



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**İÇ ANADOLU BÖLGESİ' NİN KUZEYİNDEKİ BİR GEÇİŞ
HABİTATI HATTI BOYUNCA YAYILIM GÖSTEREN
DERMACENTOR MARGINATUS KENELERİNİN
POPÜLASYON GENETİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Anıl YILMAZ

**VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ömer ORKUN

ANKARA

2022

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İÇ ANADOLU BÖLGESİ' NİN KUZEYİNDEKİ BİR GEÇİŞ HABİTATI
HATTI BOYUNCA YAYILIM GÖSTEREN *DERMACENTOR MARGINATUS*
KENELERİNİN POPÜLASYON GENETİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Anıl YILMAZ

**VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ömer ORKUN

**Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından 121O615
numaralı proje ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeyindeki bir geçiş habitatı hattı boyunca yayılım gösteren *Dermacentor marginatus* kenelerinin popülasyon genetiğinin araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Anıl YILMAZ

Tarih: 24.10.2022

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Parazitoloji Anabilim Dalında

Anıl Yılmaz tarafından hazırlanan

“İç Anadolu Bölgesi’nin kuzeyindeki bir geçiş habitatı hattı boyunca yayılım gösteren *Dermacentor marginatus* kenelerinin popülasyon genetiğinin araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul/reddedilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:24.10.2022

İmza

Prof. Dr. Ayşe Serpil NALBANTOĞLU

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Dr. Öğretim Üyesi Nuriye Aycan GAZYAĞCI

Kırıkkale Üniversitesi

Raportör

İmza

Doç Dr. Ömer ORKUN

Ankara Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kenelerin Tarihçesi ve Sınıflandırma	1
1.2. Kenelerin Evrimi	3
1.3. Kenelerin Morfolojisi	5
1.4. Kenelerin Biyolojisi	7
1.5. Kene-Konak İlişkisi	8
1.6. Kene-Patojen İlişkisi	12
1.7. Kenelerin Vektörlüğü ve Patojen Mikroorganizmaların Nakil Mekanizmaları	18
1.7.1. Transstadial Nakil	21
1.7.2. Transovarial Nakil	22
1.7.3. Eş Beslenme Nakil	23
1.7.4. Venereal Nakil	25
1.8. <i>Dermacentor</i> Soyu	26
1.8.1. <i>Dermacentor marginatus</i> Tür Kompleksi	27
1.8.1.1. <i>Dermacentor marginatus</i>	29
1.8.1.1.1. Morfoloji	29
1.8.1.1.2. Biyolojisi	30
1.8.1.1.3. Yayılışı	31
1.8.1.1.4. Vektörlük	33

1.9. Kenelerin Genetik Yapısı ve Mitokondriyal DNA' sı	34
1.9.1. Kenelerde Mitokondriyal DNA	34
1.9.2. Kenelerde Sıklıkla Kullanılan Mitokondriyal DNA Gen Bölgeleri	36
1.9.2.1. Sitokrom Oksidaz Alt Ünive I (COI) Geni	36
1.9.2.2. 16S Ribozomal RNA (rRNA) Geni	37
1.10. Popülasyon Genetiği Kavramı	38
1.10.1. Etkili Popülasyon Büyüklüğü	38
1.10.2. Popülasyonda Gen Akışı-Darboğaz Etkisi	39
1.10.3. F İstatistiğine Dayalı Metotlar	40
1.10.4. Nötralite Testleri	42
1.11. Kenelerin Popülasyon Genetiği	42
1.11.1. <i>Dermacentor</i> Soyundaki Kenelerin Popülasyon Genetiği	44
2. GEREÇ VE YÖNTEM	46
2.1. Çalışma Alanı ve Kenelerin Toplanması	46
2.2. Kenelerin Morfolojik Analizleri ve Tür Tayini	49
2.3. Kenelerden Nükleik Asit Ekstraksiyonu ve PCR Analizleri	53
2.4. Sekans Analizi	53
2.5. Popülasyon Genetiği Analizleri	54
2.6. Örneklerin Genbank Veritabanına Kaydı	54
3. BULGULAR	58
3.1. Lokasyonlardan Kenelerin Toplanması	58
3.2. Morfolojik Analizler	59
3.2.1.1. Lokasyon (Süleler-Berçinçatak ana lokasyonu)	60
3.2.2.2. Lokasyon (Bardakçılar-Aydan ana lokasyonu)	60
3.2.3.3. Lokasyon (Eğerli Köyler ana lokasyonu)	61
3.2.4.4. Lokasyon (Yıldırım Köyler ana lokasyonu)	61
3.2.5.5. Lokasyon (Kırköy-Üçbaş ana lokasyonu)	62
3.2.6.6. Lokasyon (Doğmuşören ana lokasyonu)	63
3.2.7.7. Lokasyon (Uğurlu ana lokasyonu)	63
3.2.8.8. Lokasyon (Yeşilkent ana lokasyonu)	64

3.2.9.9. Lokasyon (Çavundur-Dağkalfat ana lokasyonu)	65
3.2.10.10. Lokasyon (Ovacık ana lokasyonu)	65
3.2.11.11. Lokasyon (Karadana ana lokasyonu)	66
3.2.12.12. Lokasyon (Elecik ana lokasyonu)	67
3.2.13.13. Lokasyon (HacıKöy-Dağdemir ana lokasyonu)	67
3.2.14.14. Lokasyon (Ahmetadil ana lokasyonu)	68
3.2.15.15. Lokasyon (Aktepe-Buğra ana lokasyonu)	69
3.3. Nükleotid Benzerliği (BLASTn) ve Popülasyon Genetiği Analizleri	70
3.3.1. Popülasyon Genetiği Analizleri	70
3.3.1.1. 1. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	70
3.3.1.2. 2. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	71
3.3.1.3. 3. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	72
3.3.1.4. 4. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	74
3.3.1.5. 5. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	75
3.3.1.6. 6. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	76
3.3.1.7. 7. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	77
3.3.1.8. 8. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	79
3.3.1.9. 9. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	80
3.3.1.10. 10. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	81
3.3.1.11. 11. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	83
3.3.1.12. 12. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	84
3.3.1.13. 13. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	85
3.3.1.14. 14. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	87
3.3.1.15. 15. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri	88
3.3.2. Haplotip Analizi	90
3.3.3. BLAST Analizi	94
3.3.4. Popülasyon Genetiği ve Filogenetik Network Analizleri	98
4. TARTIŞMA	109
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	118
ÖZET	121
SUMMARY	122
KAYNAKLAR	123



ÖNSÖZ

Ülkemizde ve Dünya’ da yayılım gösteren *Dermacentor marginatus* türü önemli vektör kenelerden biri olmakla birlikte ihmal edilmiş bir türdür. İnsanlarda ve hayvanlarda önemli patojenlerin naklinde rol *D. marginatus* ile filogenetik ve popülasyon genetiğine yönelik detaylı çalışmaların olmaması literatür de önemli bir eksiklik olarak ter almaktadır. Ayrıca içerisinde bulunduğu tür kompleksindeki diğer bireyler ile morfolojik olarak büyük benzerlikle taşınması yanlış identifikasyonlara neden olabilir. Bu nednele *D. marginatus*’ un hem detaylı morfolojik analizi aracılığıyla kompleks içinde yer alan diğer türler ile farklılıklarını tespit etmek, olası tür içi varyasyonları saptamak ve popülasyon genetiğine yönelik analizler ile farklı coğrafyalardaki bireyler ile olan genetik ilişkilerini ortaya çıkarmak, bu kenenin hem morfolojik hem de popülasyon yapısına ilişkin bilgileri elde etmek için son derece önem arz etmektedir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca hem laboratuvar hem de arazi çalışmaları sırasında bana bilgi ve deneyimlerini aktararak kenelere farklı bir açıdan bakmamı sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Ömer ORKUN’ a, bu süreçte hem bilimsel hem de manevi açıdan her zaman desteklerini hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşe ÇAKMAK, Prof. Dr. Serpil NALBANTOĞLU ve Araş. Gör. Dr. Nafiye KOÇ’ a, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencisi Mert ARSLANBAŞ ile lisans öğrencileri Barış ZENGİN, Canan ÇAKMAK ve Esra ÜNLÜCE’ ye teşekkürlerimi sunuyorum.

‘Eğitim ailede başlar’ sözünden yola çıkarak hayatımın her aşamasında karşılaştığım sorunlara karşı mücadele etmeyi öğreten, maddi ve manevi açıdan her zaman desteklerini hissettiğim sevgili aileme teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
AMOVA	Moleküler varyans analizi
ATP	Adenozin Trifosfat
bç	Baz çifti
BOLD	Barkod bölgesi olarak kullanılan gen
C	Sitozin
COI	Sitokrom c oksidaz alt ünite 1
cytb	Sitokrom b
DNA	Deonsiribo nükleik asit
Erişim nu.	Erişim numarası
F _{ST}	İkili genetik farklılık
G	Guanin
H	Haplotip sayısı
Hd	Haplotip çeşitliliği
ITS	Internal transcribed space
K	İkili nükleotid farklılığının ortalaması
kb	Kilobaz
mg	Milligram
µm	Mikrometre
mm	Milimetre
MÖ	Milattan önce
nad	Nikotinamid adenin dinükleotid

OspA	Dış yüzey protein A
OspB	Dış yüzey protein B
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pg	Pikogram
π	Nükleotid çeşitliliği
rDNA	Ribozomal deoksiribonükleik asit
rRNA	Ribozomal ribonükleik Asit
S	Ayrim alanı
SAT	Tükürük ile active edilen nakil
T	Timin
TROSPA	Dış yüzey protein A reseptörü
spp	Species
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik Asit

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Vektörün popülasyon yapısına bağlı olarak farklı yerel etkileşim türleri	12
Şekil 1.2.	Kene-konak-patojen etkileşimleri: çatışma ve uyum	14
Şekil 1.3.	Kene aşılarının hayvan popülasyonlarını immünize etmek, kene enfestasyonlarını ve kenedeki kene kaynaklı patojen prevelansını azaltmak için kullanımı (Duyarlı hayvanlara ve insanlara patojen bulaşma riskinde azalma)	15
Şekil 1.4.	<i>Ixodes scapularis</i> bağırşağında OspA' nın yukarı regülasyonu ve kene reseptörüne bağlanması	16
Şekil 1.5.	Mikroorganizmaların keneler tarafından alınması	17
Şekil 1.6.	Kenelerde eş beslenme ile patojen nakli (Nimften larvaya)	24
Şekil 1.7.	<i>Hyalomma excavatum</i> 'da çiftleşmenin bozulmasıyla erkek ağız parçasının ucuna spermataforun yapışması (3), çiftleşmeden 24 saat sonra receptaculum seminisin diseksiyonu ile endospermatafor (4)	25
Şekil 2.1.	Çalışma alanlarını ve ana lokasyon merkezlerini gösteren harita	48
Şekil 2.2.	İdiosoma, skutum ve Merkez festoon ölçümü	50
Şekil 2.3.	Palp eklemleri ve basis kapituli ölçümü	50
Şekil 2.4.	4. koksanın ölçümü	51
Şekil 2.5.	1. koksadaki internal ve eksternal spurların ölçümü	51
Şekil 2.6.	Spirakulum ölçümü	52
Şekil 3.1.	1. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki ince desen, B: Erkek bireydeki yoğun desen)	60
Şekil 3.2.	Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki hafif kalın desen çizgileri, B: Dişi bireyin vücut büyüklüğü)	61
Şekil 3.3.	Lokasyondaki kene spirakulum şeklindeki farklılık	61

Şekil 3.4.	4. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Dişi bireydeki eksternal ve internal spur arasındaki yarık, B: Erkek bireyin vücut büyüklüğü)	62
Şekil 3.5	5. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Dişi bireydeki spirakulum, B: Erkek bireydeki spirakulum)	63
Şekil 3.6.	6. Lokasyondaki dişi kenenin skutum şekli	63
Şekil 3.7.	7. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki sönük desen rengi, B: Dişi bireydeki sönük desen rengi ve skutum üzerindeki siyah bölge)	64
Şekil 3.8.	8. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki festoon anomalisi, B: Erkek bireydeki ince desen çizgileri, C: Dişi bireyin skutumu üzerindeki siyah bölge)	65
Şekil 3.9.	9. Lokasyondaki erkek kenenin ince desen çizgileri	65
Şekil 3.10.	10. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki kalın desen çizgileri, B: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge)	66
Şekil 3.11.	11. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge, B: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge)	66
Şekil 3.12.	12. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki ince desen çizgileri, B: Erkek bireyde festonlara doğru desen yapısı, C: Dişi bireyde sağ festonların üzerinde sarı renkteki bölge)	67
Şekil 3.13.	13. Lokasyondaki erkek kenenin ince desen çizgileri	68
Şekil 3.14.	14. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek kenenin ince desen çizgileri, B: Dişi kenenin skutum üzerindeki siyah bölge)	68
Şekil 3.15.	15. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek kenedeki desen çizgileri, B: Erkek kenedeki yoğun desen çizgileri, C: Dişi kenenin spirakulum şekli)	69
Şekil 3.16.	1. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	71
Şekil 3.17.	1. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	71

Şekil 3.18.	2. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	72
Şekil 3.19.	2. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	72
Şekil 3.20.	3. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	73
Şekil 3.21.	3. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	73
Şekil 3.22.	4. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	74
Şekil 3.23.	4. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	75
Şekil 3.24.	5. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	76
Şekil 3.25.	5. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	76
Şekil 3.26.	6. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	77
Şekil 3.27.	6. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	77
Şekil 3.28.	7. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	78
Şekil 3.29.	7. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	78
Şekil 3.30.	8. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	79
Şekil 3.31.	8. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	80
Şekil 3.32.	9. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	81
Şekil 3.33.	9. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	81
Şekil 3.34.	10. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	82
Şekil 3.35.	10. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	82
Şekil 3.36.	11. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	83

Şekil 3.37.	11. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	84
Şekil 3.38.	12. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	85
Şekil 3.39.	12. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	85
Şekil 3.40.	13. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	86
Şekil 3.41.	13. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	86
Şekil 3.42.	14. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	87
Şekil 3.43.	14. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	88
Şekil 3.44.	15. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı	89
Şekil 3.45.	15. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	89
Şekil 3.46.	Lokasyonların haplotip çeşitliliğine göre karşılaştırılması	90
Şekil 3.47.	Lokasyonların nükleotid çeşitliliğine göre karşılaştırılması	90
Şekil 3.48.	Ayırım bölgelerinin frekansının dağılımı	99
Şekil 3.49.	Sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı	100
Şekil 3.50.	Mevcut çalışmadaki sekansların bulunduğu haplotiplerin birbiriyle ilişkilerini gösteren haplotip ağı	101
Şekil 3.51.	Tez çalışması kapsamında elde edilen ve GenBank'a kayıtlı sekans verilerinin birlikte analizi sonucu ortaya çıkan haplotiplerin birbirleriyle ilişkileri gösteren haplotip ağı	103
Şekil 3.52.	Tez çalışması kapsamında elde edilen ve GenBank'a kayıtlı <i>D. marginatus</i> ve <i>D. niveus</i> sekans verilerinin birlikte analizi sonucu ortaya çıkan haplotiplerin birbirleriyle ilişkileri gösteren haplotip ağı	103

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1.	Lokasyonlara göre kenelerin dağılımı ve erişim numaraları	55
Çizelge 3.1.	Kenelerin lokasyonlara göre dağılımı, erişim numaraları ve gruplandıkları haplotipler	58
Çizelge 3.2.	1. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	70
Çizelge 3.3.	2. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	71
Çizelge 3.4.	3. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	73
Çizelge 3.5.	4. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	74
Çizelge 3.6.	5. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	75
Çizelge 3.7.	6. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	76
Çizelge 3.8.	7. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	78
Çizelge 3.9.	8. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	79
Çizelge 3.10.	9. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	80
Çizelge 3.11.	10. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	82
Çizelge 3.12.	11. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	83
Çizelge 3.13.	12. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	84
Çizelge 3.14.	13. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	86

Çizelge 3.15.	14. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	87
Çizelge 3.16.	15. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları	88
Çizelge 3.17.	Sekans verilerinin haplotiplere göre dağılımı	90
Çizelge 3.18.	Haplotiplerde bulunan kenelerin GenBank'taki <i>D. marginatus</i> 'lar ile nükleotid benzerlikleri	93
Çizelge 3.19.	Tüm popülasyonların bir arada değerlendirilmesi sonucu haplotip çeşitliliğinin sonuçları	98
Çizelge 3.20.	Genbank <i>D. marginatus</i> COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı	102
Çizelge 3.21.	Genbank <i>D. marginatus</i> ve <i>D. niveus</i> COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı	104
Çizelge 3.22.	COI gen bölgesine göre popülasyonlar arasındaki ve içindeki AMOVA varyasyon değerleri	106
Çizelge 3.23.	COI gen bölgesine göre <i>D. marginatus</i> popülasyonları arasındaki F_{ST} değerleri	108

1. GİRİŞ

1.1. Kenelerin Tarihçesi ve Sınıflandırma

Keneler ve kene kaynaklı hastalıklar, Homer'e atfedilen en eski referanslarla milattan önce [MÖ] yaklaşık 850, Ulysses'in köpeğindeki kenelerin oluşumundan bahsettiği) ve bir Mısır papirüs parşömeni (MÖ yaklaşık 1550) aracılığıyla antik çağlardan beri biliniyordu(de la Fuente, 2003). Kenelerin omurgalı konaklara zarar verdiği bilinmesine rağmen *Rhipicephalus (Boophylus) annulatus* kenelerinin Teksas ateşi patojeni *Babesia bigemina*'yı naklettiğinin keşfedilmesi ile birlikte 19. yüzyılın sonuna kadar sorunun büyüklüğü anlaşılamamıştı (Smith ve Killbourne, 1893). Bu keşifle birlikte kenelerin diğer artropod vektör gruplarından oldukça fazla sayıda çeşitli patojen mikroorganizmaları naklederek insanlar ve hayvanları etkileyen en önemli hastalık yapan vektörler arasında olduğu ve özelleşmiş bu ektoparazitlerin memeli, kuş, sürüngen ve amfibilerin kanlarını emerek kene felcine (toksikoz) ve alerjik reaksiyonlara da neden olduğu görülmüştür (Jongejan ve Uilenberg, 2004 ve Magnarelli, 2009).

Kenelerin hayat ağacındaki yerini, bu yerleşimin kesinliğini ve ataların taksonomik yerinin belirlenmesi ile ilgili olarak kene biyolojisinin anlaşılmasına yönelik çıkarımları tanımlamak oldukça ilgi çekicidir (Mans ve ark., 2016). Kenelerin sistematikteki yeri aşağıda olduğu gibidir (Barker ve Murrell, 2004; Estrada-Pena ve ark., 2010; Guglielmone ve ark., 2010; Guglielmone ve ark., 2014; Horak ve ark., 2002; Klompen ve ark., 2000; Oliver, 1989 ve Peñalver ve ark., 2017).

Kök: Arthropoda

Kök altı: Chelicerata

Sınıf: Arachnida

Sınıf altı: Acari

Takım: Parasitiformes

Takım altı: Ixodida

Üst aile: Ixodoidea

Aile: *Ixodidae*

Aile: *Argas*

Aile: *Nuttalliellidae*

Aile: *Deinocrotonidae*

Ixodida alttakımı üç aileyi (*Ixodidae*, *Argasidae*, *Nuttalliellidae*) kapsamaktadır. *Ixodidae*, Prostriaata içerisinde tek soy olan ve 244 tür bulunduran *Ixodes* soyu ile temsil edilmektedir. Metastriata ise 14 soya ait 459 tür bulundurmaktadır. *Ixodidae* ailesi içerisinde 707, *Argasidae* ailesi içerisinde ise 4 soya ait 190 tür bulunmaktadır. *Nuttalliellidae* ise monospesifik bir aile olmakla birlikte, sadece bir kene türü ile (*Nuttalliella namaqua*) temsil edilmektedir (Nicholson ve ark., 2019). Bununla birlikte son çalışmalar Birmanya kehribarı içerisinde yeni bir kene türünün varlığını ortaya koymuştur. *Deinocrotonidae* olarak adlandırılan bu yeni kene ailesi şu an için günümüzde sadece tek tür (*Deinocroton draculi*) ile temsil edilmektedir. Ancak bu kene türü ile ilgili herhangi bir genetik veri bulunmamaktadır (Peñalver ve ark., 2017). Söz konusu fosil kayıtlar olduğunda kenelere ait fosil kayıtları oldukça sınırlıdır. *Dermacentor reticulatus* ve *Ixodes sigelos* fosil olarak kaydedilmiştir. *Amblyomma*' soyundan *Amblyomma dissimile*' ye benzeyen kene larvaları Dominik Cumhuriyeti kehribarında bulunmuştur. Argasid kene *Ornithodoros antiquus* Dominik kehribarından gelmiştir. Kuzey Avrupa' da ki Baltık kehribarındaki *Ixodes succineus*, yeniden tanımlanarak *Ixodes* alt soyu olan *Partipalpiger*' e dahil edilmiştir. Argasid kene *Carios jerseyi* New Jersey kehribarında tespit edilmiştir. Son olarak *Cornupalpatum burmanicum*[†] ve *Compluriscutata vetulum*[†] Birmanya kehribarında tanımlanmıştır. Bu iki kene türü bugüne kadar ki en eski kayıtları(99

milyon yıl önce) temsil etmekle birlikte her ikisinin de soyu tükenmiştir(Chitimia ve ark., 2017; Keirans ve ark., 2002 ve Sanchez ve ark., 2010).

1.2. Kenelerin Evrimi

Moleküler belirteçlerin geleneksel teknikler ile birlikte geliştirilmesi ve kullanılması sonucu kenelerin kökeninin orta Kretase öncesi dönem (hem *Argasidae* hem de *Ixodidae*) olduğu ortaya çıkmıştır. Bu canlılar için ilkel konaklar ise muhtemelen amfibi ve sürüngenlerdi (Nava ve ark., 2009). Vücut büyüklüğü, spesifik ağız organelleri ve birinci tarsus üzerinde bulunan son derece özelleşmiş reseptör yapıları (Haller organı) ile akarlar arasında eşsiz olan bu canlılar önceleri *Ixodidae*, *Argasidae* ve *Nuttalliellidae* olmak üzere üç aileye ayrılmıştı. Yaklaşık 800 türü kapsayan bu aileler içerisinde sadece *Nuttalliellidae* monotipikti (Klompen ve ark, 1996 ve Sonenshine ve Roe, 2013). Ancak son 260 yılda dört binin üzerinde kene türünün isimlendirilmesine ve/veya tanımlanmasına rağmen bunların büyük bir kısmının geçersiz olduğu ve günümüzde dokuz yüzün üzerinde kene türünün olduğu belirtilmiştir (Dantas-Torres, 2018). Dahası, son yıllarda yapılan çalışmalar 99 milyon yıllık Kretase kehribarında soyu tükenmiş ve *Deinocrotonidae* olarak adlandırılan yeni bir kene ailesine ait bir türün varlığını ortaya koymuştur. Bu ailenin de *Nuttalliellidae* ailesi gibi monospesifik olduğu ve tüylü dinazorların kanıyla beslendiği düşünülmektedir (Peñalver ve ark, 2017).

Ixodidae, *Argasidae* ve *Nuttalliellidae* ailelerinin, geç Paleozoyik veya erken Mesozoyik'in sıcak, nemli ikliminde sürüngen parazitleri olarak Parasitiformes'in tek bir dalından evrimleştiği varsayılır (Hoogstraal, 1985). Ancak keneler temel olarak *Argasidae* ve *Ixodidae* olmak üzere iki ana hat boyunca evrimleşmişlerdir (Hoogstraal ve Aeschlimann, 1982). *Argasidae*' lerin büyük bir çoğunluğu geç Mesozoyik- erken Tersiyer de biyolojik görüntülerini korumuşlardır. Argasidlerin yaşam döngülerindeki önemli adaptasyonlar sadece birkaç *Ornithodoros* türünde ve *Otobinae*, *Antricolinae*

ile *Nothoaspinae* ait ailelerindeki birkaç türde görülmektedir. *Ixodidae* ailesinde ise Prostriata'nın bazı yapısal özellikleri Metastriata'dan farklılık göstermekle birlikte, bu grup içerisinde yer alan *Ixodes* türleri özelleşmiş bazı biyolojik karakterleri ile Tersiyer boyunca çoğalmışlardır. Metastriata içinde, *Amblyomminae* diğer alt ailelere kıyasla biyolojik ve yapısal özellikleri bakımından daha ilkel kalmıştır. *Haemaphysalinae* de bariz bir şekilde ilkel kalmıştır. Tersiyer boyunca çok sayıda *Haemaphysalis* türleri kuşlar ve memelilerle belirgin bir şekilde özelleşmiş bir yapı çizgisi boyunca birlikte evrimleşmişlerdir. *Hyalomminae*'nin de ilkel yapısal özellikleri kalmasına rağmen *Hyalomma* soyunun büyük çoğunluğu konak popülasyonunun azlığı ve zor çevresel koşullarda yaşamını sürdürebilmek için biyolojik olarak son derece özelleşmiştir. *Rhipicephalinae* ise tüm keneler arasında en yakın zamanda evrimleşmiştir. Üç Afrika *Margaropus* türlerinin biri dışında hem Asya *Anomalohimalaya* türleri ile hem de bazı Kuzey Amerika-Avrupa Dermacentor ve Avrupa *Rhipicephalus* türleri olmak üzere *Rhipicephalinae*'lerin tamamı tropikaldır (Hoogstraal ve Aeschlimann, 1982 ve Hoogstraal, 1985).

Kene aileleri arasındaki taksonomik ilişkilere ek olarak, kenelere en yakın akraba olan kardeş grubun keşfi kenelerin evrimi hakkında birçok şeyi ortaya çıkarır. Bu noktada iki rakip hipotez mevcuttur. Bu hipotezler sırasıyla Ixodida takımının kardeş grubunun Holothyrida veya Mesostigmata takımı olduğudur. Haller organının varlığı, gnathosomayı geri çekme yeteneği ile keneler ve holotirid akarlarında gnathosoma'nın tabanında benzer bir kas yapısının varlığı, Lehtinen'in kenelerin kardeş grubu Holothyrida olduğu hipotezinin temelini oluşturmaktaydı. Ancak kenelerin kardeş grubunun Holohyrida olduğu kesin olmamakla birlikte daha fazla kanıt ihtiyacı vardır (Barker ve Murrell, 2003 ve Barker ve Murrell, 2004).

1.3. Kenelerin Morfolojisi

Keneler vücut boyutları, lateral kısımların özelleşmiş yapısı (kıvrılmış dişler), keliserde lateral dişlerin varlığı, 1. tarsus üzerinde Haller organının varlığı ve kıvrımlı peritrem olmadan lateral stigmanın olmasıyla karakterize canlılardır (Van der Hammen, 1983). Genel olarak beslenmemiş kenelerin görüntüsü dorsalden incelendiğinde dar-oval, geniş-oval veya yuvarlak yapıda olmaktadır. Kapitulum, ağız organelleri, duyu yapıları ve basis kapituli içerir. Ağız organelleri palp, hipostom, keliser kılıfı ve keliserden oluşur. Bütün bu yapılar basis kapituli üzerinde yer alırlar. Hipostom ve keliserler beslenme için konağın derisinde bir delik oluştururlar. Ağız organelleri pozisyon açısından ya vücudun anterior kısmına doğru çıkar ya da tümüyle ventralde yer alır. Bunun yanı sıra ağız organelleri basis kapitulinden uzun veya kısa olabilir. Ağız organellerinin genişliği ise basis kapituline kıyasla uzun veya kısa olabilir. Ağız organellerinin bir parçası olan palpler hipostomun her iki tarafında yeralan segmentli yapılardır. Bu segmentli yapıların temel fonksiyonu, kenenin konak üzerinde beslenmesi için uygun alanı bulmasıdır. Palp segmentlerinin şekli ve uzunluğu kene türleri arasında farklılık gösterebilir (Walker ve ark., 2003).

Hipostom kene ile konak arasında tükürük salgısı ve kanın geçişinde görev alır. Bu yapı üzerinde bulunan geriye dönük dişler kenenin konağına tutunmasını sağlar. Bu diş yapıları genellikle 2+2, 3+3, 4+4 veya 5+5 şeklindedir. Ayrıca hipostom şekli anterior kısma doğru dar veya geniş olabilir. Keliser kılıfı içerisinde yer alan keliserlerin uç kısmında da konağın derisini kesmek için yapılar bulunur. Ayrıca keliser kılıfının üzerinde de çok sayıda küçük dişler mevcuttur. Ağız organellerinin altında yeralan basis kapituli tek parçalı bir yapıdır. Bu yapının dorsalinin lateral ve posterior kısmında cornua mevcuttur. Ancak bu yapı bazı türlerde olmayabilir. Buna ilaveten Ixodid kenelerinin dişlerinde basis kapituli üzerinde porose area olarak adlandırılan bir yapı da yer almaktadır. Ixodid kenelerinin dişlerinde vücudun dorsal-anterior yüzeyinde skutum olarak adlandırılan sert bir yapı vardır. Skutumun posterior sınırına doğru küçük oluklar dalgalı bir alan oluşturabilir. Skutumun posterior margini,

yuvarlak veya açısall olabileceği gibi skutumun genel yapısı da dalgalı veya düz olabilir. Skutumun boyu, enine kıyasla daha uzun veya daha kısa da olabilir. Dişı kenelerin posterior kısmı ise sklerize olmamıştır. Böylelikle kan emme periyodu sırasında büyük oranda genişleyebilir ki bu kısım alloskutum olarak adlandırılır. Erkek kenelerde ise skutum ile benzer yapıda olan konskutum bulunur. Konskutum, erkek bireylerin dorsal yüzeyinin büyük bir kısmını örtmektedir. Skutum, alloskutum ve konskutum üzerinde setalar yer alabilir. Setalar kalın veya ince olabileceği gibi yoğun veya seyrek de olabilir. Setaların yanı sıra skutum, konskutum ve diğer sklerize olmuş yapılar üzerinde noktalamalar da bulunabilir. Noktalamaların büyüklüğü türler arasında farklılık gösterebilir. Skutum veya konskutum üzerinde bulunan servikal oluklar, servikal alanları oluşturur. Bazı keneler skutum ve konskutum üzerinde pigment içerebilir. Pigmentlerin rengi beyaz ve sarı-kırmızı olabilir. Işığ reseptörü olarak modifiye edilmiş yapılar olan gözler, skutum ve konskutumun sınırında bulunabilir. Bazı *Argasidae* türlerinde ise ventralde bulunabilir. Bazı kene türlerinde ise gözler bulunmaz (Barker ve Walker, 2014).

Birçok dişı ve erkek Ixodid kenenin vücudunun posterior kısmında feston olarak adlandırılan katlanmış yapılar bulunur. Bu yapılar kan emmiş bireylerde kaybolmakla birlikte bazılarında da bulunmaz. Erkek bireylerde festonlar arasındaki oluklar geniş veya dar olabilir. Erkek bireylerde konskutumun her iki tarafında yer alan lateral oluklar festonları çevreleyebilir. Bazı bireylerde lateral oluklar bulunmayabilir. Bazı kenelerin bacaklarında renk görüntüsü olmadığı gibi segmentlerin distalinin sonuna doğru açık renkli halkalar olabilir. Ayrıca ilk iki bacak, diğer bacaklardan daha siyah renkte olabilir. Tarsusların uç kısmında bulunan tırnakları kavrayan pulvillum denilen yapılar *Ixodidae*'lerde bulunmalarına rağmen, *Argasidae*'lerde bulunmaz. Kenelerin ventral yüzeyinde bulunan genital aparat iki ile üçüncü koksa arasında veya dördüncü koksa hizasında olabilir. *Argasidae* kenelerin genital aparatı *Ixodidae* kenelerin genital aparatı ile benzerlik gösterir. Ancak *Argasidae* erkeklerinin genital aparatı, dişilere kıyasla daha küçüktür. *Ixodidae*' de ise hem erkek hem de dişı bireylerin genital aparatı birbirine benzer uzunluktadır. Anüsü çevreleyen anal oluk bazı türlerde belirgin olmayabilir. Ayrıca anal oluk anüsün

posterior veya anterior kısmında (*Ixodes*) bulunabilir. *Ixodes* dişilerinde anal oluk posterior kısmında ya açık ya da birleşmiş bir yapıda olabilir. Trakeler aracılığıyla solunumunu sağlayan kenelerde trakeler dışarıya spirakulum ile açılmaktadır. *Argasidae* 'lerde spirakulum basit bir açıklık olup üç ve dördüncü bacak arasındadır. *Ixodidae* 'lerde ise spirakulum geniş ve dördüncü bacağın arkasındadır. Ayrıca spirakulumun şekli virgül, daire, oval veya üçgensel olabilir (Estrada-Peña ve ark., 2004).

1.4. Kenelerin Biyolojisi

Kenelerin yaşam döngüsü dört gelişim aşamasını (yumurta ve üç aktif aşama) içerir. *Ixodidae* ve *Argasidae* keneleri arasındaki yaşam döngülerindeki farklılık, bu kenelerin yaşam döngüsü stratejilerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. *Nuttalliellidae* ailesi içerisinde yer alan *N. namaqua* 'nın yaşam döngüsü hakkında ise az bilgi vardır (Apanaskevich ve ark, 2013). Keneler yaşam döngüleri boyunca gelişimlerini tamamlamak için gereken konak sayısına bağlı olarak bir konaklı, iki konaklı ve üç konaklı keneler şeklinde sınıflandırılmaktadır (Walker ve ark., 2003).

Tek konaklı keneler, aynı konak üzerinde iki defa gömlek değiştirirler. Başka bir deyişle, doymuş larva, konak üzerinde gömlek değiştirerek önce aç nimfe; aynı konak üzerinde doymuş nimf ise tekrar gömlek değiştirerek aç erişkin olur (Jongejan ve Uilenberg, 2004). İki konaklı kenelerde ise doymuş larva konak üzerinde gömlek değiştirerek aç nimf haline gelir. Ancak nimf doyduktan sonra konaktan ayrılır ve doğal çevrede gömlek değiştirerek aç erişkin haline gelir. *Ixodid* kenelerin büyük bir çoğunluğu üç konaklı yaşam döngüsü ile karakterizedir. Larvalar beslendikten sonra konaktan düşer ve gömlek değiştirerek aç nimf halini alır. Aç nimf aynı veya farklı bir konağa tutunduktan sonra kan ile beslenmeye devam eder. Doymuş nimf tekrardan konaktan ayrılır ve gömlek değiştirerek aç erişkin haline gelir. Erişkinler konağını bulduktan sonra beslenme ve çiftleşme gerçekleşir. Dişi kene beslenme ve çiftleşme sonrası konaktan ayrılarak yumurtlar ve ölür. Prostria ve Metastriata arasındaki

kayda değer farklılık erişkin arasında görülmektedir. Metastriata erkeklerinin büyük bir çoğunluğu spermalarının gelişimi için konak kanına ihtiyaç duyar. Ayrıca Metastriata'ların çoğunda çiftleşme, erkek kene beslendikten sonra gerçekleşir. Prostria kenelerinin birçoğunda erkek bireyler kana ihtiyaç duymaz ve konak üzerinde veya dışında çiftleşme gerçekleşir. Bunun yanı sıra iklimsel değişimler, özellikle sıcaklık, kenelerin yaşam döngülerinde ne kadar konağı kullanacağını etkileyen ana faktördür. Örneğin, *Hyalomma dromedarii* yaz döneminde develer üzerinde iki veya üç konaklı bir yaşam döngüsü ile gelişebilir. Ancak sıcaklık düştüğünde bir konaklı gelişim de gösterebilir (Apanaskevich ve ark., 2013 ve Perveen ve ark., 2020).

Argasidlerin gelişim aşamaları, yumurta, altı bacaklı larva, sekiz bacaklı birkaç kez gömlek değiştiren nimfler ve erişkinden oluşur. Nimf aşamasında birçok kez gömlek değiştirme özelliği, akarlar arasında Argasidlerde de mevcuttur. Konak kanı hem erişkin öncesi aşamaların gelişimi hem de üreme için gereklidir. Larvaların beslenmesi birkaç gün sürerken, nimf ve erişkinler için bu süre birkaç saat olabilir. Argasidlerin yaşam döngüsü boyunca konak üzerinde bulunduğu süre kısadır. Ayrıca dişiler her beslenme sezonu sonrasında küçük bir miktar yumurtayı yumurta kanalında depo ederek tekrar beslenebilir. Argasidlerin çoğu yuvaya bağımlı kenelerdir. Çiftleşme genellikle habitatta konak dışında gerçekleşir. Çünkü yuva habitatı sadece bir konak veya aynı türe ait birkaç konak tarafından kullanılır. Birçok Argasid yaşam döngüleri boyunca aynı konak veya türler üzerinden beslenir. Argasidlerin konak aralığı kaplumbağa, sürüngen, kuş ve memeli gibi karasal omurgalılar olabildiği gibi bazı Argasid türleri amfibiler üzerinden de beslenebilir (Klompen ve ark., 1996).

1.5. Kene-Konak İlişkisi

Kene-konak ilişkilerinin karmaşıklığını değerlendirmek için, etkileşimin düzeyleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Keneler ve konakları arasındaki bireysel

etkileşimler, kene ve konağa bağlı fenomenlerle yönetilebilir. Konak tercihleri, oportünizm (fırsatçılık) veya her ikisinin kombinasyonu kene bağımlıyken; konağın yaşam alanı, habitat kullanımı, sosyal davranış ve vücut büyüklüğü konak bağımlı fenomenlerdir (Fourie ve Kok, 1992). Bununla birlikte ağız parçaları ve koksalarındaki çeşitli yapısal değişikliklerin, belirli konaklara özelleşme ile ilgili olduğunu ileri sürülmüştür. Araştırmacılar, bu karakterlerde farklı aşamalarda görülen değişikliklerin çeşitli konak türleriyle ilişkili olduğuna ve konak adaptasyonunun kene evriminde önemli bir rol oynadığı sonucuna vardılar. Ayrıca bu adaptasyonun konak özgüllüğüne ve sonucunda kene ile konak arasında paralel evrime yol açtığı varsayılmıştır (Klompen ve ark., 1996).

Tüm sert kenelerin (*Ixodidae*) yaşam döngüsü yumurta ve aktif aşamayı (larva, tek nimf ve ergin) içermektedir. Dişi keneler konaklarından ayrıldıktan sonra yeniden konaklarına tutunarak beslenmeye devam etmelerine rağmen, yaşam döngüsü boyunca her aktif aşama da sadece bir kez beslenirler. Örneğin, *Ixodes ricinus* dişileri başka bir konağa yeniden tutunur ve beş gün sonunda kan emmeyi sonlandırarak 50 miligram (mg) ağırlığa ulaşır. Ixodid kenelerin büyük bir çoğunluğu üç konaklı yaşam döngüsüne sahiptir. Bu durumda beslenme sonrası konaktan ayrılan larva gömlek değiştirerek aç nimf haline gelir. Konak arayan aç nimfler aynı veya farklı konağa tutunarak beslenirler. Doymuş nimfler konaktan ayrılır ve gömlek değiştirme sonucu aç ergin haline gelirler. Erişkin kenelerin konaklarını bulmasından sonra, dişi kene hem beslenme hem de çiftleşme fonksiyonlarını yerine getirir, daha sonra konaktan ayrılır ve yumurtladıktan sonra ölür. Erkekler ise çiftleştikten sonra ölürler. Bir konaklı yaşam döngüsü daha az yaygın bir yaşam döngüsü türüdür, ancak *Rhipicephalus* soyunun tüm *Boophilus* altsoyunda ve diğer bazı soylarda görülmektedir. Konak dışında açılan yumurtalardan çıkan larvalar konağa tutunduktan sonra beslenmeye başlar. Beslenme sonucunda tutunduğu konak üzerinde gömlek değiştirerek aç nimf haline gelir. Aç nimfler aynı konak üzerinden beslendikten sonra yeniden gömlek değiştirerek aç erişkinler oluşur. Erişkin keneler de aynı konak üzerinde beslenmeye devam ederken çiftleşme (*Ixodes* soyunda konak dışı olabilir) için pozisyonlarını değiştirirler. Tek konaklı kenelerin yaşam döngüsü genellikle hızlıdır. İki konaklı yaşam döngüsü ise benzer olmakla birlikte larva ve nimfin aynı konak üzerinde

beslenmesi ve erişkin kenenin başka bir konak üzerinde beslenmesinden dolayı farklılık gösterir. Yumuşak kenelerin (*Argasidae*) yaşam döngüsü ise sert kenelere nazaran daha farklılık göstermektedir. Tüm Argasidler aynı yaşam döngüsüne (yumurta, larva, nimf ve ergin) sahiptir. Ancak yumuşak kenelerde birden fazla nimfal evre bulunmaktadır. Birçok türde bu sayı sabit değildir. Örneğin, *Ornithodoros lahorensis* kenesinde üç nimfal evre görülmektedir. Nimfal evrelerin sayısı iki ile sekiz arasındadır (Kleinerman ve Baneth, 2017; Sonenshine ve Roe, 2013 ve Walker ve ark., 2003).

Kene-kaynaklı hastalıklar alanındaki bilgi, moleküler biyoloji, genetik, istatistiksel modelleme ve çevresel değerlendirme tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde hızla artmıştır. Bu gelişmeler, fiziksel çevre, keneler, kene-kaynaklı patojenler ve omurgalı konaklar arasındaki karmaşık ilişkilerin daha derin bir şekilde anlaşılmasını sağlamıştır (Piesman ve Eisen, 2008). Patojenler, patojeni nakleden keneler (vektör) ve patojen-nakledilen omurgalı konaklar(rezervuar konak) ekolojik sistemin üç bileşenidir. Bu bileşenler arasındaki ilişkiler çeşitli abiyotik ve biyotik faktörlere bağlıdır (Kahl ve ark., 2002).

Kene-konak etkileşimi dinamiklerindeki kritik bir bileşen, konaktan ayrılan kenenin yeni bir konak bulma yeteneğidir. Her ne kadar bazı keneler, konak işaretlerine yanıt verebilir ve kısa mesafelerde konaklarına doğru hareket edebilseler de kuruma, avlanma ve daha hareketli konağını bulma belirsizliği riski ile karşı karşıyadır. Bunun yerine, birçok kene uygun mikro iklimlerde konağını bekleme stratejisini benimser (Kerr ve Bull, 2006). Keneler, vejetasyonda konaklarını beklerken kuraklığa karşı oldukça hassastırlar. Çünkü lokomotif aktivite sırasında kutikula ve spirakulum vasıtasıyla su kaybederler. Genellikle sıvı içeriğini geri kazanabilmek için periyodik olarak bitki örtüsü tabanındaki nemli koşullara geri dönerler. Lokomotor aktivite kene yağ depolarını, yani bir sonraki beslenmeye kadar yenilenemeyen enerji kaynağı, kullanır. Daha büyük yüzey/hacim oranı ve yüksek ağırlığa özgü metabolik hız, su stresine duyarlı larva ve nimf aşamasındaki keneler

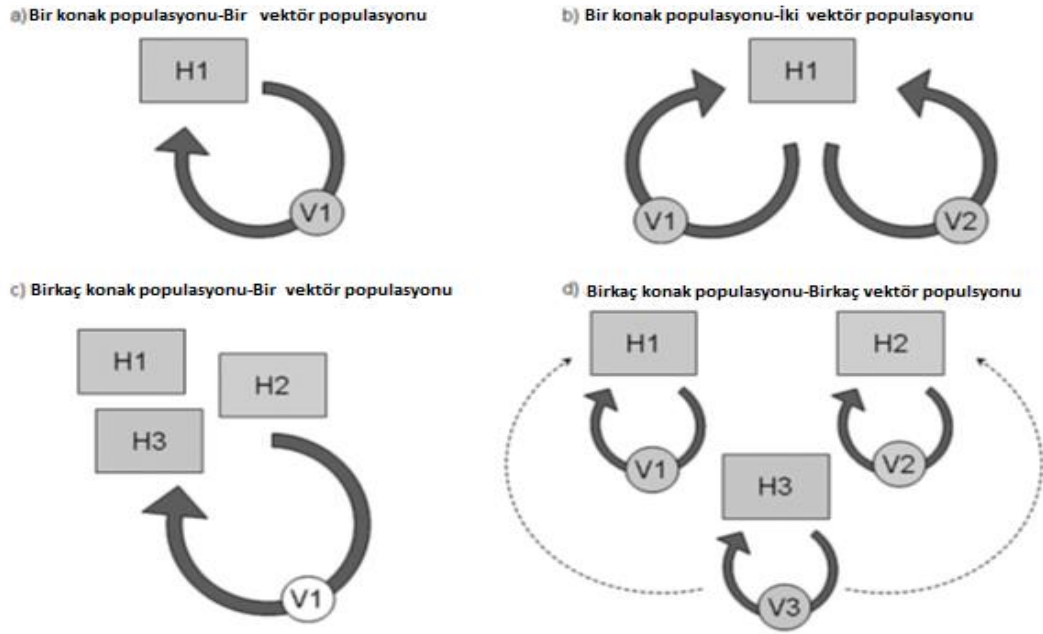
için büyük bir problem haline gelmektedir. Bu kısıtlama, her aŗamanın vejetasyon içerisinde farklı seviyelerde konaklar aramasının nedeni olarak görülmektedir. Böylelikle yere en yakın larvalar kemirgenlerden geyiklere kadar her büyüklükte konak ile temas kurabilir. Nimfler, biraz daha yüksek kısımda yer alarak küçük konakların çoğunu kaçırır. Eriŗkin keneler ise genellikle büyük konaklar ile sınırlıdır. Dolayısıyla konağın vücut büyüklüğü ne kadar küçük olursa, kenenin sonraki geleiŗim aŗamasındaki oranı daha d ŗ k olur. Örneğin, kemirgenlerden kan emen kenelerin nimf sayısı larva sayısından azdır (Randolph ve Storey, 1999).

Birçok konak keneye karŗı etkin bir baėıŗıklık oluŗursa da kene-konak iliŗkileri keneye karŗı yetersiz veya olmayan baėıŗıklık ile karakterizedir (Ribeiro, 1989). Kene beslenirken, konakçı hem fiziksel hem de kimyasal bir saldırıya maruz kalır. Bu durumda konak savunması   yönden kısıktılır. Bunlar, hemostaz (kan pıhtılaŗması, trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyon), yangı ve baėıŗıklıktır (doğal veya kazanılmıŗ). Keneler tükürük salgılarında bulunan çok eŗitli biyoaktif proteinleri, peptidleri ve peptid olmayan molekülleri salgılayarak karŗı saldırıya geçer. Bu moleküllerin antihemostatik, antiinflamatuvar veya antiimm n özellikleri vardır (Nuttall ve ark., 2000).

Enfekte sığırlar üzerinde bulunan ve beslenme aŗamasındaki kenelerin bolluğ , belirgin şekilde kene popülasyonundaki enfeksiyon seviyesini kontrol eder. Ayrıca kenelerin enfeksiyonu konak popülasyonundaki keneye karŗı geliŗen direnç seviyesi ile kontrol edilebilir. Son derece dirençli konak popülasyonlarında kene enfestasyonu, kenelere karŗı oldukça hassas olan popülasyonlara göre daha az olur. Bu durum iki yolla gerekleŗebilir. Bunlar hem kene beslenme baŗarısını hem de kan emme miktarını azaltarak sağlanır. Yüksek oranda direnç geliŗen sığırlarda tamamen beslenen larva ve nimfler çok az sayıda enfekte eritrositi alır (Norval ve ark., 1992).

1.6. Kene-Patojen İlişkisi

Hastalıkların dinamiklerini tahmin etmek istiyorsak, vektör aracılığıyla nakle bağlı biyolojik çeşitlilik ve bu türlerin popülasyon dinamiği gibi temel faktörleri anlamamız gerekmektedir (Şekil 1.1) (Jones ve ark., 2008 ve McCoy, 2008).



Şekil 1.1. Vektörün popülasyon yapısına bağlı olarak farklı yerel etkileşim türleri (McCoy, 2008).

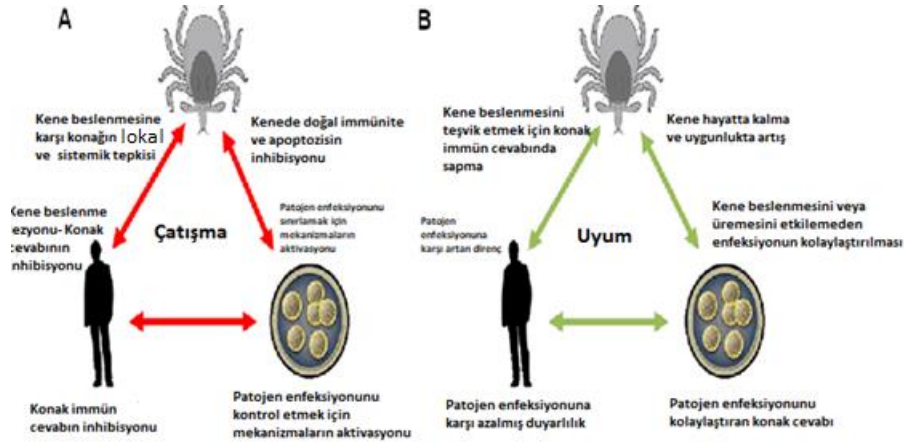
Şekil 1.1’de görüldüğü gibi farklı vektör türleri değişik vektör yeteneği gösterebilir. Bunlar;

1. Bir mikroorganizmanın, bir konak ile bir vektör arasında döngüsünün gerçekleştiği en basit senaryodur. Bu durumda mikroorganizma hem vektör hem de omurgalı konaktan verimli bir şekilde yararlanmak için adaptasyon sağlayabilir.
2. Vektör popülasyon yapısını gösteren ve her iki popülasyonun da aynı konaktan yararlandığı senaryodur. Bu durumda mikroorganizma her iki vektör

popülasyonunda da yayılım gösterir. Ancak vektör seçimi bağımsız olarak gerçekleşir (İraksak seçim ile iki mikroorganizma popülasyonunun evrimi)

3. Yerel olarak birkaç konak türünün mevcut olduğu ve hepsinin vektör tarafından eşit olarak kullanıldığı senaryodur. Bu durumda mikroorganizma evrimi, farklı konaklar tarafından uygulanan seçim baskısına bağlı olacaktır.
4. Her omurgalı konak türünün bir vektör popülasyonu tarafından kullanıldığı ve yerel olarak bağımsız veya yarı bağımlı hastalık döngülerinin olduğu senaryodur. Bu etkileşimlerin sonucu, farklı vektör popülasyonlarının özgülüğüne (noktalı çizgi) ve mikroorganizma naklinden sonra farklı konaklardan yararlanma yeteneğine bağlı olacaktır (McCoy, 2008).

Kene-patojen etkileşiminde patojen mikroorganizma kene hücreleri veya ekstraselüler boşluklarda (bağırsak, hemasöl ve tükürük bezi) çoğalarak vektörü ile etkileşime girer. Belirli bir kene türünün vektör olarak hareket etme yeteneği, patojenin kene içerisinde hayatta kalmasına ve patojenin başlangıçta kan ile alınması sonucu bulunduğu ince bağırsak ortamı (bağırsak-enfeksiyon bariyeri ve tükürük bezi-enfeksiyon bariyeri) gibi birkaç engelin üstesinden gelmesine bağlıdır (Nuttall ve Labuda, 2004). Patojenler, çoğalmalarını ve aktarılmalarını kolaylaştırmak için konak ve kenedeki biyolojik süreçleri manipüle ederken, keneler ise kan emme sürecini tamamlamak için konağın hemostatik, immün ve inflamatuvar yanıtlarını inhibe eder. Konaklar ise patojen enfeksiyonunu sınırlamak ve kene enfestasyonuna karşı savaşmak için farklı mekanizmaları aktive ederek kene enfestasyonu ve/veya patojen enfeksiyonuna tepki verir. Bu yüzden genel olarak kabul edilen görüş, kene enfestasyonu ve patojen enfeksiyonunun kene, konak ve patojen arasındaki çatışmaya bağlı olarak hem kene hem de konak üzerinde zararlı etkiler oluşturduğudur (Şekil 1.2) (de la Fuente ve ark., 2016).

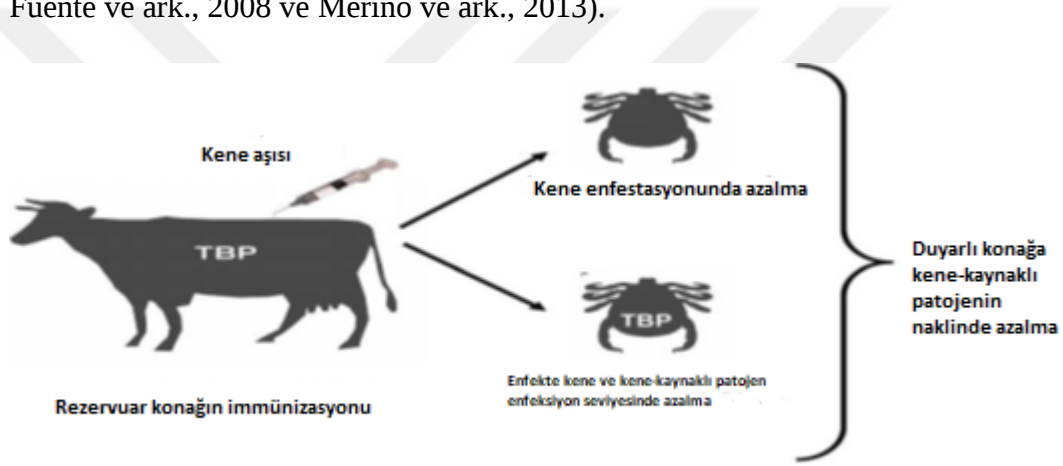


Şekil 1.2. Kene-konak-patojen etkileşimleri: çatışma ve uyum (de la Fuente ve ark., 2016).

Şekil 1.2-A'da görüldüğü gibi konak, kene enfestasyonuna karşı hem lokal hem de sistematik tepki gösterirken kene ise konağın immün cevabını inhibe etmektedir. Bunun yanı sıra patojen organizma enfeksiyonu kolaylaştırmak, çoğalma ve nakil için apoptozis ile doğuştan gelen immün yanıt gibi kenedeki biyolojik süreçleri manipüle ederken; kene ise patojen enfeksiyonunu sınırlandırmak için farklı mekanizmaları aktive ederek tepki gösterir. Aynı zamanda konak da patojeni kontrol altına alabilmek için farklı mekanizmaları aktive ederek patojene tepki gösterirken; patojen de enfeksiyonun başlaması için konak immün yanıtını inhibe eder. Şekil 1.2-B'de ise kenenin kan emmesini sağlamak için konak immün yanıtındaki sapma, kenenin konaktan yararlanmasını sağlarken; konak ise patojen enfeksiyonuna karşı artan direnç vasıtasıyla kene enfestasyonundan yararlanabilir. Keneler, düşük ve yüksek sıcaklıklarda artan hayatta kalma durumu ile patojen enfeksiyonlarından yararlanırken, patojenler ise kenenin beslenmesini ve üremesini etkilemeden enfeksiyonu kolaylaştırmak için kenedeki biyolojik süreçleri manipüle ederler. Patojenler, enfeksiyonu kolaylaştırmak için konak cevabından yararlanırken, konak ise diğer ölümcül patojenler ile etkileşime girerek enfeksiyona karşı duyarlılığı azaltır (de la Fuente ve ark., 2016).

Kene aşılı da kene-patojen etkileşimi üzerinde etkili olabilir. Kene aşılarının nihai amacı vektör enfestasyonunun kontrolü ve patojen iletimindeki azalma ile kene-

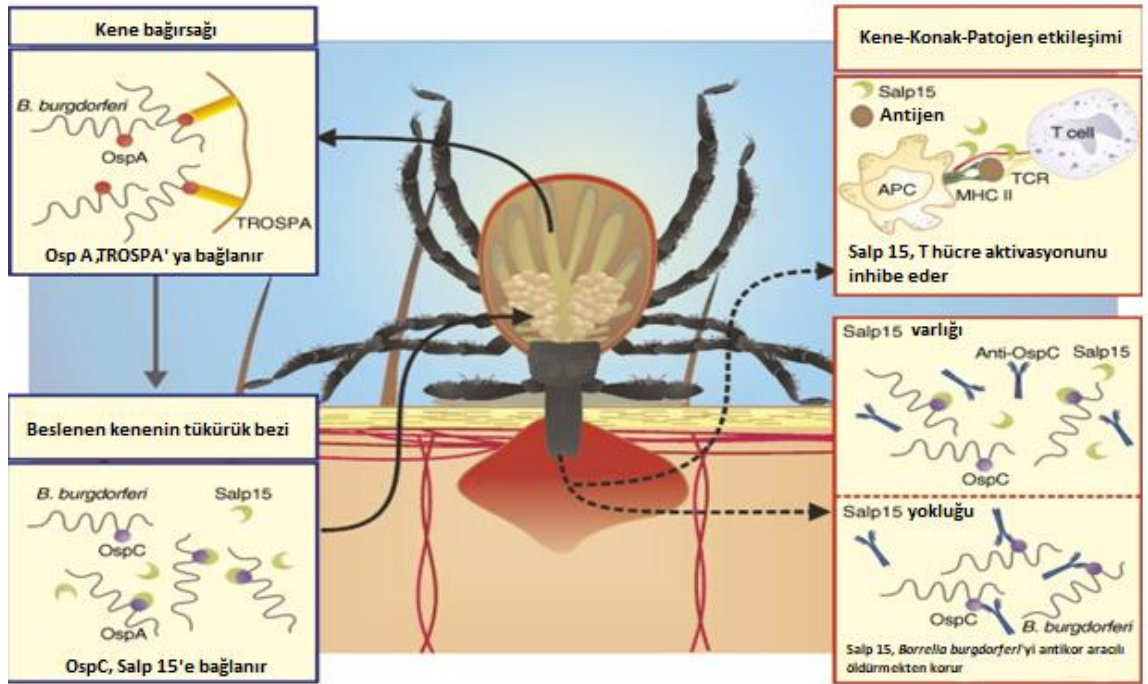
kaynaklı hastalıklara karşı korumaktır. Kene aşılarındaki aday antijenler kenenin vektör kapasitesinde azalmaya neden olur. Üç proteinin kene vektör kapasitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Şekil 1.3). Bunlar; *Ixodes scapularis*'in *Borrelia burgdorferi* ile kolonizasyonunda gerekli olan dış yüzey protein A (OspA)'nın kenedeki reseptörü, *Rhipicephalus sanguineus* sement protein (P64) ve kene koruyucu antijen subolesindir. Aşı formülasyonunda bu üç antijenin kullanılması *B. burgdorferi*, kene kökenli ensefalit virüsü ve *Anaplasma phagocytophilum*/*Anaplasma marginale* için kenelerdeki vektör kapasitesinin azalmasıyla sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar kene kaynaklı patojenlerin nakli ve kene enfestasyonlarının kontrolü için patojen ve kene türevli proteinleri hedefleyerek aşı geliştirilmesinin uygunluğunu göstermiştir (de la Fuente ve ark., 2008 ve Merino ve ark., 2013).



Şekil 1.3. Kene aşılarının hayvan popülasyonlarını immünize etmek, kene enfestasyonlarını ve kenedeki kene kaynaklı patojen prevalansını azaltmak için kullanımı (Duyarlı hayvanlara ve insanlara patojen bulaşma riskinde azalma) (de la Fuente ve ark., 2008).

Borrelia burgdorferi, hem artropod vektörü hem de rezervuar konağında hayatta kalmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir ve çevreye bağlı olarak belirli genleri farklı şekilde ifade etmektedir. Bu gen ürünlerinin bazıları kene proteinleri ile doğrudan etkileşime girerler. Enfekte *Ixodes* keneler doyduklarında *B. burgdorferi*'nin antijenik yapısı büyük ölçüde değişir. Doymuş *I. scapularis* nimflerinde lipoprotein ve periplazmik proteinleri de kapsayan *B. burgdorferi* genleri yukarı regülasyona uğrar. *I. scapularis*'in bağırsağında bulunan spiroketler OspA'yı sentezler (Şekil 1.4), ancak kenenin beslenmesi sırasında aşağı regüle olur. OspA ve OspB (Dış yüzey protein B) proteininin eksik olduğu *B. burgdorferi* mutanı, fareleri enfekte ederek artrite neden

olmasına rağmen kene bağırsağında kolonize olamamıştır. Bu durum kesinlikle spiroketin vektör içerisinde varlığını sürdürmesinde OspA ve/veya OspB' nin önemli bir rolü olduğunu gösterir. Aslında OspA için kenede dış yüzey protein A reseptörü (TROSPA) olarak adlandırılan bir reseptör tanımlanmıştır. TROSPA, larva ve nimflerin bağırsaklarında oldukça ifade edilen bir reseptör olmasına rağmen ergin kene bağırsağında ise daha az ifade edilmiştir. Enfektif kenelerdeki TROSPA ifadesi, enfekte olmayan kenelere göre yüksektir. Spiroketin kene içerisinde yüksek düzeyde TROSPA üretimini tetiklemesi avantajlı bir durum olabilir. Böylelikle uzun beslenme aralıkları boyunca kene bağırsağında varlığını sürdürebilir. Ayrıca OspB' nin yetersiz olduğu *B. burgdorferi* mutantının kene bağırsağına tutunma yeteneğinin bozulduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla OspA, OspB ve TROSPA' nın sinerjik bir etkileşimi vardır (Hovius ve ark., 2007).

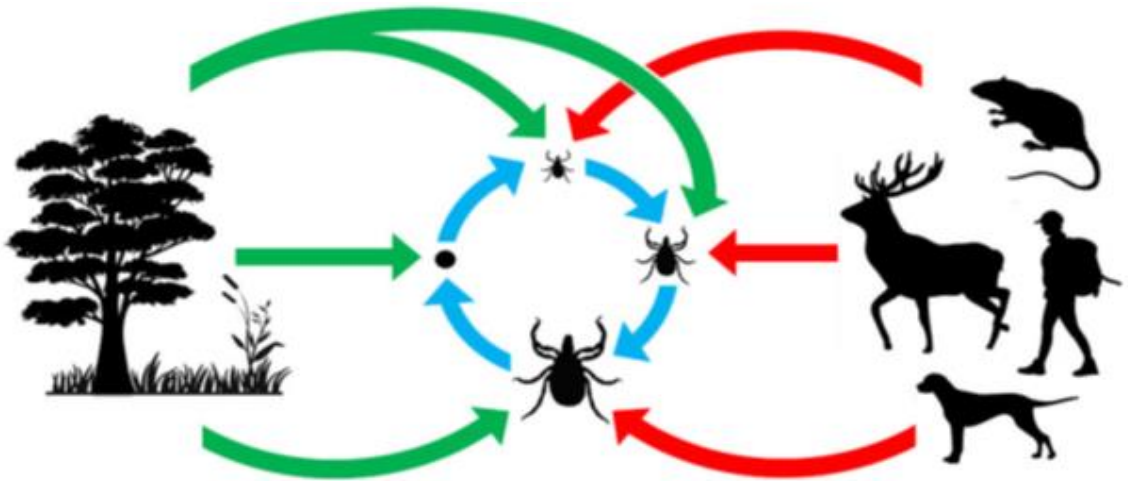


Şekil 1.4. *Ixodes scapularis* bağırsağında OspA'nın yukarı regülasyonu ve kene reseptörüne bağlanması (Hovius ve ark., 2007).

Konak-patojen etkileşiminde, bir konaktan diğerine patojen sayısında veya virülansındaki varyasyon, konaklar arasında canlılık ve doğurganlık bakımından farklılıklara neden olur. Sonuç olarak, patojenle temastan kaçınabilen veya

enfeksiyona karşı daha iyi direnç gösterebilen konaklar daha uzun yaşarlar ve duyarlı olanlardan daha fazla yavru bırakırlar (Wade, 2007).

Birçok mikroorganizma kenelerde kolonize olur ve bunların çoğunluğu patojenik olmayan endosimbiontlardır. Endosimbiont topluluğunun kene fizyolojisi, hayatta kalma ve daha da önemlisi patojen alınması ile naklinde önemli rolü vardır. Dolayısıyla kene mikrobiyomunu tanımlamak ve kene ile simbiyotik bakterileri arasındaki etkileşimleri anlamak, kene kaynaklı hastalıkları kontrol etmek için yeni anlayışlar ortaya koyacaktır (Gall ve ark., 2016; Narasimhan ve Fikrig, 2015 ve Zhang ve ark., 2014). Kene içerisinde yaşayan mikroorganizmalar sadece taksonomi açısından değil, aynı zamanda ekolojik olarak da farklılık gösterir. Bu çeşitlilik, mikroorganizmaların kene popülasyonlarını enfekte etmek ve varlığını sürdürmek için kullandığı stratejidir (Şekil 1.5). Kayalık dağlar orman kenesinde (*Dermacentor andersoni*) transovarial olarak nakledilen bir simbiyontun (*Rickettsia peacockii*) benekli humma etkeni *Rickettsia rickettsii*'nin çoğalmasını ve transovarial naklini engellediği bildirilmiştir (Bonnet ve ark., 2017). Benzer şekilde, *Dermacentor variabilis* yumurtalarının *Rickettsia montana* ve *Rickettsia rhipicephali* ile ko-enfeksiyona karşı dirençli olduğu gösterilmiştir (Macaluso ve ark., 2002).



Şekil 1.5. Mikroorganizmaların keneler tarafından alınması (Kırmızı oklar: kenenin kan emmesi ile omurgalı patojenleri alması; mavi oklar: transovarial ve transstadial nakil ile mikroorganizmaların nakli; yeşil oklar: çevreden alınan mikroorganizmalar) (Bonnet ve ark., 2017).

1.7. Kenelerin Vektörlüğü ve Patojen Mikroorganizmaların Nakil Mekanizmaları

Vektör-patojen etkileşimi için birincil yer kene bağırsığıdır. Bu nedenle, patojen nakli kan ile beslenme ve sindirim fizyolojisi ile bağlantılıdır. Kan, vitellogenesis ve yumurta üretimi gibi anabolik işlemler için zengin bir protein kaynağıdır. Eritrositlerden salınan hemoglobin birincil besleyici bileşendir. Kan ile beslenen diğer artropodlardan farklı olarak keneler, bağırsak içeriğinin pH 6,3-6,5 altındaki değerlerde hemoglobin ve diğer proteinleri hücre içinde sindirirler (Horn ve ark., 2009).

Kenenin konağa tutunması ve kan emme bölgesinin seçilmesinin ardından ayrıntılı beslenme işlemi başlar. Kanın serbest kalması için kan damarlarına zarar verilmesi gerekir. Keneler, direkt olarak damardan ziyade ağız parçası etrafında oluşan havuzdan kan ve diğer eksüdatları emer. Yavaş ve hızlı beslenen kenelerinin, konakta farklı seviyelerde hasara neden olan farklı ağız organelleri vardır. Ixodid kenelerde (yavaş beslenenler), lezyon, hematoma oluşumu ile birlikte aşamalı bir şekilde gelişir. Beslenme lezyonundaki ana hasarın, yangı ve degranülasyonun olduğu bölgeye göç eden nötrofillerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Argasid keneler ise hızlı bir şekilde beslenmekle birlikte (30 dakika ile birkaç saat arasında), larva ve nimfler genellikle her gelişim aşamasında bir kez beslenirler. Bununla birlikte, bazen, beslenmenin kesilmesi veya az miktarda kan emilmesi durumunda nimfler iki kez beslenir. Erişkin keneler birkaç kez beslenir ve her beslenme sonrası dişi kenelerde yumurta, erkek kenelerde ise sperm üretilir (Binnington ve Kemp, 1980; Mans ve Neitz, 2004; Oliver, 1989 ve Ribeiro, 1987).

Kene, kelimelerini kullanarak derinin keratin tabakasını keser ve hipostomunu epidermisten içeri sokar. Birçok Ixodid türü hipostom etrafında polimerize olan, keneyi deriye sabitleyen ve kene tükürüğü ile konak sıvılarının sızmasını önleyen çimento gibi bir madde salgılar (Nuttall ve ark., 2000). Pıhtılaşma, vazokonstriksiyon

ve trombosit agregasyonu içeren hemostaz, kene ağız parçalarının konak derisine girmesinin ardından oluşan mekanik yaralanmaya karşı konakta görülen ilk savunma mekanizmasıdır. Kenenin uzun süre boyunca konağa tutunması hem hematofajiye adapte olması hem de vücut büyüklüğündeki artış için gereklidir. Ancak, bu durum beslenme bölgesine farklı lökosit popülasyonlarının infiltrasyonu da dahil olmak üzere konağa bağlı çeşitli yangı reaksiyonlarının gelişimi için yeterli süre sağlamaktadır. Dolayısıyla uzun süreli bağlanma ve beslenme büyük oranda, beslenme bölgesindeki yangı, hemostatik reaksiyonlar ve konak bağışıklığına karşı kene tükürük salgısının sahip olduğu özelliklerle mümkündür. Kan ile beslenmeye bir adaptasyon olarak keneler, tükürük salgılarında konakta ağrı, kaşınma ve kenenin beslendiği ortamdaki kan akışını bozan hatta keneye doğrudan zarar vererek konaktan ayrılmasına ve ölümüne neden olan konak immün cevabını (doğuştan gelen ve adaptif immün cevap) baskılayabilen immünomodilatör kompleks bir karışıma sahiptir. Böylelikle kesintisiz bir şekilde kan ile beslenme sağlanır. Örneğin *I. scapularis*, yaralanma ve enfeksiyon bölgelerine hücre göçünde önemli olan hem lökosit hem de endotel hücre moleküllerini baskılamak için tükürük adaptasyonlarını geliştirmiştir. *I. ricinus*, *Ixodes hexagonus* ve *Ixodes uriae*'nin tükürük bezi ekstraktlarının her biri doğal konakların serumlarında alternatif yol aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca tükürük salgısında bulunan ve kenenin beslenmesini sağlayan faktörlerin konakta patojen varlığını sürdürmesinde etkili olduğuna dair kanıtlar da vardır (Bowman ve ark., 1997; Kotal ve ark., 2015; Lawrie ve ark., 1999; Ribeiro, 1987 ve Wikel, 2013). Lektinler hem bakteri hem de virusların yanı sıra muhtemelen tüm ökaryotlarda bulunan moleküllerdir. Omurgasızlardaki lektinler hücre adezyonu, opsonizasyon, fagositoz ve sitolizde görev almaktadır. Ancak bu moleküller vektörler tarafından patojenlerin naklinde de rol oynayabilirler. Yapılan çalışmalar dört kene türünün hemolenfinde lektin molekülünün varlığını ortaya koymuştur (*I. ricinus*, *Ornithodoros tartakovskyi*, *Ornithodoros tholozani* ve *Argas polonicus*). Bunların içinde *I. ricinus* hemositleri *B. burgdorferi* spiroketlerini kıvrılma yolu ile fagosite eder ve bu mekanizmanın lektin tabanlı bir yol olduğu düşünülmektedir (Grubhoffer ve Jindrak, 1998).

Kene tükürük bileşenlerinin konak üzerindeki etkileri vasıtasıyla kene-kaynaklı patojenleri nakletmeleri, tükürük ile aktive edilen nakil (SAT) olarak

adlandırılır. Bu terim ilk kez *Rhipicephalus appendiculatus* tükürük bezi ekstraktı ile Thogoto virusun naklini tanımlamak için kullanılmıştır ve daha sonra birçok kene-kaynaklı patojen için de gösterilmiştir. Tükürük ile aktive edilen nakil, dolaylı olarak, aynı konakta enfekte ve enfekte olmayan kenelerin birlikte beslenmesi arasında sistemik olmayan nakli sağlar (Nuttall ve Labuda, 2004).

Kenelerin beslenme dönemleri arasının aylarca sürebilme ihtimaline karşı kendilerini enfekte eden patojenler, bu süre içerisinde dormansi halde kalır ve bir sonraki beslenme döneminde uyarılana kadar büyük ölçüde enfekte değildir (Katavolos ve ark., 1998). Bu patojenlerin bir konağa nakledilmeden önce yeniden aktifleşme ve/veya replikasyonu gerekir. Bu yüzden kene tükürük salgısının yanı sıra kenenin konak üzerinde tutunma süresi de patojen nakli ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada, *B. burgdorferi* sensu stricto spiroketleri ile enfekte rodentlerin, kene tutunma süresine bağlı olarak (24 saatten 72 saate kadar) arttığı tespit edilmiştir (Piesman ve ark., 1987). Benzer bir çalışmada, İnsan Granülositik *Ehrlichiae* ajanı (NTN-1 alttürü) ile enfekte keneler farklı sürelerde konaktan uzaklaştırıldığında tutunma süresindeki artışa bağlı olarak *Ehrlichiae* ile enfekte konak sayısında artış gözlenmiştir (Katavolos ve ark., 1998). Yine, kayalık dağlar benekli humması etkeni *R. rickettsi* ile enfekte erkek *Amblyomma aureolatum* aç erişkinlerin kobaylar üzerinde farklı süreler boyunca tutunmuştur. Çalışma sonucunda 10 saatin üzerinde kenenin konağa tutunmasının *R. rickettsii*'nin başarılı bir şekilde nakledildiği gözlenmiştir (Saraiva ve ark., 2014). Başka bir çalışmada ise *Borrelia afzeli* ve *Borrelia garinii* ile enfekte 1962 *Ixodes persulcatus*'ta beslenme periyodunun erken evresinde tükürük bezlerinde spiroket bulunduran kenelerin oranında veya spiroket konsantrasyonunda artış olmamıştır. Bu durum erken evrede kene bağırsağından tükürük bezlerine *Borrelia* göçünün, tükürük ile patojen nakli için bir ön koşul veya önemli olmadığını göstermiştir (Moskvitina ve Korenberg, 1995).

1.7.1. Transstadial Nakil

Omurgalı hayvanlardaki patojenlerin, omurgasız vektörlerde nesiller boyunca nakledilmesi, enfeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisinde oldukça karmaşık bir problem oluşturmaktadır. Sadece tek konaklı vektör ile nakledilen patojenlerin (*Rhipicephalus annulatus-Babesia bigemina*) hayatta kalması vektördeki kalıtsal geçişe bağlıdır. Bunun mantıklı bir gereklilik olduğu gösterilebilir. Aksi halde, doğal toplumlarda bu tür naklin hastalığın korunmasındaki epidemiyolojik rolü daha az belirgindir. Bu durum nicel bir problemdir ve çözümü, doğada meydana gelen farklı nakil türlerinin dikkate alınmasına bağlıdır (Fine, 1975).

Transstadial nakil veya transstadial enfeksiyon, sadece geçişi değil aynı zamanda bir gelişim aşamasından diğerine patojenin gelişimini tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Patojenin gelişimi veya çoğalması enfektivitenin gerekli bir öncüsüdür. Tüm kan emen artropodlar konak kanı ile viral patojenleri almalarına rağmen, sadece belirli türler, bir patojeni başka bir duyarlı hayvana nakledebilir. Bir arthropodun biyolojik vektör olabilme yeteneği genetik olarak belirlenir ve bağırsak bariyeri (epitel hücrelerinin virüs çoğalmasını destekleyememesi), virüs-vektör özgülüğünden sorumlu olabilir. Çünkü artropodların peritropik makriksi (bağırsak içerisindeki besinleri çevreleyen membranöz kese) omurgalıların bağırsak mukozasına benzemektedir. Bu yapı patojenlerin, bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakterilere ve aşındırıcı gıda parçacıklarının bağırsak epiteline zarar vermesini önlemek için koruma sağlar. Bir patojenin spesifik artropod vektörü içinde hayatta kalması çeşitli içsel ve dışsal faktörlere bağlıdır. Örneğin, sivrisinek veya kenelerin enfekte olabilmesi için belirli konsantrasyonda mikroorganizma gerekmektedir. Bu durum bir patojenin beslenme kanalına girdikten sonra yeterli konsantrasyonda olmadığından üstesinden gelemeyeceği fiziksel ve kimyasal engeller ile karşı karşıya olduğunu göstermektedir. Bu engeller sindirim enzimleri aracılığıyla virüs inaktivasyonu, bağırsak hücre zarı geçirgenliğindeki değişiklikler, bağırsak hücreleri üzerindeki sınırlı sayıda spesifik patojen reseptör

bölgesi ve yüzey tipi bir savunma mekanizması olabilir (Burgdorfer ve Varma, 1967; Naraisman ve ark., 2014 ve Rudzinska ve ark., 1982). Transstadial nakil patojenin kenede bir gelişim aşamasından diğerine nakledilmesi olarak tanımlansa da patojen mikroorganizma kene gelişimi boyunca varlığını sürdürür. Bu durum ‘transstadial hayatta kalma’ (transstadial survival) olarak da tanımlanır (Madder ve Horak, 2013 ve Zaher ve ark., 1977).

1.7.2. Transovarial Nakil

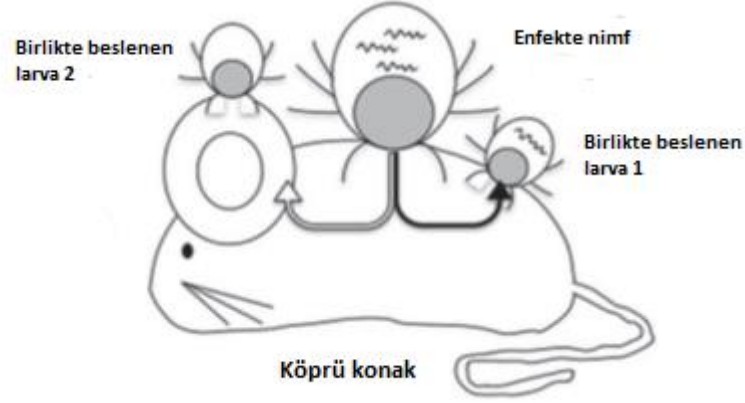
Enfeksiyöz ajanın kalıtsal olarak nakli tartışmalarında kullanılan terimlerin çoğu, geçişten sorumlu spesifik biyolojik mekanizmaların tanımlayıcısıdır, örneğin, transplasental, transmammal, transovum ve transovarialdır. Tüm bu nakil türleri için ortak payda, onları epidemiyolojik bir açıdan ele aldığımızda belirgindir. Bu durum 1940’larda Gross ve diğerleri tarafından kabul edilmiş ve tüm bu olasılıkları kapsayacak şekilde ‘vertikal’ nakil kavramının oluşturulmasına yol açmıştır (Anderson ve May, 1981). Bu yazarları takiben, vertikal nakil, patojenin bir ana organizmadan onun yavrusuna aktarılması olarak tanımlanabilir (Fine, 1975). Transovarial nakil iki spesifik enfeksiyon oranı ile de tanımlanabilir; (i) transovarial enfeksiyon oranı, mikroorganizmaları yavrularına nakleden dişilerin yüzdesini, (ii) yavru enfeksiyon oranı, enfekte dişiden elde edilen enfekte yavru yüzdesini ifade eder (Socolovschi ve ark., 2009).

Vertikal veya transovarial nakil, bazı kene kaynaklı patojenler için önemli bir nakil yoludur. Enfekte bir konaktan beslenen çiftleşmiş ixodid dişi kene, yumurtalarını bırakmak için konaktan ayrılır. Dişi kenenin bağırsağında bulunan patojenler kenenin üreme organlarını (çoğunlukla yumurtalıklar) enfekte edebilir ve çoğalabilir. Bu şekilde, patojen bir sonraki kuşağa aktarılır. Bu nakil yolu ile enfekte bir dişi, her biri bir enfeksiyon kaynağı olarak hizmet edebilecek yüzlerce hatta binlerce enfekte larva üretebilir (Orkun, 2019).

1.7.2. Eş Beslenme ile Nakil

Eski zamanlarda omurgalı konak ile kene kaynaklı patojen naklinin, omurgalı konak içerisinde sistemik bir enfeksiyonun gelişimine bağlı olduğu düşünülmüştür. Birçok patojen, hayatta kalmak için kan ile beslenen artropodlara güvenir. Enfekte olmamış artropod vektör enfekte olmuş bir omurgalı konaktan beslendiğinde, patojen kan ile alınır. Sistemik enfeksiyon seviyesi yükseldikçe(viremi, bakteriyemi, parazitemi) kan ile beslenen artropod vektörün enfekte olma olasılığı artar veya buna bağlı olarak omurgalı konağın bir enjektör aracılığıyla enfeksiyonuna dayalı çalışmalar gerçekleşir. Keneler ile birlikte doğal nakil koşullarını taklit eden çok sayıda çalışma sistemik enfeksiyon ile naklin değişmezliğine meydan okumakla birlikte alternatif olarak sistemik olmayan bir yolun varlığını ortaya koymaktadır (Randolph ve ark., 1996).

Eş beslenme ile nakil, çok sayıda vektör-kaynaklı patojen için bildirilmiş bir nakil mekanizmasıdır (Voordouw, 2015). Bu nakil mekanizması ilk defa Thogoto virüsün viremi görülmeyen kobaylar arasında enfekte olmuş keneden enfekte olmamış keneye nakli ile gösterilmiştir. Eş beslenme nakilde, omurgalı konakta sistemik enfeksiyonun yokluğunda enfekte kene ile enfekte olmayan kenenin birlikte beslenmesi sonucu meydana gelir (Şekil 1.6) (Jones ve Nuttall, 1989 ve Randolph ve ark., 1996). Eş beslenme ile nakil, genellikle, deride geçici ve lokalize bir enfeksiyona bağlıdır. Vektör kaynaklı patojen, vücuda girdiği bölgeden yayılarak konak organizmada sistemik enfeksiyon oluşturan nakil mekanizmasından (sistemik nakil) farklılık gösterir. Bu nakilde konak organizma patojen değişimini kolaylaştırmak için enfekte ve enfekte olmamış keneleri aynı zamanda ve bölgede bir araya getiren geçici bir köprü görevi görür. Eş beslenme ile naklin aksine sistemik nakilde ise vektörler konak enfekte olduktan haftalar, hatta aylar, sonra patojeni alır. Kenelerin eş beslenme ile enfekte olması kene kaynaklı viral patojenlerin yanı sıra Lyme hastalığı etkeni *B. burgdorferi sensu lato*'da gösterilmiştir (Gern ve Rais, 1996; Ogden ve ark., 1997 ve Voordouw, 2015).



Şekil 1.6. Kenelerde eş beslenme ile patojen nakli (Nimften larvaya) (Voordouw, 2015).

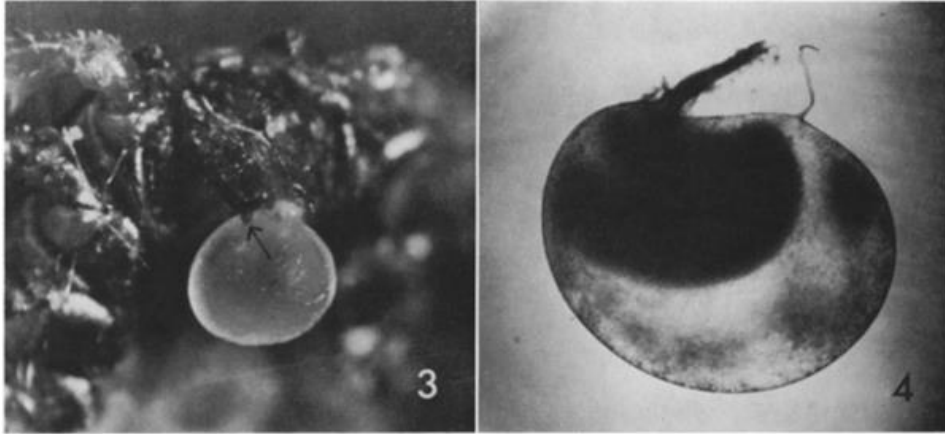
Canlılar, patojen mikroorganizmalar tarafından enfeksiyon tehdidine karşı çok yönlü bir bağışıklık sistemi geliştirmelerine rağmen, bakteri, protozoon ve fungal patojenler konakları tarafından yok edilmeyi önlemek için aynı derecede sistemler geliştirerek yanıt vermişlerdir (Deitsch ve ark., 2009). Konak immün sistemden kaçınılması, uzun süre sistemik enfeksiyon oluşturan vektör kaynaklı patojenler için öneme sahiptir. Birçok vektör kaynaklı patojen antijenik değişim vasıtasıyla konağın immün cevabından kaçınabilir. Patojenin artropod vektöründe daha uzun süre bulunurken, buna karşılık omurgalı konağında daha az süre bulunması, konağının immün sisteminden kaçınma mekanizmalarından biri olabilir. Bu durumda eş beslenme mekanizması potansiyel olarak bağışıklık sisteminden kaçınma stratejisi olabilir. Çünkü bu mekanizma patojenin, omurgalı konağında bulunduğu süreyi en aza indirir (Brunham ve ark., 1993 ve Jacquet ve ark., 2016).

Eş beslenme ile naklin başarılı bir şekilde gerçekleşebilmesi için larva ve nimf kenelerin aynı konak üzerinde aynı zamanda beslenmesi gerekmektedir. Bu yüzden eş beslenme ile nakil iki gerekli ekolojik koşula sahiptir. Bunlar, larva ve nimflerin konak arama aktivitesindeki senkronizasyon ve aynı konakta birlikte bulunmalarıdır. Kuzey Amerika ve Avrupa arasındaki iklim farklılıkları eş beslenme ile nakil için önemli sonuçları olan farklı kene aktivite modelleri oluşturur. Kuzey Amerika’da *I. scapularis*’in larva ve nimfleri, yılın farklı zamanlarında (sırasıyla yaz başı ve yaz sonu) konak arama davranışı sergilerler. Avrupa’da ise *I. ricinus*’un larva ve nimfleri

ilkbahardan sonbahara aynı zamanda aktiftir. Bu yüzden spiroketlerin eş beslenme ile nakledilme potansiyeli muhtemelen Kuzey Amerika'ya kıyasla Avrupa'da daha fazladır (Voordouw, 2015).

1.7.3. Venereal Nakil

Ixodid kenelerin çiftleşmesi konakları üzerinde gerçekleşmektedir. Ancak *Ixodes* türleri konağın üzerinde veya dışında çiftleşirler ve spermatidlerin oluşumu nimf veya erişkin aşamanın başlangıcında olur. Erişkin keneler çiftleşmede genellikle, konağa tutunmuş halde bulunurlar. Dişi birey beslenmeyi çiftleşmeden sonra tamamlar. Eğer dişi birey çiftleşmezse tam olarak büyüyemez ve birkaç hafta boyunca konakta kalır. Argasid kenelerde ise çiftleşme her zaman konak dışında gerçekleşir. Çiftleşme sırasında spermatafor (Şekil 1.7) dişi kenenin genital kanalına iletilir (Feldman-Muhsam ve Borut, 1971 ve Oliver ve ark., 1974).



Şekil 1.7. *Hyalomma excavatum*'da çiftleşmenin bozulmasıyla erkek ağız parçasının ucuna spermataforun yapışması (3), çiftleşmeden 24 saat sonra receptaculum seminisin diseksiyonu ile endospermatafor (4) (Feldman-Muhsam ve Borut, 1971).

Venereal nakil enfekte erkek kenelerin çiftleşme sırasında enfekte olmayan dişi keneye patojeni aktarmasıdır. Venereal nakil erkek kene tarafından üretilen spermataforun dişi kenenin genital açıklığına nakledilmesi sırasında gerçekleşir.

Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsünün venereal nakli bazı vektör kene türlerinde gösterilmiştir (Madder ve ark., 2013).

Keneden-keneye nakil düşünülürken, transovarial ve venereal nakil (erkekten dişiye) *Ornithodoros porcinus* popülasyonlarında Afrika domuz ateşi virüsünün korunmasına katkıda bulunan en önemli mekanizmalardır. Venereal nakil oranı %10'dan %90'a kadar değişebilir. İlginç bir şekilde, enfekte olmayan dişi kenelerin enfekte erkekler ile çiftleşmesi sonrasında dişinin yumurtlaması sonucu meydana gelen ilk yumurta kütleindeki yavrular enfekte değildir. Ancak bu dişilerin %15'i ikinci yumurta kütlelerinde enfekte olmuş yavrular üretmiştir. Bunun yanı sıra dişiden erkeğe venereal nakil ile ilgili bildirim de mevcuttur. Ancak, bu nadir bir olaydır ve patojenin kene popülasyonunda varlığı korumasını önemli ölçüde etkilemediğini düşündürmektedir (Endris ve Hess, 1994 ve Kleiboeker ve Scoles, 2001). Başka bir çalışma ise *Borrelia crocidurae* ile enfekte *Ornithodoros erraticus* erkek birey dişiye çiftleşme sırasında spiroketleri nakletmiştir. Erkek bireyin birçok dişi ile çiftleşmesi *B. crocidurae* popülasyonunun varlığını sürdürmesine katkı sağlamaktadır (Gaber ve ark., 1982).

1.8. *Dermacentor* Soyü

Keneler içerisinde önemli vektörleri bulunduran ve tür çeşitliğine sahip olan *Ixodidae* ailesi içerisindeki *Dermacentor* soyunun üyeleri, özellikle Amerika, Asya ve Avrupa'daki insan ve hayvan sağlığı açısından hayli önem arz etmektedirler (Estrada-Peña ve ark., 2004). Bu soyda dünya çapında şimdiye kadar 36 tür tanımlanmış olup bu sayının taksonomik olarak muamma olan bazı türlerin detaylı analizleri neticesinde daha da artacağı tahmin edilmektedir (Wang ve ark., 2019). *Dermacentor* soyundaki kenelerin morfolojisine baktığımızda; skutumları ve konskutumları nakışlı bir görünüme sahiptir. Belirgin gözler mevcut olup (*D. nitens*' de gözler belirgin değildir) festonlar erkek bireylerde bulunur ve 11 tanedir. Kapitulum dört köşeli ve eni boyundan uzundur. Hipostomun median çizgisinin her iki tarafında üçer sıra diş

bulunur. Palpler kısa ve geniş olup birinci eklem ikinci birleşmiş durumdadır. Koksaların büyüklüğü birinciden dördüncüye kadar artmaktadır. Dördüncü koksa çok geniştir. Erkek ve dişinin birinci koksaları ortasından yarıktır. Bacaklar incedir ve açık renkli halkalar bulunmamaktadır ancak pulvillumlar daima mevcuttur. Stigmalar yuvarlağa yakın veya virgül şeklindedir. Erkeklerde ventral plak bulunmamaktadır. Anal oluk anüsün arkasındadır (*D. nitens* 'de anal oluk belirgin değildir). Aç kenelerin büyüklüğü genelde 4-5 mm arasındadır (*D. nitens* 3 mm)(Arthur, 1960; Walker ve ark., 2003 ve Estrada-Peña ve ark., 2004).

1.8.1. *Dermacentor marginatus* Tür Kompleksi

Açığa kavuşturulmayı bekleyen ve göreceli olarak hakkında daha az genetik veriye sahip olduğumuz soylardan biri de *Dermacentor* soyudur (Kloch ve ark., 2018 ve Paulaukas ve ark., 2018). Dünya çapında şu ana kadar tanımlanmış 36 tür ile temsil edilen *Dermacentor* soyundaki keneler, morfolojik özellikleri, yaşam döngüsü, sezon aktiviteleri, konak çeşitliliği ile ekolojik bakımından benzerlik gösterirler ve özellikle bazı yakından ilişkili türlerin morfolojik identifikasyonunda zorluklar veya yanlışlıklar söz konusu olabilir (Wang ve ark., 2019). Estrada-Peña ve Estrada-Peña (1991), Palearktik fauna bölgesinin belirgin bir kenesi olan *D. marginatus* 'u toplanan 941 örnek üzerinden morfolojik olarak yeniden tanımlanmıştır. *Dermacentor* türlerinin özellikle palp, dorsal spur, kornua boyutu, spiraküler plaka, skutal kalıp ve dişi genital açıklık düzeyinde çok yüksek intraspesifik morfolojik varyasyon sergilediğini ve *D. niveus* ile *D. daghestanicus* ' un, *D. marginatus* ' un sinonimleri olduğu sonucuna varmıştır. Halen birçok bilinmezlik içeren *Serdjukovia* altsoyu içerisinde birbirine yakın ilişkili çeşitli türler (*D. raskemensis*, *D. niveus*, *D. ushakovae*, *D. pomerantzevi*, *D. marginatus*, *D. silvarum* ve *D. nuttalli*) yer almakta (Filippova, 1977), bu türlerden özellikle morfolojik olarak çok benzer bazılarının taksonomik geçerliliği halen tartışılmakta olup geçmişteki identifikasyonlarda yaygın bir şekilde hatalar olabileceği belirtilmektedir (Guglielmone ve ark., 2014).

Dermacentor marginatus, *D. nuttalli*, *D. silvarum* *D. ushakovae* ve *D. niveus* türleri *D. marginatus* kompleksini oluşturmaktadır (Filippova ve Plaksina, 2005). Bunun yanında çok yeni olarak en son bulunuşundan uzunca bir aradan sonra varlığı aktif bir popülasyondan yeniden keşfedilen bir *Dermacentor* olan *D. raskemensis*' in Türkiye'den toplanan örneklerinin barkodlanması ve detaylı filogenetik analizleri göstermiştir ki bu türün *D. marginatus* ile monofiletik bir türleşmeye sahip olabileceği ve bu kompleksin içinde yer aldığı ortaya konmuştur (Orkun ve Vatansever, 2021). Bazı morfolojik özellikler erişkin olmayan *Dermacentor* kenelerinin identifikasyonu için yararlı olsa da *D. marginatus* kompleksinin morfolojik tür tanımlamaları bazı türlerde hayli zor olmakta ve kolaylıkla karıştırmalara sebep verebilmektedir. Bu yüzden bu gruptaki kenelerin güçlü bir genetik karakterizasyonuna ve popülasyonlarının yapısını ortaya koymaya ihtiyaç vardır. Aksi halde özellikle kene taksonomisinde dolayısıyla ilgili türlerin coğrafik dağılımlarında ve vektörlüklerindeki bilgilerde ciddi yanlışlıklar içten bile değildir. Bunlardan, Barker ve Murrell (2004), *D. ushakovae*' yi *D. marginatus*' tan ayrı bir tür olarak listelemiştir. Guglielmone ve ark. (2009), türlerin karşılaştırma durumu netleşinceye kadar *D. ushakovae*' yi geçici olarak kabul etmiştir ve yine Guglielmone ve ark. (2014)' deki kitapta her ne kadar yazarlar arasında farklı görüşler olsa da *D. ushakovae* geçerli bir tür olarak yer almıştır. Estrada-Pena ve Estrada-Pena (1991), yapılan morfolojik analizler neticesinde *D. niveus* ve *D. daghestanicus*' un *D. marginatus*' un sinonimi olduğunu iddia etmişlerdir. Ancak Guglielmone ve ark. (2014), aksi ortaya konan kadar *D. niveus*' u geçerli bir tür olarak listelemiş ve *D. daghestanicus*' un bu türün sinonimi olarak belirtmişlerdir. Moshaverinia ve ark. (2009), *D. marginatus* ve *D. niveus* türleri arasında ciddi problemlerin olduğunu ve bu türlerin aralıklarla sinonim olarak kullanıldıklarını belirtmiş ve Internal Transcribed Space (ITS) bölgesinin sekans analizi sonucu *D. marginatus* ile *D. niveus* arasında %99 oranında sekans homolojisi tespit edildiğini ve bunların konsipesifik olduğunu iddia etmişlerdir. Ayrıca *D. marginatus*' un ITS-2 bölgesinin nükleotid sekansı GenBank'a kayıtlı diğer *D. marginatus* ITS-2 sekansı ile karşılaştırıldığında %98 sekans homoloji olduğu da belirtilmiş. Bogdanov ve ark. (2017), da *D. marginatus*, *D. niveus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli* ve *D. reticulatus*' un sitokrom c oksidaz (COI) gen bölgesinin filogenisinde *D. marginatus* kompleksin üç belirgin kümeye ayrıldıklarını ve ilk kümede *D.*

marginatus, ikinci kümede *D. niveus*, üçüncü kümede ise *D. nuttalli* ve *D. silvarum* olduğunu belirtmişlerdir. Ancak Jizhou ve ark. (2014)'nın yapmış olduğu bir çalışma ise COI ve 16S rDNA sekans analizine göre *D. marginatus* ile *D. nuttalli* türlerinin birlikte kümelendiğini göstermişlerdir. Ancak yukarı da bahsedildiği üzere *D. raskemensis*'in genetik verisi (COI ve 16S rDNA) ilk defa ortaya konup *Dermacentor* filogenisine dahil edildiğinde bu türün her iki gen seviyesinde de *D. marginatus* ile aynı koldan dallandığı (monofiletik) ve *D. nuttalli* ve *D. silvarum* keneleri ile kompleksin ana kladesi içerisinde ayrı bir dallanma yaptığı ortaya konmuştur (Orkun ve Vatansever, 2021). *Dermacentor* türlerinin mitokondrial genom analizleri ve farklılıkları göz önüne alındığında; Zhang ve ark. (2019), bir *D. marginatus* örneğinin mitokondriyon genomunu dizilemiş ve diğer Metastriata keneleri ile aynı düzene sahip olduğunu, ancak rrnS ve tRNA-Val arasındaki kodlanmamış bölgenin diğer *Dermacentor* türlerinden kısa olduğunu bildirmiştir. Guo ve ark. (2016), ise *D. silvarum* ile *D. nitens*' in mitokondriyal genom sekanslarını karşılaştırdıklarında *D. silvarum* genomunun 106 kb daha uzun olduğunu ve hem nükleotid (%15.46-35.14) hem de aminoasit (%6.05-48.98) açısından dizi farklılığının mevcut olduğunu göstermişlerdir. Kartashov ve ark. (2020), *D. reticulatus*' un mitokondriyal genom analizini yapmış ve genomunun *D. marginatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli* ve *D. everestianus* ile benzerliğini sırasıyla; %85,1, %84,8, %85,4, %85,7 olduğu tespit etmiştir. Son olarak, Chen ve ark. (2020), yeni nesil sekans analizi kullanarak *D. marginatus*, *D. nuttalli* ve *D. silvarum* mitokondriyon genomları karşılaştırdıklarında yüksek sekans benzerliğe sahip olduklarını (%95) ve gen dizilimlerinin aynı tipte (tip 3) olduğunu bildirmişleridir.

1.8.1.1 *Dermacentor marginatus*

1.8.1.1.1 Morfoloji

Dermacentor marginatus'un morfolojik karakteristiğine bakıldığında; dişi bireylerinde porose areaların şekli dar-oval ve genital açıklık ise 'V' şeklindedir ve de

kapitulum 774-948 mikrometre (μm) civarındadır. Erkek bireylerde ise kornua ve palp eklemesindeki posterior spur kısadır, kapitulum 700-900 μm civarındadır. Her iki cinsiyette de basis kapitulum dörtgen, anal oluk anüsün arkasında ve birinci koksadaki internal ile eksternal spur aralığı ortadır. Ayrıca eksternal spur, internal spurdan kısadır (Estrada-Peña ve Estrada-Peña, 1991; Estrada-Peña ve ark., 2004 ve Ioniță ve ark., 2008). Morfolojik olarak yakın ilişkili bir diğer tür olan *D. niveus*'un (her ne kadar taksonomisi karışık bir tür olsada) morfolojik karakteristiğinde ise spirakulum oval ve dorsale doğru daralır. Dorsal palp eklemesindeki spur belirgindir. Ayrıca dişi bireylerde trohanter iki ve üç ventral spur yoktur (Estrada-Peña ve Estrada-Peña, 1991).

1.8.1.1.2 Biyoloji

Dermacentor marginatus'un biyolojisi ve konak tercihi göz önünde bulundurulduğunda üç konaklı bir gelişim (yaşam döngüsü) gösterdiği ve tüm yaşam döngüsünü 1-2 yıl içerisinde tamamlayabildiği kaydedilmiştir (Hornok, 2017; Ioniță ve ark., 2008; Rubel ve ark., 2016 ve Walker ve ark., 2003). Aç erişkinlerin ana aktivite dönemleri ilkbahar ve sonbahar ayları olup daha güney bölgelerde kış boyunca uzayabildiği bildirilmiştir (Rubel ve ark., 2016). Ayrıca bu durum bu çalışmanın planlandığı coğrafik bölge de daha önceden görülmüş olup kış aylarında dahi hem aç erişkinlere hem de konak üzerinde *D. marginatus*' ların tespit edildiği kaydedilmiştir (Orkun, 2015). *D. marginatus* antropofilik bir kene olarak da kabul edilir (Selmi ve ark., 2009) ve bu kene kaynaklı insan enfestasyonlarına ülkemizde özellikle sonbahar-ilkbahar aylarında sık karşılaşıldığı bildirilmiştir (Karaer ve ark., 2011 ve Orkun ve ark., 2014b). Erişkin keneler genelde sığır, koyun, keçi, at gibi evcil ve özellikle yaban domuzları gibi yabani tırnaklıları konak olarak tercih etmektedirler. Erişkin olmayan (larva ve nimfler) *D. marginatus* keneleri ise endofilik (yuvaya bağımlı) karakterde olup genellikle küçük memeliler (özellikle rodentler), insektivorlar (kirpiller) ve tavşanlar üzerinden beslenirler (Hornok, 2017 ve Walter ve ark., 2016).

1.8.1.1.3 Yayılışı

Dermacentor marginatus türü nakışlı koyun kenesi olarak da bilinir (Estrada-Peña ve ark., 2004; Hornok, 2017 ve Walker ve ark., 2003). Bu türün ekolojisine ve coğrafik dağılımına baktığımızda; kozmopolit bir kene türü olup ve Afrika'nın kuzey kesimlerinden (Fas, Cezayir, Tunus), Avrupa'nın güney kesimlerinden Fransa'nın kuzeyine, Türkiye (Anadolu) ve Suriye'nin kuzeyinden Rusya ve Çin'e kadar geniş coğrafik dağılıma sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca bu türün İran'ın kuzey, kuzeybatı ve batısında da yayılım gösterdiği kaydedilmiştir (Darvishi ve ark., 2014; Hornok, 2017 ve Walter ve ark., 2016).

Dermacentor marginatus'un güney enlemlerde daha sıcak ve kuru bir iklime adapte olduğu iyi bilinmektedir ve buralardaki genellikle bozkırlarda, Alp steplerinde, orman bozkırlarında ve yarı çöl alanlarında popülasyonlarının aktif bir şekilde sürdürürler. Almanya'da kserofilik bozkır benzeri bitki örtüsünü, özellikle açık koyun meralarını tercih ettiği bildirilmiştir (Walter ve ark., 2016). İtalya'nın orta ve yüksek rakımlarında, açık meşe ormanları ve kuru çayırlar tipik yaşam alanları iken, güney İtalya'da ormanlık alanlarda yaşamaktadır. Güney Fransa'da, kıyıda 960 metre (m) yüksekliğe kadar olan alanlarda da yerleşim gösterdiği bildirilmiştir (Rubel ve ark., 2016). Ülkemizde ise özellikle yarı kurak alanlara geçiş, yarı kurak alanlar ve daha seyrek olarak da orman vejetasyonlarının bulunduğu habitatlarda yayılım gösterdiği bilinmektedir (Kurtpınar, 1954; Merdivenci, 1969 ve Orkun, 2015).

Dermacentor marginatus'un varlığı ülkemizde özellikle step habitata sahip coğrafik alanlardaki ağırlıklı olarak omurgalı konaklar üzerinden bildirilmiş olup erişkinlerinin başlıca sığır, koyun, keçi, at, eşek, yaban domuzunda ve gelişmemiş formlarının (larva ve nimf) ise yabani küçük memelilerde tespit edildiği rapor edilmiştir (Açııcı ve Celep, 1997; Arslan ve ark., 1999; Aydın, 2000; Aydın ve ark., 2012; Bakırcı ve ark., 2012; Bursalı ve ark., 2015; Çiçek, 2000; Eser, 2012; Hoffmann ve ark., 1971; Khan, 1972; Kurtpınar, 1954; Mamak ve ark., 2006; Merdivenci, 1969;

Orkun ve ark., 2014a; Orkun, 2015; Orkun ve ark., 2017; Orkun ve ark., 2020; Oytun, 1956; Parrish, 1961; Sayın ve ark., 1982; Sayın ve Dumanlı, 1982; Sayın ve ark., 1997; Zeybek ve Kalkan 1984; Taşcı, 1989; Yay ve ark., 2004; Yeşilbağ ve ark., 2013 ve Yukarı ve Umur, 2002). Bunun yanında ülkemizde genelde *D. marginatus*'un aktif olarak yayılım gösterdiği yerlerdeki insanlardan da kan emdiği rapor edilmiştir (Bakırcı ve ark., 2014; Bursalı ve ark., 2010; Bursalı ve ark., 2011; Bursalı ve ark., 2013; Gargılı ve ark., 2010; Kar ve ark., 2013; Karaer ve ark., 2011; Orkun ve ark., 2014a, Orkun ve ark., 2014b, Orkun ve ark., 2017 ve Vatansever ve ark., 2008). Ayrıca bu tezde belirlenen çalışma alanlarının da içinde yer aldığı Bolu, Ankara, Kırşehir hattı boyunca *D. marginatus* kenelerinin erişkinlerinin Ağustos-Mayıs ayları arasında sığır, koyun, keçi, yaban domuzlarından, insanlardan ve de vejetasyondan toplandığı bildirilmiştir (Orkun, 2015). Bunun yanında taksonomik olarak halen tartışmalı olan *D. niveus* (Guglielmone ve ark., 2014) türünün varlığı da Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki evcil ruminantlardan ve insanlardan morfolojik olarak bildirilmiştir (Akdemir, 2002; Arslan ve ark., 1999; Bursalı ve ark., 2010; Bursalı ve ark., 2011; Bursalı ve ark., 2013; Çiçek, 2000; Değer ve ark., 2016, Eser, 2012; Hoffmann ve ark., 1971; İça ve ark., 2007; Karataş, 2020; Keskin ve ark., 2017; Khan, 1972; Kurtpınar, 1954; Mamak ve ark., 2006; Merdivenci, 1969; Oytun, 1956; Sayın ve ark., 1997 ve Yukarı ve Umur, 2002). Ancak bu türün orijinal tanımlamasında dahi *D. marginatus* ile morfolojik ayırımı çok yüzeysel ve kolaylıkla karıştırmaya (yanlış identifikasyona) müsait ve de genetik olaraktan net bir ayırım henüz ortaya konmadığından bu bildirimler onaylanmaya (konfirmasyon) ihtiyaç duymaktadır. Ek olarak, her ne kadar ülkemizde *D. daghestanicus* varlığını morfolojik olarak bildirilmiş olsa da (Bursalı ve ark., 2010; Bursalı ve ark., 2011 ve Özkan, 1978) daha sonra Bursalı ve ark. (2012), kendi identifikasyonlarının tekrar incelediklerinde bunların *D. marginatus*'un varyantı olduğunu bildirerek düzeltmişlerdir. Keza *D. daghestanicus* türünün taksonomik olarak durumu net olmamakla birlikte bazı yazarlar bunun *D. niveus*'un sinonimi olduğunu belirtmişlerdir (Guglielmone ve ark., 2014). Bunların haricinde *D. marginatus* kompleksinde yer alan diğer türlerin (*D. ushakovae*, *D. silvarum* ve *D. nuttalli*) varlığı ülkemizden bildirilmemiştir.

1.8.1.1.4 Vektörlük

Dermacentor marginatus kenelerinin birtakım kene-kaynaklı patojenlerin naklinde vektör olarak rol oynadığı kanıtlanmış olup bazı patojenler içinse potansiyel vektör olarak kabul edilmektedir (Hornok, 2017 ve Walter ve ark., 2016). Bu patojenler içerisinde *D. marginatus*'un farklı coğrafyalarda farklı patojenleri kompetent (yetenekli) vektör olarak naklettiği bilinmekte olup, bunlar: virüslerden; KKKA virüsü, KKE virüsü, Omsk Kanamalı Ateşi virüsü (Hornok, 2017), Benekli Ateşi riketsiyalarından; *Rickettsia slovaca*, *Rickettsia raoultii*, *Rickettsia sibirica* subsp. *sibirica* (Oteo and Portillo, 2012 ve Parola ve ark., 2013), ve protozoonlardan; *Babesia caballi* ve *Theileria equi* türleridir (Nosek, 1972). Bunun yanında, *D. marginatus* kenelerinin *Coxiella burnetii*, *Rickettsia massiliae*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia afzelii* ve Batı Nil virüsünün naklinde potansiyel olarak rol oynayabileceği rapor edilmiştir (Hornok, 2017).

Ülkemizde yukarıda belirtilen patojenler içerisinde *R. slovaca* ve *R. raoultii* varlığı aç ve konaklardan toplanmış *D. marginatus* kenelerinde tespit edilmiştir (Çelebi ve ark., 2019; Gargılı ve ark., 2012; Keskin ve ark., 2016; Orkun, 2014a; Orkun 2014b; Orkun, 2019; Orkun ve Çakmak, 2019 ve Orkun ve ark., 2020). Ayrıca *R. slovaca*'nın *D. marginatus* kenelerindeki doğal transovarial nakli ve bir yaban domuzunun kanında varlığı da gösterilmiştir (Orkun, 2019 ve Orkun ve Çakmak, 2019). Ancak *Rickettsia sibirica* subsp. *sibirica* ve *R. massiliae* henüz rapor edilmemiştir. Bunun yanı sıra *B. caballi* ve *T. equi*, farklı bölgelerdeki atlardan rapor edilmesine rağmen (Karatepe ve ark., 2009; Kızıllarslan ve ark., 2015 ve Sevinç ve ark., 2008) henüz *D. marginatus* kenelerinden bildirilmemiştir. Q ateşi etkeni *C. burnetii* bazı ülkelerde vejetasyondan ve konak üzerinden (koyun ve keçi) örneklenen *D. marginatus* bireylerinde tespit edilse de ülkemizde sadece ruminantlarda saptanmıştır (Bonnet ve ark., 2013; Chaligiannis ve ark., 2018; Kılıç ve ark., 2016; Kırcan ve ark., 2008; Psaroulaki ve ark., 2006; Rehacek ve ark., 1991 ve Spitalska ve Kocianova, 2003). Viral patojenler arasında Omsk kanamalı ateşi virüsü ülkemizde henüz rapor edilmemiş olup KKKA virüsü ise yaban domuzu ve ruminantlardan

toplanan *D. marginatus* kenelerinde tespit edildiği bildirilmiştir (Orkun ve ark., 2017 ve Yesilbağ ve ark., 2013).

1.9. Kenelerin Genetik Yapısı ve Mitokondriyal DNA'sı

Genomik ve proteomik araçlar, vektörlerinin biyolojisini naklettikleri patojenler ile ilişkilerini anlamak için güçlü yaklaşımlar sağlamaktadırlar. Vektörün genom dizilimi, vektör biyolojisinin önemli yönleriyle ilişkili genler hakkında bilgi vermektedir. Kene DNA'sı içerisinde katlanır diziler, yüksek oranda tekrarlanan diziler ve orta düzeyde tekrarlanan diziler bulunmaktadır. Genom boyutu taksonlar arasında ve hatta soylar arasında büyük farklılıklar gösterir (Geraci ve ark., 2007). Örneğin *I. scapularis*' in genom boyutu 2,15 pikogram(pg) olmakla birlikte, *Rhipicephalus microplus* 'ta ise 7,5 pg ve *Amblyomma americanum* 'da ise 1,08 pg'dır (Palmer ve ark., 1994 ve Ullmann ve ark., 2005).

1.9.1 Kenelerde Mitokondriyal DNA

Kenelerden elde edilecek nükleotid dizileri, ilgili türler arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek, türleşme ve evrimsel süreçlerini ortaya koymak için önemli veri kaynağı olarak kullanılmakta ve böylece morfolojik özelliklere dayalı taksonomik sınıflandırmayı tamamlamakta ve popülasyondaki varyasyonları ortaya koymaktadır (Araya-Anchetta ve ark., 2015 ve Erster ve ark., 2013). Bu kapsamda mitokondriyal DNA, haploid, çok kopyalı, hızla gelişen ve anneden miras kaldığı için popülasyon çalışmalarında faydalı genetik belirteçler sağlar (Movila ve ark., 2013). Bununla birlikte mitokondriyal genom kenelerin filogenetiği, popülasyon genetiği ve evrim çalışmaları için zengin ve kullanışlı bir kaynaktır. Mitokondriyal DNA'nın, farklı taksonomik seviyelerdeki organizmalar arasındaki filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi ve türlerin genetik karakterizasyonu için yararlı belirteçler sağladığı da

halihazırda ortaya konmuştur (Chitimia ve ark., 2010 ve Shao ve Barker, 2007). Yapılan çalışmalar, mitokondriyal DNA'nın nükleer genlerden daha yüksek bir mutasyon oranına sahip olduğunu ve morfolojik olarak benzer kene türlerinin genetik karakterizasyonu ve farklılaşması için yararlı bilgiler sağladığını göstermiştir çünkü mitokondriyal genler birçok nükleer genlerden daha hızlı evrilir bu da özellikle daha alt taksonomik seviyelerde (tür bazında) daha kullanışlıdır (Shao ve Barker, 2007 ve Zhang ve Zhang, 2014). Bu durum kenelerin genetik analizler sırasında da ortaya konmuş olup çok kullanılan nükleer genlerden 18S ribozomal ribonükleik asit(rRNA) soy bazında tanımlamada ve bu seviyedeki evrimsel ilişkileri anlamada kullanışlı iken tür bazında ayırımı sağlayamamaktadır. Buna karşın tür bazında mitokondriyal genler (özellikle COI, 16S rRNA, 12S rRNA) varyatif özellik gösterir. Bu genler barkodlamada ve evrimsel ilişkiler ile popülasyon genetiğinde başarıyla kullanılmıştır. Bunlar içerisinde de gen bazında en öne çıkan ve yapılan karşılaştırmalı analizlerde en başarı gösteren bölgenin aynı zaman da barkod bölgesi de olan COI gen bölgesi olduğu görülmüştür (Amzati ve ark., 2018; Araya-Anchetta ve ark., 2015; Kanduma ve ark., 2016; Li ve ark., 2019; Lv ve ark., 2014 ve Zhang ve Zhang, 2014). Ayrıca son yıllarda giderek artan sayıda kenelerin mitokondriyal genom sekanslama ile ilgili genomdaki tüm genler ortaya çıkarılarak daha geniş kapsamda veri elde etme yoluyla tür bazında çalışmalar yapılmaktadır. Her ne kadar tüm genom verisi elde etmek tek veya birkaç genden daha üstün olsa da gerek yüksek maliyet ve elde edilen verinin büyüklüğünden dolayı zaman zaman da göz önüne alındığında mitokondriyal genom sekanslamaları daha çok taksonomik ve filogenetik analizlerde daha ön plana çıkmakta olup popülasyon genetiği analizlerinde henüz yaygınlaşmamaktadır (Burnard ve Shao, 2019; Guo ve ark., 2016; Mans ve ark., 2019; Wang ve ark., 2019 ve Zhang ve ark., 2019).

Kenelerin mitokondriyal genomlarının uzunluğu ortalama olarak 14.633 baz çiftidir (bç). Ayrıca en uzun mitokondriyal genom 15.227 bç (*Ixodes tasmani*) ve en küçüğü ise sadece 14,307 bç (*Argas boueti*) ulaşmaktadır. Genel olarak, sert kenelerdeki mitokondriyal genom uzunluğu, yumuşak kenelerden (sırasıyla 14.796 ve 14.429 bç) biraz daha uzundur. Keneler arasındaki mitokondriyal genom uzunluk farklılıkları, genin yeniden düzenlenmesinden ve kodlamayan bölgelerin

uzunluğundan etkilenebilir. Metazoa'ların mitokondriyal genomu 36 veya 37 gen içerimektedir. Bu genlerin ikisi rRNA (16S rRNA ve 12S rRNA), 22 tanesi tRNA ve 12 veya 13 tanesi mitokondri iç membran proteinlerini kodlayan genlerdir (Hwang ve Kim., 1999 ve Wang ve ark., 2019). Ayrıca adenin (A) ve timin (T) oranı da Metazoa'nın mitokondriyal genomunda yüksektir. Kenelerde de A ve T oranı yaklaşık %75 civarındadır. Mitokondriyal genom analizine bakıldığında ise, örneğin, *R. sanguineus*'un mitokondriyal genom analizi yapıldığında, 13 protein kodlayan gen (COI-3, NAD1-6, NAD4L, ATP6, ATP8 ve cyt b), 2 rRNA geni, 22 tRNA geni ve 2 tane kodlamayan bölge tespit edilmiştir. Dahası, Çin ve Amerika izolatlarının mitokondriyal genom dizileri karşılaştırıldığında, Çin izolatının dört baz çifti daha uzun ve genomdaki aminoasit sekans farklılığının %9,3 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, Çin ve Amerika izolatlarının farklı kene türlerini temsil ettiğine dair mitokondriyal kanıt ortaya koymuştur (Liu ve ark., 2013 ve Wang ve ark., 2019).

1.9.2. Kenelerde Sıklıkla Kullanılan Mitokondriyal DNA Gen Bölgeleri

1.9.2.1. Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I (COI) Geni

Mitokondriyal DNA'nın nükleer genomdan çok daha hızlı evrimleştiği bilinmektedir. Dolayısıyla mitokondriyal protein kodlayan genlerin çoğu, aile, cins ve tür gibi nispeten daha düşük taksonomik seviyelerde filogenetik ilişkileri incelemek için kullanılmıştır. Protein kodlayan genlerin üçüncü kodon konumlarında (sallanma konumları) meydana gelen yüksek yer değişime oranı nedeniyle, protein kodlayan genlerin DNA dizileri, tür veya popülasyon düzeyinde filogeni için sıklıkla kullanılmıştır (Navajas ve ark., 1996). Mitokondriyal genomda protein kodlayan genler genelde rRNA-kodlayan (protein kodlamayan bölge) genlere göre daha fazla çeşitlilik sunmakta olup bunlardan da COI geni kenelerin popülasyon yapısını belirlemede ve haplotiplerinin çeşitliliğini ortaya koymada en kullanışlı gen olduğu görülmüştür. Ayrıca COI geni hem omurgalılarda hem de omurgasızlarda ana barkod

bölgesi olarak kullanılan gen (BOLD) olmasından ötürü bu tip popülasyon genetiği ve barkodlama çalışmalarında mitokondriyal genomda ilk tercih edilmesi gereken bölge olarak önerilmiştir (Lv ve ark., 2014; Mechai ve ark., 2013 ve Zhang ve Zhang, 2014). Ayrıca COI gen evriminin, yakından ilişkili türlerin ayırımına izin verecek kadar hızlı olduğu ve filocoğrafik olarak farklı grupların intraspesifik farklılaşmasını saptayabileceği gösterilmiştir (Amzati ve ark., 2018; Kanduma ve ark., 2016 ve Li ve ark., 2019). Örneğin, Amzati ve ark. (2018), Afrika'daki altı agro-ekolojik bölgedeki sığırlardan topladıkları 218 *R. appendiculatus* bireylerinin COI ve 12S rRNA gen bölgelerine göre yaptıkları sekans analizi sonucu, COI gen bölgesine göre 22 haplotip; 12S rRNA gen bölgesine göre ise dokuz haplotip tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Kanada'daki *Dermacentor albipictus* kenelerinde iki mitokondriyal (COI ve 16S rRNA) ve iki nükleer (lizozom ve ITS-2) gen kullanılmış ve bu genler arasında en yüksek nükleotid varyasyonu COI geninde tespit edildiği bildirilmiştir (Leo ve ark., 2010). Keza benzer sonuçlar Kenya'daki *R. appendiculatus* örneklerinde de COI geninin diğer genlere nazaran aynı kenelerde daha fazla sayıda haplotip çeşitliliğini gösterdiğini ortaya konmuş olup (Kanduma ve ark., 2016) bu örnekleri daha da artırmak mümkündür.

1.9.2.2. 16 S Ribozomal RNA(rRNA) Geni

Son yıllarda, 16S rRNA, ITS2, 12S rRNA ve 18S rRNA gibi mitokondriyal ve nükleer genlerin kullanımıyla kenelerin evrimi ve filogenisi konusunda çok ilerleme kaydedilmiştir. Bu genler arasında 16S rRNA en sık kullanılan belirteçtir ve bazı kenelerin türlerini ayırt edebildiği gösterilmiştir (Lv ve ark., 2014). Ayrıca bu gen bölgesi, yakından ilişkili türler arasındaki veya türler içindeki filogenetik ilişkileri çözme potansiyeline sahiptir. Gylfe ve ark. (2001), tarafından yapılan çalışmada Kuzey ve Güney yarımküredeki *Ixodes uriae* 'nin 16S rRNA analizine göre bu kenenin üreme yoluyla ayrılabilmesi gösterilmiştir. Ayrıca Mangold ve ark. (1998), bu mitokondriyal genin, yakından ilişkili kene türleri arasındaki genetik ilişkilerin kurulması açısından iyi bir belirteç olduğunu ancak uzaktan ilişkili taksonların karşılaştırılması için yararlı olmadığını belirtmiştir. Bununla birlikte Vial ve ark.

(2006), bu moleküler belirteç ile yumuşak keneler arasındaki filogenetik ilişkileri soy düzeyinde karşılaştırmış ve *Ornithodoros sonrai* 'nin yüksek düzeyde polimorfizm gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

1.10. Popülasyon Genetiği Kavramı

Popülasyon genetiği, seleksiyon, mutasyon, akraba arası çiftleşme, göç ve diğer olaylarla popülasyonların genetik yapısında meydana gelen değişikliklerin, tesadüfi olaylardan kaynaklanan rastgele değişikliklerle birlikte matematiksel açıdan incelenmesidir. Evrimsel ilerlemenin temel bileşenleri olan bu değişikliklerin evrimin nedenleri ve doğası üzerine etkilerinin anlaşılması gereklidir (Ewens, 2013).

1.10.1. Etkili Popülasyon Büyüklüğü

Sonsuz büyüklükteki bir popülasyonda, mutasyon, göç ve seçilimin olmadığı durumlarda gen ve genotip frekansları nesiller boyunca sabit kalır. Ancak sonlu popülasyonlarda, gametlerin sınırlı örneklenmesi durumunda jenerasyonlar boyunca gen frekansında rastgele olarak dalgalanmalar olur (Caballero, 1994). Ayrıca sonlu popülasyon büyüklüğü akrabalar arası çiftleşme ve genetik varyasyon kaybı ile sonuçlanır. Genetik etkilerinin gerçek boyuttan ziyade etkin popülasyon boyutuna (N_e) bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Etkili popülasyon büyüklüğü ile genetik varyasyon ve akrabalar arası çiftleşmenin tahmin edilen ilişkileri denklem ile verilmektedir.

$$H_t / H_0 = [1 - 1/(2N_e)]^t = 1 - F$$

H_t , t jenerasyon sonrası heterozigositeyi, H_0 başlangıçtaki heterozigositeyi, F ise akraba evliliği katsayısını temsil etmektedir (Frankham, 1995).

Etkili popülasyon büyüklüğü, genetik sürüklenmenin tek faktör olduğu ve nesiller arası alelik ile genotipik frekans dinamiklerinin yalnızca nüfus boyutuna bağlı olduğu çok basitleştirici özelliklere sahip varsayımsal bir popülasyon olan Wright-Fisher idealleştirilmiş popülasyona atıfta bulunularak tanımlanır. Etkili popülasyon büyüklüğü genlerin popülasyon dinamiklerini tanımlayan önemli kavramlardan birisidir. Gerçek bir popülasyonun etkin büyüklüğü, daha sonra, akrabalı evliliği katsayısı ve söz konusu popülasyonda fiilen gözlemlenen gen frekanslarının varyansındaki değişim oranını artıracak olan idealleştirilmiş bir popülasyonun büyüklüğü olarak tanımlanır. Wright tarafından türetilen, sabit büyüklükte (N) olan bir popülasyonda ebeveynlerden yavruya katkıların varyansını hesaplandığında,

$$N_e = 4N / 2 + S^2_K$$

bu ifade sadece hermafrodit ya da eşit sayıda erkek ve dişi içeren, diploid otozomal kalıtım ve rastgele çiftleşmenin (hermafroditler için kendi kendine üreme dahil) olduğu bir popülasyonu varsayar (Nei ve Tajima, 1981 ve Wang ve ark., 2016).

1.10.2. Popülasyonda Gen Akışı – Darboğaz Etkisi

Gen akışı, bir popülasyondan diğer popülasyona, genlerin hareketine neden olan tüm mekanizmaları içeren toplu bir terimdir. Gen akışı genellikle tür-içi meydana gelmektedir. Göç terimi de bazen gen akışı ile aynı anlamda kullanılmaktadır. Bu durum yerleşik popülasyonlar arasındaki göç, gen akışı olduğunda doğrudur. Gen akışı, gametlerin hareketinin yanı sıra mitokondri ve plazmid gibi ekstraselüler DNA segmentlerinin hareketinden de kaynaklanabilir (Slatkin, 1985).

Türleri sınırlandırmak için genetik belirteçleri seçerken, araştırmacılar çoğunlukla değişkenliklerine odaklandılar. Ancak belirteçler ile gözlenen gen akışı

seviyesi ihmal edilen bir kriterdir. Ancak gen akışı türlerin tanımlayıcı bir özelliğidir. Ayrıca, cinsiyet-tabanlı dağılım prevalansı nedeniyle, farklı DNA bölgeleri, kalıtım biçimlerinin(biparental, maternal veya babasal) bir sonucu olarak değişen düzeylerde gen akışına tabidir. Bu nedenle, tür tanımlaması ve sınırlandırılması için belirteçleri seçerken sadece mutasyon oranı veya etkin popülasyon boyutunu değil, gen akışının etkisini de dikkate almak mantıklı görünmektedir (Petit ve Excoffier, 2009).

Popülasyon darboğazı, doğal popülasyonlardaki düşük düzeydeki genetik varyasyonu açıklamak için sıklıkla kullanılmaktadır. Popülasyon darboğazlarının doğal popülasyonların çeşitliliği ve uygunluğu üzerindeki etkisi hem evrimsel süreç hem de koruma biyolojisi bağlamında önemli bir sorudur. Popülasyonlar bu durumda geçici ve büyük azalmalara maruz kalmaktadırlar. Rastgele sürüklenme yoluyla genetik çeşitliliklerini kaybederler. Bu nedenle darboğaz etkisinin türleşme olayına dahil olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, doğal popülasyonlardaki bilinen ve varsayılan darboğaz olaylarının etkisini değerlendiren çalışmaların çoğu, türler veya türdeş popülasyonlar arasında karşılaştırmalı analizlere dayanmaktadır. Aynı popülasyonun bir darboğazdan önce ve sonra doğrudan karşılaştırılması nispeten nadirdir. Bunların arasında, bir türün mevcut popülasyonlarından birindeki bir darboğaz olayından önce ve sonra varyasyonları karşılaştırmıştır. Bununla birlikte, darboğaz sonrası popülasyonlarda genetik varyasyonun iyileşme hızı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilen göçün olası etkisini kontrol etmek ise genellikle zordur (Hoelzel ve ark., 2002; Keller ve ark., 2001 ve Weber ve ark, 2000).

1.10.3. F İstatistiğine Dayalı Metodlar

Birçok popülasyondan oluşan kümeler arasında paylaşılan genetik sürüklenmeyi ölçen ve popülasyonlar arasındaki karışımlar ile ilgili basit ve karmaşık hipotezleri test etmek için F istatistikleri kullanılabilmektedir. F istatistiği terimi, Reich ve diğerleri tarafından tanımlanan genel çerçeveye atıfta bulunulduğunda kullanılır. Ayrıca Wright'ın

istatistiklerine fiksasyon indeksi veya f olarak olarak atıfta bulunulur. F istatistiği uygulama açısından;

1. Popülasyonlar ağaç benzeri bir şekilde ilişki gösteriyor mu?
2. Belirli bir popülasyon, birden fazla ata popülasyonunun soyundan mı geliyor?
3. Farklı popülasyonların bir odak popülasyona katkıları nelerdir?
4. Belirli bir bölge için kaç tane kurucu popülasyon vardır?
5. Modern veya eski bir popülasyona en yakın akraba nedir?

sorularına cevap vermek için kullanılmaktadır (Peter, 2016; Raghavan ve ark., 2014 ve Reich ve ark., 2009).

Popülasyon yapısının ölçümünde kullanılan fiksasyon indeksi, genetik varyansların bir oranı olarak tanımlandığında popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon miktarını tüm popülasyonlar üzerindeki toplam genetik varyasyonla ilişkilendirerek çalışır. Biallelik belirteçler, F_{ST} 'nin sıfır ile bir arasında sınırlandırmasını sağlar ki, sıfır farklılaşmayı temsil etmez. Bununla birlikte, çok alelik belirteçler için, mümkün olan maksimum değer mutlaka 1'e eşit değildir, bunun yerine popülasyon çeşitliliği içindeki miktar tarafından belirlenir,

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

H_T toplam gen çeşitliliği iken, H_S ise popülasyon içi gen çeşitliliğini (diploitler için beklenen heterozigositeye eşittir) ifade eder. H_T 'nin gerçek popülasyon değeri, H_S 'den zorunlu olarak daha büyük veya ona eşit olduğundan ve H_T için mümkün olan maksimum değer bir olduğundan, G_{ST} 'nin maksimum değerinin de $1 - H_S$ 'ye eşit olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır (Meirmans ve Hendrick, 2011).

1.10.4. Nötralite Testleri

Moleküler evrim tahmininin nötral teorisine dayanarak, genom içerisinde yüksek hızda evrimleşen bölgelerin de türler içinde yüksek düzeyde polimorfizm sunmaktadır (Rozas ve Rozas, 1999). DNA sekans çiftleri arasındaki ortalama fark sayısının, bir numunede gözlemlenen ayırma bölgelerinin sayısı ile uyumlu olup olmadığına karar vermek için nötrlük testleri kullanılabilir (Excoffier ve Heckel, 2006). Popülasyon genetik verilerini kullanan nötrlük testleri, bireysel lokuslardaki alelik frekans konfigürasyonlarına, çoklu lokuslardaki ayırma alanlarının frekans dağılımına, haplotiplerin sayısına, haplotip çeşitliliğine, haplotip bölümlerine, bağlantı dengesizliği ile haplotip yapısına ve bunların yanı sıra alt popülasyonlar arasındaki alelik frekanslarındaki farklılıklara dayanmaktadır (Zhai ve ark., 2009).

1.11. Kenelerin Popülasyon Genetiği

Popülasyon genetiği çalışmaları dağılım modellerini ve bu modellerin patojenleri yayma potansiyellerini tahmin ederek artropod hastalık vektörlerinin temel biyolojisi hakkında bilgi sağlar. Keneler gibi kanatsız vektörlerde, gen akışı büyük ölçüde konakçılarının hareketliliği ile tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, kene davranışları ve yaşam döngüsü stratejileri, oldukça hareketli konakçılarda bile dağılımlarını sınırlayabilir ve genetik yapıda bir artışa yol açabilir (Araya-Anchetta ve ark., 2015).

Kan emen artropodların popülasyon genetik yapısını araştıran çalışmalar kenelerin ve naklettikleri patojenlerin ekolojilerini anlamamızda yardım ederler ve bu vektörlerinin vektör-kaynaklı hastalıklardaki rollerini anlamak ve daha etkili kontrol stratejileri geliştirmek için fırsatlar sağlar (Tabachnick ve Black, 1995). Hatta vektör kaynaklı hastalıkların evrimsel ekolojilerinin anlaşılabilmesi için ilgili vektörün popülasyon genetiklerinin bilinmesi öncelikli esastır (Krakowetz ve ark., 2010 ve Lado ve ark., 2019). Çünkü bireysel genetik kümelenme ve değerlendirme yöntemleri

gibi popülasyon genetiği yaklaşımları, popülasyonlar arasında gen değişimi ve bu popülasyonlar arasında patojen yayılma riski hakkında çıkarım yapılmasına olanak tanır (Kozakiewicz ve ark., 2018). En önemli iki vektörden biri olan kenelerdeki popülasyon genetiği çalışmaları kenelerin şu anki ve geçmişteki evrimsel süreçlerindeki gen akışını (aktarımını), türlerin yayılımını, konaklarına adaptasyonlarını, patojenleri nakletmedeki yeteneklerini ve hatta kimyasallara karşı dirençleri hakkında önemli veriler ortaya koyma potansiyeline sahiptir. Ayrıca bu tip çalışmalar kenelerin dağılım şekillerini ve hastalığı yaymadaki potansiyellerini hesaplayarak temel biyolojilerinin iç yüzünü anlamada katkı sağlayacak önemli verileri de ortaya koyarlar (Araya-Anchetta ve ark., 2015; Lado ve ark., 2019 ve Lado ve ark., 2020). Keneler ve konakçıları arasındaki etkileşim, sonuçta kenelerde genetik farklılaşmaya ve türleşmeye yol açabilecek genetik adaptasyonlara ve ıraksamaya neden olabilir (Kanduma ve ark., 2016). Bu anlamda kenelerin popülasyon genetiğinin ortaya konması coğrafi bölgeler içinde ve arasında kene türlerinin karakterizasyonu ve kenelerde genetik farklılaşma sürecini anlamak, daha etkili entegre kontrol stratejileri geliştirmeye yardımcı olabilir (de la Fuente ve ark., 2005). Kene kontrolü veya anti-kene aşı stratejileri yoluyla keneye bulaşan kene kaynaklı hastalıklara karşı etkili yöntemler geliştirmek için vektör popülasyonlarının genetik değişkenliğinin daha iyi anlaşılması çok önemlidir. Aynı zamanda bunlar kene türlerinin taksonomik durumu, popülasyonların mekânsal sınırları, popülasyonlar arasındaki gen akışının doğası ve farklı habitatlardaki haplotip çeşitliliği hakkında önemli bilgi sağlar (Noureddine ve ark., 2011). Yani kenelerin popülasyon genetiği üzerine çalışmalar vektörlerin temel biyolojileri ve kene-kaynaklı patojenleri çalışmaları arasındaki köprü görevini de görürler ve bundan dolayı tür bazında çalışmalara hayli ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak kene popülasyon genetiğine odaklanan çalışmalar bugün bile çok az ve yetersizdir. Bireysel gen sekansları protein verilerinden daha yüksek çözünürlüklü veri sunarlar ve bunlar kenelerin genetik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu anlamda mitokondriyal genler çoğu zaman tür bazında filogenetik ve taksonomik çalışmalarında ve popülasyon genetiklerinde hayli bilgi vericidir ve nükleer genlere göre daha üstün olup daha efektiftir. Bunun yanında genel anlamda popülasyon genetiği çalışmaları için yaygın olarak tercih edilen diğer grup markerler mikrosatellitler olup yüksek evrim hızına sahip tekrarlı yapıya sahip olan bu bölgeler

daha yakın evrimsel süreçleri anlamada hayli işe yarar bilgiler sunsa da gerek yüksek maliyet gerekse analiz sürecindeki birtakım zorluklar/potansiyel aksaklıklar gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Araya-Anchetta ve ark., 2015). Bu nedenle mikrosatellitler sadece kenelerin popülasyon genetiği çalışmalarında özellikle birkaç kene türünde son yıllarda kullanılmaya başlanmış (Hekimoğlu ve ark., 2020; Ogrzewalska ve ark., 2016; Paulaukas ve ark., 2018 ve Van Oosteen ve ark., 2014;) ancak henüz yaygınlaşmamıştır.

1.11.1. *Dermacentor* Soyundaki Kenelerin Popülasyon Genetiği

Dermacentor kenelerinin popülasyon genetiklerine yönelik çalışmalar çok yeni ve sınırlı olmakla birlikte bazı türlerin belirli coğrafyalardaki popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği araştırmaya yönelik çalışmalar da yapılmıştır. Örneğin, Crosbie vd., (1998), 16S rRNA sekans analizine göre örneklenen 11 *D. hunteri* üzerinden beş farklı haplotip tanımlanmıştır. Leo ve ark. (2010), orta ve doğu Alberta'nın üç lokasyonunda *Odocoileus virginianus* (Ak kuyruklu geyik) ve *Odocoileus hemionus* (Katır geyiği) üzerinden örnekledikleri 42 *D. albopictus* ile diğer lokalitelerden örneklenen *D. albopictus* bireylerini morfolojik olarak incelediklerinde spiraculum şekline göre üç gruba ayırmışlardır. Moleküler çalışmalarda COI sekansına göre 18 haplotip varlığı ortaya koyulmuştur. Ancak COI sekansına göre elde edilen haplotipler 16S rRNA sekansına göre 14 haplotip şeklinde gruplandırılmıştır. Bu durum COI genindeki heterojenitenin daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca Leo ve ark. (2014), aynı kene türünü farklı konaklardan (geyik, at ve fare) örneklediklerinde kene popülasyonları arasında genetik farklılık gözlemlemişlerdir. Amerikan köpek kenesi olarak da bilinen *D. variabilis* ile ilgili yapılan bir çalışma da dört farklı lokasyondan örneklenen keneler 16S rRNA sekansına göre 9 haplotipe ayrılmıştır. Patterson ve ark. (2014), Kanada bozkırlarından örnekledikleri iki farklı *D. andersoni* popülasyonunu 16S rRNA gen bölgesine göre yaptıkları analiz sonucunda her popülasyonda 5 haplotip tespit edilmiştir. Benzer olarak Zhu ve ark. (2018), Çin' in üç

farklı lokasyonundan 562 *D. niveus* örneklemiş ve COI gen sekans analizi sonucu 12 farklı haplotip tanımlanmıştır.

Dermacentor marginatus kompleksinde yer alan üyelerinin ve özellikle de *bu türün* popülasyon genetiğine yönelik spesifik ve detaylı bir araştırma bulunmamaktadır. Bununla birlikte birkaç çalışmanın içerisinde yer alan az sayıda *D. marginatus* örneklerindeki saptanan haplotipler üzerine birtakım veriler ortaya konmuştur. Bunlar; Chitimia ve ark. (2009), Romanya'daki dört farklı lokasyondan örnekledikleri dört *D. marginatus* bireyleri arasında ITS1 sekans analizi sonucu %0,7-1,4; ITS2 sekans analizi sonucu ise %0,9-1,2 arasında varyasyon tespit etmiştir. Benzer şekilde, Romanya'daki koyunlar üzerinden örneklenen yedi *D. marginatus* kenesinin COI ve nad5 bölgeleri açısından karşılaştırıldığında tür içi varyasyon sırasıyla %0,1-1,2 ve %0,2-1,2 olarak bildirilmiştir (Chitimia ve ark., 2010). Son olarak, Abdigoudarzi ve ark. (2011), İran'daki koyun ve keçi üzerinden örnekledikleri beş *D. marginatus* bireyinde ITS2 gen sekansına göre beş baz çifti açısından farklılık gözlemlendiğini bildirmişleridir.

Literatür çalışmalarında görüldüğü üzere *D. marginatus* ve kompleks içerisinde yer alan diğer kene türlerine yönelik popülasyon genetiği çalışmaları son derece sınırlıdır. Bu araştırma kapsamında ise İç Anadolu Bölgesi'ndeki bir geçiş habitatı boyunca seçilen 15 farklı lokasyondan örneklenen *D. marginatus* kenelerinin morfoloji ve popülasyon genetiğine dayalı veriler elde edilerek bu verilerin birbiri ile karşılaştırılması sonucu, kompleks içerisinde yer alan diğer türlerin olası varlığı ve *D. marginatus* popülasyonları arasındaki morfolojik ve genetik farklılığın araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

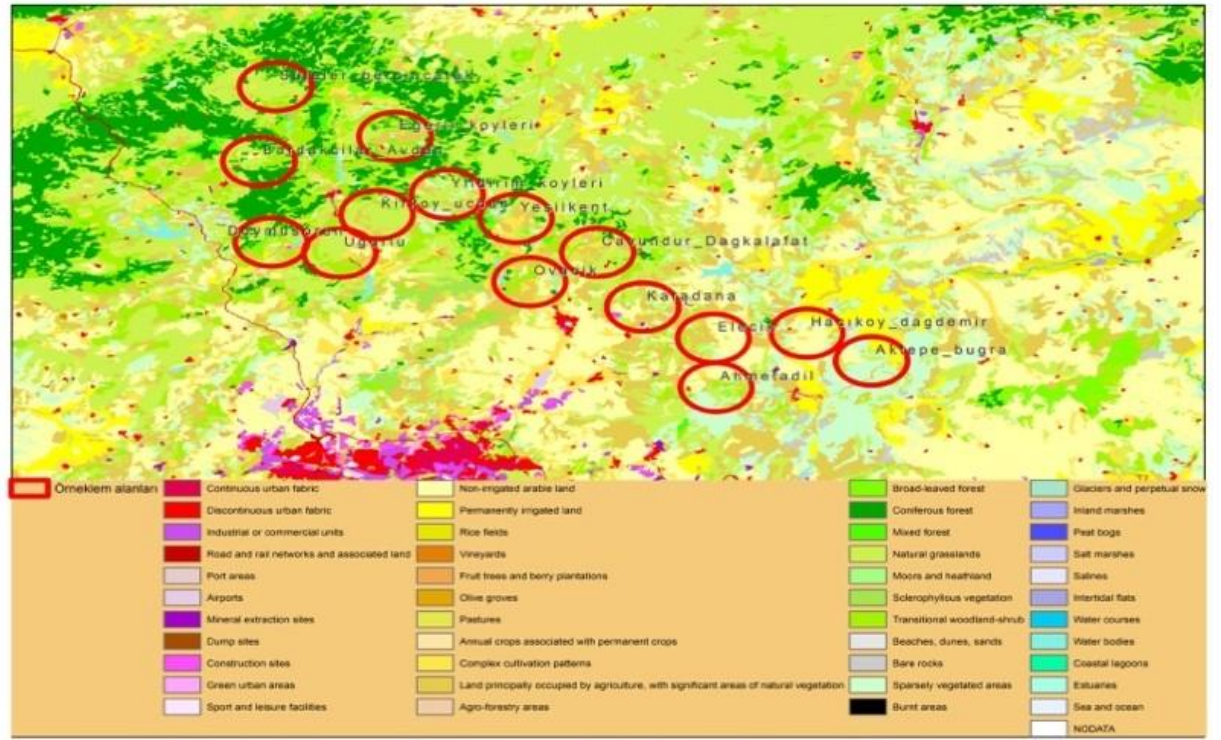
2.1. Çalışma Alanı ve Kenelerin Toplanması

Bu tez çalışması kapsamındaki coğrafik lokasyonlar, daha önceden aktif *D. marginatus* popülasyonlarının varlığının bilindiği (Orkun, 2015 ve aynı araştırmacının devam eden saha araştırmalarında) ve kenelerin evriminde önemli rol oynadığı bilinen geçiş habitatı üzerinde olması ve de birden fazla ekoton ve çeşitli omurgalı konakları içermesi göz önüne alınarak seçilmiştir. Tüm bunlar dikkate alınarak belirlenen çalışma alanı, *D. marginatus* türleri için uygun habitat teşkil eden, İç Anadolu'nun kuzeyinde yer alan ve Karadeniz Ormanlık fitocoğrafyasından başlayıp ve yarı kurak (step) İran-Turan fitocoğrafyasına geçiş yaparak Kızılırmak deltasına kadar uzanan bir yay üzerinde planlamıştır . Üç konaklı bir gelişim gösteren *D. marginatus* kenelerinin larva ve nimfleri yuvaya bağımlı (endofilik) bir karakter gösterirler ve genelde küçük kemirgenlerden beslenip onların yaşam alanından ayrılmazlar. Erişkinleri ise başlıca büyük tırnaklıları (sığır, koyun ve keçi gibi evcil ruminantları ve atları ve de yaban domuzu gibi yabani memelileri) konak olarak tercih ederler (Hornok, 2017). Bu kenenin doğal konak tercihleri arasında göç eden kuşlar veya çok sık yer değiştiren yerli kuşlar gibi kanatlılar olmadığından genelde hareket yetenekleri çok kısıtlıdır ve başlıca büyük hayvan hareketlerine bağlıdır. Bundan dolayı dar alanlarda daha izole popülasyonların olması beklenir. Tüm bunlar göz önüne alındığında ilgili arazide daha önce yapılan gözlemler ve araştırmalar neticesinde *D. marginatus*'un hareketinde en çok rol oynayabilecek hayvanların başında sığır, koyun, keçi ve yaban domuzları gelmektedir. Küçük kemirgenlerin hareket yetenekleri ve yer değiştirmeleri daha sınırlı olduğu için ihmal edilmiştir. Bu bağlamda özellikle evcil ruminantların otlama mesafeleri ve yaban domuzlarının yer değiştirmeleri dikkate alınarak kenelerin toplanacağı her bir ana lokasyon alanı, merkezinden beş kilometrelik (km) yarı çaplı bir daire (her biri yaklaşık 78.54 km² alana tekabül edecek şekilde) içerisinde olacak şekilde 15 farklı alan belirlenmiştir. Belirlenen alanlar coğrafik bilgi sistemi (CBS) üzerinden ArcGISn (Esri, 2011) kullanılarak haritalandırılmıştır. Böylece bu yay

üzerindeki habitat geçişinin farklı *D. marginatus* popülasyonları üzerindeki potansiyel genetik varyasyonlarını azami düzeyde görmek amaçlanmıştır (Şekil 2.1).

Belirlenen ana lokasyon alanları:

1. Süleler-Berçinçatak ana lokasyonu (E: 40°40'18.38"K, B: 32°33'31.79"D)
2. Bardakçılar-Avdan ana lokasyonu (E: 40°31'57.72"K, B: 32°31'54.11"D)
3. Eğerli Köyler ana lokasyonu (E: 40°34'44.91"K, B: 32°45'15.48"D)
4. Yıldırım köyler ana lokasyonu (E: 40°28'17.06"K, B: 32°50'23.71"D)
5. Kırköy-Üçbaş ana lokasyonu (E: 40°26'1.04"K, B: 32°43'28.29"D)
6. Doğmuşören ana lokasyonu (E: 40°22'56.69"K, B: 32°33'6.22"D)
7. Uğurlu ana lokasyonu (E: 40°21'44.15"K, B: 32°39'49.45"D)
8. Yeşilkent ana lokasyonu (E: 40°25'35.97"K, B: 32°57'10.03"D)
9. Çavundur-Dağkalfat ana lokasyonu (E: 40°21'48.94"K, B: 33° 5'9.95"D)
10. Ovacık ana lokasyonu (E: 40°18'32.02"K, B: 32°58'30.66"D)
11. Karadana ana lokasyonu (E: 40°15'42.32"K, B: 33° 9'35.16"D)
12. Elecik ana lokasyonu (E: 40°12'14.06"K, B: 33°16'31.63"D)
13. HacıKöy-Dağdemir ana lokasyonu (E: 40° 6'44.35"K, B: 33°16'47.15"D)
14. Ahmetadil ana lokasyonu (E: 40°12'47.41"K, B: 33°25'44.29"D)
15. Aktepe-Buğra ana lokasyonu (E: 40° 9'40.85"K, B: 33°32'5.16"D)



Şekil 2.1. Çalışma alanlarını ve ana lokasyon merkezlerini gösteren harita (Her bir daire 5 km'lik yarıçapa sahip olup bir ana çalışma alanı olarak belirlenmiştir).

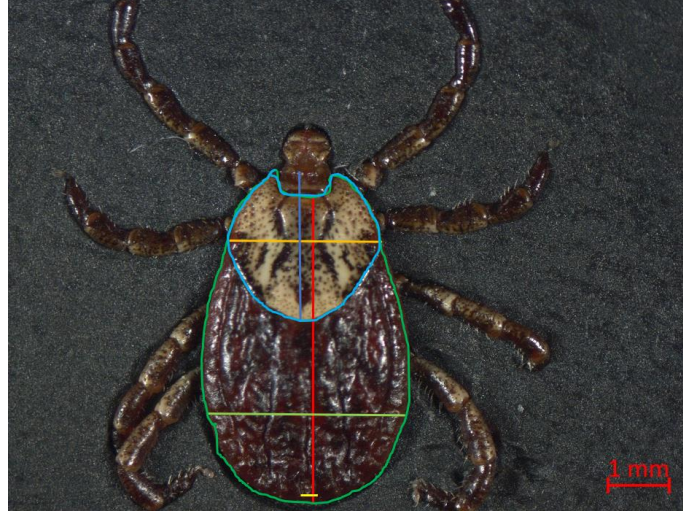
Yukarıda sunulan haritada gösterilen işaretli 15 farklı ana çalışma alanından mümkün olduğunca daire içerisindeki farklı alanlardan toplanmak üzere beş ile altı arasında konak arayan *D. marginatus* erişkinin kene örnekleri toplanmıştır. Toplamda da 80 kene tez çalışmasına dahil edilmiştir. Her bir daire içerisindeki hedef kene sayısı *D. marginatus*'un hareket kabiliyeti ve yaklaşık 78 km² alandaki farklı popülasyonları asgari düzeyde temsil edebilecek sayı göz önüne alınarak belirlenmiştir. Saha çalışmaları literatür verileri neticesinde elde edilen *D. marginatus* kenelerinin bölgedeki aktiviteleri baz alınarak 2021 yılı Eylül-Kasım ayları ve 2022 yılı Mart-Haziran ayları arasında yağmursuz ve karsız günlerde iki ile üç gün arasında seferler düzenleyip, yaklaşık 78 km² daire içerisindeki alandan mümkün olduğunca dağınık ve farklı alt lokasyonlardan olmak üzere olmak üzere her bir ana lokasyon alanından yukarıda belirtilen sayılarda konak arayan aç *D. marginatus* erişkinlerini araziden toplanmıştır. *D. marginatus* örneklerinin toplanması amacıyla 1,5 x 1 m ebatlarında beyaz renkteki pamuklu bez parçasının gündüz saatlerinde vejetasyonun üzerinde sürüklenmesi (bez sürme tekniği, dragging) işlemi ve gözle-görerek toplama ile gerçekleştirilerek her 10 m'de ters çevirmek suretiyle beze gelen keneler toplanmıştır.

Her bir lokasyondan toplanan keneler ayrı vida kapaklı (ağız hava alacak şekilde delinmiş) plastik (falcon) tüplere konularak üzeri etiketlenmiş olup aynı zamanda bir el GPS cihazı yardımıyla toplanma yerinin noktasal koordinatları kaydedilmiştir. Toplanan keneler aynı gün içerisinde uygun koşullar altında morfolojik ve moleküler çalışmaların yapılması amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında bulunan Keneler ve Kene-Kaynaklı Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı'na nakledilmiştir.

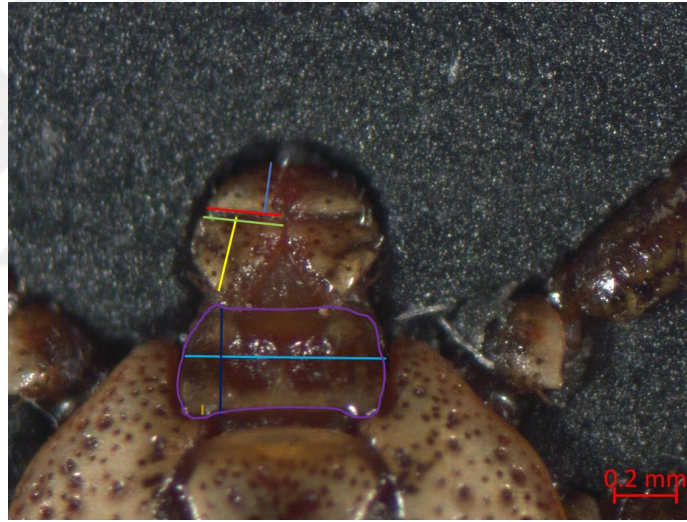
2.2. Kenelerin Morfolojik Analizleri ve Tür Tayini

Laboratuvara getirilen kenelerin +13°C ayarındaki bir inkübatöre geçici olarak konulduktan sonra aynı gün içerisinde morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Morfolojik tür identifikasyonu stereo mikroskop (Stemi 2000-C, Zeiss, Almanya) (üzerine montelenmiş AxioCam dijital kamera ve ZEN yazılımı ile birlikte) altında morfolojik kriterlere göre (Arthur, 1960; Estrada-Pena ve Estrada-Pena, 1991; Estrada-Pena ve ark., 2004; Estrada-Pena ve ark., 2017; Filippova, 1997; Filippova ve Plaksina, 2005 ve Pomerantzev, 1950) tür bazında yapılmıştır. Tür tayini sonucunda *D. marginatus* olarak teşhis edilen keneler detaylı morfolojik analize tabi tutulmuştur. Detaylı morfolojik analiz kapsamında;

- a. İdiosomanın uzunluğu, genişliği (hem göz hem de feston hizasında) ve alanı, merkez feston genişliği, skutum uzunluğu, genişliği ve alanı (Şekil 2.2.)
- b. 2. ve 3. palp segmentlerinin uzunluk ve genişliği, basis kapituli uzunluğu, genişliği, alanı ve kornua uzunluğu (Şekil 2.3.)



Şekil 2.2. İdiosoma, skutum ve merkez feston ölçümü (Kırmızı çizgi: idiosoma boyu, Altın çizgi: İdiosoma eni(göz) ve skutum eni, Açık yeşil çizgi: İdiosoma eni(feston), Yeşil çizgi: İdiosoma alanı, Açık mavi çizgi: Skutum alanı, Koyu mavi çizgi: Skutum boyu ve Sarı çizgi: Merkez feston eni ölçümünü temsil etmektedir) (skala 1mm).



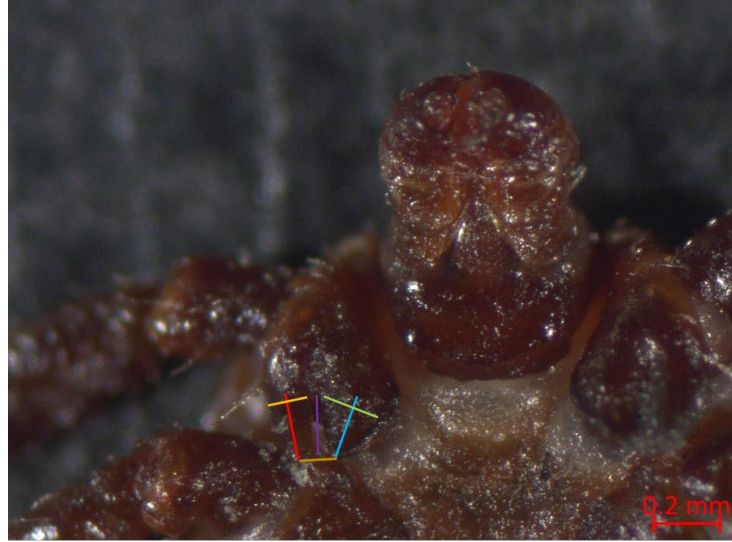
Şekil 2.3. Palp eklemleri ve basis kapituli ölçümü (Kırmızı çizgi: 3. Palp eklemi eni, Açık mavi çizgi: 3. Palp eklemi boyu, Açık yeşil çizgi: 2. Palp eklemi eni, Sarı çizgi: 2. Palp eklemi boyu, Koyu mavi çizgi: Basis kapituli boyu, Açık mavi çizgi: Basis kapituli eni, Mor çizgi: Basis kapituli alanı ve Altın çizgi: Kornua boyunu temsil etmektedir) (skala 0,2 mm).

c. 4. koksanın uzunluğu, genişliği ve alanı (Şekil 2.4.)

d. 1. koksa internal ve eksternal spurların uzunluğu, genişliği, yarık uzunluğu ve uzaklığı (Şekil 2.5.)

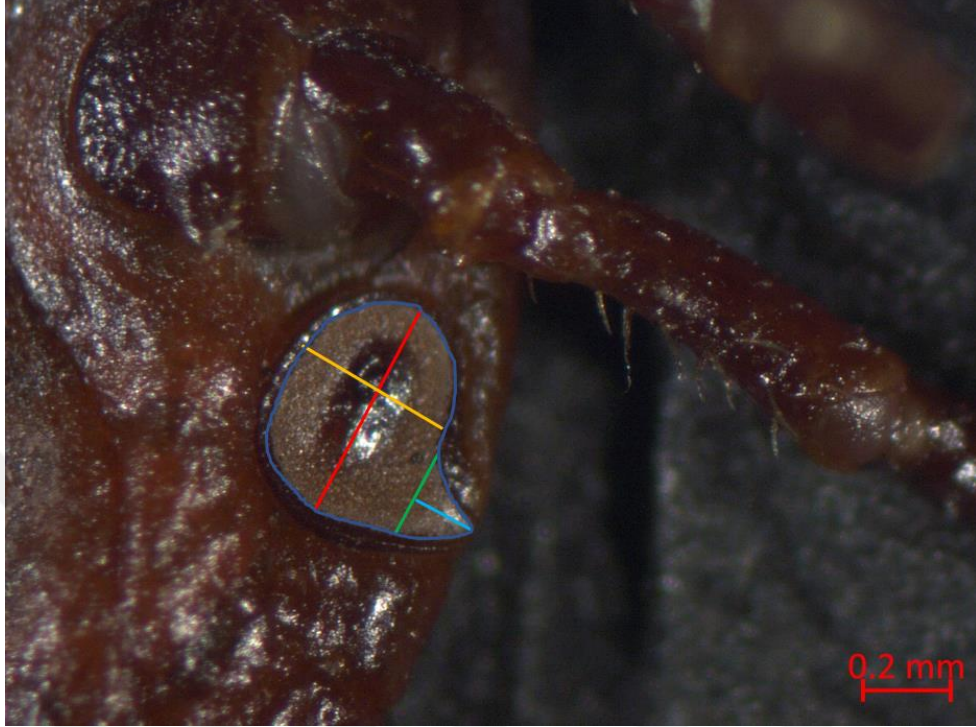


Şekil 2.4. 4. koksanın ölçümü (Kırmızı çizgi: 4. koksanın boyu, Altın çizgi: 4. koksanın eni ve Koyu mavi çizgi: 4. koksanın alanını temsil etmektedir) (skala 1 mm).



Şekil 2.5. 1. koksadaki internal ve eksternal spurların ölçümü (Kırmızı çizgi: eksternal spur boyu, Sarı çizgi: Eksternal spur eni, Açık mavi çizgi: İnternal spur boyu, Açık yeşil çizgi: İnternal spur eni, Mor çizgi: Yarık uzunluğu ve Altın çizgi: Yarık uzaklığını temsil etmektedir) (skala 0,2 mm).

e. Spirakulum uzunluğu, genişliği ve alanı (Şekil 2.6.) hesaplanmıştır.



Şekil 2.6. Spirakulum ölçümü (Kırmızı çizgi: Büyük kısmın boyu, Sarı çizgi: Büyük kısmın eni, Yeşil çizgi: Küçük kısmın boyu, Açık mavi çizgi: Küçük kısmın eni ve Koyu mavi çizgi: Spirakulum alanını temsil etmektedir) (skala 0,2).

Araziden örneklenen her *D. marginatus* bireyi için ayrı ayrı ölçüm ve hesaplamalar yapıldıktan sonra elde edilen veriler kaydedilmiştir. Bunun yanı sıra farklı morfolojik yapılar açısından dişilerde, porose arae, genital açıklık, alloskutum yapıları da kaydedilmiştir. Her iki cinsiyette ise nakış görüntülerindeki farklılık (renk ve desen açısından), bacak segmentlerindeki farklılık, spirakulum şekli ile koksal dikenlerin yapısı da kaydedilmiştir. Her bir örnek için detaylı belirtilen morfolojik yapıların çoklu fotoğrafları çekilerek kaydedilmiştir. Akabinde her bir kene yüzeyindeki olası katı çevresel partiküllerden uzaklaştırma amacıyla etanol ve DNase/RNase su ile yıkanmış ve steril kurutma kağıdında kurutularak akabinde steril bir tüp içerisine konulup moleküler analizler yapılmaya kadar -80°C’de saklanmıştır.

2.3. Kenelerden Nükleik Asit Ekstraksiyonu ve PCR Analizleri

Morfolojik analizi tamamlanan keneler bireysel olarak seramik boncuklar ve lizis buffer solüsyonu ihtiva eden tüplerin içerisine konularak bir soğutmalı homojenizatör (SpeedMill PLUS, Analytik Jena, Jena, Almanya) yardımıyla homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizatlar kullanılarak, keneler için optimize edilmiş ticari bir kit vasıtasıyla (blackPREP Tick DNA/RNA kit, Analytik Jena) her bir örnekten genomik DNA elde edilmiştir. Ekstrakte edilen DNA örnekleri -20°C’de PCR analizleri yapılana kadar muhafaza edilmiştir. Elde edilen DNA örnekleri kullanılarak kenelerin mitokondriyal genomunda yer alan COI geninin yaklaşık 850 bp’lik bölgesini (barkod bölgesi) amplifiye eden PCR analizleri(Song ve ark., 2011) Biometra TProfessional (Analytik Jena) cihazında yapılmıştır. Genetik analiz kapsamında HCO2064 (5'-GGT GGG CTC ATA CAA TAA ATC C-3') ve HCO1215 (5'-GCC ATT TTA CCG CGA TGA-3') primerleri kullanılmıştır. PCR toplam olarak 30 mikrolitre (µl) hacimde yapılmıştır. Her reaksiyonda 3 µl genomik DNA, kullanılmıştır. Termal profil; 95 °C’de 2 dk. enzim aktivasyon basamağı ve takiben 35 siklus 95 °C’de 30 sn, 48 °C’de 30 sn, 72 °C’de 50 sn olarak ayarlanmıştır. PCR ürünlerinden 5 µl alındıktan sonra %1,5’lik agaroz jelde yürütülmüş ve UV altında uygun büyüklükteki bantların varlığı kontrol edilmiştir.

2.4. Sekans ve Benzerlik Analizleri

Elde edilen ampliconlar ticari bir kit (PureLink™ Quick Gel Extraction Kit, Invitrogen, Löhne, Almanya) yardımıyla pürifiye edildikten sonra Sanger sekansı yöntemi ile ticari bir kit (BigDye™ Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) kullanılarak Applied Biosystems™ 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) cihazında çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Elde edilen ham sekans verileri kromatogram’da kontrol edilmiş, düzenlenmiştir ve her iki yön birleştirilmiştir. Daha sonra bu diziler GenBank (National Center for Biotechnology Information, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) veri tabanında

nükleotid karşılaştırma/benzerlik analizleri (BLASTn) (01/10/2022) yapılarak identifikasyonları ortaya konmuştur.

2.5. Popülasyon Genetiği Analizleri

Çalışma kapsamında, COI gen-tabanlı popülasyon genetiği analizlerinde; nükleotid çeşitliliği (π), gözlemlenen haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), haplotipler arasındaki ilişkiler ve haplotiplerin popülasyonlara dağılımı DnaSP v.5.10.1(Rozas ve ark, 2017) hesaplanmıştır. Ayrıca popülasyondaki gen seçimi ve demografik değişimlerin test edilmesinde, Tajima'nın D ve F_u ve Li' nin $D-F$ istatistiği kullanılmıştır. Bunun için analiz sırasında sekans verilerinden elde edilen popülasyondaki ikili nükleotid farklılığının ortalaması (K) ve ayırım alanlarının sayısı (S) değerlerinden yararlanılmıştır. Popülasyonlar arasındaki ve popülasyonlar içerisindeki genetik varyansı ve ikili genetik farklılığı (F_{ST}) hesaplamak için moleküler varyans analizi (AMOVA) Arlequin v3.5.2.2(Excoffier ve Lischer, 2015) programı kullanılarak 1000 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Popülasyonların varyans analizleri Weir ve Cockerham(1984) tarafından geliştirilen varyans analizi ile hesaplanmıştır. Haplotipler arasındaki farklılık ve network analizi için PopART v1.7(Leigh ve Bryant, 2015) programından yararlanılmıştır. Medyan birleştirme ağı(Bandelt ve ark, 1999) yöntemi ile haplotiplerdeki mutasyon düzeyleri dikkate alınarak birbirleriyle bağlantılarının gösterilmesini sağlayan ilişki ağları oluşturulmuştur.

2.6. Örneklerin GenBank Veritabanına Kaydı

Her bir örneğe ait birleştirilmiş parsiyel COI gen bölgesi verisi GenBank veri tabanına yeni kayıt olarak OP581250-OP581329 aksesyon kodları altında

kaydedilmiştir. Tüm örneklere ait erişim numaralarını gösteren çizelge (Çizelge 2.1) aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Lokasyonlara göre kenelerin dağılımı ve erişim numaraları.

Lokasyon	Örnek Adı	Erişim Numaraları
1. Lokasyon (Süleler-Berçinata Ana Lokasyonu)	Cm-111	OP581250
	Cm-112	OP581251
	Cm-131	OP581252
	Cm-141	OP581253
	Cm-156	OP581254
2. Lokasyon (Bardakçılar-Avdan)	Cm-221	OP581255
	Cm-231	OP581256
	Cm-232	OP581257
	Cm-241	OP581258
	Cm-242	OP581259
	Cm-243	OP581260
3. Lokasyon (Eğerli Köyler)	Cm-313	OP581261
	Cm-316	OP581262
	Cm-322	OP581263
	Cm-325	OP581264
	Cm-351	OP581265
4. Lokasyon (Yıldırım Köyler)	Cm-431	OP581266
	Cm-433	OP581267
	Cm-441	OP581268
	Cm-451	OP581269
	Cm-452	OP581270
5. Lokasyon (Kırköy-Üçbaş)	Cm-541	OP581271
	Cm-542	OP581272
	Cm-543	OP581273
	Cm-551	OP581274
	Cm-552	OP581275
	Cm-561	OP581276
	Cm-567	OP581277
6. Lokasyon (Doğmuşören)	Cm-611	OP581278
	Cm-612	OP581279
	Cm-614	OP581280
	Cm-631	OP581281
	Cm-637	OP581282
	Cm-641	OP581283

Çizelge 2.1. Devam. Lokasyonlara göre kenelerin dağılımı ve erişim numaraları.

7. Lokasyon (Uğurlu)	Cm-722	OP581284
	Cm-751	OP581285
	Cm-757	OP581286
	Cm-761	OP581287
	Cm-763	OP581288
8. Lokasyon (Yeşilkent)	Cm-813	OP581289
	Cm-816	OP581290
	Cm-831	OP581291
	Cm-883	OP581292
	Cm-8101	OP581293
9. Lokasyon (Çavundur-Dağkalfat)	Cm-911	OP581294
	Cm-921	OP581295
	Cm-923	OP581296
	Cm-951	OP581297
	Cm-954	OP581298
10. Lokasyon (Ovacık)	Cm-1041	OP581299
	Cm-1042	OP581300
	Cm-1045	OP581301
	Cm-1051	OP581302
	Cm-10111	OP581303
11. Lokasyon (Karadana)	Cm-1141	OP581304
	Cm-1171	OP581305
	Cm-1172	OP581306
	Cm-1173	OP581307
	Cm-1175	OP581308
12. Lokasyon (Elecik)	Cm-1221	OP581309
	Cm-1224	OP581310
	Cm-1232	OP581311
	Cm-1235	OP581312
	Cm-1241	OP581313
13. Lokasyon (Hacıköy-Dağdemir)	Cm-1322	OP581314
	Cm-1323	OP581315
	Cm-1371	OP581316
	Cm-1381	OP581317
	Cm-1387	OP581318

Çizelge 2.1. Devam. Lokasyonlara göre kenelerin dağılımı ve erişim numaraları.

14. Lokasyon (Ahmetadil)	Cm-1411	OP581319
	Cm-1412	OP581320
	Cm-1417	OP581321
	Cm-1431	OP581322
	Cm-1432	OP581323
	Cm-1433	OP581324
15. Lokasyon (Aktepe-Buğra)	Cm-1531	OP581325
	Cm-1532	OP581326
	Cm-1533	OP581327
	Cm-1534	OP581328
	Cm-1535	OP581329

3. BULGULAR

3.1. Lokasyonlardan Kenelerin Toplanması

Tez çalışması kapsamında 2021 yılı Eylül-Kasım ayları ve 2022 yılı Mart-Haziran ayları arasında 15 lokasyonlardan olmak üzere toplam 80 *D. marginatus* erişkinleri araziden bez ile sürüklenme ve gözle görerek toplama şeklinde örneklenmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Kenelerin lokasyonlara göre dağılımı, erişim numaraları ve gruplandıkları haplotipler.

Lokasyon	Örnek Adı	Erişim Numaraları	Gruplandıkları Haplotipler
1. Lokasyon (Süleler-Berçinata Ana Lokasyonu)	Cm-111	OP581250	H30
	Cm-112	OP581251	H28
	Cm-131	OP581252	H15
	Cm-141	OP581253	H30
	Cm-156	OP581254	H21
2. Lokasyon (Bardakçılar-Avdan)	Cm-221	OP581255	H30
	Cm-231	OP581256	H30
	Cm-232	OP581257	H30
	Cm-241	OP581258	H21
	Cm-242	OP581259	H30
3. Lokasyon (Eğerli Köyler)	Cm-243	OP581260	H28
	Cm-313	OP581261	H24
	Cm-316	OP581262	H29
	Cm-322	OP581263	H28
	Cm-325	OP581264	H30
4. Lokasyon (Yıldırım Köyler)	Cm-351	OP581265	H30
	Cm-431	OP581266	H4
	Cm-433	OP581267	H30
	Cm-441	OP581268	H17
	Cm-451	OP581269	H23
5. Lokasyon (Kırköy-Üçbaş)	Cm-452	OP581270	H29
	Cm-541	OP581271	H1
	Cm-542	OP581272	H14
	Cm-543	OP581273	H28
	Cm-551	OP581274	H13
6. Lokasyon (Doğmuşören)	Cm-552	OP581275	H30
	Cm-561	OP581276	H21
	Cm-567	OP581277	H3
	Cm-611	OP581278	H16
	Cm-612	OP581279	H30
	Cm-614	OP581280	H16
	Cm-631	OP581281	H30
	Cm-637	OP581282	H30
	Cm-641	OP581283	H30

Çizelge 3.1. Devam. Kenelerin lokasyonlara göre dağılımı, erişim numaraları ve gruplandıkları haplotipler.

7. Lokasyon (Uğurlu)	Cm-722	OP581284	H30
	Cm-751	OP581285	H30
	Cm-757	OP581286	H30
	Cm-761	OP581287	H26
	Cm-763	OP581288	H24
8. Lokasyon (Yeşilkent)	Cm-813	OP581289	H28
	Cm-816	OP581290	H28
	Cm-831	OP581291	H28
	Cm-883	OP581292	H28
	Cm-8101	OP581293	H25
9. Lokasyon (Çavundur-Dağkalfat)	Cm-911	OP581294	H22
	Cm-921	OP581295	H30
	Cm-923	OP581296	H18
	Cm-951	OP581297	H19
	Cm-954	OP581298	H28
10. Lokasyon (Ovacık)	Cm-1041	OP581299	H28
	Cm-1042	OP581300	H30
	Cm-1045	OP581301	H30
	Cm-1051	OP581302	H2
	Cm-10111	OP581303	H5
11. Lokasyon (Karadana)	Cm-1141	OP581304	H6
	Cm-1171	OP581305	H8
	Cm-1172	OP581306	H28
	Cm-1173	OP581307	H20
	Cm-1175	OP581308	H30
12. Lokasyon (Elecik)	Cm-1221	OP581309	H30
	Cm-1224	OP581310	H28
	Cm-1232	OP581311	H30
	Cm-1235	OP581312	H10
	Cm-1241	OP581313	H21
13. Lokasyon (Hacıköy-Dağdemir)	Cm-1322	OP581314	H28
	Cm-1323	OP581315	H28
	Cm-1371	OP581316	H7
	Cm-1381	OP581317	H30
	Cm-1387	OP581318	H27
14. Lokasyon (Ahmetadil)	Cm-1411	OP581319	H30
	Cm-1412	OP581320	H24
	Cm-1417	OP581321	H22
	Cm-1431	OP581322	H23
	Cm-1432	OP581323	H11
15. Lokasyon (Aktepe-Buğra)	Cm-1433	OP581324	H28
	Cm-1531	OP581325	H9
	Cm-1532	OP581326	H12
	Cm-1533	OP581327	H29
	Cm-1534	OP581328	H29
	Cm-1535	OP581329	H28

3.2. Morfolojik Analizler

Tez çalışması kapsamında İç Anadolu'nun kuzeyinde yer alan 15 lokasyondan örneklenen toplam 80 *D. marginatus* erişkininin morfolojik özellikleri göz önüne alınarak öncelikle popülasyonlar arasında değerlendirilerek karşılaştırılmaları yapılmıştır. Morfolojik bulgular lokasyonlara göre aşağıda sunulmuştur.

3.2.1. '1. Lokasyon' (Süleler-Berçinçatak ana lokasyonu)

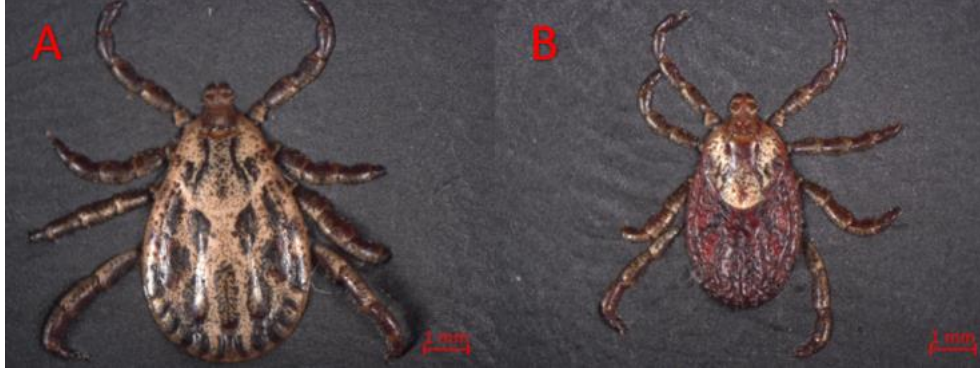
Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek kenelerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişiler kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde dişi bireylerde desen görüntüsü açısından herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak erkeklere bakıldığında, bireylerden birisinin desen çizgileri festonlara doğru hafif bir şekilde incelerken, diğer erkek bireyde ise desenin aşırı yoğun olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. 1. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki ince desen, B: Erkek bireydeki yoğun desen) (skala, 1mm (A), 1 mm (B)).

3.2.2. '2. Lokasyon' (Bardakçılar-Avdan ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkeklerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişiler kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde dişi bireylerde desen görüntüsü açısından herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak erkeklere bakıldığında, bireylerden birisinin desen çizgilerinin hafif kalın olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte dişi kenelerden birisinin diğer dişi bireylere kıyasla küçük bir kene olduğu görülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 2. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (**A:** Erkek bireydeki hafif kalın desen çizgileri, **B:** Dişi bireyin vücut büyüklüğü) (skala 1 mm (A), 1 mm (B)).

3.2.3. ‘3. Lokasyon’ (Eğerli Köyler ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişiler kendi aralarında desen görüntüleri yönünden incelendiğinde hem dişi hem de erkek bireylerde herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak dişilere bakıldığında, bireylerden birisinde spirakulum şeklinde farklılık olduğu görülmüştür (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. 3. Lokasyondaki kene spirakulum şeklindeki farklılık (skala 0,5 mm).

3.2.4. ‘4. Lokasyon’ (Yıldırım Köyler ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişi bireylerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde

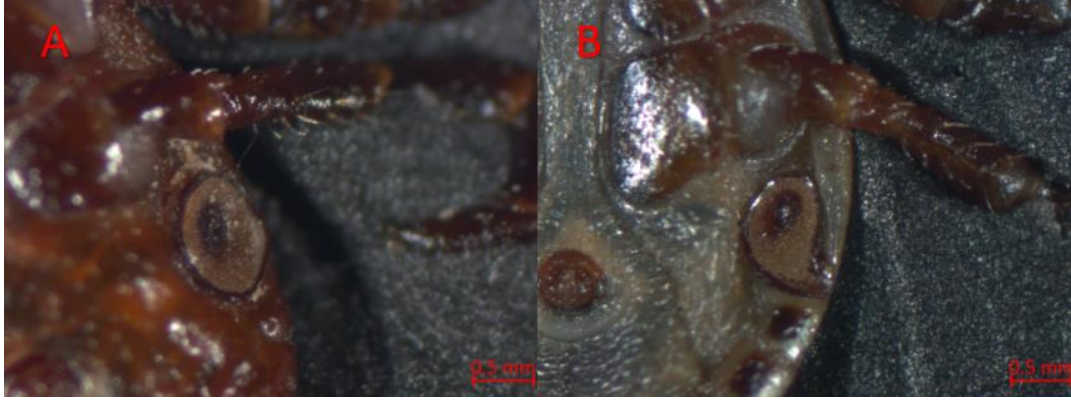
hem dişi hem de erkek bireylerde herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak dişilere bakıldığında, bireylerden birisinde eksternal ve internal spurlar arasında bulunan yarığın daha kısa olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte erkek kenelerden birisinin diğer erkeklere kıyasla daha büyük olduğu görülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. 4. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Dişi bireydeki eksternal ve internal spur arasındaki yarık, B: Erkek bireyin vücut büyüklüğü) (skala 0,2 mm (A), 1 mm (B)).

3.2.5. ‘5. Lokasyon’ (Kırköy-Üçbaş ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde hem dişi hem de erkek bireylerde herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ayrıca her iki cinsiyette de basis kapitulumun üzerindeki desenlerin yoğun olduğu görülmüştür. Ancak dişilere bakıldığında, bireylerden birisinde spirakulum şeklinde farklılık olduğu görülmüştür. Benzer olarak erkek bireylerin birisinde de spirakulum şeklinde farklılık görülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. 5. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (**A:** Dişi bireydeki spirakulum, **B:** Erkek bireydeki spirakulum) (skala 0,5 mm(A), 0,5 mm (B)).

3.2.6. ‘6. Lokasyon’ (Doğmuşören ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerde herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak dişi bireylerin birisinde skutum üzerinde siyah renkli bölgenin oldukça az olduğu görülmüştür (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. 6. Lokasyondaki dişi kenenin skutum şekli (skala 0,5 mm).

3.2.7. ‘7. Lokasyon’ (Uğurlu ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve conskutum desenleri gümüş

renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen renginin daha sönük olduğu, dişi bireylerin birisinde ise hem gümüş desen renginin sönük ve skutum üzerinde siyah renkli bölgenin oldukça fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.7). Boyut olarak incelendiklerinde, her iki cinsiyete ait birer kenenin de diğerk kenelere oranla büyük olduğu görülmüştür.



Şekil 3.7. 7. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (**A:** Erkek bireydeki sönük desen rengi, **B:** Dişi bireydeki sönük desen rengi ve skutum üzerindeki siyah bölge) (skala 1 mm (A), 1 mm (B)).

3.2.8. '8. Lokasyon' (Yeşilkent ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak bariz bir anomali gözlemlenmemiştir. Ancak erkek bireylerin birisinde dört-beş ve yedi-sekiz festonların birleşik olduğu gözlemlenmiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin daha ince, dişi bireylerin birisinde ise skutum üzerinde siyah renkli bölgenin oldukça fazla olduğu gözlemlenmiştir. Boyut olarak incelendiklerinde, erkek bireylerinden birisinin diğerk kenelere oranla büyük olduğu görülmüştür (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. 8. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (**A:** Erkek bireydeki festoon anomalisi, **B:** Erkek bireydeki ince desen çizgileri, **C:** Dişi bireyin skutumu üzerindeki siyah bölge) (skala 0,5 mm (A), 1 mm (B), 0,5 mm (C)).

3.2.9. ‘9. Lokasyon’ (Çavundur-Dağkalfat ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişiler kendi aralarında desen görüntüleri açısından incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin daha ince olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.9).

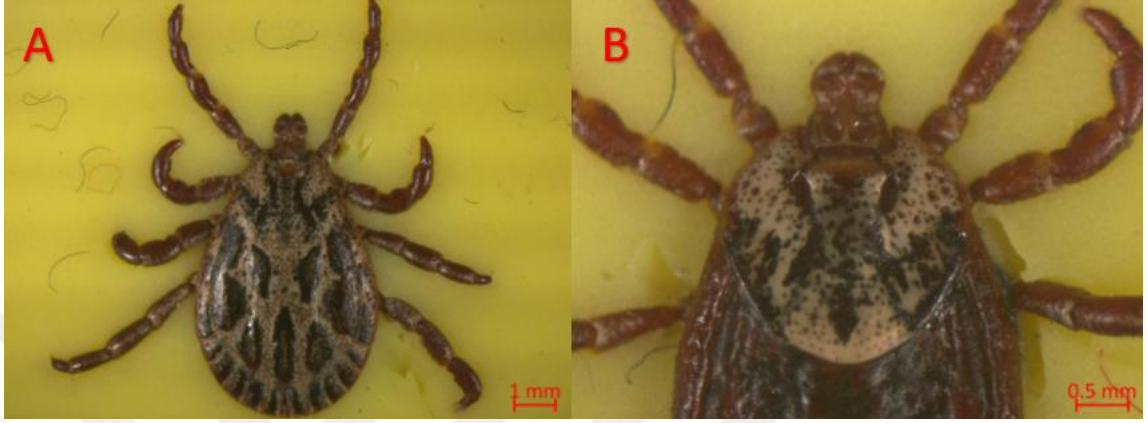


Şekil 3.9. 9. Lokasyondaki erkek kenenin ince desen çizgileri (skala 1 mm).

3.2.10. ‘10. Lokasyon’ (Ovacık ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş

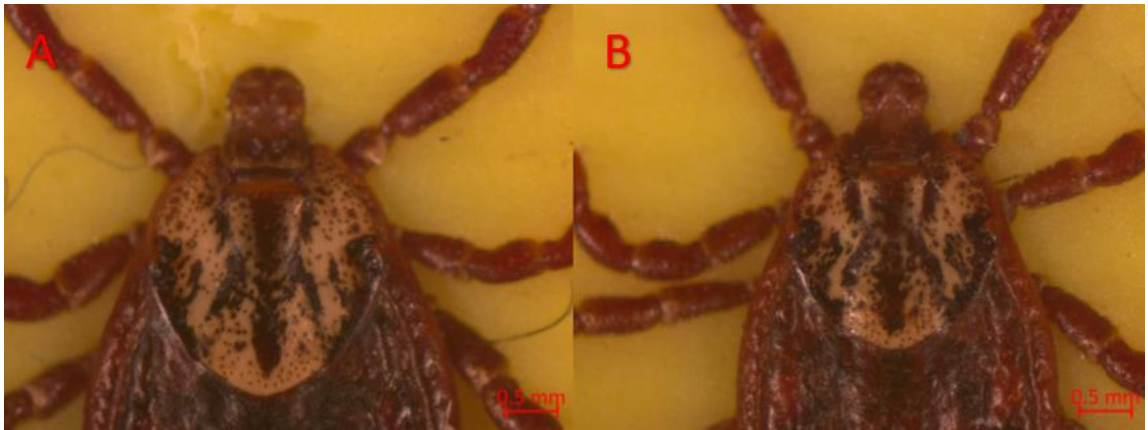
renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin hafif kalın olduğu, dişi bireylerin birisinde ise skutum üzerinde siyah renkli bölgenin oldukça fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. 10. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki kalın desen çizgileri, B: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge) (skala 1 mm (A), 0,5 mm (B)).

3.2.11. ‘11. Lokasyon’ (Karadana ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Ancak dişi bireylerin ikisinde skutum üzerindeki siyah renkli bölgenin fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. 11. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge, B: Dişi bireyde skutum üzerindeki siyah bölge) (skala 0,5 mm (A), 0,5 mm (B)).

3.2.12. '12. Lokasyon' (Elecik ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişilerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin hafif ince olduğu, diğer bireyde ise festonlara doğru desenin kaybolduğu, dişi bireylerin birisinde ise festonun dorsal yüzeyinde sarı renkte bir bölgenin olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. 12.Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek bireydeki ince desen çizgileri, B: Erkek bireyde festonlara doğru desen yapısı, C: Dişi bireyde sağ festonların üzerinde sarı renkteki bölge) (skala 1 mm (A), 1 mm (B), 0,5 mm (C)).

3.2.13. '13. Lokasyon' (Hacıköy-Dağdemir ana lokasyonu)

Bireylerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkek bireylerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişi bireylerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin hafif ince olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. 13. Lokasyondaki erkek kenenin ince desen çizgileri (skala 1 mm).

3.2.14. '14. Lokasyon' (Ahmetadil ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkeklerde skutum ve konskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişi bireylerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde gümüş desen çizgilerinin hafif ince olduğu, dişi bireylerin birisinde ise skutum üzerinde siyah renkli bölgenin fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.14). Ayrıca dişi bireylerden birisinin, diğer bireylere kıyasla küçük olduğu görülmüştür.



Şekil 3.14. 14. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek kenenin ince desen çizgileri, B: Dişi kenenin skutum üzerindeki siyah bölge) (skala 1 mm (A), 0,5 mm (B)).

3.2.15. '15. Lokasyon' (Aktepe-Buğra ana lokasyonu)

Örneklerin hiçbirinde morfolojik olarak herhangi bir anomali gözlemlenmemiştir. Dişi ve erkeklerde skutum ve conskutum desenleri gümüş renktedir. Erkek ve dişi bireylerin kendi aralarında desen görüntüleri incelendiğinde erkek bireylerin birisinde festonlara doğru gidildikçe sağ bölgedeki desenin kaybolduğu, diğer iki bireyde ise gümüş desen çizgilerinin hafif kalın olduğu gözlemlenmiştir. Dişi bireylerin birisinde ise spirakulum şeklinde farklılık görülmüştür (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. 15. Lokasyondaki kenelerde görülen morfolojik farklılıklar (A: Erkek kenedeki desen çizgileri, B: Erkek kenedeki yoğun desen çizgileri, C: Dişi kenenin spirakulum şekli) (skala 1 mm (A), 1 mm (B), 0,2 mm (C)).

Tüm lokasyonlardan örneklenen keneler morfolojik açıdan değerlendirildiğinde desen renginin gümüş renkli olmasına karşılık 1. 8. 9. 12. 13. ve 14. lokasyonlardan örneklenen erkeklerin bazılarında konskutum üzerinde bulunan desen çizgilerinin daha ince olduğu gözlemlenmiştir. Dişilerde ise 1. ve 6. lokasyonlardan örneklenen bazı kenelerin skutum üzerindeki desen yoğunluğunun fazla olduğu görülmüştür. Her iki cinsiyet için vücut büyüklükleri incelendiğinde dişilerde 2.ve 14. lokasyondaki bazı kenelerin küçük 7. lokasyondaki dişilerin birisinin ise büyük olduğu, bununla birlikte erkeklerde 4. 7. ve 8. lokasyonlardan örneklenen bazı kenelerin diğerlerine göre daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Spirakulum şekilleri göz önünde bulundurulduğunda 3. 5. ve 15. lokasyondaki bazı dişilerde yuvarlak veya yuvarlağa yakın şekilde olduğu gözlemlenmiştir.

3.3. Nükleotid Benzerliği (BLASTn) ve Popülasyon Genetiği Analizleri

3.3.1. Popülasyon Genetiği Analizleri

Popülasyon analizleri yapılmadan önce veri seti hizalanmış ve FASTA formatına dönüştürülmüştür. Ayrıca AMOVA için veri seti ARP formatına göre yeniden düzenlenmiştir. Çalışılan gen bölgesi (mitokondrion) ve genomik durum (haploid) dikkate alınarak program içi düzenlemeler yapıldıktan sonra veri seti üzerinde popülasyon genetiğine yönelik hesaplamalar yapılmıştır. Farklı lokasyonlardan örneklenen popülasyonlardaki bireyler öncelikle kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

3.3.1.1. 1. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

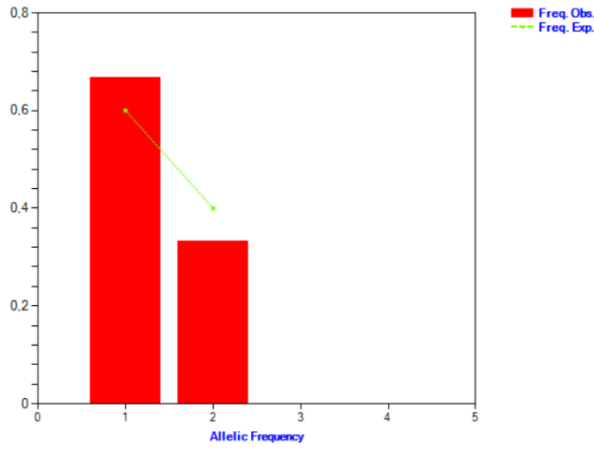
Birinci popülasyonda yer alan bireyler popülasyon genetiği analizleri sonucunda dört haplotipe (H15, H21, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.2). Örnekler içerisinde yalnız bir birey (Cm-131) bir haplotipin (H15) tek örneğini oluşturmaktadır. Yapılan nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.2. 1. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

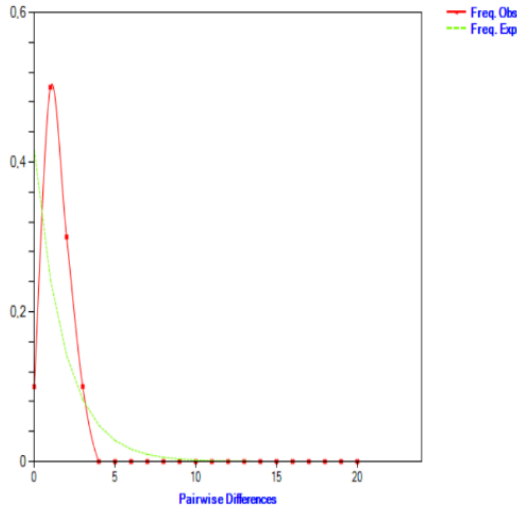
n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,9000	0,02592	0,161	0,00173	-0,17475	-0,17475 -0,17531

Tanım: n=birey sayısı, H=haplotip sayısı, Hd=haplotip çeşitliliği, π =nükleotid çeşitliliği

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında üç ayırım bölgesi olduğu (478. 533. ve 596. nükleotidler) (Şekil 3.16) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden (0,50000) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.17).



Şekil 3.16. 1. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.17. 1. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

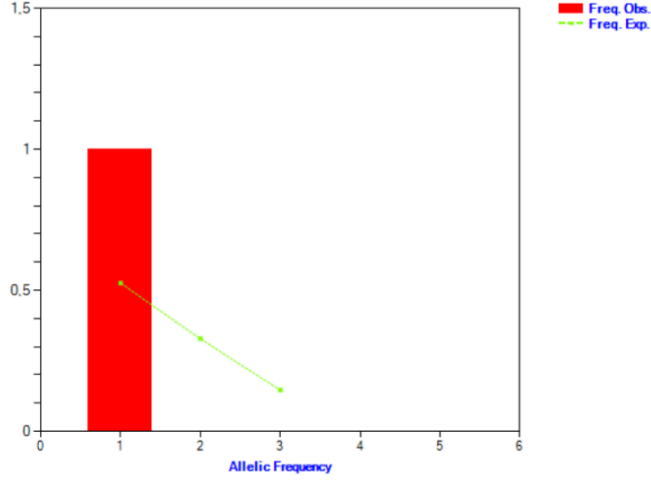
3.3.1.2. 2. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

İkinci popülasyonda bulunan bireylerin popülasyon genetiği analizleri sonucunda üç haplotipe (H21, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.3). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçları incelendiğinde sadece Fu ve Li'nin D ve F değerlerinin istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

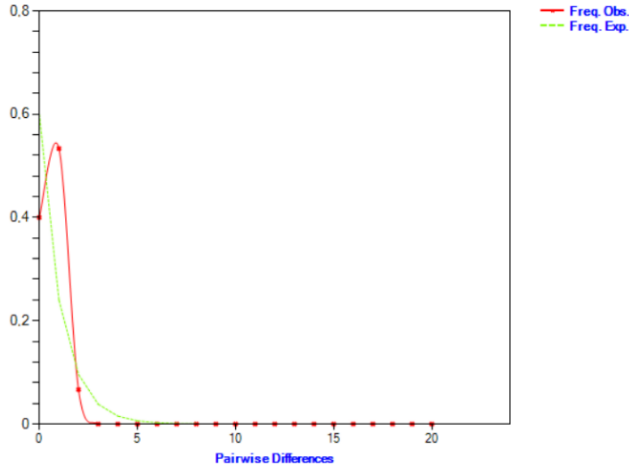
Çizelge 3.3. 2. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
6	3	0,600	0,04630	0,215	0,00082	-1,13197	-1,15529 -1,19511

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında iki ayırım bölgesi olduğu (478. ve 596. nükleotidler) (Şekil 3.18) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden (0,53333) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.19).



Şekil 3.18. 2. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.19. 2. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

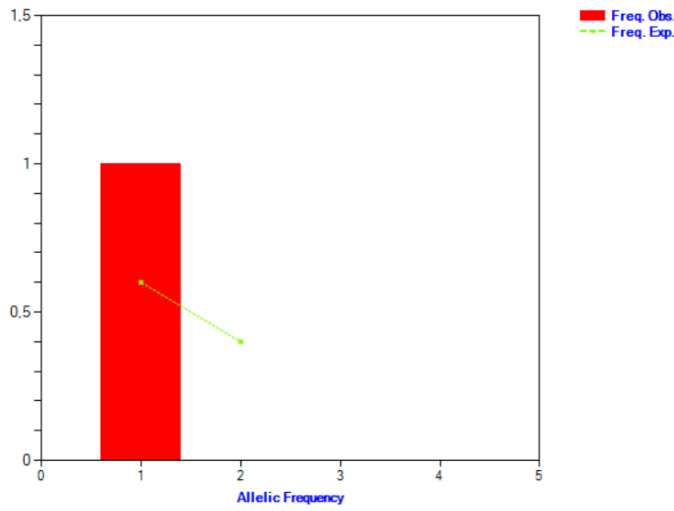
3.3.1.3. 3. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Üçüncü popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda dört haplotipe (H24, H28, H29 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.4). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0.10$) gözlemlenmiştir.

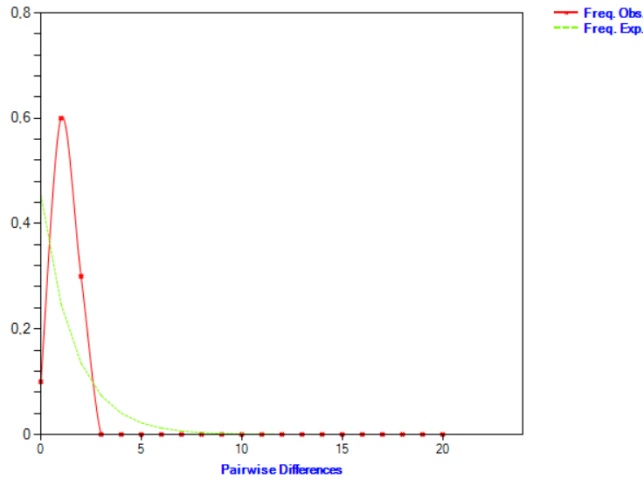
Çizelge 3.4. 3. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,900	0,02592	0,161	0,00148	-1,04849	-1,04849 -1,05189

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında üç ayrım bölgesi olduğu (199. 214 ve 596 ' ncı nükleotidler) (Şekil 3.20) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden (0,60000) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.21)



Şekil 3.20. 3. popülasyonda bireylerin sekanslarındaki ayrım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.21. 3. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

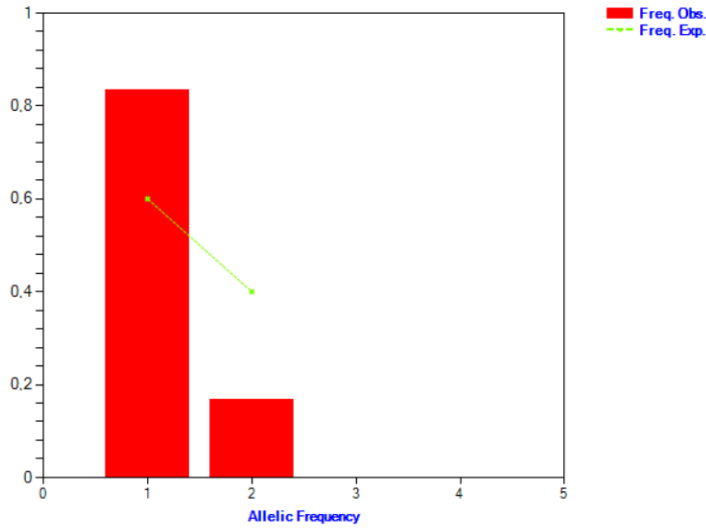
3.3.1.4. 4. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Dördüncü popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda beş haplotipe (H4, H17, H23, H29 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.5). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçları incelendiğinde sadece Fu ve Li'nin D ve F değerlerinin istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

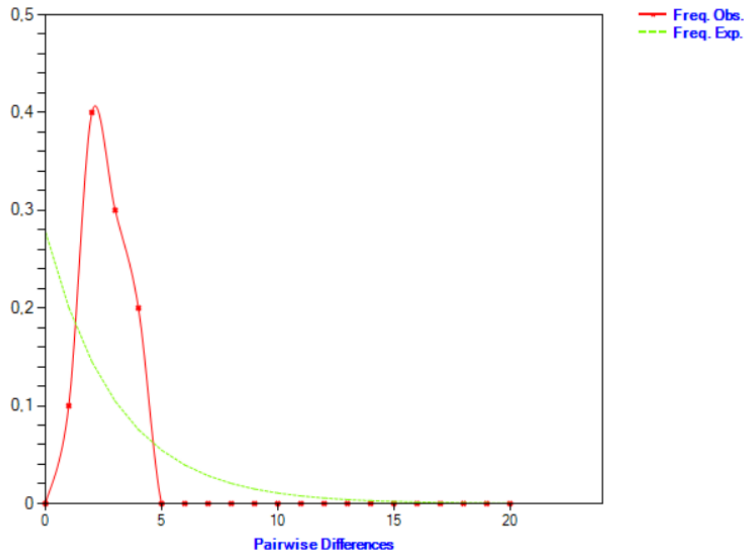
Çizelge 3.5. 4. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	5	1,00000	0,01600	0,126	0,00320	-0,66823	-0,66823 -0,69243

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında altı ayırım bölgesi olduğu (49. 199. 302. 640. 673. ve 596'ncı nükleotidler) (Şekil 3.22) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla iki baz çifti yönünden (0,40000) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.23)



Şekil 3.22. 4. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.23. 4. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

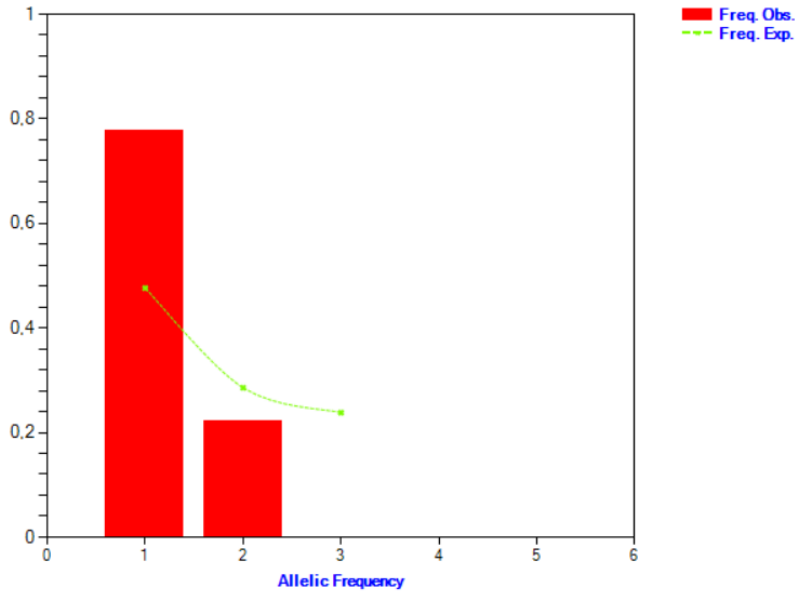
3.3.1.5. 5. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Beşinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda yedi haplotipe (H1, H3, H13, H14, H21, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.6). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

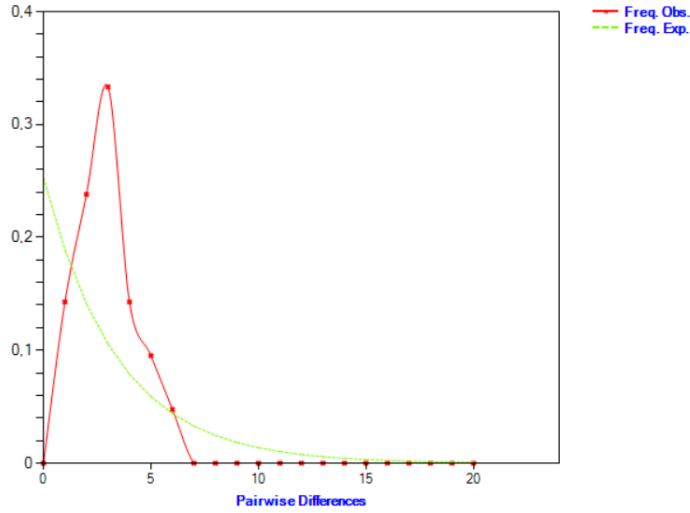
Çizelge 3.6. 5. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
7	7	1,00000	0,00583	0,076	0,00364	-1,04329	-0,97111 -1,08105

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında dokuz ayrım bölgesi olduğu (53. 133. 232. 302. 478. 751. 811. 685. ve 596'nci nükleotidler) (Şekil 3.24) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla üç baz çifti yönünden (0,33333) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.25).



Şekil 3.24. 5. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.25. 5. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

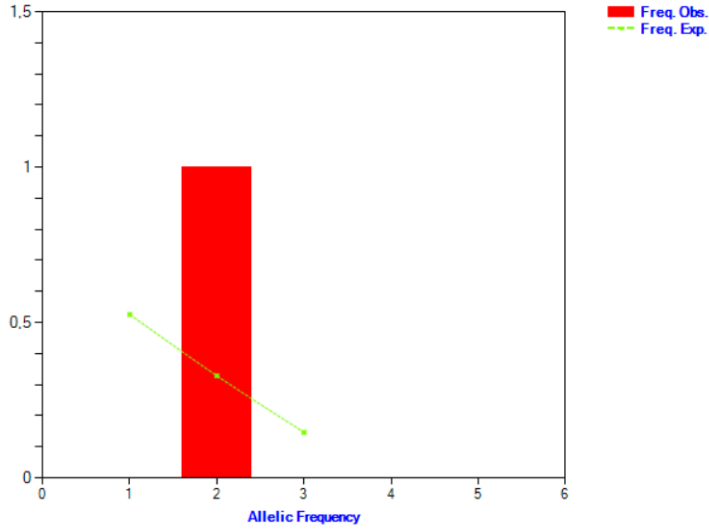
3.3.1.6. 6. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Altıncı popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda iki haplotipe (H16 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.7). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

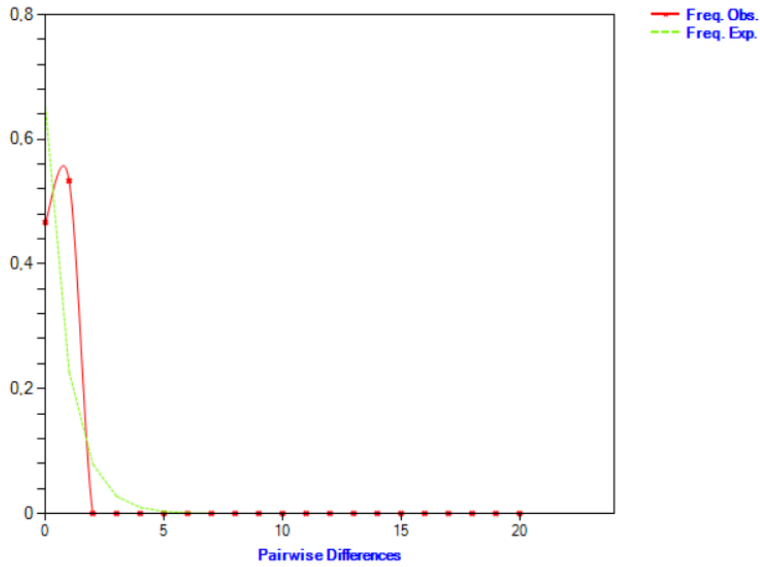
Çizelge 3.7. Altıncı popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
6	2	0,53333	0,02963	0,172	0,00066	0,85057	1,05247 1,02905

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında bir ayırım bölgesi olduğu (596'ncı nükleotid) (Şekil 3.26) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden (0,53333) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.27).



Şekil 3.26. 6. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.27. 6. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

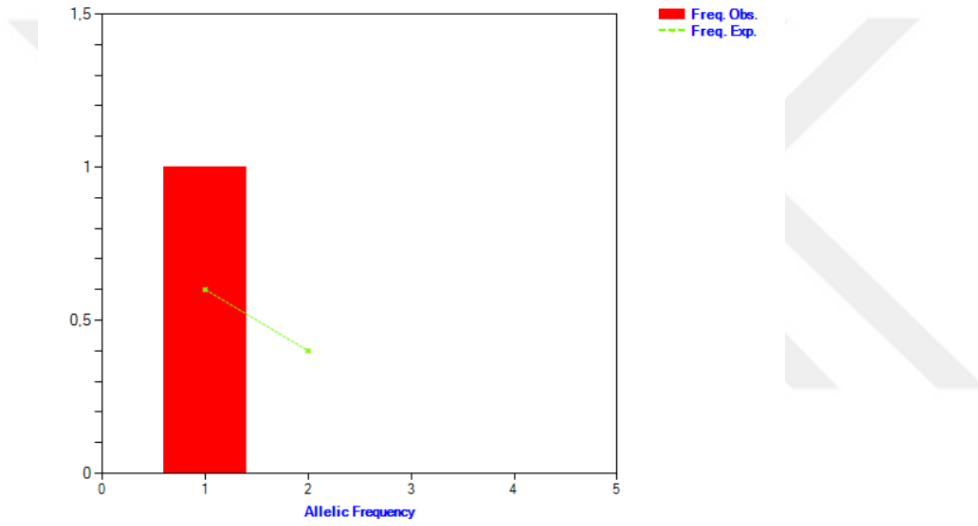
3.3.1.7. 7. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Yedinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda üç haplotipe (H24, H26 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.8). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

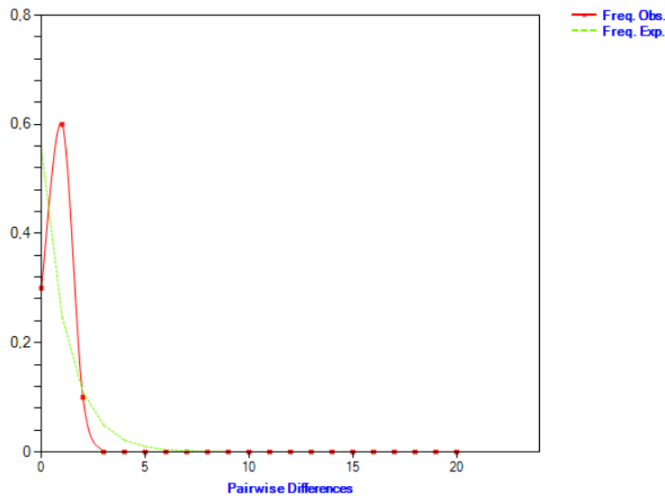
Çizelge 3.8. 7. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	3	0,70000	0,04768	0,218	0,00099	-0,97256	-0,97256 -0,95440

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında iki ayrım bölgesi olduğu (82 ve 214'üncü nükleotidler) (Şekil 3.28) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden (0,60000) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.29).



Şekil 3.28. 7. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayrım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.29. 7. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

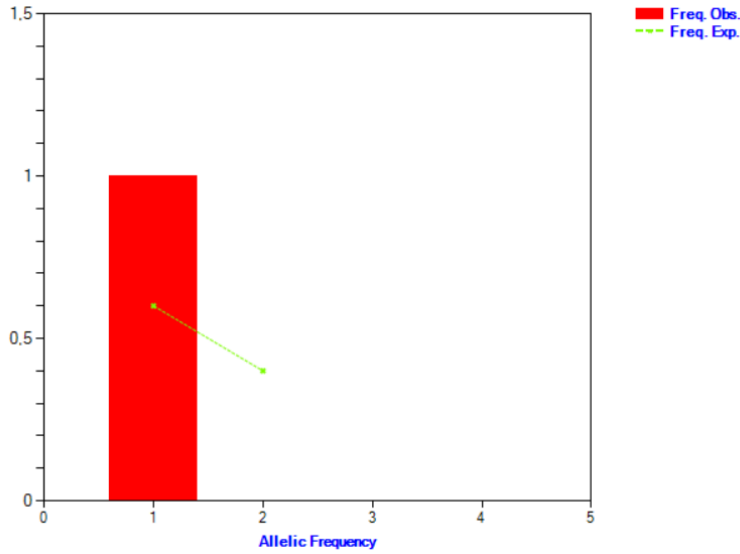
3.3.1.8. 8. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Sekizinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda iki haplotipe (H25 ve H28) ayrılmıştır (Çizelge 3.9). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

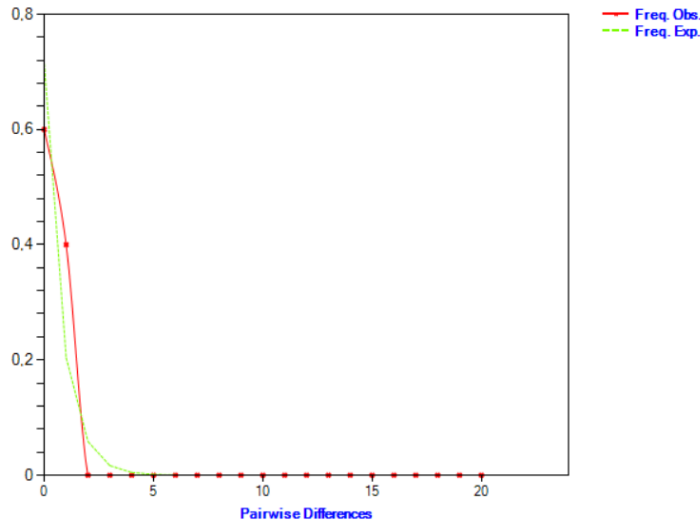
Çizelge 3.9. 8. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	2	0,40000	0,05632	0,237	0,00049	-0,81650	-0,81650 -0,77152

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında bir ayrım bölgesi olduğu (196'ncı nükleotid) (Şekil 3.30) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla birbirine benzer oldukları (0,60000) görülmüştür (Şekil 3.31).



Şekil 3.30. 8. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayrım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.31. 8. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

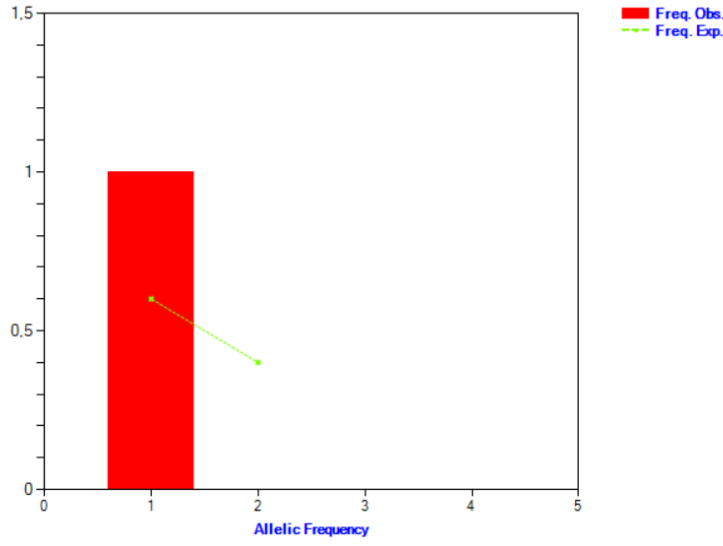
3.3.1.9. 9. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Dokuzuncu popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda beş haplotipe (H18, H19, H22, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.10). Nötralize testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçları incelendiğinde sadece Fu ve Li' nin D ve F değerlerinin istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

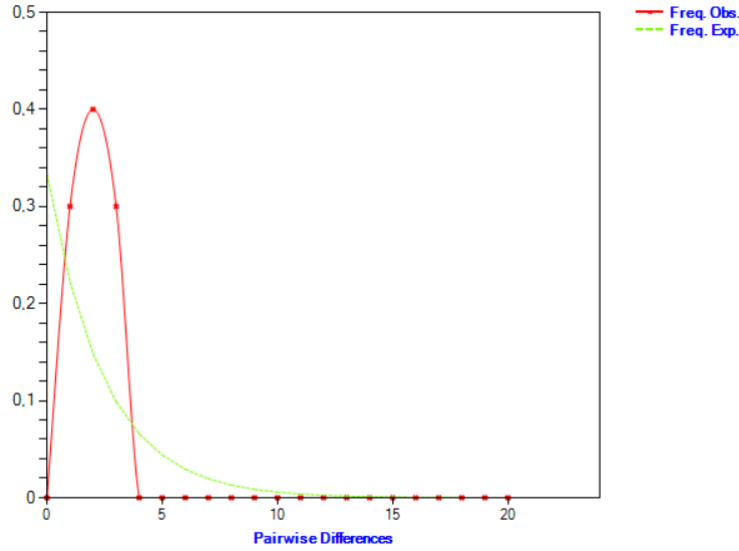
Çizelge 3.10. 9. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	5	1,00000	0,01600	0,126	0,00246	-1,12397	-1,12397 -1,15583

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında beş ayırım bölgesi olduğu (91. 214. 274. 596. ve 685'inci nükleotidler) (Şekil 3.32) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla iki baz çifti yönünden (0,40000) farklılık gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.33).



Şekil 3.32. 9. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.33. 9. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

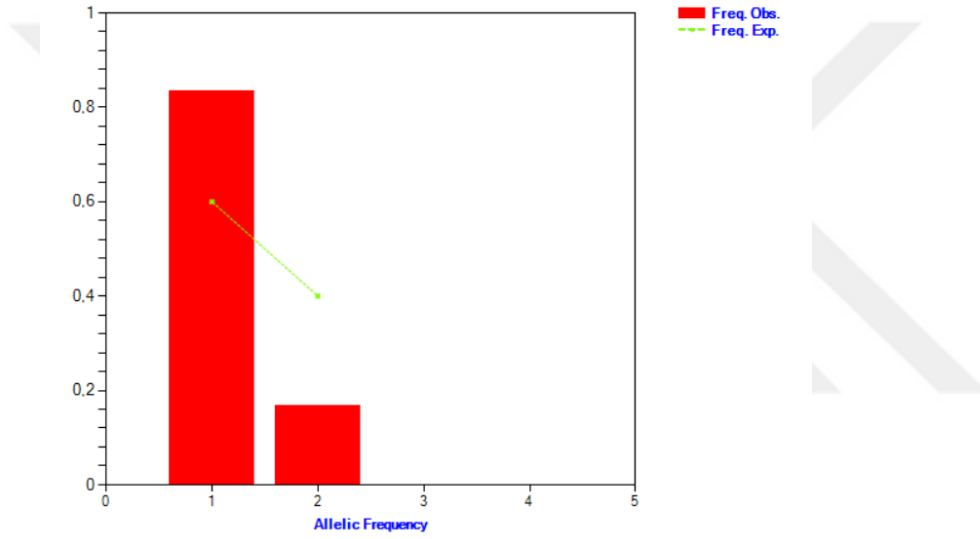
3.3.1.10. 10. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Onuncu popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda dört haplotype (H2, H5, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.11). Nötralite testleri(Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

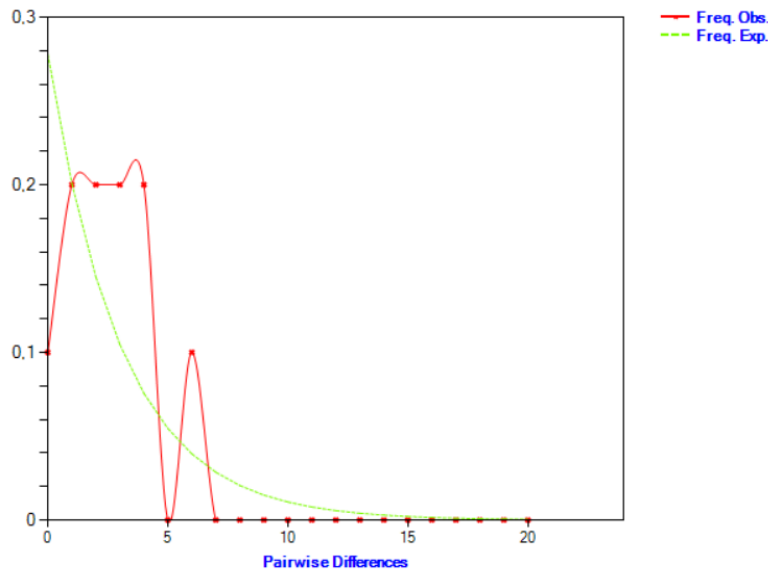
Çizelge 3.11. 10. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,90000	0,02592	0,161	0,00320	-0,66823	-0,66823 -0,69243

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında altı ayrım bölgesi olduğu (82. ve 214'üncü nükleotidler) (Şekil 3.34) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir, iki, üç ve dört baz çifti yönünden (0,20000) farklılık gösterdiği görülmüştür(Şekil 3.35).



Şekil 3.34. 10. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayrım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.35. 10. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

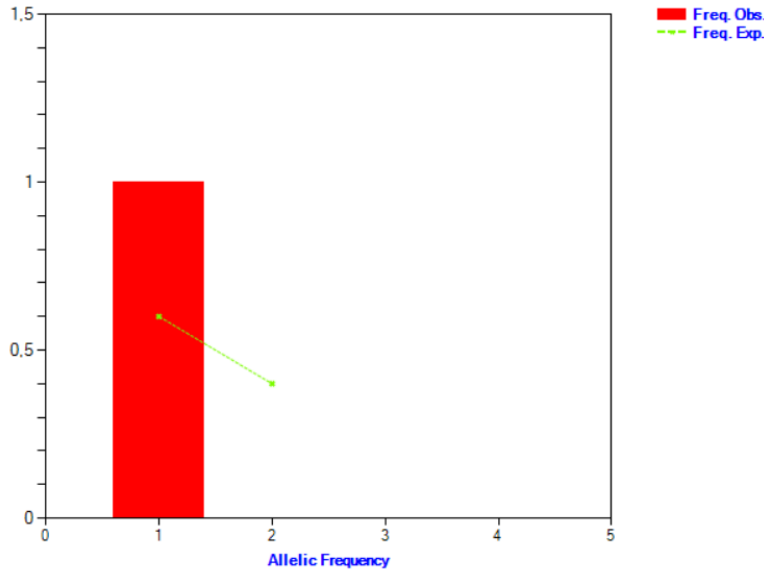
3.3.1.11. 11. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Onbirinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda beş haplotipe (H6, H8, H20, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.12). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

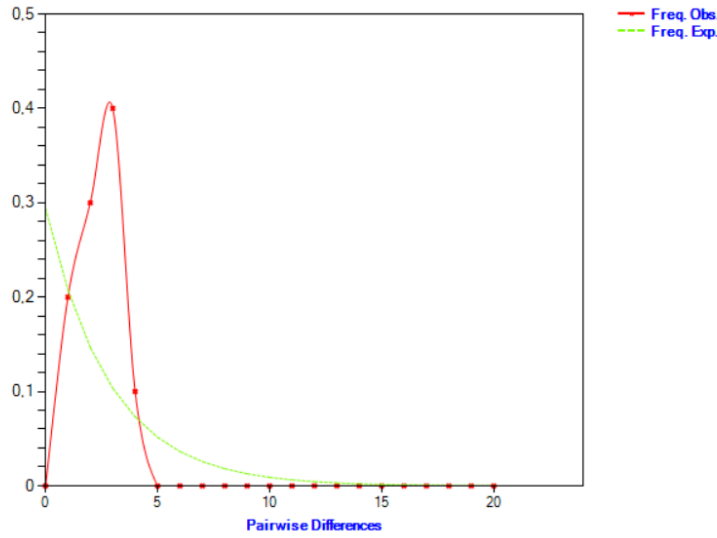
Çizelge 3.12. 11. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	5	1,00000	0,01600	0,126	0,00296	-1,14554	-1,14554 -1,18702

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında altı ayırım bölgesi olduğu (302 304 358. 388. 596. ve 757'nci nükleotidler) (Şekil 3.36) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla üç baz çifti yönünden farklılık gösterdiği (0,40000) görülmüştür (Şekil 3.37).



Şekil 3.36. 11. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.37. 11. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

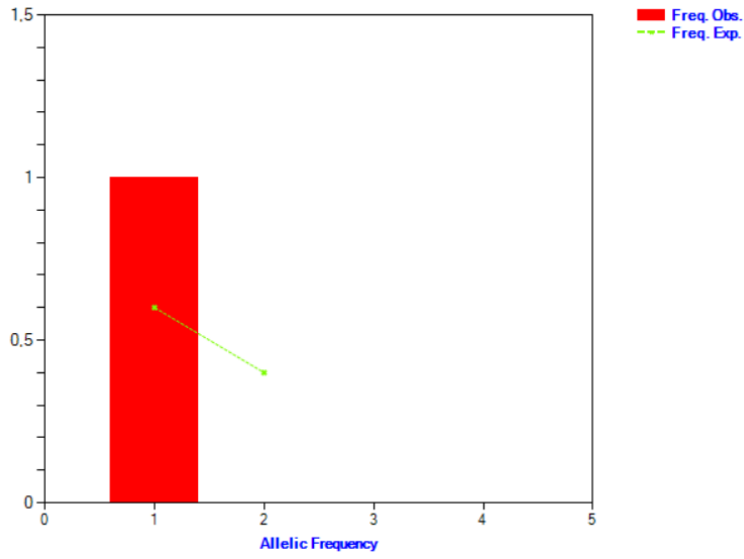
3.3.1.12. 12. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Onikinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda dört haplotipe (H10, H21, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.13). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

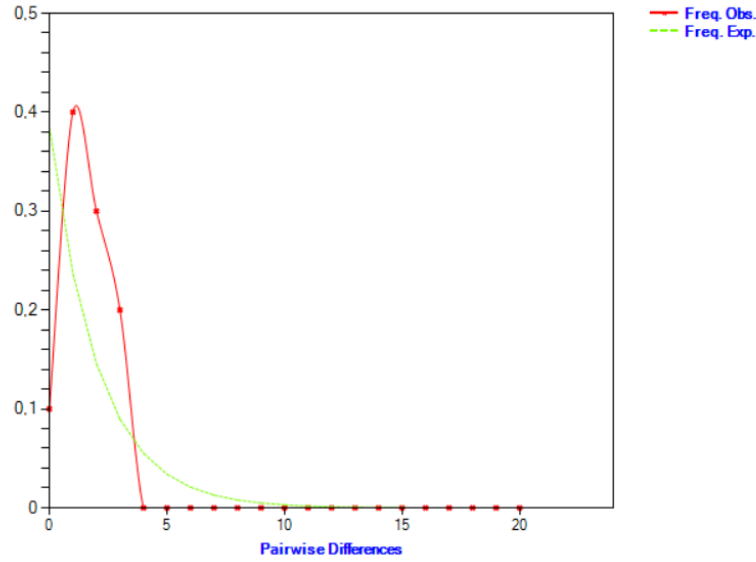
Çizelge 3.13. 12. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,90000	0,02592	0,161	0,00197	-1,09380	-1,09380 -1,11335

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında dört ayrım bölgesi olduğu (250. 302. 478. ve 596'ncı nükleotid) (Şekil 3.38) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir baz çifti yönünden farklılık gösterdiği (0,40000) görülmüştür (Şekil 3.39).



Şekil 3.38. 12. Popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.39. 12. Popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

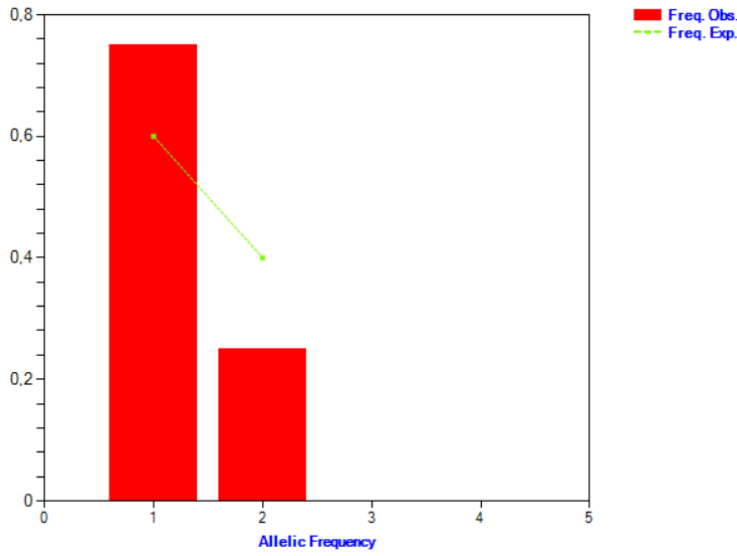
3.3.1.13. 13. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Onüçüncü popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda dört haplotipe (H7, H27, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.14). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

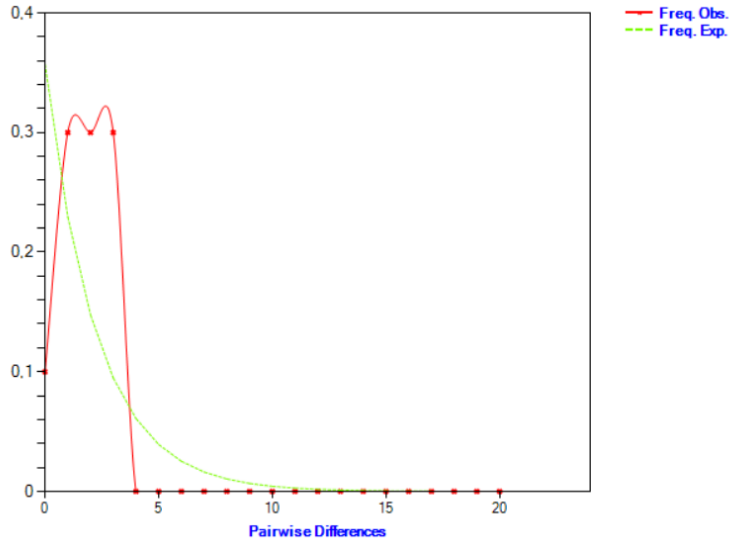
Çizelge 3.14. 13. popülasyonun haplotip çeşitliliği ve nötralite testlerinin analiz sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,90000	0,02592	0,161	0,00222	-0,41017	-0,41017 -0,41751

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında dört ayırım bölgesi olduğu (196. 21.1 302. ve 596'ncı nükleotidler) (Şekil 3.40) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla bir, iki ve üç baz çifti yönünden farklılık gösterdiği (0,30000) görülmüştür (Şekil 3.41).



Şekil 3.40. 13. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.41. 13. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

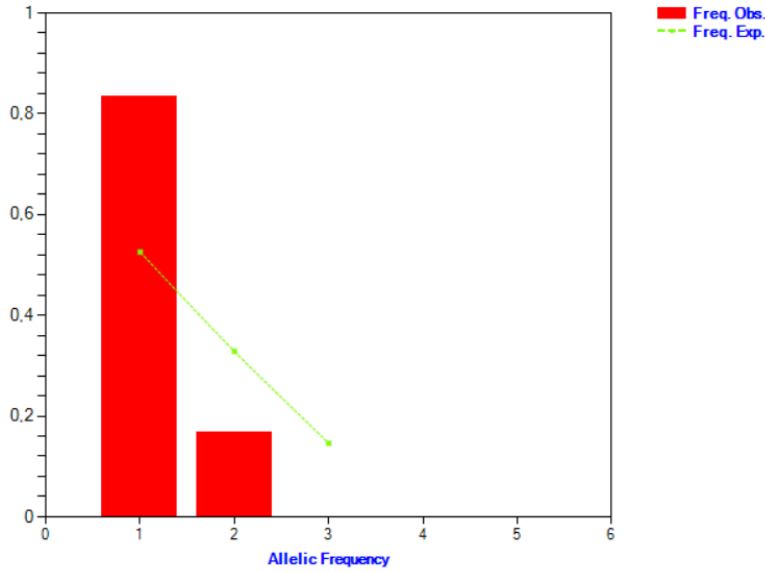
3.3.1.14. 14. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Ondördüncü popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda altı haplotipe(H11, H22, H23, H24, H28 ve H30) ayrılmıştır (Çizelge 3.15). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0,10$) gözlemlenmiştir.

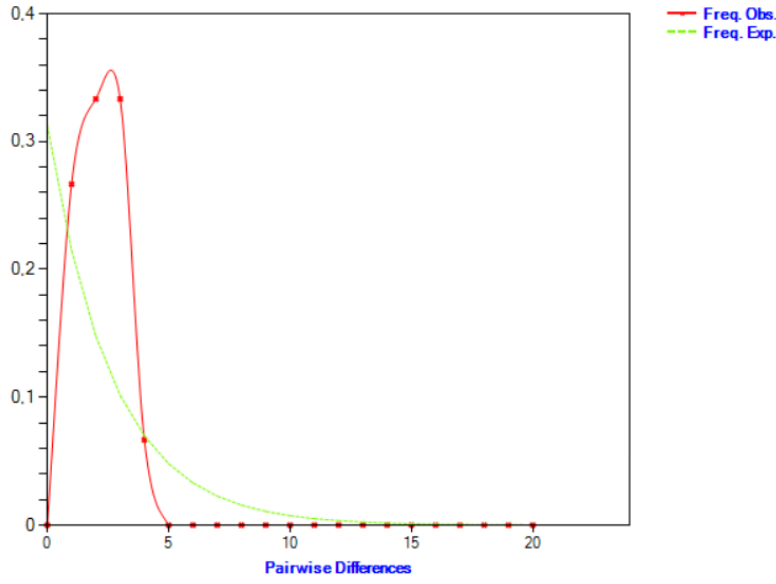
Çizelge 3.15. 14. popülasyonun haplotip çeşitliliği analizinin sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
6	6	1,00000	0,00926	0,096	0,00271	-0,93169	-0,90815 -0,97660

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında altı ayırım bölgesi olduğu (91. 214. 376. 515. ve 673'üncü nükleotidler) (Şekil 3.42) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla iki ve üç baz çifti yönünden farklılık gösterdiği (0,33333) görülmüştür (Şekil 3.43).



Şekil 3.42. 14. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.



Şekil 3.43. 14. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

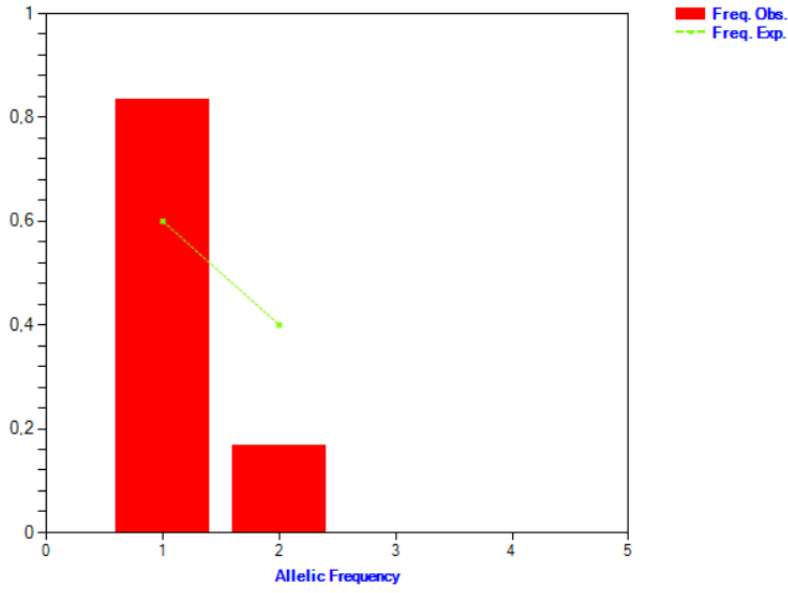
3.3.1.15. 15. Popülasyonun Popülasyon Genetiği Analizleri

Onbeşinci popülasyonda bulunan bireyler analiz sonucunda dört haplotipe (H9, H12, H28 ve H29) ayrılmıştır (Çizelge 3.16). Nötralite testleri (Tajima'nın D, Fu ve Li'nin D ve F) sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P > 0,10$) gözlemlenmiştir.

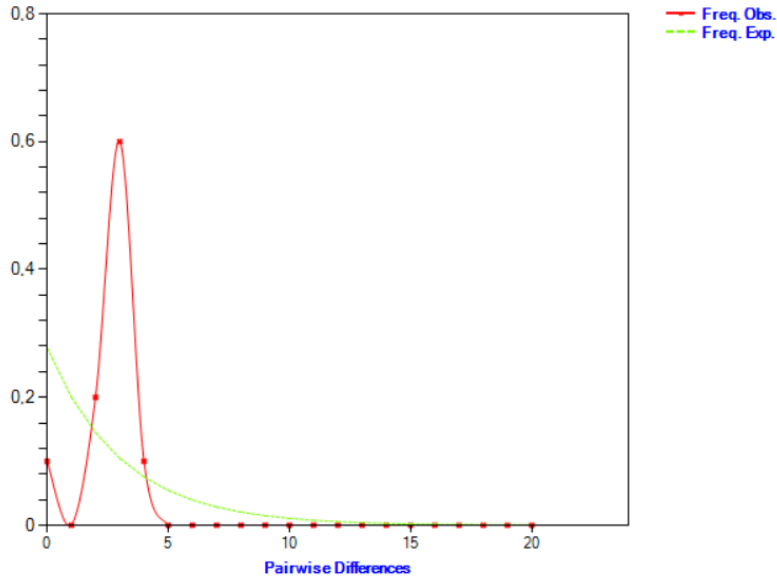
Çizelge 3.16. 15. popülasyonun haplotip çeşitliliği analizinin sonuçları.

n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
5	4	0,90000	0,02592	0,161	0,00320	-0,66823	-0,66823 -0,69243

Sekanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında altı ayırım bölgesi olduğu (4. 37. 305. 596. 643. ve 199'uncü nükleotidler) (Şekil 3.44) ve ikili karşılaştırmalar sonucunda çoğunlukla üç baz çifti yönünden farklılık gösterdiği (0,60000) görülmüştür (Şekil 3.45).

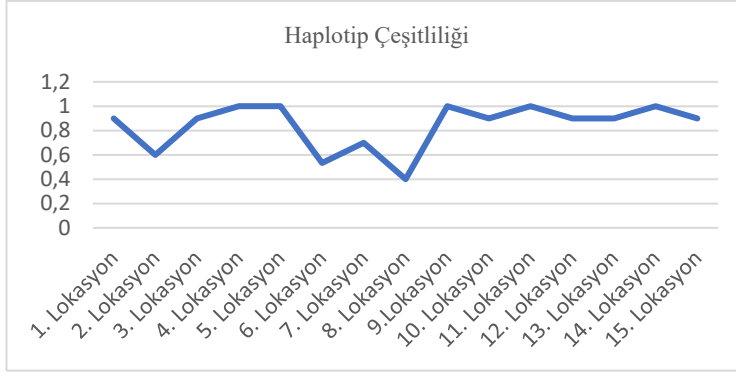


Şekil 3.44. 15. popülasyondaki bireylerin sekanslarındaki ayırım bölgelerinin frekans dağılımı.

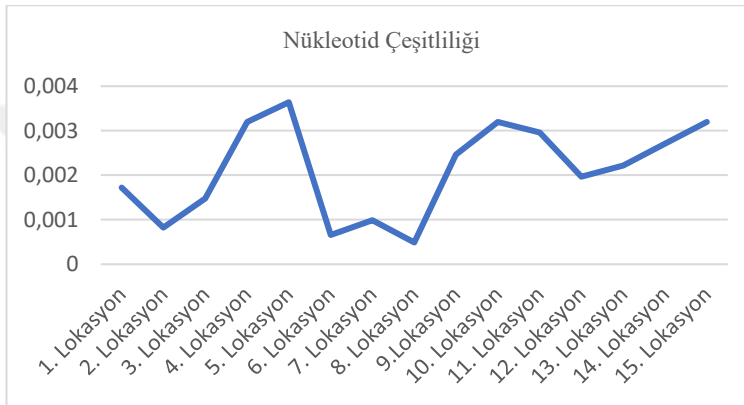


Şekil 3.45. 15. popülasyonda sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

Lokasyonların kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda haplotip çeşitliliğinin 0,40-1,0 arasında olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek haplotip çeşitliliğinin 4. 5. 9. 11. ve 14'üncü lokasyonlarda olmasına (Şekil 3.46) karşılık 8. lokasyonun da ise bu çeşitliliğin en az olduğu görülmüştür. Nükleotid çeşitliliğinin ise 4. 5. 10. ve 15'inci lokasyonlarda yüksek, 2. 6. 7. ve 8'inci lokasyonlarda oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.47).



Şekil 3.46. Lokasyonların haplotip çeşitliliğine göre karşılaştırılması.



Şekil 3.47. Lokasyonların nükleotid çeşitliliğine göre karşılaştırılması.

3.3.2. Haplotip Analizi

15 farklı lokasyondan örneklenen 80 *D. marginatus* kenelerinin mitokondriyal COI gen bölgesinin 812 baz çiftlik hizalanmış kısmı analiz edilmiştir. Analiz sonucunda 80 bireyin 30 farklı haplotip içerisinde gruplandığı gözlemlenmiştir (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. Sekans verilerinin haplotiplere göre dağılımı.

Haplotip Numarası	Birey/Örnek Sayısı	Haplotipte gruplanan örnek kodları	Haplotiplerde gruplanan kenelerin örneklediği lokasyonlar
H1	1	Cm-541	5. Lokasyon 4. Alt Lokasyon
H2	1	Cm-1051	10. Lokasyon 5. Alt lokasyon
H3	1	Cm-567	5. Lokasyon 6. Alt Lokasyon
H4	1	Cm-431	4. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H5	1	Cm-10111	10. Lokasyon 11. Alt Lokasyon

Çizelge 3.17. Devam. Sekans verilerinin haplotiplere göre dağılımı.

H6	1	Cm-1141	11. Lokasyon 4. Alt Lokasyon
H7	1	Cm-1371	13. Lokasyon 7. Alt Lokasyon
H8	1	Cm-1171	11. Lokasyon 7. Alt Lokasyon
H9	1	Cm-1531	15. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H10	1	Cm-1235	12. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H11	1	Cm-1432	14. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H12	1	Cm-1532	15. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H13	1	Cm-551	5. Lokasyon 5. Alt Lokasyon
H14	1	Cm-542	5. Lokasyon 4. Alt Lokasyon
H15	1	Cm-131	1. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H16	2	Cm-611, Cm-614	6. Lokasyon 1. Alt Lokasyon
H17	1	Cm-441	4. Lokasyon 4. Alt Lokasyon
H18	1	Cm-923	9. Lokasyon 2. Alt Lokasyon
H19	1	Cm-951	9. Lokasyon 5. Alt Lokasyon
H20	1	Cm-1173	11. Lokasyon 7. Alt Lokasyon
H21	4	Cm-241, Cm-156, Cm-561, Cm-1241	2. Lokasyon 4. Alt Lokasyon, 1. Lokasyon 5. Alt Lokasyon, 5. Lokasyon 6. Alt Lokasyon, 12. Lokasyon 4. Alt Lokasyon
H22	2	Cm-911, Cm-1417	9. Lokasyon 1. Alt Lokasyon, 14. Lokasyon 1. Alt Lokasyon
H23	2	Cm-451, Cm-1431	4. Lokasyon 5. Alt Lokasyon, 14. Lokasyon 3. Alt Lokasyon
H24	3	Cm-763, Cm-313, Cm-1412	7. Lokasyon 6. Alt Lokasyon, 3. Lokasyon 1. Alt Lokasyon, 14. Lokasyon 1. Alt Lokasyon
H25	1	Cm-8101	8. Lokasyon 10. Alt Lokasyon
H26	1	Cm-761	7. Lokasyon 6. Alt Lokasyon
H27	1	Cm-1387	13. Lokasyon 8. Alt Lokasyon

Çizelge 3.17. Devam. Sekans verilerinin haplotiplere göre dağılımı.

H28	16	Cm-1535, Cm-1433, Cm-1323, Cm-1172, Cm-954, Cm-816, Cm-813, Cm-322, Cm-112, Cm-243, Cm-543, Cm-831, Cm-883, Cm-1041, Cm-1224, Cm-1322	15. Lokasyon 3. Alt Lokasyon, 14. Lokasyon3. Alt Lokasyon, 13. Lokasyon 2. Alt lokasyon, 11. Lokasyon, 7. Alt Lokasyon, 9. Lokasyon 5. Alt Lokasyon, 8. Lokasyon 1., 3. Ve 8. Alt Lokasyonlar, 3. Lokasyon 2. Alt Lokasyon, 1. Lokasyon 1. Alt Lokasyon, 2. Lokasyon 4. Alt Lokasyon, 10 Lokasyon 4. Alt Lokasyon, 12. Lokasyon 2. Alt Lokasyon
H29	4	Cm-1533, Cm-316, Cm-452, Cm-1534	15. Lokasyon 3. Alt Lokasyon, 3. Lokasyon 1. Alt Lokasyon, 4. Lokasyon 5. Alt Lokasyon
H30	25	Cm-1411, Cm-1381, Cm-1232, Cm-1221, Cm-1045, Cm-1042, Cm-921, Cm-757, Cm-751, Cm-641, Cm-612, Cm-552, Cm-433, Cm-242, Cm-231, Cm-111, Cm-141, Cm-221, Cm-232, Cm-325, Cm-351, Cm-631, Cm-637, Cm-722, Cm-1175	14. Lokasyon 1. Alt Lokasyon, 13. Lokasyon 8. Alt Lokasyon, 12. Lokasyon 2. ve 3. Alt Lokasyonlar, 10 Lokasyon 4. Alt Lokasyon, 9. Lokasyon 2. Alt Lokasyon, 7. Lokasyon 2. ve 5. Alt Lokasyonlar, 6. Lokasyon 1., 3. ve 4. Alt Lokasyonlar, 5. Lokasyon 2. Alt Lokasyon, 4. Lokasyon 3. Alt Lokasyon, 2. Lokasyon 2., 3. ve 4. Alt Lokasyonlar, 1. Lokasyon 1. ve 4. Alt Lokasyonlar, 3. Lokasyon 5. Alt Lokasyon, 11. Lokasyon 7. Alt Lokasyon

Haplotip analizi sonuçlarına göre kenelerin büyük bir kısmı H30 (25 kene) ve H28 (16 kene) haplotiplerinde toplanmıştır (Çizelge 3.16). Haplotipler arası ilişki göz önünde bulundurulduğunda, haplotipler arasında bir (H15-H28, H17-H28, H25-H28, H16-H28, H23-H28, H13-H13, H21-H30, H27-H30, H9-H30, H29-H30, H24-H30, H14-H30, H26-H30), iki (H12-H30, H11-H30, H8-H30, H9-H30, H5-H30, H23-H30, H7-H30, H4-H30, H6-H30, H10-H30, H3-H30) ve üç (H2-H28, H1-H28) mutasyon yönünden farklılık gözlenmiştir. Mutasyon ile birlikte ortaya çıkan farklılık aminoasit bazında karakterize edildiğinde ise 5 aminoasit açısından değişim gözlemlenmiştir. Buna göre H1 haplotipinde 18. 44. ve 181. aminoasitler sırasıyla lösin, lizin ve alanin diğer tüm haplotiplerde ise metiyonin, asparajin ve treonindir. H12 haplotipindeki 102. aminoasit izolösin iken, diğer tüm haplotiplerde valin aminoasiti olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 16. haplotipte ise diğer tüm haplotiplerden farklı olarak 199.

Aminoasit lösın yerine valındır. Bu durum nükleotidlerde görülen farklılıkların, aminoasit farklılığı üzerine etkisinin az olduğunu göstermektedir.

3.3.3. BLAST analizi

GenBank BLAST analizi (BLASTn) neticesinde bu çalışmada tespit edilen hiçbir haplotipin GenBank veritabanına kayıtlı sekanlar ile %100 benzer(identik) olmadığı görülmüştür(Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. Haplotiplerde bulunan kenelerin GenBank'taki *D. marginatus*'lar ile nükleotid benzerlikleri.

Haplotipler	Sekanslanan Gen Bölgesi	Nükleotid Benzerliği	Eşleşen Kene Türü	Erişim Numarası
H1	COI	%99,27	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,27	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H2	COI	%99,29	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,29	<i>D. marginatus</i>	MK905212
		%99,05	<i>D. marginatus</i> isolate E1	NC_062069
H3	COI	%99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,52	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H4	COI	%99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,52	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H5	COI	%99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,52	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H6	COI	%99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,52	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H7	COI	%99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,53	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H8	COI	%99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,53	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H9	COI	%99,76	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,76	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H10	COI	%99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,53	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H11	COI	%99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,53	<i>D. marginatus</i>	MK905212
H12	COI	%99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,53	<i>D. marginatus</i>	MK905212

Çizelge 3.18. Devam. Haplotiplerde bulunan kenelerin GenBank'taki *D. marginatus*'lar ile nükleotid benzerlikleri.

H13	COI	%99,52 %99,52 %99,06	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i> <i>D. marginatus</i> isolate E1	MN907848 MK905212 NC_062069
H14	COI	%99,64 %99,64	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H15	COI	%99,52 %99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H16	COI	%99,64 %99,64	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H17	COI	%99,52 %99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H18	COI	%99,64 %99,64	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H19	COI	%99,52 %99,52	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H20	COI	%99,64 %99,64	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H21	COI	%99,65 %99,65 %98,94	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i> <i>D. marginatus</i> isolate E1	MN907848 MK905212 NC_062069
H22	COI	%99,64 %99,64	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H23	COI	%99,53 %99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H24	COI	%99,65 %99,65	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H25	COI	%99,53 %99,53	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H26	COI	%99,65 %99,65	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H27	COI	%99,65 %99,65	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H28	COI	%99,65 %99,65	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i>	MN907848 MK905212
H29	COI	%99,65 %99,65 %98,94	<i>D. marginatus</i> isolate GY7 <i>D. marginatus</i> <i>D. marginatus</i> isolate E1	MN907848 MK905212 NC_062069

Çizelge 3.18. Devam. Haplotiplerde bulunan kenelerin GenBank'taki *D. marginatus*'lar ile nükleotid benzerlikleri.

H30	COI	%99,77	<i>D. marginatus</i> isolate GY7	MN907848
		%99,77	<i>D. marginatus</i>	MK905212

H1 haplotipinin (Cm-541) %99,27 (815/821 baz çifti, 6 farklı nükleotid) ile Kazakistan'daki *D. marginatus* isolate GY7 (erişim numarası MN907848) ve Slovakya'daki *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H2 haplotipinin (Cm-1051) %99,29 (842/848 bç., 6 farklı nükleotid) benzerlik ile yukarıda belirtilen *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ve akabinde ise %99,05 (833/841 bç. 8 farklı nükleotid) ile Çin'deki *D. marginatus* isolate E1 (erişim nu. NC_062069) sekansı ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H3 haplotipinin (Cm-567) %99,52 (837/841 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür. H4 haplotipinin (Cm-431) %99,52 (837/841 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H5 haplotipinin (Cm-10111) %99,52 (834/838 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H6 haplotipinin (Cm-1141) %99,52 (838/842 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. H7 haplotipinin (Cm-1371) %99,53 (841/845 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H8 haplotipinin (Cm-1171) %99,53 (842/846 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H9 haplotipinin (Cm-1531) %99,76 (844/846 bç. 2 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. H10 haplotipinin (Cm-1235) %99,53 (845/849 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en

benzer olduğu tespit edilmiştir. H11 haplotipinin (Cm-1432) %99,53 (844/848 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H12 haplotipinin (Cm-1532) %99,53 (846/850 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür. H13 haplotipinin (Cm-551) %99,52 (823/827 bç. 4 farklı nükleotid) benzerlik ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ve %99,06 (839/847 bç. 8 farklı nükleotid) ile Çin'deki *D. marginatus* isolate E1 (erişim nu. NC_062069) sekansı ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H14 haplotipinin (Cm-542) %99,64 (824/827 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. H15 haplotipinin (Cm-131) %99,52 (829/833 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H16 haplotipinin (Cm-611 ve Cm-614) %99,64 (839/842 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H17 haplotipinin (Cm-441) %99,52 (838/842 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. H18 haplotipinin (Cm-923) %99,64 (839/842 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H19 haplotipinin (Cm-951) %99,52 (838/842 bç. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H20 haplotipinin (Cm-1173) %99,64 (840/843 bç. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür. H21 haplotipinin (Cm-241, Cm-156, Cm-561, Cm-1241) %99,65 (844/847 bç. 3 farklı nükleotid) benzerlik ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ve %98,94 (838/847 bç. 9 farklı nükleotid) ile Çin'deki *D.*

marginatus isolate E1 (erişim nu. NC_062069) sekansı ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H22 haplotipinin (Cm-911 ve Cm-1417) %99,64 (842/845 b. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu grlmştir. H23 haplotipinin (Cm-451 ve Cm-1431) %99,53 (841/845 b. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H24 haplotipinin (Cm-763, Cm-313 ve Cm-1412) %99,65 (844/847 b. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H25 haplotipinin (Cm-8101) %99,53 (841/845 b. 4 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu grlmştir. H26 haplotipinin (Cm-761) %99,65 (843/846 b. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile en benzer olduğu tespit edilmiştir. H27 haplotipinin (Cm-1387) %99,65 (846/849 b. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H28 haplotipinin (Cm-1535, Cm-1433, Cm-1323, Cm-1172, Cm-954, Cm-816, Cm-813, Cm-322, Cm-112, Cm-243, Cm-543, Cm-831, Cm-883, Cm-1041, Cm-1224 ve Cm-1322) %99,65 (850/853 b. 3 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakın ilişkili olduğu grlmştir. H29 haplotipinin (Cm-1533, Cm-316, Cm-452 ve Cm-1534) %99,65 (850/853 b. 3 farklı nükleotid) benzerlik ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ve %98,94 (844/853 b. 9 farklı nükleotid) ile Çin'deki *D. marginatus* isolate E1 (erişim nu. NC_062069) sekansı ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. H30 haplotipinin (Cm-1411, Cm-1381, Cm-1232, Cm-1221, Cm-1045, Cm-1042, Cm-921, Cm-757, Cm-751, Cm-641, Cm-612, Cm-552, Cm-433, Cm-242, Cm-231, Cm-111, Cm-141, Cm-221, Cm-232, Cm-325, Cm-351, Cm-631, Cm-637, Cm-722 ve Cm-1175) %99,77 (851/853 b. 2 farklı nükleotid) ile *D. marginatus* isolate GY7 (erişim nu. MN907848) ve *D. marginatus* (erişim nu. MK905212) sekansları ile yakından ilişkili olduğu grlmştir.

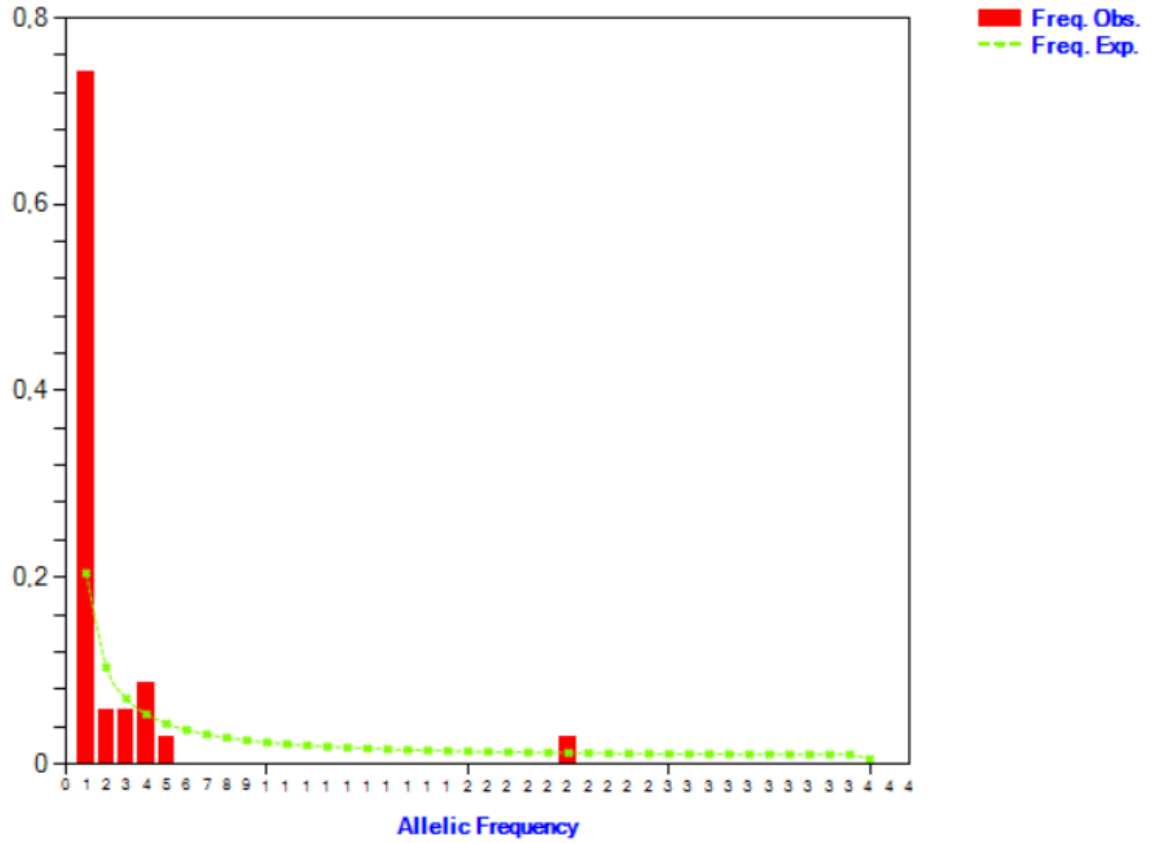
3.3.4. Popülasyon Genetiği ve Filogenetik Network Analizleri

Sitokrom c oksidaz alt ünite I gen bölgesi esas alınarak yapılan popülasyon genetiği analizlerinde tüm lokasyonlardaki kenelerin bir arada değerlendirilmesi sonucu ($n = 80$) haplotip çeşitliliği, $H_d: 0.0861$, haplotip çeşitliliği varyansı: 0.00086 , haplotip çeşitliliğinin standart sapması: 0.029 , nükleotid çeşitliliği: 0.00216 , ortalama nükleotid farklılığı, $k: 1.75190$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19. Tüm popülasyonların bir arada değerlendirilmesi sonucu haplotip çeşitliliğinin sonuçları.

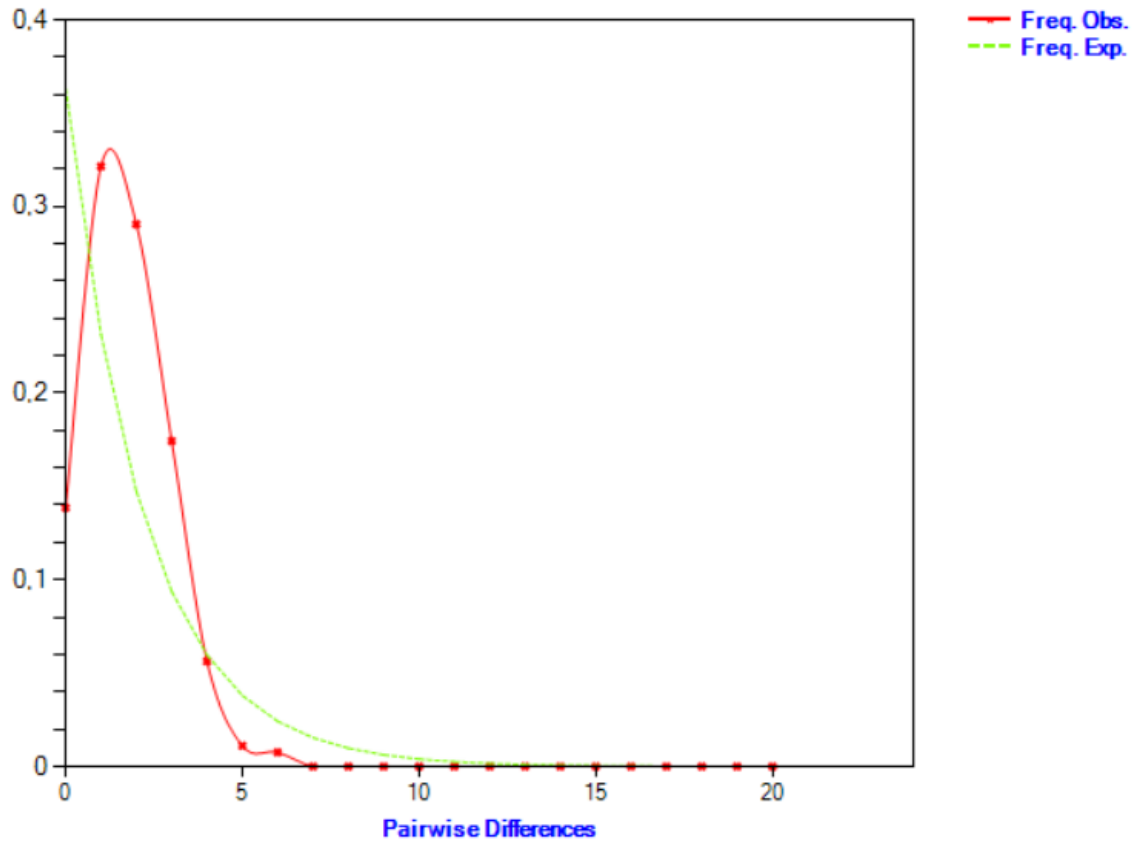
n	H	Hd	Hd Varyans	Hd Standart Sapma	π	Tajima'nın D değeri	Fu ve Li'nin D ve F değerleri
80	30	0,861	0,00086	0,029	0,00216	-2,38385	-5,20829 -4,93325

Sekanslar karşılaştırıldıklarında, 35 ayırım bölgesi (4. 37. 49. 53. 82. 133. 142. 211. 232. 250. 274. 304. 305. 358. 376. 385. 388. 515. 533. 542. 640. 643. 751. 757. 787. 811. 91. 196. 199. 214. 302. 478. 673. 685. ve 596'ncı nükleotidler) olduğu gözlenmiştir. Bu ayırım bölgeleri içerisinde 4. 37. 49. 53. 82. 133. 142. 211. 232. 250. 274. 304. 305. 358. 376. 385. 388. 515. 533. 542. 640. 643. 751. 757. 787. 811. 91. 196. 199. 214. 302. 478. 673. ve 685'inci nükleotidler de iki nükleotid (T-Sitozin(C), Guanin(G)-T ve A-T), 596'ncı nükleotid de ise üç nükleotid açısından (T-C-G) farklılık gözlemlenmiştir. Sekanslarda tek nükleotid değişim alanlarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. (Şekil 3.48).



Şekil 3.48. Ayrım bölgelerinin frekansının dağılımı.

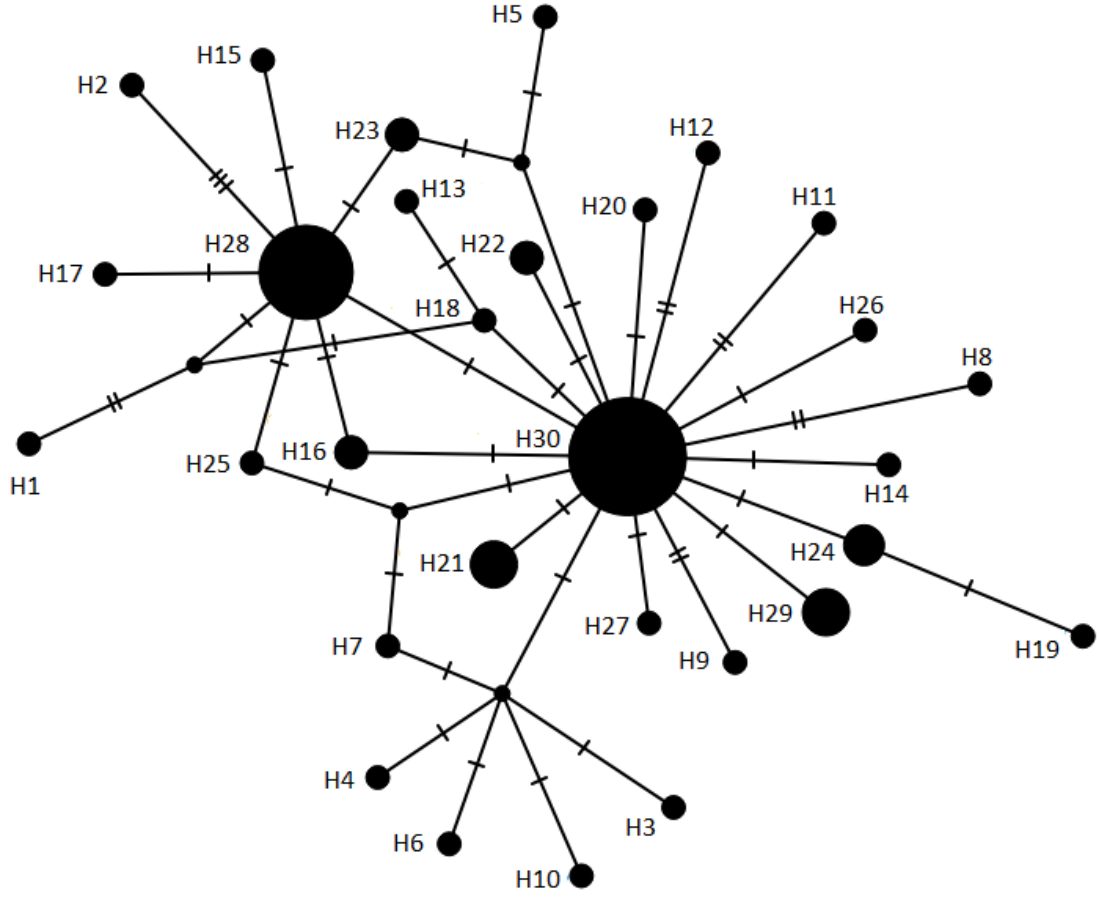
Ayrıca sekanslar arası ikili farklılık(K) göz önünde bulundurulduğunda 80 sekansın kendi içerisinde birbirleri ile ikili gruplar oluşturacak şekilde eşleştirilmesi sonucu (3160 eşleşme) büyük ölçüde bir ve iki baz çifti yönünden farklılık göstermekle birlikte frekansları sırasıyla 0,32152 ve 0,29051 şeklindedir (Şekil 3.49).



Şekil 3.49. Sekans çiftleri arasındaki ikili farklılığın dağılımı.

Nötralite test istatistiği sonucunda elde edilen Tajima's D değeri istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte '-2,38385' olarak bulunmuştur. Ayrıca Tajima'ya kıyasla daha güçlü bir test istatistiği olan Fu ve Li'nin D ve F değerlerinin ayırım alanları esas alınarak yapılan hesaplamalar sonucunda sırasıyla '-5,20829' ve '-4,93325' olarak hesaplanmıştır. Her iki nötralize testlerinin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0,02$) görülmüştür.

Mevcut çalışmada tespit edilen farklı 30 haplotipin COI (812 bç.) birbirleri ile ilişkilerini grafiksel olarak göstermek amacıyla medyan birleştirme haplotip ağı (epsilon=0) kullanılmıştır (Şekil 3.50).



Şekil 3.50. Mevcut çalışmadaki sekansların bulunduğu haplotiplerin birbiriyle ilişkilerini gösteren haplotip ağı (Her dairenin boyutu, haplotipi paylaşan bireysel dizilerin sayısı ile orantılı olmakla birlikte, haplotipler arasındaki her çizgi bir mutasyonu temsil etmektedir)(epsilon=0).

Şekil 3.50’ de görüldüğü üzere mevcut çalışmada analizi yapılan kenelerin çoğunlukla H28 ve H30 haplotiplerinde gruplandığı görülmüştür. Nükleotid çeşitliliğine bağlı olarak haplotiplerin çoğunlukla 1 veya 2 nükleotid bakımından fark gösterdiği tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında kapsamında analizi yapılan *D. marginatus* örneklerinin COI sekans verileri GenBank’da yer alan diğer tüm *D. marginatus* sekansları ile birlikte ($n = 170$) haplotip analizlerinin yapılması sonucunda Hd: 0,805434’e bağlı olarak 34 haplotip (Ha) gözlemlenmiştir (Çizelge 3.20).

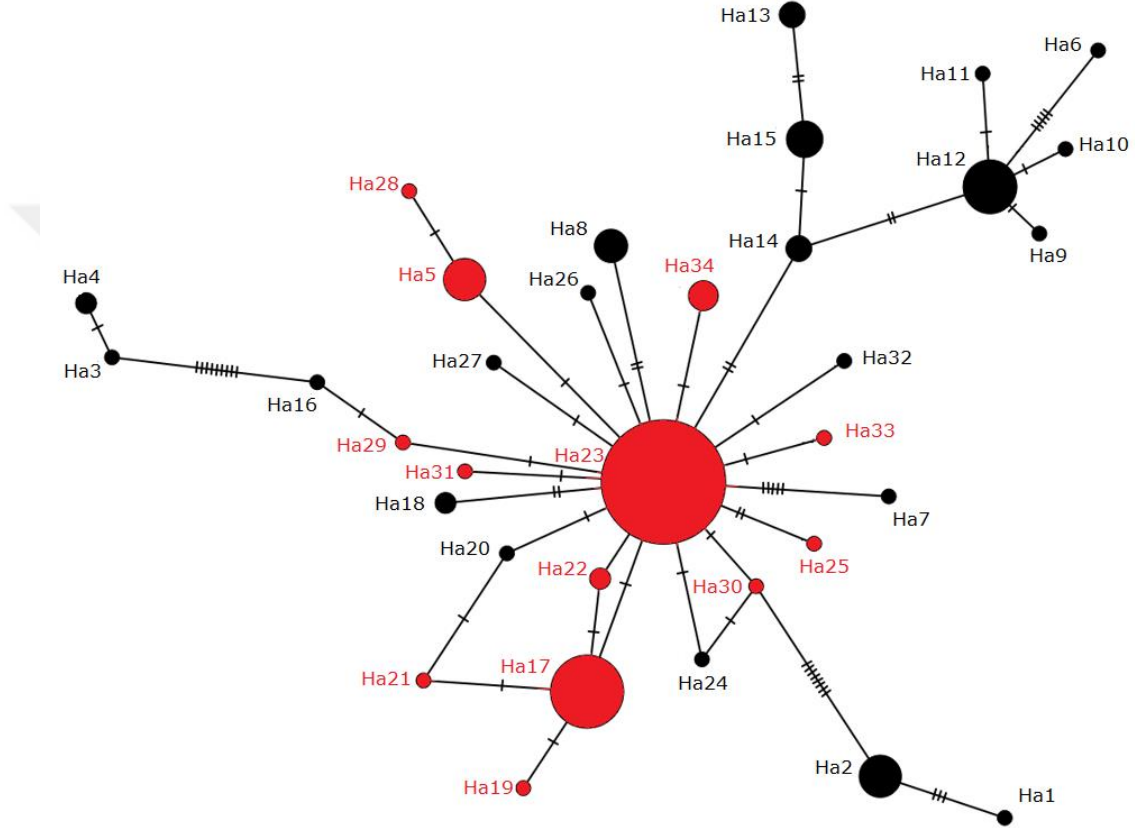
Çizelge 3.20. Genbank *D. marginatus* COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı.

Haplotip Numarası	Birey/Örnek Sayısı	Haplotipte gruplanan örnek kodları
Ha1	1	[KU880571.1]
Ha2	8	[KU880588.1 KU880561.1 KU880562.1 OM638636.1 MT890492.1 MK813859.1 MK213075.1 KU364300.1]
Ha3	1	[JQ625698.1]
Ha4	2	[JF758637.1 JQ625696.1]
Ha5	8	[MK863424.1 Cm-1371 Cm-1235 Cm-567 MK863422.1 KT877442.1 KT877443.1 Cm-431]
Ha6	1	[MN907832.1]
Ha7	1	[AF132828.1]
Ha8	5	[MZ305507.1 MZ305508.1 KT877428.1 KT877432.1 KT877433.1]
Ha9	1	[OM638641.1]
Ha10	1	[MN964343.1]
Ha11	1	[OM368304.1:1145-2683]
Ha12	13	[MN964347.1 MN907836.1 MN907833.1 MN907839.1 MN964339.1 MN380031.1 MN517831.1 OM368303.1:1145-2683 MW193711.1 MN964338.1 MN907825.1 MN907826.1 MN907834.1]
Ha13	3	[JX051153.1 JX051151.1 JX051152.1]
Ha14	3	[MN964336.1 MN868560.1 MN868592.1]
Ha15	6	[MN270986.1 MN586594.1 MZ364000.1 MN517830.1 KF583568.1 KF583569.1]
Ha16	1	[FN394329.1]
Ha17	24	[KT877427.1 Cm-541 Cm-1322 Cm-1224 Cm-1041 Cm-883 Cm-831 Cm-543 Cm-243 Cm-112 Cm-322 Cm-813 Cm-816 Cm-954 Cm-1172 Cm-1323 Cm-1433 Cm-1535 Cm-441 Cm-8101 MT230036.1 Cm-451 Cm-1431 KT877441.1]
Ha18	2	[KT877437.1 KT877439.1]
Ha19	1	[Cm-1051]
Ha20	1	[KT877435.1]
Ha21	1	[Cm-131]
Ha22	2	[Cm-611 Cm-614]
Ha23	69	[FN394328.1 FN394331.1 Cm-951 Cm-763 Cm-313 Cm-1412 Cm-1533 Cm-316 Cm-452 Cm-1534 OM638642.1 OM638640.1 OM638639.1 MK905212.1:6969-8507 MN907848.1 MN907838.1 MN964340.1 FN394330.1 MZ305506.1 MN817302.1 FN394327.1 MK863421.1 MZ305509.1 KT877426.1 KT877431.1 LC508348.1 KT877440.1 KT877438.1 KT877436.1 Cm-1531 KT877430.1 KT877444.1 Cm-1417 Cm-911 Cm-1175 Cm-722 Cm-637 Cm-631 Cm-351 Cm-325 Cm-232 Cm-221 Cm-141 Cm-111 Cm-231 Cm-242 Cm-433 Cm-552 Cm-612 Cm-641 Cm-751 Cm-757 Cm-921 Cm-1042 Cm-1045 Cm-1221 Cm-1232 Cm-1381 Cm-1411 Cm-551 Cm-542 Cm-923 Cm-761 Cm-1387 LC508345.1 LC508347.1 LC508344.1 KT877429.1 LC508346.1]
Ha24	1	[FN394333.1]
Ha25	1	[Cm-1432]
Ha26	1	[MT230037.1]
Ha27	1	[KT877434.1]
Ha28	1	[Cm-1141]
Ha29	1	[Cm-10111]
Ha30	1	[Cm-1171]

Çizelge 3.20. Devam. Genbank *D. marginatus* COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı.

Ha31	1	[Cm-1532]
Ha32	1	[FN394332.1]
Ha33	1	[Cm-1173]
Ha34	4	[Cm-241 Cm-156 Cm-561 Cm-1241]

Şekil 3.51’ de *D. marginatus* haplotiplerinin birbiriyle olan ilişkilerini gösteren haplotip ağı verilmiştir.



Şekil 3.51. Tez çalışması kapsamında elde edilen ve GenBank’a kayıtlı sekans verilerinin birlikte analizi sonucu ortaya çıkan haplotiplerin birbirleriyle ilişkileri gösteren haplotip ağı (Kırmızı renkli daireler tez çalışmasında yer alan kenelerin de bulunduğu haplotipleri temsil etmektedir)(epsilon=0).

Şekil 3.51’de görüldüğü üzere tez çalışmasında analizi yapılan *D. marginatus* kenelerinin farklı coğrafyalardan örneklenen *D. marginatus* keneleri ile ortak haplotipi paylaştığı görülmektedir. Buna göre 13. 12. 5. ve 4. lokasyonlardan örneklenen bazı kenelerin(Cm-1371, Cm-1235, Cm-567 ve Cm-431) İran’ dan örneklenen keneler(erişim nu. MK863424 ve MK863422) ile aynı haplotip(Ha5) içerisinde gruplandıkları tespit edilmiştir. Bununla birlikte çalışmadaki bazı kenelerin büyük bir çoğunluğunun Romanya(erişim nu. FN394328, FN394327, FN394330 ve FN394331),

Çin(erişim nu. OM638642, OM638640 ve OM638639), İran(erişim nu. MK863421), Hırvatistan(erişim nu. MZ305506 ve MZ305509), Portekiz(erişim nu. LC508348, LC508345, LC508347, LC508344 ve LC508346.) ve Kazakistan’ dan(erişim nu. MN964340, MN964340 ve MN817302) örneklenen *D. marginatus* keneleri ile ortak haplotipi paylaştıkları(Ha28) görülmüştür.

D. marginatus veri setine ilaveten *D. niveus*’un COI genine ait Genbank’ta bulunan sekansların eklenmesiyle oluşan veri setinin (n = 176) analizi sonucunda ise Hd: 0,817’e bağlı olarak toplam haplotip sayısının 37(Hb) olduğu görülmüştür(Çizelge 3.21).

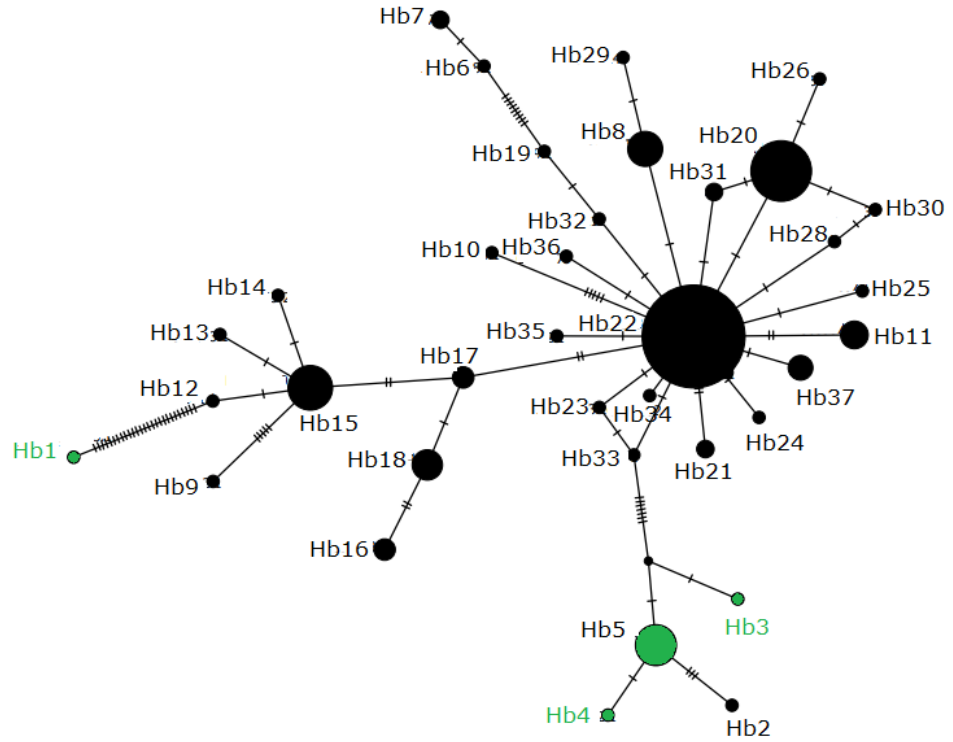
Çizelge 3.21. Genbank *D. marginatus* ve *D. niveus* COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı.

Haplotip Numarası	Birey/Örnek Sayısı	Haplotipte gruplanan örnek kodları
Hb1	1	[MK863423.1]
Hb2	1	[KU880571.1]
Hb3	1	[MN836695.1]
Hb4	1	[MN836692.1]
Hb5	11	[KU880588.1 KU880561.1 KU880562.1 MN836694.1 OM638636.1 MK813859.1 MT890492.1 MN836693.1 MK213075.1 KU364300.1 OM368305.1:1145-2683]
Hb6	1	[JQ625698.1]
Hb7	2	[JF758637.1 JQ625696.1]
Hb8	8	[MK863424.1 Cm-1371 Cm-1235 Cm-567 MK863422.1 KT877442.1 KT877443.1 Cm-431]
Hb9	1	[MN907832.1]
Hb10	1	[AF132828.1]
Hb11	5	[MZ305507.1 MZ305508.1 KT877428.1 KT877432.1 KT877433.1]
Hb12	1	[OM638641.1]
Hb13	1	[MN964343.1]
Hb14	1	[OM368304.1:1145-2683]
Hb15	13	[MN964339.1 MN907839.1 MN907836.1 MN964347.1 MN907833.1 MN380031.1 MN517831.1 MW193711.1 MN964338.1 MN907834.1 MN907826.1 MN907825.1 OM368303.1:1145-2683]
Hb16	3	[JX051153.1 JX051151.1 JX051152.1]
Hb17	3	[MN964336.1 MN868560.1 MN868592.1]
Hb18	6	[MN586594.1 MN270986.1 MZ364000.1 MN517830.1 KF583569.1 KF583568.1]
Hb19	1	[FN394329.1]
Hb20	24	[KT877427.1 Cm-541 Cm-441 Cm-8101 Cm-1535 Cm-1433 Cm-1323 Cm-1172 Cm-954 Cm-816 Cm-813 Cm-322 Cm-112 Cm-243 Cm-543 Cm-831 Cm-883 Cm-1041 Cm-1224 Cm-1322 MT230036.1 KT877441.1 Cm-451 Cm-1431]

Çizelge 3.21. Devam. Genbank *D. marginatus* ve *D. niveus* COI sekans verilerinin tezdeki sekans verileriyle birlikte yapılan haplotip analizi sonucunda kenelerin haplotiplere dağılımı.

Hb21	2	[KT877437.1 KT877439.1]
Hb22	69	[FN394328.1 FN394331.1 Cm-951 Cm-763 Cm-313 Cm-1412 Cm-1417 Cm-911 FN394327.1 MK863421.1 MZ305509.1 Cm-1175 Cm-722 Cm-637 Cm-631 Cm-351 Cm-325 Cm-232 Cm-221 Cm-141 Cm-111 Cm-231 Cm-242 Cm-433 Cm-552 Cm-612 Cm-641 Cm-751 Cm-757 Cm-921 Cm-1042 Cm-1045 Cm-1221 Cm-1232 Cm-1381 Cm-1411 Cm-542 Cm-923 LC508348.1 MN964340.1 MN907838.1 MN907848.1 MK905212.1:6969-8507 OM638639.1 OM638640.1 OM638642.1 FN394330.1 MZ305506.1 MN817302.1 KT877440.1 KT877438.1 KT877436.1 Cm-1531 LC508344.1 KT877430.1 KT877444.1 Cm-761 LC508347.1 KT877426.1 KT877431.1 Cm-1533 Cm-316 Cm-452 Cm-1534 Cm-551 Cm-1387 LC508345.1 KT877429.1 LC508346.1]
Hb23	1	[FN394333.1]
Hb24	1	[Cm-1432]
Hb25	1	[MT230037.1]
Hb26	1	[Cm-1051]
Hb27	1	[KT877434.1]
Hb28	1	[KT877435.1]
Hb29	1	[Cm-1141]
Hb30	1	[Cm-131]
Hb31	2	[Cm-611 Cm-614]
Hb32	1	[Cm-10111]
Hb33	1	[Cm-1171]
Hb34	1	[Cm-1532]
Hb35	1	[FN394332.1]
Hb36	1	[Cm-1173]
Hb37	4	[Cm-241 Cm-156 Cm-561 Cm-1241]

Şekil 3.52’de görüldüğü üzere Haplotip analizleri sonucu bazı *D. niveus* kenelerinin (erişim numaraları: MK863423, MN836695 ve MN836692) ayrı haplotipler oluşturduğu, ancak bazılarının ise (erişim numaraları, MN836694, MN836693 ve OM368305) *D. marginatus* keneleri ile aynı haplotip (Hb5) içinde gruplandıkları görülmüştür.



Şekil 3.52. Tez çalışması kapsamında elde edilen ve GenBank'a kayıtlı *D. marginatus* ve *D. niveus* sekans verilerinin birlikte analizi sonucu ortaya çıkan haplotiplerin birbirleriyle ilişkileri gösteren haplotip ağı (Yeşil renkli daireler tez çalışmasında yer alan kenelerin de bulunduğu haplotipleri temsil etmektedir)(epsilon=0).

Mitokondriyal COI gen bölgesine göre çalışmadaki *D. marginatus*(n:80) kenelerine yönelik yapılan AMOVA analizi sonucunda, popülasyon içi ve popülasyonlar arasında olmak üzere 2 farklı düzeyde varyasyon elde edilmiştir (Çizelge 3.22). Varyasyonlar incelendiğinde popülasyonlar arasındaki varyasyon yüzdesi %1,45, popülasyonlar içindeki varyasyon yüzdesi ise %98,55, F_{ST} değeri ise 0.01449 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.22. COI gen bölgesine göre popülasyonlar arasındaki ve içindeki AMOVA varyasyon değerleri.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Varyansların Yüzdesi
Popülasyonlar arasında	14	13,043	1,45
Popülasyonlar içinde	65	56,157	98,55

AMOVA testi ile popülasyonlardaki gözlemlenen varyasyonlara ilaveten popülasyonlar arasındaki ikili karşılaştırma değerleri analizi de hesaplanmıştır. Bu durumda *D. marginatus* popülasyonları arasında gözlemlenen F_{ST} değerleri Çizelge

3.23de verilmiştir. Analizlerin sonucunda, 8. popülasyonun F_{ST} değerleri %62,5-16,667 arasında değişim göstermiştir. Diğer popülasyonlarda ise F_{ST} değerinin en fazla %9,898 olduğu saptanmıştır.



Çizelge 3.23. COI gen bölgesine göre *D. marginatus* popülasyonları arasındaki F_{ST} değerleri.

Popülasyonlar	1. Popülasyon	2. Popülasyon	3. Popülasyon	4. Popülasyon	5. Popülasyon	6. Popülasyon	7. Popülasyon	8. Popülasyon	9. Popülasyon	10. Popülasyon	11. Popülasyon	12. Popülasyon	13. Popülasyon	14. Popülasyon	15. Popülasyon
1.Popülasyon	0,00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.Popülasyon	-0,09537	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.Popülasyon	-0,04839	-0.06706	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.Popülasyon	-0.06383	0.00162	-0.07955	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.Popülasyon	-0.06353	-0.04210	-0.03404	-0.03747	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.Popülasyon	0.05102	0.01818	0.01466	0.04700	0.01867	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.Popülasyon	0.08333	0.00339	-0.08696	0.05556	0.01302	0.09898	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	-
8.Popülasyon	0.25000	0.54694	0.42857	0.16667	0.18677	0.60656	0.62500	0.00000	-	-	-	-	-	-	-
9.Popülasyon	-0.03659	-0.03448	-0.11111	-0.02679	-0.06780	0.02240	-0.06061	0.33333	0.00000	-	-	-	-	-	-
10.Popülasyon	-0.06383	0.00162	-0.03261	-0.08333	-0.01605	0.04700	0.05556	0.16667	-0.02679	0.00000	-	-	-	-	-
11.Popülasyon	-0.03261	-0.02465	-0.04651	-0.05932	-0.03546	0.02473	-0.00000	0.30000	-0.03774	-0.02459	0.00000	-	-	-	-
12.Popülasyon	-0.10294	-0.12020	-0.06061	-0.07143	-0.07865	0.01923	-0.00000	0.37500	-0.04651	-0.02941	-0.08696	0.00000	-	-	-
13.Popülasyon	-0.08108	-0.01066	-0.04167	-0.10000	-0.05358	0.04925	0.07143	0.16667	-0.03261	-0.05769	-0.07143	-0.08974	0.00000	-	-
14.Popülasyon	-0.06638	-0.03200	-0.09469	-0.07179	-0.01491	0.01600	-0.01671	0.20755	-0.10680	-0.07179	-0.02829	-0.04192	-0.05609	0.00000	-
15.Popülasyon	0.01961	0.04334	-0.07955	-0.04839	0.02425	0.08696	0.05556	0.31818	0.00862	0.01515	0.00794	0.00943	0.01786	0.01685	0.00000

4. TARTIŞMA

Kenelerde tür tayini geleneksel olarak morfolojik özelliklere dayanmaktadır (Mangold ve ark., 1998). İdentifikasyonda kullanılan morfolojik özellikler gelişimin belirli aşamasında hayli fayda sağlar (Caporale ve ark., 1995). Örneğin, erişkin kenelerin morfolojik özellikleri kenelerin identifikasyonu için çoğu zaman ana kriterleri sağlamaktadır (Lv ve ark., 2014). Bu özelliklere dayanan fenotipik teknikler, karakteristik farklılıkların olası varyansı ile büyük ölçüde sınırlıdır (Mangold ve ark., 1998). *Rhipicephalus sanguineus* kompleksinin morfolojik olarak çok yakın ilişkili türleri içermesi, yanlış identifikasyon sonucu kompleks içerisinde yer alan bazı türlerin biyosistematik durumunu hayli karıştırmıştır (Moraes-Filho ve ark., 2011). Aynı durum *D. marginatus* kompleksi içerisinde de geçerlidir. Morfolojik olarak beş farklı türden (*D. marginatus*, *D. ushakovae*, *D. niveus*, *D. silvarum* ve *D. nuttallii*) oluştuğu belirtilmiş olan *D. marginatus* kompleksi (Filippova ve Plaksina, 2005) içerisinde morfolojik olarak birbirine çok benzer türlerin olması ve önceden yapılan morfolojik raporlarda da yaygın bir şekilde hataların olduğu bildirilmiştir (Guglielmone ve ark., 2014). Tüm bu komplekslerdeki fenotipik olarak birbirleriyle benzer türlerin olması ve geçmişten gelen identifikasyon hataları neticesinde günümüzde bu türlerin taksonomik durumu ve gerçek yayılışını ortaya koymak ve de gelecekteki araştırmalar için rehber olarak kullanmak adına detaylı morfo-moleküler karşılaştırmalı araştırmalara şiddetle ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak literatür çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda *D. marginatus* ile ilgili yönelik detaylı morfolojik analizler oldukça sınırlıdır. Ülkemizde *D. marginatus* 'un yanı sıra kompleks içerisinde yer alan türlerden biri olan *D. niveus* 'un da varlığı bildirilmesine rağmen bu türün orijinal tanımlamasında dahi *D. marginatus* ile morfolojik ayırımının çok yüzeysel olup kolaylıkla karıştırmaya (yanlış identifikasyona) müsaittir. Ayrıca genetik olarak net bir ayırım henüz ortaya konmadığından geçmişteki bildirimler onaylanmaya (konfirmasyon) ihtiyaç duymaktadır. Bunların haricinde *D. marginatus* kompleksinde yer alan diğer türlerin (*D. ushakovae*, *D. silvarum* ve *D. nuttallii*) varlığı ülkemizden bildirilmemiştir. Bununla birlikte, literatür çalışmaları

incelendiğinde *D. marginatus* popülasyonlarına yönelik karşılaştırmalı morfolojik analizlerin oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu sebeplerden dolayı, tez çalışması kapsamında öncelikle geçiş habitatı üzerinde belirlenen lokasyonlardan örneklenen *D. marginatus* popülasyonları morfolojik açıdan hem kendi içerisinde hem de popülasyonlar arasında ölçümlere ve gözlemlere dayalı detaylı olarak karşılaştırıldı.

Literatürde yer alan morfolojik kayıtlar ile bu tez çalışmada elde edilen bulgular karşılaştırıldığında; Jafari ve ark. (2020), Kuzeydoğu İran’da yaban koyunları üzerinden örnekledikleri *D. marginatus* dişi ve erkek bireylerinin morfolojik analizlerini yaptıklarında beslenmemiş kenelerin ortalama 4-5 mm boyutunda, lateral suturun olmadığı, ikinci palp ekleminin geniş ve basis kapitulinin dikdörtgen şeklinde olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca skutum ve konskutum üzerindeki desenlerin beyaz renkte, spirakulumların geniş ve 4. koksanın büyük, 1. koksada ise eksternal ve internal spurların eşit uzunlukta olduğunu belirtmişlerdir. Ancak çalışma kapsamında vücut yapılarına dair detaylı bir ölçüm yapılmamıştır. Mevcut çalışmamızda ise morfolojik yapılar incelendiğinde hem popülasyon içi hem de popülasyonlar arasında vücut büyüklüğü, desen ve spirakulum şekilleri, internal ve eksternal spur uzunlukları açısından net morfolojik farklılıkların olduğu gözlemlenmiştir. Bu farklılıklar incelendiğinde vücut büyüklüğünün 2., 8. ve 12. popülasyonlardaki dişi bireylerden birinin (Cm-231, Cm-813 ve Cm-1232) diğer dişilere kıyasla daha küçük olduğu gözlemlenmiştir. Desen çizgilerinin özellikle erkek bireylerde festonlara doğru gidildikçe daha kalın (Cm-241, Cm-1045, Cm-1534 ve Cm-1535) veya ince (Cm-141, Cm-816, Cm-923, Cm-1224, Cm-1323 ve Cm-1417) olduğu tespit edilmiştir. Yukarıdaki çalışmada olduğu gibi desen renkleri beyaz olmakla birlikte sadece iki bireyde (Cm-722, Cm-763) rengin daha sönük, bir bireyde (Cm-156) ise çok yoğun olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte 1. koksada bulunan eksternal ve internal spur uzunluğu açısından erkek ve dişilerde genel olarak internal spurun, eksternal spurdan daha uzun olduğu görülmüştür.

Nadim ve ark. (2021) ise İran’daki koyunlardan örnekledikleri 300 *D. marginatus*

erkek bireylerini morfolojik açıdan karşılaştırdıklarında dorsal alanda yer alan noktalamaların belirgin veya soluk olduğunu bununla birlikte bazı bireylerde desen çizgilerinin kalın veya ince olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak çalışma kapsamında sadece erkekler morfolojik olarak incelenmiştir. Morfolojik analizler kapsamında ise sadece skutumdaki desen şekillerindeki farklılıklar ortaya konulmuştur. Mevcut çalışmamızda ise erkeklerin yanı sıra dişiler de desendeki farklılıklara ilaveten diğer morfolojik yapılarda dikkate alınarak detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Erkeklerin desen görüntüleri karşılaştırıldığında yukarıdaki çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yani 1. 7. 8. ve 9. lokasyonlardan örneklenen erkeklerin bazılarında desen çizgilerinin oldukça ince olduğu bununla birlikte 1. 2. 6. 10. ve 15. lokasyonlardan örneklenen bazı erkeklerin desen çizgilerinin kalın olduğu gözlemlenmiştir. Ancak yukarıdaki çalışmadan farklı olarak 12. ve 15. lokasyonlardan örneklenen iki erkeğin sağ festona doğru gidildikçe desen çizgilerinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. Erkeklerin yanı sıra dişiler arasında da özellikle skutum üzerindeki desen yapısının bireyler arasında farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu farklılık skutumun anterior kısmından posterior kısmına doğru siyah alanların yoğun veya seyrek olması şeklinde gözlemlenmiştir. Özellikle 6. lokasyondan örneklenen dişilerin birisinde desen yoğunluğunun tüm lokasyonlardaki dişi bireylere kıyasla çok yoğun olduğu görülmüştür. 2. lokasyondan örneklenen dişilerin birisinin ise oldukça küçük olduğu (3.879 mm) gözlemlenmiştir. Dişilerdeki spirakulum şekillerinin de 3. 5. ve 15. lokasyonlardan örneklenen bazı dişi bireylerde yuvarlak veya elips şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. Morfolojik farklılıklar moleküler bulgular ile karşılaştırıldığında İran'dan örneklenen farklı desen şekline sahip *D. marginatus* bireylerinin BLAST analizi sonucu ITS2 gen bölgesi açısından diğer sekanslar ile %100 benzerlik gösterdiği görülürken, bu çalışma da ise farklı bir mitokondriyal gen bölgesi olan COI' in BLAST analizi sonucu haplotipler arasında %99 benzerlik gözlemlenmiştir. Bununla birlikte 6. lokasyondaki yoğun desen görüntülerine sahip dişi ve erkeklerin aynı haplotip (H16) içerisinde gruplanmışlardır. Ancak 2. lokasyonda bulunan küçük dişi bireyin ise diğer lokasyonlardaki büyük dişi bireyler ile aynı haplotip (H30) içinde gruplandıkları görülmüştür. Erkeklerde gözlemlenen desen farklılaşmasında ise kalın desen çizgilerine sahip kenelerin çoğunlukla aynı haplotipi(H30) paylaştıkları gözlemlenmiştir. Bu bireyler

içerisinde sadece bir erkeğin (Cm-1534) farklı haplotipte (H29) gruplandığı görülmüştür. Bununla birlikte desen çizgilerinin giderek kaybolduğu erkeklerin (Cm-1531 ve Cm-1235) her biri ise ayrı haplotiplerde ve tek birey olarak şekilde (H9 ve H10) gruplandıkları görülmüştür.

Estrada-Peña ve Estrada-Peña (1992), İspanya, Fransa, Arnavutluk, Avusturya, Bulgaristan, Çekoslovakya, İran, İtalya, Lübnan, Fas, Polonya, Romanya, İsviçre ve Türkiye’ den gelen ve konak arayan veya konak üzerinden toplanan *D. marginatus* erkek ve dişilerin morfolojik analizini yaptıklarında Akdeniz, Kuzey, Batı, Doğu ve Merkez gruplarının kladistik analiz sonucu basis kapituli uzunluğu ve genişliği açısından önemli farklılıkların olduğunu belirtmişlerdir. Basis kapitulinin erkeklerde (0,363 mm) dişilere (0,333 mm) kıyasla daha uzun olduğu, ancak basis kapituli genişliğinin ise erkeklerle kıyasla (0,566 mm) dişilerde (0,670 mm) daha uzun olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da basis kapituli uzunluğu ortalaması erkeklerde 0,406 mm, dişiler de ise 0,322 mm olarak tespit edilmiştir. Basis kapitulinin genişliği ise erkeklerde 0,574 mm, dişilerde 0,669 mm olarak gözlenmiştir. Basis kapitulinin uzunluğunun erkeklerde Akdeniz (İtalya, Fransa’nın doğusu ve İspanya’nın büyük kısmı), Kuzey (Avrupa’nın ılıman yerleri, Fransa ve İspanya’nın kuzeyi), Doğu (İran, Lübnan ve Eski Sovyetler Birliği) ve merkez (Arnavutluk, İsviçre, Çekoslovakya, Polonya ve Romanya) gruplarından daha yüksek olduğu, buna karşılık dişilerde ise merkez grup dışında diğer tüm gruplardan düşük olduğu gözlenmiştir. Basis kapituli eninin erkeklerde Kuzey grubu ile karşılaştırıldığında düşük, ancak diğer gruplara kıyasla yüksek olduğu, dişilerde ise sadece doğu grubundan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki lokasyonlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında basis kapituli uzunluğu ve genişliğinin lokasyonlar arasındaki değerlerin birbirine yakın olduğu görülmüş olsa da basis kapituli uzunluğu ve genişliği açısından dişilerde 3. ve 8. lokasyonun yüksek, 14. lokasyonun ise diğer lokasyonlara kıyasla düşük olduğu gözlemlenmiştir. Erkeklerde ise basis kapituli uzunluğunun 10. ve 13. Lokasyonlarda yüksek, 5. ve 6. lokasyonlarda düşük olduğu, basis kapitulinin genişliğinin ise 7. ve 8. lokasyonlarda yüksek, 5. ve 14. lokasyonlarda düşük olduğu tespit edilmiştir. Ancak dişi ve erkeklerin lokasyonlarda eşit bir şekilde dağılım

göstermemesi bu sonucu etkilemektedir.

Tür tanımlama anahtarları, ilk etapta kene soylarının morfolojik özellikleri ve ikinci etapta türlerin morfolojik özellikleri üzerine genişletilir. Bu anahtarlar iyi hazırlanmış olsa bile, *D. marginatus* ve *D. niveus* gibi türler arasındaki güçlü örtüşen özellikler nedeniyle, ciddi sorunlar teşkil edebilir (Moshaverinia ve ark., 2009). Örneğin, ülkemizde *Dermacentor daghestanicus* varlığı morfolojik olarak bildirilmiş olsa da (Bursalı ve ark. 2010; Bursalı ve ark., 2011 ve Özkan, 1978) daha sonra Bursalı ve ark. (2012), kendi identifikasyonlarının tekrar incelediklerinde bunların *D. marginatus* 'un varyantı olduğunu bildirerek düzeltmişlerdir. Keza *D. daghestanicus* türünün taksonomik olarak durumu net olmamakla birlikte bazı yazarlar bunun *D. niveus* 'un sinonimi olduğunu belirtmişlerdir (Guglielmone ve ark., 2014). Akdemir, 2002; Arslan ve ark., 1999; Bursalı ve ark., 2010; Bursalı ve ark., 2011; Bursalı ve ark., 2013; Çiçek, 2000; Değer ve ark., 2016; Eser, 2012; Hoffmann ve ark., 1971; İça ve ark., 2007; Karataş, 2020; Keskin ve ark., 2017; Khan, 1972; Kurtpınar, 1954; Mamak ve ark., 2006; Merdivenci, 1969; Oytun, 1956; Sayın ve ark., 1997 ve Yukarı ve Umut, 2002 ülkemizde *D. niveus* 'un varlığı bildirmiş olsa da bu keneye ait görüntüye dayalı herhangi bir morfolojik veri veya moleküler bulgu sunmamışlardır. Mevcut çalışmada ise morfolojik açıdan *D. marginatus* olarak teşhis edilen bireyler üzerinde yapılan detaylı analiz sonucu birtakım farklılıkların görüldüğü kenelerin *D. marginatus* veya tür kompleksi içerisinde yer alan diğer kenelerden biri olup olmadığını değerlendirmek için COI gen bölgesi (812 bp) incelendiğinde, tüm bireylerin *D. marginatus* olduğu, böylelikle, gözlemlenen morfolojik farklılıkların tür-içi varyasyon olduğu ortaya konmuştur. Dolayısıyla çalışmamız kapsamında *D. marginatus* 'a bağlı birçok morfolojik varyasyonun moleküler veriler ile desteklenerek bu kene türüne ait varyasyonlar olduğunun ortaya konması, ülkemizde daha önce bildirilen *D. niveus* türünün yalnızca morfolojiye dayalı teşhisinde yanlış identifikasyona yönelik sorunlar olabileceğini göstermektedir.

Dermacentor marginatus ve kompleks içinde yer alan üyelerin ve popülasyon

genetiği üzerine spesifik ve detaylı bir araştırma bulunmaması ve yapılan çalışmalarda çok az sayıda *D. marginatus* örneklerine yönelik birtakım verilerin ortaya konması literatürde önemli bir açık olarak yer almaktadır. Bunlardan, Chitimia ve ark. (2010), *D. marginatus* bireyinde COI genine dayalı analiz yaptıklarında 7 bireyde %0,1-1,2 arasında varyasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ise çok çeşitli omurgalı konakların ve de özellikle *D. marginatus* ilişkili olan/olabilecek patojenlerin sirküler halde olduğu ve kenelerin çeşitlenmesi açısından da zengin bir geçiş habitatı üzerindeki 15 farklı lokasyon merkezli çalışma alanından elde edilen aç *D. marginatus* kenelerinin COI genine dayalı analizi sonucunda kenelerin mevcut çalışmalara kıyasla hem baz çifti çeşitliliğinin yüksek olduğu hem de daha fazla haplotip çeşitliliği (80 keneye ait 30 haplotip) gözlemlenmiştir. Lokasyonlardan örneklenen bireyler kendi aralarında gen akışı ve genetik çeşitlilik yönünden karşılaştırıldıklarında en fazla haplotip çeşitliliğinin Yıldırım köyler (4. Lokasyon), Kırköy-Üçbaş (5. Lokasyon), Çavundur-Dağkalfat (9. Lokasyon), Karadana (11. Lokasyon) ve Ahmetadil (14. Lokasyon) lokasyonlarda olduğu sırasıyla, 5 7 5 ve 6 haplotip tespit edilmiştir. Haplotiplerin dağılımı da bu sonucu desteklemiştir. Yani 4. lokasyondan örneklenen kenelerin tamamı (5) H4, H17, H23, H29 ve H30 haplotiplerinde, 5. lokasyondaki keneler (7) H1, H3, H13, H14, H21, H28 ve H30 haplotiplerinde, 9. lokasyondaki keneler (5) H18, H19, H22, H28 ve H30 haplotiplerinde, 11. lokasyondaki keneler (5) H6, H8, H20, H28 ve H30 haplotiplerinde ve 14. lokasyondaki keneler (6) H11, H22, H23, H24, H28 ve H30 haplotiplerinde gruplanmıştır. Bununla birlikte her bir lokasyon için nükleotid çeşitliliği hesaplandığında 2. 6. 7. ve 8. lokasyonlarda oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun ayrım alanlarının sayısı ile orantılı olduğu görülmüştür. Ancak bütün bireyler bir arada değerlendirildiğinde haplotip çeşitliliğinin yüksek ($H_d:0,861$) olmasına karşılık nükleotid çeşitliliğinin düşük ($\pi:0,0216$) olduğu gözlemlenmiştir. Nükleotid çeşitliliğinin düşük olması haplotiplerin birbiriyle yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu durumda haplotipler arasındaki ilişkiler incelendiğinde büyük bir çoğunluğunun birbiri ile bir veya iki nükleotid açısından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte haplotip çeşitliliğinin yüksek olması ise düşük etkili popülasyon büyüklüğü döneminden (heterozigotluğun az olması) sonra popülasyonda yakın zamanda bir genişleme olabileceğini düşündürmektedir (Grant ve

Bowen, 1998 ve Mendez-Harclerode ve ark., 2007). Ayrıca Tajima D değeri de istatistiksel olarak anlamlı ve teta-pi değerinin teta-k değerinden az olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu durum darboğaz etkisinden sonra popülasyon genişlemesinin olduğunu anlamına gelmektedir (Tajima, 1989). Ayrıca elde edilen bu değer ortalama heterozigositenin düşük olduğunu da ifade etmektedir. Bu durumda ayırım alanlarının sayısından daha az haplotipin olduğu ortaya çıkmaktadır. Mevcut çalışmada da ayırım alanları sayısının (35) haplotip sayısından (30) fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayırım alanlarının aminoasit çeşitliliği üzerine etkisi göz önüne alındığında yalnızca beş nükleotidde (53. 142. 305. 542. ve 596. nükleotidler) meydana gelen değişimin etkili olduğu görülmüştür. Bu durumda diğer ayırım alanlarındaki nükleotid farklılaşmasının aminoasit çeşitliliği üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı (sessiz mutasyon) tespit edilmiştir.

Coğrafik bariyerlerin popülasyonlar arasındaki ve popülasyon içindeki genetik yapıları olan etkisi göz önüne alındığında Anadolu coğrafyası dağ zincirlerini (Anadolu diyagonalı), Orta Anadolu Platosu ve Marmara denizi gibi gen akışına karşı birçok engeli içermektedir. Bu engeller Anadolu'yu tür içi genetik farklılaşmanın gözlenmesi için iyi bir aday yapmaktadır (Bilgin 2011). Tez çalışması kapsamında da çalışma alanlarının çeşitli ekoton ve omurgalı konakları içermesi popülasyonlar arası genetik farklılığın iyi bir şekilde gözlenebilmesi için önem taşımaktadır. Bununla birlikte lokasyonlarda bulunan keneler arasındaki ikili genetik mesafe değerleri incelendiğinde 8. Lokasyon (Yeşilkent) ile diğer lokasyonlar arasındaki genetik mesafenin 0,16-0,62 değerleri arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer popülasyonlar ile karşılaştırıldığında elde edilen bu değerlerin 8. lokasyonda bulunan türlerin diğer lokasyonda bulunan türlerden ne kadar fazla farklılaştığını ortaya koymaktadır. Lokasyonlar arasında gözlemlenen negatif değerler popülasyonlar içindeki genetik varyasyonun (%98,55) popülasyonlar arasındaki genetik varyasyondan (%1,45) büyük olduğunu göstermektedir. Popülasyonlarda haplotip çeşitliliğinin yüksek olması, yani aynı lokasyondan örneklenen kenelerin farklı haplotipler içerisinde toplanması ikili genetik uzaklıktaki bu durumu desteklemektedir. F_{ST} değerinin de 0,01449 olarak hesaplanması popülasyonlar arasındaki

genetik varyansın düşük olduğunu ifade etmektedir.

Yang ve ark. (2021), Güney ve Doğa Kazakistan’ da 2 farklı lokaliteden örnekledikleri *D. marginatus* kenelerini (erişim nu. MN868592 ve MN868560) COI gen bölgelerine (647 bç) göre karşılaştırmış ve sonuç olarak iki sekansın da birbiri ile %100 oranında benzerlik gösterdiğini bildirmiştir. Ancak bu sekanslar çalışmamızdaki *D. marginatus* haplotipleri ile karşılaştırıldığında her iki kenenin H14, H18 ve H30 haplotipleri ile %99,69 (645/647 2 farklı nükleotid) oranda en benzer olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte çalışmamızdaki sekanslar, Lv ve ark. (2014), tarafından Çin’in Xinjiang şehrinde sığırdan toplanmış *D. marginatus* sekansı (erişim nu. JX051151) (658 bç) ile karşılaştırıldığında H12, H14 ve H30 haplotipleri ile %99,09 (652/658 6 farklı nükleotid) en benzer oldukları görülmüştür. Her iki blast analizi sonucunda en az benzerlik H1 haplotipinde, sırasıyla %99,23 (642/647 5 farklı nükleotid) ve %98,48 (648/658 10 farklı nükleotid) görülmüştür. Çalışma kapsamında haplotipler arasındaki ilişkiler incelendiğinde de H1 haplotipinin diğer haplotipler ile arasındaki nükleotid farklılığının yüksek olduğu tespit edilmiştir. H1 haplotipinin İran’ dan örneklenen *D. marginatus* keneleri(erişim nu. MK863422 ve MK863424) ile ayrı haplotipler içerisinde gruplandıkları ve blast analizi sonucunda benzerlik sırasıyla %99,07 (637/643 6 farklı nükleotid) ve %95,18(612/643 31 farklı nükleotid) olduğu (hedef sekans tarafından %78’inin kapsandığı) görülmüştür. Bununla birlikte Romanya ve Çin’ den örneklenen *D.marginatus* keneleri ile yapılan blast analizleri sonucu (erişim nu. FN394328, FN394331, OM638642, OM638640 ve OM638639) benzerliklerin sırasıyla %99,04 (725/732 7 farklı nükleotid), %99,18 (726/732 6 farklı nükleotid), %99,24 (726/732 6 farklı nükleotid), %99,24 (651/656 5 farklı nükleotid) ve %99,24 (651/656 5 farklı nükleotid) olduğu görülmesine rağmen hedef sekans tarafından %79 ile %89 arasının kapsandığı tespit edilmiştir.

Haplotiplerdeki kenelerin dağılımı incelendiğinde çoğunlukla her bir kenenin tek başına bir haplotipi temsil ettiği görülmüştür. Mevcut veriler GenBank içinde yeralan

diğer *D. marginatus* keneleri (90 kene) ile birlikte Blast analizleri sonucunda haplotip dağılımları yeniden incelenmesiyle H2, H15, H16, H11, H6, H5, H8, H12, H20 ve H21 haplotiplerinin aynı şekilde dağılım gösterdikleri görülmüştür. Ancak H13, H18, H19, H20, H22, H24, H26, H27 ve H30 haplotiplerinde bulunan kenelerin Filipe ve ark (2021), tarafından Portekiz’ de yaban domuzu ve vejetasyondan örneklenen *D. marginatus* keneleri (erişim nu. LC508344, LC508345, LC508346, LC508347) ile aynı haplotipi paylaştıkları gözlenmiştir. Türkiye’ den örneklenen bir *D. marginatus* (erişim nu. MT230036) ile çalışmada elde ettiğimiz keneler blast analizi sonucu bazı keneler ile (Cm-1041, Cm-8101 ve Cm-441) aynı haplotip içinde gruplandıkları (Ha17) ve %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak benzerlik analizi 472 bç. esas alınarak yapılmıştır.

Mevcut veriler ile *D. niveus* sekansları ile karşılaştırıldığında, “*D. niveus* isolate XJDN-1” (erişim nu. MN836692), “*D. niveus*” isolate XJDN-2 (erişim nu. MN836693), “*D. niveus* isolate XJDN-3” (erişim nu. MN836694) ve “*D. niveus* isolate XJDN-4” (erişim nu. MN836695) sekansları COI gen bölgelerinin, sırasıyla 760, 744, 752 ve 754 bç, haplotipler ile blast analizlerinin sonucunda H1 haplotipi dışında %96,32-95,92 arasında benzerlik gözlenmiştir. Ancak üç *D. niveus* sekansının (erişim nu. MN836694, MN836693 ve OM368305) Çin’ den örneklenen *D. marginatus* sekansları ile aynı haplotip içerisinde gruplandıkları gözlemlenmiştir. Bu durum GenBank içerisinde yer alan ve *D. niveus* olarak belirtilen bu kenelerin muhtemelen yanlış kayıt olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte diğer *D. niveus* sekanslarının ise (erişim nu. MN836692, MN836695 ve MK863423) *D. marginatus*’lardan ayrı şekilde haplotiplere ayrıldıkları görülmüştür. Ayrıca haplotip analizi sonucunda bu kenelerin hiçbirisi çalışmadaki *D. marginatus* bireyleri ile ortak bir haplotipi paylaşmamıştır. Dolayısıyla çalışma kapsamında örneklediğimiz kenelerin tamamının tür olarak *D. marginatus* keneleri olduğu hem morfolojik hem de moleküler bulgular ile desteklenmiştir. Kenelerde gözlemlenen morfolojik farklılıkların *D. niveus* veya kompleks içerisinde bulunan diğer türlere özgü yapılar olmadığı, bu kene türüne ait tür içi varyasyonlar olduğu ortaya konulmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen veriler doğrultusunda;

1. Geçiş habitatı üzerinde belirlenen 15 lokasyondan elde edilen 80 *D. marginatus* bireylerinin tamamının detaylı morfolojik analiz yapılması sonucunda hem dişi hem de erkeklerde vücut büyüklüğünün dişiler için 3,879-5,665 mm arasında erkeklerde ise 4,371-6,210 mm arasında olduğu tespit edilmiştir.

2. Palp ekstremiteleri, basis kapituli, bacak segmentleri, skutum ve konskutum üzerinde yer alan desen rengi ve yoğunluğu açısından belirgin farklılaşmalar gözlemlenmiştir. Desen görüntüsündeki ana farklılık erkek bireylerde vücudun neredeyse tamamını kapsayacak şekilde ve festonlara kadar ulaşan çizgilerin kalın veya ince olması şeklindeyken, dişilerde ise skutumun ortasında ve marjinal sınıra doğru yoğunlaşması şeklinde görülmüştür.

3. Spirakulum şekli incelendiğinde bazı bireylerde yuvarlağa yakın, bazılarında ise elipsoid şekilde olduğu gözlemlenmiştir. Koksa I üzerinde yer alan eksternal ve internal spurlar incelendiğinde, bireylerin büyük bir kısmında internal spurun eksternal spura kıyasla daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. Morfolojik analize alınan bireyler arasında sadece bir bireyde feston anomalisi gözlemlenmiştir.

6. Morfolojik açıdan *D. marginatus* olarak tür teşhisi yapılan bireylerin filogenetik analizi yapıldığında, tüm bireylerin *D. marginatus* olduğu onaylanmıştır. Bu durum yukarıda belirtildiği üzere bireyler arasında görülen hem morfolojik hem de ölçümlerde dayalı farklılıkların *D. marginatus*' un polimorfik bir tür olduğunu ve tür-içi varyasyonlar olduğunu ortaya koymuştur.

7. Popülasyon genetiği analizleri 80 bireyin 30 haplotipi paylaştığını göstermiştir. Bununla birlikte bireylerin büyük bir kısmı H28 ve H30 haplotipleri içerisinde yer almıştır. Bu durum nükleotid çeşitliliğinin düşük olması ile ilişkilendirilebilir. Çünkü

haplotip çeşitliliği yüksek olmasına rağmen, düşük nükleotid çeşitlilik değeri, haplotipler arasında sadece küçük farklılıkların olduğunu (1 veya 2 nükleotid) göstermiştir. Başka bir ifadeyle bu durum küçük etkin popülasyon büyüklüğünden hızlı bir popülasyon genişlemenin olabileceğini göstermektedir.

9. Nötralite testleri uygulandığında hem F_u ve L_i 'nin D-F değerleri hem de Tajima'nın D değerinin istatistiksel olarak anlamlı ve negatif olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ayırma alanlarının sayısından daha az haplotip olduğunu ve yakın zamanda gerçekleşen popülasyon dar boğaz etkisinden sonra popülasyonlarda genişlemenin olduğunu göstermektedir.

10. AMOVA ile elde edilen veriler popülasyonlar içi genetik varyasyonun popülasyonlar arası genetik varyasyondan yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Lokasyonlar arasındaki genetik mesafe incelendiğinde ise 8. lokasyonun 6. ve 7. lokasyonlar ile arasındaki genetik farklılığın yüksek olduğu ve aynı haplotip içinde gruplanmadıkları görülmüştür.

Günümüzde halen tartışmalı bir grup olarak belirtilen *D. marginatus* tür kompleksi içerisinde yer alan bireylerden biri olan *D. marginatus* kenelerinin birçok coğrafyada farklı patojenleri vektör olarak nakletmesinin hem insan hem de hayvan sağlığı açısından oldukça önemlidir. *D. marginatus*'un ve kompleks içinde yer alan diğer bireylerin popülasyon genetiğine yönelik spesifik organize edilmiş detaylı filogenetik ve popülasyon genetiği çalışması bulunmaması literatürde önemli bir açık olarak yer almaktadır. Mevcut çalışma ile elde edilen morfolojik, filogenetik ve popülasyon genetiğine yönelik veriler literatüre önemli katkı sağlamıştır. Zira ülkemizde kompleks içerisinde yer alan türlerden birisi olan *D. niveus*'un varlığı bildirilmesine rağmen bu keneye ait herhangi bir morfolojik görüntü ve moleküler verilerin paylaşılmaması ve bu kene türünün *D. marginatus* ile morfolojik ayrımının yüzeysel ve yanlış identifikasyona müsait olması, genetik açıdan da net bir ayrımının ortaya konmaması bu kene türünün varlığı ile ilgili şüpheler ortaya koymaktadır. Dolayısıyla *D. marginatus* tür kompleksi içerisinde yer alan bireylerin morfolojisi, filogenisi ve popülasyon genetiğine yönelik daha detaylı bilgiler elde edebilmek için

daha fazla lokasyon ve gen bölgesinin analiz edileceği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



ÖZET

İç Anadolu Bölgesi'nin Kuzeyindeki Bir Geçiş Habitatı Hattı Boyunca Yayılım Gösteren *Dermacentor marginatus* Kenelerinin Popülasyon Genetiğinin Araştırılması

Palearktik coğrafyanın önemli vektör kenelerinden biri olan *Dermacentor marginatus* türü hem ülkemizde hem de yayılım gösterdiği diğer ülkelerde ihmal edilmiş bir türdür. Her ne kadar insan ve hayvanlarda önemli hastalığa sebep olan patojenlerin naklinde rol oynayabileceği gösterilmişse de bugüne kadar bu kenenin filogenetiği ve popülasyon genetiği üzerine detaylı araştırma yapılmamıştır. Bu tez çalışma ile İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeyindeki bir geçiş habitatı boyunca yayılım gösteren *D. marginatus* kenelerinin popülasyon genetiğini araştırmak amaçlanmıştır. Bu kapsamda, orman habitatından stepe doğru ilerleyen ve yarı kurak alanlara geçerek ırmak deltasında son bulan çok çeşitli ekotonların var olduğu 15 farklı ana lokasyon merkezlerinden elde edilen farklı *D. marginatus* popülasyonlarının genetik yapısı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda morfo-moleküler olarak karakterize edilerek örneklerinin detaylı morfolojik analizleri yapıldığında vücut büyüklüğü, palp, basis kapitulı, skutum ve konskutum üzerinde bulunan desen şeklinde belirgin değişimler gözlemlenmiştir. Ayrıca spirakulum şekli ile internal ve eksternal spurların bireyler arasında farklılık gösterdiği tespit edildi. Genetik analizler sonucunda da elde edilen tüm örneklerin *D. marginatus* olduğu tespit edilmiştir. Bu durum morfoloji de görülen farklılıkların tür içi varyasyon olduğunu ortaya koymuştur. Türün mitokondriyal COI gen bölgesine göre popülasyon genetiği analizi yapıldığında 80 bireyin 30 haplotipte gruplandığı ortaya konmuştur. Ancak haplotipler arasındaki nükleotid farklılığının aminoasit değişimi üzerine etkisi incelendiğinde sadece beş aminoasit açısından değişim gözlenmiştir. Haplotip çeşitliliğinin yüksek olmasına karşılık nükleotid çeşitliliğinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum hızlı bir popülasyon genişlemenin olabileceğini göstermektedir. Ayrıca Tajima'nın D ve Fu ve Li' nin D-F değerinin istatistiksel olarak anlamlı ve negatif olması popülasyonların geçmişte darboğaz etkisine maruz kalması sonucu popülasyonlarda genişleme olduğunu göstermektedir. AMOVA sonucu elde edilen bulgular popülasyonlar arası genetik varyasyonun popülasyonlar içi genetik varyasyondan düşük olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, elde edilen bulgular *D. marginatus*' un polimorfik bir tür olduğunu ve popülasyonlar içerisinde ciddi genetik farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. *D. marginatus*' un morfolojisi ve popülasyon genetiği yapısına yönelik daha fazla bilgi elde edebilmek için farklı lokasyonların ve gen bölgelerinin analizine de ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: COI, *Dermacentor marginatus*, Morfoloji, Popülasyon Genetiği, Sert Kene, Türkiye.

SUMMARY

Investigation on the Population Genetics of *Dermacentor marginatus* Ticks Spreading Along a Line of Transitional Habitat in the North of Central Anatolia Region

Dermacentor marginatus is one of the important vector tick species of Palearctic geography and has been neglected both in our country and in other countries where it spreads. The phylogeny and population genetics of this tick has not been studied in detail, although it has been suggested that it may play a role in the transmission of pathogens that cause significant human and animal disease. In this research, the population genetics of *D. marginatus* ticks was examined. These ticks are widely distributed in a transitional ecosystem in the northern Central Anatolian Region. A variety of ecotones ranging from the forest habitat to the steppe, passing through semi-arid areas, and ending in the river delta are present in this context, and the genetic structure (haplotype diversity) of various *D. marginatus* populations was obtained from 15 different main location centers. The potential impact of these geographic changes on haplotypes was then examined. At the conclusion of the investigation, when thorough morphological analyses of *D. marginatus* samples were carried out, changes in the body size, the palp pattern, the base capitula, scutum, and the conscutum were clearly visible. As a result of the study, the shape of the spiraculum and the internal and external spurs were found to vary between individuals. As a result of genetic analysis of the individuals, it was found that they were all *D. marginatus*. This situation suggests that the differences observed in morphology are within-species differences. When population genetic analysis was performed based on the mitochondrial COI gene region of this species, 80 individuals were observed to share 30 haplotypes. However, when examining the effect of nucleotide differences between haplotypes on amino acid changes, only five amino acids changed. Despite high haplotype diversity, nucleotide diversity was found to be low. This suggests that rapid population growth is likely to occur. Furthermore, the fact that Tajima's D and Fu and Li's D-F values are statistically significant and negative suggests that the population is increasing due to the fact that the population has historically been subject to bottleneck effects. Findings from AMOVA show that genetic variation between populations is lower than within populations. In conclusion, the findings revealed that *D. marginatus* is a polymorphic species and it shows significant genetic variation within populations. Analysis of different locations and gene regions is also needed to obtain more information on the morphology and population genetic structure of *D. marginatus*.

Keywords: COI, *Dermacentor marginatus*, Hard Tick, Morphology, Population Genetics, Turkey

KAYNAKLAR

- ABDIGOUDARZI M, NOUREDDINE R, SEITZER U, AHMET J (2011). Identification of *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor* and *Boophilus* spp. (Acari: Ixodidae) collected from different geographical regions of Iran. *Advanced studies in biology*, **3(5)**: 221-238.
- AÇICI M, CELEP A (1997). ‘Samsun yöresi sığır ve koyunlarda görülen mera keneleri ve mevsimsel dağılışı’. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **9**: 17-30.
- AKDEMİR C (2002). Van yöresi koyunlarında bulunan kene türlerinin (Fam: ixodidae) tespiti ve epidemiyolojisi üzerine araştırmalar. Doktora tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- AMZATI GS, PELLE R, MUHIGWA JBB, KANDUMA EG, DJIKENG A, MADDER M, KIRSCHVINK N, MARCOTTY T (2018). Mitochondrial phylogeography and population structure of the cattle tick *Rhipicephalus appendiculatus* in the African Great Lakes region. *Parasites and vectors*, **11(1)**: 329.
- ANDERSON RM, MAY RM (1981). The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts. *Biological Sciences*, **291(1054)**: 451-524.
- APANASKEVICH DA, OLIVER JH, SONENSHINE DE, ROE RM (2013). Biology of ticks. Life cycles and natural history of ticks, Ed.: Sonenshine, D.E., Roe, R.M., Oxford University Press. 59-73.
- ARAYA-ANCHETTA A, BUSCH JD, SCOLES GA, WAGNER DM (2015). ‘Thirty years of tick population genetics: A comprehensive review’. *Infection, Genetics and Evolution*, **29**: 164-179.
- ARSLAN MO, UMUR Ş, AYDIN L (1999). ‘Kars yöresi sığırlarında *Ixodidae* türlerinin Yaygınlığı’. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **23**: 331-335.
- ARTHUR DR (1960). Ticks. A monograph of the Ixodoidea. Part V. On the Genera *Dermacentor*, *Anocentor*, *Cosmiomma*, *Boophilus* and *Margaropus*. London, New York: Cambridge University Press.
- AYDIN L (2000). ‘Güney Marmara bölgesi ruminantlarında görülen kene türleri ve yayılışı’. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **24**:194-200.
- AYDIN MF, AKTAŞ M, DUMANLI N (2012). ‘Türkiye’nin Karadeniz Bölgesindeki koyun ve keçilerde kene enfestasyonları’. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **18**: 17-22.
- BAKIRCI S, AYSUL N, HASAN E, UNLU AH, KARAGENC T (2014). Diversity of ticks biting humans in Aydın province of Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **61(2)**: 93-98.

- BANDELT H, FORSTER P, ROHL A (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* **16**(1):37–48.
- BAKIRCI S, SARALI H, AYDIN L, EREN H, KARAGENÇ T (2012). ‘Distribution and seasonal activity of tick species on cattle in West Aegean region of Turkey’. *Experimental and Applied Acarology*, **56**:165-178.
- BARKER SC, MURRELL A (2003). Phylogeny, evolution and historical zoogeography of ticks: a review of recent progress. *Experimental and Applied Acarology*, **28**: 55-68.
- BARKER SC, MURRELL A (2004). Systematic and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology*. **129**: 15-36.
- BARKER SC, WALKER AR (2014). Ticks of Australia. The species that infest domestic animals and humans. *Zootaxa*, **3816**(1): 1-144.
- BILGIN R. (2011). Back to the suture: the distribution of intraspecific genetic diversity in and around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**(6): 4080-4103.
- BINNINGTON KC, KEMP DH (1980). Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. In *Advances in Parasitology*, **18**: 315-339.
- BOGDANOV AS, MAKENOV MT, MEDYANIKOVA LV, SHCHOUCHINOVA L D, YAKIMENKO VV (2017). ‘Variability of mitochondrial cytochrome oxidase first subunit gene (COI) fragments in several tick species of the *D. marginatus* group (*Ixodidae*, *Amblyomminae*, *Dermacentor*)’. *Biology Bulletin*, **44**(4): 379-383.
- BONNET S, DE LA FUENTE J, NICOLLET P, LIU X, MADANI N, BLANCHARD, B, MAINGOURD C, ALONGI A, TORINA A, FERNANDEZ DE MERA IG, VICENTE J, GEORGE JC, VAYSSIER-TAUSSAT M, JONCOUR G (2013). ‘Prevalence of tick-borne pathogens in adult *Dermacentor* spp. ticks from nine collection sites in France’. *Vector-borne and zoonotic diseases*, **13**(4): 226-236.
- BONNET SI, BINETRUY F, HERNANDEZ-JARGUIN AM, DURON O (2017). The tick microbiome: why non-pathogenic microorganisms matter in tick biology and pathogen transmission. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **7**: 236.
- BOWMAN AS, COONS LB, NEEDHAM GR, SAUER JR (1997). Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Medical and veterinary entomology*, **11**(3): 277-285.
- BRUNHAM RC, PLUMMER FA, STEPHENS RS (1993). Bacterial antigenic variation, host immune response, and pathogen-host coevolution. *Infection and immunity*, **61**(6): 2273.
- BURGDORFER W, VARMA MGR (1967). Trans-stadial and transovarial development of disease agents in arthropods. *Annual review of entomology*, **12**(1): 347-376.

- BURNARD D, SHAO R (2019). 'Mitochondrial genome analysis reveals intraspecific variation within Australian hard tick species'. *Ticks and tick-borne diseases*, **10(3)**: 677-681.
- BURSALI A, KESKIN A, SIMSEK E, KESKIN A, TEKIN S (2015). A survey of ticks (Acari: Ixodida) infesting some wild animals from Sivas, Turkey. *Experimental and Applied Acarology*, **66(2)**: 293-299.
- BURSALI A, KESKİN A, TEKIN S (2012). 'A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution'. *Experimental and applied acarology*, **57(1)**: 91-104.
- BURSALI A, KESKIN A, TEKIN Ş (2013). 'Ticks (Acari: Ixodida) infesting in the provinces of Kelkit Valley, a Crimean-congo hemorrhagic fever endemic region in Turkey'. *Experimental and Applied Acarology*, **59**: 507-515.
- BURSALI A, TEKIN Ş, KESKIN A, EKICI M, DUNDAR E (2011). 'Species diversity of Ixodid ticks feeding on humans in Amasya, Turkey: Seasonal abundance and presence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus'. *Journal of Medical Entomology*, **48**: 85-93.
- BURSALI A, TEKİN Ş, ORHAN M, KESKİN A, ÖZKAN M (2010). 'Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) infesting humans in Tokat province of Turkey: species diversity and seasonal activity'. *Journal of Vector Ecology*, **35**: 180-186.
- CABALLERO A (1994). Developments in the prediction of effective population size. *Heredity*, **73(6)**: 657-679.
- CAPORALE DA, RICH SM, SPIELMAN A, TELFORD SR, KOCHER TD (1995). Discriminating between *Ixodes* ticks by means of mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **4(4)**: 361-365.
- CHALIGIANNIS I, DE MERA IGF, PAPA A, SOTIRAKI S, DE LA FUENTE J (2018). 'Molecular identification of tick-borne pathogens in ticks collected from dogs and small ruminants from Greece'. *Experimental and Applied Acarology*, **74(4)**: 443-453.
- CHEN Z, XUAN Y, LIANG G, YANG X, YU Z, BARKER S C, KELAVA S, BU W, LIU J, GAO S (2020). 'Precise annotation of tick mitochondrial genomes reveals multiple copy number variation of short tandem repeats and one transposon-like element'. *BMC Genomics*, **21**: 488.
- CHITIMIA L, DE ARAUJO BC, RUTHENSTEINER B, PFEFFER T, DUNLOP JA (2017). *Amblyomma birmutum* a new species of hard tick in Burmese amber. *Parasitology*, **144(11)**: 1441-1448.
- CHITIMIA L, LIN R Q, COSOROABA I, BRAILA P, SONG HQ, ZHU XQ (2009). 'Molecular characterization of hard and soft ticks from Romania by sequences of the internal transcribed spacers of ribosomal DNA'. *Parasitology research*, **105(4)**: 907-911.

- CHITIMIA L, LÎN RQ, COSOROABA I, WU XY, SONG HQ, YUAN ZG, ZHU XQ (2010). 'Genetic characterization of ticks from southwestern Romania by sequences of mitochondrial cox1 and nad5 genes'. *Experimental and Applied Acarology*, **52(3)**: 305-311.
- CROSBIE PR, BOYCE WM, RODWELL TC (1998). 'DNA sequence variation in *Dermacentor hunteri* and estimated phylogenies of *Dermacentor* spp. (Acari: Ixodidae) in the New World'. *Journal of Medical Entomology*, **35(3)**: 277-288.
- ÇELEBİ B, KARADEMİRTOK H, KİLİC S (2019). Isolation of *Rickettsia slovaca* by shell-vial cell culture method from *Dermacentor marginatus* ticks. *Mikrobiyoloji Bulteni*, **53(2)**: 224-232.
- ÇİÇEK H (2000). Ankara yöresinde Haemaphysalis türleri üzerinde epizootiyolojik çalışmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- DANTAS-TORRES F (2018). Species concepts: what about ticks?. *Trends in parasitology*, **34(12)**: 1017-1026.
- DARVISHI MM, YOUSSEFI MR, CHANGIZI E, SHAYAN P, LIMA RR, RAHIMI MT (2014). 'Biology of *Dermacentor marginatus* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions'. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **4**: 284-S289.
- DEITSCH KW, LUKEHART SA, STRINGER JR (2009). Common strategies for antigenic variation by bacterial, fungal and protozoan pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, **7(7)**: 493-503.
- DE LA FUENTE J (2003). The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). *Experimental and applied acarology*, **29(3)**: 331-344.
- DE LA FUENTE J, ALMAZAN C, VAN DEN BUSSCHE RA, BOWMAN J, YOSHIOKA J H, KOCAN KM (2005). Characterization of genetic diversity in *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) with body size and weight polymorphism. *Experimental parasitology*, **109(1)**: 16-26.
- DE LA FUENTE J, KOCAN KM, ALMAZAN C, BLOUIN EF (2008). Targeting the tick-pathogen interface for novel control strategies. *Frontiers in Bioscience*, **13**: 6947-6956.
- DE LA FUENTE J, VILLAR M, CABEZAS-CRUZ A, ESTRADA-PENA A, AYLLON N, ALBERDI P (2016). Tick-host-pathogen interactions: conflict and cooperation. *Plos pathogens*, **12(4)**: 1-7.
- DEGER MS, BİÇEK K, OGUZ B (2016). 'Infestation rate and distribution of hard ticks on cattle in the Eastern Anatolia Region of Turkey'. *Sci Parasitol* **17**: 76-82.
- ENDRIS RG, HESS WR (1994). Attempted transovarial and venereal transmission of African swine fever virus by the Iberian soft tick *Ornithodoros* (Pavlovskyella) *maroccanus* (Acari: Ixodoidea: Argasidae). *Journal of medical entomology*, **31(3)**: 373- 381.

- ERSTER O, ROTH A, WOLKOMIRSKY R, LEIBOVICH B, SHKAP V (2013). 'Comparative analysis of mitochondrial markers from four species of *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae)'. *Veterinary parasitology*, **198**: 364-370.
- ESER M (2012). Afyonkarahisar yöresindeki koyun, keçi ve sığırlarda kene (*Ixodidae*) infestasyonu üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ESRI R (2011). ArcGIS desktop: release 10. Environmental Systems Research Institute, CA.
- ESTRADA-PENA A, BOUATTOR A, CAMICAS JL, WALKER AR (2004). Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. *University of Zaragoza, Spain*, 131.
- ESTRADA-PENA A, MANGOLD AJ, NAVA S, VEBZAL JM, LABRUNA M, GUGLIELMONE AA (2010). A review of the systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). *Acarologia*, **50**: 317-333.
- ESTRADA-PENA A, PFAFFLE M, BANETH G, KLEINERMAN G, PETNEY TN (2017). Ixodoidea of the Western Palaearctic: a review of available literature for identification of species. *Ticks and tick-borne diseases*, **8(4)**: 512-525.
- ESTRADA-PENA A, ESTRADA-PENA, R (1991). 'Notes on *Dermacentor* ticks: redescription of *D. marginatus* with the synonymies of *D. niveus* and *D. daghestanicus* (Acari: Ixodidae)'. *Journal of medical entomology*, **28(1)**: 1-15.
- ESTRADA-PENA A, ESTRADA-PENA R (1992). Notes on *Dermacentor* (Acari: Ixodidae) ticks (IV): morphological covariation of *D. marginatus* (Sulzer). *Acarologia*, **33(3)**: 245-259.
- EWENS WJ (2013). Population genetics. Ed.: Methuen Springer Science and Business Media. London. 160.
- EXCOFFIER L, HECKEL G (2006). Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics*, **7(10)**: 745-758.
- EXCOFFIER L, LISCHER H (2015). ARLEQUIN Ver 3.5. An integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis Switzerland Swiss Institute of Bioinformatics.
- FELDMAN-MUHSAM B, BORUT S (1971). Copulation in ixodid ticks. *The Journal of Parasitology*, **57(3)**: 630-634.
- FILIPPOVA NA (1977). Ixodid ticks (Ixodinae). Fauna USSR New Ser. 4 Nauka, Moskow, Leningrad.
- FILIPE D, PARREIRA R., PEREIRA A., GALVAO N, CRISTOVAO JM, NUNES M, VIERIA ML, MAIA C. (2021). Preliminary comparative analysis of the resolving power of COX1 and 16S-rDNA as molecular markers for the identification of ticks from Portugal. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, **24**, 100551.
- FILIPPOVA NA, PLAKSINA MA (2005). 'Some aspects of intraspecific variability of the closely related species of the *Dermacentor marginatus* complex (Acari: Ixodidae) as

- demonstration of microevolutionary process'. *Parazitologiya*. **39(5)**: 337-364.
- FINE PE (1975). Vectors and vertical transmission: an epidemiologic perspective. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **266(1)**: 173-194.
- FOURIE LJ, KOK OB (1992). The role of host behaviour in tick-host interactions: a domestic host-paralysis tick model. *Experimental and applied acarology*, **13(3)**: 213- 225.
- FRANKHAM R (1995). Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetics Research*, **66(2)**: 95-107.
- GABER MS, KHALIL GM, HOOGSTRAAL H (1982). *Borrelia crocidurae*: venereal transfer in Egyptian *Ornithodoros erraticus* ticks. *Experimental parasitology*, **54(2)**: 182-184.
- GALL CA, REIF KE, SCOLES GA, MASON KL, MOUSEL M, NOH SM, BRAYTON KA (2016). The bacterial microbiome of *Dermacentor andersoni* ticks influences pathogen susceptibility. *The ISME journal*, **10(8)**: 1846-1855.
- GARGILI A, KAR S, YILMAZER N, CERIT C, SONMEZ G, SAHIN F, ALP HG, VATANSEVER Z (2010). Evaluation of ticks biting humans in Thrace Province, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16**: 141-146.
- GARGILI A, PALOMAR AM, MİDİLLİ K, PORTILLO A, KAR S, OTEO JA (2012). 'Rickettsia species in ticks removed from humans in Istanbul, Turkey'. *Vector-Borne and zoonotic diseases*, **12(11)**: 938-941.
- GERACI NS, JOHNSTON JS, ROBINSON JP, WIKEL SK, HILL CA (2007). Variation in genome size of argasid and ixodid ticks. *Insect biochemistry and molecular biology*. **37(5)**: 399-408.
- GERN L, RAIS O (1996). Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*, **33(1)**: 189-192.
- GUGLIELMONE AA, ROBBINS RG, APANASKEVICH DA, PETNEY TN, ESTRADA-PENA A, HORAK IG (2009). 'Comments on controversial tick (Acari: Ixodida) species names and species described or resurrected from 2003 to 2008'. *Experimental and Applied Acarology*, **48(4)**: 311.
- GUGLIELMONE AA, ROBBINS RG, APANASKEVICH DD, PETNEY TN, ESTRADA-PENA A, HORAK IG. (2014). The hard ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae). New York: Springer, 738
- GUGLIELMONE AA, ROBBINS RG, APANASKEVICH DA, PETNEY TN, ESTRADA-PENA A, HORAK IG, SHAO R, BARKER SC (2010). The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (Acari: Ixodida) of the World: a list of valid species names. *Zootaxa*, **2528**:1-28.

- GUO DH, ZHANG Y, FU X, GAO Y, LIU YT, QIU JH, CHANG QC, WANG CR (2016). 'Complete mitochondrial genomes of *Dermacentor silvarum* and comparative analyses with another hard tick *Dermacentor nitens*.'. *Experimental parasitology*, **169**: 22-27.
- GRANT WAS, BOWEN BW (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of heredity*, **89**(5): 415-426.
- GRUBHOFFER L, JINDRAK L (1998). Lectins and tick-pathogen interactions: a minireview. *Folia parasitologica*, **45**(1): 9-13.
- GYLFE A, YAUKI M, DROTZ M, BERGSTROM S, FUKUNAGA M, OLSEN B (2001). Phylogeographic relationships of *Ixodes uriae* (Acari: Ixodidae) and their significance to transequatorial dispersal of *Borrelia garinii*. *Hereditas*, **134**(3): 195-199.
- HEKİMOĞLU O, KUYUCU AC, ÖZER N (2020). 'Preliminary Investigation on the Genetic Diversity and Population Structure of *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae) in Turkey'. *Systematic and Applied Acarology*, **25**(10): 1867-1882.
- HOELZEL AR, FLEISCHER RC, CAMPAGNA C, LE BOEUF BJ, ALVORD G. (2002). Impact of a population bottleneck on symmetry and genetic diversity in the northern elephant seal. *Journal of Evolutionary Biology*, **15**(4): 567-575.
- HOFFMANN G, HÖRCHNER F, SCHEIN E, GERBER H (1971). 'Saisonales auftreten von zecken und pirolasmen bei haustieren in den asiatischen provinzen der Turkei'. *Berl Munch Tierarztl Wochschr*, **94**: 152-156.
- HOOGSTRAAL H (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Advances in parasitology*, **24**: 135-238.
- HOOGSTRAAL H, AESCHLIMANN A (1982). Tick-host specificity. *Bulletin de la société entomologique suisse*, **55**: 5-32.
- HORAK IG, CAMICAS JL, KEIRANS JE. (2002). The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Experimental Applied Acarology*. **28**:27-54.
- HORN M, NUSSBAUMEROVA M, SANDA M, KOVAROVA Z, SRBA J, FRANTA Z, SOJKA D, BOGYO M, CAFFREY CR, KOPACEK P, MARES M (2009). Hemoglobin digestion in blood-feeding ticks: mapping a multi-peptidase pathway by functional proteomics. *Chemistry and biology*, **16**(10): 1053-1063.
- HORNOK S. (2017). *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) In *Ticks of Europe and North Africa*. Ed. Estrada-Pena, A, Mihalca, A.D., Petney, T.N. Springer, Cham. s.: 281-285.

- HOVIUS JW, VAN DAM AP, FIKRIG E (2007). Tick–host–pathogen interactions in Lyme borreliosis. *Trends in parasitology*, **23(9)**: 434-438.
- HWANG UW, KIM W (1999). General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *The Korean journal of parasitology*, **37(4)**: 215.
- ICA A, INCI A, VATANSEVER Z, KARAER Z. (2007). ‘Status of tick infestation of cattle in the Kayseri region of Turkey’. *Parasitology research*, **101**: 167-169.
- IONITA M, IL M, MINCULESCU F, MC B (2008). ‘Comparative morphological study on two tick species (*Ixodes ricinus* and *Dermacentor marginatus*) from Romania by light and scanning electron microscopy’. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca*. **65(2)**: 75-79.
- JAFARI B, SHAKERI MOGHADDAM H, VAEZNIA P, HOSSEINZADEH MS, KAYVANFAR N (2020). New Record and Description of *Dermacentor marginatus* (Acari: Ixodidae) from *Ovis orientalis* arkal (Mammalia: Bovidae) in Northeastern Iran. *Ecopersia*, **8(3)**: 163-168.
- JONES LD, NUTTALL PA (1989). Non-viraemic transmission of Thogoto virus: influence of time and distance. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **83(5)**: 712-714.
- JACQUET M, DURAND J, RAIS O, VOORDOUW MJ (2016). Strain-specific antibodies reduce co-feeding transmission of the Lyme disease pathogen, *Borrelia afzelii*. *Environmental microbiology*, **18(3)**: 833-845.
- JIZHOU L, ZHENBAO W, XIANGFEN Y, SHAOQIANG W (2014). ‘Molecular Identification of *D. nuttalli* and *D. marginatus*’. *Animal Husbandry and Feed Science*, **6(4)**: 159.
- JONES KE, PATEL NG, LEVY MA, STOREYGARD A, BALK D, GITTLEMAN JL, DASZAK P (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **451(7181)**: 990-993.
- JONGEJAN F, UILENBERG (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, **129(1)**: 3-14.
- KAHL O, GERN L, EISEN L, LANE RS (2002). *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control*. Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: terminology and some methodological pitfalls, s.: 29-46.
- KANDUMA EG, MWACHARO JM, GITHAKA NW, KINYANJUI PW, NJUGUNA JN, KAMAU LM, KARIUKI E, MWAURA S, SKILTRON RA, BISHOP RP (2016). ‘Analyses of mitochondrial genes reveal two sympatric but genetically divergent lineages of *Rhipicephalus appendiculatus* in Kenya’. *Parasites and vectors*, **9(1)**: 353.

- KAR S, DERVİS E, AKIN A, ERGONUL O, GARGILI, A (2013). Preferences of different tick species for human hosts in Turkey. *Experimental and applied acarology*, **61(3)**: 349-355.
- KARAER Z, GUVEN E, NALBANTOĞLU S, KAR S, ORKUN O, EKDAL K, KOCAK A, AKCAY A (2011). Ticks on humans in Ankara, Turkey. *Experimental and applied acarology*, **54(1)**: 85-91.
- KARATAS A (2020). ‘A systematic investigation on the ticks (Acari: Ixodida) of the domestic sheep in Niğde Province, Turkey’. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, **4**: 31-40.
- KARATEPE B, KARATEPE M, ÇAKMAK A, KARAER Z, ERGÜN G (2009). ‘Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Niğde province, Turkey’. *Tropical Animal Health and Production*, **41(1)**: 109-113.
- KARTASHOV MY, SHVALOV AN, TUPOTA NL, ROMANENKO VN, MOSKVITINA NS, TERNOVOI VA, LOKTEV VB (2020). Complete mitogenome of the ixodid tick *Dermacentor reticulatus* (Acari: Ixodida). *Mitochondrial DNA Part B*, **5(3)**: 3384-3386.
- KATAVOLOS P, ARMSTRONG PM, DAWSON JE, TELFORD III SR (1998). Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *The journal of infectious diseases*, **177(5)**: 1422-1425.
- KEIRANS JE, LANE RS, CAUBLE R (2002). A series of larval Amblyomma species (Acari: Ixodidae) from amber deposits in the Dominican Republic. *International Journal of Acarology*, **28(1)**: 61-66.
- KELLER LF, JEFFERY KJ, ARCESE P, BEAUMONT, MA, HOCHACHKA WM, SMITH JN, BRUFORD MW (2001). Immigration and the ephemerality of a natural population bottleneck: evidence from molecular markers. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **268(1474)**: 1387-1394.
- KERR GD, BULL CM (2006). Interactions between climate, host refuge use, and tick population dynamics. *Parasitology Research*, **99(3)**: 214-222.
- KESKIN A, BULUT YE, KESKIN A, BURSALI A (2017). ‘Tick attachment sites in humans living in the Tokat province of Turkey’. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, **74(2)**: 121-8.
- KESKIN A, BURSALI A, KESKİN A, TEKİN S (2016). ‘Molecular detection of spotted fever group *Rickettsiae* in ticks removed from humans in Turkey’. *Ticks and tick-borne diseases*, **7(5)**: 951-953.
- KHAN IS (1972). Bursa ve civarı sığırlarda *Theileria annulata*’nın vektörleri üzerine araştırmalar. Ankara: Şenyuva matbaası.
- KILIÇ A, KALENDER H, KOC O, KILINÇ Ü, İREHAN B, BERRİ M (2016). ‘Molecular investigation of *Coxiella burnetii* infections in aborted sheep in eastern Turkey’.

Iranian journal of veterinary research, **17(1)**: 41.

KIRKAN, Ş., KAYA, O., TEKBIYİK, S., PARIN, U. (2008). 'Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by PCR'. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **32(3)**: 215-220.

KIZILARSLAN F, YILDIRIM A, DUZLU O, İNCİA, ONDER Z, CİLOĞLU A (2015). 'Molecular detection and characterization of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses (*Equus ferus caballus*) in Turkey'. *Journal of Equine Veterinary Science*, **35(10)**: 830-835.

KLEIBOEKER SB, SCOLES GA (2001). Pathogenesis of African swine fever virus in *Ornithodoros* ticks. *Animal Health Research Reviews*, **2(2)**: 121-128.

KLEINERMAN G, BANETH G (2017). In *Ticks of Europe and North Africa*. Ed. Estrada-Pena, A, Mihalca, A.D., Petney, T.N. *Ornithodoros* (*Pavlovskyella*) *tholozani* (Laboulbène and Mégnin, 1882). Springer, Cham. s.: 67-70.

KLOCH A, MIERZEJEWSKA EJ, KARBOWIAK G, SLIVINSKA K, ALSARRAF M, RODO A, KOWALEC M, DWUZNİK D, DİDYK YM, BAJER A (2018). Origins of recently emerged foci of the tick *Dermacentor reticulatus* in central Europe inferred from molecular markers. *Veterinary parasitology*, **237**: 63-69.

KLOMPEN JSH, BLACK W, KEIRANS JE, OLIVER JR JH (1996). Evolution of ticks. *Annual review of entomology*, **41(1)**: 141-161.

KLOMPEN JSH, BLACK IV WC, KEIRANS JE, NORRIS DE (2000). Systematics and biogeography of hard ticks, a total evidence approach. *Cladistics*. **16**: 79-102.

KOTAL J, LANGHANSOVA H, LIESKOVSKA J, ANDERSEN JF, FRANCISCHETTI IM, CHAVAKIS T, KOPECKY J, PEDRA JHF, KOTSYFAKIS M, CHMELAR J (2015). Modulation of host immunity by tick saliva. *Journal of proteomics*, **128**: 58-68.

KOZAKIEWICZ CP, BURRIDGE CP, FUNK WC, VANDEWOUDE S, CRAFT ME, CROOKS KR, ERNEST HB, FOUNTAIN-JONES N, CARVER S (2018). Pathogens in space: Advancing understanding of pathogen dynamics and disease ecology through landscape genetics. *Evolutionary Applications*, **11(10)**: 1763-1778.

KRAKOWETZ CN, DERGOUSOFF SJ, CHILTON NB (2010). 'Genetic variation in the mitochondrial 16S rRNA gene of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae)'. *Journal of Vector Ecology*, **35(1)**: 163-173.

KURTPINAR, H. (1954). Türkiye Keneleri. Ankara: Güven Matbaası.

LAWRIE CH, RANDOLPH SE, NUTTALL PA (1999). Ixodes ticks: serum species sensitivity of anticomplement activity. *Experimental parasitology*, **93(4)**: 207-214.

- LEIGH JW, BRYANT D (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol* **6(9)**:1110–1116.
- LEO SS, PYBUS MJ, SPERLING FA (2010). Deep mitochondrial DNA lineage divergences within Alberta populations of *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae) do not indicate distinct species. *Journal of medical entomology*, **47(4)**: 565-574.
- LI ZB, FU YT, CHENG TY, YAO GM, HOU QH, LI F, ZHAO Y, ZOU FC, LIU GH (2019). 'Mitochondrial gene heterogeneity and population genetics of *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) in China'. *Acta parasitologica*, **64(2)**: 360-366.
- LIU GH, CHEN F, CHEN YZ, SONG HQ, LIN RQ, ZHOU DH, ZHU XQ (2013). 'Complete mitochondrial genome sequence data provides genetic evidence that the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) represents a species complex'. *International Journal of Biological Sciences*, **9(4)**: 361.
- LADO P, COX C, WIDEMAN K, HERNANDEZ A, KLOMPEN H (2019). 'Population Genetics of *Dermacentor variabilis* Say 1821 (Ixodida: Ixodidae) in the United States Inferred From ddRAD-seq SNP Markers'. *Annals of the Entomological Society of America*, **112(5)**: 433-442.
- LADO P, SMITH ML, CARSTENS BC, KLOMPEN H. (2020). 'Population genetic structure and demographic history of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Ixodida: Ixodidae): New evidence supporting old records'. *Molecular ecology*, **29(15)**: 2810-2823.
- LEO SS, PYBUS MJ, SPERLING FA (2010). Deep mitochondrial DNA lineage divergences within Alberta populations of *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae) do not indicate distinct species. *Journal of medical entomology*, **47(4)**: 565-574.
- LEO SS, SAMUEL WM, PYBUS MJ, SPERLING FA (2014). 'Origin of *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae) on elk in the Yukon, Canada'. *Journal of Wildlife Diseases*, **50(3)**: 544-551.
- LV J, WU S, ZHANG Y, CHEN Y, FENG C, YUAN X, JIA G, DENG J, WANG C, WANG Q, MEI L, MEI L (2014). 'Assessment of four DNA fragments (COI, 16S rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida)'. *Parasites and vectors*, **7(1)**: 93.
- MACALUSO KR, SONENSHINE DE, CERAUL SM, AZAD AF (2002). Rickettsial infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second Rickettsia. *Journal of medical entomology*, **39(6)**: 809-813.
- MADDER M, HORAK I, STOLTSZ H (2013). Tick importance and disease transmission. *African Veterinary Information* 4-9.
- MAGNARELLI LA (2009). Global importance of ticks and associated infectious disease

agents. *Clinical Microbiology Newsletter*, **31(5)**: 33-37.

MAMAK N, GENCER L, OZKANLAR YE, ÖZÇELİK S. (2006). 'Sivas-Zara yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde kene türlerinin belirlenmesi ve sağaltımı'. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **30**: 209-212.

MANGOLD AJ, BARGUES MD, MAS-COMA S (1998). Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitology research*, **84(6)**: 478-484.

MANS BJ, NEITZ AW (2004). Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. *Insect biochemistry and molecular biology*, **34(1)**: 1-17.

MANS BJ, DE CASTRO MH, PIENNAAR R, DE KLERK D, GAVEN P, GENU S, LATIF AA (2016). Ancestral reconstruction of tick lineages. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **7(4)**: 509-535.

MCCOY KD (2008). The population genetic structure of vectors and our understanding of disease epidemiology. *Parasite*, **15(3)**: 444-448.

MECHAI S, FEIL EJ, GARIEPY TD, GREGORY TR, LINDSAY LR, MILLIEN V, OGDEN NH (2013). 'Investigation of the population structure of the tick vector of Lyme disease *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in Canada using mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I gene sequences'. *Journal of medical entomology*, **50(3)**: 560-570.

MEIRMANS PG, HEDRICK PW (2011). Assessing population structure: F_{ST} and related measures. *Molecular ecology resources*, **11(1)**: 5-18.

MENDEZ-HARCLERODE FM., STRAUSS RE, FULHORST CF, MILAZZO ML, RUTHVEN III DC, BRADLEY RD (2007). Molecular evidence for high levels of intrapopulation genetic diversity in woodrats (*Neotoma micropus*). *Journal of Mammalogy*, **88(2)**: 360-370.

MERDİVENÇİ, A. (1969). Türkiye keneleri üzerine araştırmalar. İstanbul Üniversitesi: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi.

MERINO O, ANTUNES S, MOSQUEDA J, MORENO-CID JA, DE LA LASTRA JMP, ROSAIRA-CRUZ R, RODRIGUEZ S, DOMINGOS A, DE LA FUENTA J (2013). Vaccination with proteins involved in tick-pathogen interactions reduces vector infestations and pathogen infection. *Vaccine*, **31(49)**: 5889-5896.

MORAES-FILHO J, MARCILI A, NIERI-BASTOS FA, RİCHTZENHAİN LJ, LABRUNA MB (2011). 'Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America'. *Acta tropica*, **117(1)**: 51-55.

MOSHAVERİNİA A, SHAYAN P, NABIAN S, RAHBARI S. (2009). 'Genetic evidence for

conspecificity between *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor niveus*'. *Parasitology Research*, **105(4)**: 1125-1132.

MOSKVITINA GG, KORENBERG EI (1995). The presence of *Borrelia* in the intestines and salivary glands of spontaneously infected adult *Ixodes persulcatus* Schulze ticks during bloodsucking. *Meditinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*, **3**: 16-20.

MOVILA A, MOROZOV A, SITNICOVA N (2013). Genetic polymorphism of 12s rRNA gene among *Dermacentor reticulatus* fabricius ticks in the Chernobyl nuclear power plant exclusion zone. *The Journal of Parasitology*, **99(1)**: 40-43.

NADIM A, KHANJANI M, HOSSEINI-CHEGENI A, TELMADARRAIY Z (2021). Identity and microbial agents related to *Dermacentor marginatus* Sulzer (Acari: Ixodidae) with a new record of *Rickettsia slovaca* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in Iran. *Systematic and Applied Acarology*, **26(2)**: 367-378.

NARASIMHAN S, FIKRIG E (2015). Tick microbiome: the force within. *Trends in parasitology*, **31(7)**: 315-323.

NARASIMHAN S, RAJEEVAN N, LIU L, ZHAO YO, HEISIG J, PAN J, EPPLER-EPSTEIN R, DEPONTE K, FISH D, FIKRIG E (2014). Gut microbiota of the tick vector *Ixodes scapularis* modulate colonization of the Lyme disease spirochete. *Cell host and microbe*, **15(1)**: 58-71.

NAVA S, GUGLIÈLMONE AA, MANGOLD AJ (2009). An overview of systematics and evolution of ticks. *Frontiers in Bioscience*, **14(8)**: 2857-2877.

NAVAJAS M, GUTIERREZ J, LAGNEL J, BOURSOT P (1996). Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and changes of morphological and life history traits. *Bulletin of Entomological Research*, **86(4)**: 407-417.

NEI M, TAJIMA F (1981). Genetic drift and estimation of effective population size. *Genetics*, **98(3)**: 625-640.

NICHOLSON WL, SONENSHINE DE, NODEN BH, BROWN RN (2019). In *Medical and veterinary entomology*. Ed. MULLEN, G.R., DURDEN, R. Ticks (ixodida). Academic Press s.: 603-672.

NORVAL RAI, PERRY BD, YOUNG AS (1992). *The epidemiology of theileriosis in Africa*. Academic Press. San Diego. s.:219-220.

NOSEK J (1972). The ecology and public health importance of *Dermacentor marginatus* and *D. reticulatus* ticks in Central Europe. *Folia Parasitologica*, **19**: 93-102

NOUREDDINE R, CHAUVIN A, PLANTARD O (2011). 'Lack of genetic structure among Eurasian populations of the tick *Ixodes ricinus* contrasts with marked divergence from north-African populations'. *International journal for parasitology*, **41(2)**: 183-192.

- NUTTALL PA, PAESEN GC, LAWRIE CH, WANG H (2000). Vector-host interactions in disease transmission. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, **2(4)**: 381-386.
- NUTTALL PA, LABUDA M (2004). Tick-host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology*, **129(S1)**: S177-S189.
- OGDEN NH, NUTTALL PA, RANDOLPH SE (1997). Natural Lyme disease cycles maintained via sheep by co-feeding ticks. *Parasitology*, **115(6)**: 591-599.
- OGRZEWALSKA M, NIERI-BASTOS FA, MARCILI A, NAVA S, GONZALEZ-ACUNA D, MUNOZ-LEAL S, RUIZ-ARRONDO I, VENZAL JM, MANGOLD A, LABRUNA MB (2016). 'A novel spotted fever group rickettsia infecting *Amblyomma parvitarsum* (Acari: Ixodidae) in highlands of Argentina and Chile'. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **7(3)**: 439-442.
- OLIVER JRJH, AL-AHMADI Z, OSBURN RL (1974). Reproduction in ticks (Acari: Ixodoidea). 3. Copulation in *Dermacentor occidentalis* Marx and *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard) (Ixodidae). *The Journal of parasitology*, **60(3)**: 499-506.
- OLIVER JH (1989). Biology and systematics of ticks (Acari: Ixoxida). *Annual Review Ecology System*, **20**: 397-430.
- ORKUN, O. (2015). Ankara ili ve çevresindeki kene türlerine ait bazı ekolojik ve epidemiyolojik veriler. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- ORKUN O (2019). Molecular investigation of the natural transovarial transmission of tick-borne pathogens in Turkey. *Veterinary parasitology*, **273**: 97-104.
- ORKUN O, ÇAKMAK A (2019). Molecular identification of tick-borne bacteria in wild animals and their ticks in Central Anatolia, Turkey. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, **63**: 58-65.
- ORKUN O, ÇAKMAK A, NALBANTOĞLU S, KARAER Z (2020). 'Turkey tick news: A molecular investigation into the presence of tick-borne pathogens in host-seeking ticks in Anatolia; Initial evidence of putative vectors and pathogens, and footsteps of a secretly rising vector tick, *Haemaphysalis parva*'. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **11(3)**: 101373.
- ORKUN O, KARAER Z, ÇAKMAK A, NALBANTOĞLU S (2014a). 'Identification of tick-borne pathogens in ticks feeding on humans in Turkey'. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **8(8)**: 1-11.
- ORKUN O, KARAER Z, ÇAKMAK A, NALBANTOĞLU S (2014b). 'Spotted fever group rickettsiae in ticks in Turkey'. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **5(2)**: 213-218.
- ORKUN O, KARAER Z, ÇAKMAK A, NALBANTOĞLU S (2017). 'Crimean-Congo

hemorrhagic fever virus in ticks in Turkey: a broad range tick surveillance study'. *Infection, Genetics and Evolution*, **52**: 59-66.

ORKUN O, VATANSEVER Z (2021). Rediscovery and first genetic description of some poorly known tick species: *Haemaphysalis kopetdaghica* Kerbabaev, 1962 and *Dermacentor raskemensis* Pomerantzev, 1946. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **12(4)**: 101726.

OTEO JA, PORTILLO A (2012). Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks and tick-borne diseases*, **3**: 271-278.

OYTUN HŞ (1956). Tıbbi Entomoloji. Ankara: Yeni Desen Matbaası.

OZKAN M (1978). Erzurum ve çevre illeri kenelerinin sistematik yönden incelenmesi. Atatürk Üniversitesi yayınları No: 524. Erzurum: Atatürk Üniversitesi basımevi.

PALMER MJ, BANTLE JA, GUO X, FARGOXYL WS (1994). Genome size and organization in the ixodid tick *Amblyomma americanum* (L.). *Insect molecular biology*, **3(1)**: 57-62.

PAROLA P, PADDOCK CD, SOCOLOVSKI C, LABRUNA MB, MEDIANNIKOV O, KERNIF T, ABDAD MY, STENOS J, BITAM I, FOURNIER PE, RAOULT D (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical microbiology reviews*, **26(4)**: 657-702.

PARRISH DW (1961). 'The ticks (Argasidae and Ixodidae) of Turkey. *Journal of Economic Entomology*, **54**: 91.

PATTERSON EI, DERGOUSOFF SJ, CHILTON NB (2014). 'Genetic variation in the 16S mitochondrial DNA gene of two Canadian populations of *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*, **46(3)**: 475-481.

PAULAUSKAS A, GALDIKAS M, GALDIKAITE-BRAZIENE E, STANKOM, KAHL O, KARBOWIAK G, RADZIJEVSKAJA J (2018). 'Microsatellite-based genetic diversity of *Dermacentor reticulatus* in Europe'. *Infection, Genetics and Evolution*, **66**: 200-209.

PENALVER E, ARILLO A, DELCLOS X, PERIS D, GRIMALDI DA, ANDERSON SR, NASCIMBENE PC, PEREZ-DE LA FUENTE R (2017). Ticks parasitised feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nature Communications*, **8(1)**: 1-13.

PERVEEN N, BIN MUZAFFAR S, AL-DEEB MA (2020). Population dynamics of *Hyalomma dromedarii* on camels in the United Arab Emirates. *Insects*, **11(5)**: 320-328

PETER BM (2016). Admixture, population structure, and F-statistics. *Genetics*, **202(4)**: 1485-

1501.

- PETIT RJ, EXCOFFIER L (2009). Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and evolution*, **24(7)**: 386-393.
- PIESMAN J, MATHER TN, SINSKY RJ, SPIELMAN A (1987). Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. *Journal of clinical microbiology*, **25(3)**: 557-558.
- PIESMAN J, EISEN L (2008). Prevention of tick-borne diseases. *Annual Review Entomology*, **53**: 323-343.
- POMERANTZEV BI (1950). Ixodid ticks (*Ixodidae*). Fauna SSSR. Paukoobraznye, Moskow: Academy of Science,
- PSAROULAKI A, RAGIADAKOU D, KOURIS G, PAPADOPOULOS B, CHANIOTIS B, TSELENTIS Y. (2006). 'Ticks, tick-borne Rickettsiae, and *Coxiella burnetii* in the Greek island of Cephalonia'. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1078(1)**: 389-399.
- RAGHAVAN M, SKOGLUND P, GRAF KE, METSPALU M, ALBRECHTSEN A, MOLTKE I, RASMUSSEN S, STAFFORD JR TW, ORLANDO L, METSPALU E, KARMIN M, TAMBETS K, ROOTSI S, MAGI R, CAMPOS PF, BALANOVSKA E, BALANOVSKY O, KHUSNUTDINOVA E LITVINOV S, OSIPOVA LP, FEDOROVA SA, VOEVODA MI, DEGIORGIO M, SICHERITZ-PONTEN T, BRUNAK S, DEMESHCHENKO S, KIVISILD T, VILLEMS R, NIELSEN R, JAKOBSSON M, WILLERSLEV E (2014). Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans. *Nature*, **505(7481)**: 87-91.
- RANDOLPH SE, GERN L, NUTTALL PA (1996). Co-feeding ticks: epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. *Parasitology today*, **12(12)**: 472-479.
- RANDOLPH SE, STOREY K (1999). Impact of microclimate on immature tick- rodent host interactions (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. *Journal of medical entomology*, **36(6)**: 741-748.
- REHACEK J, URVOLGYI J, KOCIANOVA E, SEKEYOVA Z, VAVREKOVA M, KOVACOVA E (1991). Extensive examination of different tick species for infestation with *Coxiella burnetii* in Slovakia. *European Journal of Epidemiology*, **7(3)**: 299-303.
- REICH D, THANGARAJ K, PATTERSON N, PRICE AL, SINGH L (2009). Reconstructing Indian population history. *Nature*, **461(7263)**: 489-494.
- RIBEIRO JMC (1987). Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Annual review of entomology*, **32(1)**: 463-478.

- RIBEIRO JM (1989). Role of saliva in tick/host interactions. *Experimental and applied acarology*, **7(1)**: 15-20.
- ROZAS J, FERRER-MATA A, SANCHEZ-DELBARRIO JC, GUIRAO-RICO S, LIBRADO P, RAMOS-ONSINS SE, SANCHEZ-GRACIA A (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, **34(12)**: 3299-3302.
- ROZAS J, ROZAS R (1999). DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, **15(2)**: 174-175.
- RUBEL F, BRUGGER K, PFEFFER M, CHITIMIA-DOBLER L, DIDYK YM, LEVERENZ S, DAUTEL H, KAHL O (2016). 'Geographical distribution of *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* in Europe'. *Ticks and tick-borne diseases*, **7(1)**: 224-233.
- RUDZINSKA MA, SPIELMAN A, LEWENGRUB S, PIESMAN J, KARAKASHIAN S (1982). Penetration of the peritrophic membrane of the tick by *Babesia microti*. *Cell and tissue research*, **221(3)**: 471-481.
- SANCHEZ JP, NAVA S, LARESCHI M, ORTIZ PE, GUGLIELMONE AA (2010). Finding of an ixodid tick inside a Late Holocene owl pellet from northwestern Argentina. *Journal of Parasitology*, **96(4)**: 820-822.
- SARAIVA DG, SOARES HS, SOARES JF, LABRUNA MB (2014). Feeding period required by *Amblyomma aureolatum* ticks for transmission of *Rickettsia rickettsii* to vertebrate hosts. *Emerging infectious diseases*, **20(9)**: 1504.
- SAYIN F, DUMANLI N (1982). Elazığ bölgesindeki evcil hayvanlarda görülen kene (Ixodidae) türleri ile ilgili epizootiyolojik araştırmalar'. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **29**: 344-362.
- SAYIN F, DİNÇER S, KARAER Z, DUMANLI Z, ÇAKMAK A, İNCİ A, YUKARI BA, VATANSEVER Z (1997). 'Status of tick infestation of sheep and goats in Turkey'. *Parasitologia*, **39**: 145-152.
- SAYIN F, ERGÜN H, KARAER Z (1982). 'Tikaz'ın ektoparazitler üzerine etkisiyle ilgili saha çalışmaları'. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **29**: 151-163.
- SELMİ M, MARTELLO E, BERBELOTTI L, BISANZIO D, TOMASSONE L. (2009). '*Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor marginatus* ticks collected on wild boars in Tuscany, Italy'. *Journal of medical entomology*, **46(6)**: 1490-1493.
- SEVİNC F, MADEN M, KUMAS C, SEVİNC M, EKİCİ OD (2008). 'A comparative study on the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horse sub-populations in Turkey'. *Veterinary Parasitology*, **156**: 173-177.
- SHAO R, BARKER SC (2007). 'Mitochondrial genomes of parasitic arthropods: implications

- for studies of population genetics and evolution'. *Parasitology*, **134(2)**: 153.
- SLATKIN M (1985). Gene flow in natural populations. *Annual review of ecology and systematics*, **16**: 393-430.
- SONENSHINE DE, ROE RM (2013). *Biology of ticks (Vol 2)*. Ed. Sonenshine, D.E., Roe, R.M. Oxford University Press, 60-65.
- SONG S, SHAO R, ATWELL R, BARKER S, VANKAN D (2011). 'Phylogenetic and phylogeographic relationships in *Ixodes holocyclus* and *Ixodes cornuatus* (Acari: Ixodidae) inferred from COX1 and ITS2 sequences'. *International journal for parasitology*, **41(8)**: 871-880.
- SPÍTALSKA E, KOCIÁNOVA E (2003). 'Detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected in Slovakia and Hungary'. *European journal of epidemiology*, **18(3)**: 263-266.
- SMITH T, KILBORNE FL (1893). Investigation into the nature, causation and prevention of Texas fever or southern cattle fever. Government Printing Office. Washington, s.:92-118.
- SOCOLOVSKI C, MEDIANNIKOV O, RAOULT D, PAROLA P (2009). The relationship between spotted fever group Rickettsiae and ixodid ticks. *Veterinary research*, **40(2)**: 1-20.
- TABACHNICK WJ, BLACK WC (1995). 'Making a case for molecular population genetic studies of arthropod vectors'. *Parasitology today*, **11(1)**: 27-30.
- TAJIMA, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, **123(3)**: 585-595.
- TAŞÇI S. (1989). 'Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (Protozoon) arasındaki ilişkiler'. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **36**: 53-63.
- ULLMANN AJ, LIMA CMR, GUERRERO FD, PIESMAN J, BLACK IV WC (2005). Genome size and organization in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* and the Southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect molecular biology*, **14(2)**: 217-222.
- VAN DER HAMMEN L (1983). Notes on the comparative morphology of ticks (Anactinotrichida: Ixodida). *Zoologische Mededelingen*, **57**: 209-242.
- VAN OOSTEN AR, HEYLEN DJA, JORDAENS K, BACKELJAU T, MATTHYSEN E (2014). Population genetic structure of the tree-hole tick *Ixodes arboricola* (Acari: Ixodidae) at different spatial scales. *Heredity*, **113(5)**: 408-415.
- VATANSEVER Z, GARGILI A, AYSUL NS, SENGÖZ G, ESTRADA-PENA A (2008). Ticks biting humans in the urban area of Istanbul. *Parasitology Research*, **102(3)**: 551-553.

- VIAL L, DURAND P, ARNATHAU C, HALOS L, DIATTA G, TRAPE JF, RENAUD F (2006). Molecular divergences of the *Ornithodoros sonrai* soft tick species, a vector of human relapsing fever in West Africa. *Microbes and infection*, **8(11)**: 2605-2611.
- VOORDOUW MJ (2015). Co-feeding transmission in Lyme disease pathogens. *Parasitology*, **142(2)**: 290-302.
- WADE MJ (2007). The co-evolutionary genetics of ecological communities. *Nature Reviews Genetics*, **8(3)**: 185-195.
- WALKER AR, BOUATTOR A, CAMICAS JL, ESTRADA-PENA A, HORAK IG, LATIF AA, PEGRAM RG, PRESTON PM. (2003). *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. Edinburgh: Bioscience Reports. s.: 3-210
- WALTER M, BRUGGER K, RUBEL F (2016). ‘The ecological niche of *Dermacentor marginatus* in Germany’. *Parasitology research*, **115(6)**: 2165-2174.
- WANG J, SANTIAGO E, CABALLERO A (2016). Prediction and estimation of effective population size. *Heredity*, **117(4)**: 193-206.
- WANG F, WANG D, GUO G, HU Y, WE J, LIU J (2019). Species delimitation of the *Dermacentor* ticks based on phylogenetic clustering and niche modeling. *PeerJ*, **7**: 1-19
- WIKEL S (2013). Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Frontiers in microbiology*, **4**: 337.
- WEIR BS, COCKERHAM CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*, 1358-1370.
- WEBER D, STEWART BS, GARZA JC, LEHMAN N (2000). An empirical genetic assessment of the severity of the northern elephant seal population bottleneck. *Current Biology*, **10(20)**: 1287-1290.
- YANG Y, TONG J, RUAN H, YANG M, SANG C, LIU G, HAZIHAN W, XU B, HORNOK S, RIZABEK K, GULZHAN K, LIU Z, WANG Y (2021). Genetic diversity of hard ticks (Acari: Ixodidae) in the South and East regions of Kazakhstan and Northwestern China. *The Korean Journal of Parasitology*, **59(1)**: 103.
- YAY M, YAZAR S, AYDIN L, ŞAHİN İ (2004). ‘Kayseri yöresindeki sığır ve koyunlarda kene türlerinin araştırılması’. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **13**: 25-29.
- YESİLBAG K, AYDİN L, DİNÇER E, ALPAY G, GİRİSGİN AO, TUNCER P, OZKUL A. (2013). ‘Tick survey and detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in tick species from a non-endemic area, South Marmara region, Turkey’. *Experimental and applied acarology*, **60(2)**: 253-261.

- YUKARI BA, UMUR Ş (2002). 'Burdur yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde kene (Ixodoidea) türlerinin yayılışı'. *Turkey Journal of Veterinary Animal Science*, **26**: 1263-1270.
- ZAHER MA, SOLIMAN ZR, DIAB FM (1977). An experimental study of *Borrelia anserina* in four species of Argas ticks. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **53(2)**: 213-223.
- ZEYBEK H, KALKAN A (1984). 'Ankara yöresinde mera kenelerinin yayılışı ve mevsimsel ilişkisi'. *Etlik Veteteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **5**: 14-21.
- ZHAI W, NIELSEN R, SLATKIN M (2009). An investigation of the statistical power of neutrality tests based on comparative and population genetic data. *Molecular biology and evolution*. **26(2)**: 273-283.
- ZHANG RL, ZHANG B (2014). Prospects of using DNA barcoding for species identification and evaluation of the accuracy of sequence databases for ticks (Acari: Ixodida). *Ticks and tick-borne diseases*, **5(3)**: 352-358.
- ZHANG XC, YANG ZN, LU B, MA XF, ZHANG CX, XU HJ (2014). The composition and transmission of microbiome in hard tick, *Ixodes persulcatus*, during blood meal. *Ticks and tick-borne diseases*, **5(6)**: 864-870.
- ZHANG YK, YU ZJ, ZHANG XY, BRONİSLAVA V, BRANİSLAV P, LİU JZ (2019). 'The mitochondrial genome of the ornate sheep tick, *Dermacentor marginatus*'. *Experimental and Applied Acarology*, **79(3)**: 421-432.
- ZHU Y, BA TM, SONG R, LİU S, XU Z, BA YC (2018). 'Analysis on genetic diversity of *Dermacentor niveus* characteristics in three regions of Xinjiang'. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, **40(3)**: 260-263.