



Türkiye’de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Kıl Kurdu *Metastrongylus pudendotectus*’un (Metastrongylidae: Nematoda) DNA Barkodlaması ve Filogenetik Karakterizasyonu

Mübeccel ATELGE^{1,a}

¹Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kastamonu-TÜRKİYE
Orcid No: ^a 0000-0003-3019-7038

Sorumlu yazar: Mübeccel ATELGE; E-posta: matelge@kastamonu.edu.tr

Atıf yapmak için: Atelge M. Türkiye’de bir yaban domuzunda akciğer kıl kurdu *Metastrongylus pudendotectus*’un (Metastrongylidae: Nematoda) DNA barkodlaması ve filogenetik karakterizasyonu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19 (1): 49-54

Öz: Bu çalışmada Kastamonu’nun merkez ilçesinde bir yaban domuzunun nekropsi analizi sonucunda akciğerlerinde belirlenen ve morfolojik identifikasyonla *Metastrongylus pudendotectus* olarak teşhis edilen akciğer kıl kurtlarının mitokondrial DNA cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilmiş ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. DNA barkodlama analizlerine 10 adet *M. pudendotectus* izolatu dahil edilmiş olup genomik DNA izolasyonu sonrası COX1 gen bölgesi tasarlanan primerlerle çoğaltılmış ve sekans analizlerine tabii tutulmuştur. Sekans analizleri sonucu morfolojik tür konfirmasyonları sağlanmıştır. COX1 gen bölgesi sekans analizleri sonucunda aralarında %0.4 genetik farklılık belirlenen 2 haplotip belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde her iki haplotipe ait izolatların GenBank veri tabanındaki referans ve çeşitli ülkelerden bildirilmiş *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte monofiletik küme oluşturduğu belirlenmiştir. *Metastrongylus pudendotectus* izolatlarının ayrıca aynı soydaki *M. apri* ve *M. salmi* ile ortalama %10.8 ve %12.5, *Dictyocaulus* türleriyle ortalama %15.0 ve *Syngamus trachea* ile de %15.8 genetik farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye’de yaban domuzlarında enfeksiyona yol açan akciğer kıl kurdu *M. pudendotectus* için ilk filogenetik karakterizasyon verileri sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar domuzlarda akciğer kıl kurtlarının moleküler epidemiyolojisine katkı sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Akciğer kıl kurdu, filogenetik karakterizasyon, *Metastrongylus pudendotectus*, Türkiye, yaban domuzu

DNA Barcoding and Phylogenetic Characterization of the Lungworm *Metastrongylus pudendotectus* (Metastrongylidae: Nematoda) Detected in a Wild Boar in Turkey

Abstract: In this study, lungworms detected in the necropsy analyses of a wild boar in central district of Kastamonu and diagnosed as *Metastrongylus pudendotectus* by morphological identification were molecularly characterized using mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene sequences and their phylogenetic relationships were investigated. Totally 10 *M. pudendotectus* isolates were included in DNA barcoding analyses. COX1 gene region was amplified with newly designed primers and subjected to the sequence analyses after genomic DNA isolations. Morphological species identifications were confirmed by sequence analyses results. Two haplotypes with 0.4% genetic difference were determined by sequence analyses of the COX1 gene region. In phylogenetic analyses, both haplotypes were placed into a monophyletic cluster with the reference and published isolates of *M. pudendotectus* from several countries in GenBank. Furthermore *M. pudendotectus* isolates showed genetic differences of 10.8% and 12.5% with *M. apri* and *M. salmi* in the same genus, 15.0% with *Dictyocaulus* species and 15.8% with *Syngamus trachea*. The first phylogenetic characterization data on the lungworm *M. pudendotectus* infecting wild boars in Turkey is provided with this study. The obtained results also contribute to molecular epidemiology of lungworms in boars.

Keywords: Lungworm, *Metastrongylus pudendotectus*, mitochondrial DNA, phylogenetic characterization, Turkey, wild boar

Giriş

Son konağı evcil (*Sus domesticus*) ve yaban domuzları (*Sus scrofa*) olan ve akciğer kıl kurtları olarak bilinen *Metastrongylus* türleri heteroksen nematod parazitlerdir. Verminöz pnömoni ile karakterize metastrongylosis, evcil ve yaban domuzlarını etkileyen önemli bir solunum yolu hastalığıdır (Poglayen ve

ark., 2016; Dodangeh ve ark., 2018). Yaban domuzlarının, belirgin klinik belirtiler olmaksızın yüzlerce *Metastrongylus* türünü barındırabileceği bilinmesine rağmen, şiddetli enfeksiyonlar, özellikle yavru domuzlarda ve yaban domuzlarında, kronik bronşit ve solunum semptomları olarak ortaya çıkan verminöz pnömoniyeye neden olabilir (da Silva ve Müller, 2013). Hastalığın yavruları daha şiddetli etkilemesinin bağışıklığın yaşla birlikte geliştiğini düşündürmektedir (Spieler ve Schnyder, 2021). *Metastrongylus* enfeksiyonlarının oluşturdukları doku hasarıyla çoğu kez domuz

sirkovirüsü, domuz gribi virüsü ve fırsatçı bakterilerle eşzamanlı enfeksiyon oluşturduğu bilinmekte olup bu son durumda ölümcül bronkopnömoni tablosu ortaya çıkabilmektedir (Marruchella ve ark., 2012; da Silva ve Müller, 2013).

Günümüze kadar altı *Metastrongylus* türü tanımlanmıştır: *Metastrongylus apri* (syn. *M. elongatus*), *Metastrongylus asimetricus*, *Metastrongylus confusus*, *Metastrongylus madagascariensis*, *Metastrongylus pudendotectus* ve *Metastrongylus salmi*. Küresel olarak, *M. apri*, *M. salmi* ve *M. pudendotectus* en yaygın türler olarak rapor edilirken (Gasso ve ark., 2014), *M. madagascariensis* sadece Madagaskar'da bildirilmiştir (Chabaud ve Gretillat, 1956). *Metastrongylus* türleri Dünyanın farklı yerlerinde evcil ve yaban domuzlarında tek başına veya miks olarak enfeksiyona yol açma yeteneğinde olan türler olarak tanımlanmıştır (Gassó ve ark., 2014).

Yaban domuzu, evcil hayvanlardan farklı olarak çeşitli enfeksiyöz etkenlerin orman çemberinde rezervuar konak olarak zoonotik bulaşma noktasında epidemiyolojik açıdan önemli bir rol oynayabilir (Mansouri ve ark., 2016). Yaban domuzu Türkiye'nin hemen hemen tüm ekosistemlerinde bulunabilir. Yaban domuzları Türkiye'de yaygın olmasına rağmen, bu hayvanların parazitleri ile ilgili sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır (Merdivenci, 1965; Merdivenci, 1983; Şenlik ve ark., 2010; Aypak ve ark., 2013; Kesik ve ark., 2020). Bu çalışmalar arasında akciğer kıl kurtlarının morfolojik incelemelerle raporlandığı iki çalışma bulunmaktadır (Merdivenci, 1965; Merdivenci, 1983). Akciğer kıl kurtlarının prevalansı üzerine detaylı analizlerin yapıldığı morfolojik teşhis tabanlı Bursa yöresinde yürütülmüş yalnızca bir çalışma (Şenlik ve ark., 2011) bulunmaktadır. Bu çalışmada incelenen 27 yaban domuzu akciğerlerinin %52'sinde *M. pudendotectus*, %59'unda *M. apri* ve %52'sinde de *M. salmi* enfeksiyonu rapor edilmiştir. Günümüze kadar Türkiye'de yaban domuzlarında akciğer kıl kurtlarının genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri üzerine herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Kastamonu yöresinde avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne getirilen bir yaban domuzunun nekropsi muayenesi sonrası akciğerlerinde belirlenen nematodların morfolojik ve moleküler teşhislerinin yapılması ve elde edilen izolatların mitokondrial DNA temelinde filogenetik ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Parazit materyali, morfolojik identifikasyon ve genomik DNA izolasyonu

Çalışmada, Ocak 2022 ayı içerisinde Kastamonu yöresinde avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne getirilen bir dişi yaban domuzunun nekropsi muayenesi gerçekleştiril-

miş ve akciğer bronşlarında çok sayıda nematoda tespit edilmiştir. Nematodlar pens yardımıyla toplanarak steril fizyolojik su içerisine alınmıştır. Parazitler daha sonra 3 kez steril PBS ile yıkandıktan sonra %70 etil alkol içerisine aktarılmış ve bekletilmeden mikroskop altında incelenerek ilgili teşhis anahtarları (Gasso ve ark., 2014; Poglayen ve ark., 2016) yardımıyla teşhisleri yapılmıştır. Parazitler daha sonra genomik DNA izolasyonu yapıncaya kadar %70 etil alkol içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. Morfolojik teşhisleri yapılan toplam 10 parazit örneğinden PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher, ABD) kullanılarak gDNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA ekstraktlarından alınan örnekler Qubit® Fluorometric Quantitation (Life Technologies) spektrosunda işlenerek total gDNA miktarları (ng/µl) belirlenmiştir. gDNA örnekleri kullanılına kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Mitokondrial cytochrome oxidase subunit 1 gen bölgesinin amplifikasyonu

Örneklerden elde edilen gDNA izolatlarında COX1 gen bölgesinin çoğaltılabilmesi için GenBank veri tabanındaki referans *M. pudendotectus* mitokondrial genom sekansı üzerinde Geneious Prime 2022.0.2 (www.geneious.com) yazılımı kullanılarak değişken bölgeleri içeren ve GenBank'taki diğer benzer taksonlardaki mevcut sekansları da kapsayan 711 bp uzunluğunda bir bölgeyi çoğaltan optimum özellikte primer tasarımı yapılmıştır. Örnekler ait gDNA izolatları MPdsF (5'-TTTGGGTGGTATTAATTTTATGTG-3') ve MPdsR (5'-AAAMTAATACCAGTAWAAATCCCA-3') primerleri ile hazır kullanımlık DreamTaq DNA Polimeraz (Thermo Fischer, ABD) enzimi kullanılarak üreticinin protokolüne göre PCR cihazında amplifikasyonu tabii tutulmuştur. Termal profil 95 °C'de 4 dk; 40 siklus, denaturasyon:95 °C'de 1 dk, bağlanma: 50 °C'de 30 sn, uzama: 72 °C'de 1dk; final uzama: 72 °C'de 10 dk olacak şekilde programlanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %1,5'lük agaroz jelde elektroforeze tabii tutulduktan sonra Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

Sekans ve filogenetik analizler

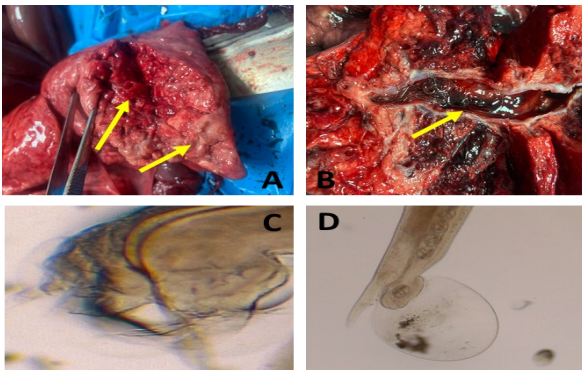
Örneklerin PCR analizleri sonrası COX1 ampikonları sekans analizleri için jel pürifiye (Thermo GeneJET PCR Purification Kit) edilmiştir. Sekans analizleri PCR analizlerinde kullanılan forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir (Macrogen Europe). Çift yönlü DNA dizisi belirlenen izolatlara ait kromotogramlar Geneious prime yazılımında De Novo Assamble ile işlenmiş ve kalite skoru yüksek olan final konsensus dizilimler belirlenmiştir. Elde edilen sekansların Geneious Prime yazılımı üzerinden BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması kullanılarak GenBank'ta mevcut referans ve aynı ya da yakın taksonlardaki izolatlara

ait ilgili gen bölgesi sekanslarıyla çoklu hizalamaları yapılarak moleküler karakterizasyonları sağlanmış ve akabinde GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir. İzolatların haplotip analizleri DNAsp (Librado ve Rozas, 2009) yazılımında araştırılmıştır. Elde edilen izolatlar ile filogenetik analizlere dahil edilen izolatlar arasındaki genetik farklılıklar Kimura two-parameter (K2P) uzaklık modeli (Kimura, 1980) kullanılarak MEGA 7 yazılımında (Kumar ve ark., 2016) gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç Maximum Likelihood (ML) analizi ile oluşturulmuştur. ML analizlerinde sekans evrimi için en uygun substitution modelinin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 (Kimura, 1980) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information, Criterion, correction) değerine sahip belirlenen model filogenetik ağacın oluşturulmasında kullanılmıştır. ML analizleri Geneious Prime yazılımı üzerinden PhyML (Guindon ve Gascuel, 2003) plugin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ML analiziyle oluşturulan ağacın güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

Bulgular

Parazitolojik teşhis

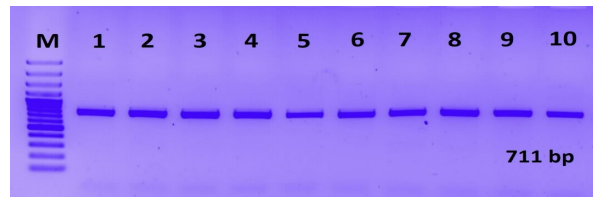
Nekropsi incelemesi yapılan yaban domuzunun akciğer bronşlarından toplam 176 adet nematod toplanmıştır. İlgili nematodların mikroskopik incelemesinde tamamının *M. pudendotectus*'un morfolojik karakterlerini gösterdiği tespit edilmiş olup 98 parazit dişi ve 78 parazit ise erkek *M. pudendotectus* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Fibrotik lezyon alanları ve nodüllü yaban domuzu akciğeri (A), bronşlardaki nematodlar (B), Bu çalışmada identifiye edilen *Metastrongylus pudendotectus*'un kaudal ucunun morfolojik özellikleri (C: erkek; D: dişi).

COX1 gen bölgesi sekans ve filogenetik analiz sonuçları

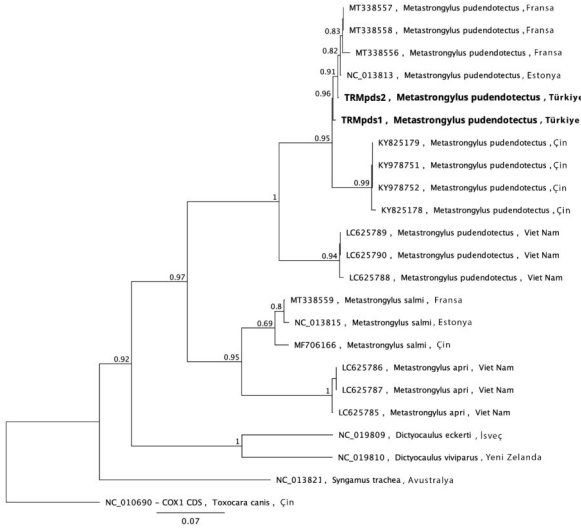
Morfolojik teşhis sonrası beş dişi ve beş erkek olmak üzere toplam 10 *M. pudendotectus* örneğinden gDNA izolasyonu yapılmış ve yeni tasarlanan primerlerle PCR analizleri sonucu hedef büyüklükte (711bp) DNA bantları agaroz jel üzerinde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *Metastrongylus pudendotectus*'a ait izolatların mt-COX1 gen bölgesini amplifiye eden primer ile PCR sonucu elde edilen ampliconların jel elektroforezde görünümü M: Marker (100bp).

İzolatlara ait ampliconlar jelden saflaştırıldıktan sonra sekans analizlerine tabii tutulmuş ve tüm izolatlar için kalite skoru yüksek ($q > 20$) final sekanslar elde edilmiştir. Sekansların BLASTn analizleri morfolojik identifikasyon sonuçlarını doğrularak izolatların *M. pudendotectus*'a ait olduklarını göstermiştir. İzolatların hizalama ve haplotip analizlerinde 708 (%99.6) identik bölge belirlenirken iki farklı haplotipi (TRMpds1: 6 izolat; TRMpds2: 4 izolat) ortaya koyan üç polimorfik bölge saptanmıştır. İlgili haplotipler OM661192 (TRMpds1) ve OM661193 (TRMpds2) erişim kodlarıyla GenBank veri tabanına kaydedilmiştir. Belirlenen haplotiplere ait izolatlar arasında intraspesifik nükleotid farklılığı ortalama %0.4 saptanmıştır.

Moleküler olarak karakterize edilen *M. pudendotectus* haplotiplerine ait izolatların Dünyada çeşitli bölgelerden bildirilen *Metastrongylus* ve yakın taksonlardaki nematodlara ait izolatlarla genetik ilişkileri filogenetik ağaç üzerinde (Şekil 3) gösterilmiştir. Maximum Likelihood (ML) filogenisine göre oluşturulan filogenetik çözünürlük tür grupları bazında yüksek bootstrap oranları ile desteklenmiştir. Çalışmada karakterize edilen haplotiplere ait izolatların dünyanın farklı ülkelerinden bildirilen *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte monofiletik küme oluşturduğu ve Fransa ve Estonya'da yaban domuzlarından izole edilen izolatlarla genetik olarak yakın oldukları (%99.3-99.7) tespit edilmiştir (Şekil 3). Filogenetik analiz sonuçları ayrıca *M. pudendotectus*'un *M. salmi* ve *M. apri* ile sırasıyla %10.8 ve %12.5 genetik farklılık gösterdiğini ve akciğer kıl kurtları olarak birlikte küme oluşturduklarını göstermiştir. Çalışmada karakterize edilen *M. pudendotectus* izolatları ayrıca *Dictyocaulus viviparus*, *D. eckerti* ve *Syngamus trachea* referans sekansları ile sırasıyla %14.9, %15.0 ve %15.8 genetik farklılık göstererek filogenetik ağaçta farklı topolojik yerleşim göstermiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *Metastrongylus* ve yakın taksonlardaki nematodlara ait izolatlar için COX1 gen bölgesi ML analizine göre filogenetik ilişkileri. Node'ların önündeki rakamlar ML bootstrap desteğini göstermektedir. Dış grup olarak *T. canis* izolatu (NC_010690) kullanılmıştır. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Dünyanın farklı bölgelerinde yaban domuzları üzerinde yürütülen araştırmalarda akciğer kıl kurtlarının prevalansının yüksek olduğu görülmektedir. *Metastrongylus* spp. enfeksiyonlarının yaygınlığı İsviçre'de %77.4 (Spieler ve Schnyder, 2021), Almanya'da %93.5 (Barutzki ve ark., 1990), İtalya'da %96.5 (Poglayen ve ark., 2016) ve Fransa'da %92 (Humbert ve Henry, 1989) olarak rapor edilmiştir. Diğer yandan Romanya, Bulgaristan ve Portekiz gibi ülkelerde enfeksiyonun yayılışı %2.1-42.2 arasında olmak üzere daha düşük rapor edilmiştir (de Sousa ve ark., 2004; Panayotova-Pencheva ve Dakova, 2018; Dărăbuş ve ark., 2019). Yaban domuzlarındaki akciğer kıl kurtlarının prevalans oranlarındaki farklılıkların domuz yoğunluğunu etkileyebilecek coğrafik faktörlerle ilişkili olabileceği ve domuz popülasyonundaki artışın da uygun yer solucanı ara konakların varlığında *Metastrongylus* enfeksiyonlarının yaygınlığını artırabileceği bildirilmiştir (Spieler ve Schnyder, 2021). Türkiye'de yaban domuzlarında *Metastrongylus* enfeksiyonlarının yayılışı üzerine mevcut tek çalışmada (Şenlik ve ark., 2011), yukarıdaki araştırmalara paralel olarak Bursa yöresinde %52-59 arasında prevalans bildirilmiştir. Çalışmamızda avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirilen bir yaban domuzunun incelenmesinde akciğer bronşlarında serbest veya nodüller içerisinde çok sayıda kıl kurduna rastlanmıştır. Her ne kadar prevalans çalışması olmasa da yukarıdaki çalışma sonuçları ışığında elde edilen veriler akciğer kıl kurdu

enfeksiyonlarının Kastamonu yöresindeki domuzlarda da yaygın olabileceğini göstermiştir.

Yukarıdaki araştırmalarda yaban domuzlarında *M. apri*, *M. salmi* ve *M. pudendotectus* prevalans oranları genel olarak birbirine yakın bulunmuştur. Çalışmamızda incelenen örneklerin *M. pudendotectus* olduğu morfolojik ve sekans analizleriyle ortaya çıkarılmıştır. *Metastrongylus* enfeksiyonlarına yol açan türlerin Kastamonu yöresindeki yaban domuzlarındaki dağılımı noktasında daha fazla sayıda örneklem üzerinde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Enfekte yaban domuzlarında parazit yükünün incelendiği araştırmalarda akciğer başına 196-633 parazit sayısı bildirilmiştir (Fernandez-de-Mera ve ark., 2003; Spieler ve Schnyder, 2021). Araştırmamızda enfekte yaban domuzu akciğerinde toplam 176 adet parazit saptanmış olup elde edilen bu sonuç araştırmacıların (Spieler ve Schnyder, 2021) bulgularıyla paralel seyretmiştir. Spieler ve Schnyder (2021), yüksek hayvan yoğunluğunun yaban domuzlarındaki parazit yükünün fazla olmasıyla ilişkili olduğunu vurgulamıştır. Ayrıca düzenli gıda kaynaklarının bulunduğu ortamların ara konak yer solucanlarının da varlığında *Metastrongylus* spp. süperenfeksiyon riskini artırdığı kaydedilmiştir (Humbert ve Henry, 1989).

Domuzlarda akciğer kıl kurtlarının teşhisi ile ilgili olarak çeşitli gen bölgelerini hedefleyen moleküler yöntemlerle morfolojik özelliklerin doğrulaması için sınırlı araştırmalar yürütülmüştür (Leignel ve ark., 1997; Conole ve ark., 1999; Li ve ark., 2016). Li ve ark. (2016), COX1 gen bölgesinin yaklaşık 450 bp bölgesini çoğaltan primerlerle domuzlarda akciğer kıl kurtlarının genetik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Ancak GenBank'taki referans mitokondrial genomları (Şekil 3) analizi sonucunda ilgili primerlerin özellikle 3' ucunda varyasyonlar gösterdiği ve dolayısıyla amplifikasyon problemlerinin ortaya çıkabileceği dikkati çekmiştir. Bu yönüyle çalışmamızda referans *Metastrongylus* mitokondrial genomları üzerinde COX1 gen bölgesi analiz edilerek türler arasında değişken bölgeleri içeren daha geniş (711 bp) bir bölgeyi çoğaltabilecek yeni primerler tasarlanmıştır. İlgili primerlerin yaban domuzunda belirlenen *M. pudendotectus* örneklerine ait gDNA izolatlarında etkin olarak amplifikasyon sağladığı görülmüştür. Ayrıca PCR ürünlerinin sekans analiziyle de primerlerin özgünlüğü onaylanmıştır. Tasarlanan primerlerin domuzlarda *Metastrongylus* türlerinin genetik karakterizasyon araştırmalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

Domuzlarda akciğer kıl kurtlarının mitokondrial DNA tabanında genetik karakterizasyonu ve filogenetik ilişkileri üzerine sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Ayrıca GenBank veri tabanında da sınırlı sayıda izolatu varlığı görülmektedir. Çalışmamızda filogenetik analizlere Fransa, Çin ve Vietnam'dan bildirilen *Metastrongylus* türlerine ait izolatların parsiyel COX1

sekansları ile Estonya'da karakterize edilen *M. pudendotectus* ve *M. salmi* mitokondrial genomları dahil edilmiştir. Yapılan sekans analizlerinde aralarında %0.4 genetik farklılık bulunan iki *M. pudendotectus* haplotipi karakterize edilmiştir. Her iki haplotipe ait izolatların monofiletik küme içerisinde Fransa, Estonya ve Çin'den bildirilen *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte yerleşim gösterdiği ve Fransa ile Estonya izolatlarına yüksek identik oldukları (%99,3-99,7) görülmüştür. Çin'den rapor edilen *M. pudendotectus* izolatlarının ise Türkiye, Estonya ve Fransa izolatlarına %2.8 genetik farklılık göstererek monofiletik küme içerisinde ayrı gruplanma gösterdiği dikkati çekmiştir. Bu sonuç farklı coğrafik bölgelerde yayılım gösteren *M. pudendotectus* nesillerinin genetik çeşitliliğe sahip olduğuna dair kanıtlar ortaya koymuştur. Filogenetik analiz sonuçları ayrıca *M. pudendotectus*, *M. salmi* ve *M. aprini*'nin %10'un üzerinde genetik farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma ile Türkiye'de yaban domuzlarında enfeksiyona yol açan akciğer kıl kurdu *M. pudendotectus* üzerine ilk filogenetik karakterizasyon verileri sağlanmıştır. Türkiye'nin farklı bölgelerindeki yaban domuzlarında *Metastrongylus* türlerinin genetik çeşitliliği üzerine fazla sayıda örneklem üzerinde ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Çalışma ile elde edilen çıktılar domuzlarda akciğer kıl kurdu enfeksiyonuna yol açan türlerin moleküler epidemiyolojisi üzerine mevcut olan sınırlı bilgi birikimine katkı sağlamıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde desteklerinden dolayı Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Aypak S, Aysul N, Bakırcı S, Karagenç T. Aydın ilinde avlanan yaban domuzlarında *Trichinella* sp. varlığının araştırılması. *Animal Health Prod and Hyg* 2013; 2(2): 203-5.
- Barutzki D, Schoierer R, Gothe R. Helminth infections in wild boars in enclosures in southern Germany: species spectrum and infection frequency. *Tierarztl Prax* 1990; 18(5): 529-34.
- Chabaud AG, Gretillat S. *Metastrongylus madagascariensis*, a 4th species of pulmonary strongyle infesting the domestic swine. *Ann Parasitol Hum Comp* 1956; 31(5-6): 572-7.
- Conole JC, Chilton NB, Jarvis T, Gasser RB. Intraspecific and interspecific variation in the second internal transcribed spacer sequence for *Metastrongylus* (Nematoda:Metastrongyloidea) detected by high resolution PCR-linked restriction fragment length polymorphism. *Int J Parasitol* 1999; 29(12): 1935-

40.

- da Silva D, Müller G. Parasites of the respiratory tract of *Sus scrofa scrofa* (wild boar) from commercial breeder in southern Brazil and its relationship with *Ascaris suum*. *Parasitol Res* 2013; 112(3): 1353-6.
- Darabus G, Hora FS, Mederle N, Morariu S, Ilie M, Suici T, Imre M. Prevalence and intensity of digestive and pulmonary parasites in wild boars in Romania. *J Zoo Wildl Med* 2019; 50(1): 270-3.
- de Sousa B, de Carvalho M, Fazendeiro I, Castro RF, Afonso-Roque M. Contribution for the knowledge of wild boar (*Sus scrofa* L.) helminthic fauna in Tapanana Nacional de Mafra, an enclosure hountig area. *Res Rev Parasitol* 2004; 64: 3-7.
- Dodangeh S, Azami D, Daryani A, Gholami S, Sharif M, Mobedi I, Sarvi S, Soleymani E, Rahimi MT, Pirestani M, Gohardehi S, Bastani R. Parasitic helminths in wild boars (*Sus scrofa*) in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iran J Parasitol* 2018; 13(3): 416-22.
- Fernandez-de-Mera IG, Gortazar C, Vicente J, Hofle U, Fierro Y. Wild boar helminths: risks in animal translocations. *Vet Parasitol* 2003; 115(4): 335-41.
- Gasso D, Rossi L, Mentaberre G, Casas E, Velarde R, Nosal P, Serrano E, Segales J, Fernandez-Llario P, Feliu C. An identification key for the five most common species of *Metastrongylus*. *Parasitol Res* 2014; 113(9): 3495-500.
- Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 2003; 52(5): 696-704.
- Humbert JF, Henry C. Studies on the prevalence and the transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa*) in France. *J Wildl Dis* 1989; 25(3): 335-41.
- Kesik HK, Kilinc SG, Celik F, Simsek S, Ahmed H. A case-study of the molecular diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in wild boar with comments on its public health significance in Turkey. *J Parasitol* 2020; 106(6): 730-4.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 1980; 16(2): 111-20.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33(7): 1870-4.
- Leignel V, Humbert JF, Elard L. Study by ribosomal DNA ITS 2 sequencing and RAPD analysis on the systematics of four *Metastrongylus* species

(Nematoda: Metastrongyloidea). J Parasitol 1997; 83(4): 606-11.

Li K, Luo H, Zhang H, Lan Y, Han Z, Shahzad M, Wang X, Qiu G, Huang S, Jiang W, Li J. First report of *Metastrongylus pudendotectus* by the genetic characterization of mitochondria genome of cox1 in pigs from Tibet, China. Vet Parasitol 2016; 223: 91-5.

Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. J Bioinform. 2009; 25(11): 1451-2.

Mansouri M, Sarkari B, Mowlavi GR. Helminth parasites of wild boars, Iran. J Parasitol 2016; 11(3): 377-82.

Marruchella G, Paoletti B, Speranza R, Di Guardo G. Fatal bronchopneumonia in a *Metastrongylus elongatus* and *Porcine circovirus* type 2 co-infected pig. Res Vet Sci 2012; 93(1): 310-2.

Merdivenci A. Son 30 yıl (1952-1982) içinde Türkiye'de varlığını ilk kez bildirdiğimiz parazitler. Turk Mikrobiyol Cem Derg 1983; 13: 23-37.

Merdivenci A. Türkiye'nin helmintolojik coğrafyası. Unat EK, Yaşarol Ş, Merdivenci A. eds. In: Türkiye'nin Parazitolojik Coğrafyası. İzmir; Ege Üniversitesi Matbaası, 1965; ss: 55-113.

Panayotova-Pencheva M, Dakova V. Studies on the gastrointestinal and lung parasite fauna of wild boars (*Sus scrofa scrofa* L.) from Bulgaria. Ann Parasitol 2018; 64(4): 379-84.

Poglayan G, Marchesi B, Dall'Oglio G, Barlozzari G, Galuppi R, Morandi B. Lung parasites of the genus *Metastrongylus* Molin, 1861 (Nematoda: Metastrongylidae) in wild boar (*Sus scrofa* L., 1758) in Central-Italy: An eco-epidemiological study. Vet Parasitol 2016; 217: 45-52.

Senlik B, Cirak VY, Girisgin O, Akyol CV. Helminth infections of wild boars (*Sus scrofa*) in the Bursa province of Turkey. J Helminthol 2011; 85(4): 404-8.

Spieler N, Schnyder M. Lungworms (*Metastrongylus* spp.) and intestinal parasitic stages of two separated Swiss wild boar populations north and south of the Alps: Similar parasite spectrum with regional idiosyncrasies. Int J Parasitol Parasites Wildl 2021; 14(2021): 202-10 .