

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2019-DR-004

**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NİN VEKTÖR
SİVRİSİNEK TÜRLERİNDE İNSEKTİSİT
DİRENCİNİN MOLEKÜLER VE
BİYOKİMYASAL TEKNİKLERLE
BELİRLENMESİ**

Sare İlknur YAVAŞOĞLU

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Fatih Mehmet ŞİMŞEK

AYDIN

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Sare İlknur YAVAŞOĞLU tarafından hazırlanan “Akdeniz ve Ege Bölgesi Vektör Sivrisinek Türlerinde İnsektisit Direncinin Moleküler ve Biyokimyasal Tekniklerle Belirlenmesi” başlıklı tez, 10.05.2019 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

| | Ünvanı, Adı Soyadı | Kurumu | İmzası |
|--------|---------------------------------|--------|--------|
| Başkan | : Prof. Dr. Selim Sualp ÇAĞLAR | HÜ | |
| Üye | : Prof. Dr. Fatih Mehmet ŞİMŞEK | ADÜ | |
| Üye | : Prof. Dr. Kubilay METİN | ADÜ | |
| Üye | : Prof. Dr. Celal ÜLGER | ADÜ | |
| Üye | : Prof. Dr. Serdar SAK | BAÜ | |

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN
Enstitü Müdürü

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

10/05/2019

Sare İlknur YAVAŞOĞLU

ÖZET

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NİN VEKTÖR SİVRİSİNEK TÜRLERİNDE İNSEKTİSİT DİRENCİNİN MOLEKÜLER VE BİYOKİMYASAL TEKNİKLERLE BELİRLENMESİ

Sare İlknur YAVAŞOĞLU

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatih Mehmet ŞİMŞEK
2019, 150 sayfa

Bu çalışmada ülkemizin Ege ve Akdeniz bölgelerinde yayılış gösteren ve Dünya'nın birçok coğrafik bölgesinde sıtma, sarıhumma, deng humması ve Japon ensefaliti gibi önemli hastalıklara vektörlük yapabilen *Anopheles sacharovi*, *Culex pipiens* ve *Ochlerotatus caspius* türlerinde insektisit direnci düzeyinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Duyarlılık testi sonuçları hem *An. sacharovi* hem *Cx. pipiens* hem de *Oc. caspius* popülasyonlarının tamamının DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxura karşı dirençli olduğunu göstermiştir. Permethrin ve deltamethrine karşı ise bir çok popülasyon direnç oluşturmaya başlamıştır. Biyokimyasal test sonuçları her üç türde de DDT direncinden sorumlu mekanizmanın glutatyon-S-transferazlar ve P450 monooksijenazlar olduğunu, organofosfatlı ve karbamatlı insektisitlere karşı olan dirençten sorumlu mekanizmanın esterazlar olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, pretroidli insektisitlere karşı olan dirençten sorumlu mekanizmanın da hem P450 monooksijenazlar hem de esterazlar olduğunu ortaya koymuştur. Alel spesifik primerler ile *An. sacharovi* popülasyonlarında DDT ve pretroidlere karşı *kdr* direncini sağlayan L1014F ve L1014S mutasyonları, *Cx. pipiens* popülasyonlarında ise yalnızca L1014F mutasyonu tespit edilmiştir. Alel spesifik PZR yöntemi ile *An. sacharovi* popülasyonlarında G119S mutasyonu tespit edilmemiştir. Benzer şekilde, hem PZR-RFLP tekniği ile hem de sekans analizleri ile *Cx. pipiens* popülasyonlarında *ace-1* G119S mutasyonu tespit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Vektör sivrisinekler, İsektisit direnci, GST, P450, Karboksilesterazlar, *kdr*, *ace-1*, Akdeniz, Ege.

ABSTRACT

DETERMINATION OF INSECTICIDE RESISTANCE BY MOLECULAR AND BIOCHEMICAL TECHNIQUES IN VECTOR MOSQUITO SPECIES OF MEDITERRANEAN AND AEGEAN REGION

Sare İlknur YAVAŞOĞLU

PhD Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fatih Mehmet ŞİMŞEK

2019, 150 pages

It is aimed to determine the insecticide resistance level in *Anopheles sacharovi*, *Culex pipiens* and *Ochlerotatus caspius* populations that can spread in the Aegean and Mediterranean regions of Turkey and can be the important vector species of important diseases such as Malaria, Yellow Fever, Dengue Fever and Japanese encephalitis in many geographic regions of the world. Sensitivity test results showed both *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* and *Oc. caspius* populations were resistant to DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb and propoxur. Many populations have begun to have resistance against permethrin and deltamethrin. Biochemical test results revealed that glutathione-S-transferases and P450 monooxygenases are responsible mechanisms of DDT resistance in all three species; esterases are responsible mechanisms of organophosphate and carbamate resistance and, P450 monooxygenases and esterases are the responsible mechanisms of pyrethroid resistance. Allele specific primers detected L1014F and L1014S mutations that provide *kdr* resistance against pyrethroids and DDT in *An. sacharovi* populations and L1014F mutation in *Cx. pipiens* populations. *ace-1* G119S mutations were not detected in *An. sacharovi* populations by using allele specific primers. Similarly, *ace-1* G119S mutation was not detected in *Cx. pipiens* populations by using both PCR-RFLP method and sequence analyses.

Key Words: Vector mosquitoes, Insecticide resistance, GST, P450, Carboxylesterases, *kdr*, *ace-1*, Mediterranean, Aegean.

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle karşılaştığım sorunların çözümüne katkılar sağlayan danışmanım Prof. Dr. Fatih Mehmet ŞİMŞEK'e,

Düzenli aralıklarla tez izleme komitelerime katılarak, çalışmamın bilimsel açıdan hedeflenen düzeye ulaşmasını sağlayan Prof. Dr. Selim Sualp ÇAĞLAR ve Prof. Dr. Kubilay METİN'e,

Tez çalışmamda kullandığım moleküler teknikler konusunda desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Celal ÜLGER'e,

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimi'nin-BAP-FEF-15005 nolu ve "Akdeniz ve Ege Bölgesi'nin vektör sivrisinek türlerinde insektisit direncinin moleküler ve biyokimyasal tekniklerle belirlenmesi" başlıklı Doktora Tez projemizi destekleyen AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ Rektörlüğü'ne,

Laboratuvar çalışmalarım esnasında imkanlarından faydalandığım 112T479 no'lu proje için TÜBİTAK'a,

Yoğun tez çalışmalarımın en zorlu dönemlerimde hep yanımda olup, bana güç veren samimi ve içten dostum Arş. Gör. Dr. Yelda KADIOĞLU'na teşekkürü borç bilirim.

Bana duyduğu sonsuz sevgi, saygı, hoşgörü ve nezaketin yanı sıra bilimsel birikimlerini de zaman zaman benimle paylaşarak, bilimin heyecan verici yönünü bana sık sık hatırlatan değerli eşim Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU'na,

Güçlü bir anne olmanın gerekliliklerini yerine getirmek için daha çok ve severek çalışmama sebep olan canım oğlum Kerem YAVAŞOĞLU'na,

Bana her zaman güvenerek maddi manevi desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli annem Ürkiye CİHANGİR ve babam Ali İhsan CİHANGİR'e sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Sare İlknur YAVAŞOĞLU

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI..... | iii |
| BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI | v |
| ÖZET | vii |
| ABSTRACT..... | ix |
| ÖNSÖZ | xi |
| KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ..... | xvii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | xix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xxiii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 5 |
| 2.1. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan İnektisitler | 5 |
| 2.1.1. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan Kimyasal İnektisitler | 6 |
| 2.1.1.1. Klorlu hidrokarbonlar..... | 6 |
| 2.1.1.2. Organofosfatlar..... | 7 |
| 2.1.1.3. Karbamatlar | 8 |
| 2.1.1.4. Pretroidler..... | 8 |
| 2.1.1.5. Böcek büyüme düzenleyicileri | 9 |
| 2.1.2. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan Biyolojik İnektisitler | 11 |
| 2.1.2.1. <i>Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)</i> | 12 |
| 2.1.2.2. <i>Bacillus sphaericus (Bs)</i> | 12 |
| 2.2. İnektisit Direncinin Tanımı..... | 14 |
| 2.3. İnektisit Direnci Çeşitleri..... | 16 |
| 2.3.1. Davranış Direnci | 16 |
| 2.3.2. İnektisit Penetrasyonunun Azalması..... | 17 |
| 2.3.3. İnektisit Hedef Bölge Duyarsızlığı | 18 |

| | |
|---|----|
| 2.3.3.1. Asetilkolinesteraz duyarlılığı | 18 |
| 2.3.3.2. Gama-Aminobütirik asit reseptör genlerindeki duyarlılık | 19 |
| 2.3.3.3. Voltaj duyarlı iyon kanallarındaki duyarlılık | 20 |
| 2.3.4. Metabolik Direnç..... | 21 |
| 2.3.4.1. Sitokrom P450 monoksijenazlara dayalı direnç | 22 |
| 2.3.4.2. Esterazlara dayalı direnç..... | 24 |
| 2.3.4.3. Glutasyon-s-transferazlara dayalı direnç | 26 |
| 2.4. İnsektisit Direnç Düzeyleri Araştırılan Sivrisineklerin Biyolojisi-Ekolojisi.. | 28 |
| 2.4.1. <i>Anopheles sacharovi</i> | 28 |
| 2.4.2. <i>Culex pipiens</i> | 30 |
| 2.4.3. <i>Ochlerotatus caspius</i> | 32 |
| 2.5. <i>Anopheles sacharovi</i> , <i>Culex pipiens</i> ve <i>Ochlerotatus caspius</i> Türlerinde İnsektisit Direnci Araştırmaları..... | 33 |
| 2.5.1. <i>Anopheles sacharovi</i> 'de İnsektisit Direnci Çalışmaları..... | 33 |
| 2.5.2. <i>Culex pipiens</i> 'de İnsektisit Direnci Çalışmaları | 35 |
| 2.5.3. <i>Ochlerotatus caspius</i> 'ta İnsektisit Direnci Çalışmaları..... | 37 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 39 |
| 3.1. Araştırma Bölgesi..... | 39 |
| 3.2. Alansal Çalışmalar | 42 |
| 3.3. WHO İnsektisit Duyarlılık Testleri | 44 |
| 3.4. Biyokimyasal Çalışmalar..... | 46 |
| 3.4.1. Protein Tayini | 47 |
| 3.4.2. Protein Standart Grafiğinin Hazırlanması | 48 |
| 3.4.3. Alfa ve Beta Esteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini..... | 48 |
| 3.4.4. Alfa ve Beta Naftol Standart Grafiklerinin Hazırlanması | 49 |
| 3.4.5. pNPA Esteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini..... | 51 |

| | |
|---|----|
| 3.4.6. Para Nitro Fenol Standart Grafiğinin Hazırlanması | 51 |
| 3.4.7. Oksidaz Aktivitesinin Kantitatif Tayini | 52 |
| 3.4.8. Sitokrom-c Standart Grafiğinin Hazırlanması..... | 52 |
| 3.4.9. Glutatyon-S-Transferaz Aktivitesinin Kantitatif Tayini | 53 |
| 3.4.10. Asetilkolinesteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini | 54 |
| 3.5. Moleküler Çalışmalar | 55 |
| 3.5.1. Örneklerden DNA İzolasyonu..... | 55 |
| 3.5.2. <i>Anopheles sacharovi</i> Türlerinde <i>kdr</i> Direncinin Belirlenmesi | 55 |
| 3.5.3. <i>Culex pipiens</i> Türünde <i>kdr</i> Direncinin Belirlenmesi..... | 59 |
| 3.5.4. <i>Anopheles sacharovi</i> Türünde <i>ace-1</i> Direncinin Belirlenmesi..... | 60 |
| 3.5.5. <i>Culex pipiens</i> Türünde <i>ace-1</i> Direncinin Belirlenmesi | 61 |
| 3.5.6. <i>Ochlerotatus caspius</i> Türünde <i>ace-1</i> Direncinin Belirlenmesi | 61 |
| 3.5.7. Verilerin İstatistiksel Analizleri | 62 |
| 4. BULGULAR | 63 |
| 4.1. WHO İnektisit Duyarlılık Testi Sonuçları | 63 |
| 4.2. İnektisit Direncini Sağlayan Biyokimyasal Mekanizmalar ve Enzimatik Aktivite Sonuçları | 70 |
| 4.2.1. Esteraz Aktivitesi | 70 |
| 4.2.1.1. Alfa Esteraz aktivitesi | 70 |
| 4.2.1.2. Beta Esteraz aktivitesi | 73 |
| 4.2.1.3. pNPA Esteraz aktivitesi | 76 |
| 4.2.3. Oksidaz Aktivitesi | 79 |
| 4.2.4. Glutatyon-S-Transferaz Aktivitesi | 82 |
| 4.2.5. Asetilkolinesteraz Aktivitesi | 85 |
| 4.3. İnektisit Direncini Sağlayan Moleküler Mekanizmalar ve Moleküler Çalışmaların Sonuçları | 92 |
| 4.3.1. <i>An. sacharovi</i> Popülasyonlarındaki <i>kdr</i> Mutasyonu Frekansları..... | 92 |

| | |
|--|-----|
| 4.3.2. <i>Cx. pipiens</i> Popülasyonlarındaki kdr Mutasyonu Frekansları | 97 |
| 4.3.3. <i>An. sacharovi</i> Popülasyonlarındaki <i>ace-1</i> Mutasyonu Frekansları | 102 |
| 4.3.4. <i>Cx. pipiens</i> Popülasyonlarındaki <i>ace-1</i> Mutasyonu Frekansları..... | 102 |
| 4.3.5. <i>Oc. caspius</i> Popülasyonlarındaki <i>ace-1</i> Mutasyonu Frekansları..... | 103 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 104 |
| KAYNAKLAR..... | 116 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 147 |

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

| | |
|-------|---|
| % | : Yüzde |
| °C | : Santigrat derece |
| µg | : Mikrogram |
| µL | : Mikrolitre |
| µM | : Mikro molar |
| AchE | : Asetilkolinesteraz |
| ASCHI | : Asetilkolin İodid |
| Bç | : Baz çifti |
| CB | : Karbamat |
| CDNB | : 1-chloro-2, 4-dinitrobenzine |
| DDT | : 1, 1, 1,-trichloro-2, 2,-bis (p-chlorophenyl) ethane/Diethyl diphenyl tricholoro ethane |
| DNA | : Deoksiribo nükleik asit |
| DTNB | : 5, 5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) |
| EDTA | : Ethylene diamine tetra acetic acid (disodium salt) |
| GABA | : Gama Amino Butirik Asit |
| GST | : Glutatyon-S-Transferaz |
| HCl | : Hidroklorik asit |
| kb | : Kilo baz |
| kDa | : kilo dalton |
| kdr | : Knock-down direnci |
| M | : Molar |
| MFO | : Karışık Fonksiyonlu Oksidaz |
| Mg | : Milligram |
| mL | : Milliliter |

xviii

mM : Millimolar

ng : Nanogram

OC : Organoklorür

OP : Organofosfat

PBO : Piperonil Bütoksid

pH : Hidrojen Potansiyeli

PYR : Pretroid

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SDS : Sodyum Dodesil Sülfat

UV : Ultra violet

Vd. : ve diğerleri

Vssc1 : Voltaj Duyarlı Sodyum Kanal Geni

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

α : Alfa

β : Beta

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 3.1. Araştırma bölgesi | 40 |
| Şekil 3.2. <i>Anopheles sacharovi</i> , <i>Culex pipiens</i> ve <i>Ochlerotatus caspius</i> larva örneklemeleri..... | 44 |
| Şekil 3.3. Ergin popülasyonları örneklemeleri | 45 |
| Şekil 3.4. Duyarlılık testlerinin yapıldığı insektisit emdirilmiş uygulama tüpleri ve dinlenme tüpü | 45 |
| Şekil 3.5. Duyarlılık testi için örneklerin hazırlanması ve testin uygulanması | 46 |
| Şekil 3.6. Bradford yöntemi ile protein miktarlarının belirlenmesi esnasında açığa çıkan mavi renk..... | 47 |
| Şekil. 3.7. Protein standart grafiği (100-1200 µg)..... | 48 |
| Şekil 3.8. Alfa ve Beta esteraz enzimlerinin konsantrasyonuna bağlı olarak renk reaktifi ilavesinden sonra oluşan renklenme | 49 |
| Şekil. 3.9. Alfa naftol standart grafiği | 50 |
| Şekil. 3.10. Beta naftol standart grafiği..... | 50 |
| Şekil. 3.11. p-nitro fenol standart grafiği | 52 |
| Şekil 3.12. Sitokrom-C standart grafiği | 53 |
| Şekil 4.1. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri..... | 71 |
| Şekil 4.2. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri | 72 |
| Şekil 4.3. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri..... | 73 |
| Şekil 4.4. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan spesifik beta esteraz aktiviteleri..... | 74 |
| Şekil 4.5. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının spesifik beta esteraz enzim aktiviteleri | 75 |
| Şekil 4.6. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının spesifik beta esteraz enzim aktiviteleri..... | 76 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.7. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan spesifik pNPA esteraz aktiviteleri..... | 77 |
| Şekil 4.8. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının medyan spesifik pNPA esteraz aktiviteleri | 78 |
| Şekil 4.9. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının medyan spesifik Pnpa esteraz aktiviteleri..... | 79 |
| Şekil 4.10. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları..... | 80 |
| Şekil 4.11. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları | 81 |
| Şekil 4.12. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları..... | 82 |
| Şekil 4.13. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri | 83 |
| Şekil 4.14. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri..... | 84 |
| Şekil 4.15. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri | 85 |
| Şekil 4.16. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları..... | 88 |
| Şekil 4.17. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları | 90 |
| Şekil 4.18. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları..... | 92 |
| Şekil 4.19. L _{ösin} ₁ (TTA), L _{ösin} ₂ (TTG), Fenilalanin (TTT) ve Serin (TCG) aminoasidini kodlayan diziyi çoğaltan alele özgü primerlerle ile yapılan bir PZR'nin agaroz jel görüntüsü | 93 |
| Şekil 4.20. L _{ösin} (TTA) ve Fenilalanin (TTT) aminoasidini kodlayan diziyi çoğaltan alele özgü primerlerle ile yapılan bir PZR'nun agaroz jel üzerindeki görüntüsü | 97 |

- Şekil 4.21. *kdr* mutasyonu açısından homozigot duyarlı (SS) olan bir bireyin
Vssc 1 gen dizisi98
- Şekil 4.22. *kdr* mutasyonu açısından heterozigot dirençli (RS) olan bir bireyin
Vssc 1 gen dizisi98
- Şekil 4.23. Glisin (GGG) ve Serin (AGC) aminoasidini kodlayan diziyi
çoğaltan alele özgü primerlerle ile yapılan bir PZR'nun agaroz jel
üzerindeki görüntüsü.102
- Şekil 4.24. *An. sacharovi*'de *Ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi ..102
- Şekil 4.25. *Cx.pipiens*' de *ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi103
- Şekil 4.26. *Oc. caspius*' da *ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi103

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 3.1. Örneklem lokaliteleri | 43 |
| Çizelge 3.2. Renk reaktifinin bileşenleri | 49 |
| Çizelge 3.3. GSH/CDNB çözültisinin bileşenleri | 54 |
| Çizelge 3.4. <i>Anopheles sacharovi</i> 'de <i>kdr</i> mutasyonunun belirlenmesi için tasarlanmış alel spesifik primerler..... | 56 |
| Çizelge 3.5. <i>Anopheles sacharovi kdr</i> mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan bileşenler | 56 |
| Çizelge 3.6. <i>Anopheles sacharovi</i> 'de <i>kdr</i> mutasyonuna bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profili | 57 |
| Çizelge 3.7. <i>Culex pipiens kdr</i> mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan reaksiyon içeriği | 59 |
| Çizelge 3.8. <i>Culex pipiens</i> 'te <i>kdr</i> mutasyonuna bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profil..... | 59 |
| Çizelge 3.9. <i>Anopheles sacharovi ace-1</i> mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de reaksiyon içeriği..... | 60 |
| Çizelge 3.10. <i>Anopheles sacharovi</i> 'de <i>ace-1</i> direncine bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profili | 60 |
| Çizelge 3.11. <i>Cx. pipiens ace-1</i> mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan bileşenler | 61 |
| Çizelge 4.1. Akdeniz Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları | 64 |
| Çizelge 4.2. Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları..... | 65 |
| Çizelge 4.3. Akdeniz Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları | 67 |
| Çizelge 4.4. Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları | 68 |

| | |
|--|-----|
| Çizelge 4.5. Akdeniz Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları..... | 69 |
| Çizelge 4.6. Ege Bölgesi <i>Ochlerotatus caspius</i> popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları..... | 70 |
| Çizelge 4.7. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>An. sacharovi</i> popülasyonlarının enzim aktiviteleri..... | 87 |
| Çizelge 4.8. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Cx. pipiens</i> popülasyonlarının enzim aktiviteleri..... | 89 |
| Çizelge 4.9. Akdeniz ve Ege Bölgesi <i>Oc. caspius</i> popülasyonlarının enzim aktiviteleri..... | 91 |
| Çizelge 4.10. Akdeniz Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının <i>Vssc 1</i> gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları | 94 |
| Çizelge 4.11. Ege Bölgesi <i>Anopheles sacharovi</i> popülasyonlarının <i>Vssc 1</i> gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları | 96 |
| Çizelge 4.12. Akdeniz Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının <i>Vssc 1</i> gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları | 99 |
| Çizelge 4.13. Ege Bölgesi <i>Culex pipiens</i> popülasyonlarının <i>Vssc 1</i> gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları | 101 |

1. GİRİŞ

Culicidae familyası içerisinde yer alan sivrisinekler virüs, bakteri, protozoa ya da nematod gibi çok farklı patojen organizmalara vektörlük yapabilmektedirler. Dünya’da en fazla ölüme sebebiyet veren hayvanlardan bir tanesi olan sivrisineklerin hastalık etkeni taşıyabilme ve bu hastalıkları yayabilme yetenekleri sayesinde her yıl milyonlarca insan ölmektedir. Sıtma, Filariasis, Sarihumma, Deng Humması, Batı Nil Humması, Zika ve Japon Ensefaliti gibi hastalıkların insan topluluklarında yayılmasını ve dünya genelinde etkili olmasını sağlayan sivrisinekler önemli bir böcek grubudur (Benelli, 2016).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nün verilerine göre her yıl birkaç yüz milyon insan sivrisinek kaynaklı hastalıklarla enfekte olmaktadır. 2016 yılında sadece sıtma nedeniyle 445.000 insanın öldüğü rapor edilmiştir (WHO, 2017). Son 30 yılda Deng humması insidansı 30 kat artmış ve çok fazla ülke ilk vaka sayılarını bildirmiştir (WHO, 2016). Dahası Dünya nüfusunun yarısından fazlası vektör sivrisineklerin yayılış gösterdiği bölgelerde yaşamaktadır. Hem dünya açısından hem ülkemiz açısından sivrisinekler tarafından vektörlüğü yapılan en önemli hastalık, *Anopheles* türlerinin vektörlük yaptığı sıtmadır (Karabatsos, 2001). Ülkemizde İkinci Dünya Savaşı sırasında daha önceki yıllara nazaran iyice artmış olan sıtma vakası sayısı, 1983 yılından itibaren yürürlüğe giren ‘sıtma kontrol programı’ sonrasında 1994 yılına kadar kademe kademe azalmıştır. 1994 yılında savaş, kontrolsüz göç ve plansız kentleşme gibi çeşitli sosyolojik problemler sebebiyle meydana gelen bu epideminin sonrasında, yine etkili kontrol yöntemleri sayesinde vaka sayıları giderek azalmıştır. Ülkemizde diğer ülkelerden kaynaklı 209 vaka kaydı 2016 yılında bildirilmiş olsa da, 2010 yılından bu yana endojen sıtma vakası bildirilmemiştir (WHO, 2017). Son birkaç yıldır endojen vakalar görülmemesine rağmen sıtma eradikasyonunun tam olarak sağlanamadığı ve risklerin devam ettiği kabul edildiğinden Türkiye WHO tarafından sıtmasız ülke kategorisine henüz alınmamıştır.

Sivrisinekler uyum yetenekleri sayesinde kutuplar haricinde Dünya’nın her yerinde kolayca lokalize olabilmektedirler. Ayrıca, küresel ısınma ve artan sıcaklıklara bağlı olarak yaşam döngülerini daha kısa sürede tamamlayabilmeleri, yumurtadan çıkan larva sayılarının artması ve uzak mesafelere uçabilmeleri nedeniyle de taşıdıkları patojen mikroorganizmaları ve diğer hastalık ajanlarını

kolayca gittikleri yerlere taşıyabilmektedirler (Gould ve Higgs, 2009; Karuppaiah ve Sujayanad, 2012). Küresel boyutta ülkeler arasındanki ticaret ve seyahat etkileşimleri nedeniyle de Dünya'nın pek çok bölgesine özellikle de vektör sivrisinek türlerinin yayılımı/yerleşmesi kolaylaşmış ve artmıştır. Bunun sonucunda da çiftlik hayvanlarına ve insan topluluklarına verdikleri zarar gün geçtikçe önem kazanmıştır (Gould ve Higgs, 2009). Ülkemiz coğrafi konumu ve iklimsel özellikleri nedeniyle, sivrisinekler için oldukça uygun koşullar içermektedir. Bunun doğal bir sonucu olarak da sivrisineklerin verebileceği zararların tehdidi ile karşı karşıyadır. Özellikle Asya ve Avrupa kıtalarını birbirine bağlayan bir köprü vazifesi görmesi ülkemizi yeni vektör sivrisineklerin ve taşıdıkları patojen organizmaların tehdidinde maruz bırakmaktadır. Örneğin, Asya, Avrupa ve Amerika'da milyonlarca insanı enfekte ederek ölümlere sebep olabilen Batı Nil Virüsü (BNV) ile ilişkili semptomatik hastalık kaydı ülkemizde hiç verilmemişken, 2009 yılından itibaren Anadolu'nun özellikle batı kesiminde hem salgın hem de BNV ilişkili Merkezi sinir sistemi hastalıkları olguların bildirilmiştir (Özkul vd., 2013). 2010 yılında ise çoğunluğu Batı Anadolu'da olmak üzere toplamda 47 BNV, 2011 yılında ise 5 BNV ateşi hastalığı kaydı bildirilmiştir (Kalaycioglu vd., 2012). Ayrıca geçmişte ülkemizde bulunan ancak son yıllarda ortadan kalktığı düşünülen *Aedes aegypti* ve ülkemizde varlığı hiç bildirilmemiş olan *Aedes albopictus* türlerinin de feribot ve gemi hareketliliğine bağlı olarak liman kentlerinin bulunduğu Karadeniz Bölgesi'nde 2015 yılında yerel popülasyonlar oluşturduğu bildirilmiştir (Akıner vd., 2016).

Hayvan ve insanlara taşıdıkları patojenler ve mikroorganizmalar nedeniyle, hem Dünya'da hem ülkemizde belediyeler ve sağlık kurumları yıllardır vektör sivrisinekleri kontrol altına almaya çalışmaktadır. Bu mücadele fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemleri kapsamaktadır. Ancak, kolay erişilebilmeleri, etkilerinin hızlı ve kalıcı olması nedeniyle daha çok sentetik kimyasal ajanlar ile mücadele tercih edilmektedir. Kimyasal mücadelede asıl ilerleme II. Dünya Savaşı zamanında klorlu hidrokarbonlu insektisitlerin, özellikle de Dikloro Difetil Tetrakloroetan'nin (DDT) keşfedilmesi ve sıtma ile mücadelede ev içi spreyi olarak kullanılmasıyla başlamıştır (Vezehegno, 2008). Ancak yoğun olarak kullanımının bir sonucu olarak zamanla birçok böcekte ve sivrisineklerde hem DDT direncinin gelişmesi hem de hedef olmayan diğer organizmalara ve çevreye verdiği kalıcı hasarlar nedeniyle Dünya'nın birçok ülkesinde DDT kullanımı yasaklanmıştır (Coetzee vd., 1999). Ülkemizde de 1970'lere kadar sürdürülen

sıtma eradikasyon programlarında yaygın olarak kullanılmış olan DDT, 1980’li yıllarda ortaya çıkan DDT direnci ve çevresel etkileri nedeniyle yasaklanmıştır (Akıner vd., 2009). DDT’nin yasaklanmasının ardından yeni kimyasal insektisitlerin geliştirilmesi kaçınılmaz olmuş ve böylece, organofosforlu insektisitler, karbamatlar ve pretroid grubu kimyasal insektisitlerin sivrisineklerle ve diğer tarım zararlılarıyla mücadele de kullanımı yaygınlaşmıştır. İnsektisitlerin yaygın olarak kullanılması zaman içerisinde çevresel problemlere neden olmakla birlikte, zararlıların geliştirdiği davranışsal, morfolojik ve fizyolojik direnç mekanizmaları vektör böceklerin ve neden oldukları hastalıkların önlenmesinde önemli bir engel oluşturmaktadır. Nitekim II. Dünya Savaşı ve sonrasında izleyen yıllarda da böcekler ve diğer arthropod türlerinde çeşitli kimyasallara karşı insektisit direnç gelişimine dair kayıtlar mevcuttur. Vektör ya da zararlı kontrolü çalışmalarında karşılaşılan insektisit direnci, daha fazla doz uygulamasına veya daha farklı etki mekanizmasına sahip insektisitlerin kullanılmasına neden olduğundan hem çevresel etkiler hem mücadelede maliyeti arttırmakta hem de çoğu zamanda kontrol çalışmaları başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu sebeplerden dolayı Dünya’nın birçok ülkesinde halk sağlığını tehdit eden ve epidemilere yol açan vektör sivrisinekler ve tarım zararlıları da dahil çok fazla böcek grubunda bir çok insektisit direnci çalışmaları yapılmış ve halen yapılmaktadır. Sivrisinekler açısından değerlendirildiğinde, bu çalışmaların hedefinde genel olarak, sıtma vektörü olmaları nedeniyle, *Anopheles* türleriyle, Batı Nil, Dengue, Japon Ensefalit, Tayhna ve Toscano virüsleri gibi önemli arbovirüslerin vektörleri olan *Aedes/Ochlerotatus* ve *Culex* türleri vardır.

Bugün yapılan birçok araştırmayla vektör kontrol çalışmalarının başarısında, hem vektör popülasyonların insektisit direnç düzeylerine dair hem de dirence sebep olan moleküler ve biyokimyasal temellere dair elde edilen bilgilerin oldukça yararlı olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde başlıca sıtma vektörü *Anopheles sacharovi* olduğundan, çalışmalar da daha çok bu türe ağırlık verilmişken, önemli sıtma vektörlerini kapsayan *Anopheles maculipennis* grubunun türleriyle ve Batı Nil Virüsü vektörü olan *Culex pipiens* ile yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Ancak bu çalışmalar, ülkemizde daha çok WHO’nun standart insektisit duyarlılık test kitleri ile yapılmış olup, sivrisinek popülasyonlarının insektisit hassasiyet düzeylerinin belirlenmesine yöneliktir. Popülasyonlarda insektisit direncinin gelişimini sağlayan moleküler ve biyokimyasal mekanizmaların belirlenmesi ve etkinliğinin gösterilmesine dair çalışmalar ise çok yaygın değildir.

Bu çalışmada ülkemizin Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde farklı ekolojik özelliklere sahip lokalitelerden sıtma vektörü *An. sacharovi*, Batı Nil Virüsü vektörü *Culex pipiens* ve Tahyna Virüsü vektörü *Ochlerotatus caspius* türlerinin popülasyonlarından örneklemeler yapılarak, WHO'nun standart testleriyle, farklı gruplardan insektisitlere karşı (permetrin, deltametrin, malathion, fenitrothion, propoxour, bendiocarb ve DDT) popülasyonların direnç düzeyleri belirlenmiştir. Direnç gelişimi tespit edilen popülasyonlarda da mevcut direncin temelinde yatan moleküler ve biyokimyasal mekanizmalar aydınlatılmıştır. Bu kapsamda elde edilen sonuçların değerlendirilmesi, oluşturulabilecek mücadele stratejilerine katkıda bulunabilecek ve halen ülkemizde sürdürülmekte olan vektör sivrisineklerin kontrolüne yönelik çalışmaların başarısı artırılabilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan İsektisitler

İsektisitler etki şekilleri ve kimyasal bileşenleri gibi farklı özelliklerine dayanılarak birkaç farklı grup altında sınıflandırılabilirler. Örneğin, etki şekillerine göre mide zehirleri, temas zehirleri ve fumigantlar olarak isimlendirilirler (Pedigo, 1996).

Mide zehirleri ağız yoluyla alındıktan sonra mide ve bağırsaktan emilerek böceğin tüm vücuduna yayılır ve mide zehirlenmelerine sebep olur. Bunlar birinci nesil isektisitlerdir ve Arsenik bu gruba örnek olarak verilebilir (Pedigo, 1996).

Temas zehirleri uygulanan yüzeyden böceğin vücuduna temas yoluyla alınırlar. Bu gruptaki isektisitlere günümüzde sıkça kullanılan modern isektisitler örnek olarak verilebilir (Dent, 2000).

Fumigantlar böceklere trakeal sistem üzerinden etki eden ve vücutta sirkülasyonunu tamamladıktan sonra dokular tarafından absorbe edilen gaz olarak etki eden isektisitlerdir (Akıner, 2009).

Bunların haricinde isektisitler inorganik, doğal organik ve sentetik organik olarak da sınıflandırılabilirler. Günümüzde sivrisinek mücadelesinde kullanılan isektisitlerin çoğu sentetik organik isektisitlerdir. Sentetik organik isektisitler, ikinci nesil isektisitlerdir ve aktif içerik yapısına göre 4 ana grup altında toplanmaktadır: Klorlu hidrokarbonlar, organofosfatlar, karbamatlar ve pretroidler (Çakır ve Yamanel, 2005). Bunların haricinde böcek büyüme düzenleyicileri (juvenil hormon analogları) ve biyolojik preparatlar da iki ayrı grup isektisit olarak kullanılmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998).

Juvenil hormon analogları, juvenil hormonların fizyolojik etkilerinin detaylı bir şekilde araştırılmasından sonra Williams (1967) tarafından kendisine karşı direnç geliştirilemeyeceği düşünülerek üçüncü nesil pestisitler olarak sınıflandırılmışlardır (Becker vd., 2003).

Dördüncü nesil isektisitler ise *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) ve *Bacillus sphaericus* (Bs) gibi bazı mikroorganizmaların entomopatojenik özelliklerine dayanarak elde edilen biyolojik kontrol ajanlarıdır (Becker vd., 2003).

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan insektisitlerin bazıları temephos, malathion, methoprene, pertmethrin, deltamethrin, resmethrin ve etofenproxur.

2.1.1. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan Kimyasal İsektisitler

2.1.1.1. Klorlu hidrokarbonlar

Karbon, Klor ve Hidrojen atomlarından oluşan klorlu hidrokarbonlar, organoklorlular (OC) olarak da bilinirler. Yapısal farklılıklarına göre farklı alt gruplara ayrılabilirler de hepsinin temel özelliği kararlı kimyasal yapıları, suda az çözümleri, organik çözücülerde nispeten orta dereceli çözümleri ve düşük buhar basıncına sahip olmalarıdır (Hill ve Waller, 1982).

Organoklor grubu insektisitlerin ana hedefi böceklerin sinir sistemidir. DDT, dieldrin, aldrin, lindan gibi insektisitler bu grup içerisinde yer alan başlıca insektisitlerdir (Yavuz ve Şanlı, 1999). Her ne kadar DDT ve diğer klorlu hidrokarbonlu insektisitlerin etki mekanizmaları arasında farklılıklar olabilsede genel olarak duyu nöronlarındaki sodyum potasyum dengesini bozarak etki göstermektedirler (Hemingway ve Ranson, 2005).

Etkisi en iyi bilinen OC'lu insektisit DDT (1,1,1-trikloro-2,2-bis (p-klorofenil) ethan) (diklorodifeniltrikloroetan)'dir. 1874 yılında sentezlenmiş, 1939 yılında ise insektisidal etkisi keşfedilmiştir (Aksoy, 1982). DDT, voltaj duyarlı sodyum kanallarının bozulan sodyum potasyum dengesi normal impuls akışını engeller. Böylece duyu organlarında, aksonlarda, presinaptik uçlarda ve daha küçük sinir liflerinde kontrolsüz ve devamlı bir impuls geçişi olur. Bu durum böceklerde bütün vücutta titreme ve hiperekstabiliteye, bunu takiben de paraliz ve hareket kaybına sebebiyet verir (O'Brien, 1974). DDT'nin bir diğer etkisi de akson yüzeyindeki Ca^{+2} iyonlarının hareketlerini etkileyerek membran destabilizasyonuna neden olmaktır. Bu kırılma daha sonra tüm sinir sistemine yayılır ve önce seğirmelere sonra da konvülsiyon (nörolojik işlev bozukluğu) ve ölüme neden olur (Becker vd., 2003).

DDT ile ilgili olarak vurgulanması gereken birkaç nokta vardır. Birincisi, kimyasal kararlılığının yüksek olması nedeniyle uzun süre toprakta, sulu habitatlarda, bitki ve hayvan dokularında kalabilmektedir (Pedigo, 1996). Mikroorganizmalar, enzimler ya da UV ışığı tarafından parçalanamamaktadır. İkincisi, bugüne kadar

sentezlenen suda çözünebilirliği en düşük maddedir. Bununla birlikte, yağ dokuda birikmesi onun besin zincirinde birikmesine sebep olmaktadır (Matsumura, 1985). Bu sebepten dolayı birçok gelişmiş ülkede yasaklanmıştır. Geniş spektrumlu etkisi, kalıcılıkları ve çevreye verdiği zarar neden zararlı kontrolünde kullanılmaması gerektiğini açıklasa da bugün hala bazı sıtma kontrol programlarında bir kontrol seçeneğidir (Becker vd., 2003).

2.1.1.2. Organofosfatlar

Kimyasal olarak daha az kararlı olan organofosfatlar (OP) fosforik asit türevleridir ve organik fosforlular ya da fosforik asit esterleri olarak da bilinirler. OC'lu insektisitlere nazaran daha az kalıcıdır (Hemingway ve Ranson, 2005). Kimyasal kararlılıklarının düşük olmasının yanısıra omurgalılara daha fazla toksiktir. Hızlıca buharlaşarak sülfür içerikli koku salarlar (Hemingway ve Ranson, 2005). Daha az kalıcı olmaları nedeniyle OC'lu insektisitlere alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Akıner, 2009).

Organofosfat grubu insektisitler, böceklerin sinir sistemlerindeki asetilkolinesterazı (AChE) hedefler ve OP grubu insektisitlerin en dikkat çekici özellikleri hedef enzimleri olan AChE ile yapısal bütünleşme göstermeleridir. Dolayısıyla AChE'in doğal substratı olan Asetilkolini (ACh) taklit ederler (Çakır ve Yamanel, 2005). Asetilkolin, motor nöronun impuls tarafından stimüle edilmesinden sonra sinaptik keseye salınır ve post sinaptik membrandaki asetilkolin reseptörüne bağlanır. Nörotransmitter ve reseptör etkileşimi, bir sinir impulsunun iletimi ile sonuçlanır. AChE, asetilkolinin kolin ve asetata hidrolizini katalizler ve böylece impuls iletimini sonlandırır. OP'lar AChE'in faaliyetini eskiye dönemeyecek şekilde inhibe ederler ve AChE'in aktif bölgesindeki serini fosforile ederek, asetilkolin'e bağlanamamaya neden olur (Hemingway vd., 2004). Bu nedenle asetilkolin, post sinaptik membran üzerindeki reseptörlerine kalıcı bir şekilde bağlanır ve post sinaptik kese içine sürekli bir sodyum iyonu akışı sağlanır. Bu durum hücreyi depolarize eder ve bu sürekli olan aksiyon potansiyeli böceğin ölümüne neden olur (Hemingway vd., 2004).

En bilinen OP'lu insektisitlerden bazıları malathion, naled, dichlorvos, fenitrothion, fenthion, dianizon ve temephostur.

2.1.1.3. Karbamatlar

Karbamatlar karbamik asit türevleridir. Doğal karbamatlar ilk olarak 19. yüzyılın ortalarında şarap yapımında kullanılan Afrika üzümlerinde keşfedilmiştir. İlk bilinen hali N,N-dimethyl karbamatlardır ve böceklere daha az zararlıdır. Sonra sentezlenen N-methyl karbamatlar ise böceklere çok daha zararlıdır ve günümüzde kullanılan karbamatları içermektedir (Becker vd., 2003).

Karbamatların (CB) etki mekanizması OP'lulara benzemektedir. AChE'nin aktif bölgesindeki serini karbamilleyerek, ACh'e bağlanmamaya sebep olurlar. Enzimin karbamilasyon ile inhibe edilmesinin ardından ACh kolinerjik sinapslarda birikir ve nörotransmitterin etkisi uzar. Bu durum hipereksitasyon ile devam eder ve sonra konvülsiyonlar, paraliz ve en sonunda da böceğin ölümü gerçekleşir (Eldefrawi, 1960). Karbamatların OP'lardan bir önemli farkı bazik nitelikte bir azot grubuna sahip olmalarıdır. Oysa OP'lar bazik pH'lı olmaları durumunda kütüküla ve sinir liflerine geçiş yetenekleri önemli derecede azalır (Çakır ve Yamanel, 2005). Diğer bir önemli fark CB'ların enzim inhibisyonunun geriye dönebilir olmasıdır. OP'larda geri dönüşümsüz bir inhibisyon gözlenirken, karbamatlar düşük dozlarda verildiğinde böcek iyileşebilir (Dent, 1991).

Karbamatlar geniş spektrumludur ve hem temas hem sindirim hem de solunum yoluyla etki gösterirler. En bilinenlerinden bazıları Propoxur ve bendiocarbtr (Alten ve Çağlar 1998).

2.1.1.4. Pretroidler

Pretroidler, yüksek aktiviteli yeni nesil sentetik insektisitlerdir. Doğal pretrinler *Chrysanthemum spp.* (pire otu bitkisi)'den ekstrakte edilmiş insektisidal özelliğe sahip esterlerdir (Alten ve Çağlar, 1998). Günümüzde kullanılan sentetik pretroidler ise doğal pretrinlerin biyolojik aktivitelerinin ve kimyasal kararlılıklarının artırılmasıyla elde edilirler. Doğal pretrinler UV ışığına ve sıcaklığa dayanıksız oldukça pahalı ürünlerdir. Ancak, memelilerde toksisitesinin düşük olması, karasinek, sivrisinek ve diğer ev içi zararlıların mücadelesinde pretroidleri vazgeçilmez yapmaktadır (Becker vd., 2003). Kalıcılıklarının uzun olmaması onları daha güvenilir kılar. Bu sebeple de sinerjistleri olan MFO sinerjisti piperonyl butoxide ile bir arada kullanılırlar ve böylelikle daha ucuza mal edilmiş olurlar (Hemingway ve Ranson, 2005).

Preteroidler ve DDT arasında da etki şekli bakımından yakın bir benzerlik vardır (Hemingway ve Ranson, 2005). Sinir sisteminin *vssc*'ni hedef alarak etki gösterirler (Bregues vd., 2003). Preteroidler *vssc*'na bağlandığında, açık kanalın tekrar kapanmasını önlerler. Bu, sodyum iyonlarının içeri girişi ve potasyum iyonlarının dışarı akmasına neden olur. Bu durum, aksiyon potansiyelinin repolarizasyonunu önler ve sürekli sinir stimülasyonuna yol açar. Zehirlenen böcek sinir sisteminin kontrolünü kaybettiği için titreme davranışları gösterir (Liu vd., 2006). Semptomların şiddeti hangi preteroidin uygulandığına, uygulama dozuna ve etkilenen sinir elementine göre farklılık gösterebilir. Duyu nöronları, sinir salgı bezi hücreleri ve sinir uçları bu etkilere karşı daha duyarlıdır. Knock down etkisi olarak bilinen bu etkinin yanısıra preteroidlerin bir diğer önemli özellikleri de repellent (kaçırıcı) veya beslenmeyi engelleyici etkilerinin olmalarıdır (Pedigo, 1996; Akıner, 2009).

Preteroidler aerosol formulasyonu olarak hava araçlarının dezenfeksiyonunda, preteroid emdirilmiş cibinlik ve kıyafetler ile kişisel korunmada, preteroid içeren kömür ve elektrik matları gibi ev içi kullanım için uygun olan formulasyonlar ile ev içi korumada oldukça etkilidirler. Preteroidler ergin sivrisinek kontrolünün yanısıra larvalar için de oldukça etkilidirler (Becker vd., 2003). Özellikle içme sularına 15 g/L konsantrasyonunda eklenebilme izni olduğu için entegre sivrisinek kontrol çalışmalarında larvisit olarak kullanılmaktadırlar. Fakat balıklara toksisitesinin yüksek olması nedeniyle WHO, balıkların habitat olarak kullandığı sularda preteroidlerin kullanılmasını önermemektedir (WHO,1991).

En çok kullanılanlarından bazıları permethrin, deltamethrin, lambacyhalothrin ve etofenproxtur.

2.1.1.5. Böcek büyüme düzenleyicileri

Böcek büyüme düzenleyicileri (IGR'ler) başkalaşım geçiren böceklerde, deri değişimini ya da ergin oluşumunu engellerler (Alten ve Çağlar, 1998). Böceklerin normal olarak fizyolojik gelişimlerinde yer alan ve kabuk değiştirme inhibitörleri gibi metabolizmalarının durmasına neden olan metabolik bozuculardan esinlenerek üretilmişlerdir (Becker vd., 2003). Bu kimyasalların hedef bölgeleri bilindiğinden ve belirli türlerin sadece yaşam döngülerinin belirli safhalarında bu bozulmalara tabi tutuldukları için IGR'lerin hedefi olmayan organizmalara toksisiteleri çok düşüktür ve bu özellik IGR'leri avantajlı kılar. Kararlılıklarının az

olması, türlere özgün olması, ölüm için bir miktar süre gerektirmesi ve geleneksel insektisitlere kıyasla daha pahalı olması dezavantajlarıdır. IGR'ler etki şekillerine göre kitin sentez inhibitörleri ve juvenil hormon analogları olarak iki gruba ayrılırlar (Hemingway ve Ranson, 2005).

Kitin Sentez İnhibitörleri

Kitin sentez inhibitörleri böceklerin dış iskeleti olan kütikula oluşumunu ve ekdisizi engellerler. En bilinenleri diflubenzuron ve triflumuron'dur (Hemingway ve Ranson, 2005; Alten ve Çağlar, 1998). Diflubenzuron dichlobenil ve diuron olarak bilinen iki ayrı herbisit bir araya getirilip sentezlenmesiyle elde edilir. Bu sentez ürünü herbisit özelliği göstermez iken böceklere yüksek toksisite gösterir. Kitin sentezinin son aşaması olan N-asetilglukozamin polimerizasyonunu katalizleyen kitin sentetazı inhibe ederek larvalar üzerinde etkisini gösterir. Erginleri öldürmez fakat üretkenliklerini düşürür (Becker vd., 2003).

Ekdisizin etkilenme boyutu diflubenzuronun dozu ile ilişkilidir ve üç şekilde etkisini gösterebilir:

1. Ekdisiz tamamen engellenebilir ve böcek eski kütikula içerisinde ölür.
2. Ekdisiz başlar fakat tamamlanamaz.
3. Eski kütikula vücuttan tamamen atılır fakat baş kapsülünde ve mandibulada bağlı kaldığı için böcek beslenemez ve ölür (Becker vd., 2003).

Juvenil Hormon Analogları

Böcek metamorfozu hormonaldir ve beyinden salgılanan nörosekresyonlar tarafından kontrol edilir (Miller, 1980). Doğal juvenil hormonlar beyindeki iki salgı bezi tarafından hemolenfe salgılanır. Hemolenfteki juvenil hormon titrasyonu larval safhaların başında yüksektir ve sineklerin ilk larva evresinden son larva evresine kadar geçişini meydana getirirler. Larval dönemin sonlarında düşen ve pupa döneminde neredeyse hiç olmayan bu hormon larvadan pupaya, pupadan da ergine geçişe neden olur. Ergin dönemde ise tekrar salgılanır ve ergenlik hücrelerinin ve diğer organların gelişmesine neden olur (Akamatsu vd., 1975; Alten ve Çağlar, 1998).

Böceğe dışarıdan verilen bir juvenil hormon böcek gelişim fizyolojisini bozarak ekdisizin aksamasına, böceğin kısırlaşmasına ya da ölümüne neden olur. Bu özellikler göz önüne alınarak insektisidal aktiviteleri, spesifiteleri birbirinden farklı olan 500'den fazla juvenil hormon analogu (JHA) sentezlenmiştir (Alten ve Çağlar, 1998; Becker, 2003). Bunlardan en sık kullanılanları methoprene, hydroprene ve fenoxycarb'dır. JHA'nın morfogenetik etkisi larval-pupal dönüşüm esnasında görülür ve metamorfoz tamamlanamaz. JHA, bunların haricinde böceklerin endokrin fizyolojilerini etkileyerek anormal morfogeneze, embriyonik gelişimin sekteye uğramasına, yumurta gelişiminin engellenmesine sebep olur (Becker vd., 2003).

JHA'nın omurgalılar üzerine toksik etkisi çok düşüktür. Bununla birlikte son larval dönemlerinde olan hedef olmayan böcekler üzerinde yan etki yapabilirler. Bununla birlikte bir sivrisinek larvası predatörü olan ve larva mücadelesinde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan planarya *Dugesia dorotocephala* üzerinde hiçbir yan etkisi olmadığından JHA ve planaryalar bütünleşik sivrisinek mücadelesinde birarada kullanılabilir (Levy ve Miller, 1978).

2.1.2. Sivrisineklerle Mücadelede Kullanılan Biyolojik İsektisitler

Sivrisinekler mücadelede bakterilerin kullanılabilceği görüşü ilk olarak 1960'lı yıllarda *Bacillus sphaericus*'un larvisidal etkisinin keşfedilmesinden sonra yaygınlaşmaya başladı. Bu suşların toksik etkisinin fazla olmamasıyla birlikte gram (+) endospor oluşturan *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) ve *Bacillus sphaericus* (*Bs*)'un daha toksik olan başka suşlarının bulunmasından sonra sivrisinek kontrolünde yeni bir sayfa açılmıştır (Kellen ve Meyers, 1964).

Çokça üretilebilmelerinin yanısıra etkili ve çevre dostu olmaları, saklanıldığında bozulmadan kalabilmeleri onları bütünleşik çalışmalarını açısından çok uygun kılmaktadır. Ayrıca kimyasal insektisitlere nazaran direnç oluşturma ihtimalleri de çok daha düşüktür (Becker vd., 2003).

Toksinler ve konak aralıkları bakımından ufak farklılıklar göstermektedirler (Yousten, 1984). *B. sphaericus*, *Culex* ve *Anopheles* türlerine karşı daha etkili iken *Bti*, *Aedes* ve *Culex* türlerine karşı daha etkilidir (Lacey vd., 1986). Ayrıca, *B. sphaericus* kirlı sularda daha uzun süre kalabilir fakat *Bti*'in böyle habitatlarda toksisitesi kaybolmaktadır. Bu özelliğinden ötürü *Bti*'in bir diğer dezavantajı da

aktivite süresinin nispeten azlığı ve buna bağlı olarak sık uygulama gerektirmesidir. *Bacillus sphaericus*, *Bti*'ye göre daha uzun süre dayanıklıdır. Uygun şekilde depolandığında aktivite kaybı olmadan kalır (Davidson vd., 1984).

2.1.2.1. *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*)

Bacillus thuringiensis fakültatif anaerob, gram pozitif ve endosporlu bir bakteridir. *Bti*, özellikle Coleoptera, Diptera ve Lepidoptera takımı içerisinde yer alan böceklerle ve diğer omurgasızlara toksik özellikte olan parasporal yapıda konsantre olmuş 4 ana protein toksinleri üretirler (WHO, 2009). Bunlar farklı büyüklük ve şekillere sahip 4 toksin proteindirler. Bu 4 proteinin etkileşimi *Bti*'ye insektisidal özellik kazandırmakta ve yine bu etkileşim direnç oluşum riskini azaltan önemli bir faktördür (Becker vd., 2003). Toksin proteinlerine seçicilik sağlayan en önemli özellikleri ise;

1. Böceğin beslenme davranışına bağlı olarak protein kristalinin (inaktif protoksin) hedef böcek tarafından sindirilmesi.
2. Protoksinlerin hedef böceğin sindirim kanalında proteazlarla parçalanıp aktif toksinlere dönüştürülmesi.
3. Toksinlerin hedef böceğin incebağırsak epitel hücrelerinin yüzey reseptörlerine bağlanmasıdır (Becker vd., 2003).

Bu olayların tamamı hücre zarının ozmoregülatör mekanizmasını bozarak, incebağırsak hücrelerinin patlamasına neden olur. Hedef olmayan böceklerde ise toksinler aktif olmayacağı için, reseptörler zarar görmemektedir (Charles vd., 2000; Luthy ve Wolfersberger, 2000). *Bti* toksin proteinleri, vejetatif hücreleri ya da sporları hayvanlarda çoğunlukla patojenik ya da toksik değildir. *Bti*'nin vejetatif hücreler ya da sporları herhangi bir yan etki göstermeden haftalarca kalabilmektedir. Kuşlara, balıklara ve diğer hedef olmayan omurgalılara zarar verdiği ile ilgili bugüne kadar hiçbir çalışma bulgusu yoktur (WHO,1999).

2.1.2.2. *Bacillus sphaericus* (*Bs*)

Etkinliği çok geniş spektrumlu olduğundan son yıllarda ciddi öneme sahiptir. Uygun koşullar altında saklandığında uzun yıllar zarar görmeden kalabilir. Bu sayede sık sık uygulama yapılmasına gerek kalmadan, uzun süreli sivrisinek

kontrolü sağlanabilir ve maliyet de düşer. *Aedes aegypti* larvaları *Bs*'a karşı az duyarlı olsalar da, özellikle *Culex quinquefasciatus*, *Cx. pipiens* ve *Anopheles gambiae* gibi larvaların kontrolünde oldukça başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Karasinek larvaları, diğer böcekler ve memeliler ise hiç duyarlı değildir (Bauman vd., 1991).

Bacillus sphaericus şişkin sporangiyumlarında terminal olarak konumlanmış halkasal sporlarıyla kolayca ayırt edilmektedir. Etkinliği spor kristal kompleksinde yer alan bu parasporal inklüzyonlara dayanmaktadır. *Bti*'nin aksine *Bs* toksinleri 51,4 kDa ve 41,9 kDa büyüklüğündeki iki farklı proteinden oluşmaktadır. Her iki protein de sivrisinek öldürücü etkiye sahiptir ve reseptör bağlanma şekilleri *Bti*'ye benzemektedir (Becker vd., 2003).

Bazı çalışmalar duyarlı larvalarda kristal toksinlerin şu adımları takip ettiğini belirtmektedir:

1. Kristal spor-hücre kompleksinin ağızdan alınması
2. Orta barsağın alkali pH ortamında toksinlerin çözünmesi
3. 51,4 kDa ve 41,9 kDa büyüklüğündeki proteinlerin 43 ve 39 kDa büyüklüğüne dönüşmesi
4. Toksik proteinlerin gastrik çekum ve ortabarsak hücrelerine bağlanması
5. Toksik etkinin ortaya çıkması (Bauman vd., 1991).

Elektron mikroskopu çalışmaları hem *Ae. aegypti* hem de *Cx. pipiens* larvalarında barsakta kristallerin çözündüğünü göstermektedir (Charles, 1987). Benzer şekilde her iki larva da 41,9 kDa'luk proteini sindirimle 39 kDa boyutlarına düşürebilmektedir (Broadwell ve Bauman, 1987). Bununla birlikte *Ae. aegypti* ve *Cx. pipiens* larvalarının *Bs* toksisitesi açısından en büyük farklılıkları *Bs* toksin proteinlerinin *Cx. pipiens* larvalarının gastrik çekum ve ortabarsak hücreleri tarafından tanınıp buralara tutunurken, *Ae. aegypti* larvalarının gastrik çekum ve ortabarsak hücrelerine alınmamasıdır. Bu sonuçlar, *Bs* toksinlerine duyarlı olan larvalardaki farklılığın hedef bölgeye bağlanmadaki farklılıklardan kaynaklandığını göstermektedir (Davidson, 1989).

2.2. İnektisit Direncinin Tanımı

Son yıllarda dünyanın birçok bölgesinde gerek sıtma gerek diğer sivrisinek kaynaklı epidemilerle mücadele çalışmalarında yoğun olarak pretroid ve organofosforlu bileşikler kullanılmaktadır. Kalıcılığının yüksek olması, biyolojik birikim yapması, toprak ve su kirliliğine neden olması ve birçok hedef olmayan türde toplu ölümlere sebep olması nedeniyle DDT ve benzeri inektisitlerin 1980'li yıllarda kullanımı yasaklanmıştır. Buna karşılık daha önceleri elde edilmiş olan DDT ve benzeri inektisitlerin bireysel olarak uygulamalarda halen kullanıldığı da bilinmektedir. Diğer taraftan, yasal olarak kullanımında olan pretroidlerin uygulama sıklığına ve kullanım şartlarına uyulmaması nedeniyle bir yandan doğal sistemlere ve hedef olmayan canlılara zarar verilirken bir yandan da mücadele programlarında istenmeyen durum olan inektisit direnci probleminin ortaya çıkma riski artmaktadır.

WHO'ya göre inektisit direnci; aynı organizmanın normal popülasyonlarında çoğu bireye letal olabilecek dozdaki toksik maddenin o organizmanın bazı bireylerinde tolere edilebilme yeteneğinin gelişmesi olarak tanımlanmaktadır (WHO, 1998). İnektisitelere karşı gelişen direnç kalıtsaldır ve genetik faktörler tarafından kontrol edilmektedir (Brown, 1986). Direnç alelleri çekinik olabildiği gibi, baskın veya kodominant da olabilir. Direnç, göç ve/veya mutasyonlara bağlı olarak bazı genlerin doğal seçilimi sonucu kazanılmaktadır. Örneğin bir popülasyon herhangi bir inektisite maruz bırakıldığında o popülasyon içerisinde maruz kalınan inektisite karşı genetik yapısında zaten var olan direnç alelleri sayesinde bazı bireyler hayatta kalır ve genetik olarak şanslı bu soy neslini devam ettirebilir. Bu olay direnç alelleri popülasyonda fikse olana kadar devam eder ve sonuçta o inektisite karşı dirençli bir popülasyon oluşur. Sivrisinek popülasyonlarında direnç gelişiminde dönüm noktası tarım zararlılarına karşı uygulanan ya da halk sağlığı açısından kullanılan inektisitlerdir. Direnç, inektisite özgü olmakla birlikte, inektisitlerin hedef bölgesi aynı olduğu zaman ya da aynı metabolik yolağı kullandığı zaman diğer inektisitlere karşı çarpaz direnç gelişimi de söz konusudur (Brown, 1986). Bu duruma örnek olarak fenitrothion'a karşı gelişen esterazlara dayalı direncin aynı zaman da deltametrin direncine de sebep olması verilebilir (Brogdon ve Barber, 1990).

Vektör kaynaklı hastalıkların önlenmesinde ve tarımda zararlılara karşı mücadelede kullanılan kimyasallar nedeniyle direnç oluşumu kaçınılmazdır. Sonuç olarak, dirence dair ilk kayıt 1908 yılında San-Jose kabuklu biti *Quadrastipidiotus perniciosus*'ta kireç-sülfüre karşı gelişen dirençtir (Hadim, 2008). Böceklerde sentetik insektisitlere karşı gelişen direnç ise ilk olarak 1946 yılında *Musca domestica*'da (Karasinek) bildirilmiştir (Keiding, 1999). II. Dünya Savaşı zamanında klorlu hidrokarbonlu insektisitlerin, özellikle de DDT'nin keşfedilmesinin ardından sıtma ile mücadelede yoğun olarak kullanılmasına bağlı olarak insektisitlere karşı direnç gelişimi artmış ve yaygınlaşmıştır (Kence, 1988). Sivrisineklerde larvisit ve ergin insektisitlerine karşı ilk direnç oluşum kaydı 1949'da Florida'da *Aedes taeniorhynchus* ve *Aedes sollicitans*'ta gelişen DDT direncidir (Brown, 1986). 1965-1966 yıllarına kadar dünyanın birçok bölgesinde sıtma kontrolünde DDT ve dieldrin'in kullanılması beraberinde *Anopheles stephensi*, *Anopheles culicifacies* gibi farklı türlerde de direnç sorununu getirince farklı insektisit arayışı içerisine girilmiş ve 1969 yılında malathion piyasaya sürülmüştür (Russel vd., 2011). Bununla birlikte, sivrisineklerin malathion'a karşı direnç oluşturmaları çok uzun sürmemiş ve 1965 yılında Hindistan'da 125.000 kişinin etkilendiği sıtma epidemisi, 1975 yılında malathion'a karşı gelişen insektisit direnci ile birlikte 4 milyon kişinin etkilenmesine neden olmuştur (Corbel ve N'Guessan, 2013). DDT'nin 80'li yıllarda dünyanın birçok ülkesinde yasaklanmasını takiben vektör kontrol çalışmalarında DDT yerine organofosforlular, pretroidler ve kısmen de karbamatlı insektisitler kullanılmaya başlamıştır. Bununla birlikte problem devam etmiştir. Dünyanın birçok ülkesinde organofosfor direnci hem geniş spektrumlu organofosfor direnci olarak hem de malathion direnci olarak birçok vektör türünde kaydedilmiştir (Dialynas vd., 2009). Günümüzde yaygın olarak kullanılan üçüncü ve dördüncü kuşak insektisitler 1970'li yıllarda üretilmeye başlamış olmakla birlikte, 1990'lı yıllardan sonra yoğun olarak kullanımına devam edilmektedir. Bununla birlikte, dünyanın birçok ülkesinde vektör türler olan *Culex tritaeniorhynchus* (Wu vd., 2016), *An. sacharovi* (Lüleyap ve Kasap, 2000), *An. gambiae*, *Anopheles arabiensis* (Ochomo vd., 2013) ve *Cx. pipiens*'te (Scott vd., 2015) pretroid direnci rapor edilmiştir.

Görüldüğü üzere direnç giderek artan bir sorun haline gelmiştir ve 1945 yılından itibaren günümüze dek yaklaşık 1000 böcekte insektisit direnci sorunu rapor edilmiştir (Karaağaç, 2012). Dolayısıyla uygun mücadele stratejilerinin geliştirilmesi açısından popülasyonlardaki direnç dinamiklerinin zaman zaman

görüntülenmesi ve direncin altında yatan mekanizmaların belirlenmesi önem arz etmektedir.

2.3. İnsektisit Direnci Çeşitleri

Sivrisineklerin insektisitlere karşı direnç oluşturmasını sağlayan çeşitli mekanizmalar davranış direnci, penetrasyonun azalması, metabolik direnç ve hedef bölge direnci olmak üzere dört alt grupta gruplandırılmaktadır.

2.3.1. Davranış Direnci

Sivrisineklerde insektisitlere karşı gelişen direnç her zaman hedef bölge mutasyonu ya da metabolik detoksifikasyon gibi fizyolojik bir direnç olmak yerine davranışsal değişiklikler şeklinde de gelişebilir. Davranış direnci, fizyolojik direnç ile aynı öneme sahip olmasa da insektisit uygulanan alanlardan kaçışlara neden olduğu ve fizyolojik dirence katkı sağlayan bir direnç mekanizması olduğu unutulmamalıdır. Sivrisinekler insektisitlere karşı fizyolojik direnç yerine bazen direkt eksitasyon (irritasyon) ya da direkt olmayan iticilik (repellans) ile davranışsal cevap geliştirebilirler. Direkt eksitasyon, sivrisineğin kimyasal ile fiziksel temasından sonra oradan ayrılması olayını ifade ederken, direkt olmayan iticilikte herhangi bir fiziksel temas yoktur ve temas olmaksızın sivrisinek oradan ayrılır (Chaeronviriyaphap, 2013).

İlk yapılan çalışmalarda ‘Davranış direnci: Böcekler toksik ya da öldürücü olabilecek çevrelerde, böceklerin toksik içeriklere maruziyetini azaltmak üzere geliştirdikleri davranışlar’ olarak tanımlanmıştır (Sparks vd., 1989). Bu tanımda insektisitten kaçış üzerine yoğunlaşmakla birlikte ‘davranış direnci’ ve ‘davranışsal kaçış’ arasındaki fark net olarak ortaya konulamamıştır. İnsektisit direnç eylem komitesi (IRAC) direnci ‘bir ürünün beklenen kontrol oranına ulaşması için etiket önerisine göre kullanıldığında, zararlı popülasyonun kontrolünün tekrar tekrar başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olan böcek popülasyonunun duyarlılığının kalıtsal değişimi’ olarak tanımlanmaktadır. Zalucki ve Furlong (2017)’a göre IRAC tanımlamasındaki en büyük eksiklik ‘gelişen, evrimleşen’ kelimelerinin kullanılmamasıdır. Zalucki ve Furlong (2017), ‘davranışsal kaçış’ ifadesinde popülasyonların seçim baskısına maruz kalmadıkları için evrimleşen bir özellikten bahsedilemeyeceğini ancak ‘davranış direncinde’ seçim baskısı sonucu popülasyonda evrimleşen bir özellik olduğunu

vurgulamaktadırlar. ‘Davranış direnci’ denilince kalıtılabilir özelliklerden bahsedilmelidir ancak bugüne kadar yayınlanan birçok çalışma gözleme dayalı olup sivrisineklerin kaçma davranışını içermektedir. Davranış direncine ait kanıtların olduğu çalışmaların az olmasının nedeni insektisite maruz kalmadan önce hayvanın normal davranışının ne olduğunun bilinmemesidir. Bugüne kadar kalıtılabilir davranış değişikliği özelliğinin frekansının değişmesine bağlı olarak başarısız olduğu kaydedilen herhangi bir sıtma alan çalışması olmamakla birlikte mücadele kapsamında değişen çevresel koşullarda fenotipik olarak plastisite gösteren davranışsal özelliklerin ifadelerinin değiştiğini gösteren çalışmalar rapor edilmiştir (Govella vd., 2013). Örneğin, Vietnam’da bir yerleşim yerinde insektisit emdirilmiş cibinlik (ITN) uygulamasının ardından vektör kompozisyonunda değişiklik olmuş ve *Anopheles minimus*’un yerini *Anopheles harrisoni* almıştır (Garros vd., 2005). Tanzania’da pretroid emdirilmiş cibinliklerin kullanılmasının ardından daha önceleri endofajik olan *Anopheles funestus* egzofajik davranış göstermeye başlamıştır (Russell vd., 2011). Birçok kaynakta da vurgulandığı gibi, antropofajik, endofajik ve endofilik davranış özelliklerindeki plastisite sıtma ve diğer sivrisinek kaynaklı hastalıkların döngüsünün devam ettirilmesini sağlayacağından istenilen bir durum değildir.

2.3.2. İnsektisit Penetrasyonunun Azalması

Penetrasyonun azalması ya da kütikular direnç fizyolojik dirence kıyasla daha az etkili bir direnç mekanizmasıdır. Böcek kütikulasındaki ve sindirim kanalı astarındaki insektisit penetrasyonunun azalması ile sonuçlanan bazı modifikasyonları kapsamaktadır. Sıtma kontrolünde kullanılan insetisitler duvar yüzeylerine ve cibinliklere uygulandığından, sivrisinekler tarsal segmentleri aracılığıyla insektisite maruz kalmaktadır. Bu durumda tarsal kütikula kalınlığının artması ve insektisitlere geçirgenliğinin azalması direnç anlamında sivrisineklerde görülebilecek iki önemli sonuçtur. *Anopheles stephensi*’nin dirençli (DUB-R) soyunda kütikular dirence sebep olan ve ergin kütikula protein 1 olarak isimlendirilen protein, duyarlı (BEECH) soya kıyasla 3.79-5.59 kat arasında artış göstermiştir (Vontas vd., 2007). Awolola vd. (2009) Nijerya’da *An. gambiae*’nin pretroid dirençli soylarında microarray analizleri ile CPLC# ve CPLC8 olarak iki kütikular proteinin duyarlı soylara kıyasla 2.37 ve 2.86 kat artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde Taramalı-Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar

da pretroide duyarlı *An. funestus* soylarına kıyasla pretroide dirençli soyların kütüküla kalınlığında %9.5-10 kat artış olduğunu göstermiştir.

2.3.3. İnsektisit Hedef Bölge Duyarsızlığı

Hedef bölge duyarsızlığı olarak ifade edilen bu direnç mekanizması, hedefteki proteinin insektisite karşı duyarsızlaşması olarak tanımlanmaktadır (Martinez-Torres vd., 1998; Anazawa vd., 2003). Hedef bölge duyarsızlığı metabolik dirençten sonra böcekler tarafından insektisitlere karşı geliştirilmiş en etkili direnç mekanizmasıdır. İnsektisitler böcek sinir sistemi üzerinde belirli bölgeler üzerine etki ederler. Dirençli bireylerde bu hedef bölgeler üzerinde oluşan nokta mutasyonu gibi modifikasyonlar insektisitlerin daha fazla etki edebilmesini engeller. Bu mutasyonlar organofosforlu ve karbamatlı insektisitlerin hedefi olan *Ace-1* geni üzerinde, DDT ve pretroidlerin hedefi olan voltaj duyarlı sodyum kanallarından sorumlu amino asitleri kodlayan diziler üzerinde veya organoklorlu bir insektisit olan dieldrinin hedefi olan Gama-Aminobütirik Asit (GABA) reseptörlerini kodlayan diziler üzerinde meydana gelebilmektedirler.

2.3.3.1. Asetilkolinesteraz duyarsızlığı

Organofosforlu ve karbamatlı insektisitlerin hedefi olan Asetilkolinesteraz (AChE), α/β hidrolazlar grubuna ait bir serin esteraz enzimi olup dokularda serbest veya fosfolipitler ile birleşik halde bulunabilmektedirler. AChE, sinir ucundan etkilendiği organa veya sinir ucundan ikinci bir sinir hücresine impuls taşıma görevi yapan asetilkolinin (ACh) hidrolizini sağlar. Bu insektisitler ACh analogu olarak çalışırlar ve AChE'nin aktif bölgesine bağlanmak üzere, ACh ile yarışır (Anazawa vd., 2003). Bazen de insektisitler enzimin aktif bölgesindeki serin aminoasidini karbamilleyerek ya da fosforile ederek enzim inhibisyonuna neden olurlar (Hemingway vd., 2004). Buna bağlı olarak, sinapslardaki artan ACh konsantrasyonu ve daha fazla uyarılmış merkezi sinir sistemi böceklerde paraliz ve ölüme sebep olmaktadır (Yorulmaz ve Ay, 2010). Bununla birlikte, sivrisinekler zaman içerisinde AChE'nin bu insektisitlere karşı daha düşük afinite göstermesi ile sonuçlanan mutasyonlar ile bu insektisitlere karşı güçlü bir mekanizma geliştirmişlerdir.

Bazı Diptera üyelerinde AChE'yi kodlayan sadece *Ace-2* geni bulunmakla birlikte, çoğunda *Ace-1* geni de bulunmaktadır (Weill vd., 2002; Alout vd., 2007). *Ace-2*

geni eşeye bağlı kalıtım göstermekte olup, insektisit direnci ile ilişkisi bulunmamaktadır. *Ace-1* geni ise otozomal kalıtım gösterir ve direnç ile ilgilidir (Weill vd., 2002; Hemingway ve Ranson, 2000). Kromozom haritalama çalışmaları ile *Cx. pipiens* ve *Cx. tritaeniorhynchus*'ta en az iki adet AChE geni olduğu ortaya konmuştur (Bourguet vd., 1996). Benzer şekilde *An. gambiae* de *Ace-1* ve *Ace-2* olmak üzere her iki AChE genine de sahiptir ancak bu iki gen arasında sadece %53 benzerlik olduğu tespit edilmiştir (Holt vd., 2002). *Cx. pipiens*'in dirençli ve duyarlı bireylerinde *Ace-1* gen bölgesine ait bütün dizinin karşılaştırılmasıyla duyarlı AChE oluşumuna neden olan G119S mutasyonu tanımlanmıştır. G119S mutasyon *Cx. quinquefasciatus*, *Anopheles albimanus* ve *An. gambiae* türlerinde de tespit edilmiştir (Weill vd., 2003; Weill vd., 2004a). G119S mutasyonu enzimin aktif bölgesini kodlayan glisin aminoasitinin serine dönüşümüne neden olmaktadır. Benzer şekilde *Ace-1* gen bölgesindeki mutasyonun ortoloğu olan F455W mutasyonu Nabeshima vd. (2004) tarafından *Cx. tritaeniorhynchus*'ta tanımlanmıştır.

2.3.3.2. Gama-Aminobütirik asit reseptör genlerindeki duyarsızlık

Gama-Aminobütirik Asit (GABA), merkezi sinir sisteminde sinaptik köprülerde yer alan bir inhibitör nörotransmitterdir ve sinaptik iletme aracılık eder. GABA reseptörleri ise klor iyonlarına geçirgen iyonotropik reseptörlerdir (Kumargal vd., 2012). Bu reseptörler, her biri ekstrasellüler sistein ilmeğinden ve 4 transmembran (M1-M4) domeine sahip 5 subunitten oluşmaktadır. M2 transmembranı iyon kanalları ile ilişkilidir ve 302. pozisyonda korunmuş bir alanin taşır. GABA'nın klor kanallarına bağlanması kanalların aktifleşmesine ve hücre içerisine klor iyonu akışına neden olur. Böylece zar potansiyeli hiperpolarize duruma geçer.

İnsektisitlerden siklodienli olanlarının (dieltrin) hedef bölgeleri GABA reseptörleridir ve GABA reseptörlerini inhibe ederek etki gösterirler. M2 transmembran proteininin 302. pozisyonunda alanin taşıyan duyarlı bireylerde siklodienler GABA reseptörlerine bağlanır ve onu inhibe ederler. Böylece klor kanalları etkisizleşir ve klor akımının engellenmesi sonucu nöroeksitasyon, bunun sonucunda da ölüm meydana gelir. Bununla birlikte M2 transmembran proteininin 302. pozisyonunda (*Rdl* geni) meydana gelen iki amino asit substitüsyonu (serin ya da glisin) siklodienli insektisit direnci ile ilişkilidir. *Rdl* geninde meydana gelen A302S veya A302G mutasyonları varlığında GABA reseptörleri insektisitleri

tanımaz ve klor akışı devam ederek hücre hiperpolarize duruma geçebilir. Böcekte herhangi bir nörolojik aksama veya ölüm meydana gelmez. Dieltrin direnci *An. stephensi* (Andreasen ve Constant., 2002), *An. gambia* (Du vd., 2005) ve *Aedes albopictus* (Low vd., 2015)'da dahil olmak üzere birçok türde rapor edilmiştir.

2.3.3.3. Voltaj duyarlı iyon kanallarındaki duyarsızlık

Voltaj duyarlı sodyum kanalları, omurgalı ve omurgasız sinir hücre zarlarında lokalize olmuş, zar potansiyelindeki değişikliklere bağlı olarak açılıp kapanarak sodyum iyonlarının iletiminden sorumlu olan çok önemli mekanizmalardır. Memeli genomunda voltaj duyarlı sodyum kanallarını kodlayan 9 gen var iken, omurgasızlarda bu sayının çok daha az olduğu bilinmektedir (Goldin, 2002). Omurgalı ve omurgasızlardaki sodyum kanalları yapı, kimyasal ve farmakolojik özellikleri itibariyle birbirlerine benzemekle birlikte, kanal proteinleri her ikisinde de birbirine eş büyüklükte olup yaklaşık 240-260 kDa büyüklüğündedir (Moskowitz vd., 1991; Zlotkin, 1999).

Voltaj duyarlı sodyum kanalları her biri 6 helikal transmembran protein (S1-S6) içeren 4 homolog domeinden (I-IV) oluşur. Her bir domein birbirine hidrofilik segmentler ile bağlıdır. İnaktivasyondan sorumlu olan kısım izölösün, fenilalanin ve metiyoninden (IFM) oluşur ve domein III ve IV arasında bulunmaktadır (Zlotkin, 1999).

Domein III ve IV arasındaki stoplazmik bağda bulunan IFM buradaki inaktivasyondan sorumludur (Zlotkin, 1999). Bu kanalların açılıp kapanma kinetiğinin sağlıklı bir şekilde işlevini gerçekleştirilmesi uyarı iletimi açısından önemlidir.

Böceklerdeki voltaj duyarlı sodyum kanalları, omurgalıdakine göre daha farklı reseptörlere sahiptir. Bu yüzden daha esnek yapıdadır ve çok çeşitli nörotoksinler için bağlanma yerlerine sahip olması, nörotoksinlerin böcek voltaj duyarlı sodyum kanallarına daha fazla affinite göstermelerine neden olur. Bu durum böcekleri insektisitlere karşı daha duyarlı kılmaktadır (Zlotkin vd., 1999). Voltaj duyarlı sodyum kanallarını kodlayan genlerdeki (*Vssc 1*) bazı mutasyonlar, bu kanalların DDT ve pretroidli insektisitlere karşı duyarsızlaşmasına sebep olmaktadır. Bu mutasyonlar, DDT ve pretroidli insektisitlerin hedef bölgesi olan *Vssc1* geninde meydana gelmektedir ve voltaj duyarlı sodyum kanalı proteinlerinde amino asit

değişimine neden olmaktadır. Knockdown direnç (*kdr*) mutasyonu olarak bilinen bu mutasyonun sinir duyarsızlığına sebep olan genetik bir mekanizma olduğu ilk olarak 1950'lerde *Musca domestica* (Williamson vd., 1996)'da tespit edilmiş olup, daha sonraki yıllarda *D. melanogaster* (Pittendrigh vd., 1997), *An. gambiae* (Martinez-Torres vd., 1998), *Cx. pipiens* (Martinez-Torres vd., 1999) türleri de dahil olmak üzere birçok böcek türünde rapor edilmiştir. *kdr* direnci 3. kromozom üzerinde bulunmaktadır ve karasineklerde 1014. pozisyonundaki lösin'in fenilalanin'e (L1014F) değişimini sağladığı tespit edilmişken, aynı pozisyonda *Heliothis virescens*'te lösin-histidin (L1014H); bazı *An. gambiae* soylarında lösin-serin (L1014S); bazı *Cx. pipiens* soylarında ise lösin-serin (L1014S) veya lösin-sistein (L1014C) değişimine sebep olduğu belirlenmiştir (Park ve Taylor, 1997; Soderlund ve Knipple, 1999; Taşkın vd., 2015). Aynı kromozom üzerinde bulunan ve 918. amino asit pozisyonunda metiyoninin treonine dönüşümüne neden olan *süper-kdr* direncidir. *Süper-kdr* direnci, *kdr* direncinde olduğundan daha yüksek insektisit dozuna karşı duyarsızlaşmaya neden olmaktadır (Ingles vd., 1996; Soderlund ve Knipple, 2003).

2.3.4. Metabolik Direnç

Böcekler sıklıkla bitkiler tarafından savunma amaçlı üretilen allelo kimyasallara (ksenobiyotik) veya insanlar tarafından zararlı kontrolünde kullanılan pestisitlere maruz kalmaktadırlar (Yorulmaz ve Ay, 2010). Böcek-bitki rekabetine dayanan bu ilişkinin evrimi esnasında böcekler de savunma amaçlı detoksifikasyon enzimlerini geliştirmişlerdir. İnsektisit detoksifikasyonundan sorumlu bu enzimlerin fazlaca üretilmesi ya da enzimin insektisite karşı affinitesini değiştiren amino asit substitüsyonları insektisit direncine sebep olmaktadır. Detoksifikasyon enzimlerinin fizyolojik aktiviteleri sonucu biyokimyasal yollarla meydana gelen bu direnç şekli metabolik direnç olarak isimlendirilmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasından sorumlu ana enzimi kodlayan genin ifadesinde meydana gelen artış sivrisineklerde görülen en yaygın direnç tipidir. Trans-acting regülatör elementlerdeki değişiklikler, detoksifikasyon enzimini kodlayan genin promotor bölgesindeki değişiklikler, dublikasyonlar veya gen amplifikasyonları detoksifikasyon enzimlerinin aşırı miktarda artmasına neden olabilmektedir (Hemingway ve Ranson, 2000; Hawkes ve Hemingway, 2002). Dirençli böceklerde bu aşırı artış sayesinde insektisitler toksik etki yapmadan metabolize edilebilmektedir. Sitokrom P450 bağımlı monooksijenazlar, glutatyon-s-

transferazlar ve karboksilesterazlar olarak isimlendirilen üç enzim sınıfı metabolik dirençten sorumludurlar. Bu büyük enzim aileleri çok sayıda enzim içermekte ve her bir aile birden fazla sayıda insektisit metabolizasyonundan sorumlu olabilmektedir. İnsektisitlere karşı gösterdikleri direnç düzeyi düşük veya yüksek olabildiği gibi, direnç gösterme durumu insektisit içeriğinden içeriğine farklılık da gösterebilir (Corbel ve N'Guessan, 2013). Bununla birlikte, her dört sentetik insektisit sınıfına karşı da böceklerin metabolik direnç gösterdiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir.

2.3.4.1. Sitokrom P450 monoksijenazlara dayalı direnç

Sitokrom P450 monooksijenazlar (Karışık fonksiyonlu oksidazlar, KFO) yapılarında hem-thiolat proteinleri içeren ve hormon, asit, steroid ve çeşitli endojen-eksojen bileşik metabolizmasında görev alan oldukça geniş ve önemli bir enzim ailesidir (Feyereisen, 1999). Bakterilerde, protistalarda, bitkilerde, funguslarda, hayvanlarda ve hatta bazı virüslerde bile bulunan bu enzim ailesi, böceklerde orta barsak ve malpigi tüpleri başta olmak üzere dokuların çoğunluğunda mitokondri ve endoplazmik retikulum içerisinde lokalize olmuştur (Lamb vd., 2009; Yorulmaz ve Ay, 2010; Feyereisen, 2012).

P450 enzimini kodlayan genler ve enzimler CYP (Sitokrom P450) kısaltması ile ifade edilmekte ve bunu gen ailesiyle ilişkili bir rakam takip etmektedir. Bu gen ailesi rakamı ise enzimin bir fonksiyonu ile ilişkilidir. Örneğin CYP21 enzimi dendiğinde, bunun bir steroid 21-hidroksilaz olduğu anlaşılmaktadır. CYP9J32 örneğinde olduğu gibi bazen de aile ismini bazen bir baş harf takip eder ki bu alt aileyi, daha sonra da başka bir rakam takip eder ki bu da bireysel geni ya da enzimi tanımlar. Bununla birlikte, bazen P450 gen ya da enzim isimlendirmeleri bu nomenklatürden farklılık gösterebilir ve katalitik aktivite ya da substrat olarak kullanılan bileşiğin ismini ifade edebilir. Bu yüzden ve çok çeşitli organizmalara ait çok farklı çeşitte P450 enzim ailesi isimlendirildiğinden, isimlendirme için daha ileri bir organizasyona ihtiyaç duyulmuştur (Issa, 2014). Bu kapsamda da, P450 ailelerinin farklı klanlara gruplandırılmaktadır ve farklı türlerin P450 filogenetik ağaçlarında gruplandırılan P450 aileleri aynı grup içerisinde gruplandırılabilir (Nelson, 1998). Genel olarak böcek P450 enzimleri CYP3, CYP4, CYP2 ve mitokondriyal CYP klanı olmak üzere 4 klan altında sınıflandırılmaktadır (Feyereisen, 2012).

Böceklerde P450 enzimleri, böcek metamorfozunun, gelişimin ve reproduksiyonun düzenlenmesi gibi hayati öneme sahip olaylarda yer alan ekdisteroid hormonların (ekdizon ve juvenil hormon) metabolizasyonunda rol almaktadır (Rewitz vd., 2007; Issa vd., 2014). P450 enzimleri aynı zamanda yağ asitleri, feromonlar ve böceklerin haberleşme ve savunmaları için kritik olan diğer sinyal moleküllerin metabolizmasından sorumludurlar (Maibecge-Coisne vd., 2004). Daha da önemlisi, böcek P450 enzimleri ksenobiyotik (insektisitler ve bitki allelokimyasalları) metabolizmasından sorumludurlar.

İnsektisit detoksifikasyonundan sorumlu P450 enzim aktivitesi birçok böcek türünde rapor edilmiştir. Yaygın insektisit kullanımına bağlı olarak da bugüne kadar önemli miktarda P450 enzime dayalı insektisit direnci tespit edilmiştir. P450'ye dayalı insektisit detoksifikasyonunun temel prensibi insektisit yapısına bir oksijen eklenmesidir. Böylece insektisit çözünürlüğü artar ve feçes yoluyla ve ya esteraz ya da glutatyon-S-tranferaz gibi diğer enzimler aracılığıyla vücuttan atılması kolaylaşır (Feyereisen, 1999). Çoğu zaman P450 metabolizması detoksifikasyon ile sonuçlansa da bazen özellikle de organofosfatlı insektisitlerin aktivasyonu ile sonuçlanabilmektedir (Feyereisen, 1999; Scott, 1999). P450'ler tarafından katalizlenen organofosforodithionatların içerisindeki sülfürün oksijen ile substitüsyonu, böceklerde asetilkolinesterazın inhibisyonunun artması nedeniyle bu insektisitlerin toksisitesinin artmasına neden olur. Buna tipik bir örnek omethoatın asetilkolinesterazın etkisini inhibe etmesi nedeniyle, dimethoatın omethoata oksidatif aktivasyonu sonucu toksisitesinin artmasıdır (Anderson ve Zhu, 2004).

P450'ye dayalı insektisit direnci ilk olarak Eldefrawi vd. (1960) tarafından karasineklerde rapor edilmiştir. Takip eden yıllarda P450 enzimleri ve genleri birçok dirençli türde tespit edilmiştir. İlk olarak karasinekte dianizon direncine sebep olan CYP6A1'in duyarlı suşlara kıyasla dirençli suşlarda 10 kat daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Carino vd., 1994). *Culex quinquefasciatus*'un duyarlılara kıyasla dirençli soylarının permethrine 2500 kat daha fazla dirençli olduğu ve bu dirençten sorumlu mekanizmanın P450 enzimi olduğu tespit edilmiştir (Kasai vd., 1998). Daha önceleri insektisit direncine bütün P450 genlerinin katkıda bulunduğu düşünülse de daha sonraları sadece spesifik P450 genlerinin ürünleri olan enzimlerin artış gösterdiği tespit edilmiştir (Liu vd., 2012). Direnç, P450 genlerinin regülatör bölgelerindeki değişimler ya da cis-acting elementlerdeki

mutasyonlar sebebiyle meydana gelmektedir (Liu vd., 2012). Örneğin, karasineklerde dirençli soy olan Rutgers soyunda karbamat ve organofosfat direncinden sorumlu mekanizma ikinci kromozomda *CYP6A1* ve *CYP6D1* genlerinin negatif trans-regülatör lokuslarında fonksiyon kaybına sebep olan mutasyonlardır (Carino vd., 1994; Liu ve Scott, 1996). *Drosophila CYP6G1* gen bölgesinde ise bir transpozal elementin insersiyonunun bu genin ifadesinin artmasına yol açtığı rapor edilmiştir (Catania vd., 2004). Ya da bir dirençli *Drosophila* soyunun *CYP6AG2* genini kodlayan gen bölgesinde meydana gelen bir mutasyon daha fazla enzim üretimiyle dirence katkı sağlayabilmektedir (Amichot, 2004).

2.3.4.2. Esterazlara dayalı direnç

Esterazların çoğu alfa/beta hidrolaz protein süperalesi içerisindeki karboksilesteraz gen ailesine aittir (Punta vd., 2012). Alfa/beta hidrolaz domeini çok sayıda substratın hidrolizini gerçekleştirebilen fonksiyonel olarak farklı olan çok sayıda enzimi içerisine almaktadır. Örneğin bu süperaile proteazları, lipazları, esterazları, peroksidazları ve epoksit hidrolazları içermektedir (Hotelier vd., 2004).

Esterazlar çok çeşitli eksojen ve endojen bileşiklerin metabolizmasından sorumludurlar ve her yerde bulunabilirler. Böcek gelişiminde, reproduksiyon ve beslenme ile ilişkili davranışsal fonksiyonlarda önemli görevlere sahiptirler. Feromonlar ve diğer semiokimyasallar gibi birçok molekül ester yapıdadırlar ve böceklerde en çok da karboksilesterazlar içerisinde sınıflandırılan gen aileleri içerisindeki esterlerazlar tarafından hidroliz edilirler (Montella vd., 2012).

Karboksilesteraz gen ailesi, çok özel fonksiyonlara sahip proteinler içeren çok yönlü bir ailedir; bazı proteinler güçlü bir substrat seçiciliğine sahiptir (juvenil hormon ve asetilkolinesteraz gibi) ancak bazıları daha az spesifiktir (esterazlar) ya da katalitik olmayan proteinlerdir (nöroliginler, glitotaktinler ve nörotaktinler gibi). Esterazlar ester bağlarının hidrolizinden sorumludurlar ve bu olay sonucunda asit ve alkol açığa çıkar. İnsektisitlerin birçoğu ester bağları taşırlar ve bu nedenle esterazlar tarafından katalizlenen hidroliz reaksiyonlarına karşı duyarlıdırlar (Sogorb ve Vilanova, 2002). Zararlı böcek ve akarlardaki mutant esterazlar pretroid, karbamat ve OP metabolik ve/veya hedef bölge direncine neden olmaktadır (Hotelier vd., 2010). Karbamat ve OP hedef bölgesi direncine asetilkolinesterazdaki mutasyonlar sebep olur ve bu durum asetilkolinesterazın

insektisit inhibisyonuna daha az duyarlı olmasını sağlar (Kwon vd., 2010). Metabolik dirençte, insektisit hidroliz edilir veya mutant karboksilesterazlar tarafından uzaklaştırılır (Bass ve Field, 2011). Doğal popülasyonlarda metabolik detoksifikasyondan kaynaklanan insektisit direnci üç farklı yol ile gerçekleşebilir: Gen amplifikasyonu (gen dublikasyonu), gen ifadesinin artması ve kodlayan bölgelerdeki genetik mutasyonlar (Hemingway vd., 1998).

Esterazları kodlayan genlerin amplifikasyonu ile sürdürülen direnç durumunda sorumlu gen duyarlı popülasyonlarda tek bir tane iken, dirençli popülasyonlarda çoklu kopyalar halindedir. Bu direnç durumunda OP'lerin, karbamatların ve pretroidlerin degradasyonu ya da uzaklaştırılması hızlandırılır. Bu durum hem bazı Diptera türlerinde hem de bazı Hemiptera türlerinde tespit edilmiştir (Li vd., 2007, 2009; Bass ve Field, 2011). Duyarlı popülasyonlara kıyasla dirençli popülasyonlarda gen ürünlerinin daha fazla miktarda üretilmesine olanak veren artan gen ifadesi Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Diptera türlerinin bazılarında tanımlanmıştır (Li vd., 2007, Bass ve Field, 2011). Son olarak, karboksilesteraz genini kodlayan domeinlerdeki mutasyonlar Diptera, Hymenoptera ve Lepidoptera'nın bazı türlerinde tanımlanmıştır ve bu mutasyonlar artan OP hidrolizine ve uzaklaştırılmasına neden olurlar (Li vd., 2007, Hotelier vd., 2010). Örneğin, Newcomb vd. (1997), *Lucilia cuprina*'daki tek bir amino asit süstitüsyonunun bir karboksilesterazı organofosfor hidrolazına dönüştürdüğünü bulmuştur. Asetilkolinesterazı kodlayan genlerde meydana gelen hedef bölge direncinin, AChE'nin substratı olan ACh'nin yanısıra insektisite karşı da daha düşük bir duyarlılığa neden olduğu düşünülmektedir (Weill vd., 2004a). Sonuç olarak enzimatik aktiviteyi arttıran bu mutasyonlar OP'li insektisitlere karşı toleransı da arttırmaktadır.

Genomik ve filogenetik çalışmalar, böcek detoksifikasyon enzimi ailelerinin karmaşıklığını aydınlatmakta, böylelikle insektisitleri ve onların genetik ve metabolik temellerini daha iyi anlamamızı sağlamaktadır. Böceklerde, insektisit metabolizmasında rol oynayan ana esterazların karboksilesteraz gen ailesi olmasına rağmen, farklı alanlardaki diğer esterazlar da buna katkı sağlamaktadır. İlk yıllarda yapılan esteraz çalışmaları alfa ve beta-naftil asetat substratlarına yöneliktir ve hala bu izozimlerin kaç tanesinin karboksilesteraz gen ailesine ait olduğu net değildir. Örneğin, Teese vd. (2010), *Helicoverpa armigera* izozimlerinin yedi tanesininin tamamının karboksilesteraz gen ailesine ait

olduğunu ancak Healy vd. (1991), *Drosophila melanogaster*'e ait 22 izoenzimden 3 tanesinin karboksilesteraz gen ailesine ait olmadığını tespit etmişlerdir. İlginç bir şekilde Hemingway (2000), *Anopheles* popülasyonlarında yüksek düzeyde malathion direncine rağmen, geleneksel alfa ve beta naftil asetat substratları kullanıldığında sivrisinek homojenatlarında esteraz aktivitesinde bir artış gözlenmediğini öne sürmüştür. Ayrıca, Montella vd. (2007) Brezilya'da *Ae. aegypti* popülasyonlarının insektisit direncinin rutin izlenmesi için substrat olarak alfa ve beta-naftil asetat ve para-nitro fenil asetat kullanıldığında çelişkili sonuçlar rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar, insektsite dirençli popülasyonların temelinde yatan biyokimyasal mekanizmaları aydınlatmak için daha yeni ve daha spesifik substratlara ihtiyaç duyduğumuzu göstermektedir.

2.3.4.3. Glutasyon-s-transferazlara dayalı direnç

Glutasyon-S-transferazlar (GSTs), insektisitler de dahil olmak üzere çok geniş bir ksenobiyotik grubunun detoksifikasyonundan sorumlu olan multifonksiyonel, geniş bir enzim ailesidir (Salinas ve Wong, 1999). GST'ler, indirgenmiş glutasyonun tiol grubu ile elektrofilik bileşiklerin konjugasyonunu katalizlerler. Bu durum, açığa çıkan ürünlerin, indirgenmiş glutasyon ile konjuge olmamış substratlara nazaran daha suda çözünür hale gelmesine neden olur (Habig vd., 1974). Ayrıca, bazı GST'ler, indirgenmiş glutasyonu konjugat olarak kullanmak yerine kofaktör olarak kullanarak dehidroklorinasyon reaksiyonlarını katalizlerler (Clark ve Shamaan, 1984). GST'ler kanser epidemiyolojisi ve ilaç direncinde önemli rol aldıklarından dolayı memelilerde çok fazlaca çalışılmıştır (Tew, 1994). Böcekler ile yapılan GST çalışmalarının büyük çoğunluğu insektisitlerin, bitki allelokimyasallarının detoksifikasyonu ve oksidatif stres cevabı üzerinedir (Clark vd., 1986; Ranson vd., 2001; Vontas vd., 2001; Sawicki vd., 2003).

GST'ler hücre içerisindeki konumuna göre mikrosomal ve sitosolik GST'ler olarak sınıflandırılırlar (Lander vd., 2004). Üçüncü GST grubu Kappa ise sadece memelilere özgüdür ve böceklerde tespit edilmemiştir (Robinson vd., 2004). *D. melanogaster*'de sadece bir, *An. gambiae*'de ise üç mikrosomal GST geni tespit edilmiştir (Toba ve Aigaki, 2000; Ranson vd., 2002). Mikrosomal GST'ler trimeric, zar-bağlı proteinlerdir. Farklı yapı ve orijinlere sahip olsalar da, sitosolik GST'ler ile benzer reaksiyonları katalizlerler (Gakuta ve Toshiro, 2000; Prabhu vd., 2001). Mikrosomal GST'ler insektisit metabolizmasında görev almazlar.

Artan GST aktivitesi bütün ana insektisit gruplarına karşı direnç ile ilişkilidir (Prapanthadara vd., 1993; Huang vd., 1998; Vontas vd., 2001). Birçok çalışma GST enzim miktarlarındaki artışın enzimin kalitatif olarak artışından ziyade daha çok gen amplifikasyonu sonucu ya da transkripsiyon oranındaki artıştan kaynaklandığını ortaya koymuştur (Ranson vd., 2001). DDT detoksifikasyonunda dehidroklorinasyon önemli bir mekanizmadır ve bu reaksiyon GST'ler tarafından katalizlenir (Clark ve Shamaan, 1984). DDT dehidroklorinasyonun artması karasinekler ve sivrisinekler dahil birçok böcek türünde DDT direncinde önemli rol oynar (Prapanthadara vd., 1993; Grant vd., 1991). DDT dirençli *Ae. aegypti* soylarında immünolojik olarak farklı iki GST tanımlanmıştır ve bunlardan en az birinin ifadesinin artışı bir trans-acting baskılayıcıda meydana gelen bir mutasyon sebebiyledir (Grant vd., 1991; Grant ve Hammock, 1992). *An. gambiae*'nin DDT dirençli soylarında Epsilon sınıfına ait GST'leri kodlayan genlerin ifadesinde artış olmuştur. GSTe2 olarak bilinen bu enzim rapor edilen GST'ler içerisinde en yüksek GST dehidroklorinaz aktivitesine sahiptir (Ortelli vd., 2003). Yine *An. gambiae*'de DDT direncine sebep olan lokusların genetik haritalanması sonucu elde edilen veriler, DDT direncinde Epsilon sınıfı GST'lerin ifadelerinin artmasında cis ve trans-acting elementlerin rol aldığını göstermiştir (Ranson vd., 2000).

GST'ler organofosfat grubundaki birçok insektisite karşı da direnç sağlamaktadırlar (Hayes ve Wolf, 1988). Organofosfatlı insektisitlerin glutatyon ile konjuge olması sonucu iki yolla detoksifikasyon gerçekleşir: O-dealkilasyon ve O-dearilasyon. O-dealkilasyon'da insektisitinin alkil kısmı glutatyon ile konjuge olur (Oppenoorth vd., 1979). O-dearilasyonda ise glutatyon, ayrılan grup ile reaksiyona girer (Chiang ve Sun, 1993).

GST'lerin direkt olarak pretroidli insektisitlerin metabolizmasında görev aldığına dair bir kanıt yoktur ancak pretroidler tarafından indüklenen lipid peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasyonunda önemli görev almaktadırlar (Vontas vd., 2001). *Nilaparvata lugens* (Homoptera)'in pretroid dirençli soylarından klonlanan Delta GST sınıfı yüksek peroksidaz aktivitesine sahiptir ve bu yüzden de insektisite maruziyet esnasında oksidatif hasarın önlenmesinde ve onarımında görev almaktadır (Vontas vd., 2002). Diğer dirençli böceklerde de artan GST'ler benzer rol oynarlar. GST'ler aynı zamanda insektisitleri uzaklaştırarak pretroid toksisitesine karşı koruyucu rol alırlar (Kostaropoulos vd., 2001).

2.4. İnsektisit Direnç Düzeyleri Araştırılan Sivrisineklerin Biyolojisi-Ekolojisi

2.4.1. *Anopheles sacharovi*

Anopheles sacharovi İtalya, Sardunya, Korsika, Hırvatistan, eski Yugoslavya Cumhuriyeti, Makedonya, Arnavutluk, Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, Türkiye, Lübnan, İsrail, Ürdün, Suriye, Irak ve İran'da rapor edilmiştir (Becker vd., 2003; Schafner vd., 2001; Yurttas and Alten, 2006; Merdic, 2004; Patsoula vd., 2007). Son çalışmalar, Ermenistan'ın bazı bölgelerinde yeniden kolonileşmekte olduğunu göstermektedir (Romi vd., 2002). Kıbrıs'ta 2009'dan itibaren kayıtlar da vardır (Violaris vd., 2009). 1960 ve 1970'lerden sonra İtalya'dan rapor edilmemiştir. Avusturya'da ve Macaristan'da da şüpheli kayıtlar bildirilmiştir ancak onaylanması gerekmektedir (Schafner vd., 2001; Toth vd., 2010). 1950'lerde Korsika'dan da rapor edilmiştir ancak son dönemde yapılan alansal çalışmalarda varlığı tespit edilmemiştir (Toty vd., 2010). *An. sacharovi*, dağılım alanları boyunca önemli bir sıtma vektörüdür (Becker vd., 2003). Tarihsel olarak ise Ermenistan'da (Romi vd., 2002), Suriye, kuzey Irak ve İran'da (Yurttas ve Alten, 2006) ve Yunanistan'da (Patsoula vd., 2007) kanıtlanmış bir sıtma vektörüdür. Ülkemizde ise primer sıtma vektörüdür (Kasap vd., 1981). *An. sacharovi*'nin ayrıca Korsika, Fransa, Balkanlar, İtalya ve Romanya'da yine sıtma aktarımında yer aldığı ileri sürülmüştür (Alten vd., 2007).

Anopheles sacharovi erginlerini *Anopheles maculipennis* kompleksinin diğer sibling türlerinden ayırt etmek zordur ancak mesonotumun daha açık renklenmesine, skutumda soluk bir medyan şerit bulunmadığına, neredeyse farkedilmeyen koyu renk lekelerine, kanat damarlarında pulların olmamasına dayanarak ayırdını etmek mümkündür (Schafner vd., 2001; Becker vd., 2003). *An. sacharovi* yumurtaları genişlemiş yüzgeçlerden yoksundur (bazen daha soğuk bölgelerde gelişebilir) ve yumurta yüzeyi diğer Maculipennis Kompleksi türlerine kıyasla desensiz ve eşit derecede soluktur (Becker vd., 2003). Moleküler yöntemlerle de morfolojik tür tanımlanmasının desteklenmesi daha doğru sonuçlar vermektedir (Sedaghat vd., 2003).

Anopheles sacharovi erginlerinin aktivitesi genellikle temmuz ve ağustos aylarında pik yapar. Ergin dişilerde hayvan barınaklarında hibernasyon görülür (Becker vd., 2003). Sıcak bölgelerde, hibernasyon tamamlanmaz ve daha soğuk

dönemlerde aktiviteleri azalır (Sinka vd., 2010). Erginleri 3–5 km'den 14 km'ye kadar uçabilmektedir (Schafner vd., 2001).

Anopheles sacharovi endofajik, endofilik ve genellikle yüksek oranda antropofiliktir (Yurttas ve Alten, 2006) ancak aynı zamanda koyun, keçi, sığır, at, kuş, tavşan, kemirgen ve evcil hayvanlar dahil olmak üzere çok çeşitli konakçılarda beslenebilmektedir (Boreham vd., 1973). 1970'lerde Yunanistan'da *An. sacharovi*'nin besin tercihi ile yapılan bir çalışma, türün kan emme tercihinde koyun, keçi, domuz ve insan kanını tercih ettiğini göstermiştir. Aynı çalışma ev içi DDT uygulamalarının yapıldığı yılları takip eden 5 yıllık süre içerisinde antropofilik beslenmenin aksine bu hayvanların zoofilik davranış gösterdiğini, DDT kullanımının sonlandırılmasından sonra da tekrar antropofilik davranış eğiliminde olduklarını ileri sürmüştür (Boreham vd., 1973).

Anopheles sacharovi larvaları, yüzen bitki örtüsüne sahip güneşli alanları tercih eder ve tipik olarak bol yosunlu, seyrek sazlıklı, durgun ya da yavaş akan sularda yaşarlar ve gelişirler (Merdivenci, 1984). Bunun haricinde bataklıklarda, lagünlerde, nehir kenarlarında, akarsularda ve su kaynaklarında, havuzlarda ve yol kenarlarında bulunur (Becker vd., 2003). Pirinç tarlalarında ve diğer sulanan alanlarda da bulunabilirler (Romi vd., 2002). Her ne kadar öncelikle durgun su ile ilişkili olsa da, *An. sacharovi* larvaları aynı zamanda akarsu gibi yavaş akan suya ve %20'ye kadar olan tuzluluk derecesine de toleranslıdır (Sinka vd., 2010; Özbilgin vd., 2011). *Anopheles sacharovi* erginleri genellikle sıcak barınaklarda kışlar ve kış aylarında kan emebilir (Merdivenci, 1984). Erginler hayvan barınakları, evler, ağaç kovukları ve kaya oyuklarında dinlenmektedir (Becker vd., 2003). Dinlenme davranışı, eradikasyon programları sonucunda da değiştirilebilir ve erginler evcil habitatlardan uzaklaşarak açık alanlarda dinlenebilir ancak kontrol çalışmaları bittiğinde normal dinlenme alışkanlıklarına geri dönmektedirler (Boreham vd., 1973).

Anopheles sacharovi'nin kontrolü zaman zaman zor olabilir. Yunanistan'da DDT'ye ve dieldrin'e karşı dirençli olduğu öne sürülmüştür (Hadjinicolaou vd., 1973). Türkiye'de, DDT'ye ve dieldrin'e karşı dirençli olduğu, ancak malathion, fenitrothion, propoxur, bendiocarb, lambdacyhalotrhin, permethrin, cyfluthrin, etofenprox ve deltamethine duyarlı olduğu bulunmuştur (Kasap vd., 2000). Su bazlı piretroidlerin Yunanistan'daki tarım alanlarına havadan uygulanması

sivrisinek popülasyonlarında % 61-89 oranında azalma sağlamıştır (Chaskopoulou vd., 2011). Ancak, bu yöntem şu anda Avrupa Birliği ülkelerinin çoğunda izin verilmemektedir. Ermenistan'da 1960'larda ev içi rezidüel spreyleme ile birlikte geniş çaplı çevresel yönetim ve pirinç ekiminin ulusal olarak durdurulması sıtmayı başarılı bir şekilde kontrol altına almıştır (Romi vd., 2002). Ülkemizde, drenaj, doldurma, çevresel modifikasyon ve okaliptüs ağaçlarının dikilmesi, çevresel kontroller gibi fiziksel kontrol yöntemleri de kullanılmaktadır (Özbilgin vd., 2011). Larvalar çok sayıda su habitatında yaşadığı için larval kontrol zordur (Alten vd., 2003).

2.4.2. *Culex pipiens*

Culex pipiens kompleksi içerisindeki sivrisinekler holoarktik bölgede ve Avrasya'da geniş bir alanda yayılış göstermektedir (Vinogradova, 2000; Becker vd., 2003). Bu kompleks içerisinde en yaygın olan türler *Cx. pipiens* Linnaeus, 1758 ve *Cx. quinquefasciatus* Say, 1823'dür ve ılıman ve tropikal bölgelerde nispeten yaygın olarak bulunurlar. *Culex pipiens*, *Cx. pipiens pipiens* ve *Cx. pipiens molestus* olmak üzere fizyolojileri ve davranışlarında farklılık gösteren iki form (veya biyotip) içerir. *Cx. pipiens* popülasyonları Doğu Afrika gibi bazı bölgelerde tam izolasyon sergilerken, *Cx. quinquefasciatus* ve *Cx. pipiens pipiens* ya da *Cx. pipiens molestus* arasında Kuzey Amerika, Meksika, Arjantin, Atlantik Okyanusu'ndaki Cape Verde Adaları, Afrika ve Yunanistan'ın bazı bölgelerinde tamamlanmamış izolasyonlardan dolayı kompleks üyelerinin taksonomik statüleri konusunda tam bir fikir birliğine varılamamıştır (Shaikovich vd., 2016).

Cx. pipiens'in larvaları durgun akan ve temiz sularda en iyi gelişim gösterirler. Bunun yanısıra organik içerikli kirli sularda da gelişim gösterebilirler. Larvalar Nisan ayının başından Kasım ayına kadar bulunabilir (Merdivenci, 1984). *Cx. pipiens pipiens*, yumurta gelişimi için kana ihtiyaç duyar (anotojeni), kuşlar ile beslenmeyi tercih eder (ornitofilik) ve kış aylarında diyapoz girer (heterodinamik). Buna karşılık, *Cx. pipiens molestus* formu tipik olarak kan besinine (otojen) sahip olmayan ilk yumurta grubunu bırakır, memelilerden beslenir (mamofilik) ve yıl boyunca aktif kalır (homodinamik). Dikkat çekici bir şekilde, *molestus* formu genellikle ılıman iklim bölgelerinin yeraltı habitatlarını benimser ve sınırlı alanlarda (stenogami) çiftleşebilir, *pipiens* formu ise yalnızca yer üstü habitatlarını kolonize eder ve geniş, açık alanlarda eşleşir. Yaşam

döngüsünün her bir aşaması ve davranışsal özelliklerin birçoğu sıcaklık, nem ve beslenmeye bağlı olarak değişebilir (Vinagrodova, 2000).

Culex pipiens kompleksinin üyeleri arasındaki tek morfolojik farklılık erkeklerin genital yapısında bulunmaktadır. Dişilerde morfolojik farklılıkların olmaması ve melezlerin varlığı bu taksonları tanımlamayı oldukça zorlaştırır.

Culex pipiens Batı Nil virüsü (BNV)'de dahil olmak üzere hayvan ve insan hastalıklarına sebep olan çok sayıda virüs ve hastalık patojenlerinin vektörüdür. (Turell vd., 2001). BNV genellikle *Cx. pipiens quinquefasciatus*'un amplifikasyon vektörü olarak görev aldığı bir sivrisinek-kuş döngüsüne katılır (Turell vd., 2005). Genellikle insanlar veya atlar son konaktırlar ve ölebilirler. New York'ta 1999'da keşfedilmesinden bu yana, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki BNV, birçok ölümcül enfeksiyonla birlikte yaklaşık 40.000 klinik vaka ve yüzlerce at ile birlikte yaklaşık 1700 insan ölümüne neden olmuştur (Centers for Disease Control, 2013). Bunun yanı sıra medikal ve veterinerlik açısından öneme sahip en az 10 arbovirüsün (arthropod kaynaklı virüs) daha taşıyıcısıdırlar. Bunlar; Batı Nil virüsü (WNV), Chikungunya virüsü (CHIKV), Deng virüsü (DENV), Japon Ensefalit virüsü (JEV), Batai virüsü, Usutu virüsü, Sindbis virüsü, Tahyna virüsü, Inkoo virüsü, Lednice virüsü ve Snowshoe virüsü'dür (Brugman vd., 2018).

Culex pipiens kontrolü için pek çok bütünleştirici teknik kullanılabilirken, endemik bölgelerdeki vektör yoğunluklarını kontrol etmenin, epidemileri kontrol etmenin ve rahatsız edici sivrisinek popülasyonlarını azaltmanın tek yolu insektisit uygulamaktır. İnsektisitler larvalara veya erginlere karşı kullanılabilir, ancak insektisitlerin çoğu her ikisi için de uygun değildir. Örneğin, bazı piretroidlerin kuşlara olan toksisiteyi bunların larvalar için kullanılmasına engeldir. Ergin insektisitler, açık havadaki ergin yaşam alanlarına sprey veya sis olarak uygulanır ve en yaygın etken madde piretroidlerdir. Cibinlikler, pretroid kullanımı için idealdir (Zaim vd., 2000). *Cx. pipiens* larvalarını hedef alan insektisit uygulamaları su kaynağının durumuna bağlı olarak değişir. Genellikle piretroidler yüksek toksisite nedeniyle larvaların kontrolü için kullanılmaz ancak istisnalar vardır (örneğin, etofenprox balıklar için yüksek oranda toksik değildir ve Japonya'daki *Culex* larvalarının kontrolü için kullanılmaktadır (Kasai vd., 2007). Bununla birlikte, kentsel ve tarımsal ortamlarda uygulanan böcek öldürücüler sivrisinek

larvalarının yaşam alanlarına girebilir ve larvalarda da dirence sebep olabilir (Dusfour vd., 2010).

2.4.3. *Ochlerotatus caspius*

Ochlerotatu caspius'un paleartik popülasyonları Akdeniz Bölgesi'nin tuzlu gölleri ve havuzlarında (Lambert vd., 1990), İngiltere kıyıları ve Avrupa kıtasının tatlı su ve tuz bataklıklarında, Rusya, Moğolistan, Kuzey Çin, Pakistan, Kuzey ve Kuzey Doğu Afrika, Orta Asya ve Basra Körfezi'nde yaşar (Bozizic-Lothrop ve Vujic, 1996; Cranston vd., 1987; Gabinaud, 1975).

Ochlerotatus caspius'un dişileri zoo-antropofildir. Sıcağı ve kurağı severler. Üreme mevsimi boyunca birkaç kuşak verebilirler (Merdivenci, 1984). Olumlu çevresel koşullar (öncelikle yağış, gelgitler, su baskınları ve sıcaklık), yıllık kuşak sayısını artırmaktadır (Petric, 1989). Erginler olumsuz çevresel koşullarına karşı duyarlıdır. Bu nedenle 12°C'nin altındaki sıcaklıklar kışın doğal popülasyonların gelişimini durdurmaktadır (Sinagre, 1974). Sıcaklık ve bağıl nem eşikleri sırasıyla 11.5-36°C ve %52-92'dir (Petric, 1989). Erginler aktif dispersiyonla 5-10 km uzağa gidebilirler (Merdivenci, 1984).

Yumurtalar, havuz ve nehir kenarı boyunca yer alan çamura, çoğunlukla da toprağın 2 cm altına bırakılır. Vegetasyon ve toprak yapısı arasında güçlü bir ilişki vardır ve bu yüzden flora içeriği yumurta lokasyonunun göstergesi olarak kullanılabilir (Gabinaud, 1975). Sıcaklık ve kısa gün fotoperiyodu gibi olumsuz çevresel faktörler diyapozu indükler (Vinogradova, 1975). Oksijen konsantrasyonunun azalması ve sıcaklığın azalması embriyogenezi negatif yönde etkiler. Laboratuvar koşullarında 25°C'de yumurtadan çıkma süreleri 108 saattir. Yumurta ve larva ölümü tuzluluktan etkilenir. Yumurta ve larva için kritik tuzluluk oranları sırasıyla 20 g/l ve 60 g/l'dir (Sinagre, 1974). İlk erginler Nisan ayının başlarında görülür, yaz aylarında sayıları artar fakat Eylül ve Ekim aylarında nadiren görülürler (Petric, 1989; Cranston vd., 1987).

1978 yılında yapılan bir çalışma beslenme, bağıl nem ve sıcaklık ile ilgili olarak, *Oc. caspius* dişilerinin erkeklerden daha uzun yaşadığını göstermiştir. Ayrıca, 17°C sıcaklık, %90 bağıl nem ve beslenme için şeker çözeltisi ile karşılaştırıldığında, daha yüksek sıcaklık, daha düşük nem ve distile su ile beslenme koşullarında hem dişilerin hem de erkeklerin ömrü önemli ölçüde

azaltmıştır. Nem ve beslenmeden bağımsız olarak, yine sıcaklıktaki artış erginlerin ömürlerini kısaltmıştır (Abdel-Malek ve Adham, 1978).

Ochlerotatus caspius'un doğal popülasyonlarında BNV, Tahyna virüsü ve tularemi ajanı olan *Francisella tularensis* bakterisi saptanabilmiştir (Detinova ve Smelova, 1973). Avrupa'daki en önemli iki Tahyna virüsü vektöründen biri olan *Oc. caspius*'dan 1981 yılında Tahyna virüsü izole edilmiştir (Pilaski, 1987). Benzer şekilde Akdeniz Bölgesi'nde de Tahyna virüsü vektörü ve ayrıca intepizootik dönemlerde Rift Vadisi Ateşi Virüsü (RVF) rezervuarıdır (Mitchell, 1995). *Oc. caspius*, eski Çekoslovakya, Fransa ve Portekiz'de tulareminin yayılmasında ve Tahyna ve tavşan miksoma virüslerinin bulaştırılmasında rol almıştır (Bardos ve Danielova, 1959; Joubert, 1975; Pires vd., 1982). 2012 yılında Edirne'den örneklenen *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens* s.l., *Anopheles pseudopictus* ve *Anopheles maculipennis* s.l. türlerine ait 232 havuzda da ilk kez BNV RNA'sı tanımlanmış ve bu enfeksiyon oranları *Cx pipiens*'de %36,3 iken *Oc. caspius*'ta %15,6 olarak hesaplanmıştır (Ergunay vd., 2013). Benzer şekilde, 2014-2015 yılında Ege, Akdeniz ve Trakya'dan elde edilen 15 sivrisinek türü ile 594 havuz oluşturulmuş ve bunlardan *Oc. caspius* örneklerinin yer aldığı iki havuzda *Oc. caspius* flavivirüsleri, *Cx. pipiens* örneklerinin yer aldığı bir havuzda ise *Cx. pipiens* flavivirüsleri tespit edilmiştir (Ergunay vd., 2017).

2.5. *Anopheles sacharovi*, *Culex pipiens* ve *Ochlerotatus caspius* Türlerinde İsektisit Direnci Araştırmaları

2.5.1. *Anopheles sacharovi*'de İsektisit Direnci Çalışmaları

Ramsdale vd. (1980), Tarım zararlılarının kontrolünde yoğun bir şekilde kullanılan kimyasallar sebebiyle, Çukurova'nın iki lokalitesinden elde edilen *An. sacharovi* popülasyonlarının OP ve CB'lara karşı direnç geliştirdiğini tespit etmişlerdir.

Hemingway vd. (1985), *An. sacharovi*'nin OP ve CB'a duyarlı ve dirençli popülasyonlarında bu direncin esterazlar, MFO ve GST seviyelerinde meydana gelen kantitatif bir değişimden kaynaklanmadığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, DDT direncinin DDT'yi metabolize edebilen DDT dehidroklorinaz enzimindeki kalitatif ya da kantitatif değişimlerle meydana geldiğini vurgulamışlardır.

Hemingway vd. (1992), 1971 yılında DDT kullanımının durdurulmasına rağmen 1989-1990 yıllarında Çukurova'dan elde edilen *An. sacharovi* popülasyonlarının 1984 yılındakine kıyasla daha düşük oranda olsa bile hala DDT, OP ve CB'lara dirençli olduğunu öne sürmüşlerdir. *An. sacharovi* popülasyonlarında AChE direnç mekanizmalarının yanısıra bir de DDT direncine işaret eden GST seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir.

Lüleyap ve Kasap (2000), Adana ili Tabaklar, Herekli ve Menekşe olarak adlandırılan 3 lokaliteden *An. sacharovi* örneklerinde WHO standart duyarlılık testini kullanarak DDT, malathion, propoxur, deltemethrin ve permethrin'e karşı insektisit direncini test etmişler ve biyokimyasal yöntemler ile AChE, genel esteraz ve GST enzim düzeylerini belirlemişlerdir. Hassasiyet test sonuçları AChE aktivitesindeki artışın malathion ve propoxur; esteraz aktivitesi artışının OC, OP, CB ve pretroidler; GST aktivitesi artışının ise DDT ve pretroidler ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

Kasap vd. (2000), Adana, Adıyaman, Antalya, Aydın ve Muğla'dan topladıkları *An. sacharovi* örneklerinde WHO'nun insektisit duyarlılık testleri ile 12 farklı insektisite karşı direnç oluşumu araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Adana, Adıyaman ve Antalya'dan toplanan *An. sacharovi* örneklerinin malathion ve pirimifosmetil'e duyarlı olduğu, Aydın'dan toplanan örneklerin hem bu insektisitlere hem de dieldrin, λ -cyhalothrin, etofenprox'a duyarlı olduğu, Muğla'dan toplanan örneklerin ise malathion ve pirimifosmetil, dieldrin, fenitrothion, λ -cyhalothrin, cyfluthrin ve etofenprox'a karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir (Kasap vd., 2000).

Lüleyap vd. (2002) *An. sacharovi* ve *An. gambiae*'de voltaj duyarlı sodyum kanallarının IIS4 ve IIS6 alt ünitesine ait bölgesini PZR ile çoğaltmışlar ve dizi analizleri sonucu bu iki tür arasındaki nükleotitlerin %70 oranında paylaşıldığını bildirmiştir. Ayrıca, phyretroid dirençli *An. gambiae* örneklerinde lösinin fenilalanine ve lösinin serine dönüşümüne neden olan iki çeşit *kdr* nokta mutasyonu meydana gelirken, *An. sacharovi* örneklerinde serin (TCG), lösün (TTG) ve fenilalanin (TTT) olmak üzere üç çeşit *kdr* mutasyonu tespit edilmiştir.

Manoucheri vd. (1980), Irak'taki *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT'ye dirençli fakat malathion'a duyarlı olduğunu rapor etmiştir.

Ghavami (1999), İran'ın Fars Bölgesi'nden elde edilen Kazerun *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT'ye duyarlı olduğunu bildirmiştir. Bunun sebebinin DDT'nin kullanılmasının bırakılmasının ardından popülasyonlar üzerindeki insektisit baskısının kalkması olduğunu öne sürmüştür.

Yaghoobi vd. (2001), İran'ın Ardebil Bölgesi'ndeki Parsabad ve Germi şehirlerinde *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT ve dieldrin'e dirençli olduğunu rapor etmiştir.

Salari lak vd. (2002), İran'ın Nahcivan, Ermenistan ve Türkiye'ye sınırı olan bazı bölgelerinden elde edilen *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT'ye dirençli, dieldrin'e toleranslı fakat bendiocarb, propoxur, malathion, fenitrothion, deltamethrin, cyfluthrin, lambda cyhalothrin ve etofenprox'a karşı duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Vatandoost ve Abai (2012), İran'ın Azerbaycan sınırındaki 4 *An. sacharovi* popülasyonunun DDT'ye karşı dirençli, dieldrine karşı toleranslı, fenitrothion, malathion, permethrin ve deltamethrine karşı duyarlı olduğu rapor edilmiştir.

2.5.2. *Culex pipiens*'de İnsektisit Direnci Çalışmaları

Akner vd. (2009) Antalya, Ankara, Çankırı, Mersin, Hatay, Birecik ve Viranşehir *Cx. pipiens* popülasyonlarının hala DDT'ye karşı dirençli olduğunu göstermekle birlikte Birecik, Viranşehir, Mersin, Ankara ve Antalya'da yüksek temephos; Birecik, Mersin, Çankırı ve Antalya'da ise oldukça yüksek fenthion direnci olduğu belirlenmiştir. Ankara ve Antalya popülasyonları bütün ergin insektisitlerine karşı dirençli iken diğer popülasyonlarda ölüm oranlarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Antalya'da %65.8 malathion, Birecik'te %97.5 malathion ve Hatay'da %97.5 deltamethrin). Diğer popülasyonların ise WHO sınıflandırmasına göre surveyans (gözlem) kategorisinde olduğu tespit edilmiştir.

Tantely vd. (2010), La Reunion adasının çeşitli lokalitelerinden elde edilen *Cx. pipiens quinquefasciatus* ve *Ae. albopictus* popülasyonlarında OP direncinin artan esteraz enzimi ve OP'ların hedefi olan *ace-1* genindeki mutasyon olan G119S mutasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir. Esteraz frekansı bütün popülasyonlarda yüksek iken, *ace-1^R* aleli olarak ifade edilen G119S mutasyonu

adanın güneyinde hiç yok, diğer bölgelerde ise frekansı çok düşüktür. Bununla birlikte hiç F290V mutasyonu ve *ace-1* dublikasyonu tespit edilmemiştir.

Kumar vd. (2011), Hindistan'da Filarya endemilerinin yoğun olduğu Uttar Pradesh bölgesinden elde edilen *Cx. quinquefasciatus* popülasyonlarının DDT ve malathion'a karşı yüksek derecede dirençli, deltamethrin, cyfluthrin, permethrin, lambdacyhalothrin'e karşı ise orta dereceli dirençli olduğunu ortaya koymuştur.

Osta vd. (2012), Lübnan'dan elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında 2006 yılına kadar OP kullanımına bağlı olarak frekanslarının çok yüksek olduğu bilinen G119S mutasyonunun pretroid kullanımına geçilmesiyle birlikte önemli miktarda düşüş gösterdiği, F290V mutasyonunun ise tamamen elimine edildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, *ace-1* geninin *ace-1^{D13}* olarak dublike olmasıyla ifade edilen yeni bir mutasyonun bireylere direnç kazandırdığı ve ester lokuslarının amplifiye olup Ester² alellerinin oluştuğu ortaya konmuştur.

Kioulos vd. (2013) Yunanistan'da 2010 yılında görülen Batı Nil Ateşi epidemisinin ardından Yunanistan'ın 5 bölgesine ait 13 lokaliteden elde ettikleri *Cx. pipiens* popülasyonlarının birkaçının temephos, deltamethrin ve diflubenzuron'a karşı duyarlı olduğu, diğerlerinin ise dirençli olduğu bildirilmiştir. Moleküler analizler *ace-1* gen bölgesindeki G119S (%8,3-22,5 arasında değişkenlik göstermektedir) ve F290V (%1,8-8,3 arasında değişkenlik göstermektedir) mutasyon frekanslarının oldukça düşük ve her zaman heterozigot durumda iken, *kdr* mutasyon (L1014F) frekansının oldukça yüksek olduğunu göstermiştir (%28-63 arasında değişkenlik göstermektedir).

Wang vd. (2012), yeni geliştirdikleri Alel-Spesifik PZR (AS-PZR) yöntemi ile Çin'de geniş yayılış gösteren *Cx. pipiens* kompleksinde test edilen 14 popülasyonun tamamında L1014F mutasyonu bulunmuş olup frekansının %6.8 ile 76.2 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte popülasyonların üçte ikisinde L1014S aleli tespit edilmiş ve frekansının %2.4 ile 28.6 arasında değiştiği rapor edilmiştir. 5 popülasyonda ise her iki mutasyon birlikte görülmektedir. Sonuçlar, Çin'in kuzeyine nazaran güneyinde bu alellerin daha yaygın olduğunu gösterse de, Çin genelinde pretroid direncinin oldukça yaygın olduğuna işaret etmektedir.

Akmer ve Ekşi (2015), ülkemizde Akdeniz bölgesi içerisinde yer alan Mersin, Adana ve Antalya illerinde belirledikleri 4 lokaliteden elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında Kapıkaya haricinde diğer popülasyonların hepsinde DDT toksisitesinin %50'nin altında olduğunu, permethrin ve deltamethrin toksisitesinin %50 ile %84 arasında ve Malathion toksisitesinin %40 ve %74 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. Biyokimyasal analizlerin sonuçları MFO ve NSE'ların DDT, malathion ve pretroid direncinden sorumlu olduğunu göstermiştir.

Taşkın vd. (2015), ülkemizde Ege bölgesine ait belirledikleri 6 lokaliteden elde ettikleri *Cx. pipiens* popülasyonlarında malathion, bendiocarb ve dieldrin'e karşı *ace-1* (G119S ve F290V) ve *Rdl* (A302S) mutasyonu geliştiğini, bu mutasyonların frekanslarının oldukça düşük olduğunu ancak mevsimlere bağlı bir değişim olmadığını bildirmiştir. Bunun aksine, DDT ve pretroid'li insektisitlerle ilişkili olan iki *kdr* mutasyonunun (L1014F ve L1014C) da frekanslarının oldukça yüksek olduğu ve mevsimsel farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

2.5.3. *Ochlerotatus caspius*'ta İnsektisit Direnci Çalışmaları

Bugüne kadar literatürde *Oc. caspius* türünün herhangi bir insektisite karşı verdiği cevabı ortaya koyacak hassasiyet testleri ile yapılmış çalışmaların sayısı çok yetersizdir. *Oc. caspius* türünün insektisit direncinin temelinde yatan moleküler mekanizmaları aydınlatacak çalışma ise hiç yoktur ve buna bağlı olarak da ne *ace-1* ne de *kdr* mutasyonu kaydı hiçbir şekilde verilmemiştir. Bununla birlikte Porretra vd. (2008) *Oc. caspius*'un insektisit direncinde görev alabileceği düşünülen p glikoproteinleri ile ilgili ilginç bir çalışma ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, ökaryotlarda ve prokaryotlarda toksik bileşiklerin hücre içerisine geçişinde görev alan kanal proteinleri olan p glikoproteinlerinin ilaç savunma mekanizmasındaki rolünü belirlemek üzere öncelikle *Oc. caspius* larvalarına p-gp'lerinin inhibitörü verapamil uygulamışlardır. Uygulamadan sonra temephos ve diflubenzurona maruz kalan larvaların temephos ve diflubenzurona olan LD50 dozları sırasıyla 3.5 ve 16.4 kat azalmıştır. Bu durum temephos ve diflubenzuron direncinde p-gp'lerinin görev alabileceğini göstermektedir. Daha sonra PZR ile 481 bp uzunluğundaki p-gp baz dizisini elde etmişlerdir.

Fathian vd. (2015) 2010 yılında İran'ın güneybatısında sıtmanın endemik olduğu bölgeden topladıkları *Oc. caspius* örneklerinin sadece DDT'ye karşı dirençli olduğunu, malathion, propoxur, deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve cyfluthrine

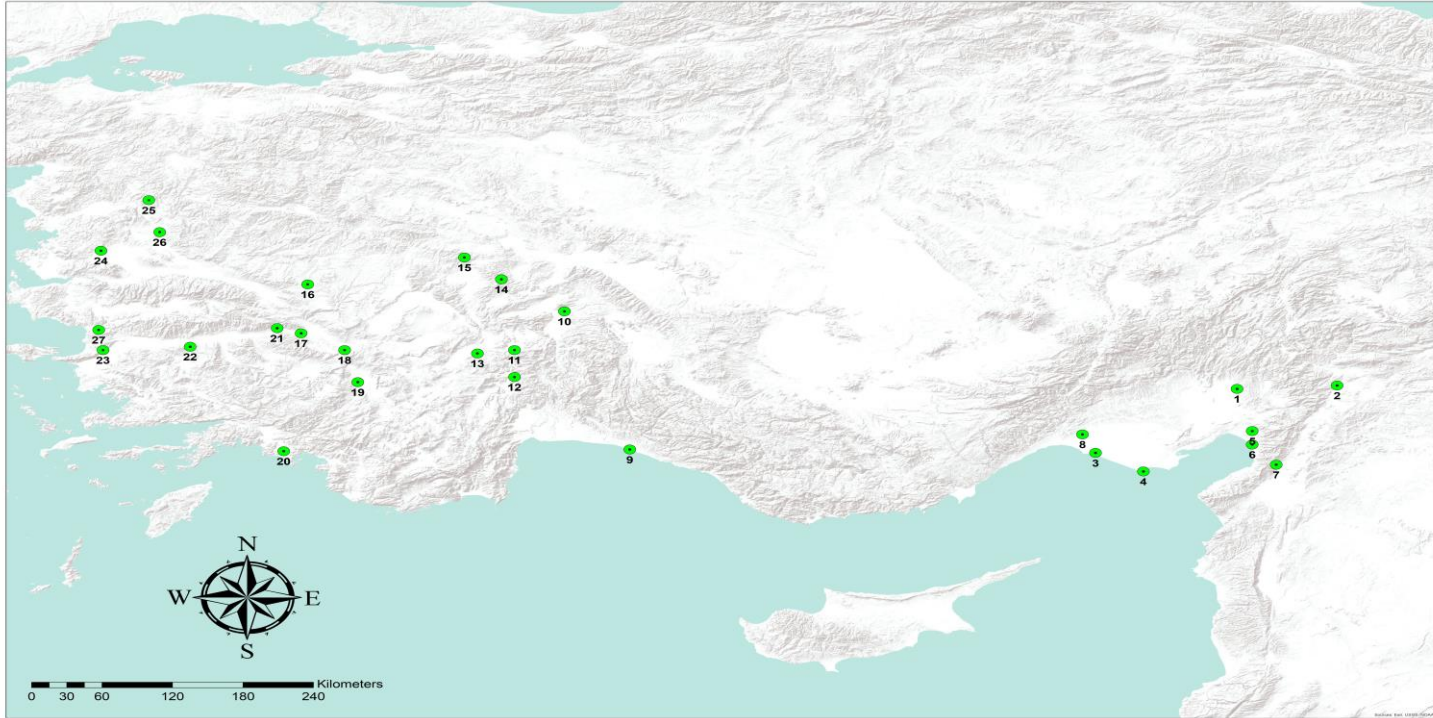
karşı duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada, *Culex pipiens*'in DDT, propoxur, lambda-cyhalothrin ve cyfluthrin'e karşı dirençli fakat malathiona karşı duyarlı, deltamethrin'e karşı ise toleranslı olduğu rapor edilmiştir.

Fotakis vd. (2017), 2014 ve 2015 yıllarında Thessaloiki, Evros ve Attica'da yer alan 19 lokaliteden elde edilen *Oc. caspius* örneklerinin deltamethrin'e karşı duyarlı iken, *Cx. pipiens* ve *An. hyrcanus* 'un orta dereceli dirençli olduğu rapor edilmiştir. Moleküler analizlere sadece *Cx. pipiens* ve *An. hyrcanus* popülasyonlarının dahil edildiği araştırmanın sonuçları Thessaloniki (%71.1), Evros (%80.5) ve Attica (%88.3) *Cx. pipiens* popülasyonlarında *kdr* mutasyonu olduğunu göstermiştir. Sekans analizleri Evros (%91.7) ve Thessaloniki'de (%95) L1014C alel frekansının L1014F alel frekansından daha yüksek olduğunu göstermiştir. Thessaloniki'den elde edilen *An. hyrcanus* bireylerinin hiç birinde ise *kdr* mutasyonu tespit edilmemiştir. *Cx. pipiens* popülasyonlarında görülen *ace-1* G119S mutasyon frekansının oldukça düşük olduğu rapor edilmiştir. Biyokimyasal analizlerin sonuçları popülasyonların hiçbirinde AchE ve GST enzim aktivitesinde, Attica'dan elde edilen popülasyonların hepsinde ise hiçbir enzim aktivitesinde artış saptamamıştır. Bununla birlikte, Thessaloniki popülasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir P450 ve esteraz artışı tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Bölgesi

Araştırma alanı Akdeniz ve Ege bölgelerini kapsamakla birlikte, her bir bölge içerisinde sivrisinekler için uygun habitatları içeren, yeterli sayıda örnek toplanabilen, iklimsel ve sosyokültürel açıdan birbirinden farklı olan alt lokaliteler araştırma alanı olarak öncelikle değerlendirilmiştir (Şekil 3.1). Akdeniz Bölgesi yazların sıcak ve kurak, kışların ılık ve yağışlı geçtiği Akdeniz iklimi özelliklerini taşıyan ve yaz ayları sıcaklıklarının 18-30°C, kış ayları sıcaklıklarının 8-10°C dolaylarında olduğu, yıllık ortalama sıcaklıkların ülkemizde en yüksek görüldüğü bölgedir. Bu iklimsel özellikleriyle sivrisinekler için uygun koşulları sağlamaktadır. Ülkemizin en verimli topraklarına sahip olan Çukurova, Amik Ovası, Antalya Ovası Akdeniz Bölgesi içerisinde yer almaktadır. Bu ovalarda başta pamuk ve turunçgiller olmak üzere buğday, ayçiçeği, zeytin, nar, mısır, narenciye, şeker kamışı, patates, domates, biber, pirinç, soya, pamuk, üzüm, badem, karpuz, kavun ve muz en çok yetiştirilen tarım ürünleri arasındadır.



Şekil 3.1. Araştırma Bölgesi (1. Kadirli, 2. Türkoğlu, 3. Tuzla, 4. Karataş, 5. Erzin, 6. Dörtyol, 7. Kırıkhan, 8. Tarsus, 9. Manavgat, 10. Gelendost, 11. Isparta-Merkez, 12. Bucak, 13. Burdur-Merkez, 14. Sandıklı, 15. Dinar, 16. Eşme, 17. Sarayköy, 18. Honaz, 19. Acıpayam, 20. Dalaman, 21. Buharkent, 22. Dalama, 23. Söke, 24. Saruhanlı, 25. Tekeller, 26. Akhisar, 27. Selçuk)

Çukurova bölgesi sınırları içerisinde kaldığı için Osmaniye bereketli toprakları ile önemli bir tarım merkezidir ve tarıma elverişli ovalar içermektedir. Yer fıstığı, buğday, soya, mısır ve pamuk, narenciye ve zeytin çok önemli bir yer tutmaktadır. Bölgenin kıyı kesimindeki elverişli iklim koşulları, doğal güzellikler ve tarihi zenginlikler turizmin gelişmesini de sağlamıştır. Bu sayede kültür turizmi başta olmak üzere deniz, kış, mağara, kamp, kaplıca turizmi yapılabilmekte ve bu turizm seçenekleri için tesisler bulunmaktadır.

Ege Bölgesi Akdeniz ikliminin görüldüğü ve yıllık ortalama sıcaklıkların 18°C civarlarında seyrettiği Akdeniz Bölgesi'nden sonra ikinci sırada turizm potansiyeline sahip olan ve tarıma dayalı sanayileşme gösteren bölgedir. Gediz Nehri kıyısında kurulu olan Manisa'da, tarımsal faaliyetlerin başında üzüm üretimi gelmektedir. Büyükmenderes Nehri'nin yakınında yerleşim gösteren Söke Ovası'nda başta pamuk olmak üzere, birçok hububat, meyve, sebze ve özellikle incir ve zeytin yetişir. Önemli arıcılık merkezlerinden biri olan Muğla'da başta narenciye olmak üzere birçok meyve sebze ve zeytin yetişir. Bunların haricinde Ege Bölgesi içerisinde tahıllar, soğan, patates, domates, fasulye, baklagiller, kavun, karpuz, incir, turunçgiller tarımı yapılan başlıca önemli ürünlerdir. Tarımın yanısıra uygun iklimsel koşullar, birçok tarihi eser, yapıt, kalıntı, antik kentler ve buna ilave olarak önemli plajlara sahip sahilleri içermesi nedeniyle turizm oldukça gelişmiştir.

Sahip oldukları iklimsel özelliklerinin yanısıra nehirlerin, akarsuların, delta ve lagünlerin de yaygın bir şekilde bulunması yine uygun sivrisinek habitatları olması açısından bu iki bölgeyi uygun sivrisinek yaşama alanı yapmaktadır. Ayrıca gerek turizm konusunda gerek sanayileşmeye bağlı olarak yoğun insan hareketliliğinin olması bu bölgeleri Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde daha önce bulunmayan ancak ülkemiz dışından taşınarak gelebilecek yeni sivrisinek türlerine, arbovirüs ya da diğer patojen mikroorganizma ve hastalık etkenlerine de açık hale getirmektedir. Tarım işçilerinin ve turizmin yanısıra son yıllarda buralara Suriye, Irak, Afganistan gibi Orta Doğu ülkelerinden de çok sayıda mülteci ve göçmen geçişi olmuştur. Bu insanlar başta sıtma endemik olmak üzere diğer vektör kaynaklı hastalıkların da yoğun olarak görülebildiği sosyo-ekonomik ve hijyen koşulları düşük savaş ortamından gelmektedirler. Sağlık Bakanlığı bütün göçmenlerin sağlık taramalarını yapsa da kontrolsüz geçişler, sınıra yakın konumlanan Akdeniz Bölgesi'ni ve dolayısıyla ülkemizi vektör kaynaklı hastalık riski ile karşı karşıya

birakabilmektedir. Örneğin, ülkemizde sıtma şuan kontrol altında olsa da, son 50 yıldaki sıtma vakalarının %90'ı başta Güneydoğu Anadolu ve sonra Akdeniz Bölgesi'nde rapor edilmiştir (Özbilgin vd., 2011). Geçmişte Akdeniz Bölgesi'nde görülen sıtma epidemilerinin yoğunluğu, sivrisinekler açısından uygun iklimsel özelliklere sahip olması, tarımsal faaliyetlerin ve turizm aktivitelerinin fazla olması sebebiyle Akdeniz Bölgesi ve Ege Bölgesi hem geçmişte hem günümüzde yoğun insektisit uygulamalarının yapıldığı bölgelerdir. Dolayısıyla yoğun insektisit uygulamalarına bağlı olarak insektisit direncinin yüksek oranda görüldüğü Akdeniz ve Ege bölgelerinin vektör sivrisinek türlerinde insektisit direncinin moleküler ve biyokimyasal tekniklerle belirlenmesi vektör kontrol çalışmalarında kullanılabilir insektisitlerin etkinliklerinin belirlenmesinde önem arz etmektedir.

3.2. Alansal Çalışmalar

Akdeniz ve Ege bölgelerinde her biri farklı coğrafik, ekolojik özelliklere sahip olan lokalitelerden *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* türlerine ait yumurta, larva, pupa ve ergin örnekleri elde edilmiştir (Çizelge 3.1). Larva ve pupa örneklemeleri yapmak için sucul habitatlardan larva kepçeleri yardımıyla larva ve pupa örnekleri toplanmıştır (Şekil 3.2-3.3). Ergin örneklemeleri için ise türlerin davranış özelliklerine göre CDC (Centers for Disease Control and Prevention)-ışık tuzakları, cibinlik tuzakları (bazı lokalitelerde), insan tuzakları (bazı lokalitelerde) ve ağız aspiratörleri yöntemleri kullanılmıştır (Elde edilen larva ve pupa örnekleri örnekleme habitatı suyu içeren taşıma kapları ile ergin örnekleri ise lokalitelerine göre gruplandırılıp, etiketlenerek üzeri tülle kapatılmış kağıt bardaklar içinde arazi tipi buzluklarda mümkün olan en kısa sürede Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü Vektör Böcekler Araştırma Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvar ortamına yumurta, larva veya pupa olarak getirilen örneklerden ergin popülasyonları elde edilmiştir. Kan emmiş dişi veya gravid dişi örnekleri olarak laboratuvara getirilen örneklerin laboratuvarda yumurtlatılması sağlanmış bu yumurtalardan da ergin popülasyonları elde edilmiştir. WHO insektisit duyarlılık testlerinde, biyokimyasal veya moleküler analizlerde laboratuvarında elde edilen F₁ örnekleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Örneklem lokaliteleri

| Bölge | İl | Numara | Lokalite | Tür | | |
|-----------------|---------------|-----------|-----------|----------------------------|----------------------|-----------------------------|
| | | | | <i>Anopheles sacharovi</i> | <i>Culex pipiens</i> | <i>Ochlerotatus caspius</i> |
| Akdeniz Bölgesi | Osmaniye | 1 | Kadirli | + | | |
| | Kahramanmaraş | 2 | Türkoğlu | + | | |
| | Adana | 3 | Tuzla | | | + |
| | | 4 | Karataş | + | + | |
| | Hatay | 5 | Erzin | | | + |
| | | 6 | Dörtyol | | + | |
| | | 7 | Kırıkhan | + | | |
| | Mersin | 8 | Tarsus | + | + | + |
| | Antalya | 9 | Manavgat | + | + | + |
| | Isparta | 10 | Gelendost | + | | |
| | | 11 | Merkez | | + | + |
| | Burdur | 12 | Bucak | + | | |
| | | 13 | Merkez | | + | + |
| Ege Bölgesi | Afyon | 14 | Sandıklı | + | | |
| | | 15 | Dinar | | + | + |
| | Uşak | 16 | Eşme | + | + | |
| | Denizli | 17 | Sarayköy | + | | |
| | | 18 | Honaz | | + | |
| | | 19 | Acıpayam | | | + |
| | Muğla | 20 | Dalaman | + | + | + |
| | Aydın | 21 | Buharkent | + | | |
| | | 22 | Dalama | | | + |
| | | 23 | Söke | | + | |
| Manisa | 24 | Saruhanlı | | + | | |
| | 25 | Tekeller | | | + | |
| | 26 | Akhisar | + | | | |
| | İzmir | 27 | Selçuk | + | | |



Şekil 3.2. *Anopheles sacharovi*, *Culex pipiens* ve *Ochlerotatus caspius* larva örneklemeleri

3.3. WHO İnektisit Duyarlılık Testleri

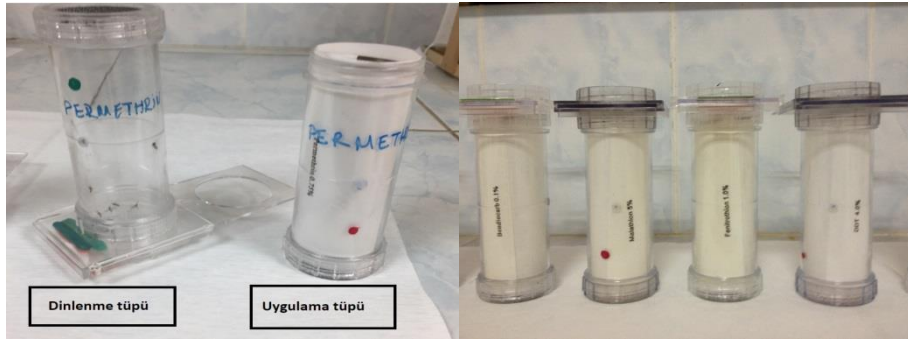
Alansal örnekleme çalışmalarıyla elde edilmiş olan ergin sivrisineklerin duyarlılık ya da dirençlilik düzeyleri WHO tarafından standardize edilen yöntemle göre ve WHO'nun standart inektisit duyarlılık test kitleri Universiti Sains Malasia'dan temin edilerek yapılmıştır (WHO, 1981). Bu kapsamda, WHO'nun standart kitlerinden organoklorlu gruptan DDT (%4), organofosfatlı inektisit grubundan malathion (%5) ve fenitrothion (%1), karbamat grubundan propoxur (0.1) ve bendiocarb (%0.1), pretroidler grubundan permethrin (%0.75) ve deltamethrin (%0.05) inektisitleri kullanılmıştır. Her inektisit çeşidi uygulama tüpü ve bu inektisit kontrol tüpü için 1-3 günlük 20'şer dişi sivrisinek kullanılmış ve üç tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır (Şekil 3.3, 3.4 ve 3.5). İnektisit emdirilmiş kağıtların bulunduğu tüp bölümünde her bir inektisite 1 saat maruz kalma sonrasında sivrisinekler dinlenme tüpüne aktarılmışlar ve 24 saat sonunda dinlenme tüpündeki yaşayan ve ölen bireyler sayılarak 24. saat sonundaki % ölüm oranları hesaplanmıştır. Benzer şekilde kayıtlar kontrol tüpleri için de tutulmuş

ve testler sonucunda ölen ya da canlı kalan örnekler sayılarak mortalite oranları hesaplanmıştır.

Diagnostik testler sonucunda elde edilen ortalama ölüm yüzdelerine göre, ergin dişilerin, %98-100 ölüm aralığına sahip olanları duyarlı, % 90-97 arası ölüm aralığına sahip olanları doğrulanması gereken dirençli ve %90'nin altında ölüm oranına sahip olduğu gözlenenler ise dirençli olmak üzere üç kategoriye ayrılmıştır.



Şekil 3.3. Ergin popülasyonları örnekleme yöntemleri



Şekil 3.4. Duyarlılık testlerinin yapıldığı insektisit emdirilmiş uygulama tüpleri ve dinlenme tüpü



Şekil 3.5. Duyarlılık testi için örneklerin hazırlanması ve testin uygulanması

3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

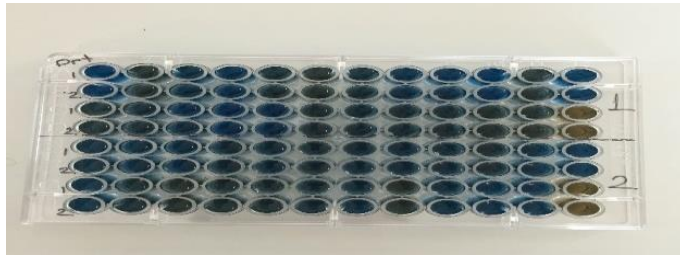
Biyokimyasal analizlerde WHO'nun insektisit direnci izleme rehberleri temel kaynak olarak takip edilmiştir (WHO, 2016) ve Biotek Elx808 mikroplak okuyucu (Biotek instruments, USA) aracılığıyla protein ve enzim tayinleri yapılmıştır. Böylece, farklı popülasyonlardan elde edilmiş olan her bir F₁ sivrisinek örneği için insektisit direncini sağladığı kabul edilen esteraz (alfa naftil asetat, beta naftil asetat ve para nitro fenil asetat substratları ile), glutatyon S transferaz, oksidaz, asetilkolinesteraz enzim aktiviteleri hesaplanmıştır. Örnek sayısının fazla olması nedeniyle analizleri erginleşme sonrası yapılamayan F₁ örnekleri, -80°C'deki derin dondurucuda analizleri yapılmaya kadar saklanmış ve mümkün olan en kısa sürede analizleri gerçekleştirilmiştir. Ependorf tüplerine bireysel olarak yerleştirilen örneklerin üzerine 250 µl homojenizasyon tamponu (50 mM 200 µl sodyum fosfat, pH 7.0) eklenmiştir. Örnekler işlem esnasında çıkan ısı dolayısıyla meydana gelebilecek denatürasyondan korunmak amacıyla buz üzerinde homojenize edilmiş ve pellet pestle motor aracılığıyla homojenizasyon tamponunda iyice ezildikten sonra 10000 g'de +4°C de 10 dakika santrifuj edilmiştir. Enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere hazırlanmış bu homojenatla tüm enzim çalışmaları yapılmıştır. Analizlerde, Vektör Böcekler Araştırma Laboratuvarında uzun yıllardır kolonisini yaptığımız *Anopheles sacharovi* örnekleri için elde edilen değerler duyarlı kontrol grubu değerleri olarak kullanılarak istatistiksel karşılaştırmalar yapılmıştır.

3.4.1. Protein Tayini

Çalışmada örneklerdeki proteinlerin tayinleri Bradford yöntemi ile yapılmıştır (Bradford, 1976). Bradford yönteminde 465 nm’de maksimum absorbans veren, kırmızı renkli ve negatif yüklü Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası kullanılmaktadır. Bu yöntem Coomassie Brilliant G-250 boyasının proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşime girerek renk oluşturması esasına dayanmaktadır. Coomassie Brilliant Blue G-250 proteinlerin pozitif yüklü grupları ile etkileşime girdiğinde mavi renk alır ve 590 nm’de maksimum absorbans verir. İki dakika sonrasında protein yoğunluğuna göre mavi renk oluşur ve renk oluşumu bir saat kararlı kalmaktadır (Şekil 3.6).

Bradford çözeltisinin hazırlanması için 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 tartılarak 50 mL %95’lik etanol içerisinde çözülmüştür. Karıştırıcı yardımıyla iyice karıştırıldıktan sonra üzerine 100 mL %85’lik fosforik asit eklenerek son hacim ultra saf su ile 1 litreye tamamlanmış ve olası çözünmemiş boya kalıntılarının uzaklaştırılması için filtre kağıdında süzerek kullanıma uygun hale getirilmiştir.

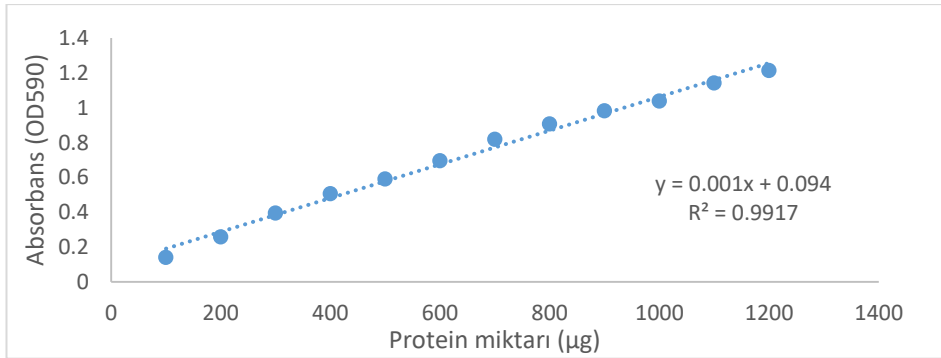
Sivrisineklerden elde edilen homojenatlardan üç tekrarlı olmak üzere, 10’ar μ L 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktarılarak üzerlerine 300 μ L Bradford çözeltisi eklenmiştir. Kör için ise yine üç tekrarlı olmak üzere kuyucuklara 10’ar μ L 50 mM sodyum fosfat tamponu ve 300 μ L Bradford çözeltisi eklenmiştir. Beş dakika inkübasyon süresinden sonra 590 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır.



Şekil 3.6. Bradford yöntemi ile protein miktarlarının belirlenmesi esnasında açığa çıkan mavi renk

3.4.2. Protein Standart Grafiğinin Hazırlanması

Protein standardı olarak sığır serum albümini (BSA) kullanılmıştır. Öncelikle %0.9'luk NaCl (Fizyolojik tuzlu su) kullanılarak, konsantrasyonu 2 mg/mL olan BSA standart stok çözeltisi elde edildikten sonra bu stoktan konsantrasyonu 100-1200 µg/mL arasında olacak şekilde seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerden her bir standart konsantrasyonu için üç tekrarlı olmak üzere, 10'ar µL 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktarılarak üzerlerine 300 µL Bradford çözeltisi eklenmiştir. Kör için ise yine üç tekrarlı olmak üzere kuyucuklara 10'ar µL %0.9'luk NaCl ve 300 µL Bradford çözeltisi eklenmiştir. Beş dakika sonra standartlar 590 nm dalga boyunda okunmuş, konsantrasyona karşı absorbansları veren protein standart grafiğini elde etmek üzere linear regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde, sivrisineklerden elde edilen homojenatlar içerisindeki protein miktarı hesaplanırken de, bu standart grafiğin çiziminden elde edilen $y = 0,001x + 0,094$ (Regresyon kat sayısı, $R^2 = 0,9917$) denkleminde yararlanılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil. 3.7. Protein standart grafiği (100-1200 µg)

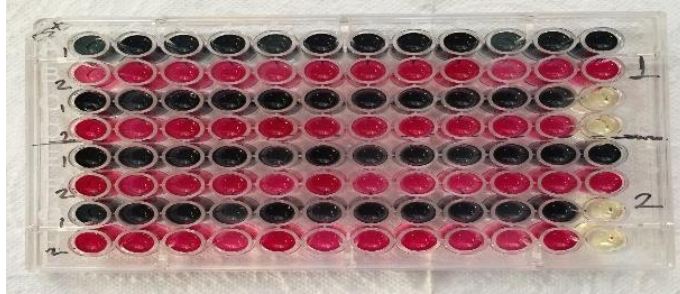
3.4.3. Alfa ve Beta Esteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini

Alfa ve beta esteraz (α -esteraz; β -esteraz) aktivitesi WHO'nun belirlediği yöntem kullanılarak belirlenmiştir (WHO, 2016). Bunun için öncelikle substrat olarak kullanılmak üzere 30 mM alfa naftil asetat (α -NA) ve 30 mM beta naftil asetat (β -NA) stok çözeltisi hazırlanmıştır (0,2793'er g α ve β NA, 50 ml aseton içerisinde çözülerek elde edildi). Elde edilen bu stok çözeltiler, 0,02 M (pH: 7,2) sodyum fosfat tamponu ile 1:100 oranında seyreltilerek α -NA ve β -NA çözeltisi elde edilmiştir. Sivrisineklerden elde edilen homojenatların her birinden iki tekrarlı

olmak üzere 20'şer μL alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktarılarak üzerlerine 200'er μL α -NA ve β -NA çözeltisi eklenmiştir. Benzer şekilde kör içinde iki tekrarlı olarak kuyucuklara 20'şer μL 50 mM sodyum fosfat tamponu alınarak üzerlerine 200'er μL α -NA ve β -NA çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra enzim-substrat etkileşimini durdurmak için üzerlerine 50'şer μL renk reaktifi eklenmiştir (Çizelge 3.2). Bu işlem sonucunda pembe-mor renk oluşmuş ve absorbanlar 570 nm'de okunmuştur (Şekil 3.8). Ürün miktarı alfa ve beta naftol standart eğrisinden hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesi (EU), standart koşullarda 1 dakikada 1 μM substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak ifade edilmiştir. Enzim aktivitesi ve spesifik aktivite ise aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Volüm aktivite (U/mL)} = \frac{\text{Ürün konsantrasyonu } (\mu\text{M}) * \text{Total hacim (mL)}}{\text{inkübasyon süresi (dk)} * \text{Enzim miktarı (mL)}}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = \frac{\text{Volüm aktivite (U/mL)}}{\text{mg protein (mL)}}$$



Şekil 3.8. Alfa ve Beta esteraz enzimlerinin konsantrasyonuna bağlı olarak renk reaktifi ilavesinden sonra oluşan renklenme

Çizelge 3.2. Renk reaktifinin bileşenleri

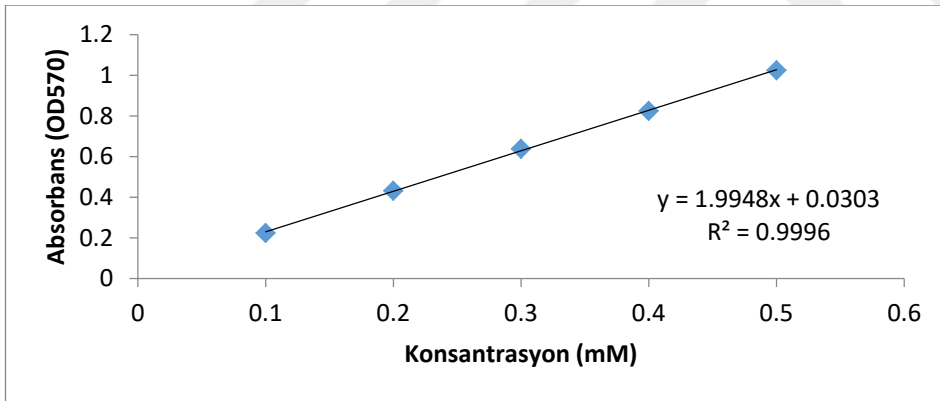
| Kimyasal Madde | Miktar |
|------------------|--------|
| Fast Blue Salt B | 150 mg |
| Distile su | 15 ml |
| %5 SDS | 35 ml |

3.4.4. Alfa ve Beta Naftol Standart Grafiklerinin Hazırlanması

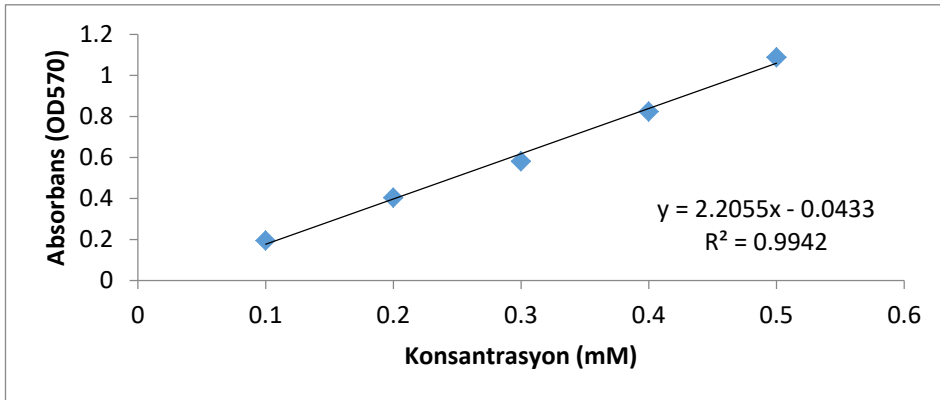
α -esteraz ve β -esteraz enzim aktivitelerinin hesaplanabilmesi için öncelikle bu enzimlerin ürünleri olan α -naftol ve β -naftol'den 1'er mM stok çözeltiler

hazırlanmıştır (0,00144 g α -naftol ve 0,00144 g β -Naftol 1'er mL metanol içerisinde çözülmüştür). Daha sonra elde edilen stok çözeltilerden 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM ve 0,5 mM olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda ara çözeltiler elde edilmiş ve bu ara çözeltilerden 3'er tekrarlı olmak üzere 20'şer μ L alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktarılarak üzerlerine 200'er μ L 20 mM sodyum fosfat tamponu eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra enzim-substrat etkileşimini durdurmak için üzerlerine 50'şer μ L renk reaktifi eklenerek, 570 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır.

5 farklı konsantrasyondaki α -naftol ve β -naftol çözeltilerinin 570 nm dalga boyunda oluşturduğu absorbans değerleri ile elde edilen standart grafik Şekil 3.9 ve 3.10'da verilmiştir.



Şekil. 3.9. Alfa naftol standart grafiği



Şekil. 3.10. Beta naftol standart grafiği

3.4.5. pNPA Esteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini

Esteraz aktivitesinin ölçülmesi için α -NA ve β -NA'a ek olarak bir de para nitro fenil asetat (pNPA) substrat olarak kullanılmıştır. Bu yöntem için de benzer şekilde WHO takip edilmiştir (WHO, 2016). Bunun için öncelikle 100 mM pNPA stok çözeltisi hazırlanmıştır (0,18115 gr pNPA'nın 10 mL asetonitril içerisinde çözülmesiyle elde edilmiştir). Elde edilen stok çözelti 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.4) ile 1:100 oranında seyreltilerek pNPA çözeltisi elde edilmiştir.

Sivrisineklerden elde edilen homojenatların her birinden iki tekrarlı olmak üzere 20'şer μ L alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktararak üzerlerine 200'er μ L pNPA çözeltisi eklenmiştir. Benzer şekilde kör içinde iki tekrarlı olarak kuyucuklara 20'şer μ L 50 mM sodyum fosfat tamponu alınarak üzerlerine 200'er μ L pNPA çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan bu karışımın 405 nm'de verdikleri absorbans değerleri kinetik olarak ölçülmüştür. Oluşan enzim miktarı p-nitro fenol standart eğrisinden hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesi (EU), standart koşullarda 1 dakikada 1 μ M substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak ifade edilmiştir. Enzim aktivitesi ve spesifik aktivite ise aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmıştır.

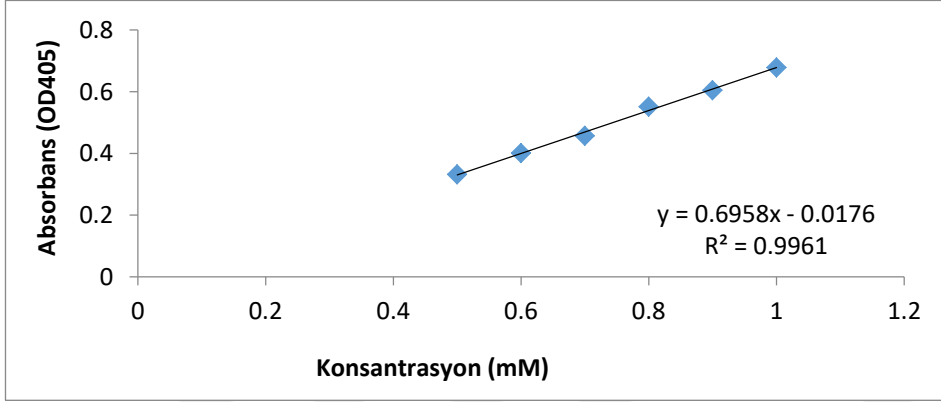
$$\text{Volüm aktivite (U/mL)} = \frac{\text{Ürün konsantrasyonu } (\mu\text{M}) * \text{Total hacim (mL)}}{\text{inkübasyon süresi (dk)} * \text{Enzim miktarı (mL)}}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = \frac{\text{Volüm aktivite (U/mL)}}{\text{mg protein (mL)}}$$

3.4.6. Para Nitro Fenol Standart Grafiğinin Hazırlanması

P-esteraz enzim aktivitesinin hesaplanabilmesi için öncelikle bu enzimin ürünü olan p-nitro fenol'den 10 mM stok çözelti hazırlanmıştır (0,0014 g p-nitrofenol 1 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür). Daha sonra elde edilen stok çözeltilerden 0,5 mM ve 1 mM arasında değişen 5 farklı konsantrasyonda ara çözeltiler edilmiştir. Elde edilen ara çözeltilerden 3'er tekrarlı olmak üzere 20'şer μ L alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktararak 405 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak p-nitro fenol için standart grafik oluşturulmuştur.

Daha sonra konsantrasyonları 0,5 ve 1,00 mM arasında değişen 5 farklı konsantrasyondaki para nitro fenol çözeltilerinin 405 nm dalga boyunda absorbens ölçümleri yapılmıştır. 5 farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbens değerleri ve bu değerlere dayanarak linear regresyon analizi ile elde edilen standart grafikler Şekil 3.11’de verilmiştir.



Şekil. 3.11. p-nitro fenol standart grafiği

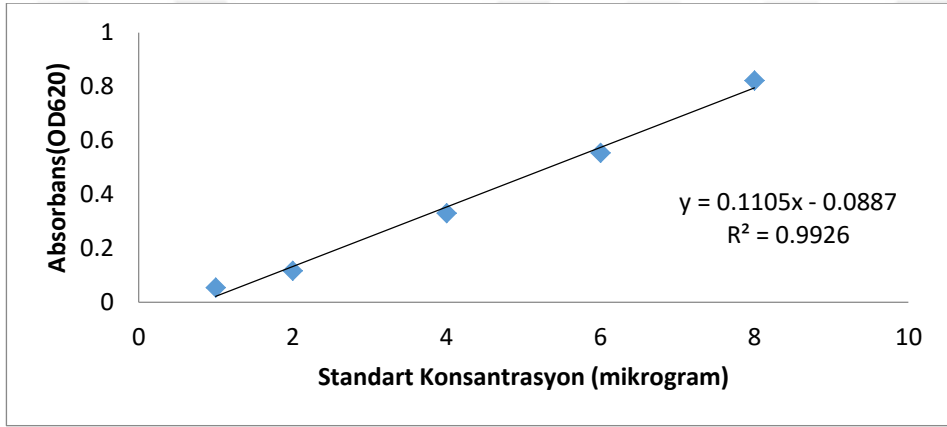
3.4.7. Oksidaz Aktivitesinin Kantitatif Tayini

Oksidaz aktivitesinin belirlenmesinde yine WHO takip edilmiştir (WHO, 2016). Bunun için öncelikle TMBZ (3,3', 5,5'-Tetramethyl-Benzidine Dihydrochloride) çözeltisi hazırlanmıştır (0,01 g TMBZ, 5 mL metanolde çözülmüş daha sonra üzerine 15 mL 0,25 M (pH 5.0) sodyum asetat tamponu eklenmiştir.) Sivrisineklerden elde edilen homojenatların her birinden iki tekrarlı olmak üzere 20'şer µL alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktarılarak üzerlerine 200'er µL TMBZ (3,3',5,5'-Tetramethyl-Benzidine Dihydrochloride) çözeltisi eklenmiştir. Bu karışımın üzerine 25 µL %3'lük H₂O₂ eklenerek 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Benzer şekilde kör içinde iki tekrarlı olarak kuyucuklara 20'şer µL 50 mM sodyum fosfat tamponu alınarak üzerlerine 200'er µL TMBZ çözeltisi, 25'er µL %3'lük H₂O₂ eklenmiştir. Hazırlanan bu karışımın 620 nm'de verdikleri absorbens değerleri spektrofotometrik olarak okunmuştur.

3.4.8. Sitokrom-c Standart Grafiğinin Hazırlanması

Sitokrom c'nin 0,001 g'ı 1 ml 0,25 M (pH 5.0) sodyum asetat tamponunda çözümlenerek konsantrasyonu 1 mg/ml olan stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan

stok çözelti 100 kat seyreltilerek 10 µg/ml'lik yeni çözelti elde edilmiştir. Bu ara çözülden yine seyreltmeler yapılarak konsantrasyonu 1-10 µg/ml arasında değişen çözümler elde edilmiş ve 620 nm dalga boyunda absorbanları okunmuştur. Bilinen konsantrasyonlara ait elde edilen absorban değerleri kullanılarak linear regresyon analizi ile sitokrom c proteinine ait standart grafik elde edilmiştir. Elde edilen standart grafik Şekil 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.12. Sitokrom-C standart grafiği

Diğer enzimlerin miktarını hesaplamada spesifik aktivite ölçümü yapılsa da sitokrom c ölçümü kan proteini ölçümü olduğu için enzim aktivitesi değil, protein miktarı hesaplanarak protein miktarlarının karşılaştırılması gerekmektedir. Bu sebeple elde edilen sitokrom c standart eğrisine ait olan $y = 0.1105x - 0.0887$ grafiğinde y yerine absorban değerleri yazılan örneklerin konsantrasyonlarını x değeri verir. Bu grafikten yararlanılarak her bir örneğe ait mikrogram cinsinden hem protein miktarları daha sonra da bu değer protein miktarına bölünerek, mg protein başına düşen hem protein miktarları hesaplanmıştır.

3.4.9. Glutatiyon-S-Transferaz Aktivitesinin Kantitatif Tayini

Glutatiyon-S-Transferaz aktivitesi WHO'nun izlediği yöntem takip edilerek ölçülmüştür (WHO, 2016). Bunun için öncelikle GSH/CDNB çözeltisi hazırlanmıştır. GSH/CDNB çözeltisinin hazırlanışı Çizelge 3.3'de verilmiştir. Sivrisineklerden elde edilen homojenatların her birinden iki tekrarlı olmak üzere 10'ar µL alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktararak üzerlerine 200'er µL GSH/CDNB çözeltisi eklenmiştir. Benzer şekilde kör içinde iki tekrarlı

olarak kuyucuklara 10'ar μL 50mM sodyum fosfat tamponu alınarak üzerlerine 200'er μL GSH/CDNB çözeltisi eklenmiştir. 20 dakika inkübasyon süresinden sonra hazırlanan bu karışımın 340 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri spektrofotometrik olarak okunmuştur. Bir enzim ünitesi (EU), standart koşullarda 1 dakikada 1 μM substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Volüm aktivite (U/ml)} = \frac{\text{Absorbans} * \text{Toplam hacim (mL)}}{E \text{ (mM}^{-1}\text{)} * \text{Toplam enzim hacmi (mL)} * I \text{ (cm)} * t \text{ (d)}}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = \frac{\text{Volüm aktivite (U/mL)}}{\text{mg protein (mL)}}$$

Formülü kullanılarak Glutathion-S-Transferaz enzim aktivitesi hesaplanmıştır (Ekstinksiyon kat sayısı $\epsilon=4,39 \text{ mM}^{-1}$) olarak belirlenmiştir (WHO, 1998). Böylece spesifik GST aktivitesi EU/mg cinsinden hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3. GSH/CDNB çözeltisinin bileşenleri

| Çözelti | Kimyasal Madde | Miktar | Konsantrasyon |
|---|-----------------------------|----------|---------------|
| GSH | İndirgenmiş glutatyon | 0,0081 g | 10 mM |
| | 0,1M sodyum fosfat tamponu | 2,5 mL | |
| CDNB | 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene | 0,1278 g | 63 mM |
| | Metanol | 10 mL | |
| 2,5 mL GSH çözeltisi ve 125 μL CDNB çözeltisi birbiri ile karıştırılarak GSH/CDNB çözeltisi elde edilmiştir. | | | |

3.4.10. Asetilkolinesteraz Aktivitesinin Kantitatif Tayini

Asetilkolinesteraz aktivitesi WHO'nun uyguladığı yöntem takip edilerek belirlenmiştir (WHO, 2016). Bunun için öncelikle 0,01 M DTNB çözeltisi (0,008 g dithiobis 2-nitrobenzoic asit, 2 mL 100 mM sodyum fosfat (pH 7.0) içerisinde çözülerek) ve 0,01 M ASCHI çözeltisi (0,02 g Acetylcholine iodide'in 5 ml distile su içerisinde çözülmesiyle) hazırlanmıştır. ASCHI çözeltisinin 2,5 ml'si ayrılarak içerisine 5 μL propoxur (0,01 M) eklenmiştir (0,0021 g propoxurun 1 mL aseton içerisinde çözülmesiyle elde edilmiştir). Sivrisineklerden elde edilen homojenatların her birinden iki tekrarlı olmak üzere 25'er μL alınarak 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarına aktararak üzerlerine 145'er μL %1'lik Triton-X-100 çözeltisi (500 μL Triton-X-100'ün 49,5 mL 50 mM sodyum fosfat tamponunda çözülmesi ile elde edilmiştir) eklenmiştir. Daha sonra üzerine 10'ar

μL daha önce elde edilen 0,01 M'lık DTNB çözeltisi eklenmiştir. Son olarak da kuyucuklardan bir tanesine 25 μL propoxur içermeyen, diğerine ise propoxur içeren ASCHI çözeltisi eklenmiştir. Benzer şekilde kör içinde iki tekrarlı olarak kuyucuklara 25'er μL 50 mM sodyum fosfat tamponu alınarak üzerlerine 145'er μL %1'lik Triton-X-100 çözeltisi, 10'ar μL DTNB çözeltisi ve kuyucuklardan bir tanesine 25 μL propoxur içermeyen, diğerine ise propoxur içeren ASCHI çözeltisi eklenmiştir. 1 saat oda sıcaklığında inkübasyon süresinden sonra hazırlanan bu karışımın 405 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri spektrofotometrik olarak okunmuştur.

Elde ettiğimiz absorbans değerleri ile propoxura maruz kalma sonucunda bireylerin asetilkolinesteraz düzeylerinde meydana gelen inhibisyonun yüzde oranları aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır. Buna göre,

Kalan aktivite = $-\left(\frac{\text{Propoxurlu Absorbans}}{\text{Propoxursuz Absorbans}}\right)/100-100$ formülü ile ifade edilmiştir.

3.5. Moleküler Çalışmalar

3.5.1. Örneklerden DNA İzolasyonu

Örnekleme çalışmalarıyla farklı popülasyonlardan elde edilen ve laboratuvar ortamında % 95'lik Etil alkol içeren 15 mL'lik falkon tüplerde +4 °C'de koruma altına alınmış olan her bir örneğin total DNA'sı Invitrogen PureLink genomik DNA izolasyon kiti ile üretici firmanın talimatları takip edilerek izole edilmiştir.

3.5.2. *Anopheles sacharovi* Türlerinde *kdr* Direncinin Belirlenmesi

Anopheles sacharovi türlerine ait *kdr* direncinin belirlenmesi amacıyla hem *Vssc 1* gen bölgesinin PZR yöntemi ile çoğalmasını hem de dirençli/duyarlı alellerin agaroz jel üzerinde belirlenmesi sağlamak üzere alel spesifik primerler tasarlanmıştır (Çizelge 3.4). Her bir birey için SacKDR_F, SacKDR_R, SacKDR_L₁; SacKDR_F, SacKDR_R, SacKDR_L₂; SacKDR_F, SacKDR_R, SacKDR_FA ve SacKDR_F, SacKDR_R, SacKDR_S primer kombinasyonlarını içeren dört PZR, Eppendorf marka 151 döngüleyicide gerçekleştirilmiştir. *kdr* mutasyonunu içeren *Vssc 1* gen bölgesi için hazırlanan PZR reaksiyonu karışımı Çizelge 3.5'de gösterilmiştir. PZR reaksiyon şartları ise ilk denatürasyon: 95 °C, 5

dk; daha sonra 40 döngü denatürasyon: 95 °C 30 sn; bağlanma: 57 °C 1 dk; uzama: 72 °C, 1 dk olarak ısı döngüleyicide gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucu elde edilen ürünler % 2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülenmiştir. Agaroz jel üzerinde elde edilen bant profilleri Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.4. *Anopheles sacharovi*'de *kdr* mutasyonunun belirlenmesi için tasarlanmış alel spesifik primerler

| Primer | Dizi | Tayin Ettiği Aminoasit |
|-----------------------|---------------------------------|------------------------|
| SacKDR_F | GGA TTG AAT CAA TGT GGG ATT GC | - |
| SacKDR_R | AAG GAT GAA GAA CCG AAA TTG GAC | - |
| SacKDR_L ₁ | GCT ACC GTA GTG ATA GGA AAT TTA | Lösin |
| SacKDR_L ₂ | GCT ACC GTA GTG ATA GGA AAT TTG | Lösin |
| SacKDR_FA | GCT ACC GTA GTG ATA GGA AAT TTT | Fenilalanin |
| SacKDR_S | GCT ACC GTA GTG ATA GGA AAT TCG | Serin |

Çizelge 3.5. *Anopheles sacharovi* *kdr* mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan bileşenler

| Reaktifler (Konsantrasyon) | Hacim (µL) |
|-------------------------------------|--------------|
| Tampon (10X) [GeneTaq] | 2.5 |
| dNTP (2.5 mM) [Sigma] | 1 |
| Primerler (20 µM) [Metabion] | 0.3 |
| Taq DNA polimeraz (1.5 U) [GeneTaq] | 0.2 |
| DNA (100 ng) | 1 |
| Distile su | 19.4 |
| Toplam hacim | 25 |

Çizelge 3.6. *Anopheles sacharovi*'de *kdr* mutasyonuna bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profili

| Genotip | Primer | | | | | | Bant profili | |
|---------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|--------------|--------|
| | SacKDR_F | SacKDR_R | SacKDR_L1 | SacKDR_L2 | SacKDR_FA | SacKDR_S | 250 bp | 190 bp |
| L1/L1 | + | + | + | | | | + | + |
| | + | + | | + | | | + | |
| | + | + | | | + | | + | |
| | + | + | | | | + | + | |
| L1/L2 | + | + | + | | | | + | + |
| | + | + | | + | | | + | + |
| | + | + | | | + | | + | |
| | + | + | | | | + | + | |
| L2/L2 | + | + | + | | | | + | |
| | + | + | | + | | | + | + |
| | + | + | | | + | | + | |
| | + | + | | | | + | + | |
| F/F | + | + | + | | | | + | |
| | + | + | | + | | | + | + |
| | | | | | + | | + | |
| | | | | | | + | + | |
| L1/F | + | + | + | | | | + | + |
| | | | | + | | | + | |
| | | | | | + | | + | + |
| | | | | | | + | + | |
| L2/F | + | + | + | | | | + | |
| | | | | + | | | + | + |
| | | | | | + | | + | + |
| | | | | | | + | + | |

Çizelge 3.6. *Anopheles sacharovi*'de *kdr* mutasyonuna bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profili (Devamı)

| Genotip | Primer | | | | | | Bant profili | |
|---------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|--------------|--------|
| | SacKDR_F | SacKDR_R | SacKDR_L1 | SacKDR_L2 | SacKDR_FA | SacKDR_S | 250 bp | 190 bp |
| S/S | + | + | + | | | | + | |
| | | | | + | | | + | |
| | | | | | + | | + | |
| | | | | | | + | + | + |
| L1/S | + | + | + | | | | + | + |
| | | | | + | | | + | |
| | | | | | + | | + | |
| | | | | | | + | + | + |
| L2/S | + | + | + | | | | + | |
| | | | | + | | | + | + |
| | | | | | + | | + | |
| | | | | | | + | + | + |

3.5.3. *Culex pipiens* Türünde *kdr* Direncinin Belirlenmesi

Moleküler analizleri yapılacak olan örneklerin DNA izolasyonları yapıldıktan sonra elde edilen total DNA'dan *kdr* mutasyonu tespiti için primer dizileri Martinez-Torres vd., 1999'den elde edilen, Cgd1: GTGGAAGTTCACCGAAGTTC, Cgd2: GCAAGGCTAAGAAAAGGTTAAG, Cgd3: CCACCGTAGTGATAGGAAATTTA ve Cgd4: CCACCGTAGTGATAGGAAATTTT primerleri kullanılarak her bir birey için Cgd1, Cgd2, Cgd3 ve Cgd1, Cgd2, Cgd4 primer kombinasyonlarını içeren iki PZR Eppendorf marka PZR cihazında gerçekleştirilmiştir. *kdr* mutasyonunu içeren *Vssc 1* gen bölgesi için hazırlanan PZR reaksiyonu karışımı Çizelge 3.7'de gösterilmiştir. Hazırlanan PZR karışımıyla, 0.2 mL PZR tüplerinde Eppendorf marka ısı döngüleyici ile ilk denatürasyon 95 °C'de 15 dakika, daha sonra 40 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 50 °C'de 1 dakika primer bağlanması, 72 °C'de 2 dakika uzama adımlarından oluşan reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72 °C'de 10 dakika ekstra uzama süresi ile reaksiyon devam ettirilmiş ve reaksiyon sonucu elde edilen ürünler %1'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre agaroz jel üzerinde elde edilen bant profilleri Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. *Culex pipiens kdr* mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan reaksiyon içeriği

| Reaktifler (Konsantrasyon) | Hacim (µL) |
|-------------------------------------|--------------|
| Tampon (10X) [GeneTaq] | 2.5 |
| dNTP (2.5 mM) [Sigma] | 1 |
| Primerler (20 µM) [Metabion] | 0.3 |
| Taq DNA polimeraz (1.5 U) [GeneTaq] | 0.3 |
| DNA (100 ng) | 1 |
| Distile su | 19.3 |
| Toplam hacim | 25 |

Çizelge 3.8. *Culex pipiens*'te *kdr* mutasyonuna bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profil

| Genotip | Primer | | | | Bant profili | |
|---------------------------|--------|------|------|------|--------------|------------|
| | Cgd1 | Cgd2 | Cgd3 | Cgd4 | 481-510 bp | 354-383 bp |
| Homozigot duyarlı (SS) | + | + | + | | + | + |
| | + | + | | + | + | |
| Heterozigot dirençli (RS) | + | + | + | | + | + |
| | + | + | | + | + | + |
| Homozigot dirençli (RR) | + | + | + | | + | |
| | + | + | | + | + | + |

3.5.4. *Anopheles sacharovi* Türünde *ace-1* Direncinin Belirlenmesi

Anopheles sacharovi türüne ait *Ace-1* gen bölgesinin çoğaltılması için dizileri Dabire vd. (2014)'den elde edilen Ex3AgF:5'-GATCGTGGACACCGTGTTCG-3' ve Ex3AgR:5'-AGGATGGCCCGCTGGAACAG-3' primerleri kullanılmıştır. Duyarlı ve dirençli bireyleri belirlemek üzere ise alellere özgü primerler olan SacACE_S: TGTGGATCTTCGGCGGCG (Glisin) ve SacACE_R: CTGTGGATCTTCGGCGGCA (Serin) primerleri tasarlanmıştır. Her bir birey için Ex3AgF, Ex3AgR, SacACE_S ve Ex3AgF, Ex3AgR, SacACE_R primer kombinasyonlarını içeren iki PZR Eppendorf marka PZR cihazında gerçekleştirilmiştir. *ace-1* mutasyonunu içeren *Ace-1* gen bölgesi için hazırlanan PZR reaksiyonu karışımı Çizelge 3.9'da gösterilmiştir. PZR reaksiyon şartları ise ilk denatürasyon: 94°C de 5 dk; denatürasyon: 94°C de 30 sn; bağlanma: 58°C de 30 sn; uzama: 72°C de 30 sn olarak 35 döngü şeklinde ısı döngüleyicide gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucu elde edilen ürünler %1'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülenmiştir. Agaroz jel üzerinde elde edilen bant profilleri Çizelge 3.10'de verilmiştir.

Çizelge 3.9. *Anopheles sacharovi ace-1* mutasyonun belirlenmesi için yapılan PZR'de reaksiyon içeriği

| Reaktifler (Konsantrasyon) | Hacim (µL) |
|-------------------------------------|------------|
| Tampon (10X) [GeneTaq] | 2.5 |
| dNTP (2.5 mM) [Sigma] | 1 |
| Primerler (20 µM) [Metabion] | 0.25 |
| Taq DNA polimeraz (1.5 U) [GeneTaq] | 0.25 |
| DNA (100 ng) | 1 |
| Distile su | 19.5 |
| Toplam hacim | 25 |

Çizelge 3.10. *Anopheles sacharovi*'de *ace-1* direncine bağlı olarak agaroz jel üzerinde elde edilen bant profili

| Genotip | Primer | | | | Bant profili | |
|---------------------------|--------|--------|----------|----------|--------------|--------|
| | Ex3AgF | Ex3AgR | SacACE_S | SacACE_R | 500 bp | 400 bp |
| Homozigot duyarlı (SS) | + | + | + | | + | + |
| | + | + | | + | + | |
| Heterozigot dirençli (RS) | + | + | + | | + | + |
| | + | + | | + | + | + |
| Homozigot dirençli (RR) | + | + | + | | + | |
| | + | + | | + | + | + |

3.5.5. *Culex pipiens* Türünde *ace-1* Direncinin Belirlenmesi

ace-1 (G119S) mutasyonlarının tespiti için ACE-F: 5'-CCGGGNGCSACYATGT GGAA-3' ve ACE-R: 5'-ACGATMACGTTCTCYTCCGA-3' primerleri kullanılarak (Weill vd., 2004a) PZR reaksiyonu ile *Ace-1* gen bölgesinin 194 bp uzunluğundaki bir kısmı çoğaltılmıştır. Daha sonra *Alu-I* restriksiyon enzimi ile restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizm (RFLP) analizi için reaksiyon gerçekleştirilmiştir. *Alu-I*, AGCT dizisini tanıyan bir restriksiyon endonükleazdır ve GC bazları arasından kesim yapar. Yabancıl bireylerde bu bölge GGC dizisinden oluştuğu için kesim olmamıştır. Mutasyon varlığında ise bu bölge AGC dizisinden oluştuğu için kesim gerçekleşmiştir.

ace-1 mutasyonunu içeren *Ace-1* gen bölgesi için hazırlanan PZR reaksiyonu karışımı Çizelge 3.11'de gösterilmiştir. PZR reaksiyon şartları ise ilk denatürasyon: 94°C de 5 dk; denatürasyon: 94°C de 30 sn; bağlanma: 54°C de 30 sn; uzama: 72°C, 1 dk olarak 30 döngü şeklinde ısı döngüleyicide gerçekleştirilmiştir. RFLP içeriği ise 2 mL 10X tampon, 1 mL *Alu-I* enzim (2U), 2 mL BSA (0,1 mg/ml), 15 mL PZR ürünü ve 5 mL distile sudan oluşmuştur. Elde edilen bu karışım daha sonra 37°C'de 4 saat inkübasyona bırakılmış ve kesim reaksiyonu 65 °C'de 20 dakikalık inkübasyon ile birlikte durdurulmuştur. Kesim reaksiyonunun ardından kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür.

Çizelge 3.11. *Cx. pipiens ace-1* mutasyonunun belirlenmesi için yapılan PZR'de kullanılan bileşenler

| Reaktifler (Konsantrasyon) | Hacim (µL) |
|-------------------------------------|--------------|
| Tampon (10X) [GeneTaq] | 2.5 |
| dNTP (2.5 mM) [Sigma] | 1 |
| Primerler (20 µM) [Metabion] | 0.3 |
| Taq DNA polimeraz (1.5 U) [GeneTaq] | 0.2 |
| DNA (100 ng) | 1 |
| Distile su | 19.7 |
| Toplam hacim | 25 |

3.5.6. *Ochlerotatus caspius* Türünde *ace-1* Direncinin Belirlenmesi

ace-1 (G119S) mutasyonlarının tespiti için ACE-F: 5'-CCGGGNGCSACYATGT GGAA-3' ve ACE-R: 5'-ACGATMACGTTCTCYTCCGA-3' primerleri

kullanılarak (Weill vd., 2004a) PZR reaksiyonu ile *Ace-1* gen bölgesinin 194 bç uzunluğunda bir bölgesi çoğaltılmıştır.

ace-1 mutasyonunu içeren *Ace-1* gen bölgesi için hazırlanan PZR reaksiyonu karışımı *Cx. pipiens* için hazırlanan PZR karışımına benzerlik göstermektedir ve Çizelge 3.11’de gösterilmiştir. PZR reaksiyon şartları ise yine benzer şekilde ilk denatürasyon: 94°C de 5 dk; denatürasyon: 94°C de 30 sn; bağlanma: 54°C de 30 sn; uzama: 72°C de 1 dk olarak 30 döngü şeklinde ısı döngüleyicide gerçekleştirilmiştir.

3.5.7. Verilerin İstatistiksel Analizleri

Biyokimyasal analiz verileri Kruskal-Wallis non-parametik test (Statistica 7.0) kullanılarak popülasyonlar arasındaki enzimatik farklılıklar karşılaştırılmıştır. Her popülasyonun *kdr* ve *ace-1* frekanslarının Hardy Weinberg (HW) dengesinde olup olmadığı kesin olasılık testi (exact probability test) ile analiz edilmiştir. Türler ve popülasyonların genotip frekansları, alel frekansları, beklenen/gözlenen homozigotluk/heterozigotluk oranları ve HW dengesi POPGENE bilgisayar programı kullanılarak hesaplanmıştır (Yeh vd.,1999).

4. BULGULAR

4.1. WHO İnektisit Duyarlılık Testi Sonuçları

Anopheles sacharovi türünün Akdeniz Bölgesi'nde, Osmaniye'nin Kadirli, Kahramanmaraş'ın Türkoğlu, Hatay'ın Kırıkhan, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Bucak ve Isparta'nın Gelendost olmak üzere 8 lokalitesi için inektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.1). Osmaniye'nin Kadirli lokalitesinin permethrin ve deltamethrin için mortalite oranı sırasıyla %96,6 ve %95; bendiocarb ve propoxur için sırasıyla %83,3 ve %85; malathion ve fenitrothion için sırasıyla %73,3 ve 78,3; DDT için ise % 73,3'tür. Kadirli popülasyonu testi yapılan bütün inektisitlere karşı dirençlidir. Kahramanmaraş Türkoğlu popülasyonunun permethrin ve deltamethrin için mortalite oranları sırasıyla %98,3 ve %100 olup bu popülasyon permethrin ve deltamethrin'e karşı duyarlıdır. Türkoğlu popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion ve bendiocarb için mortalite oranları % 78,3-85 arasında değişmekte olup bu inektisitlere karşı dirençli olduğu görülmektedir. Propoxur için ise mortalite oranı %95'dir. Bu oran olası bir dirence işaret etmektedir. Hatay Kırıkhan popülasyonunun pretroidli inektisitlere karşı mortalite oranları kritik %90 sınırını aşmıştır. Hem permethrin hem de deltamethrin için %95 olan mortalite oranı olası bir direncin varlığını göstermektedir. Kırıkhan popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %76,6-83,3 arasında değişmektedir ve bu inektisitlere karşı dirençlidir. Benzer şekilde Mersin Tarsus popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %73,3-86,6 arasında değişmektedir ve popülasyon bu inektisitlere karşı dirençlidir. Tarsus popülasyonunun deltamethrin ve permethrin için mortalite oranları sırasıyla %91,6 ve %96,6'dır ve bu iki pretroidli inektisite karşı direnç geliştirmek üzeredir. Hassasiyet testi sonuçları Adana Karataş ve Antalya Manavgat popülasyonları için her bir inektisite karşı benzer mortalite oranları ortaya koymuştur. Adana Karataş popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %65-85; Antalya Manavgat popülasyonu için ise %55-58,3 arasında değişmektedir ve her iki popülasyon da bu inektistlere karşı dirençlidir. Hem Karataş hem Manavgat popülasyonlarının permethrin için mortalite oranları %98,3 olup bu popülasyonlar permethrin'e karşı duyarlıdır. Ancak, her iki popülasyonun da deltamethrin'e karşı olası bir direnç gelişimi göstermekte olduğu tespit edilmiştir. Burdur Bucak popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion,

bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %58,3-80 arasında değişmektedir ve bu insektisitlere karşı direnç gelişimi söz konusudur. Ancak, Bucak popülasyonu henüz hem deltamethrin hem de permethrin'e karşı duyarlıdır. Isparta Gelendost popülasyonu ise Akdeniz popülasyonlarının büyük çoğunluğunda olduğu gibi DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur'a karşı dirençli olmakla birlikte, permethrin'e karşı sınırdaki dirençli, deltamethrin'e karşı ise henüz duyarlıdır.

Çizelge 4.1. Akdeniz Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örnekleme Lokalitesi | | insektisit | | | | | | | |
|----------------------|-----------|----------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| | | 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | |
| Adana | Karataş | 65 | 76,6 | 81,6 | 83,3 | 85 | 98,3 | 95 | 1,6 |
| Antalya | Manavgat | 55 | 58,3 | 58,3 | 58,3 | 65 | 98,3 | 96,6 | 3,33 |
| Burdur | Bucak | 58,3 | 61,6 | 61,6 | 73,3 | 80 | 98,3 | 100 | 0 |
| Hatay | Kırıkhan | 81,6 | 76,6 | 83,3 | 81,6 | 80 | 95 | 95 | 0 |
| Isparta | Gelendost | 85 | 81,6 | 85 | 88,3 | 81,6 | 96,6 | 100 | 1,6 |
| Kahramanmaraş | Türkoğlu | 78,3 | 83,3 | 83,3 | 85 | 95 | 98,3 | 100 | 1,6 |
| Mersin | Tarsus | 73,3 | 80 | 80 | 80 | 86,6 | 96,6 | 91,6 | 1,6 |
| Osmaniye | Kadirli | 73,3 | 80 | 78,3 | 83,3 | 85 | 96,6 | 95 | 0 |

Anopheles sacharovi türünün Ege Bölgesi'nde, Afyon'un Sandıklı, Uşak'ın Eşme, Denizli'nin Sarayköy, Aydın'ın Buharkent, Muğla'nın Dalaman, İzmir'in Selçuk ve Manisa'nın Akhisar olmak üzere 7 lokalitesi için insektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.2). Afyon'un Sandıklı lokalitesinin permethrin ve deltamethrin'e karşı mortalite oranları %98,3 ve %100 olup bu popülasyon pretroidli insektisitler açısından duyarlıdır. Bendiocarb ve propoxur'a karşı %91,6 olan mortalite oranı bu popülasyonun olası bir direnç geliştirmekte olduğuna işaret etmektedir. DDT, malathion ve fenitrothion'a karşı ise mortalite oranları sırasıyla %78,3, %83,3 ve %88,3 olup, popülasyon bu insektisitlere karşı dirençlidir. Uşak Eşme popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %70-81,6 arasında; Denizli Sarayköy popülasyonunun ise bu insektisitler için mortalite oranları %76,6-81,6 arasında değişmektedir. Verilen insektisitler için her iki popülasyon da dirençlidir. Benzer şekilde, her iki

popülasyonunun da permethrin için mortalite oranları %96,6'dır ve bu oran olası bir direncin varlığına işaret etmektedir. Yine her iki popülasyonun da deltamethrin'e karşı olan %98,3'lük mortalite oranı bu popülasyonların deltamethrin'e karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. Aydın'ın Buharkent popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %73,3 ve % 88,3 arasında değişmektedir. Buharkent popülasyonu bu dört insektisite karşı dirençlidir. Deltamethrin ve permethrin için görülen sırasıyla %96,6 ve %95 mortalite oranı ise bu popülasyonda olası bir permethrin direncini göstermektedir. Manisa Akhisar popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %71,6-85 arasında; Muğla Dalaman popülasyonunun ise bu insektisitler için mortalite oranları %81,6-88,3 arasında değişmektedir. Verilen insektisitler için her iki popülasyon da dirençlidir. Benzer şekilde, her iki popülasyonunun da deltamethrin için mortalite oranları %96,6'dır ve bu oran olası bir direncin varlığına işaret etmektedir. Yine her iki popülasyonun da permethrin için mortalite oranı %98,3'tür ve bu popülasyonlar permethrin'e karşı duyarlıdır. Son olarak İzmir Selçuk popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %78,3 ve % 88,3 arasında değişmektedir. Selçuk popülasyonu bu dört insektisite karşı da dirençlidir. Popülasyonun hem permethrin hem de deltamethrin için mortalite oranı %98,3 olup, her iki insektisite karşı da henüz duyarlıdır.

Çizelge 4.2. Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örnekleme Lokalitesi | | İnsektisit | | | | | | | |
|---|-----------|------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | | | |
| Afyon | Sandıklı | 78,3 | 83,3 | 88,3 | 91,6 | 91,6 | 98,3 | 100 | 1,6 |
| Aydın | Buharkent | 73,3 | 86,6 | 86,6 | 88,3 | 83,3 | 96,6 | 95 | 0 |
| Denizli | Sarayköy | 76,6 | 81,6 | 78,3 | 80 | 81,6 | 96,6 | 98,3 | 0 |
| İzmir | Selçuk | 78,3 | 81,6 | 83,3 | 88,3 | 85 | 98,3 | 98,3 | 1,6 |
| Muğla | Dalaman | 85 | 81,6 | 86,6 | 88,3 | 85 | 98,3 | 96,6 | 1,6 |
| Manisa | Akhisar | 71,6 | 78,3 | 78,3 | 83,3 | 85 | 98,3 | 96,6 | 0 |
| Uşak | Eşme | 70 | 78,3 | 76,6 | 81,6 | 80 | 96,6 | 98,3 | 0 |

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi'nde, Hatay'ın Dört Yol, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Merkez ve Isparta'nın Merkez olmak üzere 6 lokalitesi için insektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.3). Adana Karataş popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %73,3-83,3 arasında; Mersin Tarsus popülasyonunun ise bu insektisitler için mortalite oranları %71,6-83,3 arasında değişmektedir. Her iki popülasyon da bu dört insektisite karşı dirençlidir. Tarsus'da deltamethrin için, Karataş'da permethrin için olan %91,6 ve Tarsus'da permethrin için, Karataş'da deltamethrin için olan %95 mortalite oranı bu popülasyonların permethrin grubundaki insektisitlere karşı muhtemel bir direnç geliştirmekte olduğunu göstermektedir. Antalya Manavgat popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %71,6-80 arasında değişmektedir ve bu insektisitlere karşı Manavgat popülasyonu dirençlidir. Mortalite oranları permethrin için %96,6, deltamethrin için % 95'tir. Bu oran Manavgat popülasyonunun pretroidli insektisitler için direnç geliştirmekte olduğuna işaret etmektedir. Hatay Dört Yol popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %75-78,3 arasında; Isparta Merkez popülasyonunun ise bu insektisitler için mortalite oranları %76,6-80 arasında değişmektedir. Her iki popülasyon da bu dört insektisite karşı dirençlidir. Dört Yol'da hem permethrin hem deltamethrin için mortalite oranı %93,3 iken; Isparta Merkez'de permethrin için %96,6, deltamethrin için ise %93,3'dür. Bu oranlar bu popülasyonların hem permethrin hem de deltamethrine karşı muhtemel bir direnç geliştirmekte olduğunu göstermektedir. Burdur Merkez popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları %78,3-81,6 arasında değişmektedir ve popülasyon bu insektisitlere karşı dirençlidir. Mortalite oranları permethrin için %98,3; deltamethrin için ise %100'dür. Buna göre Burdur Merkez popülasyonu hem permethrin hem de deltamethrin'e karşı duyarlıdır.

Çizelge 4.3. Akdeniz Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örnekleme Lokalitesi | | insektisit | | | | | | | |
|----------------------|----------|----------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| | | 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | |
| Adana | Karataş | 73,3 | 71,6 | 78,3 | 83,3 | 81,6 | 91,6 | 95 | 1,6 |
| Antalya | Manavgat | 73,3 | 78,3 | 71,6 | 78,3 | 80 | 96,6 | 95 | 3,3 |
| Burdur | Göhlisar | 85 | 81,6 | 81,6 | 80 | 78,3 | 98,3 | 100 | 0 |
| Mersin | Tarsus | 71,6 | 75 | 80 | 71,6 | 83,3 | 95 | 91,6 | 3,3 |
| Isparta | Merkez | 76,6 | 80 | 78,3 | 78,3 | 76,6 | 96,6 | 93,3 | 1,6 |
| Hatay | Dörtöyol | 75 | 76,6 | 76,6 | 78,3 | 78,3 | 93,3 | 93,3 | 0 |

Culex pipiens türünün Ege Bölgesi'nde, Afyon'un Dinar, Denizli'nin Honaz, Muğla'nın Dalaman, Aydın'ın Söke, Manisa'nın Saruhanlı ve Uşak'ın Eşme olmak üzere 6 lokalitesi için insektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.4). DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları Afyon'un Dinar popülasyonu için sırasıyla %71,6-83,3 arasında; Aydın Söke popülasyonu için sırasıyla %76,6-83,3 arasında; Manisa Saruhanlı popülasyonu için ise sırasıyla %75- 80 arasında değişmekte olup her üç popülasyon da DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur'a karşı dirençlidir. Dinar ve Söke popülasyonlarının hem deltamethrin için hem permethrin için ise mortalite oranları %98,3'dür. Bu sonuç Dinar ve Söke popülasyonlarının pretroidli insektisitlere karşı henüz duyarlı olduğunu göstermektedir. Saruhanlı'da ise her iki pretroid grubuna karşı %96,6'dır ve bu popülasyonun olası bir direnç kazanmak üzere olduğunu göstermektedir. Muğla Dalaman popülasyonunun DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları % 71,6-88,3 arasında değişmektedir. Popülasyon deltamethrin için %95, permethrin için ise %96,6 mortalite oranına sahiptir. Bu oranlar, Dalaman popülasyonunun da pretroidli insektisitlere karşı muhtemel direncin gelişmekte olduğuna işaret etmektedir. Denizli Honaz ve Uşak Eşme popülasyonlarında DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları sırasıyla %75-81,6 arasında ve %78,3-83,3 arasında değişmektedir. Her iki popülasyonda bu 4 insektisite karşı dirençlidir. Pretroid grubundaki permethrin ve deltamethrin için

ise her iki popülasyonun da mortalite oranları sırasıyla %95 ve %96'dır. Bu oranlar Honaz ve Eşme popülasyonlarında da pretroidli insektisitlere karşı muhtemel direncin gelişmekte olduğuna işaret etmektedir.

Çizelge 4.4. Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örneklem Lokalitesi | | insektisit | | | | | | | |
|---|--------------|------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | | | |
| Afyon | Dinar | 71,6 | 76,6 | 78,3 | 83,3 | 81,6 | 98,3 | 98,3 | 1,6 |
| Aydın | Söke | 81,6 | 76,6 | 81,6 | 83,3 | 83,3 | 98,3 | 98,3 | 1,6 |
| Manisa | Hacıhaliller | 75 | 76,6 | 76,6 | 80 | 80 | 96,6 | 96,6 | 3,3 |
| Muğla | Dalaman | 71,6 | 81,6 | 81,6 | 88,3 | 83,3 | 96,6 | 95 | 0 |
| Denizli | Honaz | 76,6 | 75 | 80 | 85 | 81,6 | 95 | 96,6 | 3,3 |
| Uşak | Eşme | 78,3 | 81,6 | 78,3 | 81,6 | 83,3 | 95 | 96,6 | 0 |

Ochlerotatus caspius türünün Akdeniz Bölgesi'nde, Adana'nın Tuzla, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Merkez, Hatay'ın Erzin ve Mersin'in Tarsus olmak üzere 5 lokalitesi için insektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.5). DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları Adana'nın Tuzla popülasyonu için sırasıyla %71,6-81,6 arasında; Antalya'nın Manavgat popülasyonu için sırasıyla %70-80 arasında; Burdur Merkez popülasyonu için sırasıyla %73,3-78,3 arasında; Hatay Erzin popülasyonu için sırasıyla %73,3-80 ve Mersin Tarsus popülasyonu için ise %68,3-80 arasında değişmekte olup her üç popülasyon da DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur'a karşı dirençlidir. Benzer şekilde Permethrin için mortalite oranları sırasıyla %95, %91,6, %91,6, 96,6 ve 93,3 deltamethrin için ise %93,3, %90, %95, %93,3 ve %91,6'dır. Bu oranlar permethrin ve deltamethrin'e karşı bütün Akdeniz Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının direnç geliştirmekte olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Akdeniz Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örnekleme Lokalitesi | | insektisit | | | | | | | |
|----------------------|----------|----------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| | | 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | |
| Adana | Tuzla | 71,6 | 71,6 | 78,3 | 81,6 | 80 | 95 | 93,3 | 0 |
| Antalya | Manavgat | 70 | 71,6 | 78,3 | 78,3 | 80 | 91,6 | 90 | 3,3 |
| Burdur | Merkez | 73,3 | 75 | 78,3 | 78,3 | 78,3 | 91,6 | 95 | 0 |
| Hatay | Erzin | 75 | 73,3 | 80 | 76,6 | 78,3 | 96,6 | 93,3 | 1,6 |
| Mersin | Tarsus | 68,3 | 71,6 | 76,6 | 78,3 | 80 | 93,3 | 91,6 | 0 |

Ochlerotatus caspius türünün Ege Bölgesi'nde, Manisa'nın Tekeller, Muğla'nın Dalaman, Aydın'ın Dalama ve Afyon'un Dinar olmak üzere 4 lokalitesi için insektisit hassasiyet testleri yapılmıştır (Çizelge 4.6). DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur için mortalite oranları Manisa Tekeller popülasyonu için sırasıyla %71,6-81,6 arasında; Antalya'nın Manavgat popülasyonu için sırasıyla %70-80 arasında; Muğla Dalaman popülasyonu için %71,6-81,6 arasında; Afyon Dinar popülasyonu için %76,6-81,6 arasında ve Aydın Dalama popülasyonu için ise %71,6-78,3 arasında değişmekte olup bu popülasyonlar DDT, malathion, fenitrothion, bendiocarb ve propoxur'a karşı dirençlidir. Dinar popülasyonunda deltamethrine karşı görülen %98,3'lük mortalite oranı bu popülasyonun deltamethrine karşı duyarlı olduğunu, geriye kalan popülasyonlarda görülen mortalite oranları ise diğer tüm *Oc. caspius* popülasyonlarının hem deltamethrin hem de permethrine karşı olası direnç geliştirmekte olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.6. Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının hassasiyet testi sonuçları

| Örnekleme Lokalitesi | | insektisit | | | | | | | |
|----------------------|----------|----------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | DDT (%4) | Malathion (%5) | Fenitrothion (%1) | Bendiocarb (%0.1) | Propoxur (0.1) | Permethrin (%0.75) | Deltamethrin (%0.05) | Kontrol |
| | | 24. saat sonrası ortalama % ölüm | | | | | | | |
| Manisa | Tekeller | 71,6 | 73,3 | 78,3 | 78,3 | 81,6 | 96,6 | 96,6 | 3,3 |
| Muğla | Dalaman | 75 | 71,6 | 78,3 | 81,6 | 81,6 | 96,6 | 95 | 1,6 |
| Aydın | Dalama | 71,6 | 73,3 | 78,3 | 78,3 | 78,3 | 91,6 | 95 | 1,6 |
| Afyon | Dinar | 76,6 | 76,6 | 80 | 80 | 81,6 | 96,6 | 98,3 | 1,6 |

4.2. İnsektisit Direncini Sağlayan Biyokimyasal Mekanizmalar ve Enzimatik Aktivite Sonuçları

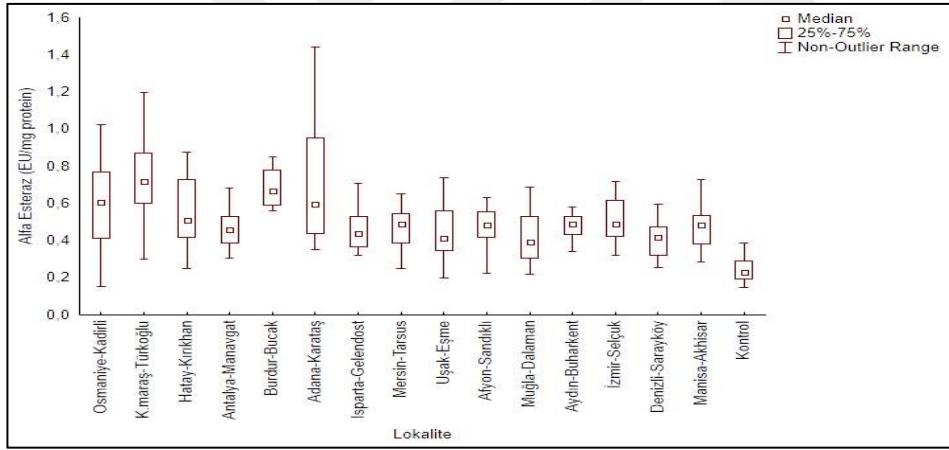
4.2.1. Esteraz Aktivitesi

Esterazlardan kaynaklanan direnci belirlemek amacıyla esterazların üç farklı substratı olan para nitro fenil asetat, alfa naftil asetat ve beta naftil asetat kullanılarak enzimatik aktivite ölçümleri yapılmıştır.

4.2.1.1. Alfa Esteraz aktivitesi

Anopheles sacharovi türünün Akdeniz Bölgesi'nde, Osmaniye'nin Kadirli, Kahramanmaraş'ın Türkoğlu, Hatay'ın Kırıkhan, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Bucak ve Isparta'nın Gelendost olmak üzere 8 lokalitesinden elde edilen popülasyonların alfa esteraz enzim aktivitesi sonuçları EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının alfa esteraz enzimi için spesifik enzim aktiviteleri 0,414 EU/mg protein ile 0,720 EU/mg protein arasında değişmektedir. Kontrol grubu için 0,230 EU/ mg protein olarak hesaplanan spesifik enzim aktivitesi ile kıyaslandığında popülasyonların tamamında alfa esteraz enzimi açısından kontrol grubuna göre artış vardır ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

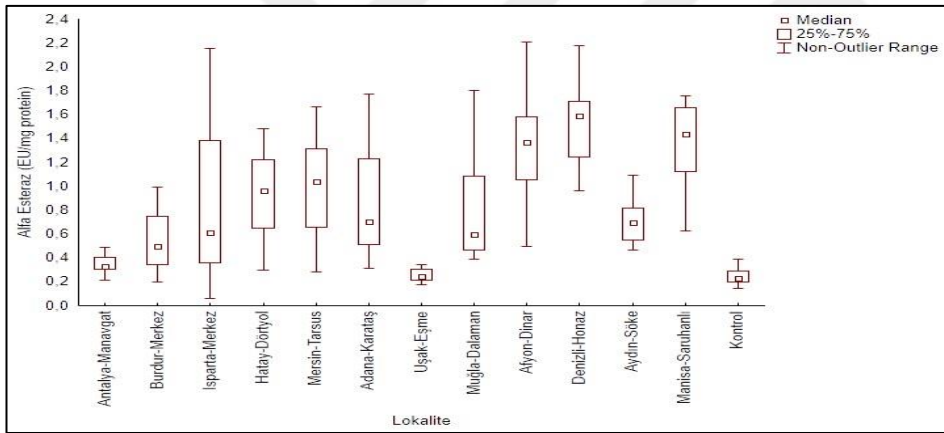
Anopheles sacharovi türünün Ege Bölgesi'nde, Afyon'un Sandıklı, Uşak'ın Eşme, Denizli'nin Sarayköy, Aydın'ın Buharkent, Muğla'nın Dalaman, İzmir'in Selçuk ve Manisa'nın Akhisar olmak üzere 7 lokaliteden elde edilen popülasyonların alfa esteraz enzim aktivitesi sonuçları EU/mg protein cinsinden hesaplanmıştır. *An. sacharovi* Ege Bölgesi popülasyonlarının alfa esteraz spesifik enzim aktiviteleri 0,393 EU/mg protein ile 0,489 EU/mg protein arasında değişmektedir. Sonuçlar, kontrol grubuna kıyasla Ege Bölgesi'nin bütün popülasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgeleri *An. sacharovi* popülasyonlarının alfa esteraz medyan spesifik enzim aktivitelerini Şekil 4.1 göstermektedir.



Şekil 4.1. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi içerisinde yer alan Hatay'ın Dört Yol, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Merkez ve Isparta'nın Merkez olmak üzere 6 lokalitesinden örneklenen popülasyonların alfa esteraz enzim aktivitesi sonuçları EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının alfa esteraz enzim aktiviteleri 0,325 EU/mg protein ile 1,041 EU/mg protein arasında değişmektedir. Kontrol grubunun enzim aktivitesine kıyasla sadece 0,325 EU/mg protein enzimatik aktiviteye sahip olan Antalya Manavgat popülasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmamaktadır ($p>0,05$). Diğer popülasyonlardaki enzimatik aktivite artışı ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Ege Bölgesi'nde Afyon'un Dinar, Denizli'nin Honaz, Muğla'nın Dalaman, Aydın'ın Söke, Manisa'nın Saruhanlı ve Uşak'ın Eşme olmak üzere 6 lokaliteden elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarının alfa esteraz medyan spesifik enzim aktiviteleri 0,246 EU/mg protein ile 1,590 EU/mg protein arasında değişmektedir. 0,230 EU/mg protein spesifik enzim aktivitesine sahip kontrol grubuna kıyasla sadece Uşak Eşme popülasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamıştır ($p>0,05$). Ege Bölgesi'ndeki diğer 5 *Cx. pipiens* popülasyonunda alfa esteraz enzimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarının alfa esteraz enzim aktiviteleri Şekil 4.2'de verilmiştir.

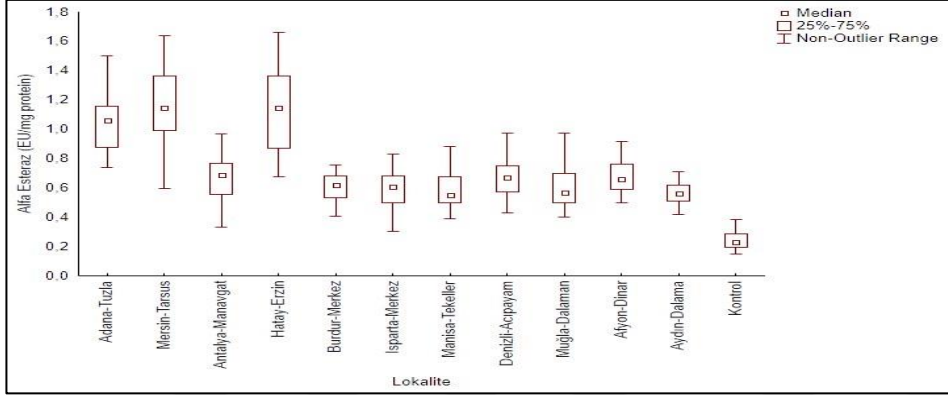


Şekil 4.2. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri

Akdeniz Bölge'sinin Adana Tuzla, Antalya Manavgat, Burdur Merkez, Isparta Merkez, Hatay Erzin ve Mersin Tarsus olmak üzere 6 lokalitesinden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonlarına ait bireylerin medyan alfa esteraz spesifik enzim aktivitesi sonuçları 0,620 EU/mg protein ile 1,148 EU/mg protein arasında değişmektedir. Elde edilen bu değerler bütün popülasyonların kontrol grubuna kıyasla alfa esteraz enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Ege Bölgesi içerisinde yer alan Manisa Tekeller, Muğla Dalaman, Aydın Dalama, Denizli Acıpayam ve Afyon Dinar olmak üzere toplamda 5 lokaliteden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonlarının medyan alfa esteraz spesifik enzim aktiviteleri 0,548 EU/mg protein ile 0,672 EU/mg protein arasında değişmiştir. 0,230 EU/mg

protein olarak hesaplanan kontrol grubunun spesifik enzim aktivitesine kıyasla Ege Bölgesi popülasyonlarının tamamında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının alfa esteraz enzim aktiviteleri Şekil 4.3’de verilmiştir.

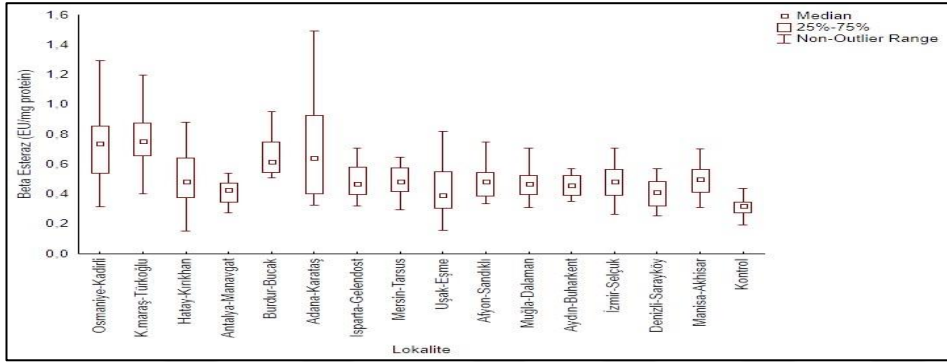


Şekil 4.3. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının medyan spesifik alfa esteraz aktiviteleri

4.2.1.2. Beta Esteraz aktivitesi

Akdeniz Bölgesi’nde, *Anopheles sacharovi* türünün Osmaniye’nin Kadirli, Kahramanmaraş’ın Türkoğlu, Hatay’ın Kırıkhan, Adana’nın Karataş, Mersin’in Tarsus, Antalya’nın Manavgat, Burdur’un Bucak ve Isparta’nın Gelendost popülasyonlarına ait beta esteraz enzim aktiviteleri EU/mg protein cinsinden hesaplanmıştır. Beta esteraz spesifik aktivitelerinin medyan değerleri 0,425 EU/mg protein ile 0,752 EU/mg protein arasında değişmiştir. Kontrol grubunun sahip olduğu 0,319 EU/ mg protein spesifik beta esteraz enzim aktivitesine kıyasla Akdeniz bölgesi popülasyonlarının tamamında istatistiksel olarak anlamlı bir beta esteraz enzim aktivitesi artışı olmuştur ($p<0,05$).

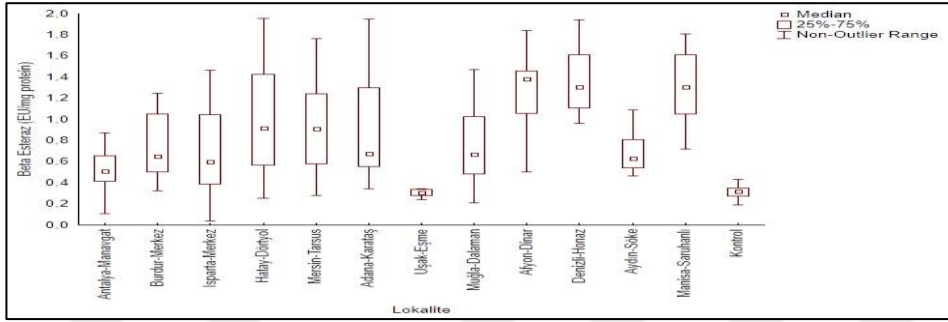
Ege Bölgesi’nde ise Afyon Sandıklı, Uşak Eşme, Denizli Sarayköy, Aydın Buharkent, Muğla Dalaman, İzmir Selçuk ve Manisa Akhisar *An. sacharovi* popülasyonlarının medyan beta esteraz enzim aktiviteleri 0,394 EU/ mg protein ile 0, 497 EU/mg protein arasında değişmiş ve bütün popülasyonlar kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı bir enzimatik aktivite artışı göstermiştir ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının medyan beta esteraz aktiviteleri Şekil 4.4’da verilmiştir.



Şekil 4.4. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan spesifik beta esteraz aktivitelele

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi içerisinde yer alan Hatay'ın Dört Yol, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Merkez ve Isparta'nın Merkez olmak üzere 6 lokalitesinden örneklelenen popülasyonların tamamının medyan beta esteraz enzim aktivitelele kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p < 0,05$). Akdeniz bölgesi popülasyonlarının medyan spesifik beta esteraz enzim aktivitelele 0,508 EU/mg protein ile 0,915 EU/mg protein arasında değişmiştir.

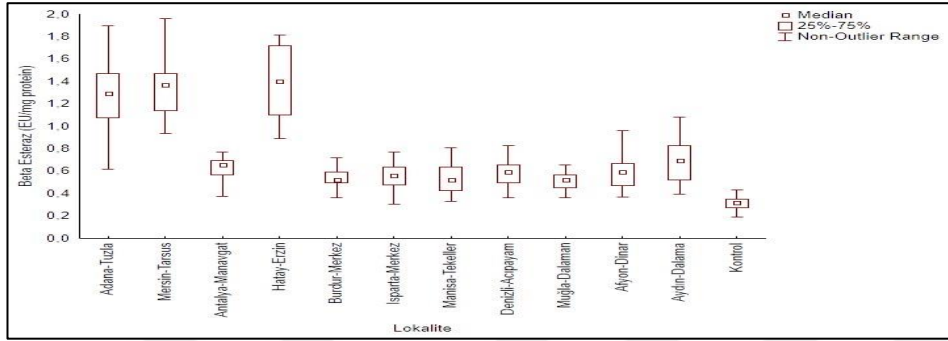
Ege Bölgesi *Cx. pipiens* Afyon Dinar, Denizli Honaz, Muğla Dalaman, Aydın Söke, Manisa Saruhanlı ve Uşak Eşme popülasyonlarının medyan beta esteraz enzim aktivitelele 0,304 EU/mg protein ile 1,384 EU/mg protein arasında değişmiştir. Popülasyonların büyük çoğunluğunda istatistiksel olarak önemli derecede enzimatik aktivite artışı gözlenirken ($p < 0,05$), sadece Uşak Eşme popülasyonunda kontrol grubuna kıyasla enzim aktivitesinde düşüş olmuştur. Bununla birlikte bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarının medyan beta esteraz aktivitelele Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının spesifik beta esteraz enzim aktiviteleri

Akdeniz Bölgesi'nin Adana Tuzla, Antalya Manavgat, Burdur Merkez, Isparta Merkez, Hatay Erzin ve Mersin Tarsus lokalitelerinden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonların beta esteraz enzim aktiviteleri 0,521 EU/mg protein ile 1,400 EU/mg protein arasında değişmektedir. Popülasyonların tamamı beta esteraz enzim aktiviteleri açısından kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$).

Ege Bölgesi'nde Manisa Tekeller, Muğla Dalaman, Aydın Dalama, Denizli Acıpayam ve Afyon Dinar lokalitelerinden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonlarının beta esteraz enzim aktiviteleri ise 0,523 EU/mg protein ile 0,692 EU/mg protein arasında değişmiştir. Akdeniz bölgesinde olduğu gibi Ege bölgesinde de popülasyonların tamamında kontrol grubuna göre beta esteraz enzim aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının medyan beta esteraz aktiviteleri şekil 4.6'da verilmiştir.

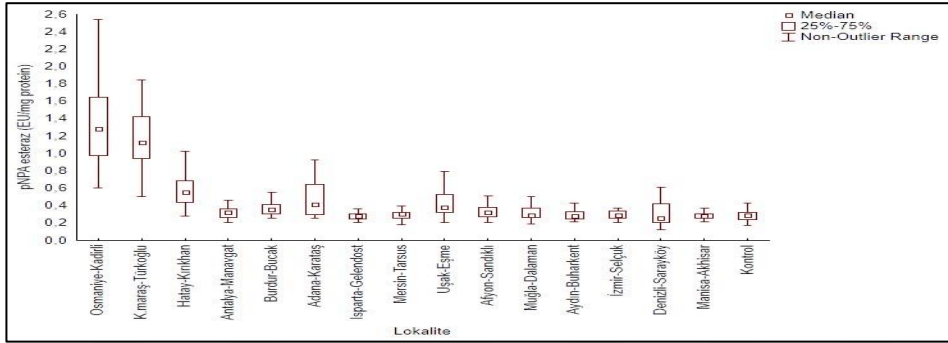


Şekil 4.6. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının spesifik beta esteraz enzim aktiviteleri

4.2.1.3. pNPA Esteraz aktivitesi

An. sacharovi Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının medyan pNPA spesifik aktiviteleri 0,278 EU/mg protein ile 1,286 EU/mg protein arasında değişmiştir. Kontrol grubunun sahip olduğu 0,286 EU/ mg protein spesifik pNPA enzim aktivitesine kıyasla Kadirli, Türkoğlu, Kırıkhan, Karataş popülasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir pNPA enzim aktivitesi artışı olmuştur ($p < 0,05$). Bununla birlikte Gelendost popülasyonunda kontrol grubuna kıyasla görülen enzim aktivitesi düşüşü ve Manavgat, Bucak ve Tarsus popülasyonlarında görülen enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

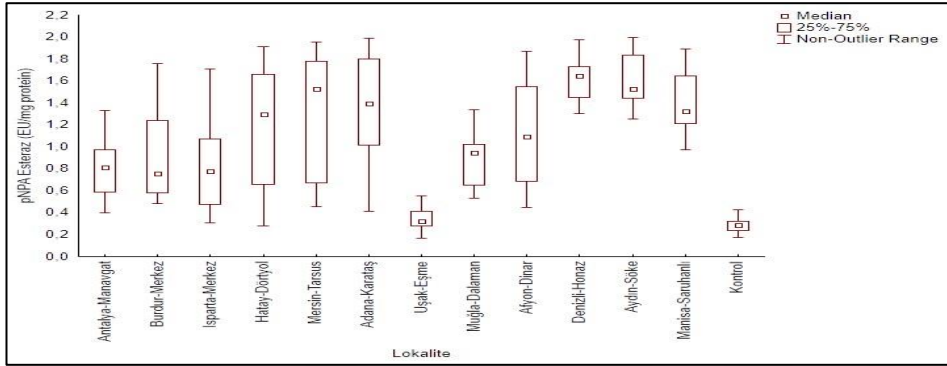
Ege Bölgesi'nde *An. scharovi* popülasyonlarının medyan pNPA spesifik enzim aktiviteleri 0,261 EU/ mg protein ile 0, 377 EU/mg protein arasında değişmiştir. En yüksek pNPA spesifik enzim aktivitesine sahip olan Eşme popülasyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubuna kıyasla Sandıklı ve Dalaman popülasyonlarındaki spesifik enzim aktivitesi artışı ve Buharkent, Akhisar ve Sarayköy popülasyonlarındaki enzim aktivitesi düşüşü ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Selçuk popülasyonu ise kontrol grubu ile eşit miktarda medyan pNPA spesifik enzim aktivitesine sahiptir. Şekil 4.7 Akdeniz ve Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının medyan pNPA esteraz aktivitelerini göstermektedir.



Şekil 4.7. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan spesifik pNPA esteraz aktiviteleri

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının medyan pNPA spesifik enzim aktiviteleri 0,754 EU/mg protein ile 1,526 EU/mg protein arasında değişmiştir. Popülasyonların tamamının medyan pNPA enzim aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p < 0,05$).

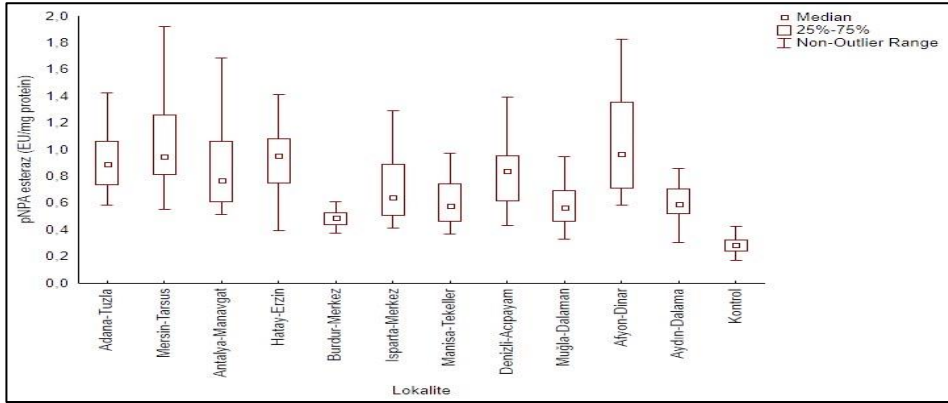
Ege Bölgesi içerisinde yer alan Afyon'un Dinar, Denizli'nin Honaz, Muğla'nın Dalaman, Aydın'ın Söke, Manisa'nın Saruhanlı ve Uşak'ın Eşme *Cx. pipiens* popülasyonlarının medyan spesifik pNPA enzim aktiviteleri 0,321 EU/mg protein ile 1,649 EU/mg protein arasında değişmiştir. Popülasyonların büyük çoğunluğunda istatistiksel olarak önemli derecede enzimatik aktivite artışı gözlenirken ($p < 0,05$), sadece Uşak Eşme popülasyonunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamıştır ($p > 0,05$). Şekil 4.8, Akdeniz ve Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarının medyan pNPA esteraz aktivitelerini göstermektedir.



Şekil 4.8. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının medyan spesifik pNPA esteraz aktiviteleri

Akdeniz Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonların pNPA enzim aktiviteleri 0,489 EU/mg protein ile 0,954 EU/mg protein arasında değişmektedir. Burdur popülasyonundaki pNPA enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0,05$), Adana Tuzla, Antalya Manavgat, Isparta Merkez, Hatay Erzin ve Mersin Tarsus lokalitelerine ait popülasyonların tamamındaki pNPA enzim aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0,05$).

Ege Bölgesi'nde Manisa Tekeller, Muğla Dalaman, Aydın Dalama, Denizli Acıpayam ve Afyon Dınar lokalitelerinden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonlarının pNPA aktiviteleri ise 0,565 EU/mg protein ile 0,970 EU/mg protein arasında değişmiştir. Akdeniz bölgesinde olduğu gibi Ege bölgesinde de popülasyonların tamamında kontrol grubuna göre pNPA enzim aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc.caspius* popülasyonlarının medyan spesifik pNPA esteraz aktiviteleri Şekil 4.9'da verilmiştir.

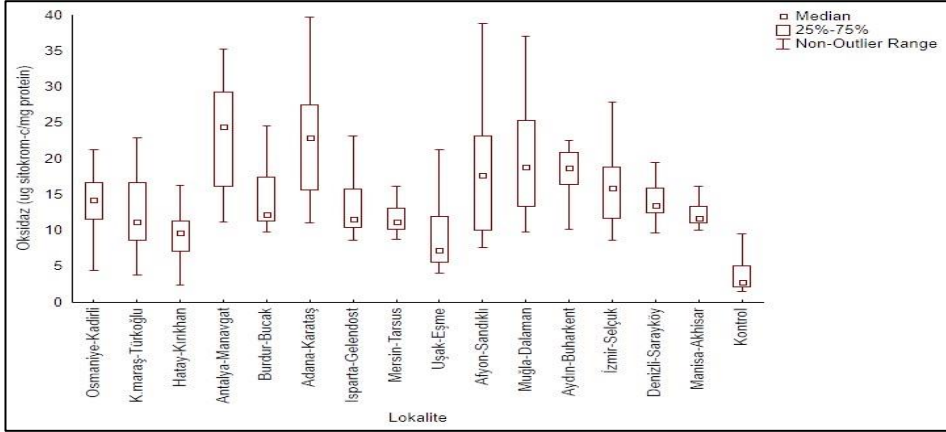


Şekil 4.9. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının medyan spesifik Pnpa esteraz aktiviteleri

4.2.3. Oksidaz Aktivitesi

Anopheles sacharovi Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının oksidaz aktiviteleri Osmaniye'nin Kadırlı, Kahramanmaraş'ın Türkoğlu, Hatay'ın Kırıkhan, Adana'nın Karataş, Mersin'in Tarsus, Antalya'nın Manavgat, Burdur'un Bucak ve Isparta'nın Gelendost olmak üzere toplamda 8 lokaliteden elde edilen bireylerin sitokrom c protein miktarlarına dayalı olarak μg sitokrom c/ mg protein cinsinden hesaplanmıştır. Kontrol grubunda 2,809 μg sitokrom c/mg protein olarak hesaplanan medyan oksidaz miktarı Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarında 9,700 μg sitokrom c/mg ile 24,406 μg sitokrom c/mg arasında değişmiştir. Popülasyonların tamamındaki oksidaz artışı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

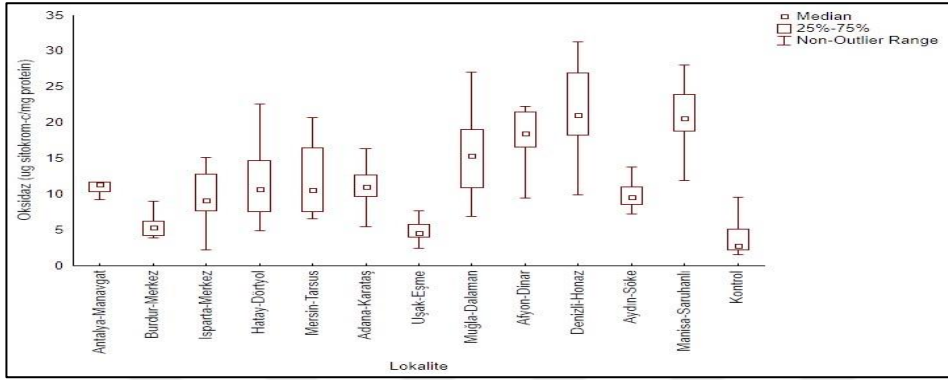
Ege Bölgesi'nde Afyon Sandıklı, Uşak Eşme, Denizli Sarayköy, Aydın Buharkent, Muğla Dalaman, İzmir Selçuk ve Manisa Akhisar *An. sacharovi* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları 7,324 μg sitokrom-c/mg protein ile 18,873 μg sitokrom c/mg protein arasında değişmiştir. Akdeniz Bölgesi'nde olduğu gibi Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının da tamamı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde oksidaz aktivitesi artışı göstermiştir ($p < 0,05$). Akdeniz ve Ege bölgeleri *An. sacharovi* popülasyonlarının oksidaz miktarlarına ait grafik Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları 5,310 µg sitokrom c/mg protein ile 11,373 µg sitokrom c/mg protein arasında değişmiştir. Burdur popülasyonunda 5,310 µg sitokrom c/mg protein olarak hesaplanan oksidaz miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ($p > 0,05$), diğer popülasyonların tamamındaki oksidaz miktarı artışı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

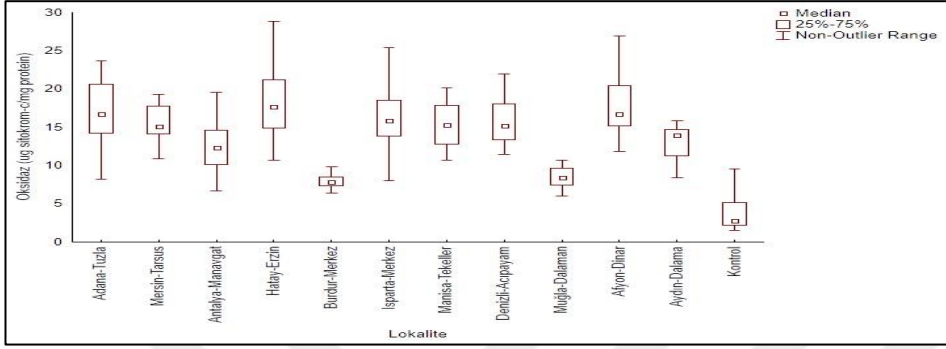
Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları 4,608 µg sitokrom-c/mg protein ile 21,059 µg sitokrom c/mg protein arasında değişmiştir. Sadece Eşme popülasyonundaki 4,608 µg sitokrom c/mg protein değerindeki oksidaz miktarı artışı istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Diğer Ege Bölgesi popülasyonlarının hepsinde kontrol grubundaki oksidaz miktarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgelerine ait *Cx. pipiens* popülasyonlarının oksidaz miktarlarına ait grafik Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları

Ochleratatus caspius'un Akdeniz Bölgesi popülasyonlarında medyan oksidaz miktarları 5,310 µg sitokrom c/mg protein ile 11,373 µg sitokrom c/mg protein arasında değişmektedir. Bütün popülasyonlarda kontrol grubuna kıyasla oksidaz miktarında artış belirlenmesine rağmen, Burdur popülasyonundaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Bununla birlikte, geri kalan popülasyonların tamamındaki oksidaz miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0,05$).

Ege Bölgesi'nde Manisa Tekeller, Muğla Dalaman, Aydın Dalama, Denizli Acıpayam ve Afyon Dinar lokalitelerinden elde edilen *Oc. caspius* popülasyonlarının oksidaz miktarları sırasıyla 15,303, 8,421, 13,914, 15,227 ve 16,688 µg sitokrom c/mg protein olarak hesaplanmıştır. Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının tamamında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları Şekil 4.12'de verilmiştir.

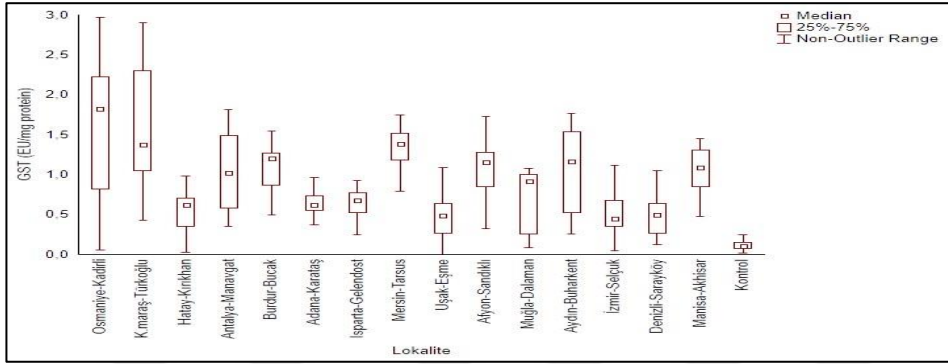


Şekil 4.12. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları

4.2.4. Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesi

Anopheles sacharovi'nin Osmaniye Kadirli, Kahramanmaraş Türkoğlu, Hatay Kırıkhan, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Burdur Bucak ve Isparta Gelendost olmak üzere toplamda 8 Akdeniz Bölgesi popülasyona ait bireylerde medyan spesifik GST enzim aktiviteleri EU/mg protein cinsinden hesaplanmıştır. Kontrol grubunda 0,106 EU/mg protein olarak hesaplanan GST spesifik enzim aktivitesi Akdeniz Bölgesi'nde en yüksek Kadirli popülasyonunda 1,820 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. En düşük ise Karataş popülasyonunda 0,622 EU/mg proteindir. Diğer popülasyonların medyan spesifik GST aktiviteleri 0,625-1,386 EU/mg protein arasında değişmektedir. Bütün popülasyonların kontrol grubuna kıyasla sahip oldukları yüksek GST aktivitesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

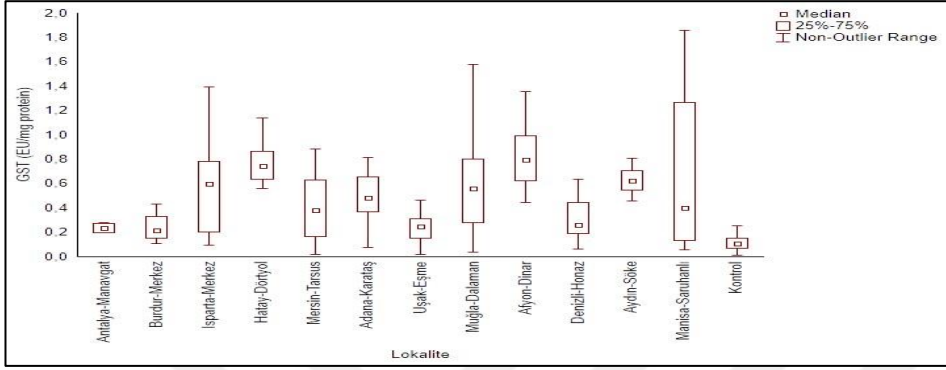
Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarına ait medyan spesifik GST aktivitesi en düşük Selçuk popülasyonuna aittir ve 0,448 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. En yüksek GST aktivitesi ise Buharkent popülasyonuna aittir ve 1,163 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. Uşak Eşme, Denizli Sarayköy, Muğla Dalaman, Manisa Akhisar ve Afyon Sandıklı popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri ise sırasıyla 0,486, 0,492, 0,914, 1,092 ve 1,158 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.13). Popülasyonların tamamında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir enzim aktivitesi artışı vardır ($p < 0,05$).



Şekil 4.13. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri

Culex pipiens türünün Akdeniz Bölgesi'ndeki Hatay Dört Yol, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Isparta Merkez ve Burdur Merkez popülasyonlarında hesaplanan medyan GST spesifik enzim aktiviteleri sırasıyla 0,743, 0,486, 0,384, 0,232, 0,598 ve 0,217 EU/mg proteindir. Kontrol grubuna kıyasla Manavgat ve Burdur Merkez popülasyonlarında belirlenen spesifik enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Bununla birlikte Dört Yol, Karataş, Tarsus ve Isparta popülasyonlarının GST enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

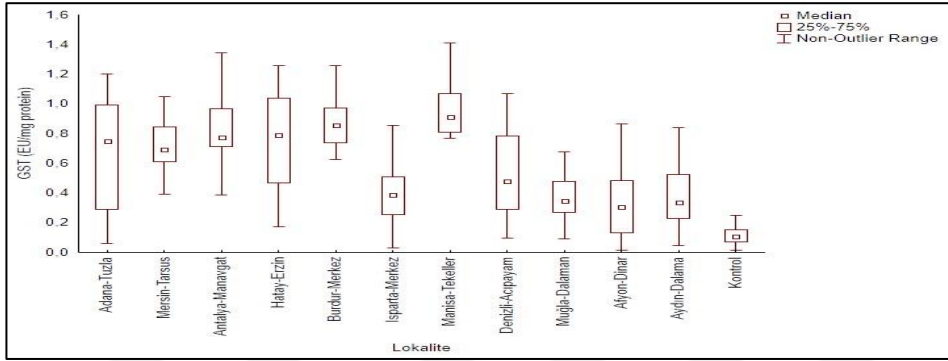
Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonları içerisinde kontrol grubuna göre en yüksek GST enzim aktivitesi Dinar popülasyonda görülmektedir ve 0,795 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. En düşük GST aktiviteye sahip olan popülasyon ise 0,246 EU/mg protein olarak hesaplanan Eşme popülasyonudur. Denizli Honaz, Manisa Saruhanlı, Muğla Dalaman, Aydın Söke ve Afyon Dinar popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri sırasıyla 0,261, 0,401, 0,559, 0,626 ve 0,795 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. Popülasyonların tamamında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir enzimatik aktivite artışı vardır ($p < 0,05$) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının medyan spesifik GST aktivitelele

Ochlerotatus caspius türünün Akdeniz Bölgesi'ndeki içerisindeki popülasyonlarında en yüksek GST enzim aktivitesi 0,856 EU/mg protein olarak Burdur Merkez popülasyonunda hesaplanmıştır. Bunu Erzin, Manavgat, Tuzla, Tarsus ve Isparta Merkez popülasyonları takip etmiş ve medyan spesifik GST aktivitelele sırasıyla 0,790, 0,775, 0,750, 0,693 ve 0,388 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. Popülasyonların tamamında kontrol grubuna kıyasla GST enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardır ($p < 0,05$).

Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarında en yüksek medyan GST aktivitesi ise Manisa Tekeller popülasyona aittir ve 0,911 EU/mg protein olarak hesaplanmıştır. En düşük GST aktivitesi ise 0,306 EU/mg protein olarak hesaplanan Dınar popülasyonudur. Aydın Dalama, Muğla Dalaman ve Denizli Acıpayam popülasyonlarının medyan GST enzim aktivitelele sırasıyla 0,336, 0,347 ve 0,476 EU/mg proteindir. Akdeniz Bölgesi'ne benzer şekilde Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının tamamında da istatistiksel olarak anlamlı bir GST enzim aktivitesi vardır ($p < 0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının medyan oksidaz miktarları Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.15. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının medyan spesifik GST aktiviteleri

4.2.5. Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının Asetilkolinesteraz yüzde inhibisyon oranları Osmaniye Kadirli, Kahramanmaraş Türkoğlu, Hatay Kırıkhan, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Burdur Bucak ve Isparta Gelendost olmak üzere toplamda 8 lokaliteden elde örneklenen popülasyonlarda belirlenmiştir. En yüksek medyan asetilkolinesteraz inhibisyon oranlarına sahip populasyonlar Tarsus, Bucak, Karataş, Manavgat, Gelendost ve Kadirli popülasyonlarıdır ve medyan AChE kalan aktivite oranları sırasıyla %91,4, %86,6, %81,7, %76,1, %74,0 ve %35,5 olarak hesaplanmıştır. Bu popülasyonlar hem %30'luk kritik sınırın üzerindedir hem de kalan aktivite % 6,966 olarak belirlenen kontrol grubuna kıyasla da kalan aktivite oranında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p < 0,05$). Türkoğlu ve Kırıkhan popülasyonlarının ise AChE kalan aktivite oranları sırasıyla %28,3 ve %26,9'dir. Bu popülasyonlarda kontrol grubuna kıyasla kalan aktivite oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış olsa da %30 kritik sınırı aşmamışlardır ($p < 0,05$).

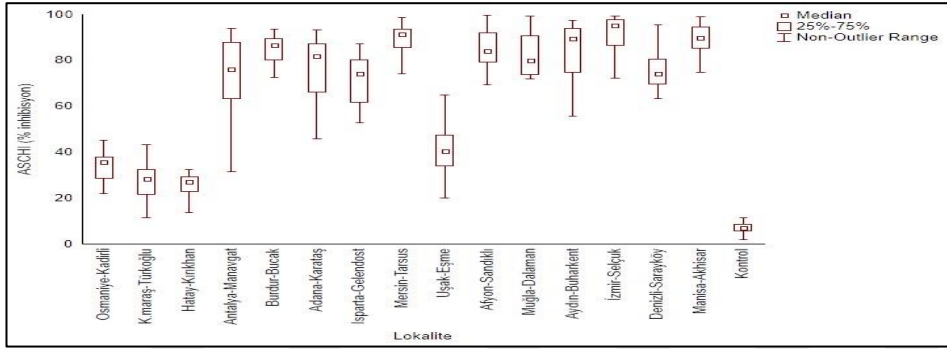
Ege Bölgesi'nde *An. sacharovi* Afyon Sandıklı, Uşak Eşme, Denizli Sarayköy, Aydın Buharkent, Muğla Dalaman, İzmir Selçuk ve Manisa Akhisar popülasyonlarının AChE kalan aktivite oranları %95,1 ile %40,5 arasında değişmiştir. Popülasyonlarının tamamında hem %30'luk kritik değer aşılmıştır hem de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.16).

Akdeniz ve Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarına ait medyan spesifik enzim aktiviteleri (Esteraz, Oksidaz, GST) ve Asetilkolinesteraz enzimi için yüzde inhibisyon oranları Çizelge 4.7'de verilmiştir.



Çizelge 4.7. Akdeniz ve Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının enzim aktiviteleri

| Bölge | İl | Lokalite | Enzim aktivitesi medyan değerleri ve standart sapma oranları | | | | | | | | | | | |
|--------------------|----------|-----------|--|-------|----------------------------|-------|-----------------------|-------|-------------------------------------|--------|----------------------|-------|--------|--------|
| | | | α-Esteraz EU/mg protein | | β-Esteraz EU/mg protein | | pNPA EU/mg protein | | Oksidaz sitokrom-c/mg protein | | GST EU/mg protein | | ASCHI | |
| | | | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD |
| Akdeniz Bölgesi | Osmaniye | Kadirli | 0,608 | 0,224 | 0,741 | 0,349 | 1,286 | 0,488 | 14,215 | 4,198 | 1,820 | 0,880 | 35,571 | 8,916 |
| | K.maraş | Türkoğlu | 0,720 | 0,225 | 0,752 | 0,184 | 1,124 | 0,494 | 11,267 | 9,9697 | 1,379 | 1,112 | 28,347 | 7,534 |
| | Hatay | Kırıkhan | 0,511 | 0,173 | 0,485 | 0,187 | 0,554 | 0,208 | 9,700 | 3,267 | 0,625 | 0,452 | 26,932 | 5,427 |
| | Adana | Karataş | 0,598 | 0,319 | 0,641 | 0,343 | 0,415 | 0,221 | 22,995 | 13,644 | 0,6223 | 0,284 | 81,790 | 19,423 |
| | Mersin | Tarsus | 0,490 | 0,099 | 0,484 | 0,100 | 0,308 | 0,080 | 11,197 | 1,927 | 1,386 | 0,377 | 91,463 | 14,943 |
| | Antalya | Manavgat | 0,460 | 0,150 | 0,425 | 0,243 | 0,319 | 0,186 | 24,406 | 9,257 | 1,017 | 0,472 | 76,165 | 16,039 |
| | Isparta | Gelendost | 0,438 | 0,205 | 0,470 | 0,237 | 0,278 | 0,130 | 11,583 | 4,819 | 0,675 | 0,184 | 74,074 | 16,963 |
| | Burdur | Bucak | 0,670 | 0,09 | 0,617 | 0,118 | 0,354 | 0,105 | 12,246 | 5,758 | 1,202 | 0,278 | 86,620 | 9,392 |
| Ege Bölgesi | Uşak | Eşme | 0,414 | 0,157 | 0,394 | 0,186 | 0,377 | 0,184 | 7,324 | 9,717 | 0,486 | 0,277 | 40,590 | 10,730 |
| | Afyon | Sandıklı | 0,484 | 0,161 | 0,485 | 0,442 | 0,319 | 0,110 | 17,734 | 8,388 | 1,158 | 0,360 | 84,066 | 7,987 |
| | Muğla | Dalaman | 0,393 | 0,246 | 0,469 | 0,210 | 0,290 | 0,235 | 18,873 | 9,848 | 0,914 | 0,353 | 79,897 | 8,902 |
| | Aydın | Buharkent | 0,489 | 0,066 | 0,457 | 0,089 | 0,284 | 0,055 | 18,679 | 5,406 | 1,163 | 0,537 | 89,342 | 12,037 |
| | İzmir | Selçuk | 0,489 | 0,134 | 0,485 | 0,118 | 0,286 | 0,061 | 15,939 | 4,841 | 0,448 | 0,402 | 95,121 | 7,428 |
| | Denizli | Sarayköy | 0,420 | 0,088 | 0,413 | 0,090 | 0,261 | 0,144 | 13,545 | 2,817 | 0,492 | 0,244 | 74,181 | 9,015 |
| | Manisa | Akhisar | 0,483 | 0,131 | 0,497 | 0,150 | 0,284 | 0,066 | 11,766 | 3,183 | 1,092 | 0,260 | 89,887 | 9,912 |
| | Kontrol | | 0,230 | 0,065 | 0,319 | 0,082 | 0,286 | 0,079 | 2,809 | 2,489 | 0,106 | 0,060 | 6,966 | 2,218 |



Şekil 4.16. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları

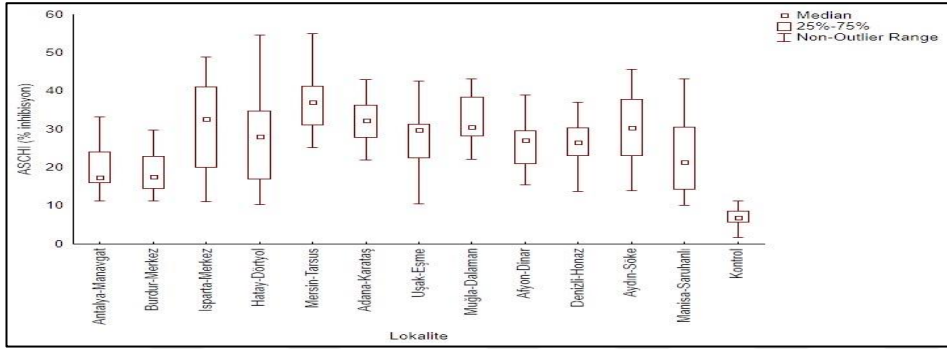
Culex pipiens'in Akdeniz Bölgesi popülasyonlarında AChE kalan aktivite oranları % 36,9 ve % 17,5 arasında değişmektedir. En yüksek AChE kalan aktivite oranına sahip olan popülasyonlar Mersin Tarsus, Isparta Merkez ve Adana Karataş popülasyonlardır ve bu oranlar sırasıyla %36,9, %32,7 ve %32,2 olarak hesaplanmıştır. Bu üç popülasyonun AChE kalan aktivite oranı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olup, %30 kritik sınırı da aşmıştır ($p < 0,05$). Bununla birlikte %28,1, %17,5 ve %17,4 kalan aktivite oranlarına sahip olan Hatay Dörtöyol, Burdur Merkez ve Antalya Manavgat popülasyonlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olsa da %30 kritik sınırı aşılmamıştır ($p < 0,05$).

Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarında ise en yüksek AChE inhibisyon oranına sahip popülasyonlar Muğla Dalaman ve Aydın Söke'dir ve sırasıyla kalan aktivite oranları %30,5 ve %30,4'dür. Dalaman ve Söke popülasyonlarında %30 sınırı aşılmıştır ve kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardır ($p < 0,05$). Manisa Saruhanlı, Denizli Honaz, Afyon Dinar ve Uşak Eşme popülasyonlarının ise %inhibisyon oranları sırasıyla %21,3, 26,6, 27 ve 29,8'dir. Bu popülasyonlar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir kalan aktivite oranına sahip olsalar da %30 sınırını aşmamışlardır ($p < 0,05$). Akdeniz ve Ege bölgelerinde *Cx. pipiens* popülasyonlarının AChE % inhibisyon oranlarına ait grafik Şekil 4.17'de verilmiştir.

Akdeniz ve Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarına ait medyan spesifik enzim aktiviteleri (Esteraz, Oksidaz, GST) ve Asetilkolinesteraz enzimi için yüzde inhibisyon oranları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarının enzim aktiviteleri

| Bölge | İl | Lokalite | Enzim aktivitesi medyan değerleri ve standart sapma oranları | | | | | | | | | | | |
|-----------------|---------|-----------|--|-------|----------------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------------------|-------|----------------------|-------|--------|--------|
| | | | α-Esteraz EU/mg protein | | β-Esteraz EU/mg protein | | pNPA EU/mg protein | | Oksidaz sitokrom- c/mg protein | | GST EU/mg protein | | ASCHI | |
| | | | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD |
| Akdeniz Bölgesi | Hatay | Dört Yol | 0,966 | 0,359 | 0,915 | 0,486 | 1,299 | 0,562 | 10,652 | 4,789 | 0,743 | 0,152 | 28,125 | 13,492 |
| | Adana | Karataş | 0,706 | 0,441 | 0,675 | 0,459 | 1,393 | 0,439 | 11,000 | 2,921 | 0,486 | 0,452 | 32,211 | 5,584 |
| | Mersin | Tarsus | 1,041 | 0,385 | 0,908 | 0,489 | 1,526 | 0,563 | 10,617 | 7,360 | 0,384 | 0,275 | 36,986 | 13,004 |
| | Antalya | Manavgat | 0,325 | 0,086 | 0,508 | 0,261 | 0,815 | 0,344 | 11,373 | 9,122 | 0,232 | 0,174 | 17,421 | 6,237 |
| | Isparta | Merkez | 0,614 | 0,608 | 0,596 | 0,440 | 0,775 | 0,383 | 9,192 | 4,929 | 0,598 | 0,387 | 32,734 | 15,898 |
| | Burdur | Merkez | 0,497 | 0,237 | 0,651 | 0,307 | 0,754 | 0,389 | 5,310 | 1,463 | 0,217 | 0,103 | 17,586 | 7,327 |
| Ege Bölgesi | Uşak | Eşme | 0,246 | 0,097 | 0,304 | 0,095 | 0,321 | 0,152 | 4,608 | 1,552 | 0,246 | 0,165 | 29,870 | 7,973 |
| | Afyon | Dinar | 1,366 | 0,482 | 1,384 | 0,364 | 1,091 | 0,446 | 18,520 | 7,581 | 0,795 | 0,260 | 27,048 | 6,323 |
| | Denizli | Honaz | 1,590 | 0,321 | 1,303 | 0,289 | 1,649 | 0,239 | 21,059 | 8,190 | 0,261 | 0,163 | 26,635 | 7,324 |
| | Muğla | Dalaman | 0,599 | 0,395 | 0,667 | 0,347 | 0,942 | 0,247 | 15,399 | 5,690 | 0,559 | 0,428 | 30,582 | 6,517 |
| | Aydın | Söke | 0,697 | 0,182 | 0,630 | 0,184 | 1,530 | 0,367 | 9,643 | 2,095 | 0,626 | 0,097 | 30,444 | 15,795 |
| | Manisa | Saruhanlı | 1,434 | 0,324 | 1,303 | 0,321 | 1,325 | 0,329 | 20,585 | 3,945 | 0,401 | 0,596 | 21,388 | 9,343 |
| | Kontrol | | 0,230 | 0,065 | 0,319 | 0,082 | 0,286 | 0,079 | 2,809 | 2,489 | 0,106 | 0,060 | 6,966 | 2,218 |



Şekil 4.17. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları

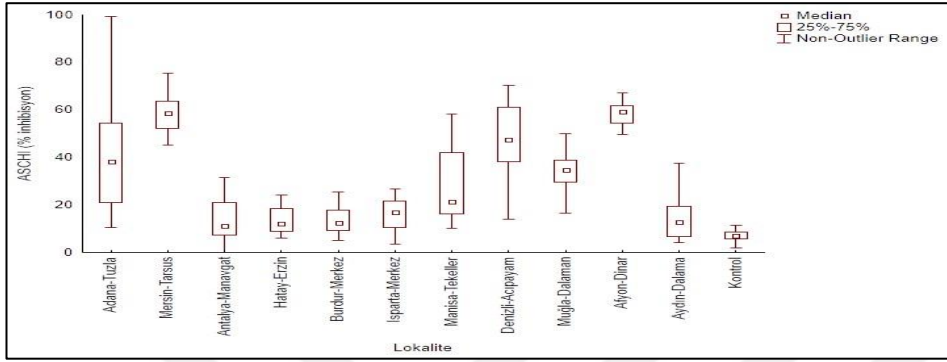
Ochlerotatus caspius Akdeniz popülasyonlarının AChE kalan aktivite oranları %11,2 ile %58,6 arasında değişmektedir. En yüksek kalan aktivite oranına sahip popülasyonlar % 58,6 ve %38,1 olarak hesaplanan Mersin Tarsus ve Adana Tuzla popülasyonlarıdır. Tarsus ve Tuzla popülasyonları %30 sınırını aşmıştır ve %6,966 olarak hesaplanan kontrol grubunun kalan aktivite oranına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,05$). Bununla birlikte, Antalya Manavgat, Hatay Erzin, Burdur Merkez ve Isparta Merkez popülasyonlarının AChE kalan aktivite oranları sırasıyla %11,2, %12,1, %12,3 ve %16,7 olarak hesaplanmıştır. Her ne kadar bu popülasyonların kalan aktivite kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olsa da, %30 kritik sınırını aşmamışlardır ($p<0,05$).

Ege Bölgesi'nde Afyon Dinar, Denizli Acıpayam ve Muğla Dalaman *Oc. caspius* popülasyonlarının AChE kalan aktivite oranları sırasıyla %59,2, %47,5 ve %34,708 olarak hesaplanmıştır. Bu popülasyonlarda AChE kalan aktivite oranları hem istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir hem de kritik sınır aşılmıştır ($p<0,05$). Aydın Dalama'da %12,7 ve Manisa Tekeller'de %21,2 olarak hesaplanan kalan aktivite oranları ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olsa da, kritik %30 sınırının altındadır ($p<0,05$). Akdeniz ve Ege Bölgelerine ait *Oc. caspius* popülasyonlarının AChE kalan aktivite oranlarına ait grafik şekil 4.18'de verilmiştir.

Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarına ait medyan spesifik enzim aktiviteleri (Esteraz, Oksidaz, GST) ve Asetilkolinesteraz enzimi için yüzde inhibisyon oranları Çizelge 4.9'de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Oc. caspius* popülasyonlarının enzim aktiviteleri

| Bölge | İl | Lokalite | Enzim aktivitesi medyan değerleri ve standart sapma oranları | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---------|----------|--|-------|----------------------------|-------|-----------------------|--------|-------------------------------------|-------|----------------------|-------|--------|--------|
| | | | α-Esteraz EU/mg protein | | β-Esteraz EU/mg protein | | pNPA EU/mg protein | | Oksidaz sitokrom-c/mg protein | | GST EU/mg protein | | ASCHI | |
| | | | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD | Medyan | SD |
| Akdeniz Bölgesi | Hatay | Erzin | 1,148 | 0,430 | 1,400 | 0,536 | 0,954 | 0,265 | 17,718 | 4,985 | 0,790 | 0,344 | 12,162 | 5,540 |
| | Adana | Tuzla | 1,063 | 0,203 | 1,290 | 0,306 | 0,891 | 0,267 | 16,676 | 4,066 | 0,750 | 0,373 | 38,114 | 23,256 |
| | Mersin | Tarsus | 1,147 | 0,259 | 1,371 | 0,249 | 0,948 | 0,350 | 15,129 | 3,781 | 0,693 | 0,185 | 58,697 | 11,331 |
| | Antalya | Manavgat | 0,686 | 0,209 | 0,654 | 0,204 | 0,767 | 0,369 | 12,354 | 6,117 | 0,775 | 0,257 | 11,229 | 8,355 |
| | Isparta | Merkez | 0,605 | 0,233 | 0,559 | 0,146 | 0,645 | 0,373 | 15,898 | 4,330 | 0,388 | 0,313 | 16,733 | 6,361 |
| | Burdur | Merkez | 0,620 | 0,145 | 0,521 | 0,227 | 0,489 | 0,0866 | 7,827 | 1,119 | 0,856 | 0,185 | 12,393 | 5,787 |
| Ege Bölgesi | Afyon | Dinar | 0,660 | 0,249 | 0,590 | 0,186 | 0,970 | 0,381 | 16,688 | 4,225 | 0,306 | 0,276 | 59,205 | 4,665 |
| | Denizli | Acıpayam | 0,672 | 0,214 | 0,590 | 0,179 | 0,840 | 0,349 | 15,227 | 3,075 | 0,476 | 0,288 | 47,583 | 15,165 |
| | Muğla | Dalaman | 0,570 | 0,170 | 0,519 | 0,170 | 0,565 | 0,262 | 8,421 | 3,586 | 0,347 | 0,241 | 34,708 | 8,372 |
| | Aydın | Dalama | 0,561 | 0,173 | 0,692 | 0,184 | 0,592 | 0,152 | 13,914 | 2,769 | 0,336 | 0,267 | 12,745 | 10,072 |
| | Manisa | Tekeller | 0,548 | 0,189 | 0,523 | 0,198 | 0,577 | 0,219 | 15,303 | 5,354 | 0,911 | 0,176 | 21,235 | 20,363 |
| | Kontrol | | 0,230 | 0,065 | 0,319 | 0,082 | 0,286 | 0,079 | 2,809 | 2,489 | 0,106 | 0,060 | 6,966 | 2,218 |

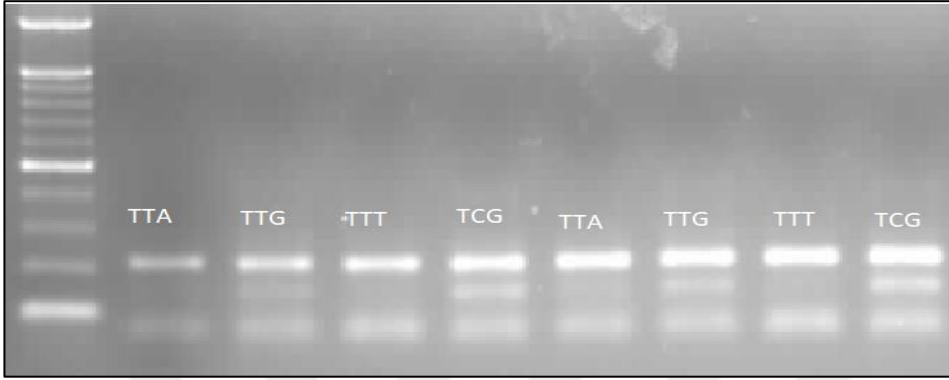


Şekil 4.18. Akdeniz ve Ege Bölgesi *Ochlerotatus caspius* popülasyonlarının medyan AChE kalan aktivite oranları

4.3. İnsektisit Direncini Sağlayan Moleküler Mekanizmalar ve Moleküler Çalışmaların Sonuçları

4.3.1. *An. sacharovi* Popülasyonlarındaki *kdr* Mutasyonu Frekansları

Voltaj duyarlı sodyum kanallarını kodlayan genin 1014. pozisyonundaki L_{ösin}₁ (TTA), L_{ösin}₂ (TTG), Fenilalanin (TTT) ve Serin (TCG) aminoasidini belirlemek üzere tasarlanan primerlerle yapılan PZR reaksiyonunun agaroz jel üzerindeki görüntüsüne dayanarak popülasyonların genotipleri belirlenmiştir. Şekil 4.19'da verilen ilk dört kuyucuktaki görüntü bir bireye, 5-8 arasındaki görüntüler de ikinci bir bireye aittir. Bireyler hem L₂ (L_{ösin}₂) aminoasidini kodlayan primer hem de Serin aminoasidini kodlayan primerler ile bant vermişlerdir. Buna göre her iki bireyin de genotipleri L₂/S olarak yorumlanmaktadır. Buna benzer şekilde *An. sacharovi türünün* Akdeniz Bölgesi içerisinde yer alan Osmaniye Kadirli, Kahramanmaraş Türkoğlu, Hatay Kırıkhan, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Burdur Bucak ve Isparta Gelendost popülasyonlarında ve Ege Bölgesi'nde Afyon Sandıklı, Uşak Eşme, Denizli Sarayköy, Aydın Buharkent, Muğla Dalaman, İzmir Selçuk ve Manisa Akhisar popülasyonlarına ait 12'şer adet bireyde alel spesifik primerlerin agaroz jel üzerindeki görüntülerine bakarak *kdr* mutasyonu belirlenmiştir.



Şekil 4.19. Lösin₁ (TTA), Lösin₂ (TTG), Fenilalanin (TTT) ve Serin (TCG) aminoasidini kodlayan diziyi çoğaltan alele özgü primerlerle ile yapılan bir PZR'nin agaroz jel görüntüsü

Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarında 1014L₂ (TTG), 1014F (TTT) ve 1014S (TTT) mutasyonlarının hakim olduğu görülmüştür. L1014F mutasyonu sadece Kırıkhan ve Türkoğlu popülasyonlarında tespit edilmiştir. Kırıkhan popülasyonundaki homozigot duyarlı (SS), heterozigot dirençli (RS) ve homozigot dirençli (RS) genotipli bireylerin oranı sırasıyla %16,66, %58,34 ve %25'tir. Buna bağlı olarak F alelinin de frekansı da 0,708 olarak hesaplanmıştır. Fisher'in exact testine göre Kırıkhan popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$). Türkoğlu popülasyonu hem L1014F hem L1014S aleline sahip tek popülasyondur. F ve S alellerinin frekansları sırasıyla 0,25 ve 0,541'dir. Popülasyon, HW dengesinden sapma göstermektedir ($P<0,05$). S alel frekansının en yüksek olduğu iki popülasyon Tarsus ve Kadırlı popülasyonlarıdır ve *kdr* frekansları %100'dür ve S aleli bu iki popülasyonda fikse olmuştur. Karataş ve Gelendost popülasyonlarının S alel frekansları 0,583'dir. Karataş popülasyonunda SS, RS ve RR genotipli bireylerin oranı sırasıyla %0, %16,67 ve %83,33; Gelendost popülasyonunda ise %16,67, %33,33 ve %50 olmakla birlikte, her iki popülasyon da HW dengesindedir ($p>0,05$). Manavgat ve Bucak popülasyonlarının ise S alel frekansları 0,50 olarak hesaplanmıştır. Manavgat popülasyonunun tamamı RS genotipine sahiptir ve istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde HW dengesinden sapma göstermektedir ($p<0,05$). Bucak popülasyonunda ise %16,67 oranında SS, %66,67 oranında RS ve %16,67 oranında RR genotipli bireyler bulunmaktadır. Bucak popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$). Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının *kdr* genotipi, alel frekansları ve Fisher'in kesinlik testi sonuçlarını gösteren tablo Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Ege Bölgesi'nde L1014F mutasyonuna hiç rastlanılmamıştır. Dirençle ilgili olmayan aleller L_1 (TTA) (Lösin₁) ve L_2 (TTG) (Lösin₂) alelleridir. *Kdr* direncine neden olan L1014S aleli frekansı en yüksek Sandıklı popülasyonunda tespit edilmiştir ve 0,75'dir. Sandıklı popülasyonunda SS, SR ve RR birey oranları sırasıyla %16,66 %66,66 ve %16,66 olup, popülasyon HW dengesindedir ($p>0,05$). Selçuk (%83), Akhisar (%75) ve Eşme (%83) popülasyonlarında ağırlıklı olarak heterozigot dirençli (RS) birey oranı yüksektir ve S alel frekansları sırasıyla 0,583, 0,541 ve 0,5 olarak belirlenmiştir. Her üç popülasyon da HW dengesindedir ($p>0,05$). Dalaman popülasyonundaki dirençli bireylerin tamamı homozigot dirençlidir ve heterozigot dirençli birey frekansı sıfırdır. Bununla birlikte Dalaman popülasyonu duyarlı L1 alelini taşıyan tek popülasyondur ve duyarlı bireyler hem L_1 hem de L_2 alelleri ile temsil edilmektedir. Dalaman popülasyonunda heterozigotluk oranının düşük olmasına bağlı olarak popülasyon HW dengesinden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde sapma göstermektedir ($p<0,05$). Buharkent ve Sarayköy popülasyonlarında ise S aleli oldukça düşüktür ve sırasıyla 0,35 ve 0,2'dir. Her iki popülasyonunda heterozigotluk oranı çok düşüktür ve bu oran Buharkent popülasyonunda %16 iken Sarayköy popülasyonunda 0'dır. Bu popülasyonlardaki bireylerin sırasıyla %60 ve %80'i *kdr* mutasyonu açısından duyarlıdır. Buharkent ve Sarayköy popülasyonları HW dengesinden sapma göstermektedirler ($p<0,05$). Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının *kdr* genotipi, alel frekansları ve Fisher'in kesinlik testi sonuçlarını gösteren tablo Çizelge 4.8'de verilmiştir.

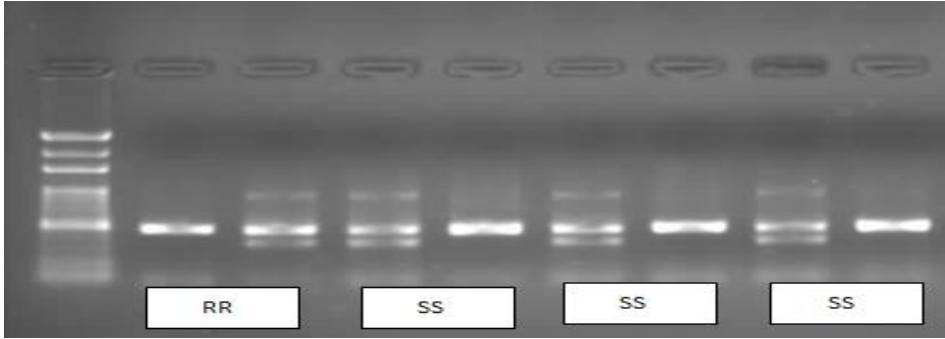
Çizelge 4.11. Ege Bölgesi *Anopheles sacharovi* popülasyonlarının *Vssc 1* gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları

| Populasyon | Sayı | Genotipler ve sayıları | | | | | Allel frekansları | | | p | SE | WC |
|------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|-----|--------------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|--------|--------|---------|
| | | L ₁ /L ₁ | L ₂ /L ₂ | S/S | L ₁ /L ₂ | L ₂ /S | L ₁ Frekansı | L ₂ Frekansı | S frekansı | | | |
| Afyon-Sandıklı | 12 | | 2 | 8 | | 2 | | 0,25 | 0,75 | 0.0894 | 0.0014 | 0.5849 |
| Aydın-Buharkent | 20 | | 12 | 6 | | 2 | | 0,65 | 0,35 | 0.0004 | 0.0001 | 0.7901 |
| Denizli-Sarayköy | 20 | | 16 | 4 | | | | 0,8 | 0,2 | 0.0000 | 0.0000 | 1.0000 |
| Muğla-Dalaman | 20 | 3 | 6 | 10 | 1 | | 0.1750 | 0.2750 | 0.5500 | 0.0000 | 0.0000 | 0.9195 |
| İzmir-Selçuk | 12 | | | 2 | | 10 | | 0.4167 | 0.5833 | 0.0640 | 0.0011 | -0.6923 |
| Manisa-Akhisar | 12 | | 1 | 2 | | 9 | | 0.4583 | 0.5417 | 0.2364 | 0.0020 | -0.4776 |
| Uşak-Eşme | 12 | | 1 | 1 | | 10 | | 0.5000 | 0.5000 | 0.0753 | 0.0013 | -0.6418 |

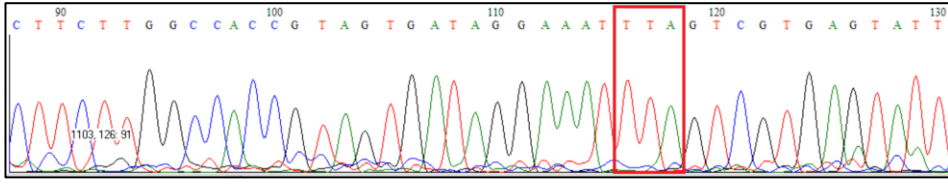
4.3.2. *Cx. pipiens* Popülasyonlarındaki *kdr* Mutasyonu Frekansları

Cx. pipiens'te *kdr* mutasyonunun belirlenmesi için Voltaj duyarlı sodyum kanalının 1014. Pozisyonundaki Lösin (TTA) ve Fenilalanin (TTT) aminoasitlerini kodlayan alelleri çoğaltmak üzere Martinez Torres vd., 1999 tarafından tasarlanan alel spesifik primerler kullanılmıştır. Bu primerler ile yapılan PZR ürünlerinin agaroz jel üzerindeki bant profillerine göre popülasyonların genotipleri belirlenmiştir. Şekil 4.20'de homozigot dirençli (1.birey) ve homozigot duyarlı (2., 3., ve 4. birey) bireylerin pant profillerini göstermektedir. Kontrol amaçlı olarak sekans analizine gönderilen *kdr* mutasyonu açısından homozigot duyarlı (SS) ve heterozigot dirençli (RS) bireylerin *kdr* gen dizileri ise Şekil 4.21 ve 4.22'de verilmiştir.

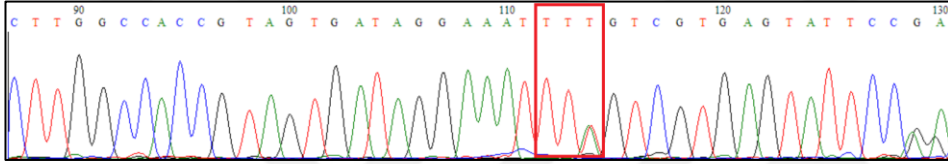
Buna göre, *Cx. pipiens* türünün *kdr* mutasyon frekansları Akdeniz Bölgesi'ndeki Hatay Dört Yol, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Isparta Merkez ve Burdur Merkez, Ege Bölgesi'ndeki Aydın-Söke, Muğla-Dalaman, Manisa-Saruhanlı, Denizli-Honaz, Afyon-Dinar ve Uşak-Eşme'den popülasyonlarından elde edilen bireylerde belirlenmiştir.



Şekil 4.20. Lösin (TTA) ve Fenilalanin (TTT) aminoasidini kodlayan diziyi çoğaltan alele özgü primerlerle ile yapılan bir PZR'nun agaroz jel üzerindeki görüntüsü



Şekil 4.21. *kdr* mutasyonu açısından homozigot duyarlı (SS) olan bir bireyin *Vssc I* gen dizisi



Şekil 4.22. *kdr* mutasyonu açısından heterozigot dirençli (RS) olan bir bireyin *Vssc I* gen dizisi

Akdeniz Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonları içerisinde R aleli bakımından en yüksek frekansa sahip olan popülasyon Burdur Merkez popülasyonudur ve frekansı 0,875'tir. Burdur popülasyonunun % 75'i homozigot dirençli, %25'i ise heterozigot dirençlidir. Burdur popülasyonu HW dengesinden istatistiksel olarak anlamlı bir sapma göstermemektedir ($p>0,05$). İkinci yüksek R aleli frekansına sahip popülasyon Dört Yol popülasyonudur (0,583) ve Dört Yol popülasyonundaki SS, RS ve RR genotipine sahip bireylerin oranı sırasıyla %25, %33,33 ve %41,67'dir. Dört Yol popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$). Karataş popülasyonunun SS, RS ve RR genotipli birey frekansları sırasıyla % 13,37, % 60 ve %26,66'dır. R aleli frekansı ise 0,5667 olarak hesaplanmıştır. Karataş popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$). Manavgat popülasyonunda da R aleli frekansı çok yüksektir ve 0,5 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonun SS, SR ve RR genotipli bireylerinin frekansı ise sırasıyla % 41,6 % 8,33 ve % 50'dir. Tarsus popülasyonunda R aleli frekansı 0,4167; SS, SR ve RR genotiplerinin frekansları ise sırasıyla %50, %16,67 ve % 0,33'tür. Manavgat ve Tarsus popülasyonlarını heterozigotluğun düşük olmasına paralel bir şekilde popülasyon HW dengesinden sapma göstermektedir ($p<0,05$). R aleli frekansının en düşük olduğu popülasyon Isparta Merkez popülasyonudur ve 0,2917 olarak hesaplanmıştır. Isparta popülasyonundaki SS, SR ve RR genotiplerinin oranı sırasıyla %58,33 % 25 ve % 16,67'dir. Isparta Merkez popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$).

Çizelge 4.12. Akdeniz Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının *Vssc 1* gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları

| Populasyon | Sayı | Genotipler ve sayıları | | | Allel frekansları | | p | SE | WC |
|------------------|------|------------------------|----|----|-------------------|------------|--------|--------|---------|
| | | SS | SR | RR | S frekansı | R frekansı | | | |
| Adana-Karataş | 15 | 2 | 9 | 4 | 0,4333 | 0,5667 | 0,6136 | 0,0019 | -0,1887 |
| Antalya-Manavgat | 12 | 5 | 1 | 6 | 0,5000 | 0,5000 | 0,0048 | 0,0004 | 0,8451 |
| Burdur-Merkez | 12 | | 3 | 9 | 0.1250 | 0.8750 | 1.0000 | 0.0000 | -0.1000 |
| Isparta-Merkez | 12 | 7 | 3 | 2 | 0.7083 | 0.2917 | 0.1944 | 0.0020 | 0.4310 |
| Hatay-Dörtyol | 12 | 3 | 4 | 5 | 0,4167 | 0,5833 | 0,2897 | 0,0022 | 0,3529 |
| Mersin-Tarsus | 12 | 6 | 2 | 4 | 0.5833 | 0.4167 | 0.0282 | 0.0009 | 0.6812 |

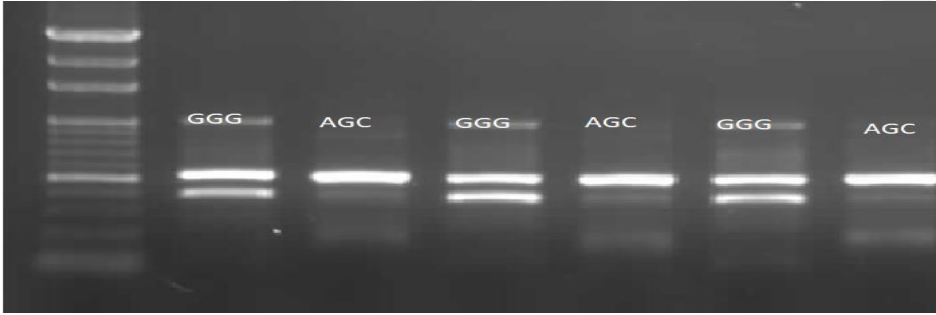
Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarında belirlenen *kdr* direnci frekansı oldukça yüksektir. R alelinin en yüksek olduğu popülasyonlar Söke ve Honaz popülasyonlarıdır ve bu popülasyonların %100'ü homozigot dirençlidir. Söke ve Honaz popülasyonlarında R alleli fikse olmuştur ve heterozigotluk oranı sıfırdır. *kdr* frekansının en yüksek çıktığı diğer iki popülasyon Saruhanlı ve Dinar popülasyonlarıdır ve her iki popülasyonda da R alel frekansı 0,9 olarak hesaplanmıştır. Saruhanlı ve Dinar popülasyonlarında heterozigotluk beklenenin üzerindedir ancak popülasyonlar HW dengesindedir ($p>0,05$). Bu popülasyonların her ikisinin de %80'i homozigot Dirençli, %20'si ise heterozigot dirençlidir. Her iki popülasyonda da homozigot duyarlı birey tespit edilmemiştir. Dalaman popülasyonunun R aleli frekansı 0,85'tir ve popülasyonun %70'i homozigot, %30'u ise heterozigot dirençlidir. Dalaman popülasyonu HW dengesindedir ($p>0,05$). R alel frekansının en düşük çıktığı Eşme popülasyonunda frekans 0,33 olarak hesaplanmıştır. Eşme popülasyonunda SS, RS ve RR aleline sahip bireylerin oranı sırasıyla %50, %33,33 ve %16,67'dir. Eşme popülasyonunda heterozigotluk beklenenden düşüktür ancak popülasyon HW dngesindedir ($p>0,05$).

Çizelge 4.13. Ege Bölgesi *Culex pipiens* popülasyonlarının *Vssc 1* gen bölgesine ait genotipleri, alel frekansları ve Fisher'in exact test sonuçları

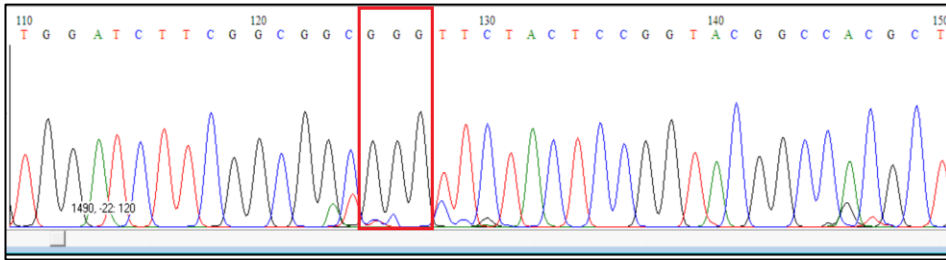
| Populasyon | Sayı | Genotipler ve sayıları | | | Allel frekansları | | p | SE | WC |
|------------------|------|------------------------|----|----|-------------------|------------|--------|--------|---------|
| | | SS | SR | RR | S frekansı | R frekansı | | | |
| Aydın-Söke | 15 | | | 15 | 0.0000 | 1.0000 | | | |
| Muğla-Dalaman | 20 | | 6 | 14 | 0.1500 | 0.8500 | 1.0000 | 0.0000 | -0.1515 |
| Manisa-Saruhanlı | 20 | | 4 | 16 | 0.1000 | 0.9000 | 1.0000 | 0.0000 | -0.0857 |
| Denizli-Honaz | 20 | | | 20 | 0.0000 | 1.0000 | | | |
| Afyon-Dinar | 20 | | 4 | 16 | 0.1000 | 0.9000 | 1.0000 | 0.0000 | -0.0857 |
| Uşak-Eşme | 12 | 6 | 4 | 2 | 0.6667 | 0.3333 | 0.5165 | 0.0017 | 0.2903 |

4.3.3. *An. sacharovi* Popülasyonlarındaki *ace-1* Mutasyonu Frekansları

Ace-1 gen dizisinin 119. pozisyonundaki aminoaside bağlı olarak *ace-1* mutasyonu açısından duyarlı ve dirençli alelleri belirlemek üzere alel spesifik primerler tasarlanmıştır. Bu primerlerin Glisin (GGG) ve Serin (AGC) alelleri varlığında oluşturacağı farklı agaroz jel bant profiline dayalı olarak genotiplerin belirlenmesi hedeflenmiştir (Şekil 4.23). Bunun için Akdeniz Bölgesi içerisinde Burdur-Bucak, Hatay-Kırıkhan, Mersin-Tarsus, Osmaniye-Kadirli ve Ege Bölgesi'nde Aydın-Buharkent, Denizli-Sarayköy, Muğla-Dalaman lokalitelerinden toplanan *An. sacharovi* popülasyonlarında *ace-1* mutasyonu taranmış ancak hiçbir örnekte bu mutasyon tespit edilememiştir. Bunun üzerine, sekans analizine gönderilen bu örnekler için gen dizisi Şekil 4.24'de verilmiştir.



Şekil 4.23. Glisin (GGG) ve Serin (AGC) aminoasidini kodlayan diziyi çoğaltan alele özgü primerlerle yapılan bir PZR'nun agaroz jel üzerindeki görüntüsü.

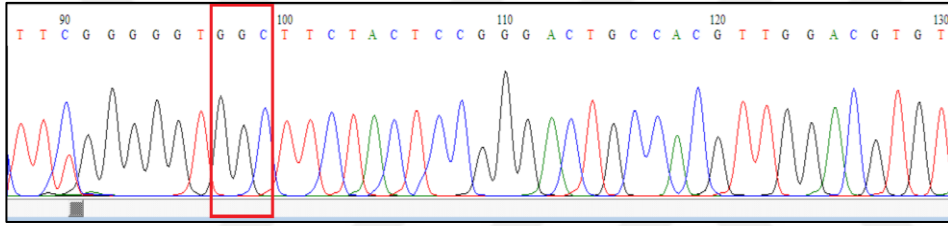


Şekil 4.24. *An. sacharovi*'de *Ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi

4.3.4. *Cx. pipiens* Popülasyonlarındaki *ace-1* Mutasyonu Frekansları

Akdeniz Bölgesi'nde Hatay Dörtüyük, Adana Karataş, Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Isparta Merkez ve Burdur Merkez lokalitelerinden, Ege Bölgesi'nde ise

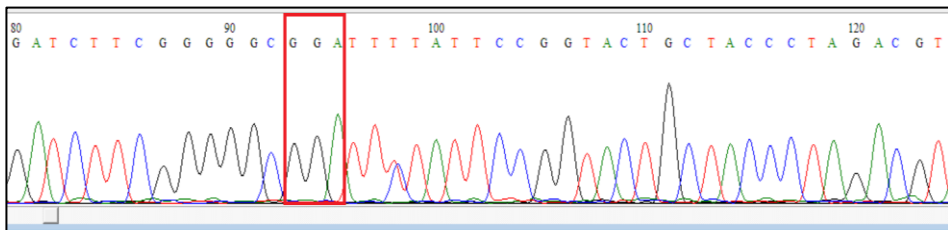
Aydın-Söke, Muğla-Dalaman, Manisa-Saruhanlı, Denizli-Honaz, Afyon-Dinar ve Uşak-Eşme lokalitelerinden toplanan *Cx. pipiens* popülasyonlarına ait bireylerde *Alu-I* restriksiyon endonükleaz ile kesim profillerine dayalı olarak genotiplerin belirlenmesi amaçlanmıştır ancak hiçbir örnekte kesim olmamıştır. Bunun üzerine deneyin doğrulanması amacıyla Akdeniz ve Ege Bölgesi'ndeki toplam 12 adet lokalitenin herbirine ait 8'er örnek dizi analizine gönderilmiştir. Dizi analizleri de 96 adet *Cx. pipiens* bireyinin hiçbirinde *ace-1* mutasyonu olmadığını göstermiştir.



Şekil 4.25. *Cx.pipiens*' de *ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi

4.3.5. *Oc. caspius* Popülasyonlarındaki *ace-1* Mutasyonu Frekansları

Weill vd. (2004a) tarafından tasarlanan dejenere primerler ile çoğaltılan *ace-1* gen bölgesi dizi analizleri için Macrogen Inc. Firmasına gönderilerek bu bölgeye ait diziler elde edilmiştir. Dizi analizleri *Oc. caspius* türünde 119. pozisyondaki kritik Glisin aminoasidinin baz dizilerinde herhangi bir mutasyon olmadığını ve her defasında GGA tarafından kodlandığını göstermiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *Oc. caspius*' da *ace-1* gen bölgesinin bir kısmına ait DNA dizisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sivrisinekler gibi vektörlerin kontrolünde elde edilecek olan başarı oranında kontrol ajanlarının etkinliği, hedef organizmanın tepkisi, sosyolojik, kültürel ve çevresel değişkenler gibi birçok faktör etkili olabilmektedir. Dolayısıyla, sivrisineklerin ve vektörlüğünü yaptıkları hastalıkların kontrolünde en iyi strateji, zamansal ve mekânsal olarak uygun olan tüm kontrol yöntemlerinin birlikte kullanılabilmesidir. Bu bütünsel strateji, temel olarak iki yaklaşımı içerir: ilki, sorunu yaratan kaynakların mekanik yöntemler kullanılarak önlenmesi ve sorunun etkilediği/etkileyeceği hedef topluluğun eğitim yoluyla bilinçlendirilmesi, ikincisi de, mücadelesi yapılacak olan vektör türlerin popülasyon dinamiklerine göre sürdürülen mücadele çalışmalarında öldürücü etkiyi yapan ajanların etkinlik düzeyinin analiz edilmesidir. Vektör kontrol çalışmalarının en önemli bileşenlerinden biri olan kimyasal insektisitlere karşı vektör popülasyonlarında gelişen direnç, 1950’li yıllardan beri vektör kontrolünde insektisitlerin yoğun bir şekilde kullanılmasının bir sonucudur. Ne yazık ki, bu sorun bir sonraki kullanımlarında insektisitlerin etkinlik düzeylerini azaltır ve vektör kontrol çalışmalarının başarısızlıkla sonuçlanmasına sebep olur. Günümüzde Dünya genelinde 500’den fazla böcek türünün çeşitli insektisitlere karşı dirençli olduğu bilinmektedir ve bunların 50’den fazlası sıtma vektörü olan *Anopheles* türleridir (Corbel ve N’Guessan, 2003). İnektisit direncinin tipi ve düzeyinin değerlendirilmesinde önemli olan rutin gözlem ve surveyans çalışmalarıdır ve daha etkili ve sürdürülebilir vektör kontrolü açısından gereklidir. Bu çalışmaların yapılması ve devamlılığı vektör popülasyonlardaki direncin seviyesinin belirlenmesi, popülasyonlarda direnç alellerinin sabitlenmesi riskinin önüne geçilmesi ve eğer gerekli ise yeni ve farklı ilaç uygulamalarının yapılması açısından önemlidir. Dolayısıyla, 1950’den beri bildirilen ve sürekli yenilerinin eklenerek güncellendiği insektisit direncine dair çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır.

Akdeniz ve Ege bölgeleri kapsamında *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* türlerinin farklı popülasyonlarının insektisit duyarlılık düzeylerinin belirlenmesini sağlayan test sonuçları, çalışılan popülasyonların tamamının DDT’ye karşı dirençli olduğunu ortaya koymuştur. DDT 1960’lı yıllara kadar hem ülkemizde hem Dünya’nın birçok ülkesinde sıtma vektörlerinin mücadelesinde yaygın olarak kullanılmıştır. Yoğun DDT kullanımının ardından Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi*

popülasyonlarında kısa bir süre sonra DDT direnci oluşmaya başlamıştır (Hemingway vd., 1985). Hem ülkemizde hem Dünya'nın birçok ülkesindeki *An. maculipennis*, *Culex pipiens* ve *Ae. aegypti* popülasyonlarında DDT direncinin devam ettiği rapor edilmiştir (Rodriguez vd., 2007; Ocampo vd., 2011; Akiner vd., 2013; Akiner ve Ekşi 2015). Direnç sorunu ve çevreye verdiği zarar sebebiyle DDT kullanımı 1980'li yıllarda ülkemizde yasaklanmıştır. DDT'nin 1980'li yıllardan itibaren vektör kontrolünde kullanılmıyor olmasına rağmen bugün bile hala bu DDT direnci devam etmektedir ve popülasyonlarda korunmaktadır. Benzer şekilde İran'ın sıtma endemik bölgelerinde uzun yıllar DDT'nin yerine dieldrin kullanılmaya devam etmiş olsa da *An. sacharovi* popülasyonlarında DDT direncinin devam ettiği rapor edilmiştir (Vatandoost ve Abai, 2012).

Ksenobiyotik detoksifikasyonundan sorumlu bir çok fonksiyonlu enzim ailesi olan Glutatyon-s-transferazlar DDT'nin toksik olmayan ürünlere dönüştürülmesinde görev alan esas enzimlerdir (Hemingway ve Ranson, 2000). Akdeniz Bölgesi'nin Osmaniye Kadirli, Mersin Tarsus ve Kahramanmaraş Türkoğlu popülasyonlarında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla yaklaşık 18 ve 13'er katlık bir GST aktivitesi artışı olmuştur. Bu üç popülasyonda en yüksek olmakla birlikte Akdeniz Bölgesi'nin *An. sacharovi* popülasyonlarının tamamında GST seviyesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksektir. Ege Bölgesi'nde ise en yüksek Aydın Buharkent, Afyon Sandıklı ve Manisa Akhisar *An. sacharovi* popülasyonlarında görülmekle birlikte popülasyonların tamamında kontrol grubuna kıyasla 4-10 kat arasında değişen istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$). *Cx. pipiens*'in Akdeniz ve Ege Bölgesi popülasyonlarının GST aktivitelerindeki artış *An. sacharovi*'de görülen miktar kadar olmasa da yine de kontrol grubuna kıyasla 2-7 kat arasında değişen bir artış görülmüştür. Antalya Manavgat ve Burdur Merkez popülasyonları haricinde çalışma alanı içerisindeki bütün *Cx. pipiens* popülasyonlarında GST aktivitesinde anlamlı bir artış olmuştur. *Oc. caspius* popülasyonlarındaki GST aktivitesi artışı ise kontrol grubuna kıyasla 3-9 kat fazladır ve her iki coğrafik bölgenin bütün popülasyonları GST aktivitesi açısından artış göstermiştir. Bu durum, çalışma alanımızdaki popülasyonların çoğundaki DDT direncinden, artan GST enzim seviyesinin sorumlu olduğunu göstermektedir. Daha önceki yıllarda da Hemingway vd. (1985) Çukurova bölgesindeki *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT direncini GST enzim seviyesindeki artış ile ilişkilendirmiştir. Hindistan'dan toplanan DDT dirençli *An. annularis* ve *An. culicifacies* popülasyonlarında da duyarlı popülasyonlara kıyasla GST enzim

aktivitesinde 3 katlık bir artış olduğu rapor edilmiştir (Gunasekaran vd., 2011). Afganistan'ın Kunar ve Nangarhar bölgelerinden elde edilen DDT'ye dirençli *An. stephensi* popülasyonlarında sırasıyla 1,33 ve 1,8 katlık GST aktivitesi artışı olduğu rapor edilmiştir (Safi vd., 2017). Benzer şekilde, bazı *Ae. aegypti*, *An. vagus* ve *An. sinensis*, popülasyonlarındaki DDT direnci artan GST aktivitesi ile sağlanmıştır (Polson vd., 2011; Qin vd., 2014).

DDT direncine sebep olan tek mekanizma GST aktivitesi değildir. Chiu vd. (2008), P450 monooksijenazlar içerisinde yer alan cyp6z1'in DDT'yi metabolize edebildiğini öne sürmüştür. Bunu destekler şekilde çalışma alanımız içerisinde yer alan bütün *An. sacharovi* popülasyonları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir MFO enzim aktivitesi artışı göstermiştir. Bu artış, en fazla Akdeniz Bölgesi içerisinde Antalya Manavgat ve Adana Karataş popülasyonlarında görülmüştür ve sırasıyla 12 ve 11 kattır. Aydın Buharkent, Muğla Dalaman ve Afyon Sandıklı başta olmak üzere Ege Bölgesi'nin de bütün popülasyonlarında MFO seviyesi artmıştır ve bu artış yaklaşık 2,5-7 kat arasındadır. *Cx. pipiens*'in her iki coğrafik bölgeden elde edilen popülasyonlarındaki MFO artışı *An. sacharovi* popülasyonlarında görülen artışa neredeyse paraleldir. Burdur Merkez ve Uşak Eşme popülasyonları haricindeki diğer bütün popülasyonların kontrol grubuna kıyasla MFO seviyeleri yüksektir. Akdeniz Bölgesi içerisindeki en yüksek MFO artışı 4 kattır ve Antalya Manavgat popülasyonunda görülmüştür. Ege Bölgesi'nde ise en fazla Denizli Honaz ve Manisa Saruhanlı popülasyonlarında yaklaşık 7,5 katlık artış olmuştur. *Oc. caspius* türünün sadece Burdur Merkez haricinde bütün Akdeniz ve Ege bölgesi popülasyonlarında MFO seviyesinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ve yaklaşık 3-6,5 kat arasında değişen bir aktivite artışı olmuştur. Çalışmamızdan elde edilen biyokimyasal analizlerin sonuçları GST seviyesindeki artışa ek olarak yükselen MFO seviyelerinin de bu popülasyonların DDT direncinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Çin'in sıtmanın endemik olduğu Hainan Ada'sından elde edilen DDT dirençli *An. vagus* popülasyonlarında kontrol grubuna göre kıyasla MFO, GST ve NSE enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Qin vd., 2014). Kolombiya'dan elde edilen DDT ve lambda-cyhalothrin dirençli *An. darlingi* popülasyonlarında artan MFO aktivitesinin hem DDT hem de lambda-cyhalothrin direncinden sorumlu olduğu, bu sebeple de bu iki insektisit arasında çarpaz direnç olduğu rapor edilmiştir (Gonzales vd., 2009). Bunun yanısıra, MFO'nun doğrudan DDT direncinde rol almadığına ilişkin de çalışmalar vardır.

Djouaka vd. (2016), Nijerya'nın batısındaki Akako-Remo'dan elde edilen DDT ve permethrin dirençli *An. funestus* popülasyonlarında MFO'nun DDT direncinde değil de permethrin direncinde doğrudan rol aldığını Piperonyl Butoksit (PBO) uygulaması ile net bir şekilde ortaya koymuşlardır. PBO, MFO inhibitörüdür. WHO'nun hassasiyet testlerindeki DDT ve permethrin'den önce PBO'ya maruz bırakılan *An. funestus* bireylerinde PBO muamelesinden sonra DDT'ye karşı mortalite oranı çok az artmış ancak permethrin'e karşı mortalite oranı önemli derecede artış göstermiştir. Orta Afrika Cumhuriyeti'nden elde edilen *An. funestus* popülasyonlarında da PBO uygulamasından DDT mortalite oranında belirgin bir değişiklik olmaması *An. funestus* popülasyonlarının DDT direncinde MFO'nun rolü olmadığını göstermektedir (Sangba vd., 2016). Bununla birlikte, ülkemiz'de Mersin'den elde edilen 4 *Cx. pipiens* popülasyonlarında PBO ile muamaleden sonra hem DDT hem de permethrin ve deltmethrin'e karşı mortalite oranının artması ülkemizdeki *Cx. pipiens* popülasyonlarının hem DDT hem de pretroidli insektisitlere karşı direncinde MFO'nun sorumlu olduğunu göstermektedir (Akıner ve Ekşi, 2015).

DDT'nin hedefi voltaj duyarlı sodyum kanallarındaki reseptör proteinlerdir. Sorumlu reseptör proteinin hedef bölgesinde lösün aminoasidi yer alır ve TTG ile kodlanmaktadır. Ortaya çıkan iki mutasyondan ilki, 1014. baz ve üçüncü pozisyonda olan guaninin timine dönüşmesi (TTG...TTT) ve dolayısıyla lösünün fenilalanine dönüşmesi olan L1014F mutasyonudur. İkinci de, 2. pozisyondaki timinin sitozine dönüşmesi ile (TTG...TCG) lösünün serine dönüşmesidir ve L1014S mutasyonu olarak bilinmektedir. Bu mutasyonlar *kdr* olarak bilinen en yaygın insektisit direncini sağlayan mutasyonlardır. Çalışmamız kapsamında *An. sacharovi* ve *Cx. pipiens* popülasyonlarında *kdr* direncine sebep olan mutasyonlar alel spesifik primerler ile popülasyonlar düzeyinde taranmıştır. *Cx. pipiens* türünde *kdr* direnci L1014F mutasyonu ile meydana gelirken, *An. sacharovi*'de hem L1014F hem de L1014S mutasyonu ile meydana geldiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte *An. sacharovi*'nin sadece Hatay Kırıkhan ve Kahramanmaraş Türkoğlu popülasyonlarında L1014F mutasyonu tespit edilmiştir. Akdeniz Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarının tamamında 1014. pozisyondaki lösün aminoasidi, TTG (Lösün₂) ile ifade edilmektedir. En yüksek GST seviyelerine sahip olan Osmaniye Kadırlı ve Mersin Tarsus popülasyonları örneklerinin tamamında L1014S mutasyonuna sahiptir ve homozigot dirençli (RR)'dir. Bu iki popülasyonda heterozigotluğun sıfır olması nedeniyle popülasyonlarda 1014S aleli

sabitlenmiştir. Yine en yüksek GST seviyelerinden birine sahip olan Kahramanmaraş Türkoğlu popülasyonunun ise yine tamamı homozigot yada heterozigot dirençli olarak ya L1014S ya da L1014F mutasyonu taşımaktadır. Fisher'in kesinlik testi sonuçları, bu popülasyonlarda soy içi üremenin gerçekleştiğini ve heterozigotluk oranının beklenenden çok düşük olduğunu göstermektedir. Akdeniz Bölgesi'nin diğer *An. sacharovi* popülasyonlarında L1014F ve L1014S alel frekansları sırasıyla yaklaşık olarak 0.7 ve 0.5 civarındadır ve soy içi üreme depresyonu görülmemektedir. Ege Bölgesi *An. sacharovi* popülasyonlarında Lösün aminoasidi TTG (Lösün₂)'nin yanısıra bir de TTA (Lösün₁) ile ifade edilmektedir. Bu sessiz bir mutasyondur ve fenotipte aminoasit değişikliği olmamıştır. TTA sessiz mutasyonu sadece Muğla Dalaman popülasyonunda tespit edilmiştir. Ege Bölgesi popülasyonların da yalnızca L1014S mutasyonu hakim olsa da yine de *kdr* oranı Akdeniz Bölgesi popülasyonları kadar yüksek değildir. Özellikle Denizli-Sarayköy popülasyonunun sadece %20'sinde L1014S mutasyonu belirlenmiştir ve L1014S aleli frekansı 0,2'dir. En yüksek GST seviyesine sahip Aydın Buharkent popülasyonunda da bireylerin %60'ı homozigot duyarlıdır ve L1014S aleli frekansı 0,35'dir. Güneydoğu Asya, Hindistan ve Çin'in bazı bölgelerinde farklı *Anopheles* türlerinde de L1014F, L1014S ve L1014W gibi farklı *kdr* direnç mutasyonları belirlenmiştir. Örneğin, Hindistan'ın *An. stephensi* popülasyonlarında hem L1014F hem de L1014S mutasyonu tespit edilmekle birlikte, L1014S mutasyon frekansı L1014F mutasyonundan daha yüksektir (Singh vd., 2011). Chen vd. (2019), Çin'in Ruian ve Yongjia lokalitelerinden elde edilen *An. sinensis* popülasyonlarında L1014F ve L1014C (TTG...TGC; Lösün...Sistein) mutasyonu tespit etmiştir. Çin'in diğer bölgelerinde *An. sinensis* popülasyonlarında L1014F ve L1014S mutasyonunun yanısıra L1014W (TTG...TGG; Lösün...Triptofan) triptofan aminoasidi mutasyonu tespit edilmiştir (Tan vd., 2012). Güneydoğu Asya'da *An. vagus*, *An. paraliae*, *An. sinensis* popülasyonlarında L1014S, *An. peditaeniatus* popülasyonlarında hem L1014F, hem L1014S mutasyonu tespit edilmiştir (Verhaeghen., 2010). Togo'da *An. gambiae* ve *An. coluzzii* popülasyonlarında % 66-100 oranında L1014F; %5-13 oranında L1014S; %10-45 oranında N1575Y (AAT...TAT; AAC...TAC; Asparajin....Tirozin) mutasyonu tespit edilmiştir (Djegbe vd., 2018).

Çalışma alanımız içerisindeki lokalitelerin tamamından elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında L1014F mutasyonu tespit edilmiştir. Genel anlamda Akdeniz

Bölgesi'ne kıyasla Ege Bölgesi popülasyonlarının 1014F alel frekansları daha yüksektir. Akdeniz Bölgesi içerisinde en yüksek 1014F aleli frekansına sahip olan Burdur Merkez popülasyonudur. Hem GST hem de MFO seviyesinde kontrol grubuna göre farklılık göstermemiş olan Burdur Merkez popülasyonunda DDT direncini L1014F mutasyonu sağlamaktadır. En düşük alel frekansına sahip olan Isparta Merkez'de ise 1014F frekansı 0,29'dur. Ege Bölgesi'nde Denizli Honaz ve Aydın Söke *Cx. pipiens* popülasyonlarının tamamında homozigot L1014F mutasyonu tespit edilmiş ve 1014F aleli her iki popülasyonda sabitlenmiştir. Denizli Honaz popülasyonu en düşük GST seviyesine sahip popülasyonlardan biridir ve bu durum Honaz'da DDT direncinin L1014F mutasyonu ile sürdürüldüğünü göstermektedir. Aydın Söke'de ise hem MFO, hem GST hem de L1014F mutasyonu ile DDT direnci devam ettirilmektedir. Ege Bölgesi'nde en düşük *kdr* mutasyonuna sahip *Cx. pipiens* popülasyonu Uşak Eşme'dir. Bu popülasyondaki yüksek olmayan GST aktivitesi artışı, DDT direncinin kısmen MFO, kısmen de *kdr* direnci ile sağlandığını göstermektedir. Ege Bölgesi'nde 6 ilden elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında DDT ve pretroid direncinden sorumlu olan *kdr* direncinin L1014F ve L1014C mutasyonları ile sağlandığı tespit edilmiştir (Taşkın vd., 2015). Bu çalışmada 2012 yılının ilkbahar, kış ve 2013 yılının ilkbahar mevsiminde örnekler toplanmış ve mevsimsel farklılıklar tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek frekansa sahip olan alel L1014C mutasyonu frekansdır ve mevsimlere göre sırasıyla %51,5, %74,5 ve %46,7 olarak kaydedilmiştir. L1014F mutasyonunun frekansları ise %8,9, %4,1 ve %17,7 olarak rapor edilmiştir (Taşkın vd., 2015). Bu çalışmada ise hem Akdeniz hem de Ege Bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarında sadece L1014F mutasyonu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Fas'ın Morocco ve Mohammadiye kentlerinden elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında da L1014F mutasyonu çok yüksektir (Tmimi vd., 2018). Çin'in bazı bölgelerinden elde edilen *Cx. pipiens quinquefasciatus* popülasyonlarında *kdr* L1014S mutasyonu ile (Xu vd., 2006), New Jersey'in *Culex pipiens* popülasyonlarında ise L1014F mutasyonu ile (Johnson ve Fonseca, 2016), Çin'in *Cx. pipiens molestus* formpopülasyonlarında ise L1014C ile devam ettirilmektedir (Wang vd., 2012).

Çalışmadan elde edilen sonuçlarına göre *Culex pipiens* ve *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT direncinden GST ve MFO enzim aktivitesi artışı ve *kdr* direnci mutasyonlarının (L1014F veya L1014S) bazen hep birlikte bazen de tek tek sorumlu olabildiğini göstermektedir. *Kdr* direnci oranının çok düşük olduğu

An. sacharovi Aydın Buharkent popülasyonunda DDT direnci hem GST hem de MFO aktivitesi artışıyla; Hem GST hem MFO aktivitesi artışı olmadığı *Cx. pipiens* Burdur Merkez popülasyonunda yüksek *kdr* mutasyonu frekansıyla; GST artışının olmadığı *Cx. pipiens* Antalya Manavgat popülasyonunda artan MFO seviyesi ve kısmen de *kdr* mutasyonu ile sürdürülmektedir. Bununla birlikte, *Oc. caspius* popülasyonlarında *kdr* mutasyonu gibi DDT direncine sebep olabilecek herhangi bir mutasyona dair sonuç elde edilemediğinden DDT direncinin altında yatan moleküler mekanizmalar hakkında kesin olarak bir sonuca varmak mümkün değildir. Ancak, biyokimyasal analizlere dayanarak *Oc. caspius* popülasyonlarında DDT direncinden çoğunlukla GST ve MFO'nun ikisinin birden bazen ise tek tek sorumlu olduklarını söylemek yanlış olmayacaktır. Örneğin, Burdur Merkez popülasyonunda MFO istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sahip olmasa da, DDT direnci tek başına GST aktivitesi artışıyla devam ettirilmektedir.

DDT direncinin görülmesini takiben 1970'li yıllarda sivrisinek kontrol çalışmalarında DDT'nin yerini OP'lu grup içerisinde yer alan malathion, fenitrothion ve OC'lu grup içerisinde yer alan bendiocarb ve propoxur gibi insektisitler almaya başlamıştır (Ramsdale vd., 1980; Russel vd., 2011). Bununla birlikte 1974 yılından itibaren OC'lu ve OP'lu gruplara karşı da direnç geliştirilmeye başlanmış ve ülkemizde Çukurova'dan elde edilen *An. sacharovi* ve *An. superpictus* popülasyonlarında ilk kez malathion; 1975 yılında ise *An. sacharovi* popülasyonlarında ilk kez propoxur direncinin olduğu rapor edilmiştir (Ramsdale vd., 1980). Ramsdale vd. (1980) tarımsal alanlarda yaygın olarak kullanılan malathion ve propoxurun sivrisinek popülasyonlarında seçim baskısı oluşturması nedeniyle direnç geliştirdiklerini öne sürmüşlerdir. 1997 yılında yine Adana'dan elde edilen *An. sacharovi* popülasyonlarının DDT, dieldrin, propoxur, permethrin ve deltamethrine karşı dirençli olduğu ancak malathiona karşı duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Lüleyap ve Kasap, 2000; Kasap vd., 2000). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre hem Akdeniz hem Ege Bölgesi *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* popülasyonlarının tamamı hem OP'lu (malathion ve fenitrothion) hem de CB'lı (propoxur ve bendiocarb) insektisitlere karşı dirençlidir. Bu durum başta malathion olmak üzere OP ve CB'lı insektisitlerin tarım zararlılarının kontrolünde yoğun olarak kullanılması ve bunun sonucunda tarım alanlarında yüksek bir seçim baskısı oluşturması ile açıklanabilir (Kasap vd., 2000). Benzer şekilde Lüleyap ve Kasap (2000) bazı sivrisinek türlerinin insektisit direncinde tarımsal insektisit kullanımının etkilerini

rapor etmişlerdir. Yine, Etang vd. (2007) pamuk üretilen alanlardaki *An. gambiae* popülasyonlarında daha yüksek insektisit direnci görüldüğünü öne sürmüşlerdir.

Genel olarak OP ve CB direnci yüksek karboksilesteraz aktivitesi ile sürdürülmektedir. Esteraz etkili direncin OP direncinde primer, CB direncinde ise sekonder etkili direnç mekanizması olduğu ileri sürülmektedir (Peiris ve Hemingway, 1993). Çalışmamızda hem *An. sacharovi*, hem *Cx. pipiens* hem de *Oc. caspius* popülasyonlarındaki esteraz enzimi aktivitelerinin hesaplanması için esterazların üç substratı olan alfa naftil asetat, beta naftil asetat ve para nitro fenil asetat kullanılmıştır. Asetilkolinesterazların ise hem enzimatik düzeyde yüzde inhibisyon oranları hesaplanmıştır hem de *Ace* gen bölgesindeki mutasyonlar moleküler teknikler yardımıyla taranmıştır. *An. sacharovi* türünün Akdeniz ve Ege Bölgesi'ndeki popülasyonlarının tamamında hem alfa esteraz hem de beta esteraz aktivitelerindeki enzimatik aktivite artışı istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu popülasyonlarda görülen OP ve CB direnci esteraz aktivitesi ile devam ettirilmektedir. Ayrıca Türkoğlu ve Kırıkhan haricindeki kalan popülasyonların hepsinde kalan AChE aktivitesi %30'un üzerindedir. Bu durum OP ve CB'lı insektisitlerin ana hedefi olan AChE enziminin Türkoğlu ve Kırıkhan popülasyonları haricinde insektisit direncinde rol aldığını göstermektedir. *Culex pipiens*'in Akdeniz Bölgesi'ndeki Manavgat popülasyonu ve Ege Bölgesi'ndeki Eşme popülasyonu haricinde kalan popülasyonlarının tamamındaki alfa ve beta esteraz enzim aktivitesi artışı bu türün popülasyonlarında da OP ve CB direncinin genel esterazlarla sürdürüldüğünü göstermektedir. Genel esterazların yanısıra Adana Karataş, Mersin Tarsus, Isparta Merkez, Muğla Dalaman ve Aydın Söke popülasyonlarında görülen OP ve CB direncine, %30'un üzerindeki kalan AChE aktivitesi de eşlik etmektedir. *Oc. caspius* türünün hem Akdeniz hem de Ege Bölgesi popülasyonlarında görülen alfa ve beta esteraz aktivitesi bu popülasyonlarda görülen OP ve CB direncini açıklamaktadır. Adana Tuzla, Mersin Tarsus, Afyon Dinar, Denizli Acıpayam ve Muğla Dalaman popülasyonlarındaki yüksek AChE aktivite oranı genel esterazların yanısıra Asetilkolinesterazın da OP ve CB direncinde rol aldığını göstermektedir. Çalışmamızdan elde edilen veriler hem *An. sacharovi* hem *Cx. pipiens* hem de *Oc. caspius* popülasyonlarının çoğunda görülen yüksek alfa ve beta esteraz seviyeleri bu popülasyonlarda görülen yüksek OP ve CB direncini açıklayabilmektedir. Esteraz temelli insektisit direnci bugüne kadar 30'dan fazla böcek türünde gözlenmiştir (Hemingway ve Karunaratne, 1998). Ülkemizin Trakya Bölgesi'ne ait 5 *Anopheles maculipennis*

popülasyonunda mevcut olan malathion direncinden sorumlu olan asil mekanizmanın esteraz aktivitesi olduğu rapor edilmiştir (Akıner vd., 2013). Yine, ülkemizde Birecik, Beyşehir, Çankırı, Avarız, Tatarköy ve Seremköy *An. maculipennis* popülasyonlarının malathion ve propoxura karşı dirençleri 2007 yılından 2008 yılına doğru artış göstermiştir. Bunun yanısıra, asetilkolinesteraz enzimi duyarsızlığının da malathion ve propoxur'a paralel olarak artış göstermesi bu popülasyonlardaki OP direncinden sorumlu mekanizmanın asetilkolinesterazlar olduğunu göstermektedir (Akıner, 2014). Yıllardır tarımsal aktivitelerde yoğun bir şekilde bendiocarb ve fenitrothion'un kullanıldığı Kadiolo'da, OP ve CB direncinin yüksek olduğu *An. gambiae* popülasyonlarında genel esteraz seviyelerinin de çok yüksek olduğu ortaya konmuştur (Cisse vd., 2015). Benzer şekilde Dubai'deki *An. stephensi* popülasyonlarında görülen OP direnci genel esterazlar, Afganistan'daki *An. stephensi* popülasyonlarında görülen OP direnci ise AChE ile açıklanmıştır (Enayati vd., 2003; Safi vd., 2017). Polson vd. (2011) *Ae. aegypti* Trinidad popülasyonlarında görülen OP direncini yüksek alfa esteraz seviyesi ile açıklamıştır.

Malathion karboksilesterazlar gibi bazı esterazlar malaoxon yerine sadece malathion'u metabolize edebildikleri için özel olarak malathion karboksilesterazlar olarak isimlendirilirler (Hemingway ve Karunaratne, 1998; Etang vd., 2007). Malathion karboksilesterazlar *An. culicifacies*, *An. stephensi* ve *An. arabiensis* popülasyonlarında tanımlanmıştır (Herath vd., 1987; Hemingway, 1982, 1983). Akıner vd. (2013) ülkemizdeki *An. maculipennis* popülasyonlarındaki malathion direncinin spesifik olarak artan pNPA düzeyleri ile ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Montella vd. (2007) Brezilya'daki *Ae. aegypti* popülasyonlarındaki temephos direncinin yüksek pNPA ile ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada *An. sacharovi*'nin Mersin Tarsus, Antalya Manavgat, Isparta Gelendost, Burdur Bucak ve Uşak Eşme; *Cx. pipiens*'in Uşak Eşme; *Oc. caspius*'un Burdur Merkez popülasyonları haricindeki geri kalanların tamamında pNPA oranları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir. Bununla birlikte çalışmamızın sonucunda OP ya da CB grubundan herhangi bir insektisite karşı spesifik olarak herhangi bir substrat ile direnç oluşumu söz konusu değildir.

Weill vd. (2004b), *Ace* gen bölgesinin 119. pozisyonunda bulunan kritik glisin (GGG, GGC veya GGA) aminoasidinin bazı türlerde sadece serine (AGC) dönüşebildiğini (G119S) bazı türlerde ise korunduğunu ve dönüşmediğini öne

sürmüştür. 119. pozisyondaki *Ace* kodonlarını serine dönüşebilir ve dönüşemez olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Asetilkolinesteraz ve genel esterazlardaki aktivite artışının yanısıra hedef bölge duyarsızlığı olarak bilinen *Ace* gen bölgesindeki AChE'nin aktif bölgesini kodlayan baz dizisinde meydana gelen değişiklikler de OP ve CB direncinde önemlidir. Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda *An. sacharovi* ve *Cx. pipiens* türleri için *Ace* mutasyon taramasına yer verilmiştir. *An. sacharovi* için duyarlı (GGG) ve dirençli (AGC) bireylerdeki alelleri çoğaltacak olan alele özgü primerler tasarlanmıştır. Akdeniz Bölgesi'nden toplanan yaklaşık 80 örnekte PZR yapılmıştır ancak hiç bir örnekte dirençli alel tespit edilmemiştir. Bireylerin tamamı yabancı Glisin (GGG) aminoasidini taşımaktadır. Bu sınıflandırmaya göre *An. sacharovi*'nin *Ace* kodonlarını serine dönüşemeyen, *Cx. pipiens*'in ve *Oc. caspius*'un *Ace* kodonlarını ise serine dönüşebilen olarak sınıflandırmıştır. Serine dönüşebilen türlerde Glisin doğal olarak GGC ile kodlanmaktadır ve AGC'ye dönüşüm için sadece birinci pozisyondaki guanin aminoasidinin adenine dönüşmesi gerekmektedir. Ancak glisinin doğal olarak GGG ve GGA ile kodlandığı türlerde AGC'ye dönüşüm hem birinci pozisyondaki glisinin adenine hem de üçüncü pozisyondaki glisinin veya adeninin sitozine dönüşümü yoluyla olması gerekir. Bu da iki basamaklı bir değişimdir ve kodon taraflılığının ihlalidir. Bu yüzden serine dönüşüm olmamaktadır. Çalışmalarımızın sonuçları da *An. sacharovi* popülasyonlarında *ace-1* mutasyonunun görülmediği görüşü desteklenmiştir. Bununla birlikte Dünya'nın farklı bölgelerine ait farklı *Anopheles* türlerinde *ace-1* G119S mutasyonu oldukça yaygın bir şekilde belirlenmiştir. Çin'in Guangxi Zhuang bölgesinden elde edilen 9 *An. sinensis* popülasyonlarının tamamında G119S mutasyonu belirlenmiş ve Serin aleli frekansının bu popülasyonlarda fikse olduğu tespit edilmiştir (Feng vd., 2015). Benzer şekilde Çin'in Ruian ve Yongjia popülasyonlarında da çok yüksek frekansta G119S aleli belirlenmiş ve hatta bu aleller popülasyonlarda fikse olmuştur (Chen vd., 2019). Burkina Faso'nun hem M formundaki hem de S formundaki *An. gambiae* popülasyonlarında G119S aleli tanımlanmış, S formundaki serin aleli frekansının ise M formuna kıyasla çok daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Namountogou vd., 2012). Bunun yanısıra Benin, Doğu Afrika ve Mozambik'teki *An. funestus* popülasyonlarındaki düşük frekansa sahip G119S mutasyonu ile CB direnci arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı öne sürülmüştür (Djouaka vd., 2011; Mulamba vd., 2014; Cuamba vd., 2010).

Çalışmamızda *Cx. pipiens* popülasyonlarındaki *ace-1* mutasyonunun belirlenmesi için ise PZR-RFLP tekniği kullanılmıştır. *Alu-I* restriksiyon endonükleaz enzimi ile her bir *Cx. pipiens* popülasyonuna ait 12'şer bireyin hiç birinde kesim olmaması üzerine, bu örneklerin sekans analizleri ile *Ace* gen bölgelerine ait diziler elde edilmiştir. Örneklerimizin tamamında glisin aminoasidi GGC aminoasidi ile kodlanmaktadır ve hiçbirinde *ace-1* G119S mutasyonuna rastlanmamıştır. Bu sonuç ülkemizin Akdeniz ve Ege bölgesi *Cx. pipiens* popülasyonlarında görülen OP ve CB direncinden *ace-1* G119S mutasyonunun sorumlu olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde ülkemizin Ege ve Marmara Bölgeleri'nden elde edilen *Cx. pipiens* popülasyonlarında G119S mutasyon frekansının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. G119S mutasyon frekansının 2012 ve 2013 yıllarında sırasıyla 0,11 ve 0,08 olduğu rapor edilmiştir (Taşkın vd., 2015). Fas'ın kentsel ve kırsal alan popülasyonlarından elde edilen *Cx. pipiens* örneklerinde, *Cx. pipiens* larvalarının mücadelesinde kullanılan temephos (OP) sebebiyle G119S mutasyonunun kırsal alanlara nazaran kentsel alanlarda daha yüksek frekansta olduğu tespit edilmiştir. Ancak, OP ile muamale edildikten sonra ölmeyen bazı bireylerde G119S mutasyonunun olmaması, OP direncinde yatan tek mekanizmanın G119S mutasyonu olmadığı göstermektedir (Bkhache vd., 2019). Çalışmamızda da bütün *Cx. pipiens* popülasyonları hem OP hem de CB'lara karşı dirençli olsa da hiç G119S mutasyonuna rastlanılmamıştır. Bu durum özellikle esterazlar olmak üzere detoksifikasyon enzimlerinin rolüne işaret etmektedir. Benzer şekilde Tmimi vd. (2018), Fas'ın *Cx. pipiens pipiens* popülasyonlarında G119S mutasyonu frekansının çok düşük olduğunu, *Cx. pipiens molestus* popülasyonlarında ise hiç görülmediğini tespit etmiştir. Ayrıca, malathion ve bendiocarb direnci ile G119S alel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon yoktur.

Pretroid grubu insektisitlerden permethrin ve deltamethrine karşı direnç oluşumunun test edildiği hassasiyet testi sonuçları *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* popülasyonlarının bir kısmının henüz pretroidli insektisitlere karşı duyarlı olduğu gösterse de bir kısmında direnç oluşumunun başladığını göstermektedir. *An. sacharovi*'nin Akdeniz Bölgesi Kahramanmaraş Türkoğlu ve Burdur Bucak popülasyonları her iki pretroid grubu insektisite karşı henüz duyarlıdır. Bununla birlikte, Adana Karataş ve Antalya Manavgat popülasyonlarında deltamethrin direnci; Isparta Gelendost popülasyonunda permethrin direnci; Hatay Kırıkhan, Mersin Tarsus ve Osmaniye Kadiri

popülasyonlarında ise hem permethrin hem de deltamethrin direnci oluşmaya başlamıştır. *An. sacharovi*'nin Akdeniz Bölgesi popülasyonlarından Afyon Sandıklı ve İzmir Selçuk her iki pretroid grubu insektisite karşı henüz duyarlıdır. Bununla birlikte, Muğla Dalaman ve Manisa Akhisar'da deltamethrin; Denizli Sarayköy ve Uşak Eşme popülasyonlarında permethrin; Aydın Buharkent popülasyonunda ise hem deltamethrin hem de permethrin direnci oluşmaya başlamıştır. *Cx. pipiens*'in Akdeniz Bölgesi popülasyonlarından Burdur Merkez ve Ege Bölgesi'nden Afyon Dinar, Aydın Söke, Manisa Saruhanlı popülasyonları henüz her iki pretroid grubu insektisite karşı duyarlı iken, Adana Karataş, Antalya Manavgat, Mersin Tarsus ve Muğla Dalaman popülasyonlarında hem deltamethrin hem de permethrin direnci oluşmaya başlamıştır. *Oc. caspius*'un ise hem Akdeniz hem de Ege Bölgesi popülasyonlarının tamamında hem deltamethrin hem de permethrine karşı direnç oluşumu başlamıştır. Pretroidli insektisitlere karşı direnç oluşumunun gözlenmeye başlaması testi yapılan her iki insektisit de ülkemizde yoğun bir şekilde kullanımının olduğunu göstermektedir. Bugüne kadar pretroid ve OP direncinde artan MFO seviyelerinin etkin rol aldığına dair bir çok çalışma yapılmıştır (Scott vd., 1999). Ülkemizde pretroid direncinin görüldüğü *An. maculipennis* popülasyonlarında bu direncin temelinde artan MFO seviyeleri yatmaktadır (Akıner vd., 2013). Güneybatı Nijerya'da yer alan Akako-Remo *An. funestus* popülasyonlarında PBO muamelesinden pretroide karşı mortalite oranının artması bu popülasyonlarda pretroid direncinden sorumlu mekanizmanın P450 monoooksijenazlar olduğunu ortaya koymuştur (Djouka vd., 2016). Sangba vd. (2016) Afrika'daki *An. funestus* popülasyonlarındaki pretroid direncinin P450 monoooksijenaz artışıyla sürdürüldüğünü rapor etmişlerdir. Polson vd. (2011) *Ae. aegypti* popülasyonlarındaki permethrin ve temephos direncinden sorumlu mekanizmanın MFO artışı olduğunu öne sürmüşlerdir. Çalışmamızdaki *An. sacharovi* ve *Cx. pipiens* popülasyonlarının pretroid direncinin temelinde artan MFO seviyeleri yatmaktadır. Özellikle, hem permethrin hem de deltamethrine duyarlı olup, MFO aktivite artışına sahip olmayan *Cx. pipiens* Burdur Merkez popülasyonu bunu destekler niteliktedir. Aksine pretroidli insektisitlere karşı duyarlı olup, MFO aktivitesine sahip olan popülasyonlar da vardır (Örn: *Cx. pipiens*'in Dinar, Söke, Saruhanlı popülasyonları gibi). Bu durum ise MFO'nun sadece pretroid direncinden değil daha önce de bahsettiğimiz gibi DDT direncinden de sorumlu olabildiğini göstermektedir. Diğer bir farklı durum da hassasiyet testi sonucuna göre pretroidlere direnç oluşturmaya başlayıp MFO seviyesinde artış göstermeyen popülasyonların olmasıdır. *Oc. caspius*'un Burdur

Merkez popülasyonu hem permethrin hem de deltamethrine karşı direnç oluşturmaya başlamış olsa da, MFO seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamıştır. Bu durum ise pretroid direncinden sadece MFO metabolizmasının değil bunun yanısıra farklı enzimlerin de sorumlu olabileceğini göstermektedir. Daha önce yapılan bir çok çalışmada esterazların ve *kdr* mutasyonunun pretroid metabolizmasında rol aldığına dair kanıtlar vardır (Nauen vd., 2007). Çalışmamızda *Oc. caspius* türü için *kdr* direnci taraması yapılmamıştır ancak *Oc. caspius*'un Burdur Merkez popülasyonunda olduğu gibi pretroid direncinde MFO'nun yanısıra esterazların da rol alabileceği sonucuna varılmaktadır. *An. sacharovi* ve *Culex pipiens* türlerinde ise pretroid direncinden MFO ve esterazların yanısıra *kdr* direncinin de sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Singh vd. (2011)'nin Afganistan'ın Nangarhar ve Kunar'daki *An. stephensi* popülasyonlarında hiç homozigot L1014F ve L1014S mutasyonuna rastlanmaması bu popülasyonlarda pretroid direncinden sorumlu tek mekanizmanın *kdr* mutasyonu olmadığını göstermiştir. Bunun üzerine bu iki popülasyonda rapor edilen 2,23 ve 2,54 katlık MFO; 1,45 ve 2,11 katlık alfa esteraz; 1,62 ve 1,85 katlık beta esteraz ve 1,61 ve 1,75 katlık pNPA esteraz aktivitesi artışı bu iki popülasyondaki pretroid direncinden sorumlu mekanizmanın *kdr* mutasyonuna ek olarak MFO ve esterazlar olduğunu ortaya koymuştur (Safi vd., 2017). Bazı araştırmacılar *kdr* alellerinin pretroid direncinin belirlenmesi için kesin bir belirteç olmadığını belirtmişlerdir (Brooke, 2008; Donnelly vd., 2009). Qin vd. (2014) Çin'in deltamethrin'e dirençli *An. sinensis* ve *An. vagus* popülasyonlarında L1014F mutasyon frekansının çok düşük olduğunu ancak MFO aktivitesinin çok yüksek olduğunu rapor etmiştir. Araştırmacılar *kdr* alelinin popülasyonların pretroid direncini belirlemesinin *kdr* frekansının ve metabolik direncin büyüklüğüne bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir (Qin vd., 2014). Benzer şekilde Afrika'nın bir çok bölgesindeki sıtma vektörlerinde pretroid direncinden sorumlu mekanizmanın temelinde yatan metabolik direnç mekanizmaları farklı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Djouka vd., 2011; Mulamba vd., 2014; Ibrahim vd., 2014).

Pretroidli insektisitler, hem ülkemizde hem Dünya'nın birçok ülkesinde insektisit emdirilmiş cibinliklerde (ITN) aktif bir şekilde kullanılmaktadır. ITN'lerin ülkemizdeki sıtma ve leishmaniasis kontrolünde etkili olabileceği gösterilmiştir (Alten vd., 2003). Dolayısıyla pretroidli insektisitlere karşı gelişen direnç, vektör kontrol çalışmalarında istenilmeyen sonuçlara sebebiyet verebilir. Özellikle

Anopheles türlerinde pretroidlere karşı direnç arttıkça olası bir sıtma salgını durumunda ITN'ler etkisiz kalacaktır. Çalışmamızdan elde edilen sonuç bu sebeple önemlidir ve dikkate alınmalıdır. Etkili bir insektisit direnci yönetimi ve insektisit direnci durumunun düzenli aralıklarla izlenmesi direncin önlenmesi veya insektisit direncinin gelişiminin geciktirilmesi açısından önemlidir. Vektör mücadelesinde biyolojik, kimyasal, fiziksel stratejileri içeren entegre vektör kontrol stratejileri bir arada uygulanmalıdır. Bununla birlikte, kimyasal kontrol stratejisi, sıtma salgını olan alanlarda hızlı bir çözüm olduğu için vazgeçilmez bir araçtır. Bu ajanlara karşı direnç sorunlarının üstesinden gelmek için araştırmacılar, insektisitlerin diğer popülasyonlara yayılmadan önce uygulandığı alanlarda direnç durumunu düzenli olarak izlemelidir. Bu çalışmada, ülkemizin Akdeniz ve Ege bölgelerinden elde edilen *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* vektörlerinin OC'lu, OP'lı, CB'lı ve pretroidli insektisitlere karşı verdiği cevap test edilmiştir. Popülasyonların hemen hemen tamamının DDT, OP ve CB grubu insektisitlere karşı dirençli olmasının yanısıra çoğu pretroidlere karşı hala duyarlı olsalar da, bazıları yönetim stratejileri açısından zorluk teşkil eden yüksek pretroid direnç seviyelerine sahip olmaya başladıkları tespit edilmiştir. Ayrıca mevcut bu direnç hem metabolik hem de genetik düzeyde çeşitli mekanizmalarla sağlanmaktadır. Bu nedenle mücadele ya da kontrol çalışmalarında öncelikle hedef tür veya türlerin popülasyonlardaki dirençlilik düzeyinin belirlenmesi ve bu doğrultuda insektisit kullanımının gerekliliği unutulmamalıdır. Türlerin böcek ilacı direnç seviyelerinin dikkatli bir şekilde izlenmesi, uygun ve makul bir insektisitin seçimi için bir ipucu sağlayabilir. Aksi takdirde, hem ekonomik hem de hayvan, insan, ekosistem sağlığı açısından hayal kırıklığı yaşayabilir ve istenmeyen zararlarla karşı karşıya kalabiliriz. Bu çalışmada aynı zamanda metabolik düzeylerde enzim seviyeleri tespit edilmiş ve dirençli genlerin alel frekanslarını tespit edilmiştir. Bu bilgi gelecekteki kontrol stratejilerinde kullanılması açısından önemlidir ve yararlı olacağı düşünülmektedir.

Ülkemizde vektör kontrol çalışmalarında veya tarımsal mücadelede kullanılan insektisitlerin miktarlarına ve dağılımlarına dair bilgi verecek herhangi bir takip sistemi yoktur. Bununla birlikte, çalışmamızdan elde edilen sonuçlar tarımsal, hayvansal veya vektör kontrol çalışmalarında kullanılan insektisitlerin *An. sacharovi*, *Cx. pipiens* ve *Oc. caspius* türlerinin dirençlilik düzeylerini etkilediğini göstermektedir. Bu sonuç, vektörel özelliklerini daha önce vurguladığımız bu üç türe karşı mücadele yapılacak bölgelerde insektisit kullanımında bir koordinasyon

sağlanması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bunun için Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı'nın ilgili birimlerinde koordinasyon merkezleri kurulmalı veya mevcut birimler aktif hale getirilmelidir. Ayrıca, bu birimler ve üniversitelerimiz arasında ortak çalışmalar yapılmalıdır. Ancak bu sayede ülkemiz genelinde insektisit kullanımı aktif bir şekilde takip edilerek, etkin bir insektisit kullanımı organize edilebilir.

Ülkemizde yapılmış insektisit direnci çalışmalarına bakıldığında çalışma yoğunluğunun sıtma insidansına paralel bir şekilde değiştiği görülmektedir. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalara kıyasla da ülkemizdeki çalışmaların sayısının çok geride kaldığı ortadadır. Oysa ülkemiz iklimsel, coğrafik, jeolojik özelliklerine bağlı olarak pek çok sivrisinek türü ve taşıdığı patojenler için uygun koşulları sağlama niteliğindedir. Ayrıca, sivrisinekler ve neden oldukları hastalıklar süreklilik arz etmekte ve her geçen gün sivrisineklerin neden olduğu yeni hastalık tehditleri ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple de, çalışmaların devamlılığı önemlidir. Bunun için üniversitelerimizde vektörel hastalıkları önleme, kontrol ve araştırma merkezleri kurulmalı, ilgili bakanlıklarla koordineli bir şekilde bu çalışmalar yürütülmeli ve bu alanlarda çalışacak yeterli bilgi birikimi ve donanıma sahip genç bilim insanları yetiştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Malek, A. A., Adham, F. K. 1978. Effect of diet, temperature, relative humidity, sex association on the longevity of *Aedes caspius* adults. **Acta Entomologica Bohemoslovaca**. 75: 357-361.
- Akamatsu, Y., Dunn, P. E., Kezdy, J., Kramer, K. J., Law, J. H., Rubenstein, D., Sanburg, L.L. 1975. Biochemical aspects of juvenile hormone actions in insects, in: Control mechanisms in insect development (R.H. Meints and E. Davies, eds), Plenum Press, pp. 123-149, New York.
- Akner, M. M. 2009. Sivrisineklerde Direnç Tespiti ve Direnç Gelişimini Sağlayan Enzimatik Mekanizmaların Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Akner, M. M., Caglar, S. S., Simsek, F. M. 2013. Yearly changes of insecticide susceptibility and possible insecticide resistance mechanisms of *Anopheles maculipennis* Meigen (Diptera: Culicidae) in Turkey. **Acta Trop.** 126: 280–285.
- Akner, M. M., Eksi, E. 2015. Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanisms of *Culex pipiens* L. In four localities of east and middle Mediterranean basin in Turkey. **Int. J. Mosq. Res.** 2(3): 39–44.
- Akner, M. M., Simsek, F. M., Caglar, S. S. 2009. Insecticide resistance of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Turkey. **J.Pestic. Sci.** 34(4): 259–264.
- Akner, M. M. 2014. Malathion and propoxur resistance in Turkish populations of the *Anopheles maculipennis* Meigen (Diptera: Culicidae) and relation to the insensitive acetylcholinesterase. **Turk Soc. Parasitol.** 38:111–115.
- Akner, M. M., Demirci, B., Babuadze, G., Robert, V., Schaffner, F. 2016. Spread of the Invasive Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Black Sea Region Increases Risk of Chikungunya, Dengue and Zika Outbreaks in Europe. **PLoS Negl. Trop. Dis.** [Electronic Journal]. 10(4):e0004664. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004664>
- Aksoy, S. 1982. Bazı organik sentetik insektisitlerin etki mekanizmaları. **Türk. Bit. Kor. Derg.** 6: 111-126

- Alout, H., Berthomieu, A., Hadjivassilis, A., Weill, M. 2007. A new amino acid substitution in acetylcholinesterase 1 confers insecticide resistance to *Culex pipiens* mosquitoes from Cyprus. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 37: 41–47.
- Alten, B., Caglar S. S., Simsek F. M., Kaynas, S., 2003. Effect of insecticide-treated bednets for malaria control in Southeast Anatolia -Turkey. **J Vector Ecol.** 28 (1): 97-107.
- Alten, B., Kempen, H., Fontenille, D. 2007. Malaria in Southern Europe: resurgence from the past? In: Takken W, Knols BGJ, editors. Emerging Pests and Vector-Borne Diseases in Europe. Wageningen University Press. pp. 35-57, The Netherlands.
- Alten, B., Caglar, S. S., Kaynas, S., Simsek, F. M. 2003. Evaluation of protective efficacy of K-OTAB impregnated bednets for cutaneous leishmaniasis control in Southeast Anatolia-Turkey. **J. Vector Ecol.** 28:53–64.
- Alten, S. B., Caglar, S. S. 1998. Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi: Sıtma Vektörünün Biyo-Ekolojisi Mücadele Organizasyonu ve Yöntemleri. TC Sağlık Bakanlığı Sıtma Savaş Daire Başkanlığı ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Amichot, M., Tares, S., Brun-Barale, A., Arthaud, L., Bride, J., Berge, J. 2004. Point mutations associated with insecticide resistance in the Drosophila cytochrome P450 CYP6a2 enable DDT metabolism. **Eur. J. Biochem.** 271: 1250-1254.
- Anazawa, Y., Tomita, T., Aiki, Y., Kozaki, T., Kono, Y. 2003. Sequence of a Cdna encoding acetylcholinesterase from susceptible and resistant two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 33(5):509-514.
- Anderson, T. D., Zhu, K. Y. 2004. Synergistic and antagonistic effects of atrazine on the toxicity of organophosphorodithioate and organophosphorothioate insecticides to *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). **Pestic. Biochem. Physiol.** 80: 54-64.
- Andreasen, M. H., French-Constant, R. H. 2002. In situ hybridization to the Rdl locus on polytene chromosome 3L of *Anopheles stephensi*. **Med. Vet. Entomol.** 16: 452–455.

- Awolola, T. S., Brooke, B. D., Koekemoer, L. L., Coetzee, M. 2003. Absence of the kdr mutation in the molecular 'M' form suggests different pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* s.s. **Tropical Medicine and International Health**. 8: 420-422.
- Awolola, T. S., Oduola, O. A., Strode, C., Koekemoer, L. L., Brooke, D., Ranson, H. 2009. Evidence of multiple pyrethroid mechanisms in the malaria vector *Anopheles gambiae* sensu stricto from Nigeria. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 103 (11): 1139-45.
- Bardos, V., Danielova, V. 1959. The Tahyna virus - a virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. **Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology & Immunology**. 3: 264-276.
- Bass, C., Field L. M. 2011. Gene amplification and insecticide resistance. **Pest. Manag. Sci.** 67: 886-890.
- Baumann, P. M., Clark, A., Baumann, L., Broadwell, A. H. 1991. *Bacillus sphaericus* as a mosquito pathogen: Properties of the organism and its toxins. **Microbiol. Revs.** 55:425-436.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J., Kaiser, A. 2003. Mosquitoes and Their Control. Kluwer Academic, Plenum publishers, USA.
- Benelli, G. 2016. Spread of Zika Virus: The Key Role of Mosquito Vector Control. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 6(6): 468-471.
- Bkhache, M., Tmimi, F. Z., Charafeddine, O., Filali, O. B., Lemrani, M., Labbé, P., Sariha, M. 2019. G119S ace-1 mutation conferring insecticide resistance detected in the *Culex pipiens* complex in Morocco. **Pest. Manag. Sci.** 75:286-29.
- Boreham, P. F., Garrett-Jones, C. 1973. Prevalence of mixed blood meals and double feeding in a malaria vector (*Anopheles sacharovi* Favre). **Bull World Health Organ**. 48(5):605-14.
- Bourguet, D., Raymond, M., Fournier, D., Malcolm, C. A., Toutant, J. P., Arpagaus, M. 1996. Existence of two acetylcholinesterase in the mosquito *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **J. Neurochem.** 67(5): 2115-23.

- Bozizic-Lothrop, B., Vujiz, A. 1996. Fauna of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Stara Planina, Serbia. **Acta entomologica Serbica**, 1(1/2): 31-38.
- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, **Analytical Biochemistry**, 72: 248-254.
- Bregues, C., Hawkes, N. J., Chandre, F., McCarroll, L., Dunchon, S., Guillet, P., Manguin, S., Morgan, J. C., and Hemingway, J. 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. **Medical and Veterinary Entomology**, 17: 87-94.
- Broadwell, A. H., Baumann, P. 1987. Proteolysis in the gut of mosquito larvae results in further activation of the *Bacillus sphaericus* toxin. **Appl. Environ. Microbiol.** 53:1333-1337.
- Brogdon, W. G., Barber, A. M. 1990. Fenitrothion-deltamethrin crossresistance conferred by esterases in Guatemalan *Anopheles albimanus*. **Pesticides Biochemistry and Physiology**, 37: 130-139.
- Brooke, B. D. 2008. kdr: can a single mutation produce an entire insecticide resistance phenotype? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 102:524–534.
- Brown, A.V. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 2(2): 123–40.
- Brugman, V. A., Hernández-Triana, L. M., Medlock, J. M., Fooks, A. R., Carpenter, S., Johnson, N. 2018. The role of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) in virus transmission in Europe. **Int. J. Environ. Res. Public Health.** 15(2): 389-397.
- Carino, F. A., Koener, J. F., Plapp, F. W., Feyereisen, R. 1994. Constitutive overexpression of the cytochrome P450 gene CYP6A1 in a house fly strain with metabolic resistance to insecticides. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 24: 411-418.
- Catania, F., Kauer, M. O., Daborn, P. J., Yen, J. L., French-Constant, R. H., Schlotterer, C. 2004. World-wide survey of an accord insertion and its association with DDT resistance in *Drosophila melanogaster*. **Mol. Ecol.** 13: 2491-2504.

- Centers for Disease Control, 2013. West Nile virus disease cases and deaths reported to CDC by year and clinical presentation, 1999–2013. United States of America.
- Chaeronviriyaphap, T., Bangs, M. J., Suwonkerd, W., Kongmee, M., Corbel, V., Ngoen-Klan, R. 2013. Insecticide Resistance and Behavioral Avoidance of vectors of human diseases in Thailand. **Parasit Vectors**, 6: 280-288.
- Charles, J. F. 1987. Ultrastructural midgut events in Culicidae larvae fed with *Bacillus sphaericus* 2297 spore/crystal complex. **Ann. Inst. Pasteur.** 138:471-484.
- Charles, J. F., Delecluse, A., Nielson-LeRoux, C. 2000. Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
- Chaskopoulou, A., Latham, M. D., Pereira, R. M., Connelly, R., Bonds, J. A., Koehler, P. G. 2011. Efficacy of aerial ultra-low volume applications of two novel water-based formulations of unsynergized pyrethroids against riceland mosquitoes in Greece. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 27(4):414-22.
- Chen, S., Qin, Q., Zhong, D., Fang, X., He, H., Wang, L., Dong, L., Lin, H., Zhang, M., Cui, L., Yan, G. 2019. Insecticide Resistance Status and Mechanisms of *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae) in Wenzhou, an Important Coastal Port City in China. **Journal of Medical Entomology**, 56(3): 803-810.
- Chiang, F. M., Sun, C.N. 1993. Glutathione transferase isozymes of diamondback moth larvae and their role in the degradation of some organophosphorus insecticides. **Pest. Biochem. Physiol.** 45: 7–14.
- Chiu, T., Wen, Z., Rupasinghe, S. G., Schuler, M. A. 2008. Comparative molecular modeling of *Anopheles gambiae* CYP6Z1, a mosquito P450 capable of metabolizing DDT. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 105(26): 8855–8860.
- Cisse, M. B., Chitan, M., Dicko, A., Dengela, D., Coleman, J., Lucas, B., Mihigo, J., Sadou, A., Belemvire, A., George, K., Fornadel, C., Beach, R. 2015. Characterizing the insecticide resistance of *Anopheles gambiae* in Mali. **Malar. J.** 14:327-335.

- Clark, A. G., Shamaan, N. A. 1984. Evidence that DDTdehydrochlorinase from the house fly is a glutathione Stransferase. **Pest. Biochem. Physiol.** 22: 249–261.
- Clark, A. G., Shamaan, N. A., Sinclair, M. D. and Dauterman, W. C. 1986. Insecticide metabolism by multiple glutathione Stransferases in two strains of the house fly, *Musca domestica* (L.). **Pest. Biochem. Physiol.** 25: 169–175.
- Coetzee, M., Horne, D. W. K., Brooke, B. D., Hunt, R. H. 1999. DDT, dieldrin and pyrethroid insecticide resistance in African malaria vector mosquitoes: a historical review and implications for future malaria control on Southern Africa. **South African Journal of Science**, 95: 215-216.
- Corbel, V., N’Guessan, R. 2013. Distribution, mechanisms, impact and management of insecticide resistance in malaria vectors: A pragmatic review. *Anopheles mosquitoes - New insights into malaria vectors*, Sylvie Manguin, **Intech Open**, DOI: 10.5772/56117.
- Cranston, S., Ramsdale D., Snow, C., White, K. 1987. Keys to the adults, male hypopigia, fourth-instar larvae and pupae of the British mosquitoes (Culicidae) with notes on their ecology and medical importance, Fresh Water Biological Association, The Ferry House, Ambleside, UK.
- Cuamba, N., Morgan, J. C., Irving, H., Steven, A., Wondji, C. S. 2010. High level of pyrethroid resistance in an *Anopheles funestus* population of the chokwe district in Mozambique. **Plos One** [Electronic Journal]. 5(6): e11010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011010>.
- Çakır, Ş., Yamanel, Ş. 2005. Böceklerde insektisitlere direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6 (1): 21–29.
- Dabire, R. K., Namountougou, M. M., Diabate, A., Soma, D. D., Bado, J., Toe, H. K., Bass, C., Combarry, P. 2014. Distribution and frequency of kdr mutations within *Anopheles gambiae* populations and first report of the Ace-1 G119S mutation in *Anopheles arabiensis* from Burkina Faso (West Africa), **Journal of the American mosquito control association**, 2(2): 123-140.

- Davidson, E. W. 1989. Variation in binding of *Bacillus sphaericus* toxin and wheat germ agglutinin to larval midgut cells of six species of mosquitoes. **J. Invertebr. Pathol.** 53:251-259.
- Davidson, E.W. 1984. Microbiology, pathology and genetics of *Bacillus sphaericus* biological aspects which are important to field use. **Mosq. News.** 44:147-152.
- Dent, D. 2000. Insect Pest Management. Cabi Bioscience Ascot, UK.
- Dent, D. 1991. Insect Pest Management. C.A.B. International, Redwood Press, UK.
- Detinova, T. S., Smelova, V. A. 1973. Medical importance of mosquitoes (Culicidae, Diptera) from the fauna of the Soviet Union. **Med. Parazitol.** 42(4): 455-471.
- Dialynas, E., Topalis, P., Vontas, J., Louis, C. 2009. MIRO and IRbase: IT Tools for the Epidemiological Monitoring of Insecticide Resistance in Mosquito Disease Vectors. **PLoS Negl. Trop. Dis.** [Electronic Journal]. 3(6): e465. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000465>
- Djegbe, I., Akoton, R., Tchigossou, G. M. 2018. First report of the presence of L1014S Knockdown-resistance mutation in *Anopheles gambiae s.s* and *Anopheles coluzzii* from Togo, West Africa. **Wellcome Open Res.** 3:30-38.
- Djouaka, R., Irving, H., Tukur, Z., Wondji, C. S. 2011. Exploring mechanisms of multiple insecticide resistance in a population of the malaria vector *Anopheles funestus* in Benin. **Plos One** [Electronic Journal]. 6(11): e27760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027760>.
- Djouaka, R. J., Atoyebi, S. M., Tchigossou, G. M., Riveron, J. M., Irving, H., Akoton, R., Kusimo, M. O., Bakare, A. A., Wondji, C. S. 2016. Evidence of a multiple insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles funestus* in South West Nigeria. **Malar. J.** 15:565-570.
- Donnelly, M.J., Corbel, V., Weetman, D., Wilding, C. S., Williamson, M. S., Black, W. C. 2009. Does kdr genotype predict insecticide-resistance phenotype in mosquitoes. **Trends Parasitol.** 25: 213–219.

- Du, W., Awolola, T. S., Howell, P., Koekemoer, L. L., Brooke, B. D., Benedict, M. Q., Coetzee, M., Zheng, L. 2005. Independent mutations in the Rdl locus confer dieldrin resistance to *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis*. **Insect Mol. Biol.** 14(2):179-183.
- Dusfour, N. L., Achee, I., Briceno, R., King, J. P. 1981. Grieco, Comparative data on the insecticide resistance of *Anopheles albimanus* in relation to agricultural practices in northern Belize. **Pestic. Biochem. Physiol.** 15: 181–191.
- Eldefrawi, A. T., 1985. Acetylcholinesterases and anticholinesterases, in: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Pergamon Press, pp. 115-131, Oxford.
- Eldefrawi, M. E., Miskus, R., Sutchter, V. 1960. Methylene dioxyphenyl derivatives as synergists for carbamate insecticides on susceptible, DDT- and parathion-resistant house flies. **J. Econ. Entomol.** 53: 231-234.
- Enayati, A. A., Vatandoost, H., Ladonni, H., Townson, H., Hemingway, J. 2003. Molecular evidence for a kdr-like pyrethroid resistance mechanism in the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. **Med. Vet. Entomol.** 17:138–44.
- Ergunay, K., Gunay, F., Oter, K., Kasap, O. E., Orsten, S., Akkutay, A. Z., Erdem, H., Özkul, A., Alten, B. 2013. Arboviral surveillance of field-collected mosquitoes reveals circulation of West Nile virus lineage 1 strains in Eastern Thrace, Turkey. **Vector Borne Zoonotic Dis.**13:744–52.
- Ergunay, K., Litzba, N., Brinkmann, A., Günay, F., Sarıkaya, Y., Kar, S., Örsten, S., Öter, K., Domingo, C., Kasap, Ö. E., Özkul, A., Mitchell, L., Nitsche, A., Alten, B., Linton, Y. M. 2017. Co-circulation of West Nile virus and distinct insect-specific flaviviruses in Turkey. **Parasites & Vectors,** 10:149-158.
- Etang, J., Manga, L., Toto, J. C., Guillet, P., Fondjo, E., Chandre, F. 2007. Spectrum of metabolic based resistance to DDT and pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Cameroon. **J. Vector Ecol.** 32: 123–133.

- Fathian, M., Vatandoost, H., Moosa-Kazemi, S. H., Raeisi, A., Yaghoobi-Ershadi, M. R., Oshaghi, M. A., Mohammad Mehdi Sedaghat, M. M. 2015. Susceptibility of Culicidae Mosquitoes to Some Insecticides Recommended by WHO in a Malaria Endemic Area of Southeastern Iran. **J. Arthropod-Borne Dis.** 9(1): 22–34.
- Feng, X., Yang, C., Yang, Y., Li, J., Lin, K., Li, M., Qiu, X. 2015. Distribution and frequency of G119S mutation in ace-1 gene within Anopheles sinensis populations from Guangxi, China. **Malar. J.** 14:470-478.
- Feyereisen, R. 1999. Insect P450 Enzymes. **Annual Review of Entomology**, 44: 507-533.
- Feyereisen, R. 2012. Insect cytochrome P450. Elsevier, Oxford, UK.
- Fotakis, E. A., Chaskopoulou, A., Grigorakia, L., Tsiamantas, A., Kounadia, S., Georgiou, L., Vontas, J. 2017. Analysis of population structure and insecticide resistance in mosquitoes of the genus Culex, Anopheles and Aedes from different environments of Greece with a history of mosquito borne disease transmission. **Acta Tropica**, 174:29–37.
- Gabinaud, A. 1975. Ecologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes* (*Ochlerotatus*) *caspius* (Pallas, 1771), *Aedes* (*Ochlerotatus*) *detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera – Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations. PhD Thesis (manusc.), Academie de Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Gakuta, T., Toshiro, A. 2000. Disruption of the microsomal glutathione S-transferase-like gene reduces life span of *Drosophila melanogaster*. **Gene**, 253: 179–187.
- Garros, C., Marchand, R. P., Quang, N. T., Hai, N. S., Manguin, S. 2005. First record of *Anopheles minimus* and significant decrease of *An. minimus* in central Vietnam. **J Am. Mosq. Control Assoc.** 21(2):139-143.
- Ghavami, S. 1999. Diagnostic dose of pyrethroids against *An. stephensi* and susceptibility status of *An. stephensi* and *An. sacharovi* to malathion, fenitrothion and DDT in Fars province Iran. Master of Science thesis, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences.

- Goldin, A. L. 2002. Evolution of voltage-gated Na⁺ channels. **The Journal of Experimental Biology**, 205: 575–584.
- Gonzalez, F.I., Quinones, M.L., McAllister, J., Brogdon, W.G. 2009. Mixed-function oxidases and esterases associated with cross-resistance between DDT and lambda-cyhalothrin in *Anopheles darlingi* Root 1926 populations from Colombia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 104(1): 18-26.
- Gould, E. A., Higgs, S. 2009. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 103:109-121.
- Govella, N. J., Chaki, P. P., Killeen, G. F. 2013. Entomological surveillance of behavioural resilience and resistance in residual malaria vector populations. **Malar. J.**12:124-131.
- Grant, D. F., Hammock, B. D. 1992. Genetic and molecular evidence for a trans-acting regulatory locus controlling glutathione S-transferase-2 expression in *Aedes aegypti*. **Mol. Gen. Genet.** 234:169–176.
- Grant, D. F., Dietze, E. C., Hammock, B. D. 1991. Glutathione S-transferase isozymes in *Aedes aegypti*: purification, characterization, and isozyme specific regulation. **Insect Biochem.** 4: 421-433.
- Gunasekaran, K., Muthukumaravel, S., Sahu, S., Vijayakumar, T., Jambulingam, P. 2011. Glutathione S transferase activity in Indian vectors of malaria: a defense mechanism against DDT. **J. Med. Entomol.** 48(3): 561–569.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferases. **J. Biol. Chem.** 249: 7130-7139.
- Hadim, N. 2008. Pamuk Yaprak kurdu Spodoptera littoralis (Boisduval) (Lepidoptera:Noctuidae)'te insektisitlere karşı oluşan direncin biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Doktora tezi, Ankara.
- Hadjinicolaou, J., Betzios, B. 1973. Resurgence of *Anopheles sacharovi* following malaria eradication. **Bull World Health Organ.** 48(6):699-703.
- Hawkes, N. J., Hemingway, J. 2002. Analysis of the promoters for the beta-esterase genes associated with insecticide resistance in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. **Biochim. Biophys. Acta.** 1574(1):51-62.

- Hayes, J. D., Wolf, C. R. 1988. Role of glutathione transferase in drug resistance. In *Glutathione Conjugation: Mechanisms and Biological Significance* (Sies, H. and Ketterer, B., eds), pp. 315–355. Academic Press Ltd, London.
- Healy, M. J., Dumancic, M. M., Oakeshott, J. G. 1991. Biochemical and physiological studies of soluble esterases from *Drosophila melanogaster*. **Biochem Gen.** 29: 365-388.
- Hemingway, J. 2000. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 30:1009-1015.
- Hemingway, J., Hawkes, N. J., Prapanthadara, L., Jayawardenal, K. G., Ranson, H. 1998. The role of gene splicing, gene amplification and regulation in mosquito insecticide resistance. **Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.** 353: 1695-1699.
- Hemingway, J., Karunaratne, S. H. P. P. 1998. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. **Med. Vet. Entomol.** 12: 1-12.
- Hemingway, J. 1985. The biochemistry of insecticide resistance in *Anopheles sacharovi*: comparative studies with a range of insecticide susceptible and resistant *Anopheles* and *Culex* species. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 24: 68–76.
- Hemingway, J. 1992. Insecticide resistance gene frequencies of *Anopheles sacharovi* populations of Çukurova Plain, Adana Province, Turkey. **Medical and Veterinary Entomology**, 6: 342–348.
- Hemingway, J., Ranson, H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annu. Rev. Entomol.** 45: 371–391.
- Hemingway, J. 1982. The biochemical nature of malathion resistance in *Anopheles stephensi* from Pakistan. **Pestic. Biochem. Physiol.** 17: 149–155.
- Hemingway, J. 1983. Biochemical studies on malathion resistance in *Anopheles arabiensis* from Sudan. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 77: 477–480.

- Hemingway, J., Hawkes, N. J., McCarroll, L., Ranson, H. 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 34: 653–665.
- Hemingway, J., Ranson, H. 2005. Chemical control of vectors and mechanisms of resistance. In: Biology of disease vectors. (Marquart, W.C.Eds.), Elsevier Academic Press, pp.627-638, USA.
- Herath, P. R. J., Hemingway, J., Weerasinghe, I. S., Jayawardena, K. G. I. 1987. The detection and characterisation of malathion resistance in field populations of *Anopheles culicifacies* B in Sri Lanka. **Pestic. Biochem. Physiol.** 29:157–162.
- Hill, D. S., Waller, J. M. 1982. Pests and diseases of tropical crops. Longman, London, New York.
- Holt, R. A., Subramanian, G. M., Halpern, A., Sutton, G. G., Charlab, R., Nusskern, D.R., Wincker, P., Clark A. G., Ribeiro, J. M, Wides, R. 2002. The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. **Science**, 298 (5591):129-149.
- Hotelier, T., Renault, L., Cousin, X., Negre, V., Marchot, P., Chatonnet, A. 2004. Esther, the database of the alpha/beta-hydrolase fold superfamily of proteins. **Nucleic Acids Res.** 32:145-147.
- Hotelier, T., Nègre, V., Marchot, P., Chatonnet, A. 2010. Insecticide resistance through mutations in cholinesterases or carboxylesterases: data mining in the Esther database. **J. Pest. Sci.** 35: 315-320.
- Huang, H. S., Hu, N. T., Yao, Y. E., Wu, C. Y., Chiang, S. W., Sun, C.N. 1998. Molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 28: 651–658.
- Ibrahim, S. S., Manu, Y. A., Tukur, Z., Irving, H., Wondji, C. S. 2014. High frequency of kdr L1014F is associated with pyrethroid resistance in *Anopheles coluzzii* in Sudan savannah of northern Nigeria. **BMC Infect. Dis.**14:441–449.

- Ingles, D. J., Adams, P. M., Knipple, D. C., Soderlund, D. M. 1996. Characterization of the voltage-sensitive sodium channel gene coding sequences from insecticide susceptible and knockdown resistant house fly strains. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 26: 319–326.
- Issa, M. S. 2014. Molecular characterization and functional analysis of cytochrome P450 genes in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Kansas State University, Master of Science thesis, Manhattan, Kansas.
- Johnson, B., Fonseca, D. M. 2016. Insecticide resistance alleles in wetland and residential populations of the West Nile virus vector *Culex pipiens* in New Jersey. **Pest Manag. Sci.** 72:481–488.
- Joubert, M. L. 1975. L'arbovirose West Nile, zoonose du midi mediterraneen de la France. **Bulletin del Academie Nationale de Medecine (Paris)**, 159(6): 499-503.
- Kalaycioglu, H., Korukluoglu, G., Ozkul, A., Oncul, O., Tosun, S., Karabay, O. 2012. Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. **Euro Surveill.** 17(21):201-208.
- Karaağaç, S. U. 2012. Insecticide Resistance. In: Insecticides - Advances in Integrated Pest Management. (Perveen, F. Eds). In Tech open books, pp. 469-478, Rijeka, Croatia.
- Karabatsos, N. 2001. International Catalogue of Arboviruses Including Certain Other Virus of Vertebrates, San Antonio.
- Karunaratne, S. H. P. 1998. Insecticide resistance in Insects: A review. **Cey. J. Sci. (Bio. Sci.)**. 25: 72-99.
- Karuppaiah, V., Sujayanad, G. K. 2012. Impact of Climate Change on Population Dynamics of Insect Pests. **World Journal of Agricultural Sciences**, 8(3): 240-246.
- Kasai, S., Weerasinghe, I. S., Shono, T. 1998. P450 monooxygenases are an important mechanism of permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus* Say larvae. **Arch. Insect Biochem. Physiol.** 37: 47–56.

- Kasai, S. T., Shono, O., Komagata, Y., Tsuda, M., Kobayashi, M., Motoki M. 2007. Insecticide resistance in potential vector mosquitoes for West Nile virus in Japan, **J. Med. Entomol.** 44: 822–829.
- Kasap, H., Kasap, M., Alptekin, D., Luleyap, U., Herath, P.R. 2000. Insecticide resistance in *Anopheles sacharovi* Favre in southern Turkey. **Bull. World Health Organ.** 78(5):687-92.
- Kasap, H., Kasap, M., Mimioğlu, M. M., Aktan, F. 1981. Çukurova ve Çevresinde Sivrisinek ve Malaria Üzerine Araştırmalar. **Doğa Bilim Dergisi**, 5: 141-150.
- Keiding, J. 1999. Review of the global status and recent development of insecticide resistance in field populations of the housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Bulletin of Entomological Research**, 89 (1): 1–67.
- Kellen, W. R., Meyers, C. M. 1964. *Bacillus sphaericus* Neide as a pathogen of mosquitoes. **J. Invert Pathol.** 7:442-448.
- Kence, M. 1988. Ecological Genetics of Malathion Resistance in Housefly, *Musca domestica* L. Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara.
- Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Skavdisc, G., Vontas, J. 2013. Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. **Pest Manag. Sci.** 70: 623–627.
- Kostaropoulos, I., Papadopoulos, A. I., Metaxakis, A., Boukouvala, E., Papadopoulou-Mourkidou, E. 2001. Glutathione S transferase in the defence against pyrethroids in insects. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 31: 313–319.
- Kumar, K., Sharma, A. K., Kumar, S., Patel, S., Sarkar, M., Chauhan, L. S. 2011. Multiple insecticide resistance/susceptibility status of *Culex quinquefasciatus*, principal vector of bancroftian filariasis from filaria endemic areas of northern India. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 22: 426-429.
- Kumargal, D., Çömelekoğlu, Ü., Aşkın, A. 2012. İyon kanallarını hedef alan insektisitler. **Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi**, 5(2):7-13.

- Kwon, D. H., Clark, J. M., Lee, S.H. 2010. Extensive gene duplication of acetylcholinesterase associated with organophosphate resistance in the two-spotted spider mite. **Insect Mol. Biol.** 19:195-204.
- Lacey, L. A., Undeen, A. H. 1986. Microbial control of blackflies and mosquitoes. **Ann. Rev. Entomol.** 31:265-296.
- Lamb, D. C., Lei, L., Warrilow, A. G. S., Lepesheva, G. I., Mullins, J. G. L., Waterman, M. R., Kelly, S. L. 2009. The first virally encoded cytochrome P450. **J. Virol.** 83:8266-8269.
- Lambert, M., Pasteur, N., Rioux, J., Delabre-Belmonte, A., Balard, Y. 1990. *Aedes caspius* (Pallas, 1771) et *Ae. dorsalis* (Meigen, 1830) (Diptera: Culicidae). Analyses Morphologique et Genetique de Deux Populations Sympatriques. Preuves de L'isolement reproductif. **Annales de la Societe entomologique de France**, 26(3): 381-398.
- Lander, J. E., Parsons, J. F., Rife, C. L., Gilliland, G. L., Armstrong, R. N. 2004. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanisms of the mitochondrial class Kappa enzyme rGSTK1-1. **Biochemistry**, 43: 352-261.
- Levy, R., Miller, T. W. 1978. Tolerance of the planarian *Dugesia drotocephala* to high concentrations of pesticides and growth regulators. **Entomophaga**, 23:31-34.
- Li, C.X., Dong, Y.D., Song, F.L., Zhang, X.L., Gu, W.D., Zhao, T.Y. 2009. Copy amplification of est alpha 2/est beta 2 and correlation between esterase gene copy number and resistance to insecticides in the field *Culex pipiens pallens* strains collected from Beijing, China. **J Med. Entomol.** 46: 539-545.
- Li, X., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R. 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Ann. Rev. Entomol.** 52: 231-253.
- Liu, N. Scott, J. G. 1996. Genetic analysis of factors controlling high-level expression of cytochrome P450, CYP6D1, cytochrome b5, P450 reductase, and monooxygenase activities in lpr house flies, *Musca domestica*. **Biochem. Genet.** 34:133-148.

- Liu, N. 2012. Pyrethroid resistance in insects: Genes, mechanisms, and regulation, insecticides advances in integrated pest management, Farzana, P., (Ed.), In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/pyrethroid-resistance-in-insects-genes-mechanisms-and-regulation>
- Liu, N., Xu, Q., Zhu, F., Zhang, L. 2006. Pyrethroid resistance in mosquitoes. **Insect Science**, 13:159-166.
- Low, V. L., Vinnie-Siow, W. Y., Lim, Y. A. L., Tan, T. K., Leong, C. S., Chen, C. D., Azidah, A. A., Sofian-Azirun, M. 2015. First molecular genotyping of A320S mutation in the gamma aminobutyric acid (GABA) receptor in *Aedes albopictus* from Malaysia. **Trop. Biomed.** 32(3):554-6.
- Luthy, P., Wolfersberg, M.G. 2000. Pathogenesis of *Bacillus thuringiensis* toxins, in: Entomopathogenic bacteria from laboratory to field application. Kluwer Academic Publishers, pp. 167-180, Dordrecht, Boston, London.
- Lüleyap, Ü., Alptekin, D., Kasap, H., Kasap, M. 2002. Detection of knockdown resistance mutations in *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) and genetic distance with *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) using cDNA sequencing of the voltage-gated sodium channel gene. **Journal of Medical Entomology**, 39: 870–874.
- Lüleyap, Ü., Kasap, H. 2000. Sıtma vektörü *Anopheles sacharovi*'de fizyolojik insektisit direnci. **Turk. J. Biol.** 24: 437–460.
- Maibeche-Coisne, M., Nikonov, A. A., Ishida, Y., Jacquin-Joly, E., Leal, W. S. 2004. Pheromone anosmia in a scarab beetle induced by in vivo inhibition of a pheromone-degrading enzyme. **Proc. Acad. Sci.** 101:11459–11464.
- Manouchehri, A. V., Shalil, A.K., Al-Saaidi, S. H., Al-Okailv, A. K. 1980. Status of resistance of *Anopheles* mosquito in Iraq. **Mosq. News.** 35: 278-280.
- Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M. S., Darriet, F., Berge, J. B., Devonshire, A. L., Guillet, P., Pasteur, N., Poupon, D. 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. **Insect Mol. Biol.** 7: 179–184.

- Martinez-Torres, D., Chevillon, C., Brun-Barale, A., Berge, J. B., Pasteur, N., Pauron, D. 1999. Voltage-dependent Na⁺ channels in pyrethroid-resistant *Culex pipiens* L mosquitoes. **Pestic. Sci.** 55: 1012–1020.
- Matsumura, F. 1985. Toxicology of Insecticides. Plenum Press, New York, USA.
- Merdic, E. 2004. Checklist of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Croatia. **European Mosquito Bulletin**, 17:8-13.
- Merdivenci, A. 1984. Türkiye Sivrinekleri (Yurdumuzda Varlığı Bilinen Sivrineklerin Biyo-Morfolojisi, Biyo-Ekolojisi, Yayılışı ve Sağlık Önemleri). İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- Miller, T. A. 1980. Neurohormonal Techniques in insects. Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin.
- Mitchell, C. J. 1995. Geographic Spread of *Aedes albopictus* and Potential for Involvement in Arbovirus Cycles in the Mediterranean Basin. **Journal of Vector Ecology**, 20 (1): 44-58.
- Montella, I. R., Martins, A. J., Viana-Medeiros, P. F., Lima, J. B., Braga, I. A., Valle, D. 2007. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 77: 467-477.
- Montella, I. R., Schama, R., Valle, D. 2012. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 107(4): 437-449.
- Moskowitz, H., Zlotkin, E., Gordon, D. 1991. Solubilization and characterization of the insect neuronal sodium channel. **Neuroscience Letters**, 124 (2): 148-152.
- Mulamba, C., Riveron, J. M., İbrahim S.S, Irving H, Barnes K. G., Mukwaya L. G. 2014. Widespread pyrethroid and DDT resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus* in East Africa is driven by metabolic resistance mechanisms. **Plos One** [Electronic Journal]. 9(10): e110058. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110058>.

- Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai, S., Wseverson, D., Kono, Y., Tomita, T. 2004. An amino acid substitution attributable to insecticide insensitivity of acetylcholinesterase in Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 313(3): 794-801.
- Namountougou, M., Diabate, A., Etang, J. 2012. First report of the L1014S kdr mutation in wild populations of *Anopheles gambiae* M and S molecular forms in Burkina Faso (West Africa). **Acta Trop.** 125: 123-127.
- Nauen, R. 2007. Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. **Pest Manag. Sci.** 63: 628-633.
- Nelson, D.R. 1998. Metazoan cytochrome P450. **Evolution**, 121: 15-22.
- Newcomb, R. D., Campbell, P. M., Ollis, D.L., Cheah, E., Russell, R.J., Oakeshott, J.G. 1997. A single amino acid substitution converts a carboxylesterase to an organophosphorus hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 94:7464-7468.
- O'Brien, R. D., Hilton, B. D., Gilmour, L. 1974. The reaction of carbamates with cholinesterase. **Mol. Pharmacol.** 2:593-605.
- Ocampo, C. B., Saalazar-Terreros, M. J., Mina, N. J., McAllister, J., Brogdon, W. G. 2011. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. **Acta Trop.** 118:37-44.
- Ochomo, E., Bayoh, M. N., Brogdon, W. G., Gimni, J. E., Ouma, C., Vulule, J. M., Walker, E. D. 2013. Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in western Kenya: phenotypic, metabolic and target site characterizations of three populations. **Med. Vet. Entomol.** 27(2): 156-164.
- Oppenoorth, F. J., Van der Pas, L. J. T., Houx, N. W. H. 1979. Glutathione S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. **Pest Biochem. Physiol.** 11: 176-188

- Ortelli, F., Rossiter, L. C., Vontas, J., Ranson, H., Hemingway, J. 2003. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. **Biochem. J.** 373: 957–963.
- Osta, M. A., Rizk, Z. J., Labbé, P., Weill, M., Knio, K. 2012. Insecticide resistance to organophosphates in *Culex pipiens* complex from Lebanon. **Parasites & Vectors**, 5:132-138.
- Özbilgin, A., Topluoglu, S., Islek, E., Mollahaliloglu, E., Erkoc, Y. 2011. Malaria in Turkey: Successful control and strategies for achieving elimination, **Acta Tropica**, 120:15-23.
- Özkul, A., Ergunay, K., Koysuren, A., Alkan, F., Arsava, E.M., Tezcan, S. 2013. Concurrent occurrence of human and equine West Nile virus infections in Central Anatolia, Turkey: the first evidence for circulation of lineage 1 viruses. **Int. J. Infect. Dis.** 17:546–551.
- Park, Y., Taylor, M. F. J. 1997. A novel mutation L1029H in sodium channel gene hscp associated with pyrethroid resistance for *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insect Biochem. Mol Biol.** 27: 9–13.
- Patsoula, E., Samanidou-Voyadjoglou, A., Spanakos, G., Kremastinou, J., Nasioulas, G., Vakalis, N. C. 2007. Molecular characterization of the *Anopheles maculipennis complex* during surveillance for the 2004 Olympic Games in Athens. **Med. Vet. Entomol.** 21(1):36-43.
- Pedigo, L. P. 1996. Entomology and Pest Management. Prentice Hall Inc.
- Peiris, H, T, R., Hemingway, J. 1993. Characterization and inheritance of elevated esterases in organophosphorus and carbamate insecticide resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Sri Lanka. **Bull. Entomol. Res.** 83: 127-132.
- Petric, D. 1989. Seasonal and daily activity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Vojvodina. PhD Thesis, University of Novi Sad, Faculty of Agronomy, Novi Sad, Serbia.
- Pilaski, J. 1987. Contributions to the ecology of Tahyna virus in central Europe. **The Bulletin of the Society of Vector Ecologists**, 12(2): 544-553.

- Pires, C. A., Ribeiro, H., Capela, R. A., Ramos, H. C. 1982. Research on the mosquitoes of Portugal (Diptera: Culicidae)- The mosquitoes of Alentejo. **Anais do Instituto de Higiene e Medicina Tropical**, 8: 79-102.
- Pittendrigh, B., Aronstein, K., Zinkovsky, E., Andreev, O., Campbell, B., Daly, J., Trowell, S., Ffrench-Constant, R. H. 1997. Cytochrome P450 genes from *Helicoverpa Armigera*: Expression in a pyhretroid-susceptible and resistant strain. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 27(6):507-12.
- Polson, K. A., Brogdon, W. G., Rawlins, S. C., Chadee, D. D. 2011. Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Acta Trop.** 117: 31–38.
- Porretra, D., Argani, M. G., Bellini, R., Medici, A., Punelli, F., Urbanelli, S. 2008. Defence mechanisms against insecticides temephos and diflubenzuron in the mosquito *Aedes caspius*: the P-glycoprotein efflux pumps. **Medical and Veterinary Entomology**, 22: 48–54
- Prabhu, K.S., Reddy, P. V., Gmpricht, G., Hildenbrandt, G. R., Scholz, R. W., Sordillo, L. M., Reddy, C. C. 2001. Microsomal glutathione S-transferase A1–1 with glutathione peroxidase activity from sheep liver: molecular cloning, expression and characterization. **Biochem. J.** 360:345–354.
- Prapanthadara, L., Hemingway, J., Ketterman, A. J. 1993. Partial purification and characterization of glutathione Stransferase involved in DDT resistance from the mosquito *Anopheles gambiae*. **Pest Biochem Physiol.** 47:119–133.
- Punta, M., Coghill, P. C., Eberhardt, R. Y., Mistry, J., Tate, J., Bournnell, C., Pang, N., Forslund, K., Ceric, G., Clements, J., Heger, A., Holm, L., Sonnhammer, E. L. L., Eddy, S. R., Bateman, A., Finn, R. D. 2012. The Pfam protein families databases. **Nucleic Acids Res.** 40:290-301.
- Qin, Q., Li, Y., Zhong, D., Zhou, N., Chang, X., Li, C., Cui, L., Yan, G., Chen, X.G. 2014. Insecticide resistance of *Anopheles sinensis* and *Anopheles vagus* in Hainan Island, a malariaendemic area of China. **Parasite. Vector.** 7:92–101.
- Ramsdale, C. D., Alten, B., Çağlar, S. S., Özer, N. 2001. A revised, annotated checklist of the mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey. **European Mosquito Bulletin**, 9: 18–28.

- Ramsdale, C. D., Herath, P. R., Davidson, G. 1980. Recent developments of insecticide resistance in some Turkish Anophelines. **J. Trop. Med. Hyg.** 83 (1), 11-19.
- Ranson, H., Claudianos, C., Ortelli, F., Abgrall, C., Hemingway, J., Sharakhova, M.V., Unger, M.F., Collins, F. H. and Feyereisen, R. 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. **Science**, 298: 179–181.
- Ranson, H., Jensen, B., Vulule, J. M., Wang, X., Hemingway, J., Collins, F. H. 2000. Identification of a point mutation in the voltage gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. **Insect Mol. Biol.** 9: 491–497.
- Ranson, H., Rossiter, L., Ortelli, F., Jensen, B., Wang, X., Roth, C. W., Collins, F. H., Hemingway, J. 2001. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferase involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. **Biochemistry Journal**, 359: 295-304.
- Rewitz, K. F., O'Connor, M. B., Gilbert, L. I. 2007. Molecular evolution of the insect Halloween family of cytochrome P450s: Phylogeny, gene organization and functional conservation. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 37: 741-753.
- Robinson, A., Huttley, G. A., Booth, H. S. Board, P. G. 2004. Modelling and bioinformatics studies of the human Kappa-class glutathione transferase predict a novel third glutathione transferase family with similarity to prokaryotic 2-hydroxychromene2-carboxylate isomerases. **Biochem J.** 379: 541–552.
- Rodriguez, M. M., Bisset, C. A., Fernandez, J. 2007. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. **J. Am. Mosq. Cont. Assoc.** 23: 420-429.
- Romi, R., Boccolini, D., Hovanessian, I., Grigoryan, G., D, iLuca M, Sabatinell, G. 2002. *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae): a reemerging malaria vector in the Ararat Valley of Armenia. **J Med Entomol.** 39(3):446-50.

- Russell, R. J., Scott, C., Jackson, C.J., Pandey, G., Taylor, M. C., Choppin CW, Liu J-W, Oakeshott, J. G. 2011. The evolution of new enzyme function: lessons from xenobiotic metabolizing bacteria versus insecticide-resistant insects. **Evol. Applic.** 4: 225-248.
- Safi, N. H. Z., Ahmadi, A. A., Nahzat, S., Ziapour, S. P., Nikookar, S. H., Fazeli-Dinan, M., Enayati, A. A., Hemingway, J. 2017. Evidence of metabolic mechanisms playing a role in multiple insecticides resistance in *Anopheles stephensi* populations from Afghanistan. **Malar. J.** 16:100-110.
- Salari Lak, S. H., Vatandoost, H., Entezarmahdi, M. R., Ashraf, H., Abai, M. R., Nazari, M. 2002. Monitoring of insecticide resistance in *Anopheles sacharovi* (Favre,) in borderline of Iran, Armenia, Naxcivan and Turkey, 2001. **Iran J. Pub. Health.** 31(3-4): 96-99.
- Salinas, A. E., Wong, M. G. 1999. Glutathione S-transferases – A review. **Current Med. Chem.** 6: 279–309.
- Sangba, M. L. O., Deketramete, T., Wango, S. P., Kazanji, M., Akogbeto M., Ndiath, M. O. 2016. Insecticide resistance status of the *Anopheles funestus* population in Central African Republic: a challenge in the war. **Parasit. Vectors.** 9:230-236.
- Sawicki, R., Singh, S.P., Mondal, A. K., Benes, H., Zimniak, P. 2003. Cloning, expression and biochemical characterization of one Epsilon-class (GST-3) and ten Delta-class (GST-1) glutathione S-transferases from *Drosophila melanogaster* and identification of additional nine members of the Epsilon class. **Biochem. J.** 370: 661–669.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy J. P, Rhaiem A, J. B. 2001. The mosquitoes of Europe (CD ROM). Montpellier, France.
- Scott, J. G., Yoshimizu, M., Kasai, S. 2015. Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. **Pest Biochem. Physiol.** 20:68-76.
- Scott, J. G., 1999. Cytochromus P450 and insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 29: 757-777.

- Sedaghat, M. M., Linton, Y. M., Nicolescu, G., Smith, L., Koliopoulos, G., Zounos A.K. 2003. Morphological and molecular characterization of *Anopheles (Anopheles) sacharovi Favre*, a primary vector of malaria in the Middle East. **Syst Entomol.** 28(2):241-56.
- Shaikevich, E. V., Vinogradova, E. B., Bouattour A., Gouveia de Almeida A.P. 2016. Genetic diversity of *Culex pipiens* mosquitoes in distinct populations from Europe: Contribution of *Cx. quinquefasciatus* in Mediterranean populations. **Parasit. Vectors.** 9:47-53.
- Sinegre, G. 1974. Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera – Culicidae). PhD Thesis (manusc.), Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier.
- Singh, O. P., Dykes, C. L., Lather, M., Agrawal, O.P., Adak, T. 2011. Knockdown resistance (kdr)-like mutations in the voltage-gated sodium channel of a malaria vector *Anopheles stephensi* and PCR assays for their detection. **Malar J.**10:59-65.
- Sinka, M.E., Bangs, M.J., Manguin, S., Coetzee, M., Mbogo CM, Hemingway J. 2010. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic precis. **Parasit Vectors.** 3:117-125.
- Soderlund, D. M., Knipple, D. C. 1999. Knockdown resistance to DDT and pyrethroid in the house fly (Diptera:Muscidae): From genetic trait to molecular mechanism. **Annals of the Entomological Society of the America**, 92(69): 909–915.
- Soderlund, D. M., Knipple, D. C. 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 33: 563–577.
- Sogorb, M. A., Vilanova, E. 2002. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorous, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. **Toxicol Lett.** 128: 215-228.
- Sparks, T. C., Lockwood, J. A., Byford, R. L., Graves, J. B., Leonard, B. R. 1989. The role of behavior in insecticide resistance. **Pestic. Sci.** 26: 383-399

- Tan, W. L., C. X. Li, Z. M., Wang, M. D., Liu, Y. D. Dong, X. Y. Feng, Z. M. Wu, X. X. Guo, D. Xing, Y. M. Zhang, Z.M. 2012. First detection of multiple knockdown resistance (kdr)-like mutations in voltage-gated sodium channel using three new genotyping methods in *Anopheles sinensis* from Guangxi Province. **China. J. Med. Entomol.** 49:1012–1020.
- Tantely, M. L., Tortosa, P., Alout, H., Berticat, C., Berthomieu, A., Rutee, A., Dehecq, J.S., Makoundou, P., Labbé, P., Pasteur, N., Weill, M. 2010. Insecticide resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes from La Reunion Island. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 40(4):317-24.
- Taşkın, G. B., Dogaroglu, T., Kilic, S., Doğaç, E., Taskin, V. 2015. Pesticide Biochemistry and Physiology, Seasonal dynamics of insecticide resistance, multiple resistance, and morphometric variation in field populations of *Culex pipiens*. **Pestic. Biochem. Physiol.** 129: 14–27.
- Teese, M. G., Campbell, P.M., Scott, C., Gordon, K. H. J., Southon, A., Hovan. D., Robin, C., Russell, R. J., Oakeshott, J. G. 2010. Gene identification and proteomic analysis of the esterases of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 40: 1-16.
- Tew, K. D. 1994. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. **Cancer Res.** 54: 4313–4320.
- Tmimi, F. Z., Faraj, C., Bkhache, M., Mounaji, K., Failloux, A. B., Sarih, M. 2018. Insecticide resistance and target site mutations G119S ace-1 and L1014F kdr of *Culex pipiens* in Morocco. **Parasit Vectors**, 11:51–59.
- Toba, G., Aigaki, T. 2000. Disruption of the microsomal glutathione S-transferase-like gene reduces life span of *Drosophila melanogaster*. **Gene**, 253:179-187.
- Toth, S., Kenyeres, Z. 2010. Revised checklist and distribution maps of mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Hungary. **European Mosquito Bulletin.** 3:30-35.
- Toty, C., Barre, H., Le Goff, G., Larget-Thierry, I., Rahola, N., Couret, D. 2010. Malaria risk in Corsica, former hot spot of malaria in France. **Malar J.** 9:231-239.

- Turell, M. J., Dohm, M. R., Sardelis, M. L. O., Guinn, T. G. Andreadis, J. A. 2005. An up date on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. **J. Med. Entomol.** 42:57–62.
- Turell, M. J., O'Guinin M. L., Dohm, D. J., Jones, J.W. 2001. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera:Culicidae) for West Nile Virus. **J.Med.Entomol.** 38: 130–134.
- Vatandoost, H., Abai, M.R. 2012. Irritability of malaria vector, *Anopheles sacharovi* to different insecticides in a malaria-prone area. **Asian Pac. J. Trop. Dis.** 5 (2): 113-116.
- Verhaeghen, K., Van Bortel, W., Ho, D.T., Sochantha, T., Keokenchanh, K., Coosemans, M. 2010. Knockdown resistance in *Anopheles vagus*, *An. sinensis*, *An. paraliae* and *An. peditaeniatus* populations of the Mekong region. **Parasit Vectors.** 3:59-64.
- Vezehegno, S.B. 2008. Insecticide resistance of malaria mosquitoes from Guinea Conakry. University of the Witwatersrand, Master of science Thesis, Johannesburg.
- Vinogradova, B. 1975. Photoperiod and temperature in diapause induction in *Ae. caspius*. **Parazitologiya**, 9: 385-392.
- Vinogradova, E.B. 2000. *Culex pipiens* Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, Applied Importance and Control, Pensoft Publishers, Sofia, Bulgaria,
- Violaris, M., Vasquez, M.I., Samanidou, A., Wirth, M.C., Hadjivassilis, A. 2009. The mosquito fauna of the Republic of Cyprus: a revised list. **J Am Mosq Control Assoc.** 25(2):199-202.
- Vontas, J., David, J., Nikou, D., Hemingway, J., Christophides, G.K., Louis, C., Ranson, H. 2007. Transcriptional analysis of insecticide resistance in *Anopheles stephensi* using crossspecies microarray hybridization. **Insect Mol. Biol.** 16(3):315-324.
- Vontas, J.G., Small, G.J., Hemingway, J. 2001. Glutathione Stransferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. **Biochem. J.** 357: 65–72.

- Vontas, J.G., Small, G.J., Nikou, D.C., Ranson, H. and Hemingway, J. 2002. Purification, molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Biochem. J.** 362:329–337.
- Wang, Z.M., Li, C.X., Xing, D., Yu, Y.H., Liu, N., Xue, R.D. 2012. Detection and widespread distribution of sodium channel alleles characteristic of insecticide resistance in *Culex pipiens* complex mosquitoes in China. **Med. Vet. Entomol.** 26:228–32.
- Weill, M., Fort, P., Berthomieu, A., Dubois, M.P., Pasteur, N., Raymond, M. 2002. A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is non-homologous to the ace gene in *Drosophila*. **Proc. Biol. Sci.** 269: 2007–2016.
- Weill, M., Lutfalla, G., Mogensen, K., Chandre, F., Berthomieu, A., Berticat, C., Pasteur, N., Philips, A., Fort, P., Raymond, M. 2003. Insecticide resistance in mosquito vectors. **Nature**, 423:136–137.
- Weill, M., Malcolm, C., Chandre, F., Mogensen, K., Bertomieu, A., Marquine, M., Raymond, M. 2004a. The unique mutation in ace – 1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. **Insect Molecular Biology**, 13:1-17.
- Weill, M., Berthomieu, A., Berticat, C., Lutfalla, G., Negre, V., Pasteur, N., Philips, A., Leonetti, J.P., Fort, P., Raymond, M. 2004b. Insecticide resistance: a silent base prediction. **Curr. Biol.** 14: 396–403.
- Williams, C. M. 1967. Juvenile hormones, in retrospect and prospect, in: *The Juvenile Hormones*. (L. I. Gilbert, ed), Plenum Press, pp. 1-14, New York.
- Williamson, M.S., Martinez-Torres, D., Hick, C.A., Devonshire, A. L. 1996. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. **Molecular and General Genetics**, 252: 51-60.
- World Health Organization, 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides - diagnostic test. Geneva, Switzerland.

- World Health Organization, 1991. Safe use of insecticides. 14th report of the WHO expert committee on vector biology and control. Technical report series, No. 813, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 1998. Techniques to Detect Insecticide Resistance Mechanisms (Field and Laboratory Manual). WHO/CDS/CPC/MAL/98.6. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 1999. *Bacillus thuringiensis*, Environmental Health Criteria 217, International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 2009. World Malaria Report 2009. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 2016. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes, 2nd edition, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 2017. Global malaria report, Geneva, Switzerland.
- Wu, Z. M., Chu, H. L., Wang, G., Zhu, X. J, Guo, X. X., Zhang, Y. M., Xing, D., Yan, T., Zhao, M.H., Dong, Y.D., Li, C.X., Zhao, T.Y. 2016. Multiple insecticide resistance and classical gene mutations to japanese encephalites vector *Culex tritaeniorhynchus* from China. **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 32(2):144-51.
- Xu, Q., Wang, H., Zhang, L., Liu, N. 2006. Kdr allelic variation in pyrethroid resistant mosquitoes, *Culex quinquefasciatus*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 345:774–80.
- Yaghoobi-Ershadi, M. R., Namazi, J., Piazak, N. 2001. Bionomics of *Anopheles sacharovi* in Ardebil province, northwestern Iran during a larval control program. **Acta Trop.** 78: 207-215.
- Yavuz, O., Şanlı, Y. 1999. Halk sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmokoloji Anabilim Dalı, Ankara.

- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. 1999. Popgene Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Edmonton.
- Yorulmaz, S., Ay, R. 2010. Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. **Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 24(2): 137–148.
- Yousten, A. A. 1984. Bacteriophage typing of mosquito pathogenic strains of *Bacillus sphaericus*. **J. Invertebr. Pathol.** 43:124-125.
- Yurttas, H., Alten, B. 2006. Geographic differentiation of life table attributes among *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) populations in Turkey. **J. Vector Ecol.** 31(2):275-84.
- Zaim, M., Aitio, N. 2000. Nakashima, Safety of pyrethroid-treated mosquito nets, **Med. Vet. Entomol.** 14: 1-5.
- Zalucki, M. P., Furlong M. J. 2017. Behavior as a mechanism of insecticide resistance: evaluation of the evidence. **Current Opinion in Insect Science**, 21:19–25
- Zlotkin, E. 1999. The Insect Voltage-Gated Sodium Channel as Target of Insecticides. **Annual Review of Entomology**, 44; 429-455.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sare İlknur YAVAŞOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi : Şanlıurfa, 15.07.1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2005-2009)

Yüksek Lisans Öğrenimi : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2009-2012)

Yabancı Diller : İngilizce (ÜDS, 88,75)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler

-SCI

Yavaşoğlu, S. I., Yılmaz, C., Ulger, C., Şimşek, F. M., 2016. Molecular identification and genetic structure of *Aedes phoeniciae* (Diptera: Culicidae) in Northern Cyprus and Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, 69: 6-14.

Alkhaibari, A., Carolino, A., Yavaşoğlu, S. I., Maffei, T., Mattoso, T., Bull, J., Samuel R., Butt, T., 2016. *Metarhizium brunneum* Blastospore Pathogenesis in *Aedes aegypti* Larvae attack on Several Fronts accelerates Mortality. **PLoS Pathogens**, [Electronic Journal]. 12(7). e1005715. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005715>.

Yavaşoğlu, S. I., Şimşek F. M., Ulger, C., 2016. Distribution pattern and genetic structure of *Aedes zammitii* (Diptera: Culicidae) along the Mediterranean and Aegean coasts of Turkey. **Journal of Vector Ecology**, 41(1): 151-159.

Yavaşoğlu, S. I., Örenlili Yaylagül, E., Akıner, M., Ulger, C., Çağlar, S. S., Şimşek F. M., 2019. Current insecticide resistance status in *Anopheles*

sacharovi and *Anopheles superpictus* populations in former malaria endemic areas of Turkey. **Acta Tropica**, 193:148-157.

b) Bildiriler

-Uluslararası

Yavasoglu, S. I., Kosluoglu, C., Yilmaz, C., Ulger, C., Simsek, C., 2014. Distribution and Genetic Structure of *Acartomyia phoeniciae* and *Acartomyia zammitii* Populations in Northern Cyprus and Turkey. E-SOVE, The 19th Conference-When epidemic becomes endemic: A Global Change Towards Vector Control. 13th-17th October 2014, Thessaloniki, Greece.

Simsek, F. M., Ceylan, I., Bursali, F., Yavasoglu, S. I., Orenlili, E., Akiner, M., Caglar, S.S., Ulger, C., 2014. Resistance to Organophosphates and Carbamates in *Anopheles sacharovi* and *Anopheles superpictus* based on ace-1^R Mutation in Turkey. E-SOVE, The 19th Conference-When epidemic becomes endemic: A Global Change Towards Vector Control. 13th-17th October 2014, Thessaloniki, Greece.

Alkhaibari, A. M., Carolino, A. T., Yavasoglu, S. I., Maffei, T., Bull, J., Samuels, R., Butt, T. M., 2015. *Metarhizium anisopliae* Blastospore Pathogenesis of Mosquito Larvae: Attack on Several Fronts Accelerates Mortality. Biopesticides-Innovative Technologies & Strategies for Pest Control. 7-9 September 2015, Swansea University, Swansea-UK (Poster bildiri).

Ceylan, I., Yavasoglu, S. I., Bursali, F., Yaylagul, O. E., Akiner, M., Caglar, S. S., Simsek, F. M., Ulger, C., 2015. Knockdown Resistance of *Anopheles sacharovi* and *Anopheles superpictus* Populations in Southern Turkey. International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions. 7-11 October 2015, Irakleio, Crete (Poster bildiri).

Yaylagul, E. O., Yavasoglu, S. I., Kosluoglu, C., Ceylan, I., Akiner, M., Caglar, S. S., Simsek, F. M., Ulger, C., 2015. Determination of Glutathione S-Transferase and Acetylcholine Esterase Enzymes Activities of *Anopheles sacharovi* Populations in Turkey. International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions. 7-11 October 2015, Irakleio, Crete (Poster bildiri).

- Şimşek, F. M., Yavaşoğlu, S. I., Akıner, M. M., Ulger, C. 2016. Distribution pattern and population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* Giles in Turkey. The 20th European Society of Vector Ecology Conference, Lisbon-Portekiz (Poster bildiri).
- Şimşek, F. M., Yavaşoğlu, S. I., Akıner, M. M., Ulger, C., 2016. *Aedes cretinus* Edwards in Turkey. The 20th European Society of Vector Ecology Conference, Lisbon-Portekiz (Poster bildiri).
- Yavaşoğlu, S. I., Yaylagül, E. O., Akıner, M. M., Ulger, C., Çağlar, S.S., Şimşek, F. M. 2017. İsecticide Resistance Caharacterization of Turkish *An. Sacharovi* Populations. XII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK-September-2017. Edirne-Turkey (Sözlü bildiri).
- Köşlüoğlu, Ç., Yavaşoğlu, S.I., Ulger, C., Şimşek, F. M. 2017. Türkiye'nin Akdeniz ve Ege Bölgelerinde *Anopheles claviger* s.l. (Diptera: Culicidae) Popülasyonları / Populations of *Anopheles claviger* s.l. (Diptera: Culicidae) in the Mediterranean and Aegean Regions of Turkey. XII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK-September-2017. Edirne-Turkey. (Poster bildiri).
- Yavaşoğlu, S. I., Bursalı F., Akıner, M. M., Ulger, C., Şimşek, F. M., 2017. Türkiye'de Kar-Suyu Sivrisinekleri / Snow-Melt Mosquitoes in Turkey. XII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, Ukecek-September-2017. Edirne-Turkey (Poster bildiri).
- Alkhaibari, A., Carolino, A., Yavaşoğlu, S. I., Maffeis, T., Mattoso, T., Bull, J., Samuel R., Butt T., 2017. New Insights In to the Use Entomopathogenic Fungi for Control of Mosquito Larvae. 6th Entomopathogens & Microbial Control Congress. 14-16 September, Gaziosmanpaşa Univesity, Tokat-Turkey (Sözlü bildiri).
- Ulusal
- Yavaşoğlu, S. İ., Şimşek, F. M., Ülger, C., 2012. Türkiye'nin Akdeniz ve Ege bölgelerinde *Ochlerotatus zammitii* (Diptera: Culicidae)'nin genetik yapısı ve dağılım örüntüsünün belirlenmesi. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi/ Ege Üniversitesi, 03-07 Eylül 2012, İzmir (Sözlü sunum).

- Yavaşoğlu, S. İ., Şimşek, F. M., Őlger, C., 2012. *Aedes* ve *Ochlerotatus* (Diptera: Culicidae) TŐrlerinin Akdeniz BÖlgesi'ndeki Sıklığı ve Dağılım ŐrŐntŐsũ. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi/ Ege Őniversitesi, 03-07 EylŐl 2012, İzmir (Poster sunum).
- KŐŐlŐođlu, Ő., Bursalı, F., Yavaşoğlu, S. İ., Şimşek, F. M., 2014. Akdeniz ve Ege BÖlgesi *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) PopŐlasyonlarında İnektisit Direnci. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi. 23-27 Haziran 2014, EskiŐehir (Poster sunum).
- Yavaşoğlu, S.İ., Bursalı, F., KŐŐlŐođlu, Ő., Şimşek, F. M., 2014. Doğu Akdeniz'de *Ochlerotatus phoeniciae* (Diptera: Culicidae)'nin Dağılım ŐrŐntŐsũ. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi. 23-27 Haziran 2014, EskiŐehir (SŐzlŐ sunum).
- Yavaşoğlu, S. I., Őlger, C., Bursalı, F., Akiner, M. M., Őađlar, S. S., Şimşek F. M., 2017. GŐneydođu Anadolu BÖlgesi'nde *Anopheles superpictus* popŐlasyonlarında inektisit direnci. 20. ulusal parazitoloji kongresi (Özet Bildiri/Poster).
- Şimşek, F. M., KŐŐlŐođlu, Ő., Yavaşoğlu, S. İ., Bursalı, F., Őlger, C., Akiner M. M., 2017. TŐrkiye'nin GŐneydođu, Akdeniz ve Ege bölgelerinde *Anopheles* tŐrlerinin dağılımı. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster).

İŐ DENEYİMİ

ŐalıŐtıđı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Őniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji BŐl. (2011 - ...)

İLETİŐİM

E-Posta Adresi : sarecihangir@adu.edu.tr

Tarih : 10.05.2019