

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE YAYILAN *Culex*
pipiens kompleks TÜRLERİNDE *kdr* ve *ace* DİRENCİ

RİDVAN DEMİRTAŞ

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. M. MUSTAFA AKINER

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. HASAN SEVGİLİ

YRD. DOÇ. DR FATİH ŞABAN BERİŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI




RİZE-2017

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLDESİNDE YAYILAN *Culex pipiens*
kompleks TÜRLERİNDE *Kdr* ve *Ace* DİRENCİ**

Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER danışmanlığında, Rıdvan DEMİRTAŞ tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 03/07/ 2017 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Fatih Şaban BERİŞ	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER	


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında gerçekleştirilen bu tezde ülkemizde yoğun bir şekilde insektisit kullanılmasının doğal sonucu olarak pek çok böcek türünde insektisit direnci gelişimine neden olan moleküler mekanizmalar araştırılmıştır. Böceklerin insektisitlere karşı geliştirdikleri direncin araştırılması ve bu anlamda önlem alınması için detaylı ve sistematik araştırma yapılması gerekliliği direncin multifaktöriyel olması nedeniyle elzemdir. Planlanan bu tez çalışmasında ülkemizin Doğu Karadeniz Bölgesinde yayılan, Batı Nil virüsü, Chikungunya, Rift vadisi ateşi, Sindbis, Kunjin gibi virüslerin insanlara bulaştırılmasında vektörlük yapan *Culex pipiens* kompleks türlerinde moleküler anlamda dirence neden olan *kdr* (*Knock Down direnci*) ve *ace* (*Asetilkoliesteraz direnci*) gen bölgelerindeki mutasyonel farklılıklar ve bunun direnç gelişimine olan katkısı ile olası kontrol problemlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans öğrenciliğim ve tez çalışmam sürecinde benden desteğini esirgemeyen, her zaman bana ilham veren ve çalışma azmimi artıran çok değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER'e, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih Şaban BERİŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda yanımda olan değerli arkadaşım Murat ÖZTÜRK'e de bütün kalbimle teşekkür ederim. Değerli jüri üyesi hocalarıma bana verdikleri desteklerden ve tezime katkılarından ötürü çok teşekkür ederim.

Bugünlere kadar gelmemde benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen fedakâr babam Ramazan DEMİRTAŞ'a, cefakâr annem Hanım DEMİRTAŞ'a ve sevgili eşim Sedef A. DEMİRTAŞ'a minnet, şükran, en derin sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bu tez çalışması TÜBİTAK KBAG 113Z795 nolu bilimsel araştırma projesi kapsamında desteklenmiştir. Çalışma süresinde TÜBİTAK tarafından sağlanan Yüksek Lisans Bursu için kuruma teşekkürlerimi sunarım.

Rıdvan DEMİRTAŞ

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımca hazırlanan “Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi’nde Yayılan *Culex pipiens* kompleks Türlerinde *kdr* ve *ace* Direnci” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.
03/07/2017



Rıdvan DEMİRTAŞ

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ORTA ve DOĞU KARADENİZ BÖLDESİNDE YAYILAN *Culex pipiens* kompleks TÜRLERİNDE *kdr* ve *ace* DİRENCİ

Rıdvan DEMİRTAŞ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. M. Mustafa AKINER

Yapılan bu tez çalışmasında, insektisit direncinin moleküler doğasının belirlenmesi amacıyla Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yayılım gösteren *Culex pipiens* kompleks türlerine ait popülasyonlardan örnekleme yapılmıştır. Toplanan örneklerin morfolojik olarak tür ayrımı yapıldıktan sonra DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen PZR sonunda, *kdr* L1014F, *ace-1* F290V (Agaroz jel elektroforezi görüntüsü ve dizileme), *ace-1* G119S (dizileme) mutasyonlarına göre direnç durumu değerlendirilmiştir. *kdr* L1014F bölgesi için homozigot dirençli, homozigot duyarlı ve heterozigot dirençli bireylerin varlığı gözlenmiştir. Bölge bazında değişimle birlikte heterozigotluğun yüksek olduğu, dizileme sonuçlarına göre de doğrulanmıştır. *ace-1* geni F290V mutasyonunun frekansının bölge genelinde çok düşük olduğu hem jel elektroforezi hemde sekans sonucuyla doğrulanmış ve alanda homozigot dirençli birey bulunmadığı gözlenmiştir. *ace-1* geni G119S mutasyonu bölgesinde ise homozigot dirençli birey frekansı düşük seviyelerde, heterozigotların oranı ise F290V mutasyonuna göre yüksek bulunmuştur. Her üç mutasyon bölgesi içinde alanda mutasyonların varlığı belirlenmiş ancak *kdr* mutasyonunun oranı *ace* mutasyonlarına göre yüksek bulunmuştur. Bu durum alanda hem pyrethroidlere hem de organikfosforlu/karbamatlı gruplara karşı var olan moleküler direnci doğrulamıştır. Her üç bölgede de gözlenen mutasyon tipleri alanda seçim baskısının pyrethroidler bazında yüksek, organikfosforlu ve karbamatlı gruplar bazında düşük olduğunu göstermiştir.

2017, 55 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Culex pipiens*, *ace* direnci, *kdr* direnci, Doğu Karadeniz Bölgesi

ABSTRACT

***kdr* and *ace* RESISTANCE OF *Culex pipiens* complex SPECIES THAT DISTRIBUTED MIDDLE and EASTERN BLACKSEA REGION**

Rıdvan DEMİRTAŞ

**Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Asst. Prof. Dr. M. Mustafa AKINER**

In this thesis study, *Culex pipiens* complex species populations that distributed in the Central and Eastern Black Sea Region were sampled in order to determine the molecular nature of the insecticide resistance. DNA isolation was carried out after morphologically identification of the species which were collected. The resistance status was evaluated according to *kdr* L1014F, *ace-1* F290V (Agarose gel electrophoresis image and sequencing), *ace-1* G119S (sequencing) mutations at the end of the PCR. The presence of homozygous resistant, homozygous sensitive and heterozygote resistant individuals for the *kdr* L104F locus was observed. The heterozygosity was also high as confirmed by the sequencing results with regional variation. It was observed that the frequency of the *ace-1* gene F290V mutation was very low throughout the region. This result confirmed both by gel electrophoresis and sequencing, and there was no homozygous resistant individual in the field. In the *ace-1* gene G119S mutation region, the frequency of homozygous resistant individuals were found low level and the proportion of heterozygotes were found higher than the F290V mutation. The presence of in all three mutations was determined throughout the study region, but the rate of *kdr* mutation was found to be higher than that of *ace* mutations. This confirms the existing molecular resistance to both the pyrethroids and the organophosphorus / carbamate groups. The mutation types observed in all three regions showed that the selection pressure was high on pyrethroids and low on organophosphorus/carbamate groups.

2017, 55 Pages

Keywords: *Culex pipiens*, *ace* resistance, *kdr* resistance, Eastern Black Sea region

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	II
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Sivrisineklerin Biyolojisi	6
1.2.1. Yumurta Evresi	7
1.2.2. Larva Evresi	7
1.2.3. Pupa Evresi.....	8
1.2.4. Ergin Evresi.....	9
1.3. Ülkemizde Sivrisineklerin Dağılımı ve Habitat Seçimleri.....	10
1.4. Sivrisineklerle Mücadele Yöntemleri	11
1.4.1. Mekanik Mücadele.....	12
1.4.2. Biyolojik Mücadele	13
1.4.3. Genetik Mücadele	14
1.4.4. Kimyasal Mücadele.....	15
1.4.4.1. İnsektisitlerin Sınıflandırılması	16
1.4.4.1.1. Organoklorlu İnsektisitler	17
1.4.4.1.2. Organofosforlu İnsektisitler	17
1.4.4.1.3. Karbamat Grubu İnsektisitler	18
1.4.4.1.4. Piretroid İnsektisitler	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	19
2.1. Çalışmada Kullanılan Örneklerin Toplandığı Alanlar	19
2.2. Örneklerin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi	20
2.3. <i>Culex pipiens</i> kompleksin Morfolojik Tür Teşhisi	20
2.4. DNA İzolasyonu.....	20

2.5.	Agaroz Jelin Hazırlanması	21
2.6.	<i>kdr</i> L1014F Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması	21
2.7.	<i>ace-1</i> G119S Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması	24
2.8.	<i>ace-1</i> Gen Bölgesi F290V Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması	25
2.9.	DNA Dizi Analizi	27
3.	BULGULAR	29
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR	35
5.	ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR		42
EKLER		48
ÖZGEÇMİŞ		55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Böceklerde direnç gelişimi	3
Şekil 2.	Yaygın olarak kullanılan insektisit sınıfları arasındaki çapraz direnç ilişkisi..	5
Şekil 3.	Sivrisineklerin (<i>Culex pipiens</i> kompleks) hayat döngüsü	6
Şekil 4.	Sivrisineklere ait yumurta görüntüleri.....	7
Şekil 5.	Sivrisinek larvasının morfolojik yapısı	8
Şekil 6.	Sivrisineklere ait pupa görüntüsü	9
Şekil 7.	Ergin dişi <i>Cx. pipiens</i> kompleks türlerinin morfolojik yapısı	10
Şekil 8.	<i>kdr</i> gen bölgesinin yerleşimi ve agaroz jel elektroforezi görüntüsü	24
Şekil 9.	F290V mutasyon bölgesi primer bağlanma bölgeleri	27
Şekil 10.	<i>ace-1</i> bölgesi G119S mutasyonu taraması amacıyla yapılmış olan PZR %1,5'luk agaroz jel elektroforezi örnek görüntüsü	31
Şekil 11.	<i>ace-1</i> bölgesi F290V mutasyonu taraması amacıyla yapılmış olan PZR %1,5'luk agaroz jel elektroforezi örnek görüntüsü	33

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Örneklem nokta ve koordinatları.	19
Tablo 2.	<i>kdr</i> taramasında 1. PZR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.	23
Tablo 3.	<i>kdr</i> taramasında 2. PZR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.	23
Tablo 4.	<i>ace-1</i> taramasında G119S noktasının PCR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.	25
Tablo 5.	<i>ace-1</i> taramasında F290V noktasının PCR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.	26
Tablo 6.	DNA dizi analizi sonucunda <i>kdr</i> gen bölgesi direnç durumu.	27
Tablo 7.	G119S mutasyonunun direnç durumunu gösterir tablo.	28
Tablo 8.	<i>kdr</i> bölgesinde gözlenen mutasyonun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR sonucunun jel görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları.....	30
Tablo 9.	<i>ace-1</i> bölgesinde G119S mutasyonunun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR ampikon dizilerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları	32
Tablo 10.	<i>ace-1</i> bölgesinde F290V mutasyonunun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR sonucunun jel görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları	34
Tablo 11.	Bölgelere göre <i>kdr</i> direnç frekansları.	36
Tablo 12.	Bölgelere göre F290V direnç frekansları.....	37
Tablo 13.	Bölgelere göre G119S direnç frekansları.....	38

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
<i>ace</i>	<i>Asetilcolin Esteraz</i>
rpm	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı)
RNaz	Ribonükleaz
UV	Ultraviyole ışınları
<i>kdr</i>	<i>Knock down registant</i>
dNTP	Deoksi nükleozit trifosfat
Taq pol	<i>Thermus aquaticus</i> bakterisinden elde edilen DNA polimeraz enzimi
U	Unit (Enzim Birimi)
pmol	Pikomol
µl	Mikrolitre
mM	Milimolar
ml	Mililitre
sn	Saniye
bç	Baz çifti
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
GPS	Küresel Konumlama Sistemi
TE	Tris-EDTA
TAE	Tris-acetate-EDTA
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asi
gDNA	Genomik DNA
dH₂O	Distile su
ATP	Adenozin Trifosfat
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

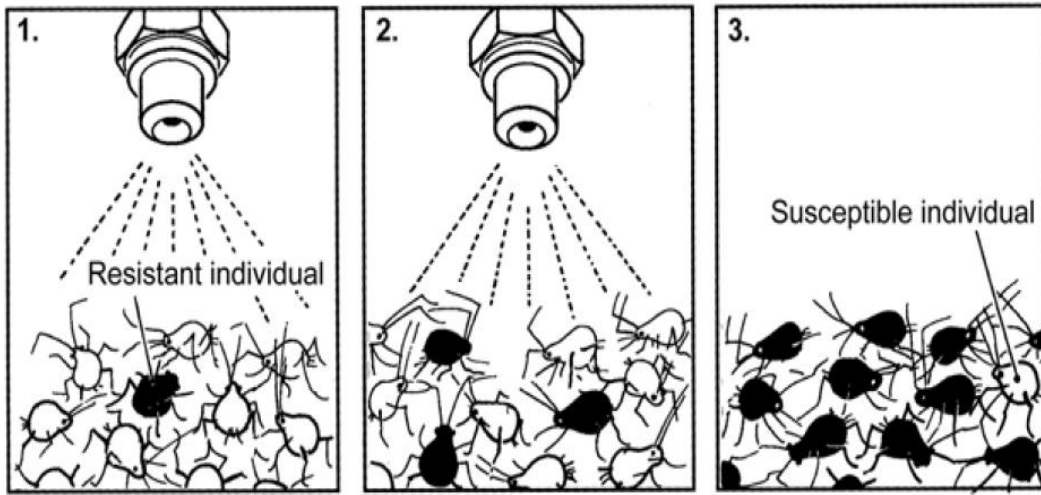
Sivrisinekler, insan ve hayvanlardan kan emmeleri ve insanlara rahatsızlık vermeleri ile bilinirler. Kan emme özellikleri nedeniyle sarıhumma, sıtma, deng humması, filarya ve arboviral ensefalitler gibi önemli önemli hastalıkların vektörlüğünü yaparlar. Günümüzde bilinen 182 arbovirüs enfeksiyonundan 147'si sivrisinekler tarafından taşınır ve bulaştırılır (Kılıç, 2015).

Kutup hariç tüm iklim kuşaklarında var olmaları, hızlı üreyebilmeleri, kan emme davranışında soğukkanlı ve sıcakkanlı pek çok canlıyı tercih edebilmeleri nedeniyle sivrisinekler böcekler içerisinde ve vektör türler arasında ayrıcalıklı bir konuma sahiptirler (Akıner, 2009). İnsan sağlığı açısından oldukça önemli bir yere sahip olan sivrisineler farklı coğrafyalarda çok sayıda problemlere yol açmaktadır. Dünyanın farklı bölgelerinde sivrisineklerin neden olduğu hastalıklar; imparatorluklar yıkmış, birinci ve ikinci dünya savaşında, savaş alanında fazla insan kaybına neden olmuş, ciddi salgınlar neticesinde nüfus değişimlerine neden olmuş, çok büyük kitleleri etkilemiş ve buna paralel olarak insan hareketlerinde, yerleşimlerinde ve yaşam biçimlerinin şekillenmelerinde önemli yer tutmuştur (Demirpolat, 2016).

Ülkemiz kuzeydoğusunda yer alan Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi Gürcistan ile sınır konumundadır. Türkiyenin en işlek sınır kapılarından biri olan Sarp sınır kapısı bu bölgede yer almaktadır. Bu sınır kapısından yılda binlerce yerli ve yabancı insan giriş çıkış yapmaktadır. Bu sınır kapısının bu kadar işlek olması bölgeye gelebilecek bir hastalık riskinde arttırmaktadır. Bölgede, hem yurt içi hemde yurt dışı ulaşımına sahip olan hava alanının bulunması, bölgenin sahip olduğu doğal güzellikler ve yaylalara sahip olması sebebiyle çok sayıda yerli ve yabancı turist çekmesi, Orta Karadeniz'in en büyük ve en işlek limanı olan Samsun limanının bu bölgede olması bu riski daha da arttırmaktadır. Ayrıca bölgede bulunan kuşların Karadeniz'i doğrudan geçmek için kıvılcık deltasını kullanması batı nil virüsü gibi hastalıkların bölgeye girme olasılığını arttırmaktadır. Bu nedenle bu bölgede yapılacak olan mücadele planının iyi değerlendirilmesi ve olası bir risk karşısında en hızlı ve en etkin şekilde mücadele yapılması önemlidir.

Sivrisineklerle bulaştırılan hastalıkların engellenmesinde ve olası bir salgın durumunun engellenmesinde ana konu sivrisineklerle konak arasındaki bağın koparılmasından geçmektedir (Alten ve Çağlar, 1998). Bu bağın koparılmasında kullanılacak en etkili yöntem vektörle mücadeledir. Yapılan bu mücadele; habitatlardan uzak durma çabalarını, mekanik mücadele ve sonunda da kimyasal ve biyolojik mücadele şeklinde olmuş olup bu mücadele şekillerinin her biri hem insan hem hayvan sağlığı anlamında ciddi kazanımları içermektedir. Hiç şüphesiz ki bu mücadele yöntemleri arasında hızlı sonuç vermesi açısından en fazla tercih edilen yöntem kimyasal mücadeledir. 1900'lerin başından itibaren ciddi mücadele çalışmaları ve kimyasal mücadelenin başlangıcı olarak kabul gören II. Dünya savaşından sonra ise karşılaşılan zorluklar ve mücadele başarısızlıklarının temelinde yatan üç temel faktörün başında ise insektisit direnci gelmektedir. Diğer iki temel durum ise küresel ısınma ve türlerin yeni alanları yayılması temelinde istilacı türler olarak bilinen pek çok türün yeni alanlara yayılmasıdır. Kimyasal mücadele, mücadele çalışmalarının omurgasını oluşturmakta olup, en hızlı çözüme ulaştıran ve gerektiği her an kullanılabilir bir silah konumundadır (Kırımlı, 2007). Mücadele araçları, genellikle sentetik yapılar olup bu ajanlar hedef organizmalar dışında canlıları etkilemeleri ve bitkiler üzerinde de çeşitli etkilere sahip olmaları nedeniyle ciddi problemler oluşturabilecek konumdadırlar (Daş, 2004; Kırımlı, 2007). Bu kimyasallar aynı zamanda kanserojen ajan konumunda olmaları nedeniyle tercihlerinde dikkat edilmesi gereken gruplardır. Her ne kadar kalıcılıkları düşük kimyasallar günümüzde daha çok tercih ediliyor olsa da ilk kullanılan mücadele ajanları (DDT, Dieldrin, Aldrin vb.) ciddi kalıcılıklara sahip ve biyoakkümülyasyon neticesinde dokularda depolanabilme özelliklerine sahiptirler (Kırımlı, 2007). Uygulama her zaman çözüm olarak görülse de uygulayıcıların bilgisiz ve uzman olmaması ciddi sorunları beraberinde getiren önemli bir durumdur. Özellikle korumasız ve bilinçsiz uygulamalar, uygunsuz depolamalar gibi durumlarda zehilenmeler ve ölümler gözlenebilmektedir (Keleş, 1991). Mücadele planları kurgulanırken tüm hayat evreleri dikkate alınsa da mücadele anlamında temel iki evre önemlidir. Bu evreler larva ve ergin evreleri olup yumurta ve pupa evresinde insektisit kullanılmasının hiçbir faydası yoktur. Bu evrelerde yumurta yapısı gereği, pupa da beslenme aktivitesi göstermediği için uygulanan insektisit boşu boşuna yapılmış olur. İnsektisit uygulamaları alanda yapılacak mücadele çalışmalarında kilit olduğu için zamanlama ve doğal seçilimi indükleyecek uygulamalardan kaçınılması gereklidir. Uygulama için ergin evrede aktif zamanın

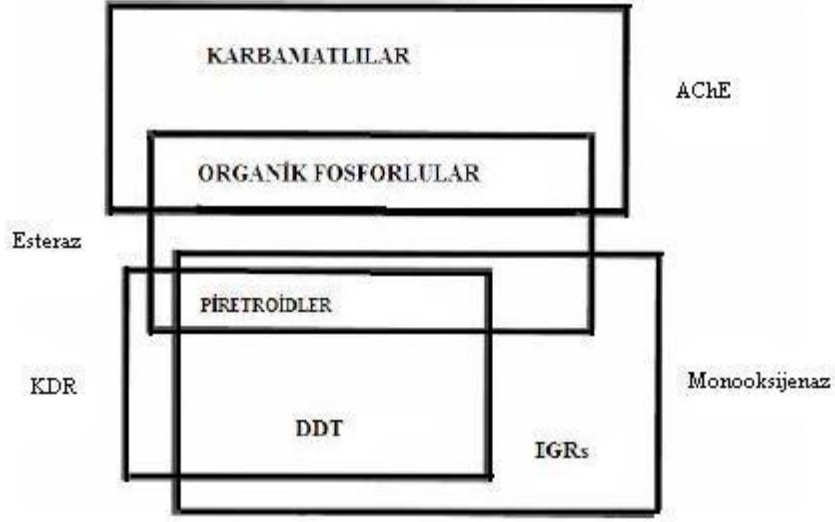
seçilmesi ve larva ilaçlamasında uygun alanlar ile genel olarak sabah ya da akşam üzerinin seçilmesi başarıyı artırır. Doğal seçim anlamında ise uygulama sıklığından uygulanan alanın büyüklüğüne kadar pek çok parametreye dikkat edilmesi önemlidir. Özellikle frekansı artırmak ve tüm alanda uygulama yapmak çözüme götürmekten ziyade çözümsüzlüğe kapı açmış olur. Özellikle doğal seçilimi yönlendirilmiş seçilime doğru kaydıracak bu durumlar var olan ya da gelişecek direnci daha da kuvvetlendirerek ve tüm popülasyona yayarak etkisini daha da artırır (Akıner, 2003; Campbell vd., 2009; Eroğlu, 2016). Böceklerde insektisit direncine yol açan temel mekanizme Şekil 1 de verilmiştir.



Şekil 1. Böceklerde direnç gelişimi (Eroğlu, 2016).

Bu tez çalışmasının hedefi olan dirence neden olan mutasyonel farklılıkların belirlenmesi ve bunun popülasyonlardaki durumlarının araştırılması da yukarıda bahsedilen durumla alakalı süreçler sonucunda popülasyonlarda yönlendirilmiş seçilime neden olan durumlara örnektir. Popülasyonlarda seçim sonucunda aktarılan direnç mekanizmalarının bir sonraki kuşaklara aktarılmasından ötürü, kullanılan insektisitlerin zamanla etkisinin yitirilmesine sebep olur. Belli bir süre sonunda direnç gelişiminin seçilimi sonucunda alandaki bireyler göç yoluyla bu direnci farklı popülasyonlarda ulaştırabilmektedir (Lüleyap vd., 2000). Bu durum da kullanılan insektisitlerin sürekli olarak etkisiz hale gelmesine dolayısıyla yeni insektisitler geliştirilmesine sebep olmakta, sonuç olarak bu canlılarla mücadelede maliyeti arttırmaktadır. Diğer bir bakış açısıyla insektisit direnç testleri yapılmadan ve direncin doğasını anlamadan yapılan mücadele çalışmaları, sonuç olarak hüsrana sebep olmakta ve bu durum hem zaman kaybı hem de maliyetli bir durum ortaya çıkarmaktadır. (Eroğlu, 2016). Direncin genetik temelleri

bulunmaktadır. DDT ve pretroid direncinin genetik temeli sodyum kanal proteininde yer alan *kdr* gen bölgesindeki bir mutasyondan kaynaklanmaktadır. Sodyum kanalı nöronlarda aksiyon potansiyelinden sorumlu proteinlerdir. Böceklerdeki para tip sodyum kanalı DDT ve pretroit insektisitlerin öncelikli hedefidir. Böceklerde öldürücü etki yapan pyrethroid and DDT, sodyum kanalı üzerine etki eder; sodyum kanalının olağan olmayan şekilde açık kalmasını sağlayarak hücrenin deşarj olmasını engeller ve nöronlar ileti alabildiği faz olan repolarize hale gelemez. Bu nedenle sodyum kanallarında ki herhangi noktada gözlenen değişiklik böceklerde preproit ve DDT'nin bu bölgelere bağlanmasını azaltmakta ya da bitirmektedir. Sivrisineklerde *kdr* mutasyonlarında TTA (lösin)'nin TTT (fenilalanin)'ye dönüşümü şeklindeki nokta mutasyonu gerçekleşmektedir (Xu vd., 2011). Bunun yanında *kdr* tip dirence neden olan mutasyonun farklı şekilleri (L1014F, L1014H/C/S/W) pek çok türde tespit edilmiş olup (Rinkevich vd., 2013) değişim sonucunda direncin geliştiği ve dirençle bağlantıları kesin olarak bilinmektedir. Taşkın vd., (2016) Ege bölgesi *Cx. pipiens* soylarında L1014F klasik tipinin haricinde L1014C mutasyonunda tespit etmişlerdir. Lösin sistein değişimini ifade eden bu değişimin oranı klasik tipten daha düşük olarak rapor edilmiştir. Ülkemizde yapılan bu konudaki diğer bir çalışmada ise *An. sacharovi* Adana populasyonunda 12 örneğin 4 tanesinde *kdr* mutasyonuna rastlandığı rapor edilmiştir (Lüleyap vd., 2002). OP (Organofosfat) ve Karbamatlı insektisitlerin genetik temelleri ise *ace 1* gen bölgesindeki mutasyonlarla açıklanmaktadır (Corbela vd., 2007). OP ve karbomatlı insektisitler asetilkolinesteraza yüksek affinite gösteren insektisit grubudur. Bu insektisit grupları enzimin aktif bölgesine bağlanarak enzimi inhibe etmektedir. Enzimde meydana gelen mutasyon sonucu bu insektisit grupları enzime affinitesi düşer ya da tamamen ortadan kalkar (Bursalı, 2013). Direnç gelişimine sebep olan gen bölgeleri Şekil 2 de verilmiştir.



Şekil 2. Yaygın olarak kullanılan insektisit sınıfları arasındaki çapraz direnç ilişkisi (Bursalı, 2013).

Günümüzde sivrisineklerde *ace* direncine sebep olan *ace-1* bölgesi mutasyonları G119S, F290V ve F331W şeklinde saptanmıştır (Alout vd., 2009). Bu mutasyon tiplerinden G119S mutasyonu *Anopheles gambiae*, *Anopheles albimanus*, *Culex vishnui* ve *Culex pipiens* gibi türlerde saptanmıştır ve mutasyon tipinin *Culex pipiens*'te yaygın olduğu gösterilmiştir. F331W mutasyon tipi ise sadece Doğu Asya'da dirençli *Culex tritaeniorhynchus*'da bulunmuştur. Son olarak, F290V mutasyon tipi ise 1987'de Kıbrıs Adası'nda toplanan bir *Culex pipiens* soyunda saptanmış ve 2003 yılında hala varlığını devam ettiği gözlemlenmiştir (Bursalı, 2013).

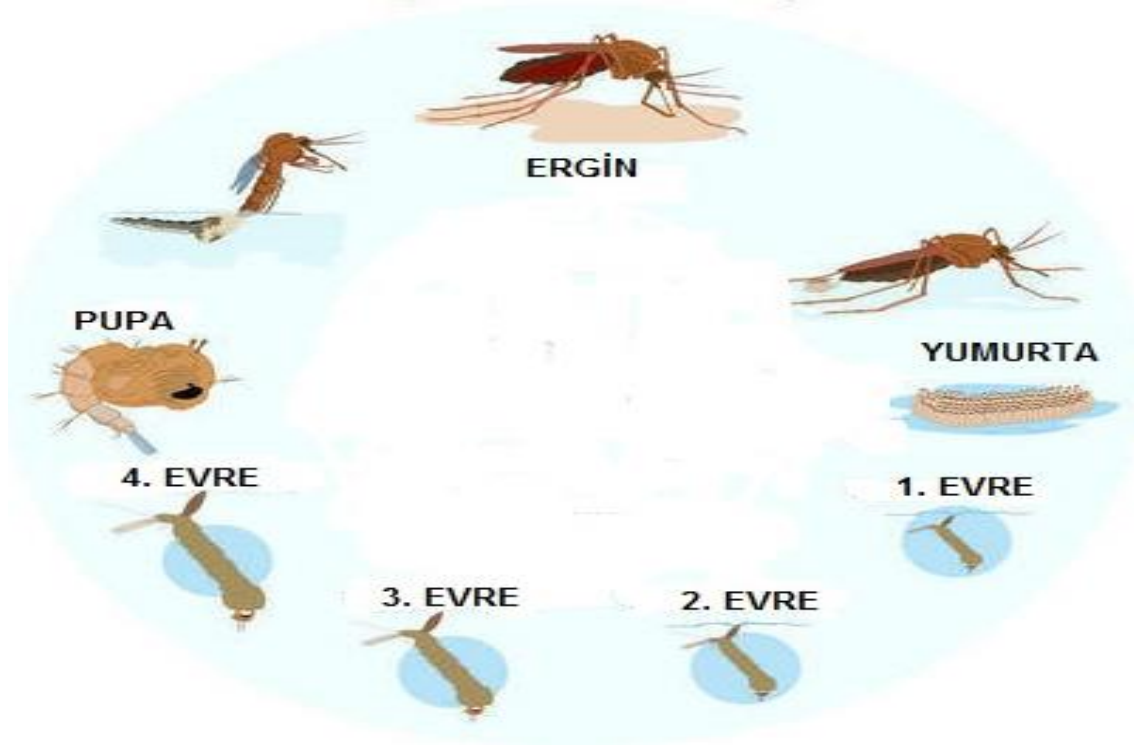
Akdeniz havzasında yapılan çalışmalarda ve dünya genelinde G119S mutasyonunun yaygın olduğu buna karşılık F290V mutasyonunun düzeyinin düşük olduğu belirtilmiştir (Alout vd., 2007). Tantely (2010) La Reunion adası *Cx. pipiens quinquefasciatus* ve *Aedes albopictus*'ta organofosfat direncine neden olan mutasyonlardan sadece G119S'nin varlığını göstermiş ve estarazların fazla üretimi ve bu mutasyondan kaynaklanan ciddi bir organofosfat direncini rapor etmişlerdir. Ülkemizde Taşkın vd., (2016) tarafından yapılan çalışmada ise G119S frekansı F290V frekansından daha yüksek bulunmuş ve Ege Bölgesi populasyonlarında dirence neden olan yapıların arasında bu mutasyon tiplerinin olduğunu göstermişlerdir. Alout vd., (2016) yaptıkları çalışmada yüksek oranda chlorpyrifos direncinin İsrail, Tunus ve Hint adalarındaki

populasyonlarda G119S mutasyonu sonucu var olduğunu ve homozigot mutasyonun tüm populasyonlarda yaygın olduğunu rapor etmişlerdir

1.2. Sivrisineklerin Biyolojisi

Sivrisinekler üreme alanları olarak bataklıkları, gölleri, havuzları, çeşme yalıklarını, su kuyularını, terkedilmiş araç lastikleri gibi farklı alanları seçerler. Larvaların gelişmesine için en uygun alanlar, türlerin ihtiyaçları ve toleranslarına göre değişmekle birlikte temiz sulardan, aşırı kirli sulara kadar değişebilir. Bütün durgun su alanları veya çok düşük hızda (cm/sn) olan akarsuların bulunduğu alanlar sivrisineklerin üreme alanlarına dâhildir (Kılıç, 2015).

Sivrisineklerin hayat döngüsü yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evreden oluşur (Şekil 3). Yumurta, larva ve pupa evrelerini suda geçirirken ergin evrelerini karada geçirirler.

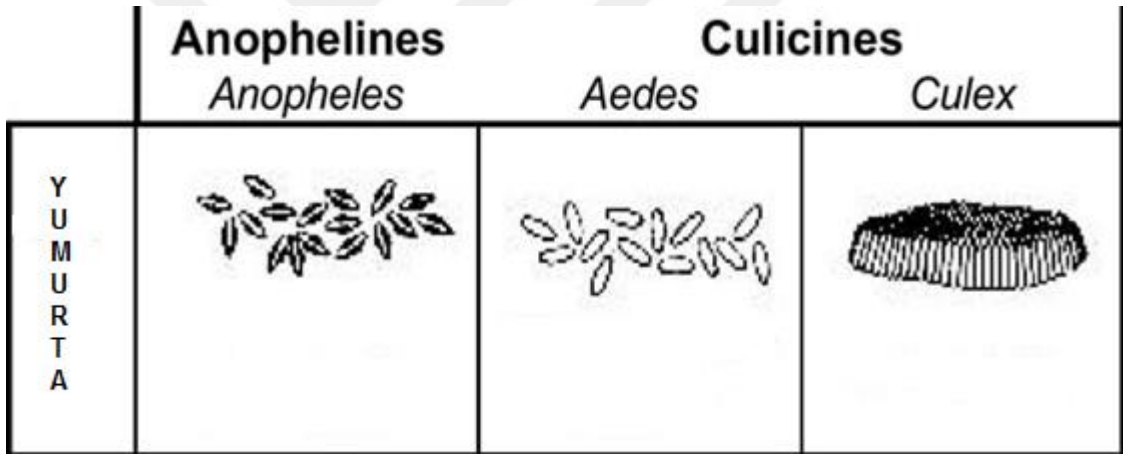


Şekil 3. Sivrisineklerin (*Culex pipiens* kompleksi) hayat döngüsü (URL-3).

1.2.1. Yumurta Evresi

Sivrisinek yumurtaları 0.6mm-1mm boyunda bir ucu sivri diğer ucu daha küt ve iğ şeklinde olan yapılardır. Yumurtaların alt yüzeyleri üst yüzeylerinden daha dış bükeydir (Alten ve Çağlar, 1998). *Culex* türlerine ait yumurtaların bir ucunda küçük bir delik bulunmaktadır. Bu delikten döllenme hücresi girer ve bu sayede yumurta döllenir (Horsfall, 1955).

Culex türlerinin yumurtaları paket halinde bırakılır ve su yüzeyinde sala benzer bir şekilde yüzerler. Sala benzeyen bu yapıya ise yumurta paketi denir. *Anopheles* cinsine dâhil türler ise yumurtalarını tek tek bırakır ve suda yüzen sala benzer görüntü oluşturur (Şekil 4) (Alten ve Çağlar, 1998).

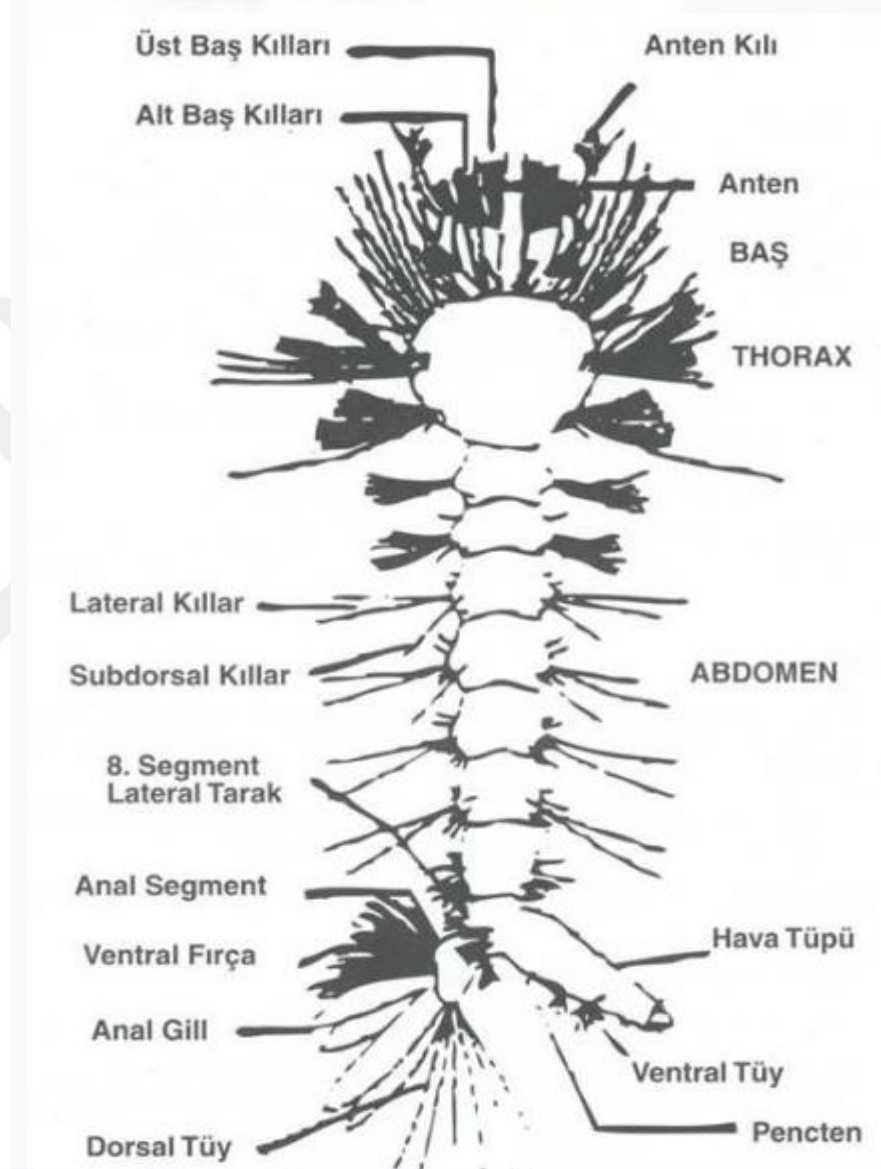


Şekil 4. Sivrisineklere ait yumurta görüntüleri (Alten ve Çağlar, 1998).

1.2.2. Larva Evresi

Sivrisinek larvalarından çıkan hareketli bireylere larva (kurtçuk) adı verilmektedir. Larvalar genellikle 5-8 mm boyundadırlar. Fakat bazı türlerde (örneğin; *Culiseta*, *Aedes*) 12-15 mm boyundada olabilirler. Larvaların vucutları ince ve saydam bir yapıyla (kutikula) kaplıdır. Sivrisinek larvaları belirgin olarak baş (capitulum), gövde (thorax) ve karın (abdomen) kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 5) (Merdivenci, 1984).

Solunumlarını sifon ismi verilen yapıyla yapan larvalar suda aşırı hareketli bir yapıya sahiptirler. Besinlerini sudaki mikroorganizmalar, protozoonlar, algler, omurgasız canlıları yiyerek sağlarlar. Beslenme tipleri genel olarak üç tipte incelenebilir: Filtre edenler, prodatörler ve tarayıcılar.



Şekil 5. Sivrisinek larvasının morfolojik yapısı (*Cx. pipiens* kompleks) (URL 1).

1.2.3. Pupa Evresi

Larva döneminin sonuna gelen bireyler beslenme aktivitesinin olmadığı ve tam başkalaşımın geçirildiği pupa evresine geçerler. Bireyler geçirdikleri süre zarfında tam başkalaşım geçirip larva evrelerindeki tüm yapıların yerine ergin evrede gözlenen yapıları

oluştururlar. Normal şartlarda Diptera üyelerinde gözlenen durgun pupa evresi yerine, sivrisinek pupaları hassas tepkiler verirler ve aktif hareket ederler (Şekil 6) (Kılıç, 2015).



Şekil 6. Sivrisineklere ait pupa görüntüsü (*Culex pipiens* kompleks) (URL 2).

Sivrisinek pupaları yandan bakıldığında virgül görünümündedirler. Bir sivrisinek pupası 2 bölümden oluşur. Bunlar, büyük görünümü ile dikkat çeken baş ve yassı görünümde olan karındır. Bir pupanın gelişim süresi ise genel olarak 5-6 gün sürmekle beraber, ortam sıcaklığı ideal olduğunda 1-2 gün sürer (Alten ve Çağlar, 1998).

1.2.4. Ergin Evresi

Pupa evresini tamamlayarak pupadan çıkan ergin kısa süre içerisinde uçabilecek hale gelir. Pupadan çıkan ve belli bir süre geçirdikten sonra uçabilecek hale gelen erginin ilk aktivitesi besin arayışına başlamaktır. Her iki eşeyde çiçek nektarları ile beslenebilir ancak dişi bireyler yumurta bırakabilmek için kan emmek zorundadır. Kan emme ihtiyacı dişi bireylerde yumurta oluşumunda gerekli olan protein ihtiyacını karşılamak içindir (Merdivenci, 1984; Becker vd., 2003).

Erkek sivrineklerin hayatta kalma süreleri dişilere göre daha azdır ve erkek bireyler ortalama 6-7 gün yaşarlar. Fakat laboratuvar koşullarında yüksek nem ve yeterince

karbonhidrat desteği ile erkek sivrisineklerin hayatta kalma süreleri 1 aydan fazla olabilir. Dişi bireyler ise genellikle hibernasyon durumunda ve bol gıda ile 4-5 ay süreyle canlı kalabilirler. Dişi sivrisinekler aktivitelerinin en yüksek olduğu dönemde ise yaklaşık olarak iki hafta yaşarlar. *Culex pipiens* kompleks türlerine ait ergin örneğinin morfolojisi Şekil 7’de verilmiştir (Alten, ve Çağlar, 1998).



Şekil 7. Ergin dişi *Cx. pipiens* kompleks türlerinin morfolojik yapısı (Aldemir, 2002).

1.3. Ülkemizde Sivrisineklerin Dağılımı ve Habitat Seçimleri

Ülkemiz sivrisinek dağılımı anlamında 4 bölgeden oluşur. Bu ayırım Parrish (1959) tarafından yapılan haritaya dayanmaktadır. Bu dört bölge sırasıyla I. Deniz kıyısı bölgelerini, II. İç Anadolu Bölgesini, III. Doğu Anadolu Bölgesini, IV. Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ni kapsar ve belirlenen türlerin dağılım alanları bu harita temel alınarak işlenir. Oluşturulan harita habitat tipleri özelinde iklimsel parametreler temel alınarak

oluşturulmuştur (Parrish, 1959). *Culex* ve *Anopheles* cinsine dâhil olan türlerin çoğu bu dört bölgede dağılım gösterirken, *Anopheles multicolor*, *Anopheles sergenti*, *Culex apicalis*, *Culex laticinctus*, *Culex deserticola* gibi az gözlenen türler sadece tek bir bölgede bilinmektedirler (Parrish, 1959). Bu çalışmada ana hedef türü olan *Culex pipiens* kompleks türleri tüm bölgelerde gözlenen ve her türlü habitata kullanabilme özellikleri nedeniyle hem kirli hem temiz sularda bulunabilen türlerden biridir. Özellikle kentsel sistemlerde ve kırsal alanlarda insanlara ve kan emebilecekleri kuş ve diğer canlılara yakın alanlarda çok yüksek yoğunlukta bulunabilirler. Diğer cinslere dâhil türlerden *Anopheles* türleri daha temiz ve değişik yapıda suları tercih ederlerken yumurta bırakımı su yüzeyinde yüzecek şekilde olur. *Aedes* cinsine dâhil türler ise farklı habitat tiplerini kullanmalarının yanı sıra yumurtalarını direkt suya değil su temasının olabileceği ve nemli özellikteki toprak ya da bitki artıkları üzerine bırakabilirler. Bahar aylarında yağmurun yağışıyla birlikte su içeren bu bölgelerde açılan yumurtalar neticesinde aşırı yoğunluklara ulaşan bir yapı gösterebilirler (Merdivenci, 1984; Alten ve Çağlar, 1998; Akıner, 2009).

1.4. Sivrisineklerle Mücadele Yöntemleri

İnsanlık tarihine paralel olarak var olan ve pek çok hastalığın taşıyıcısı konumundaki sivrisinekler ve bulaştırdıkları hastalıklarla ilgili mücadelenin tarihi oldukça eskilere dayanmaktadır. Pek çok tarihi kayıta sıtma ve bununla ilgili tedavi yöntemleri ve ilaçlardan bahsedilmesine rağmen aktif olarak sivrisinek mücadelesi yapıldığı veya koruma önlemleri alındığıyla ilgili bilgi yoktur. Sivrisinek ve diğer vektörlerle mücadele çalışmalarının tarihi 19. yüzyıl sonu ve 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Bu mücadele yöntemleri ilk olarak korunma ağırlıklı biçimde gelişmiş ve pencerelere sineklik takılması, cibinlik kullanılması, bataklıkların kurutulması veya doldurulması şeklinde gelişmiştir. Ancak belli süre sonralarında ise üreme alanlarına yağ ve paris yeşili uygulaması ile kimyasal mücadeleye doğru adımlar atılmaya başlanmıştır (Rozendaal, 1997).

19. yüzyılın sonunda başlayan ve günümüze kadar gelen süreçte devam edegelen aktif mücadele çalışmaları insanlık tarihi boyunca en yoğun ve en zor süreçlerin başlangıcını oluşturmuştur. Özellikle DDT'nin keşfiyle birlikte kimyasal mücadele boyut

değiştirmiş ve II. Dünya savaşında DDT kullanımı kurtarıcı olarak rol oynayarak sıtma vakalarının sayılarının düşürülmesinde, tifüs salgınlarının önlenmesinde, bit pire gibi türlerle mücadele edilmesinde anahtar rol oynamıştır. DDT ile başlayan kimyasal serüven diğer organoklorluların keşfi ve daha sonrasında geliştirilen organoforsforlu, karbamatlı, piretroit gruplarında eklenmesi ile had safhaya ulaşmıştır (Akıner, 2003). 1980'lerden itibaren geliştirilen biyolojik kökenli insektisitler ile daha da boyut değiştiren mücadele yöntemleri tüm bileşenleri içine alan mekanik, kimyasal, biyolojik, genetik ve en son olarak steril böcek tekniği uygulamaları ile entegre bir hal almıştır. Bu türlerle mücadele ve halk sağlığının korunması tüm Dünyada her kesimi ilgilendiren boyutu ile ister bireysel, ister yerel yönetimler, ister ülkeler bazında olsun ekonominin el verdiği ölçüde ve bazende uluslararası kuruluşlar vasıtası ile sürdürülmektedir (Alten ve Çağlar, 1998).

1.4.1. Mekanik Mücadele

Mekanik mücadele yöntemleri sivrisinek mücadelesinin ilk ve en önemli adımlarından biridir. Bu adımda sanitasyon kuralları çerçevesinde üreme ve yaşam alanlarının azaltılması veya ortadan kaldırılması hedeflenerek popülasyon seviyelerinin düşürülmesi hedeflenir. Bu kapsamda yapay su birikintilerinin ortadan kaldırılması, direnaj alanlarının düzenlenmesi, su birikintisi oluşumunu önlemek amacıyla çalışmalar yapılması gibi pek çok önlem sayılabilir. Bu çalışmalar mücadelenin ilk adımını oluşturması, yumurtlama ve larva gelişim alanlarını azaltması bakımından önemlidir. Ergin evresinde ise özellikle dinlenme alanları olan ahır içleri gibi alanlarda yapılacak temizlik çalışmaları özellikle *Anopheles* cinsine dâhil endofilik davranış benimseyen türler için önemlidir (Özcel ve Daldal, 1997; Polat vd., 2016).

Ayrıca sivrisineklerin üremelerinde ana etken olan kan emmesini engellemekte mücadele de kullanılabilir. Bununla birlikte hem hastalıklardan korunma hemde sivrinekler tarafından ısırılmayı engellemek amacıyla kapı, pencere gibi alanlar telle kapatılabilir. Sivrisinek kovucular kullanılabilir, mümkün olduğunca vücudu örten giysiler giyilebilir, Akşam saatlerinde açıkta oturmama gibi yöntemlerde hem sivrisineğin hem hastalık kontrolünde kullanılabilir (Özcel ve Daldal 1997; Alten ve Çağlar, 1998).

1.4.2. Biyolojik Mücadele

Sivrisineklerle biyolojik kontrol olarak sivrisineklerin pradatörü olan canlılar ürettikleri çeşitli kimyasallarla sivrisineklere öldürücü etkiye neden olan veya izole edildiğinde öldürücü veya kovucu olarak kullanılabilen bileşenlerle mücadele yapılabilir.

Sivrisineklerle yapılacak olan biyolojik mücadelede omurgalı hayvanlar olarak balıklar kurbağalar kuşlar ve memeliler grubundan yarasalar kullanılabilir. Bunun yanında omurgasız hayvanlardan hidra, yassı solucanlar, tatlı su salyangozu, sülükler, örümcekler ve akarlar, kabuklular ve çeşitli böcek grupları kullanılmaktadır. Ayrıca sivrisinek parazitleri olan nematodlar ve sivrisinek patojeni olan bakteri, protozoa, fungi ve virüsler kullanılmaktadır (Becker vd., 2003).

Anavatanı Amerika olan sivrisinek balığı (*Gambusia affinis*) ülkemize sıtma vektörü olan anofel cinsi sivrisineğin larvalarıyla mücadelede kullanılmıştır. Halen ülkemizin dere göl ve bataklıklarında dayanıklılığı ve yüksek üreme yeteneği sayesinde varlıkları devam etmektedir (Aktürk, 2009). Genellikle küçük göllerde, hendeklerde, su birikintilerinde, yavaş akan ve vegetasyonun bol olduğu ılık sularda yaşarlar.

1975 yılında keşfedilen cryotoxinler sayesinde biyolojik mücadele farklı bir mecraya taşınmıştır. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* adlı bakteri tarafından üretilen toksinler mücadelede kullanılmaya başlanmıştır. 1975'ten günümüze gelinen noktada çeşitli *Bacillus* suşları ile çalışmalar yürütülmüş ve hem bu türün hemde *Bacillus sphaericus* tarafından üretilen toksinler ile denemeler yapılarak etkinlikleri test edilmiştir. Bu testler neticesinde günümüzde en yaygın olarak kullanılan sivrisinek mücadele ajanları ticari olarak piyasa sunulmuş ve kullanım hacimleri ve sıklıkları diğer mücadele ajanlarına göre ciddi boyutlara ulaşmıştır (De Barjac vd., 2012). Yine *Saccharopolyspora spinosa* isimli bakteri türünden izole edilen spinosin ve bunun sentetik olarak üretilen türevleri olarak bilinen spinosad sivrisinek mücadelesinde kullanılmaktadır (Romi vd., 2006).

Bu grubun haricinde juvenil hormon analogları olarak bilinen aslında canlı bünyesinde var olup sonradan kimyasal olarak sentezlenip piyasaya sürülen pek çok bileşik bulunmaktadır. Methoprene, pyriproxiphene, cyromazine gibi juvenil hormon analogları

veya böcek gelişim düzenleyicileri de ciddi oranda kullanımları süren pek çok formulasyon kullanılmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998).

Yukarıda sayılan ve biyolojik materyaller veya bakterilerden elde edilen bileşiklerin sentetik üretimlerinin yanında çeşitli bitkilerin insektisidal özellikleri olduğu bilinmektedir. *Azadiracta indica* türünden elde edilen ve nem yağı olarak bilinen ürünlerde mücadelede kullanılmaktadır (Okumuş vd., 2007). Buna benzer pek çok bitkiden elde edilen eterik, uçucu özellikteki yağ mücadele amacıyla denenmiş ve kullanılabilirliği belirtilmesine karşın ticari ürün anlamında yeterli boyutta olmadıkları için sadece deneme aşamasında kalmıştır.

1.4.3. Genetik Mücadele

Genetik kontrol, istediğimiz özellikteki bir sivrisineğin doğaya salınması şeklinde gerçekleşmektedir. Sivrisineklerde kullanılan genetik kontrol yöntemi olan steril sivrisinek tekniği ile laboratuvar şartlarında yetiştirilen erkek sivrisinekler radyasyon veya çeşitli kimyasal yöntemlerle kısırlaştırılıp doğaya salınmasıyla ve kısır sivrisineklerin döllenmiş olduğu dişiler yumurta bırakamamakta ve sivrisinek popülasyonu bu şekilde kontrol altında tutulması hedeflenmektedir (Özcel ve Daldal, 1997; Doğan, 2015).

1960 1970 yılları arasında yapılan steril sivrisinek çalışmalarında yapılan uygulamalarda sivrisineklerle mücadelede etkili olamamış ve kullanım alanı kısıtlı oranda kalmıştır. Bunun ana sebepleri laboratuvar şartlarında yetiştirilen sivrisineklerin doğaya uyum gücünün yeterince olmaması ve yüksek dozda radyasyon kullanılması etkili olmuştur (Özcel ve Daldal, 1997).

Son dönemde tekrardan gündeme gelen bu yöntem yeniden ivme kazanmış ve özellikle 2015 Zika salgını sonrası tekrardan değerlendirilmeye alınmıştır.

Diğer bir genetik mücadele aracı olan değişik *Wolbachia* izolatlarının kullanılması ise hali hazırda denenilen ve başarı şansı olabilecek yöntemlerden biridir. Bu yöntemle normal şartlar altında sivrisinek popülasyonlarında var olan steriliteye neden olan bu tür laboratuvar ortamında bulaşım yapılarak popülasyonların kısırlaştırılması esasına

dayanır. Yine Zika salgını sonrası gündeme gelen yöntemlerden biri olan *Wolbachia* kullanımı uzun yıllardır denenen ve uygulamaya konulabilecek yöntemlerden biridir. Yeni gelişen tekniklerle sterilizasyonun hem *Wolbachia* bakterisi (Werren vd., 2008) hem de radyasyonel sterilizasyon teknikleri uygulanarak steril hale getirilen erkek bireylerin doğaya salınması şeklinde uygulamalar ön plana çıkmıştır. Özellikle Asya ve Brezilya'da hala devam eden denemelerle ilgili sonuçlar ve projeler bu konu üzerinde yoğun bir çalışmanın göstergesidir.

1.4.4. Kimyasal Mücadele

Günümüzde insektisitler böcekler üzerinde hızlı ve etkin mücadele araçları olmaları sebebiyle en fazla kullanılan mücadele yöntemidir. Tarihte eski Yunan'lılar döneminde sülfür, Çin'de arsenik, Romalılar zamanında insan biti ile savaşmak için zehirli bir bitki olan 'Hellebore', gibi kimyasal maddeler zararlılarla mücadelede kullanılmıştır (Kuyucu, 2007; Kılıç 2015). 1900'lu yıllarda kimya endüstrisinin gelişmesiyle birlikte yeni kimyasallar keşfedilmiş, bunun doğal sonucu olarak yeni böcek öldürücüler keşfedilmiştir. 1892 yılında sivrisinek ve diğer önemli Arthropodlarla mücadelede ilk kez sentetik organik insektisit olan dinitro-o-cresol'(DNOC) kullanılmaya başlamıştır. II. Dünya Savaşı'ndan önce inorganik kimyasal maddeler (Arsenik, Karbon disülfid vb.) ve bitkisel orijinli organik kimyasal maddeler (Pyrethrum, Nicotine vb.) kullanılan insektisitlerin çoğunluğunu oluşturmaktadır. 1939 yılında Paul Müller'in DDT'nin böcek öldürücü özelliğini keşfetmesi, sentetik organik insektisit kullanımı için bir başlangıç ve dönüm noktası olmuştur. Fakat daha sonra DDT'nin yüksek direnç ve diğer canlılar üzerinde toksik etkilerin anlaşılmasıyla 1980'lerde dünya genelinde kullanımına son verilmiştir (Kılıç 2015). Ancak DDT günümüzde yasak olmasına rağmen sigara yapımında kullanıldığı gibi, pek çok az gelişmiş ülkede kullanımına devam edilemekte ve en büyük üreticisi olarak Amerika Birleşik Devletleri karşımıza çıkmaktadır (Özcel ve Daldal,1997; Akkuzu vd.,2001; Kılıç, 2015). Sentetik olarak üretilen ve günümüzde yoğun olarak kullanılan insektisitler kontak etkili gruptan oluşmakta olup, özellikle sinir zehirleri olarak işlev görmekte ve aşırı uyarım sonucu tetaniyle birlikte ölüme neden olmaktadır (Bursalı, 2013).

1.4.4.1. İnektisitlerin Sınıflandırılması

İnektisitler farklı tipte sınıflandırma yapılabilen bileşikler olup bu sınıflandırmalar etkileri, kimyasal yapıları, bileşik sınıfları gibi farklı farklı alanlarda olabilir. Etkilerine göre sınıflandırma yapılacak olursa, mide zehirleri, temas zehirleri, fumigantlar şeklinde sınıflandırılabilirler.

Mide zehirleri canlının yemiş olduğu besinler vasıtasıyla vücuduna geçer ve bağırsaklardan emilerek canlının ölümüne yol açar. Bu gruba ait inektisitler geçmişte çokça kullanılmasına rağmen günümüzde sentetik inektisitlerin artmasıyla birlikte kullanımı azalmıştır. Bunun yanında bu gruba ait inektisitler yalnızca uygulandığı alanda aktif olması sebebiyle kullanımı geniş alanlarda başarı şansını düşürmektedir (Akıner 2003).

Temas zehirleri uygulanılmış olduğu bölgelerde canlının temas ettiği yüzeyde canlıya bulaşır. Ancak sivrisineklerin besinleri inektisitle kontamine olmuş ya da inektisitle muamele edilmiş ise besinler vasıtasıyla canlının vücuduna geçer. Bu sebeple inektisitler mide zehirlerini de içermektedirler. Günümüzde ağırlıklı olarak kullanılan inektisitler bu gruba dâhildir (Akıner, 2003).

Fumigant grubu inektisitler ise uçucu yağ yapıda olup böceklerin solunum sistemleri üzerine etki ederler. Toprakla ya da bir madde içerisinde etkili olan bu zehirler, havaların 5 C⁰ olduğu durumlarda gaz haline geçer ve hava yolu ile böceğin solunum boşluğuna dolar, oradan vücut dukularına ulaşır. Bunun yanı sıra inektisitleri elde edilme şekillerine göre doğal ve sentetik olmak üzere de sınıflandırmak mümkündür (Bursalı, 2013).

Doğal inektisitlerin çoğunluğu bitki özütlerinden elde edilen organik bileşiklerdir. Bitki özütlerinden elde edilen inektisitler günümüzde yoğun şekilde kullanılmaktadır. Bitkisel doğal inektisitlerin yanında petrolden üretilen minarel yağlarda inektit olarak kullanılmaktadır. Fakat bu gruba ait inektisitler bitkiler için zararlı olduklarından dolayı az bir kısmı bitki zararlıları için etkin şekilde kullanılabilirler (Akıner, 2003; Bursalı, 2013).

Sentetik insektisitler ise basit bileşiklerin yapısına bazı grupların eklenmesiyle oluşturulmaktadır. Bu tipe ait insektisitlerin elde edilmesi daha kolay olması ve maliyetsiz olmaları nedeniyle günümüzde yaygın bir kullanıma sahiptirler. Sentetik kimyasal yapılarına göre sınıflandırılırlar ve isimlendirilirken yapılarında bulunan aktif içerikleri kullanılır. Böceklerle mücadelede temel olarak Organoklorlu, Organofosforlu, Karbamat ve Piretroid olmak üzere 4 insektisit grubu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak neonicotinoidler, gelişim düzenleyiciler (juvenil hormon analogları) ve biyolojik preparatlar da iki ayrı grup insektisit olarak sınıflandırılmaktadır (Akıner, 2003; Bursalı, 2013).

1.4.4.1.1. Organoklorlu İsektisitler

Bu gruba ait insektisitler sivrisineklerin sinir sistemi üzerine etki etmektedir. Bunun yanında bu gruptaki insektisitler ATP'azları da inhibe ederek böceklerin enerji mekanizmalarını bloke ederler. Bu grup içerisinde bilinen ve en yaygın olarak kullanılan insektisit DDT'dir. Fakat bu insektisin zamanla direnç gelişimine neden olması ve doğada uzun sürece kalması nedeniyle ve canlılarda birikime neden olması suçunda kullanımı yasaklanmıştır. DDT kullanımından sonra dieldrin, aldrin, lindan gibi çok sayıda klorlu insektisit türü geliştirilmiş ve satışa sunulmuştur (Bursalı 2013).

1.4.4.1.2. Organofosforlu İsektisitler

Organofosfatlı insektisitler fosforik asit veya kükürtlü bileşiklerin nötral esterleridir. Sıvı ya da toz halde bulunabilirler (Daş, 2004). Bu gruptaki insektisitler kolinesteraz enzimine yüksek affinite gösterir. Bu sebeple kolinesteraz enziminin doğal substratı konumundaki asetilkolini taklit etmektedirler (Yavuz ve Şanlı, 1999). Bu gruptaki insektisitlerin çoğu canlılar için zehirli etkiye sahip olmalarına rağmen organoklorlulara göre doğada daha az kalmalarından ötürü daha kullanışlıdır (Edwards, 1987). Malathion, parathion, dichlorvos, diazinon organofosforlu insektisitlerden bazılarıdır (Yavuz ve Şanlı, 1999).

1.4.4.1.3. Karbamat Grubu İsektisitler

Bu gruba ait insektisitlerin bu şekilde adlandırılmasının ana nedeni karbonik asitten üretilmeleridir. Karbamatlı bileşikler yapısal olarak tıpkı organofosfatlar gibi asetil koline aşırı miktarda benzerlik göstermektedirler. Bu özelliklerinden ötürü asetilkolin esteraz bağlanır. Böylece enzim aktivitesinde azalma görülür ve insektisit özelliği kazanmış olurlar (Keleş, 1991). Sindirim temas ve solunum yoluyla etkilerini gösterirler (Gökdeniz, 2006).

Doğada kalıcılıkları Organofosfat grubu ile yaklaşık olarak aynıdır. Ama bu grupta yer alan insektisitlerin organofosfatlara göre avantajı organofosfatlara direnç geliştiren türlerde etkin olarak kullanılabilmeleridir (Bursalı, 2013). Bu grup bileşiklere karbaryl, karbofuran, karbosulfan, propoxur örnek verilebilir (Gökdeniz, 2006).

1.4.4.1.4. Piretroid İsektisitler

Bu insektisit grubuna ait insektisitler nörotoksik etkiye sahiptirler ve temas yoluyla etki ederler (Gökdeniz, 2006). Genel olarak hedef dışı organizmaları çok fazla etkilememeleri, az miktarda kullanıldıklarında bile yüksek öldürücü etkiye sahip olmaları, hem kovucu hemde yüksek öldürücü etkilere sahip olmaları nedeniyle aşırı bir kullanıma sahiptirler (Bursalı, 2013). Bu gruba dâhil insektisitler içerisinde en çok bilenenleri deltamethrin, permethrin, cypermethrin, cyfluthrin, alfa cypermethrin ve etofenprox'tur.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışmada Kullanılan Örneklerin Toplandığı Alanlar

Gerçekleştirilen tez çalışması için Artvin’den başlayıp Amasya İli’ne kadar olan bölgede yer alan Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi illerinden belli noktalardan örneklem yapılmıştır. Örneklem noktalarının koordinatları GPS yardımı ile alınmıştır. Noktalarını koordinatları Tablo’1 de verilmiştir.

Tablo 1. Örneklem nokta ve koordinatları.

İL	BÖLGE	KOORDİNAT	
		Kuzey	Doğu
Artvin	Artvin Merkez	41 20 07.6	41 10 30.6
	Borçka	41 22 09.1	41 38 27.1
	Hopa	41 23 15.4	41 29 59.1
	Sarp sınır RTEÜ	41 31 03.9	41 32 52.3
Rize	Kampüs	41 02 13.6	40 29 31.5
	İyidere	40 59 17	40 19 51
	Hamidiye	41 11 08.4	40 57 37.4
Trabzon	KTÜ Kampüs	40 31 29	39 22 31
	Çarşıbaşı	41 04 59.0	39 22 52.7
	Sümela	40 43 50.5	39 38 14.3
Gümüşhane	Gümüşhane	40 25 22.0	39 31 38.8
	Doğa pestil	40 31 29	39 22 31
Bayburt	Bayburt	40 16 08.6	40 11 47.7
Giresun	Gülyalı	40 57 90.8	38 04 24.6
Ordu	Turnasuyu	40 58 54.4	38 00 10.6
	Ünye	41 07 39.2	37 12 11.8
Samsun	Çarşamba	41 10 08.9	36 42 33.1
	Horhor Bafra	41 30 58.0	36 00 55.1
	Ondokuz Mayıs	41.29.50.5	36.04.13.3
Amasya	Saluca	40 48 09.4	35 39 49.5
	Merzifon	40 52 13.7	35 30 16.5

2.2. Örneklerin Toplanması ve Laboratuvara Getirilmesi

Alan özellikleri ve GPS kaydı alınan her *Culex pipiens* kompleks populasyon örneği ayrı kaplara konularak canlı halde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Vektör Ekolojisi ve Kontrol Laboratuvarına getirilmiştir. Larva halinde getirilen örneklerin erginleşmesi sağlandıktan sonra ve ergin örnekler direkt olarak morfolojik tür teşhileri yapıp ayrı ependorf tüpler içerisinde -20 °C muhafaza altına alınmıştır.

2.3. *Culex pipiens* kompleksin Morfolojik Tür Teşhisi

Alandan toplanan örneklerin *Culex pipiens* kompleks tür ayrımı yapılabilmesi amacıyla morfolojik tür tayinleri Schaffner vd., (2001) tarafında hazırlanan interaktif anahtar kullanılarak stereozoom mikroskop yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Komplekse ait türler çalışılmaya alınmıştır.

2.4. DNA İzolasyonu

DNA izalasyonu için Thermo Genejet® genomik DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. İzolasyon için kit içerisindeki standart protokol kullanılmıştır. Sivrisinek örnekleri ependorf tüplere konularak üzerine 180 mikrolitre parçalama solüsyonu eklenmiş ve örnekler porselen uçlarla pellet pestle motor yardımı ile ezilmiştir. Ezme işleminden sonra örneklerin üzerine 20'şer µl proteinaz K eklenmiş alt üst yapıldıktan sonra örnekler 56 °C derecede 3 saat inkübe edilmiştir. 3 saatin sonunda örneklere 10 µl RNAaz eklenerek karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. RNAaz aşamasından sonra ependorflara 200 µl lizis solüsyonu eklenerek her örnek 15 saniye karıştırılmıştır. İşlem bittikten sonra ependorflara 400 µl % 50'lik alkol eklenip karıştırılmıştır. Elde edilen son karışım kolona yüklenmiş ve kolon yeni bir 2000 µl'lik ependorfa aktararak 6000 rpm de 1 dakika santifüj edilmiştir. Daha sonra kolon temiz bir ependorfa alınmış ve ilk ependorf atılmıştır. Kolona 500 µl yıkama solüsyonu 1 eklenerek 6000 rpm de 1 dakika santifüj edilmiştir. Ependorfta toplanan sıvı atılmış ve kolon tekrardan yeni bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Kolona bu aşamada 500 µl yıkama solüsyonu 2 eklenerek 6000 rpm de 3 dakika santifüj edilmiştir. Dipte kalan ve kolondan

süzülen sıvı kısım ependorf tüple birlikte atılmış ve kolon 1500 µl'lik yeni tüpe aktararak kolona 200 µl elusyon solüsyonu eklenmiştir. Bu halde 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen örnekler 6000 rpm de 1 dakika santifüj edilmiştir. Son aşamada kolon atılıp ependorf tüpte toplanan kısım alınmıştır. Elde edilen DNA kalite bakımından elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Bunun için 4 µL 6X yükleme tamponuyla (%50 gliserol, 0,1 M EDTA, % 1 SDS, % 0,1 bromfenol mavisi, ksilen siyanol) % 1'lik agaroz jelde 1X TAE tamponu kullanılarak, elektroforez gerçekleştirilmiştir. Elektroforez sonrası jel görüntüsü, WISEUV® jel görüntüleme cihazı kullanılarak UV ışık altında görüntülenmiş ve DNA çıkmayan örnekler atılmıştır. Elde edilen DNA'lar, ependorf tüplerinin ağzı parafilm ile kapatılarak +4 °C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

2.5. Agaroz Jelin Hazırlanması

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'ları görüntülemek amacı ile 1,5 gram agaroz tartılıp üzerine 1x'lik 100 ml TAE (Tris-acetate-EDTA) tamponu eklenmiştir. Agarozun iyice karışması için erlen çalkalanmıştır ve 350 woltta 5 dakika mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Eriyen agaroz soğuması için 2-5 dakika oda sıcaklığında elle tutulabilecek sıcaklığa gelmesi için bekletilmiştir. Soğuyan agaroz içerisine 5µl etidyum bürümür eklenip çalkalanmıştır ve daha önce hazırlanan jel tankına dökülüp tankın tarakları takılmıştır. Jelin polimerizasyonu için 15-20 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda taraklar çıkartılıp polimerizasyonu gerçekleşen jel, içerisinde 1x TEA tamponu bulunan tanka yerleştirilmiştir.

2.6. *kdr* L1014F Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması

İzole edilen total genomik DNA'lar kullanılarak örneklerde *Vssc* gen bölgesi için *kdr* mutasyon taramasında ilk etapta *kdr* geninin bir kısmı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle çoğaltılmıştır. Bu aşamada daha önce yayınlanmış olan 4 farklı primer tipi kullanılmıştır. Cgd1 (5'GTG GAA CTTAC CGA CTT C3'), Cgd2 (5'GCA AGG CTA AGA AAA GGT TAA G3'), ileri-Cgd3 (5'CCA CCG TAG TGA TAG GAA ATT TA3'), ileri-Cgd4 (5'CCA CCG TAG TGA TAG GAA ATT TT3') primerleri kullanılarak iki paralel reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Martinez-Torres vd., 1999).

Reaksiyon karışımı Tablo 2 ve 3'te verilmiştir. Elde edilen karışım kullanılarak oluşturulan reaksiyon döngüsü 95 °C de 15 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C de 30 sn ve 48°C de 30 sn, 72°C 30 sn olacak şekilde 40 döngü yapılmıştır. Son uzama ise 72°C 10 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon ürünü %1.5'luk agaroz jel elektroforezi sonucunda bant büyüklüklerine göre heterozigot dirençli, homozigot dirençli ya da homozigot duyarlı olarak tanımlanmıştır. İkincil olarak sodyum kanalındaki mutasyonu belirlemek amacıyla örnekler ileri Cgd1 ve geri Cgd2 primerleri kullanılarak sodyum kanalını kodlayan bölgedeki mutasyon noktasındaki farklılık belirlenmeye çalışılmıştır. Bu bölge çoğaltılırken PZR bileşenleri Cgd3 ve Cgd4 primerleri çıkarılmış ve karışım didistile su oranı 1 µl artırılarak oluşturulmuş ve reaksiyon koşulları 94°C 3 dakika, 94°C 45 saniye 52°C 45 saniye, 72°C de 1 dakika 40 döngü halinde gerçekleştirilmiştir. Son uzama olarak 72 °C 7 dakika olarak ayarlanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu döngüleri sonucunda elde edilmiş olan PZR ürünlerinin 4 µL 6X yükleme tamponuyla (%50 gliserol, 0,1 M EDTA, % 1 SDS, % 0,1 bromfenol mavisi, ksilen siyanol) % 1,5'lik agaroz jelde 1X TAE tamponu kullanılarak, 100 bazçiftlik DNA büyüklük belirteci ile birlikte elektroforezi yapılmıştır. Elde edilen ve kontrolü yapılan amplifikasyon ürünleri dizileme yapılana kadar -20°C koşulunda muhafaza edilmiştir.

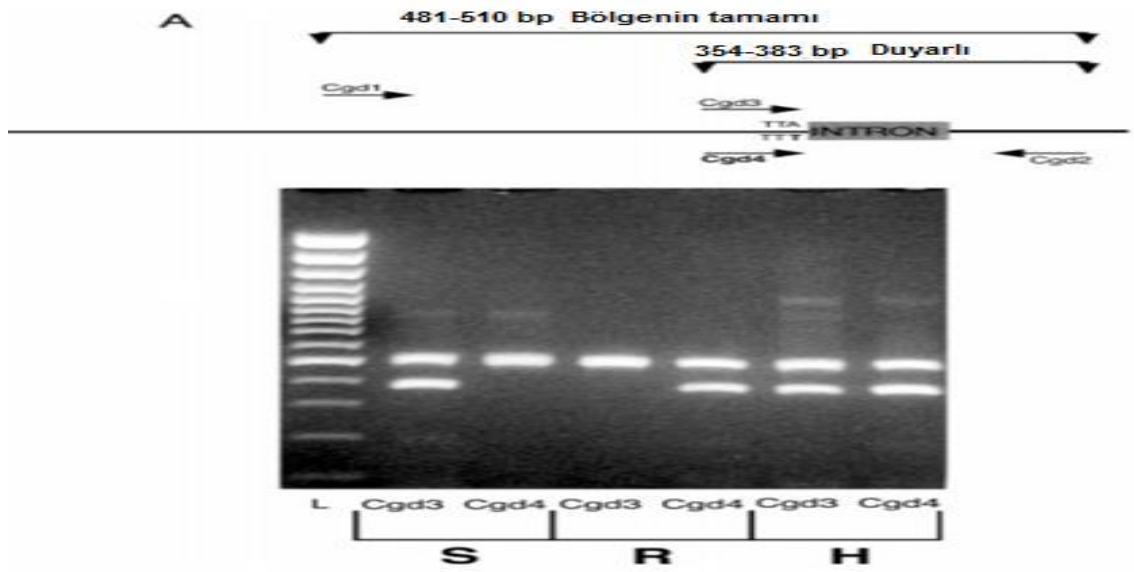
kdr gen bölgesinin yerleşimi ve agaroz jel elektroforezi referans görüntüsü Şekil 7'de verilmiştir. Elde edilen jel görüntüsüne göre kayıt altına alınan ve nonspesifik bağlanma gözlenmeyen örnekler tasnif edilerek dizileme hizmeti için hizmet alımı yapılan firmaya (MacroGen, Güney Kore) gönderilmiştir. Dizi analizi sonucuna göre ise L1014F ya da aynı noktada varlığı saptanmış ve ya saptanmamış mutasyonlar belirlenmiştir. Bu amaçla, elde edilen dizilerin eşleştirilmesi ve karşılaştırılması Mega 7'de gerçekleştirilmiş, diziler arasındaki benzerlikler GenBank'taki mevcut dizilerle FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/fasta33/>) taraması yapılarak değerlendirilmiş ve mutasyon noktasında var olan mutasyon tipleri belirlenmiştir.

Tablo 2. *kdr* taramasında 1. PZR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.

Kullanılan PZR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)
Buffer (10X)	3
MgCl ₂ (25 mM)	3
2.5 mM dNTP Mix	1,5
Primer ileri-Cgd1 (20 µM)	1
Primer geri-Cgd2 (20 µM)	1
Primer ileri-Cgd3 (20 µM)	1
Taq DNA Polimeraz (5 U/ µl)	0,6
Kalıp DNA	5
DdH ₂ O (steril distile su)	8,9

Tablo 3. *kdr* taramasında 2. PZR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.

Kullanılan PZR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)
Buffer (10X)	3
MgCl ₂ (25 mM)	3
2.5 mM dNTP Mix	1,5
Primer ileri-Cgd1 (20 µM)	1
Primer geri-Cgd2 (20 µM)	1
Primer ileri-Cgd4 (20 µM)	1
Taq DNA Polimeraz (5 U/ µl)	0,6
Kalıp DNA	5
DdH ₂ O (steril distile su)	8,9



Şekil 8. *kdr* gen bölgesinin yerleşimi ve agaroz jel elektroforezi görüntüsü (S= duyarlı, R=dirençli, H= heterozigot).

2.7. *ace-1* Gen Bölgesi G119S Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması

ace-1 bölgesindeki G119S mutasyonu için CxEx3dir (5'CGA CTC GGA CCC ACT GGT3') ileri ve CxEx3rev (5'GTT CTG ATC AAA CAG CCC CGC3') geri primerleri kullanılarak PZR gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı Tablo 4'de verilmiştir. Reaksiyon döngüsü 95°C de 15 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C de 30 sn ve 60 °C de 30 sn, 72°C 30 sn olacak şekilde 32 döngü yapılmıştır. Son uzama için 72°C de beş dakika bekletildikten sonra reaksiyon sonlandırılmıştır. Polymeraz zincir reaksiyonu döngüleri sonucunda elde edilmiş olan PZR ürünlerinin 4 µL 6X yükleme tamponuyla (%50 gliserol, 0,1 M EDTA, % 1 SDS, % 0,1 bromfenol mavisi, ksilen siyanol) % 1,5'lik agaroz jelde 1X TAE tamponu kullanılarak, 100 bazçiftlik DNA büyüklük belirteci ile birlikte elektroforezi yapılmıştır. Elde edilen ve kontrolü yapılan amplifikasyon ürünleri dizileme yapılana kadar -20°C koşulunda muhafaza edilmiştir. Elde edilen jel görüntüsüne göre kayıt altına alınan örnekler tasnif ederek dizileme hizmeti için hizmet alımı yapılan firmaya (Macrogen İnç, Güney Kore) gönderilmiştir. Restriksiyon kesimi olarak sanal kesim yapılmıştır. Bu amaçla Cromas pro ver. 2.1.5 programı kullanılmıştır. Sanal kesim sonucunda G119S noktasında mutasyon varlığı veya yokluğu ya da farklı mutasyon tipleri belirlenmiştir.

Tablo 4. *ace-1* taramasında G119S noktasının PCR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.

Kullanılan PZR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)
Buffer (10X)	3
MgCl ₂ (25 mM)	3
2.5 mM dNTP Mix	1,5
Primer ileri CxEx3dir (20 µM)	1
Primer geri CxEx3rev (20 µM)	1
Taq DNA Polimeraz (5 U/ µl)	0,6
Kalıp DNA	5
DdH ₂ O (steril distile su)	9,9

2.8. *ace-1* Gen Bölgesi F290V Mutasyon Bölgesinin Çoğaltılması

ace-1 bölgesi ikinci mutasyonu olan F290V mutasyonunu belirlemek için Valdir (5'ACG CTG GGG ATC TGC GAG G3'), Valrev (5'TCC ACA ACC GGA ACG AAC GGA AA3'), CxEx5dir (5'GTC TGG CCG AGG CCG TCA3'), CxKrev2 (5'TGC TTC TGT GCG TGT ACA GG3') primerleri kullanılarak PZR yapılmıştır. Reaksiyon karışımı Tablo 5'te verilmiştir. Reaksiyon döngüsü 95°C de 15 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C de 30 sn ve 51 °C de 30 sn, 72°C 40 sn olacak şekilde 30 döngü şeklinde gerçekleştirilmiştir. Son uzama için 72°C de beş dakika bekletildikten sonra reaksiyon sonlandırılmıştır. Elde edilen ürün %1.5'luk agaroz jelde yürütüldükten sonra elde edilen bant büyüklüklerine göre homozigot duyarlı homozigot dirençli ve heterozigot dirençli olarak ayrımları yapılmıştır (Weill vd., 2003; Alout vd., 2007). *ace-1* gen bölgesi F290V primer bağlanma bölgeleri ve elde edilecek referans bant büyüklükleri Şekil 8'de verilmiştir.

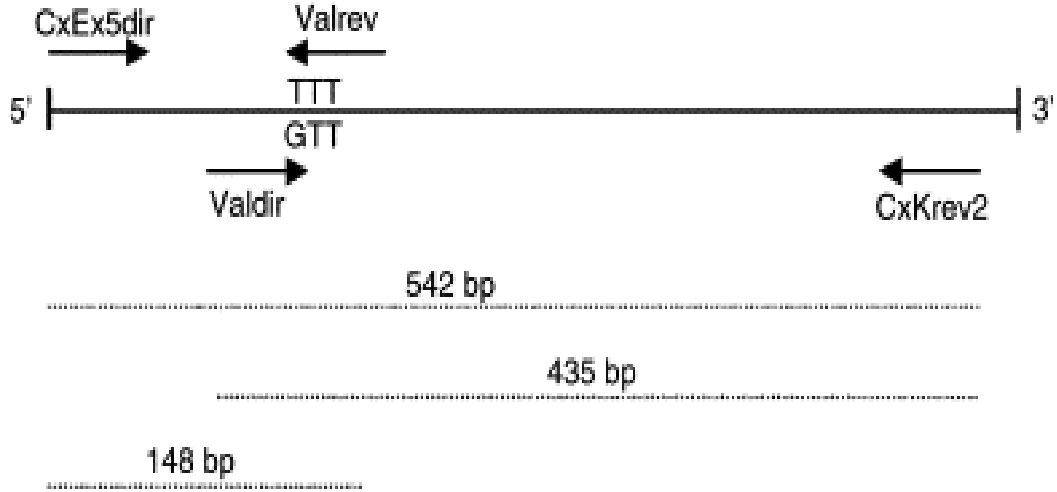
Elde edilen jel görüntülerine göre frekansların belirlenmesi yapıldıktan sonra CxEx5dir ve CxKrev2 primerleri kullanılarak alanın tamamı çoğaltılmıştır. PZR döngüleri sonucunda elde edilmiş olan PZR ürünlerinin 4 µL 6X yükleme tamponuyla (%50 gliserol, 0,1 M EDTA, % 1 SDS, % 0,1 bromfenol mavisi, ksilen siyanol) % 1,5'lik

agaroz jelde 1X TAE tamponu kullanılarak, 100 bazçiftlik DNA büyüklük belirteci ile birlikte elektroforezi yapılmıştır. Elde edilen ve kontrolü yapılan amplifikasyon ürünleri dizileme yapılana kadar -20 °C koşulunda muhafaza edilmiştir.

Elde edilen jel görüntüsüne göre kayıt altına alınan örnekler tasnif ederek dizileme hizmeti için hizmet alımı yapılan firmaya (MacroGen, Güney Kore) gönderilmiştir. Bu amaçla, elde edilen dizilerin eşleştirilmesi ve karşılaştırılması MEGA 7'de gerçekleştirilmiş diziler arasındaki benzerlikler GenBank'taki mevcut dizilerle FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/fasta33/>) taraması yapılarak değerlendirilmiş ve mutasyon noktasında var olan mutasyon tipleri hem G119S hem F290V noktaları için belirlenmiştir.

Tablo 5. *ace-1* taramasında F290V noktasının PCR ile amplifikasyonunda kullanılan bileşenler.

Kullanılan PZR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)
Buffer (10X)	3
MgCl ₂ (25 mM)	3
2.5 mM dNTP Mix	1,5
Primer ileri Valdir (20 µM)	1
Primer geri Valrev (20 µM)	1
Primer ileri CxEx5dir (20 µM)	1
Primer geri CxKrev2 (20 µM)	1
Taq DNA Polimeraz (5 U/ µl)	0,6
Kalıp DNA	5
DdH ₂ O (steril distile su)	7,9



Şekil 8. F290V mutasyon bölgesi primer bağlanma bölgeleri (Alout vd., 2007).

2.9. DNA Dizi Analizi

PCR Soucu elde edilen *ace-1*, *kdr* gen bölgeleri nükleotit dizilerinin belirlenmesi amacı ile örnekler dizilenmeye gönderilmiştir. Gelen nükleotit dizileri Mega7 programı kullanılarak kromotografi pikleri incelenmiş, hatalı okunan bölgeler düzeltilmiştir. Düzenleme işlemi sonunda nükleotit dizileri genbank örnekleri ile karşılaştırılıp bölgelerin doğrulukları kontrol edilmiştir. Düzenlenemeyen kısımlar kırılarak “Add unmasked sequence to alignment Explorer” sekmesi kullanılarak Mega7 programına girilmiş ve girilen nükleotit Clustal W ile hizalanmıştır. Nükleotitlerin mutasyon bölgesini bulmak amacıyla primer bölgesi aranılarak bulunmuş ve mutasyon olup olmadığı incelenmiştir. Sivrisineklerde insektisit direncinde etkili olan *kdr* değişim bölgeleri Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. DNA dizi analizi sonucunda *kdr* gen bölgesi direnç durumu.

Direnç durumu	1. dizi	2. dizi
Homozigot duyarlı	TT <u>A</u>	TT <u>A</u>
Homozigot dirençli	TT <u>T</u>	TT <u>T</u>
Heterozigot	TT <u>A</u> veya TT <u>T</u>	TT <u>T</u> veya TT <u>A</u>

ace-1 gen bölgesinde G119S mutasyonunun belirlenmesi amacıyla elde edilen dizilerin pikleri kontrol edilmiş ve heterozigotluk gözlenen noktalar IUPAC kodları ile

değiştirilmiş ve ClustalX2 programı kullanılarak *Alu-I* restrüksiyon enzimi ile birbirini tamamlayıcı iki zincir için ayrı ayrı sanal kesim yapılmıştır. Yapılan kesim sonucunda 540, 357, 163 bazlık DNA fragmentleri elde edilmiştir. Elde edilen fragmetlere göre gelişen direnç durumları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. G119S mutasyonunun direnç durumunu gösterir tablo.

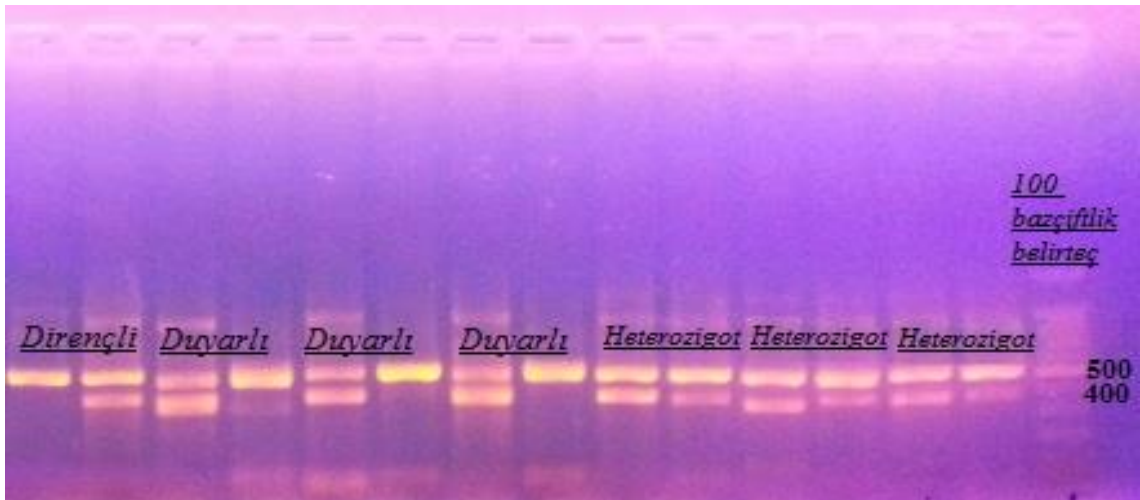
Direnç	1.bant (bç)	2.bant (bç)	3. bant (bç)
Homozigot duyarlı	520		
Homozigot dirençli	357	163	
Heterozigot	520	357	163

ace-I gen bölgesine ait F290V mutasyon noktasının belirlemek amacıyla elde edilen PZR ürünleri dizilenmesi sonucunda elde edilen nükleotit dizileri Mega 7 programına girildikten sonra primer noktalarından hizalanarak mutasyon noktası bulunmuştur. Mutasyon noktasında heterozigotluk, homozigot dirençlilik ya da homozigot duyarlılık durumu belirlenmiştir.

3. BULGULAR

Tür tanımlaması morfolojik olarak yapılan ve ayrılan türlerin DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'lar görüntülenmiş ve elde edilen DNA'lardan PZR gerçekleştirilmiştir. Hedef bölge duyarsızlığını içeren ve iki farklı gen bölgesinde yer alan 3 adet mutasyon bölgesi (*kdr* L1014F, *ace-1* G119S ve *ace-1* F290V) araştırılmıştır.

kdr bölgesi mutasyon taraması sonucunda elde edilen PZR reaksiyonu örnek jel görüntüsü Şekil 9'da verilmiştir. Referans jel görüntüsüne göre yapılan değerlendirme sonucu elde edilen frekans değerleri ise Tablo 8'de verilmiştir. Elde edilen frekans değerlerine göre alanlarda heterozigotluğun daha fazla olduğu ancak bölge bazında homozigot dirençli (RTEÜ kampüs, Gülyalı, Hopa, Saluca, Çarşamba, Bayburt, Horhor Bafra) durumun hâkim olduğu alanların var olduğu gözlenmiştir. Elde edilen PZR ürünlerinden 5'er adet seçilerek yapılan dizileme sonucunda elde edilen dizilerin mutasyon bölgesini içeren noktaları ise Ek 1 de verilmiştir. Homozigot dirençli bireyler kırmızı, homozigot duyarlı bireyler yeşil ve heterozigot olanlar ise sarı renk ile mutasyon noktasında işaretlenmiştir. Heterozigot bireyler IUPAC isimlendirme sistemine göre W ile işaretlenmiştir. Ayrıca örneklerden bir tanesinde (Hopa 2) farklı bir mutasyon olup bu noktada zincirlerden birinde A diğeri ise G bazı bulunmaktadır. TTG kodonunda normal mutasyondaki gibi lösin aminoasiti kodlamaktadır ve heterozigot olarak kabul edilmiş ve lacivert renkle işaretlenmiştir.



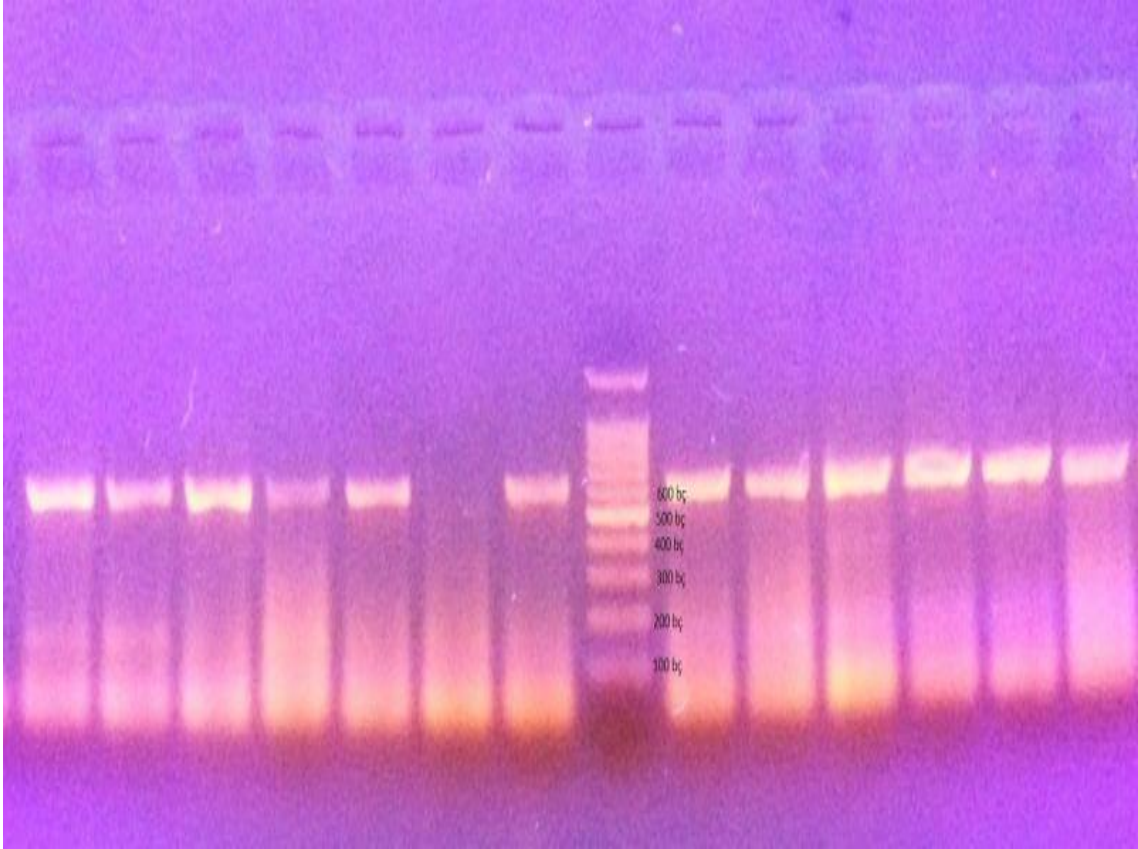
Şekil 9. *kdr* bölgesi PZR reaksiyonu sonucu elde edilen ampliconların örnek agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Tablo 8. *kdr* bölgesinde gözlenen mutasyonun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR sonucunun jel görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları (PZR sonucu jel görüntüsü net çıkan örnekler hesaba alınmıştır).

Bölge	R	S	RS
Artvin	3	7	9
Borçka	0	5	8
Hopa	17	14	22
Sarp sınır	1	9	10
RTEU Kampüs	28	19	22
İyidere	0	2	6
Hamidiye	14	16	18
KTÜ Kampüs	0	4	4
Çarşıbaşı	2	4	3
Sümela	2	2	4
Gümüşhane	3	4	8
Doğa pestil	1	5	2
Bayburt	4	2	2
Gülyalı	18	11	11
Ordu Turnasuyu	11	13	5
Ünye	5	8	13
Çarşamba	7	1	1
Ondokuz mayıs	2	2	3
Horhor Bafra	8	2	0
Merzifon	21	23	12
Saluca	4	3	2

ace-1 geni G119S mutasyonunun belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen PZR işlemi yürütülen PZR ürünleri yaklaşık olarak 500 bç büyüklüğünde olduğu gözlemlenmiştir. PZR işlemi sonucunda elde edilen jel görüntüsü Şekil 10'da verilmiştir. Elde edilen PZR ürünlerinden 5'er adet seçilerek yapılan dizileme sonucunda elde edilen dizilerin mutasyon bölgesini içeren noktaları ise Ek 2'de verilmiştir. Elde edilen dizi verilerine göre yapılan sanal kesim sonucunda elde edilen frekans değerleri ise Tablo 9'de verilmiştir. Sanal kesim Chromas programı yardımı ile yapılmış ve alu 1 (AG'CT) restriksiyon enzimi kesim noktasından kesimler yapılmıştır. Mutasyon noktası dizilerde

355. baz olarak görülmektedir. Restriksiyon enzimi olan ALU1 AGCT yapısı var olduğunda kesim yapabilirken GGCT olduğu durumda kesim yapmamaktadır. Artvin ve Heterozigot bireyler IUPAC isimlendirme sistemine göre R ile işaretlenmiştir (R=GA). Saluca bölgesinden birer örnekte izolosini kodlayan farklı bir mutasyon bulunmuştur. Horhor Bafra örneklerinden bir tanesinde ise ARCT tipinde bir heterozigotluk saptanmış olup zincirlerden biri serini kodlarken diğeri asparajini kodlamaktadır. Homozigot dirençli bireyler kırmızı, homozigot duyarlı bireyler sarı ve heterozigot olanlar ise bordo renk ile kesim noktasında işaretlenmiştir. İki farklı mutasyon tipi ise yeşil (ATCT) ve gri (ARCT) olarak işaretlenmiştir. Bu mutasyon tipinde duyarlı bireylerin frekansı daha yüksek olarak tespit edilmiş, heterozigotluk durumu ve homozigot dirençlilik durumu ise daha az olarak belirlenmiştir.



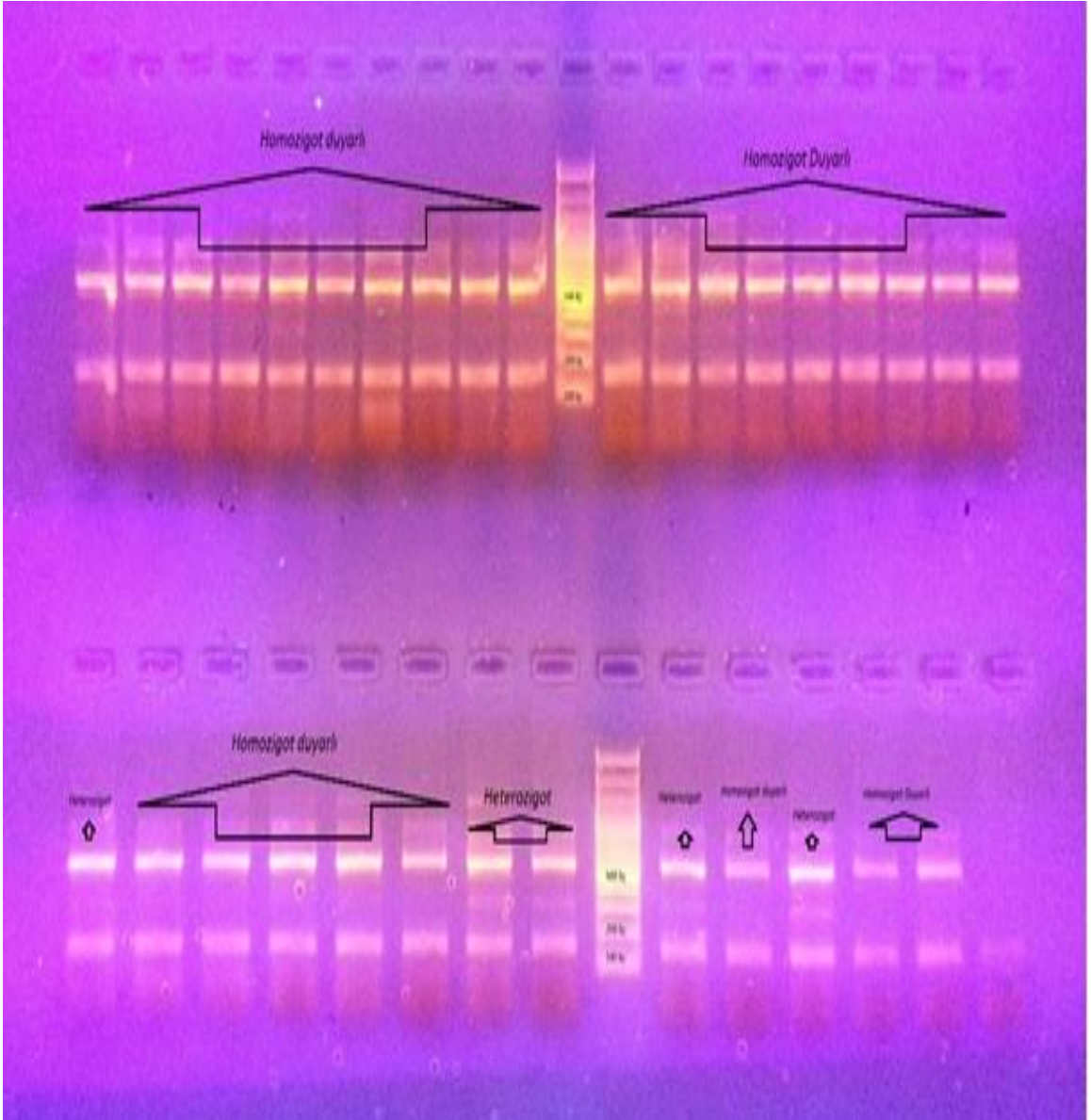
Şekil 10. *ace-1* bölgesi G119S mutasyonu taraması amacıyla yapılmış olan PZR %1,5'lük agaroz jel elektroforezi örnek görüntüsü.

Tablo 9. *ace-1* bölgesinde G119S mutasyonunun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR amplikon dizilerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları (R dirençli, S duyarlı, RS heterozigot).

Bölge adı	R	RS	S
Artvin	0	1	3
Borçka	0	2	3
Hopa	0	2	3
Sarp	0	2	3
Kampüs	0	1	4
İyidere	0	1	4
Hamidiye	1	1	3
KTÜ	1	1	3
Çarşıbaşı	0	1	4
Sümela	1	1	3
Gümüşhane	0	1	4
Doga pestil	0	2	3
Bayburt	0	1	4
Gülyalı	1	1	3
Turnasuyu	1	0	1
Ünye	0	1	4
Çarşamba	1	1	3
Horhor Bafra	1	2	2
Ondokuz Mayıs	0	2	3
Saluca	2	1	1
Merzifon	1	1	3

F290V bölgesi mutasyon taraması sonucunda elde edilen PZR reaksiyonu örnek jel görüntüsü Şekil 11’de verilmiştir. Referans jel görüntüsüne göre yapılan değerlendirme sonucu elde edilen frekans değerleri ise Tablo 10’da verilmiştir. Elde edilen PZR ürünlerinden 5’er adet seçilerek yapılan dizileme sonucunda elde edilen dizilerin mutasyon bölgesini içeren noktaları ise Ek 3’te verilmiştir. Mutasyon noktası dizilerde

433. baz olarak görülmektedir. Elde edilen frekans değerleri bölgede heterozit dirençli ve homozigot duyarlı bireylerin varlığını göstermiş ve homozigot dirençli bireylere rastlanılmamıştır. Ayrıca heterozigot dirençli bireylerin frekansıda çok düşük oranda bulunmuştur. Homozigot duyarlı örnekler sarı, heterozigot dirençli bireyler ise kırmızı ile işaretlenmiştir. Heterozigot bireyler IUPAC isimlendirme sistemine göre K ile işaretlenmiştir (K=GT). Örneklere farklı bir mutasyon tipine de rastlanmamıştır.



Şekil 11. *ace-1* bölgesi F290V mutasyonu taraması amacıyla yapılmış olan PZR %1,5'luk agaroz jel elektroforezi örnek görüntüsü.

Tablo 10. *ace-1* bölgesinde F290V mutasyonunun taraması amacıyla gerçekleştirilen PZR sonucunun jel görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen duyarlı, dirençli ve heterozigot bireylerin frekansları (PZR sonucu jel görüntüsü net çıkan örnekler hesaba

Bölge	R	S	RS
Artvin	0	5	2
Borçka	0	4	2
Hopa	0	12	2
Sarp Sınır	0	6	2
RTEÜ Kampüs	0	12	2
İyidere	0	4	2
Hamidiye	0	14	1
KTÜ Kampüs	0	5	2
Çarşıbaşı	0	4	1
Sümela	0	5	2
G. Hane	0	5	2
Doğa Pestil	0	4	1
Bayburt	0	5	1
Gülyalı	0	13	2
Ordu Turnasuyu	0	6	1
Ünye	0	6	0
Çarşamba	0	4	2
Horhor Bafra	0	4	2
Ondokuz Mayıs	0	7	0
Saluca	0	5	1
Merzifon	0	11	0

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Yapılan bu Yüksek Lisans Tez çalışmasında, ülkemizin Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerinin farklı alanlarından örneklenen *Culex pipiens* kompleksine ait örneklerde, ülkemizde çeşitli nedenlerle halen kullanılan veya geçmiş yıllarda yoğun olarak kullanılmış olan organoklorlu ve piretroid grubu insektisitlere karşı direnç oluşumunu sağlayabilen *kdr* ve *ace-1* mutasyonlarının varlığı moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmeye çalışılmıştır.

kdr ve *ace-1* (G119S, F290V) direnci için 21 bölgeden toplanan örneklerle analizler gerçekleştirilmiştir. Jel görüntülerinden elde edilen sonuçlara göre L1014F mutasyonunun alanda heterozigot ya da homozigot olarak pek çok bölgede olduğunu göstermiştir. Elde edilen bu sonuç dünya üzerinde % 20'lik bir kullanım hacmine sahip olan pretroid grubu için hiç de şaşırtıcı değildir. Özellikle Samsun Bafra Horhor, Samsun Çarşamba, Bayburt gibi tarım alanlarında homozigot dirençli oranının yüksek çıkması bu alanlarda kullanılan tarım ilaçlarına işaret etmektedir. Ayrıca Giresun Gülyalı, Rize RTEÜ kampüs gibi şehir içi alanlarda da homozigot direnç oranının fazla olması insanların yaşam alanlarında sivrisineklerin vermiş oldukları rahatsızlığa bir reflex olarak yapılan aşırı ilaçlamalardan kaynaklandığı düşünülebilir (Tablo 11). Ayrıca alanda heterozigotluk oranın fark edilebilir derecede fazla olduğu görülmektedir. Bu durum *kdr* direncine sebep olan DDT'nin yasaklanmasıyla birlikte alanda seçim baskısı azalmış bunun ve populasyonlar kendini dengeye getirme yönünde bir eğilim sergiliyor olabilir (URL-4). Bu durumun ikinci bir sebebi olarak alanda pretroit grubu insektisitlerin kullanımının kısıtlı alanlarda kalması ve göç yoluyla alana gelen duyarlı bireylerin alanda direnç kazanmış bireylerle çiftleşmesi olabilir (Bursalı, 2013). Bunun yanında alanda heterozigot frekansının yüksek olması alanda duyarlılık genlerinin alanda hala saklanmasına ve dolayısıyla günümüzde direnç sebebiyle kullanılamayan insektisitlerin yıllar sonra tekrar kullanılabilmesi manasına gelmektedir. Elde edilen *kdr* gen bölgesi DNA dizilerinden nokta mutasyonu sonucu oluşan bu değişim içerisinde sessiz mutasyonların varlığı da heterozigot olarak belirlenmiştir. Alanda elde ettiğimiz sonuçlar Lösün Fenilalanin değişimine neden olan ve ve sessiz mutasyon şeklinde iki farklı mutasyon tipinin varlığını belirlenmiştir. Bulunan bu sessiz mutasyon çeşidinin sessiz mutasyon olması açısından her ne kadar günümüz için sevindirici olsa da, bu bölgede

gelişecek olan başka bir mutasyonla üst üste gelmesiyle çok daha farklı bir aminoasit olurturacak ve ilerde kullanacağımız insektisitlere yeni drençlerin gelişmesine neden olabilmesi açısından önemli olabilir.

Tablo 11. Bölgelere göre *kdr* direnç frekansları.

Populasyon Adı	Birey Sayısı (N)	Dirençli (RR)	Genotip frekansı (%)	
			Duyarlı (SS)	Heterozigot(RS)
Artvin	19	15,78	36,84	47,36
Borçka	13	0	38,46	61,53
Hopa	53	32,07	26,41	41,50
Sarp sınır	20	5	45	50
RTEU Kampüs	69	40,57	27,53	31,88
İyidere	8	0	25	75
Hamidiye	48	29,16	33,33	37,5
KTÜ Kampüs	8	0	50	50
Çarşıbaşı	9	22,22	44,44	33,33
Sümela	8	25	25	50
Gümüşhane	15	20	26,66	53,33
Doğa pestil	8	12,5	62,5	25
Bayburt	8	50	25	25
Gülyalı	40	45	27,5	27,5
Turnasuyu	29	37,93	44,82	17,24
Ünye	26	19,23	30,76	50
Çarşamba	9	77,77	11,11	11,11
Ondokuz mayıs	7	28,57	28,57	42,85
Horhor Bafra	10	80	20	0
Merzifon	56	37,5	41,07	21,42
Saluca	9	44,44	33,33	22,22

ace hedef bölge duyarsızlığını içine alan G119S noktasındaki mutasyonun frekansı ise düşük bulunmasına rağmen diğer mutasyon tipinden (F290V) daha fazla oranda gözlenmiş ve homozigot dirençli birey frekansı *kdr* tipe göre çok düşük bulunmuştur. Alanda heterozigotların oranı yüksek olmasına karşın homozigot dirençlilik durumu daha fazla oranda alanın geneline hâkim gözlenmiştir (Tablo 12, Tablo 13). *kdr* tip dirençte olduğu gibi homozigot dirençli bireyler ağırlıklı olarak tarım alanlarda daha fazla gözlenmiştir.

Tablo 12. Bölgelere göre F290V direnç frekansları.

Populasyon Adı	Birey Sayısı (N)	Dirençli (RR)	Genotip frekansı	
			Duyarlı (SS)	Heterozigot (RS)
Artvin	7	0	71,42	28,57
Borçka	6	0	66,66	33,33
Hopa	14	0	85,71	14,28
Sarp sınır	8	0	75	25
RTEU Kampüs	14	0	85,71	14,28
İyidere	6	0	66,66	33,33
Hamidiye	15	0	93,33	6,66
KTÜ Kampüs	7	0	71,42	28,57
Çarşıbaşı	5	0	80	20
Sümela	7	0	71,42	28,57
Gümüşhane	7	0	71,42	28,57
Doğa pestil	5	0	80	20
Bayburt	6	0	83,33	16,66
Gülyalı	15	0	86,66	13,33
Turnasuyu	7	0	85,71	14,28
Ünye	6	0	100	0
Çarşamba	6	0	66,66	33,33
Ondokuz mayıs	6	0	66,66	33,33
Horhor Bafra	7	0	100	0
Merzifon	6	0	83,33	16,66
Saluca	11	0	100	0

Diğer bir mutasyon tipi olan F290V mutasyonu ise populasyonlarda çok düşük düzeyde ve heterozigot olarak belirlenmiştir. Homozigot dirençli örnekler rastlanmamıştır. Bu iki tipteki mutasyon organikfosforlu, karbamatlı grupların hedef bölge duyarsızlığını içeren yapıdır. Elde edilen bu sonuç bizi genel olarak alanda organikfosforlu, karbamatlı gruba ait insktisitlerin daha az kullanıldığını göstermektedir. DNA dizilerinden elde edilen sonuçlarda mutasyon bölgesinde duyarlılığa sebep olan GGC (Glisin) kodonu ATC (İzolosin) amino asidine dönüşerek yeni bir kodon oluşturduğu gözlemlenmiştir. Homozigot olan bu yeni kodonun kodladığı amino asidin (İzolosin) canlı üzerinde nasıl bir etki yaptığı bilinmemekle birlikte, bu yeni amino asidin oluşma sürecinde GGC duyarlı olan canlının mutasyon sonucunda AGC (Serin) dirençli birey şekline dönüştüğü sonrasında bu dirençli bireyin ATC (İzolosin) ye dönüşmesi şeklinde gerçekleştiği yüksek bir olasılıktır. Ayrıca yine mutasyon bölgesinde

heterozigot olarak GGC (Glisin) nin AAC (Asparajin) ye dönüştüğü görülmüştür. Gözlemlenen bu mutasyon tipinde diğer muhtemel gelişme şekli öteki mutasyon şekli ile aynı olmakla birlikte bu mutasyonun da canlı üzerine etkisi muallaktır.

Tablo 13. Bölgelere göre G119S direnç frekansları.

Populasyon Adı	Birey Sayısı (N)	Genotip frekansı (%)		
		Dirençli (RR)	Duyarlı (SS)	Heterozigot (RS)
Artvin	4	0	75	25
Borçka	5	0	60	40
Hopa	5	0	60	40
Sarp sınır	5	0	60	40
RTEU Kampüs	5	0	80	20
İyidere	5	0	80	20
Hamidiye	5	20	60	20
KTÜ Kampüs	5	20	60	20
Çarşıbaşı	5	0	80	20
Sümela	5	20	60	20
Gümüşhane	5	0	80	20
Doğa pestil	5	0	60	40
Bayburt	5	0	80	20
Gülyalı	5	20	60	20
Turnasuyu	2	50	50	0
Ünye	5	0	80	20
Çarşamba	5	20	60	20
Ondokuz mayıs	5	20	40	40
Horhor Bafra	5	0	60	40
Merzifon	4	50	25	25
Saluca	5	20	60	20

Sonuç olarak alanımız örneklerinde bu tip (L1014F, F290V, G119S) mutasyon daha çok heterozigot olarak bulunmuş ve homozigot tipin frekansı daha düşük bulunmuştur. Alan örneklerimizden elde ettiğimiz sonuçlar hem Akdeniz Bölgesi sonuçları hemde ülkemizden yapılan çalışmaların sonuçları ile tutarlılık arz etmektedir (Gökberk, 1959; Kasap vd., 2000; Lüleyap vd.,2002; Alout vd., 2007; Akıner vd., 2009; Taşkın vd 2016). Alanlarda insektisit kullanım profiline ve alanın tarım bölgesi olması durumuna göre direnç tipi ve gözlenen mutasyon frekansları değişiklik göstermektedir.

Ülkemizdeki insektisit direnç çalışmaları ve bunlarla ilgili sonuçlar 1950 yıllardan beri bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalar *Anopheles sacharovi* ağırlıklı olup genellikle klasik direnç testleri ve sonuçları şeklindedir. Zulueta (1959) DDT direncini ilk rapor eden ve o dönemde başka insektisit kullanımı olmadığı için dönemin en önemli çalışması olarak karşımıza çıkmaktadır. DDT 1980'li yıllardan itibaren yasaklanmasına rağmen aşırı kullanılmış olması ve yüksek kalıcılık oranı nedeniyle DDT direnci tüm bölgelerde tüm gruplarda gözlenmeye devam etmektedir (Kasap vd., 2000, Akıner vd., 2013, Akıner ve Ekşi, 2015). Daha sonraki dönemlerde kullanılan insektisit profili değişmiş ve buna paralel olarak direnç gelişimi rapor edilen insektisit sınıfları artmaya başlamıştır (Ramsdale, 1975, WHO, 1986; WHO, 1992). Bu gruplar içerisinde malathion, chlorpyrifos, fenitrothion, fenthion, propoxur ön sıraları almıştır. 2000'li yıllara gelindiğinde ise tüm insektisit sınıflarına direnç geliştiği rapor edilmiş ve ülkemizde hali hazırda kullanılan insektisitlerinde içinde yer aldığı pek çok sınıfa karşı direnç teyit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar hedef bölge duyarsızlığında *kdr* tip dirençte L1014F mutasyonunun alanda heterozigot ya da homozigot olarak pek çok bölgede olduğunu göstermiştir. Nokta mutasyonu sonucu oluşan bu değişim içerisinde sessiz mutasyonların varlığı da belirlenmiştir. *Kdr* tip dirence neden olan mutasyonun farklı şekilleri (L1014F, L1014H/C/S/W) pek çok türde tespit edilmiş olup (Rinkevich vd., 2013) değişim sonucunda direncin geliştiği ve dirençle bağlantıları kesin olarak bilinmektedir. Alanda elde ettiğimiz sonuçlar Lösin Fenilalanin değişimine neden olan iki farklı mutasyon tipinin varlığını göstermiş ancak diğer mutasyon tipleri bulunamamıştır. Bölgemizde bu durum gözlenirken Taşkın vd., (2016) Ege bölgesi *Cx. pipiens* soylarında L1014F klasik tipinin haricinde L1014C mutasyonunda tespit etmişlerdir. Lösin Sistein değişimini ifade eden bu değişimin oranı klasik tipten daha düşük olarak rapor edilmiştir. Ülkemizde yapılan bu konudaki diğer bir çalışmada ise *An. sacharovi* Adana popülasyonunda 12 örneğin 4 tanesinde *kdr* mutasyonuna rastlandığı rapor edilmiştir (Lüleyap vd., 2002). Bu çalışma ülkemizde yapılan ve *Cx. pipiens* kompleks türlerinde yapılan 2. çalışma olup daha önceki çalışmanın sonuçlarıyla tutarlılık arz etmektedir. Alanın genelinde *Kdr* direncinin heterozigot olarak yer aldığı ve homozigot dirençlilik durumunun düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. *ace* hedef bölge duyarsızlığını içine alan F290V mutasyonu ise popülasyonlarda çok düşük düzeyde ve heterozigot olarak belirlenmiştir.

Homozigot dirençli örneklere rastlanmamıştır. Diğer mutasyon tipi olan ve G119S noktasındaki mutasyonun frekansı ise yine düşük bulunmasına rağmen diğer mutasyon tipinden daha fazla oranda gözlenmiştir. Bu iki tipteki mutasyon organikfosforlu, karbamatlı grupların hedef bölge duyarsızlığını içeren mutasyonlar olup alanda gözlenen dirençle birebir olmasa da uyum göstermektedir. Akdeniz havzasında yapılan çalışmalarda ve dünya genelinde G119S mutasyonunun yaygın olduğu buna karşılık F290V mutasyonunun düzeyinin düşük olduğu belirtilmiştir (Alout vd., 2007). Tantley vd., (2010) La Reunion adası *Cx. pipiens quinquefasciatus* ve *Aedes albopictus*'ta organofosfat direncine neden mutasyonlardan sadece G119S'nin varlığını göstermiştir. Ülkemizde Taşkın vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise G119S frekansı F290V frekansından daha yüksek bulunmuş ve Ege bölgesi populasyonlarında dirence neden olan yapıların arasında bu mutasyon tiplerinin olduğunu göstermişlerdir. Alout vd., (2016) yaptıkları çalışmada yüksek oranda chlorpyrifos direncinin İsrail, Tunus ve Hint adalarındaki populasyonlarda G119S mutasyonu sonucu var olduğunu ve homozigot mutasyonun tüm populasyonlarda yaygın olduğunu rapor etmişlerdir.

Farklı coğrafyalardan pek çok sivrisinek türü ile yapılan çalışmalar pek çok insektisite karşı ciddi oranlarda direncin varlığını ve direncin multifaktöriyel olarak ortaya çıktığını göstermektedir. Direncin temelinde yatan metabolik direnç ve hedef bölge duyarsızlıkları sonucunda gelişen ve sahip olunan genetik varyasyonun seçim baskısı sonucunda frekansının artmasına neden olan direnç gelişim tipleri, üzerinde çok çalışılan ve çalışılmaya devam edilecek konuların başında gelmektedir. Özellikle son dönemde artan oranda gözlenen ve sivrisineklerin taşıyıcılığıyla bulaşan hastalıkların önlenmesi ve toplum sağlığının korunmasının gerekliliği olarak sivrisinekle mücadele önemlidir. Geliştirilen/geliştirilecek olan insektisit sınıfları ve bu insektisit sınıflarına karşı olası direnç tipleri, mücadeleyi ve hastalıkları önlemede ortaya konacak olan performansı düşürücü niteliktedir. Araştırmalarımız sonucunda da çalışılan bölgedeki farklı populasyonlarda hedef bölge duyarsızlığına neden olan mutasyonların dirence katkı sağladığı ve her direnç tipinin alandaki mücadeleyi olumsuz etkileyeceğini göstermiştir.

5. ÖNERİLER

Doğu ve Orta Karadeniz Bölgesi'nde yayılım gösteren *Cx. pipiens* türünün kullanılan insektisitler sonucunda moleküler anlamda direnç geliştirdiği yapmış olduğumuz çalışma sonucunda belirlenmiştir. Doğal seçim sonucunda geliştirilen bu direnç önemli bir vektör olan sivrisineklerle mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bu sebeple bu vektörle daha etkin mücadele edebilmek için sivrisineklerin direnç durumlarının belirlenmesi ve mücadelenin buna göre kurgulanması gerekmektedir.

Özellikle alanımıza yeni giren istilacı ve Zika, chikungunya ve dengue gibi hastalıkları bulaştıran *Aedes albopictus* ve *Aedes aegypti* ile, doğal olarak alanda bulunan sıtma vektörü *Anopheles maculipennis* kompleks türleri ile mücadele çalışmalarında kurgulanacak planların bu temel üzerine oturtulması gerekir (Akıner vd., 2016). Bu nedenle tüm mücadele biçimlerini içine alan, hem alanda yapay seçilimi indüklemeyecek bir frekans hem de seçim baskısı oluşturmayacak düzeyde şekilde rotasyonlu bir insektisit kullanımını içeren planlar oluşturmak gelecekte ortaya çıkabilecek sorunların önceden önlenmesi ve olası epidemilerin önüne geçilmesi anlamında önemlidir.

KAYNAKLAR

- Akner, M.M., 2009.** Sivrisineklerde Direnç Tespiti ve Direnç Gelişimini Sağlayan Enzimatik Mekanizmaların Araştırılması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 109 s.
- Akner, M.M., Şimşek, F.M. and Çağlar, S.S., 2009.** Insecticide resistance of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Turkey, Journal Pesticide Science, 34 (4): 259-264.
- Akner, M.M., Çağlar, S.S. and Şimşek, F.M., 2013.** Yearly changes of insecticide susceptibility and possible insecticide resistance mechanisms of *Anopheles maculipennis* Meigen (Diptera: Culicidae) in Turkey. Acta tropica, 126 (3), 280-285.
- Akner, M. M. and Ekşi, E., 2015.** Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanisms of *Culex pipiens* L. in four localities of east and middle mediterranean basin in Turkey. International Journal of Mosquito Research, 2 (3), 39-44.
- Akkuzu, E., Ayberk, H. ve Mol, T., 2001.** Pestisit Kullanımı ve Faydalı Arthropodlar Üzerindeki etkileri, İ.T.Ü. Orman Fakültesi, Orman Eruornolojisi ve Koruma Anabilim Dalı, İstanbul, Yayın Komisyonuna Sunulduğu Tarih: 04.02.2002.
- Aktürk, M,N., 2009.** GAP Bölgesinin Sucul Ortamlarında Yaşayan *Gambusia affinis* (Sivrisinek Balığı)'teki Ağır Metal Birikiminin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır 95 s., 2-5.
- Aldemir, A., Boşgelmez, A. ve Çıngı, H. 2002.** Gölbaşı sivrisinekleri, Bizim Büro Basımevi, Ankara, ISBN:975-96377-3-1, 256 s., 51-80.
- Alout, H., Berthomieu, A., Hadjivassilis, A. and Weill, M., 2007.** A new amino-acid substitution in *acetylcholinesterase 1* confers insecticide resistance to *Culex pipiens* mosquitoes from Cyprus. Insect biochemistry and molecular biology, 37(1), 41-47.
- Alout, H., Labbe, P., Berthomieu, A., Pasteur, N. and Weill, M., 2009.** Multiple duplications of the rare *ace-1* mutation F290V in *Culex pipiens* natural populations Insect Biochem Molecular Biology 39 (12): 884-91.
- Alout, H., Labbé, P., Berthomieu, A., Makoundou, P., Fort, P., Pasteur, N. and Weill, M., 2016.** High chlorpyrifos resistance in *Culex pipiens* mosquitoes: strong synergy between resistance genes. Heredity, 116(2), 224-231.
- Alten, B., ve Çağlar, S.S., 1998.** Vektör Ekolojisi ve Kontrolü. I. Sıtma Vektörünün Biyoekolojisi, Mücadele Organizasyonu ve Yöntemleri, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Yayınları, Bizim Büro Basımevi, 240 s., 3-47.

- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Madon, M. and Kaiser, A., 2010.** Mosquitoes and Their Control, 2nd Edition. Springer Heidelberg Dordrecht London New York, ISBN: 0-306-47360-7, 498 s., 345-411.
- Brooke, B.D., 2008.** *kdr*: can a single mutation produce an entire insecticide resistance phenotype? Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 102(6), 524-525.
- Bursalı, F., 2013.** Akdeniz ve Ege Bölgelerinde *Anopheles maculipennis* Kompleksinde *kdr* Mutasyonuna Dayalı İnektisit Direncinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın Türkiye 89 s., 20-24, 57-64.
- Campbell, Neil, A. and Reece Jane, B., 2006.** Biyoloji. Yayın no:381, 6. Baskı, ISBN: 975-8982-85-0 (E. Gündüz, A. Demirsoy, İ. Türkan, Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık, 1209 s., 428-461.
- Corbel, V., N'guessan, R., Brengues, C., Chandre, F., Djogbenou, L., Martin, T. and Rowland, M., 2007.** Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. Acta tropica, 101(3), 207-216.
- Daş, Y.K., 2004.** Türkiyede Üretilen Ballarda Bazı Organik Fosforlu ve Sentetik Piretroid İnektisit Kalıntılarının İncelenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 60 s., 7-10.
- De Barjac, H. and Sutherland, D.J., 2012.** Bacterial Control of Mosquitoes and Black Flies: Biochemistry, Genetics and Applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus*. Springer Science and Business Media.
- Demirpolat, G., 2016.** Kayseri Yöresinde *Culex pipiens* Biyotipleri ve *Culex torrentium*'un Real Time PCR ile Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye, 72 s., 3-20.
- Doğan, M., 2015.** Vektör Sivrisinek Türü *Aedes albopictus*'un Yaşam Öyküsü Karakteri Üzerine Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 64 s., 10-11.
- Edwards, C.A., 1987.** The environmental impact of pesticides. In: Integrated Pest Management, Protection Integree Quo Vadis, An International Perspective. Parasitis, 86: 309-329.
- Eroğlu, M., 2016.** Biyolojik Mücadele. Yaban Hayatı Ekolojisi Bölümü, Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Bölümü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Ders Notu, Trabzon, Türkiye, 100 s., 39-45.

- Gökberk, C., 1959.** Increase in incidence of malaria cases in Adana region Turkey on the resistance of vector *An. sacharovi*, *Rivista Malariologia*, 38:197-211.
- Gökdeniz, Ö., 2006.** Bazı Organik Fosforlu İnektisitlerin *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) larvaları üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, 45 s., 3-10.
- Hall, T.A., 2013.** About Bioedit version 7.2.5, Ibis Biosciences, Carlsbad.
- Horsfall, W.E., 1955.** Mosquitoes. Their Bionomics and Relation to Disease. Mosquitoes. Their Bionomics and Relation to Disease. The Eonald Press Co., 15 East 26th Street, New York 10, USA, 723pp.
- Kasap, H., Kasap, M., Alptekin, D., Lüleyap, Ü. and Herath, P.R.J., 2000.** Insecticide resistance in *Anopheles sacharovi* Favre in Southern Turkey, *Bulletin of World Health Organization*, 78 (5):687-692.
- Keleş, O., 1991.** Kanatlılarda Karbamat Grubu İnektisitlerin Kolin Esteraz Aktivitesi Üzerine Etkisi ve Deneysel Zehirlenme Olaylarında Oksimlerin Sagaltım Değerleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Toksikoloji ve Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye, 112 s., 4-11.
- Kılıç, S., 2015.** Ege Bölgesi'nden Örneklenen *Culex pipiens* kompleksi Sivrisinek Populasyonlarında ace-1 Genindeki *gly119ser* ve *phe290val* Mutasyonlarının Saptanması ve Bu Populasyonların rapd Belirteçleriyle Karakterizasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye. 88 s., 1-21.
- Kırımlı, R., 2007.** Bazı Fungusit ve İnektisitlerin *Vicia faba* l. ve *Capsicum annuum* l. Türlerinin Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Çanakkale, Türkiye 65 s., 2-18.
- Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Skavdis, G. and Vontas, J., 2014.** Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. *Pest management science*, 70(4), 623-627.
- Lüleyap, Ü., Alptekin, D., Kasap, H. and Kasap, M., 2000.** Determination of organophosphate resistance-dependent over-produce esterase allele type with electrophoresis in the malaria vector species *Anopheles sacharovi* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Turkish Journal of Biology*, 24(Ek), 33-40.
- Lüleyap, Ü., Alptekin, D., Kasap, H. and 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 (6). 870-874.

- Martinez-Torres, D., Chevillon, C., Brun-Barale, A., Bergé, J.B., Pasteur, N. and Pauron, D., 1999.** Voltage-dependent Na⁺ channels in pyrethroid-resistant *Culex pipiens* L mosquitoes. *Pest Management Science*, 55(10), 1012-1020.
- Merdivenci, A., 1984.,** “Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda Varlığı Bilinen Sivrisineklerin Biyo-Morfolojisi, Biyo-Ekolojisi, Yayılışı ve Sağlık Önemleri), İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Yayın No: 3215-3136, İstanbul, Türkiye, 356 s., 6-253.
- Müller, P., 1955.** DDT. The Insecticide Dichlorodiphenyltrichloroethane and its Significance. Vol. I. DDT.
- Okumuş, F.O., Knols, B.G. and Fillinger, U., 2007.** Larvicidal effects of a neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Malaria journal*, 6(1), 63.
- Özcel, M., ve Daldal, N., 1997.** Parazitolojide Artropod hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no:13. ISBN 975-483-376-1, İzmir, Türkiye, 526 s., 1-46.
- Parrish, D.W., 1959.** The mosquitoes of Turkey, *Mosquito News*, 19, 264–266.
- Polat, E., Altinkum, S.M., Yılmaz, F., Uzuntaş, S.T. and Bağdatlı, Y., 2016.** The mosquito fauna of Istanbul and susceptibility of *Culex pipiens* larvae to *Bacillus spp.* bacteria. *Türk Hijyen Derneği Biyoloji Dergisi*. 2016; 73(2):149-156.
- Ramsdale, C.D., 1975.** Insecticide resistance in *Anopheles* of Turkey. *Transaction of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene*, 69, 226.
- Rinkevich, F.D., Du, Y. and Dong, K., 2013.** Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids, *Pesticide Biochemistry Physiology*. 106 (2013) 93–100.
- Romi, R., Proietti, S., Di Luca, M. and Cristofaro, M., 2006.** Laboratory evaluation of the bioinsecticide spinosad for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(1), 93-96.
- Rozendaal, J.A., 1997.** Vector Control Methods For Use By Individuals And Communities. İngiltere. World Health Organisation.
- Sarkar, M., Baruah, I., Srivastava, R.B., Borkotoki, A. and Bhattacharyya, I.K., 2011.** High-throughput approach to detection of knockdown resistance (*kdr*) mutation in mosquitoes, *Culex quinquefasciatus*, based on real-time PCR using single-labelled hybridisation probe/melting curve analysis. *Pest management science*, 67(2), 156-161.
- Sarkar, M., Borkotoki, A., Baruah, I., Bhattacharyya, I.K. and Srivastava, R.B., 2009.** Molecular analysis of knock down resistance (*kdr*) mutation and distribution

of *kdr* genotypes in a wild population of *Culex quinquefasciatus* from India. *Tropical Medicine and International Health*, 14(9), 1097-1104.

Schaffner, F., Guy, A., Bernard, G., Jean-Paul, H., Rhaïem, A. and Brunhes, J., 2001. Les moustiques d'Europe : Logiciel d'identification et d'enseignement = The Mosquitoes of Europe : an Identification and Training Programme. Paris (FRA) ; Montpellier : IRD ; EID, 1 CD ROM (Didactiques). ISBN 2-7099-1485-9.

Scott, J.G., Yoshimizu, M.H. and Kasai, S., 2015. Pyrethroid Resistance in *Culex pipiens* Mosquitoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 120, 68-76.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S., 1993-2016 MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. 7.0.14 version.

Tantely, M.L., Tortosa, P., Alout, H., Berticat, C., Berthomieu, A., Rutee, A. and Weill, M., 2010. Insecticide Resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* Mosquitoes From La Reunion Island. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(4), 317-324.

Taşkın, B.G., Doğaroğlu, T., Kiliç, S., Doğaç, E. and Taşkın, V., 2016. Seasonal dynamics of insecticide resistance, multiple resistance, and morphometric variation in field populations of *Culex pipiens*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 129, 14-27.

URL-1. <http://www.turkiyesel.com/uvkb.org/sivrisinek-forumu/119-sivrisinekler-diptera-culicidae.html> (25 Temmuz 2017).

URL-2. medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/mosquitphotos_culex.htm (01.Ağustos 2017).

URL-3. <http://www.tekcozumilaclama.com/sivrisinek.html> (01.Haziran.2017).

URL-4. http://uhrakahraman.blogspot.com.tr/2010/11/populasyon-genetigi_06.html. (01 Temmuz 2017).

Werren, J.H., Baldo, L. and Clark, M.E., 2008. Wolbachia: Master Manipulators of Invertebrate Biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 741-751.

WHO., 1986. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides, Tenth report World Health Organisation expert committee on Vector biology and control, WHO-TRS-737.

WHO., 1992. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control, In WHO Technical report series no: 818: 1–55.

Xu, Q., Tian, L., Zhang, L. and Liu, N., 2011. Sodium Channel Genes and Their Differential Genotypes at the L-to-F *kdr* Locus in the Mosquito *Culex*

quinquefasciatus. Biochemical and Biophysical Research Communications, 407(4), 645-649.

Yavuz, O. ve Şanlı, Y., 1999. Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri, I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Zulueta, J.D.E., 1959. Insecticide resistance in *Anopheles sacharovi*, Bulletin of the World Health Organization, 20, 797–822.



EKLER

EK 1. *kdr* bölgesi L1014F mutasyon noktasını gösteren baz dizileri.

	5	15	25	35	45	55	
Artvin 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Artvin 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Artvin 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA	
Artvin 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Artvin 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Borcka 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Borcka 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Borcka 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Borcka 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Borcka 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hopa 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GCCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hopa 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GCCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hopa 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GCCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA	
Hopa 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GCCGTGGGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hopa 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GCCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Sarp_sinir	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Sarp_sinir	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTATAAGA	
Sarp_sinir	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Sarp_sinir	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Sarp_sinir	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
RTEU_Kampu	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
RTEU_Kampu	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATATG	AAGTCTAAGA	
RTEU_Kampu	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
RTEU_Kampu	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
RTEU_Kampu	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Iyidere 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Iyidere 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Iyidere 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTATAAGA	
Iyidere 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Iyidere 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGGGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hamidiye 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hamidiye 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hamidiye 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hamidiye 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Hamidiye 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
KTU_Kampus	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
KTU_Kampus	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
KTU_Kampus	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
KTU_Kampus	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
KTU_Kampus	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA	
Carsibasi	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAAA	

EK 1. Devam.

Carsibasi	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsibasi	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsibasi	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsibasi	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Sumela 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Sumela 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Sumela 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Sumela 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Sumela 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGGGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gumushane	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Doga_pesti	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Doga_pesti	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Doga_pesti	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Doga_pesti	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Doga_pesti	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Bayburt 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Bayburt 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Bayburt 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Bayburt 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Bayburt 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gulyali 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gulyali 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gulyali 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gulyali 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Gulyali 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Ordu_Turna	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Ordu_Turna	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Ordu_Turna	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Ordu_Turna	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Ordu_Turna	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	CTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Unye 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Unye 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Unye 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA
Unye 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Unye 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsamba 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA
Carsamba 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsamba 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsamba 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Carsamba 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
19_Mayis 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCATCTG	AAGTCTAAGA
19_Mayis 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCATCTG	AAGTCTAAGA
19_Mayis 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTW	GTCGTGGGTA	TTCCAACAA	AAGACTAAAA

EK 1. Devam.

19_Mayis 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGGGTA	TTCCCATCTG	AAGTCTAAGA
19_Mayis 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGGGTA	TTCCCATCTG	AAGTCTAAGA
Horhor Baf	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Horhor Baf	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Horhor Baf	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Horhor Baf	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Horhor Baf	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Merzifon 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Merzifon 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA
Merzifon 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Merzifon 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Merzifon 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGGGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Saluca 1	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Saluca 2	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGGGTA	TTCCGATCTA	AAGTCTAAGA
Saluca 3	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTT	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Saluca 4	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA
Saluca 5	TCTTGGGCCA	CCGTAGTGAT	AGGAAATTTA	GTCGTGAGTA	TTCCGATCTG	AAGTCTAAGA

Not: IUPAC isimlendirme sistemine göre W=AT, R=AG bazlarını ifade etmektedir.

EK 2. ace-1 G119S mutasyon ve kesim noktasını gösteren baz dizileri.

	335	345	355	365	375		
Artvin_1	CCAGCGTGGC	GGTCCCAGAG	TAGAATCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Artvin_2	CCAGCGTGGC	GGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Artvin_3	CCAGCGTGGC	GGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Artvin_4	CCAGCGTGGC	GGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Artvin_7	CCAGCGTGGC	GGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Borcka_1	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Borcka_2	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Borcka_3	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Borcka_4	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Borcka_6	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_1	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_2	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_3	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_4	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_5	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Hopa_8	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Sarp_1	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Sarp_2	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Sarp_3	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Sarp_4	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Sarp_5	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Kampus_1	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Kampus_2	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Kampus_3	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Kampus_4	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Kampus_5	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	
Iyidere_2	CCAACGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC	

EK 2. Devam.

Iyidere_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Iyidere_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Iyidere_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Iyidere_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Hamidiye_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Hamidiye_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Hamidiye_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Hamidiye_7	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Hamidiye_8	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
KTU_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
KTU_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
KTU_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
KTU_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
KTU_7	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsibasi_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsibasi_2	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsibasi_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsibasi_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsibasi_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Sumela_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Sumela_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Sumela_7	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Sumela_8	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Sumela_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gumushane_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Doga_Pesti_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Bayburt_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Bayburt_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Bayburt_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Bayburt_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Bayburt_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gulyali_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gulyali_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gulyali_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gulyali_6	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Gulyali_7	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Turnasuyu_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Turnasuyu_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Unye_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Unye_2	CCAACGTGGC	AGTCCCRGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Unye_3	CCAACGTGGC	AGTCCCRGAG	TAGARGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Unye_4	CCAACGTGGC	AGTCCCRGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Unye_5	CCAACGTGGC	AGTCCCRGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsamba_1	CCARCGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC

EK 2. Devam.

Carsamba_2	CCARCGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsamba_4	CCARCGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsamba_5	CCARCGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Carsamba_7	CCARCGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
Horhor_2	CCARCGTGGC	AGTCCCRGAG	TAGAARCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Horhor_3	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Horhor_4	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Horhor_5	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Horhor_7	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
19_Mayis_1	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
19_Mayis_2	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCRAAGAT	CCACAGCATG	AC
19_Mayis_3	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
19_Mayis_4	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
19_Mayis_5	CCAACGTGGC	AGTCCCGGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Saluca_1	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Saluca_2	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGATCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Saluca_3	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Saluca_4	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Saluca_7	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCGAAGAT	CCACAGCATG	AC
Merzifon_1	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Merzifon_2	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Merzifon_3	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Merzifon_4	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGAGGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC
Merzifon_5	CCAGCGTGGC	AGTCCCAGAG	TAGARGCTAC	CCCCAAAGAT	CCACAGCATG	AC

Not: IUPAC isimlendirme sistemine göre R=GA bazlarını ifade etmektedir.

EK 3. ace-1 F290V mutasyon noktasını gösteren baz dizileri.

	420	430	440	450		
Artvin 1	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Artvin 2	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Artvin 3	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Artvin 4	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Artvin 7	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Borcka 1	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Borcka 2	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Borcka 3	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Borcka 4	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Borcka 7	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Hopa 1	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Hopa 2	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Hopa 3	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Hopa 4	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Hopa 5	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Sarp 1	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Sarp 2	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGKT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Sarp 3	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	
Sarp 4	ACGCTGGGGA	TCTGCGAGTT	TCCGTTTCGTT	CCGGTTGTGG	A	

EK 3. Devam.

Sarp 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Kampus 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Kampus 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Kampus 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Kampus 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Kampus 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Iyidere 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Iyidere 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Iyidere 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Iyidere 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Iyidere 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Hamidiye 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Hamidiye 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Hamidiye 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Hamidiye 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Hamidiye 8	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
KTU 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
KTU 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
KTU 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
KTU 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
KTU 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsibasi 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsibasi 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsibasi 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsibasi 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsibasi 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Sumela 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Sumela 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Sumela 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Sumela 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Sumela 8	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gumushane 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gumushane 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gumushane 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gumushane 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gumushane 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Doga Pestil 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Doga Pestil 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Doga Pestil 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Doga pestil 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Doga pestil 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Bayburt 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Bayburt 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Bayburt 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Bayburt 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Bayburt 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gulyali 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A

EK 3. Devam.

Gulyali 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gulyali 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gulyali 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Gulyali 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Turnasuyu 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Turnasuyu 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Turnasuyu 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Turnasuyu 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Turnasuyu 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Unye 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Unye 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Unye 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Unye 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Unye 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsamba 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsamba 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsamba 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsamba 8	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Carsamba 9	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Horhor 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Horhor 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Horhor 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Horhor 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Horhor 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
19 mayis 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
19 mayis 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
19 mayis 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
19 mayis 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
19 mayis 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Saluca 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Saluca 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Saluca 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Saluca 6	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Saluca 7	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Merzifon 1	ACGCTGGGGA TCTGCGAGKT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Merzifon 2	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Merzifon 3	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Merzifon 4	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A
Merzifon 5	ACGCTGGGGA TCTGCGAGTT TCCGTTTCGTT CCGGTTGTGG A

IUPAC isimlendirme sistemine göre K=GT bazlarını ifade etmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

Rıdvan Demirtaş 1990 yılında Elazığ ili Maden ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Atatürk İlkokulu'nda, lise öğrenimini ise Kubilay Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2015-2017 Öğretim yılından beri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimi yapmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.

