sajid, S., Ceylan, O. ve Ejaz, A., "Prevalence of hard ticks (Acari: Ixodidae) in spur-thighed tortoise (*Testudo graeca iberica*) population of Konya", *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 35, 3, 158-164, 2019.

Vatansever, Z., Gargili, A., Aysul, N.S., Sengoz, G. ve Estrada-Peña, A., "Ticks biting humans in the urban area of Istanbul", *Parasitology Research*, 102, 551-553, 2008.

Vatansever, Z., "Keneler", Klimik, [Keneler ve CCHF \(klimik.org.tr\)](http://www.klimik.org.tr), Şubat 2012.

Ventura, I.M., Martins, A.B., Lyra, M.L., Andrade, C.A.C., Carvalho, K.A., Klaczko, L.B. "Spiroplasma in *Drosophila melanogaster* Populations: Prevalence, Male-Killing, Molecular Identification, and No Association with *Wolbachia*", *Microb. Ecol*, 64, 794-801, 2012.

Yılmaz, A.B., Deęer, S. ve Bulduk, B.," Van İli Erciş İlçesindeki Kara Kaplumbağalarında (*Testudo graeca*, Linnaeus, 1758) Kene Enfestasyonları", ***Veteriner Fakültesi Dergisi***, 24 (2), 69 –72, 2013.

Yılmaz, A. ve Hekimoglu, O.," Beytepe Kampüsü Ormanlık Alanının Kene (Acari: *Ixodida*) Faunası", ***Hacettepe Journal of Biology and Chemistry***, 45 (4), 465-473, 2017.



## ÖZ GEÇMİŞ

Fatma MUTLU ..... tarihinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Yunus Emre ilköğretim okulunda tamamladı. 2017 yılında girdiği Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü'nden 2021'de mezun oldu. 2021 yılından bu yana Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümünde Yüksek Lisans çalışmalarını sürdürmektedir.

