TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANKARA İLİ KESİMHANELERİNDEN TOPLANAN *MUSCA DOMESTİCA* POPÜLASYONLARINDA BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI DİRENÇ DURUMUNUN İNCELENMESİ

Neslihan AKKAYA

VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Levent ALTINTAŞ

ANKARA

2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANKARA İLİ KESİMHANELERİNDEN TOPLANAN *MUSCA DOMESTİCA* POPÜLASYONLARINDA BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI DİRENÇ DURUMUNUN İNCELENMESİ

Neslihan AKKAYA

VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Levent ALTINTAŞ

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün TDK-2023-2982 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2025

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Ankara İli Kesimhanelerinden Toplanan *Musca domestica* Popülasyonlarında Bazı İnsektisitlere Karşı Direnç Durumunun İncelenmesi" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Neslihan AKKAYA

Tarih: 15.01.2025

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner
Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalında
Neslihan AKKAYA tarafından hazırlanan
"Ankara İli Kesimhanelerinden Toplanan Musca Domestica Popülasyonlarında Bazı İnsektisitlere Karşı Direnç Durumunun İncelenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
……Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
……..Üniversitesi
Raportör

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
……Üniversitesi
Üye

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
……Üniversitesi
Üye

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
……Üniversitesi
Üye

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

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Ankara İli Kesimhanelerinden Toplanan *Musca domestica* Popülasyonlarında Bazı İnsektisitlere Karşı Direnç Durumunun İncelenmesi

Dünyada ve Türkiye'de halk sağlığını tehdit eden en önemli artropodlardan biri olan *Musca domestica,* yerleşim bölgelerindeki bütün sineklerin %90'ını oluşturur. İnsanlarla ortak yaşam alanlarına sahip olmalarından dolayı sayılarının kontrol altında tutulması oldukça önem arz eder. Halk sağlığı için oluşturduğu tehdit göz önüne alındığında, tüm dünyada mücadelesi için de çok büyük çaba harcanır. Mücadelede larva ve erişkin sinek formları hedef alınarak, mekanik, biyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemler oldukça yaygın bir şekilde kullanılır. Kimyasal yöntemler içerisinde de özellikle piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler, sipinosinler, piriproksifen, benzoilüre, kromazin, indoksakarb, diamide ve fenilpirazol bileşikleri tercih edilir. Gerçekleştirilen bu çalışma ile Ankara ilindeki kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında, hedef etki yeri voltaj duyarlı sodyum kanalları olan permetrin (tip 1 piretroid) ve deltametrin (tip 2 piretroid); hedef etki yeri asetilkolinesteraz enzimi olan bendiokarb ile hedef etki yeri GABA reseptörleri olan fipronil'e karşı gelişen direnç profilinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda; Ankara ilinde bulunan 13 kesimhaneden *M. domestica* popülasyonları ölü ve canlı olarak toplanmış, belirtilen insektisitler için LC50 ve LC90 değerlerinin tespit edilmiş, hedef etki yerlerinin ilgili primerler ile çoğaltılarak, gen dizilimindeki mutasyonlar yönünden taranması ve tespit edilen mutasyonların toksisite testleri ile değerlendirilmesi yapılmıştır. Canlı toplanan popülasyonlarla yapılan toksisite testlerinde permetrin, deltametrin ve bendiokarb etken maddesine karşı oldukça yüksek LC50 değerleri tespit edilmiştir. Hem toksisite testlerinin yapıldığı popülasyonlarda hem de diğer popülasyonlarda bu yüksek toksisite değerlerini açıklayacak hedef bölge mutasyonları tespit edilmiştir. Bunlar voltaj kapılı sodyum kanallarında L1014F/H ve T929I, AChE gen bölgesinde ise V260L, G342A/V ve F407Y olarak kaydedilmiştir. Bu nedenle, piretroid ve organik fosforlu pestisit grubu ilaçların ilgili bölgelerde sınırlandırılması, tespit edilen düşük fipronil LC50 değerleri ise *M. domestica* mücadelesinde bu etken maddenin iyi bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Bendiokarb, Fipronil, İnsektisit Direnci, *Musca domestica,* Piretroidler

SUMMARY

Determination of Insecticide Resistance Status of *Musca domestica* Population Collected from Slaughterhouses in Ankara

Musca domestica, which is one of the most important arthropods threatening public health in the world and in Turkey, constitutes 90% of all flies in residential areas. Due to have common habitat, it is very important to keep their numbers under control. Considering the threat it poses to public health, great efforts are being made to combat it all over the world. Pyrethroids, organophosphates, carbamates, neonicotinoids, cypinosins, pyriproxyfen, benzoylurea, chromazine, indoxacarb, diamide and phenylpyrazole compounds are among the insecticides used to control houseflies. In this study is aimed to determine permethrin (type 1 pyrethroid) with target site of voltage sensitive sodium channels, deltamethrin (type 2 pyrethroid), bendiocarb with target site of acetylcholinesterase, fipronil with target site of GABA receptors, resistance status of *Musca domestica* population collected from slaughterhouses in Ankara. Mechanical, biological, physical and basic chemical methods are widely used by targeting larvae and adult fly forms. For this purpose; *M. domestica* populations were collected dead and alive from 13 slaughterhouses in Ankara province, LC50 and LC90 values were determined for the specified insecticides, the target sites of action were amplified with the relevant primers, screened for mutations in the gene sequence and the detected mutations were evaluated by toxicity tests. In toxicity tests conducted on live collected populations, exceedingly high LC50 values were observed for permethrin, deltamethrin and bendiocarb. Target site mutations were identified in both the populations in which toxicity tests were performed and in other populations to explain these high toxicity values. These were L1014F/H and T929I in voltage-gated sodium channels and V260L, G342A/V and F407Y in the AChE gene region. Therefore, the low LC50 values of fipronil indicate that this active ingredient may be a suitable alternative for the control of M. domestica.

Keywords: Bendiocarb, Fipronil, Insecticide Resistance, *Musca domestica*, Pyrethroids

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Ev Sineğinin Sınıflandırmadaki Yeri	3
1.2. Ev Sineğinin Genel Özellikleri ve Biyolojisi	4
1.2.1. Ev Sineğinin Yaşam Döngüsü	5
1.2.1.1. Yumurta Evresi	6
1.2.1.2. Larva Evresi	6
1.2.1.3. Pupa Evresi	7
1.2.1.4. Ergin Evresi	8
1.3. Ev Sineklerinin Tıbbi ve Veteriner Önemi	9
1.4. Ev Sinekleri ile Mücadele Çalışmaları	10
1.4.1. Kültürel Mücadele	10
1.4.2. Fiziksel Mücadele	10
1.4.3. Biyolojik Mücadele	12
1.4.4. Kimyasal Mücadele	12
1.5. İnsektisitlerin Sınıflandırılması	13
1.5.1. Organofosfatlı İnsektisitler	14
1.5.2. Karbamat Grubu İnsektisitler	15
1.5.3. Organik Klorlu İnsektisitler	15
1.5.4. Piretroid Grubu İnsektisitler	15
1.5.5. Neonikotinoid Grubu İnsektisitler	16
1.6. İnsektisit Direnci ve Direnç Tipleri	16
1.6.1. Direnç Mekanizmaları	20
2. GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Araştırma Alanı	21
2.1.1. Genel Özellikleri	21
2.1.2. İklim Özellikleri	21
2.2. Arazi ve Laboratuvar Çalışmaları	22
2.2.1. Ev Sineklerinin Toplanması	23
2.2.2. Kültürlerin Bakımı	24
2.2.2.1. Ergin Sineklerin Beslenmesi ve Yumurtlaması	25
2.2.2.2. Larvaların Yetiştirilmesi	26
2.2.2.3. *Musca domestica* Populasyonlarının Tür Teşhislerinin Doğrulanması	28
2.2.3. Biyolojik Etkinlik Testleri	28
2.2.4. Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi	30
2.2.5. *Musca domestica* Populasyonlarından DNA İzolasyonu	30
2.2.6. Hedef Bölge Mutasyonlarının Araştırılması	31

3. BULGULAR 33
3.1. *Musca domestica* Tür Teşhisi 33
3.2. Toplanan *Musca domestica* Populasyonlarında Direncin Belirlenmesi 33

4. TARTIŞMA 43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 48
KAYNAKLAR 49
ÖZGEÇMİŞ 55

ÖNSÖZ

Doktora Tezi çalışmamda Ankara ilindeki kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında, hedef etki yeri voltaj duyarlı sodyum kanalları olan permetrin (tip 1 piretroid), deltametrin (tip 2 piretroid); asetilkolinesteraz olan bendiokarb ve GABA reseptörleri olan fipronil'e karşı gelişen direnç durumlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Tez çalışmasından elde edilen veriler ülkemizde bulunan *M. domestica* popülasyonlarında direnç seviyelerinin belirlenmesi amacıyla yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacaktır. Dahası ev sineklerinde direncin kırılması yönündeki çalışmalara ve ev sinekleriyle mücadelede kullanılacak yeni ve alternatif insektisitlerin araştırılmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca Ankara ilinde yapılmakta olan ev sineği mücadelesine de yön verecektir.

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini esirgemeyen başta değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Levent ALTINTAŞ olmak üzere saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ, Prof. Dr. Emine BAYDAN, Prof. Dr. Ender YARSAN, Prof. Dr. Ali BİLGİLİ, Prof. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN ve Dr. Öğr. Üyesi Farah Gönül AYDIN'a ve Anabilim Dalı personeline; tez izleme komitemde olup çalışmalarımı takip eden, destekleyen Doç. Dr. Bengi ÇINAR KUL'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın bilimsel olarak planlanmasında, gerçekleştirilmesinde, çalışmaların hazırlanmasında ve tüm aşamalarında büyük destek ve katkıda bulunan değerli hocam ve yakın arkadaşım Doç. Dr. Nafiye İnak KOÇ'a; saha ve laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Doç. Dr. Emre İNAK, Esra ÜNLÜCE ve Eneshan SARIKAYA'ya; bu yoğun ve yorucu süreç boyunca manevi desteklerini her zaman hissettiren, tez çalışmam için ellerinden gelenin daha fazlasını yapmak için çabalayan arkadaşlarım Gürkan Genç, Araş. Gör. Dr. Sedat SEVİN, Doç. Dr. Hidayet TUTUN ve çalışma arkadaşım Yasemin TETİK'e teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmamı finansal olarak destekleyen Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim sırasında bana yol gösteren, hoşgörüsünü ve desteğini hiç eksik etmeyen, akademik eğitimime devam etmek hususunda beni teşvik eden sevgili eşim Ömer Hamza AKKAYA'ya, moral ve desteklerini hep hissettiğim ve hiçbir şekilde hakkını ödeyemeyeceğim canım aileme; annem Satı BEKTAŞ, babam Nurettin BEKTAŞ ve kız kardeşlerim Aslıhan BEKTAŞ ve Nesrin Buket BEKTAŞ'a sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Alanin
AChE	Asetil kolin esteraz
cm	Santimetre
^{0}C	Santigrat derece
D	Aspartat
F	Fenilalanin
gr	Gram
gDNA	Genomik DNA
G	Glisin
H	Histidin
IRAC	Insecticide Resistance Action Committee
I	Izolösin
km	Kilometre
km^2	Kilometrekare
L	Lösin
LC50	Letal Konsantrasyon
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µl	Mikrolitre
mtDNA	Mitokondriyal DNA
mtCOI	Mitokondriyal Sitokrom C Oksidaz
N	Asparajin
OF	Organofosfat
T	Treonin
V	Valin
Vssc	Voltaj Duyarlı Sodyum Kanalları
Y	Tirozin

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Ev sineğinin yaşam döngüsü 5

Şekil 1.2. Yumurta evresi 6

Şekil 1.3. Larva evresi 7

Şekil 1.4. Pupa evresi 8

Şekil 1.5. Ergin evresi 9

Şekil 1.6. Broşür örneği 10

Şekil 1.7. Sinek tuzakları 11

Şekil 1.8. Biyolojik mücadele ajanı *M. raptor* 12

Şekil 2.1. Ankara ili haritası 22

Şekil 2.2. Ankara ilinde bulunan bir kesimhane 23

Şekil 2.3. Ev sineklerinin toplanması 24

Şekil 2.4. Ev sineklerinin tutulduğu ortam 25

Şekil 2.5. a. yumurta, b. larva, c. pupa evreleri 26

Şekil 2.6. Kültürlerin bakımı ve beslenmesi (1) 27

Şekil 2.7. Kültürlerin bakımı ve beslenmesi (2) 27

Şekil 2.8. Toksisite denemeleri (1) 29

Şekil 2.9. Toksisite denemeleri (2) 30

Şekil 3.1. GenBank BLAST analiz sonuçları 33

Şekil 3.2. Ev sineklerinde dişi erkek ayrımı 35

Şekil 3.3. Voltaj kapılı sodyum kanalları mutasyonları sekans dizilimi 39

Şekil 3.4. Asetilkolin esteraz gen bölgesi mutasyonları sekans dizilimi 40

Şekil 3.5. Farklı artropodlardaki voltaj kapılı sodyum kanalının kısmi dizilimi, daha önce piretroid direnci ile ilişkilendirilen M918T, T929I, L1014F/H mutasyonlarının sekans dizilimleri üzerindeki pozisyonları. Açıktan koyuya değişen renkler bölgelerin korunmuşluk seviyesi 41

Şekil 3.6. Farklı artropodlardaki voltaj kapılı sodyum kanalının kısmi dizilimi, daha önce piretroid direnci ile ilişkilendirilen D600 mutasyonunun sekans dizilimleri üzerindeki pozisyonu 41

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Ev sineklerinin sınıflandırması 4

Çizelge 1.2. İnsektisitlerin sınıflandırılması 13

Çizelge 2.1. Kesimhanelerin bulunduğu ilçeler 23

Çizelge 2.2. Hedef bölgelerin çoğaltılmasında kullanılacak primerler 32

Çizelge 3.1. Kesimhanelerde kullanılan kimyasallar ve ilaçlama tarihleri 34

Çizelge 3.2. *Musca domestica* popülasyonlarında permetrin, deltametrin, fipronil ve bendiokarb aktif maddelerine karşı belirlenen LC50 değerleri ve direnç oranları 36

Çizelge 3.3. Çalışmada haziran ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının voltaj kapılı sodyum kanallarında tespit edilen ve piretroid direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar 37

Çizelge 3.4. Çalışmada eylül ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının voltaj kapılı sodyum kanallarında tespit edilen ve piretroid direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar 38

Çizelge 3.5. Çalışmada haziran ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının asetilkolin esteraz gen bölgesinde tespit edilen ve organik fosforlu insektisit direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar 42

Çizelge 3.6. Çalışmada eylül ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının asetilkolin esteraz gen bölgesinde tespit edilen ve organik fosforlu insektisit direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar 42

1. GİRİŞ

Dünyadaki canlı türlerinin çeşitliliğine bakıldığında, en çok türü Arthropoda şubesindeki Insecta sınıfının oluşturduğu dikkati çeker. Bu türdeki canlıların çoğu aynı zamanda insanlarla etkileşim halindedir ve bu durum da insanlık tarihi boyunca bu türlerle mücadele edilmesine neden olmuştur (Akıner, 2003).

İnsanlarla yaşam alanlarının ortak olmasından dolayı, Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığı için tehdit oluşturan en önemli artropodlardan biri de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) olarak bilinen ev sineğidir. Bu sinekler yerleşim bölgelerindeki bütün sineklerin yaklaşık %90'nını oluşturur. Halk arasında daha ziyade ev sineği olarak bilinen *M. domestica,* holometabol gelişim gösteren ve yaşam döngüleri yumurta, larva, pupa, ergin aşamalarından oluşan bir türdür (Geden vd., 2021). Bu aşamalar optimal koşullarda 7 günde tamamlanırken, ev sineklerinin yaşam süreleri 2-3 hafta ile 3 ay arasında değişir. Nisan ayı ortalarında yumurtlamaya başlayan bu sinekler, en yoğun popülasyona Eylül ayı ortalarında ulaşırlar (Rozendaal, 1997).

Ergin ev sinekleri yalayıcı emici yapıda bir ağız organeline sahip olduğundan tükettikleri besinin sıvı veya tükürük bezlerinden salgılanan salgılar yardımıyla sıvı hale dönüştürülebilecek yapıda olması gerekir. Sineklerin beslenmeyi sevdiği gıdalar arasında kan, şeker, et suyu, süt, şurup gibi maddelerin yanı sıra insanlar tarafından tüketilen çok çeşitli besinler de yer alır (Hinkle ve Hogsette, 2021). Dişi ev sineği yumurtalarını öncelikli olarak insan ve hayvan dışkılarına, bunun dışında çürümüş hayvansal ya da bitkisel kaynaklı maddeler üzerine bırakır. Bu nedenle evsel atıklar, tarım alanları, hayvancılık işletmeleri ve özellikle kesimhaneler hem larva gelişmesi için hem de ergin sineklerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri için uygun alanları oluşturur (Larraín ve Salas, 2007).

Ev sinekleri zararlı mikroorganizmalardan zengin hayvansal atıklarla yakın ilişkili olması ve erişkinlerin uzun menzilli hareket kabiliyetleri sayesinde 200'den fazla patojenin hayvanlar ve insanlar arasında yayılmasında rol oynar (Nayduch ve Burrus, 2017). Sinekler, bu mikroorganizmaları, hayvansal ve diğer atıklar, yaralar ve eksudat ile temas yoluyla veya doğrudan bunlarla beslenerek alırken, fiziksel temas yoluyla da omurgalı konaklara aktarır (Jacques vd., 2017).

Halk sağlığı için oluşturduğu tehdit göz önüne alındığında, tüm dünyada çok büyük çaba harcanan bu türlerle mücadelede; larva ve erişkin sinek formları hedef alınarak, mekanik, biyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemler oldukça yaygın bir şekilde kullanılır. Mücadelede kullanılan kimyasal maddeler içerisinde de özellikle piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler, sipinosinler, piriproksifen, benzoilüre, kromazin, indoksakarb, diamide ve fenilpirazol bileşikleri ön plandadır. Dünyada *M. domestica* hasarı ve mücadelesinin yıllık maliyetinin yaklaşık 500 milyon ile 1 milyar dolar arasında olduğu varsayılır (Geden vd., 2021).

Musca domestica mücadelesi belediyeler ve işletmeler için çok ciddi maliyet oluşturmakta ve kullanılan ilaçların ruhsatlanma miktarının üstüne çıkılması gıda işletmelerinde insan sağlığına zararlı etki oluşturacak gıda kalıntılarına yol açmaktadır. Sık ve yüksek dozlarda bilinçsiz uygulanan mücadele ise artropodlarda direnç oluşumunu tetikler. Artropodlarda insektisit direncini oluşturan başlıca iki mekanizma vardır: 1) Hedef etki alanına ulaşan etkili insektisit dozunun azaltılması yoluyla (farmakokinetik direnç), 2) Hedef etki alanının kendisinin değiştirilmesi yoluyla (farmakodinamik direnç) (Van Leeuwen ve Dermauw, 2016). Detoksifikasyon (genellikle sitokrom P450 monooksijenaz, esteraz ve Glutatyon S-transferaz aracılığıyla), davranışsal direnç, adsorpsiyonun azalması ve penetrasyon (kütikular kalınlaşma gibi), mekanizmaların tümü, nihayetinde hedef bölgeye varan pestisit miktarının azalmasına (farmakokinetik) yol açar. Pestisitin hedef proteine bağlanmasını (farmakodinamik) azaltan ve engelleyen ise hedef nokta mutasyonlarıdır (Feyereisen vd., 2015). Sineklerde görülen direnç olgularının %90'ından fazlası detoksifikasyon (metabolik direnç) veya hedef yeri mutasyonu aracılığıyla gerçekleşir (Van Leeuwen vd., 2009; Van Leeuwen ve Dermauw, 2016). Hedef etki yerinde meydana gelen değişiklikler, öncelikle hedef genin diziliminin bilinmesi ve akabinde bu hedef yerinin çoğaltılması ve hassas-dirençli popülasyonlar arası yapılan karşılaştırmalar ile gerçekleştirilir (Feyereisen vd., 2015).

Türkiye'de *M. domestica* üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde;

Antalya ili Kumluca ilçesinden Haziran ve Kasım ayları arasında toplanan *M. domestica* popülasyonlarının deltametrin'e karşı direnç seviyelerinin biyolojik analizler ile araştırıldığı çalışmada yoğun bir şekilde tarım ve seracılığın yapıldığı yerlerde deltametrin'e karşı yüksek direnç tespit edildiği bildirilmiştir (Erdoğan, 2017).

Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki 16 farklı ilden (Afyon, Adana, Aydın, Burdur, Denizli, Antalya, İzmir, Hatay, Kütahya, Isparta, Manisa, Mersin, Muğla, Uşak, Osmaniye, Kahramanmaraş) toplanan ev sineği popülasyonları asetilkolinesteraz bölgesinin incelendiği bir çalışmada, L260V - A342G - T407P mutasyonları yüksek yoğunlukta tespit edilirken V260 - A316 -G342 - P407 mutasyonları tespit edilemediği belirlenmiştir (Başkurt, 2010).

Akıner ve Çağlar (2012) tarafından yapılan çalışmada, Antalya, İzmir illerinde bulunan inek çiftlikleri ve Adana, Ankara, Şanlıurfa, İstanbul illerinde bulunan çöp depolama alanlarından 2004 ve 2006 yılları arasında toplanan *M. domestica* popülasyonlarının 5 adet insektisite karşı (sipermetrin, permetrin, deltametrin, sifenotrin ve fenitrotiyon) direnç düzeylerinin incelendiği ve toplanan popoülasyonlarda deltametrin LD50 değerlerinin 0,04-5,58 arasında tespit edildiği, permetrin LD50 değerlerinin ise 0,24-23,78 arasında tespit edildiği bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile de Ankara ilindeki kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında, hedef etki yeri voltaj duyarlı sodyum kanalları olan permetrin (tip 1 piretroid) ve deltametrin (tip 2 piretroid); hedef etki yeri asetilkolinesteraz enzimi olan bendiokarb ile hedef etki yeri GABA reseptörleri olan fipronil'e karşı gelişen direnç durumlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Tez çalışmasından elde edilen verilerin ülkemizde bulunan *M. domestica* popülasyonlarında direnç seviyelerinin belirlenmesi amacıyla yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı; ev sineklerinde direncin kırılması yönündeki çalışmalara ve ev sinekleriyle mücadelede kullanılacak yeni ve alternatif insektisitlerin araştırılmasına yardımcı olacağı; ayrıca Ankara ilinde yapılmakta olan ev sineği mücadelesine de yön vereceği düşünülmüştür.

1.1. Ev Sineğinin Sınıflandırmadaki Yeri

Yeryüzü genelinde yapılmış taksonomi çalışmaları incelendiğinde dünyada yaklaşık 2,2 milyon canlı türünün yaşadığı görülür (Mora vd., 2011). Hayvanlar aleminin Arthropoda şubesinde bulunan Insecta sınıfı (Çizelge 1.1.), toplam tür sayısının yarısına sahip olması

bakımından en çok tür barındıran taksonomik grup olarak dikkati çeker (Hamilton vd., 2010).

Çizelge 1.1. Ev sineklerinin sınıflandırması (Koç ve Çetin, 2017)

Alem	Animalia
Şube	Arthropoda
Alt şube	Hexapoda
Sınıf	Insecta
Takım	Diptera
Familya	Muscidae
Cins	*Musca*
Tür	*Musca domestica* L.

Literatürde ev sineği şeklinde geçen *Musca domestica* ülkemizde halk arasında karasinek olarak kabul görür. Musca cinsi morfolojik açıdan benzerlik gösteren 70 kadar türe sahiptir (Koç ve Çetin, 2017).

1.2. Ev Sineğinin Genel Özellikleri ve Biyolojisi

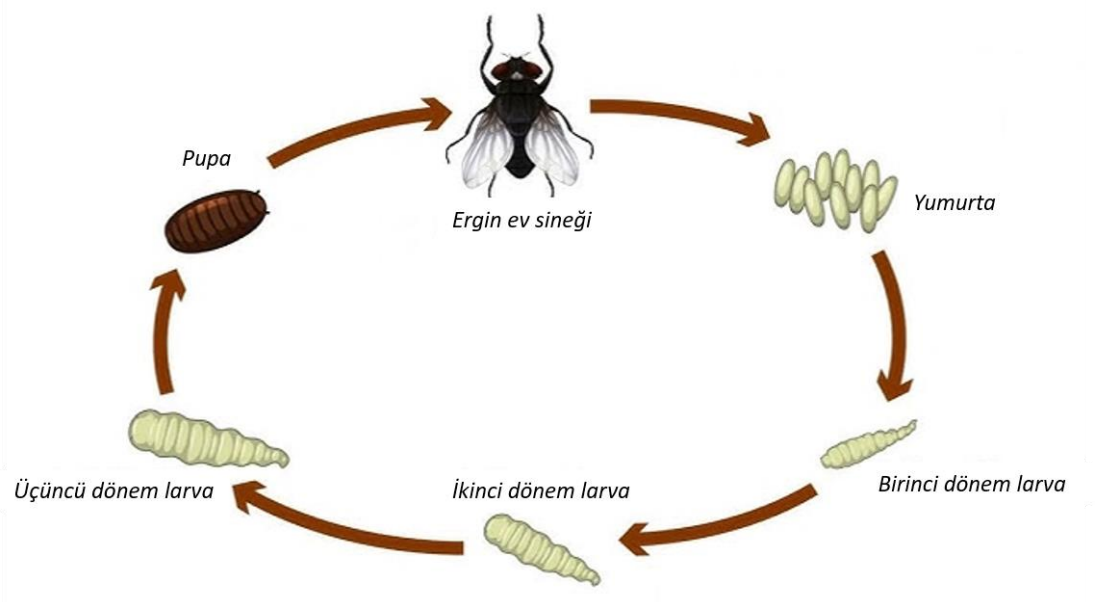
İnsanlarla ortak yaşam alanlarına sahip olan ev sinekleri, farklı ekolojik koşullara kolayca uyum sağlarlar ve yerleşim bölgelerindeki bütün sineklerin yaklaşık %90'ını oluştururlar (Geden vd., 2021).

Ergin ev sinekleri yalayıcı emici yapıda bir ağız organeline sahiptir ve tükettikleri besinin sıvı veya tükürük bezlerinden salgılanan salgılar yardımıyla sıvı hale dönüştürür. Gıdaları arasında kan, şeker, et suyu, süt, şurup gibi maddelerin yanı sıra insanlar tarafından tüketilen besinler de ilgi alanları arasında yer alır (Hinkle ve Hogsette, 2021). Dişi ev sineği yumurtalarını insan ve hayvan dışkıları ile çürümüş hayvansal ya da bitkisel kaynaklı maddeler üzerine bırakır. Bu sebeple evsel atıklar, tarım alanları, hayvancılık işletmeleri ve kesimhaneler gibi ortamlar hem larva gelişmesi için hem de ergin sineklerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri için en uygun alanları oluşturur (Larraín ve Salas, 2007).

Bu canlılar zararlı mikroorganizmalardan zengin hayvansal atıklarla olan yakın ilişkilerinden ve uzun menzilli hareket kabiliyetlerinden dolayı yaklaşık 200'den fazla patojenin canlılar arasında yayılmasında rol oynarlar (Nayduch ve Burrus, 2017). Sinekler, bu mikroorganizmaları, hayvansal ve diğer atıklar, yaralar ve eksudat ile temas yoluyla veya doğrudan bunlarla beslenerek alırken, fiziksel temas yoluyla omurgalı konaklara aktarırlar (Jacques vd., 2017).

1.2.1. Ev Sineğinin Yaşam Döngüsü

M. domestica holometabol bir gelişim gösterir ve yaşam döngüleri (Şekil 1.1.) yumurta, larva, pupa ve ergin aşamalarından oluşur (Geden vd., 2021). Bu aşamalar optimal koşullarda 7 günde tamamlanırken, yaşam süreleri 2-3 hafta ile 3 ay arasında değişir. Nisan ayı ortalarında yumurtlamaya başlayan bu sinekler Eylül ayında en yoğun popülasyona ulaşır (Rozendaal, 1997).



Şekil 1.1. Ev sineğinin yaşam döngüsü (GraphicsRF, 2024)

1.2.1.1. Yumurta Evresi

Dişi ev sineği yumurtalarını öncelikli olarak insan ve hayvan dışkılarına, bunun dışında çürümüş hayvansal ya da bitkisel kaynaklı maddeler üzerine bırakır (Larraín ve Salas, 2007). Yumurtalar (Şekil 1.2.) krem veya beyazımsı renkte görülmekle birlikte 1-1,2 mm uzunluğundadır. Dişi *M. domestica* 3-4 günlük dönemler halinde, her seferinde 100-120 adet olmak üzere ömrü boyunca yaklaşık 500-600 adet yumurta bırakır. En ideal yumurta üretimi 25-30°C arasında olur. Yumurtalar ise 12-24 saat içerisinde açılmaya başlar (Çetin, 2016).



Şekil 1.2. Yumurta evresi (Buss, 2014)

1.2.1.2. Larva Evresi

Larva evresi (Şekil 1.3.) üç aşamadan meydana gelir. İlk aşamada larvalar 3-9 mm civarında bulunurken ortalama 7-12 mm uzunluğa ulaşır. Larvalar nemin yoğun olarak bulunduğu yüzeye yakın yerlerde bulunurken, son aşamaya geldiklerinde daha kuru ve güneş ışığı görmeyen bölgeleri tercih ederler. Larva gelişimi 6-7 gün sürmekte ve sıcaklığa bağlı

olarak değişim gösterebilmektedir. Gelişim için gereken en uygun sıcaklık değerleri 30-35 ^{0}C olmasına rağmen 18-32 ^{o}C arasında da gelişim görülür (Çetin, 2016; Koç ve Çetin, 2017).



Şekil 1.3. Larva evresi (Buss, 2014)

1.2.1.3. Pupa Evresi

Pupa dönemi (Şekil 1.4.) uygun olmayan çevre şartlarından etkilenmemek için korunaklı bölgelerde ve nem oranının az olduğu kuru yerlerde geçirilir (Koç ve Çetin, 2017). Pupa ilk başta krem-beyaz renkte gözlenirken zaman geçtikçe koyu kahverengiye dönüşür. Pupanın uzunluğu yaklaşık 6 mm'dir. Bu evre optimum şartlarda 3-5 gün içinde tamamlanırken, sıcaklığın düştüğü mevsim şartlarında 7-14 güne kadar süre uzayabilir (Service, 2008).



Şekil 1.4. Pupa evresi (Buss, 2014)

1.2.1.4. Ergin Evresi

Yaşam döngüsünün son evresi olan ergin evresinde (Şekil 1.5.) sineklerin vücudu grimsi siyah bir renkte olup, uzunlukları 6-9 mm kadar olur (Moon, 2019). Pupadan çıkan ergin dişi *M. domestica* 3-4 gün sonrasında çiftleşir ve erkek sinekten aldığı spermi vücudunda depolayarak, bu spermlerle 3-4 defa olmak üzere yaklaşık 500-600 arası yumurtayı bir dönemde yumurtlayabilir. Ergin ev sineklerinin yaşam süresi 14-21 gün arasında değişir. Ergin ev sinekleri beslenme ve konaklama ihtiyacıyla günlük 3-4 km mesafeleri katedebilirler (Koçak, 1998; Çetin, 2016).



Şekil 1.5. Ergin evresi (Castner, 2014)

1.3. Ev Sineklerinin Tıbbi ve Veteriner Önemi

Ev sinekleri 200'den fazla patojenin hayvanlar ve insanlar arasında yayılmasında rol oynar (Nayduch ve Burrus, 2017). Sinekler bu mikroorganizmaları hayvansal ve diğer atıklar, yaralar ve eksudat ile temas yoluyla veya doğrudan bunlarla beslenirken alır ve fiziksel temas yoluyla da omurgalı konaklara aktarır (Jacques vd., 2017). Bu patojenler içinde en önemlilerini *Aeromonas caviae* (Nayduch vd., 2002), *A. hydrophila* (McGaughey ve Nayduch, 2009), *Campylobacter jejuni* (Gill vd., 2017; Shane vd., 1985), *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Braverman vd., 1999), *Enterococcus faecalis* (Doud ve Zurek, 2012), *Escherichia coli* O157:H7 (Fleming vd., 2014; Sasaki vd., 2000; Wasala vd., 2013), *Pseudomonas aeruginosa* (Joyner vd., 2013), *Salmonella typhimurium* (Chifanzwa ve Nayduch, 2018), *S. schottmullerris* (Hawley vd., 1951), *S. enteritidis* (Holt vd., 2007), *Shigella dysenteriae* (Hawley vd., 1951), *Staphylococcus aureus* (Nayduch vd., 2013), *Yersinia pseudotuberculosis* (Zurek vd., 2001) oluşturur.

1.4. Ev Sinekleri ile Mücadele Çalışmaları

Halk sağlığı için oluşturduğu tehdit göz önüne alındığında, tüm dünyada mücadelesi için çok büyük çaba harcanır. Mücadelede larva ve erişkin sinek formları hedef alınarak, mekanik, biyolojik, fiziksel ve esas kimyasal yöntemler kullanılır. Bu yöntemler içerisinde kimyasal mücadele yıllarca ön plana çıkmış ve en sık tercih edilen yöntem olmuştur. Bu amaçla özellikle piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler, sipinosinler, piriproksifen, benzoilüre, kromazin, indoksakarb, diamide ve fenilpirazol bileşikleri mücadelede kullanılan insektisitlerdendir. Dünyada *M. domestica* hasarı ve mücadelesinin yıllık maliyetinin yaklaşık 500 milyon ile 1 milyar dolar arasında olduğu varsayılır (Geden vd., 2021).

1.4.1. Kültürel Mücadele

Kültürel mücadeledenin amacı; sineğin biyolojisi, ürediği alanlar ve vermiş olduğu zararlar hakkında hedef kitleye eğitimler vererek onların bilinçlendirilmesinin sağlanmasıdır. Bunun dışında afiş, broşür, posterler (Şekil 1.6.) hazırlanarak da insanların bilinçlenmesi sağlanabilir (Koç ve Çetin, 2017).



Şekil 1.6. Broşür örneği

1.4.2. Fiziksel Mücadele

Ev sinekleri ile fiziksel mücadeledeki en önemli hedef sineklerin ürediği ve gelişim gösterdiği alanların elimine edilmesidir. Dişi ev sineği yumurtalarını öncelikli olarak insan ve hayvan dışkılarına, bunun dışında çürümüş hayvansal ya da bitkisel kaynaklı maddeler

üzerine bırakır. Bu nedenle evsel atıklar, tarım alanları, hayvancılık işletmeleri ve özellikle kesimhaneler hem larva gelişmesi için hem de ergin sineklerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri için uygun alanları oluşturur (Larraín ve Salas, 2007).

Ev sineği hayvancılık işletmelerinde hayvan dışkısı üzerine yumurta bıraktığı için, hayvancılık işletmelerinin temizliği düzenli aralıklarla yapılmalıdır. İşletmelerden toplanan dışkıların biriktirildiği alanda ince tabakalar halinde kurutulmasına dikkat edilmelidir. Bununla beraber zeminin temizliğine ve hayvan temizliğine de önem verilmelidir. Hayvan kesimleri sırasında oluşan atıklar temizlenerek veya gömülerek bertaraf edilmesi sağlanmalıdır (Çetin, 2016).

Çöp kutuları ile çöp konteynırları kapaklı olmalı ve çöplerin sürekli toplanması sağlanmalıdır. Meyve sebze yetiştiriciliği yapılan yerlerde yere dökülen meyve ve sebzeler temizlenerek, ev sinekleri için besin kaynağı olmaları engellenmelidir.

Fiziksel mücadelede kullanılan uygulamalardan bazıları yem ve ışık tuzaklarıdır (Şekil 1.7.). Ev sinekleri için cezbedici besinler ile hazırlanan yem tuzakları yerden 1,5-2 m yüksekliğe konularak *M. domestica* popülasyonlarının yakalanmasına yardımcı olur. Ayrıca ev sineklerinin ultraviyole ışık yayan elektrikli tuzaklar ile yakalanması da mümkündür (Çetin, 2016).



Şekil 1.7. Sinek tuzakları

1.4.3. Biyolojik Mücadele

Ev sinekleri ile biyolojik mücadelede sıklıkla fungal – bakteriyel patojenler ve parazitoid - predatör canlılar kullanılır (Çivril, 2021). Entomopatojen funguslar arasında en sık kullanılanları *Entomophora muscae* (Fresenius), *Metarhizium anisopliae* (Sorokin) ve *Beauveria bassiana* (Vuillemin)'dır. Böcek kütikulası ya da bağırsak duvarını aşarak konağa giriş yapar ve enfeksiyona neden olur (Malik vd., 2007).

Biyolojik mücadelede kullanılan bir diğer canlı da parazitoid türlerdir. *Muscidifurax raptor* Girault (Şekil 1.8.), *Spalangia cameroni* (Perkins), *Spalangia nigripes* (Curtis) bu canlıların başında gelir. Bu zar kanatlı parazitoidlerin (Hymenoptera) yumurtalarını ev sineği pupaları üzerine bırakarak, larvalarının pupalar ile beslenmesi sonucunda konaklarını öldürür (Koç ve Çetin, 2017).



Şekil 1.8. Biyolojik mücadele ajanı *Muscidifurax raptor*

1.4.4. Kimyasal Mücadele

Hızlı etki göstermesi nedeniyle ev sinekleri ile mücadelede en çok tercih edilen yöntemdir. *M. domestica* mücadelesi larva ve ergin mücadelesi şeklinde yapılır. Piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler, sipinosinler, piriproksifen, benzoilüre, kromazin, indoksakarb, diamide ve fenilpirazol bileşikleri ergin ev sineği ile mücadelede

uygulanan insektisitlerdir (Geden vd., 2021). Larva mücadelesinde juvenil hormon analogları (örneğin; methopren, piriproksifen) ve kitin sentez inhibitörleri (örneğin; triflumuron, diflubenzuron) tercih edilir (Çetin, 2016).

1.5. İnsektisitlerin Sınıflandırılması

İnsektisitler kimyasal yapıları, doğası ve etki şekilleri bakımından çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Etki yerleri veya etkilerine göre insektisitler; temas zehirleri, solunum zehirleri (fumigantlar) ve mide zehirleri şeklinde sınıflandırılır (Pedigo, 1996). İnsektisitler Kimyasal yapısı ve doğasına göre insektisitler organik (karbon atomuna sahip olanlar) ve inorganik (karbon atomu olmayanlar) şeklinde sınıflandırılır. Bugün kullandığımız insektisitlerin çoğu organik insektisitler olup doğal ve sentetik olarak üretilir. Doğal organik insektisitler, içeriğinde petrol türevi maddeler olan mineral yağlar ve bitkisel insektisitlerdir. Bitkisel kökenli insektisitler oldukça yaygın kullanım alanına sahipken, petrol kökenli olanlar sivrisineklerin larvaları için sınırlı şekilde kullanılır (Akıner, 2003; Emden, 2004).

İnsektisitlerin sınıflandırılmasında en çok kullanılan yöntem, kimyasal yapılarına bakılarak yapılan sınıflandırmadır. Bazı bileşik gruplarına etken madde içerikleri ile uyumlu isimler verilir. Buna göre başlıca insektisit grupları organofosforlu, karbamat, organoklorlu, piretroid ve neonikotinoid olarak adlandırılır (Çizelge 1.2.). Bunların dışında böcek gelişim düzenleyiciler (juvenil hormon analogları. ve kitin senezini engelleyenler) ve biyolojik insektisitler de iki grup şeklinde sınıflandırılabilir (Alten ve Çağlar, 1998; Matsumura, 1985; Pedigo, 1996).

Çizelge 1.2. İnsektisitlerin sınıflandırılması (IRAC, 2021)

Ana Grup	Alt Grup, Sınıf veya Temsili Etken Madde	Etken Maddeler
1 Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri	1A Karbamatlar	Alanikarb, Aldikarb, Bendiokarb, Benfurakarb, Butokarboksim, Butoksikarboksim, Karbaril, Karbofuran, Karbosülfan, Etiofenkarb, Fenobukarb, Formetanat, Furatiokarb, İzoprokarb, Metiokarb, Metomil, Metolkarb, Oksamil, Pirimikar, Propoksur, Tiyodikar, Tiyofanoks, Triazamat, Trimetakarb, XMC, Ksilikarb
	1B Organofosfatlar	Asefat, Azametifos, Azinfos-etil, Azinfos-metil, Kadusafos, Klorpirifos-metil, Kumafos, Siyanofos, Demeton-S-metil, Diazinon, Diklorvos/DDVP, Dikrotifos, Dimetoat,

		Dimetilvinfos, Disülfoton, EPN, Etion, Etoprofos, Fention, Fosfiyazat, Heptenofos, İzofenfos, İzoprokarb, Malation, Paration, Profenofos, Temefos, Terbufos, Triklorfon, Klordan, Endosülfan
2 GABA-klor kanal blokörleri	2A Siklodiyen Organoklorinler	Klordan, Endosülfan
	2B Fenilpirazoller	Etioprol, Fipronil
3 Sodyum kanalı modülatörleri	3A Piretroidler Piretrinler	Akrinatrin, Alletrin, Bifentrin, Bioalletrin, Bioalletrin S-siklopentil izomer, Bioresmetrin, Sikloprotrin, Siflutrin, beta-Siflutrin, Sihalotrin, Sipermetrin, alfa-Sipermetrin, beta-Sipermetrin, theta-Sipermetrin, zeta-Sipermetrin, Sifenotrin, Deltametrin, Empentrin, Esfenvalerat, Etofenproks, Fenpropatrin, Fenvalerat, Flusitrat, Flumetrin, tau-Fluvalinat, Halfenproks, Imiprotrin, Kadetrin, Permetrin, Praletrin, Piretrinler (piretrum), Resmetrin, Silafluofen, Teflutrin, Tetrametrin, Tralometrin, Transflutrin
	3B DDT Metoksiklor	DDT, Metoksiklor
4 Nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) rekabetçi modülatörleri	4A Neonikotinoidler	Asetamiprid, Klotianidin, Dinotefuran, İmidakloprid, Nitenpiram, Tiyakloprid, Tiyametoksam
	4B Nikotin	Nikotin
	4C Sulfoksiminler	Sulfoksaflor
	4D Bütenolitler	Flupiradifuron
	4E Mezoiyonikler	Triflumezopirim
	4F Piridilidinler	Flupirimin

1.5.1. Organofosfatlı İnsektisitler

OF insektisitler asetilkolini parçalayan asetilkolin esterazın etkinliğini dönüşümsüz biçimde etkilerler. Başka bir deyişle OF grubu insektisitler kolinesterazı inhibe ederek etkilerini gösterirler. Paration, malation, diazinon ve diklorvos da aynı bölgeyi hedef alan organofosfatlı insektisitlerdendir (Ajiboye vd., 2022; Yavuz ve Şanlı, 1999). Dirence sahip ev sineği cinslerinin AChE geninde organofosfatlı insektisitlere karşı duyarsızlaşmaya neden olan çeşitli mutasyonlar tespit edilmiştir. Bahsi geçen insektisitlere karşı dirençli ve duyarlı

soylar karşılaştırıldığında hedef gen bölgesinde Val260→Leu, Gly342→Val, Gly342→Ala, Gly445→Ala ve Phe407→Tyr mutasyonları bildirilmiştir (Başkurt, 2010).

1.5.2. Karbamat Grubu İnsektisitler

Sentetik insektisitlerden olan karbamatlar fenol ve fenol türevlerinden üretilir. Karbaril, bu grubun en çok tanınan insektisitidir. Mide ve temas zehiri şeklinde etkilerini gösterirler. Yağ dokularında birikmedikleri için kısa sürede toksisitelerini kaybederler. Asetilkolinesteraz enziminin etkinliğini engelleyerek enzim faaliyetlerini inhibe ederler. Bu gruba örnek olarak bendiokarb, methiokarb, isoprokarb, pirolan, propoksur ve aldikarb gibi insektisitler verilebilir (Öncüer, 2004; Şanlı, 1988).

1.5.3. Organik Klorlu İnsektisitler

Yapısında bulunan klor (Cl^-) iyonları nedeniyle yeni organik klorlu bir insektisit olarak kabul gören fipronil, fenil pirazoller grubunda yer almakta ve dünyada kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Fipronil γ-aminobütirikasit (GABA) reseptörlerini etkisiz hale getirerek, hedef artropodların merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde, GABA reseptörleri tarafından kontrol edilen klor iyon kanallarından klor geçişine müdahale etmektedir. Bu etki artropodlarda ölümle sonuçlanan kontrolsüz merkezi sinir sistemi aktivitesine ve devamında paralize neden olmaktadır. GABA reseptör kanalları omurgalı ve omurgasız hayvanlarda sinirsel iletimde önemli rol oynamasına rağmen, fipronil omurgalı canlılarda GABA reseptörlerine omurgasızların aksine daha zayıf bağlanmaktadır (Casida ve Quistad, 2004; Ishaaya, 2001; Tingle vd., 2003).

1.5.4. Piretroid Grubu İnsektisitler

Piretroid grubunda yer alan insektisitler, tip-I (permetrin, piretrinler vb.) ve tip II (deltametrin, sipermetrin vb.) şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Genel olarak piretroid grubu insektisitlerin hedef yeri voltaj duyarlı sodyum kanalları (Vssc) olarak bilinmektedir. Tip I piretroidler, sinirsel boşalımda kendini gösteren ve ödürücü etkinliği sıcaklıkla ters orantılı olan sinirsel uyarı artışına sebep olmaktadır. DDT'ye benzer şekilde, tip I piretroidler artropodlar üzerinde öldürücü etki yaparlar. Tip II piretroidler ise sıcaklıkla orantılı biçimde

sinirsel iletim engelleyici ve öldürücü şekilde etkilerini gösterirler. Tip I piretroidler, Ca–ATP'azı tip II piretroidlere göre daha fazla inhibe edici özellik gösterirler (Ajiboye vd., 2022; Yavuz ve Şanlı, 1999).

1.5.5. Neonikotinoid Grubu İnsektisitler

Neonikotinoid insektisitler, OF ve karbamat insektisitlerin etkinliklerinde görülen azalma ve çevre sağlığı hususundaki endişelerden dolayı geliştirilmiş bir insektisit grubudur. Neonikotinoidler 1980'lerde geliştirilerek 1990'ların başından beri kullanılmaktadır (Goulson, 2013).

Neonikotinoidler tütün bitkisinde bulunan nikotin bileşiğinin sentetik türevleri olarak mide, temas ve sistemik etkili insektisitler şeklinde etkilerini gösterirler (Ser ve Çetin, 2016). Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin agonistleri olarak böceklerin merkezi sinir sistemi üzerinde etkilidirler. Bu reseptörlere kuvvetli bir şekilde bağlanırlar ve asetilkolinle aynı etkiye sahiptirler. Düşük konsantrasyonda sinir uyarımı, konsantrasyon arttıkça ise reseptör inhibisyonu ve kasılmalara, son olarak da ölüme sebebiyet verirler (Çetin, 2016; Goulson, 2013; Tomizawa ve Casida, 2005).

1.6. İnsektisit Direnci ve Direnç Tipleri

Direnç tanımı genel anlamda bir etkene karşı koyma veya dayanma şeklinde tanımlanmaktadır. Biyolojik direnç ise organizmanın, patojen, paraziter etkenler vb. gibi biyotik ajanların olumsuz etkilerinden kaçınma veya ağır metaller, pestisitler vb. gibi abiyotik ajanların etkilerine karşılık olarak gösterdiği doğal ya da genetik bir yetenek olarak tanımlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü ise direnci 'normal bir popülasyondaki bireylerin çoğunu öldürdüğü tespit edilen zehirli bir maddenin belirli bir dozuna karşı, aynı türün diğer popülasyonundaki bireylerin tolerans kazanma yeteneğinin gelişmesi' olarak vurgulamaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005).

İnsektisitlere ilişkin ilk direnç olgusu, A. L. Melander'ın 1914 yılında meyve yetiştirilen bahçelerde görülen San Jose (*Quadraspidiotus perniciosus* Comstock) kabuklu bitinde lime sülfür'e karşı geliştiği bildirilmiştir. Ardından II. Dünya Savaşı sonrasında

yoğun bir şekilde Diklorodifeniltrikloroetan (DDT) kullanımına bağlı olarak ev sineklerinde direnç gelişimine ilişkin olgular İsveç ve Danimarka'da 1947 yılında bildirilmiştir. Bunu takiben 1951 yılında Hawaii'de *Cimex lectularis* L. (tahta kurusu)'nda; Japonya ve Kore'de *Pediculus humanus humanus* L. (vücut biti)'nde dirençli popülasyonların görüldüğü bildirilmiştir. Pestisitlerin yaygın kullanımı ile birlikte direnç vakalarındaki hızlı artış 1970 yılında 224 türe, 1984 yılında ise 447 türe ulaştığı bildirilmiştir (Karaağaç, 2012; Metcalf, 1989).

Musca domestica mücadelesi belediyeler ve işletmeler için çok ciddi maliyet oluşturmakta ve kullanılan ilaçların ruhsatlanma miktarının üstüne çıkılması gıda işletmelerinde insan sağlığına zararlı etki oluşturacak gıda kalıntılarına yol açmaktadır. Sık ve yüksek dozlarda bilinçsiz uygulanan mücadele ise insektisitlerde direnç oluşumunu tetiklemektedir (Van Leeuwen ve Dermauw, 2016).

Böceklerde görülen direnci etkileyen faktörler biyolojik, işlevsel ve genetik olarak üç başlıkta toplanabilir. Bu faktörler içerisinde, biyolojik faktörler; besin ve habitat çeşitliliği, böcek türünün yayılışı, döl sayısı ve her döllenmede doğan böcek sayısı, popülasyonun genişliği, böceğin üreme başarısı gibi etmenleri içerir. Popülasyon ne kadar genişse, böceğin yayılış bölgesi ne kadar büyükse, döl sayısı ile her döllenmede doğan böcek miktarı ne kadar fazlaysa, böceğin habitat alanı ile besin seçiciliği ne kadar spesifikse, direnç gelişme kabiliyeti de o kadar yüksektir. İşlevsel faktörler; böcekten ziyade insektisite bağlı faktörleri içerir. Bu kapsamda etkenin etki spekturumu, çevredeki kalıcılığı, etki süresi, uygulama şekli ve aralığı, direnç gelişimi etkileyen en önemli işlevsel faktörlerdir. Genetik faktörler ise, direnç oluşumuna yol açan genlerinin frekansı ve baskınlığı ile direnç allellerinin farklılığını kapsar (Çakır ve Yamanel, 2005; Çetin, 2016).

Böceklerde pestisitlere karşı delişen direnç gelişimi; fizyolojik (metabolik), morfolojik (yapısal), davranışsal, hedef bölge direnci, çoklu direnç ve çapraz direnç olmak üzere 6 grupta toplanabilir (Çetin, 2016; Demiröz, 2015; Polat, 2022).

Fizyolojik direncin esasını biyokimyasal olaylar oluşturur ve en sık rastlanılan direnç gelişimi tipidir. Bu tür direnç gelişiminde; böcekte detoksifikasyon mekanizması ile pestisitin parçalanması veya daha zararsız metabolitlerine dönüştürülmesi, vücuttan hızlı bir şekilde atılması ya da yağ dokuda depolanması gibi olaylar rol oynar (Çetin, 2016; Öncüer,

2004). DDT'nin enzimatik aktivite ile diklorodifenildikloroetil (DDE)'ye dönüştürülmesi bu tip direnç gelişiminin en iyi örneklerinden birisidir (Öncüer, 2004).

Morfolojik (yapısal) direnç; böceğin dış vücut yapısına bağlı olarak gelişen direnç tipidir. Bu kapsamda; böceğin kutikula tabakasının kalın, bacaklarının kısa ya da uzun oluşu, böceğin vücudunun yerle temas etmemesi, 2. çift kanadının kalın oluşu gibi özellikler rol oynar (Çakır ve Yamanel, 2005; Çetin, 2016; Öncüer, 2004). Örnek olarak; temaslı bir pestisit uygulanmasında, bacakları uzun olan böcek türleri etken ile daha az temasta bulunacağı için insektisitin etkisi de düşük olacaktır.

Davranışsal direnç; böceğin davranışları ile gelişen bir direnç tipidir. Bu tipte gelişen direnç, tecrübe edilerek öğrenildiği ve böylelikle de içgüdüselleştirildiği için genellikle sonraki nesile de aktarılabilir. Bu kapsamda böceğin beslenmeyi kesmesi, bölgeden uzaklaşması (kaçması) ve stigmalarını kapatması gibi davranışlar rol oynar. Bazı depo zararlısı böceklerin pestisit uygulanan alanlarda stigmalarını kapatmaları, *Cydia pomonella* larvalarının pestisite maruz kaldıklarında besinleri yutmadan geri dışarı atmaları, ev sineklerinin pestisit uygulanmış alanlara girmekten kaçınmaları gibi davranışlar, bu direnç türünün en yaygın örnekleridir (Çakır ve Yamanel, 2005; Çetin, 2016).

Hedef bölge direnci; pestisitin böcek üzerinde etki oluşturduğu bölgede gelişen değişikliğe bağlı olarak etken maddenin hedef bölgede yeterli süre tutunamamasına ve böylelikle de yeterince etki oluşturamamasına bağlı olarak gelişien bir direnç tipidir. Hedef bölgede bulunan bir aminoasitin bile değişmesi etkene karşı direnç oluşumuna yol açabilir (Çakır ve Yamanel, 2005; Çetin, 2016).

Çoklu direnç; aynı anda etki mekanizması farklı pestisitlere maruz kalındığında gelişen bir direnç tipidir. Bu tür direnç gelişiminde, böcek birden fazla direnç mekanizmasını aynı anda geliştirebilir (Çetin, 2016, Polat, 2022).

Çapraz direnç; herhangi bir insektisite karşı direnç gelişiminden sonra, böceğin benzer maddelere veya benzer etki şekli gösteren diğer insektisitlere karşı da direnç göstermesi durumudur. DDT'ye karşı direnç gelişen ev sineklerinin sentetik piretroidlere karşı da direnç göstermesi bu tip direncin bir örneğidir (Şanlı, 1998).

Böceklerde gelişen dirençte bazı enzimler önemli rol oynar. Özellikle bu kapsamda; sitokrom-P-450 (monooksijenazlar), glutatyon-S-transferaz (GST), asetilkolinesteraz (AChE) ve karboksilesteraz (esterazlar, hidrolazlar) ön plana çıkar.

Monooksijenazlar; bakteri, bitki, böcek ve memeliler olmak üzere çoğu canlıda bulunan bir enzim grubudur. Enzim, ökaryotik canlılarda mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Böcek türleri içerisinde ilk defa *M. domestica*'dan izolasyonu yapılmıştır ve böceğin beslenmesi, büyümesi ve gelişmesi gibi temel yaşamsal faaliyetlerde rol alır. Enzim böceklerde insektisitlere nükleofilik ya da elektrofilik nitelikteki grupları ekleyerek atılabilir hale dönüştürülmelerinden sorumludurlar (Çakır ve Yamanel, 2005; Demiröz, 2015; Yorulmaz ve Ay, 2010).

GST enzimi ökaryot canlılarda bulunan bir enzimdir ve ilaçlar, insektisitler, kanserojen maddeler gibi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile hücre zarının korunması gb fizyolojik olaylarda rol alırlar. Enzim biyotransformasyon tepkimeleri içerisinde Faz II tepkimeleri aşamasında görev alır. Hatta son zamanlarda bu enzimin aracılık ettiği tepkimeler Faz III tepkimeler olarak da değerlendirilmektedir. Enzim, Faz I tepkimeleri sonucunda ara bileşiklere dönüştürülen pestisit gibi zehirli maddelerin, hidrofilik metabolitlerine dönüştürülerek vücuttan atılabilir hale getirilmelierini sağlar (Demiröz, 2015; Kaya, 2014; Pittendrigh vd., 2014; Yorulmaz ve Ay, 2010; Yu, 2008).

Asetilkolin; sinir sisteminde, sinir kavşaklarında, kolinerjik hedef yapılarda, sinirle kasların oluşturduğu kas taban plağında sinir iletiminden sorumlu nöromediyatör maddedir ve görevini tamamladıktan sonra etkisinin sonlandırılması gerekir. Etkisi sonlandırılmadığı takdirde sinirsel ve davranışsal bozukluklar oluşabilir. İşte bu kapsamda etkisinin sonlandırılmasında AChE enzimi rol oynar. OF ve karbamat grubu pestisitler AChE'nin serin aminoasidinde bulunan hidroksil grubuna (-OH) bağlanarak enzimi baskılar. Bunun sonucu asetilkolinin nöromediyatör olarak görev aldığı yapılarda zehirlenme belirtileri meydana gelir (Kaya, 2014; Whalon vd., 2008).

Hidrolazlar; çoğu ökaryotik canlıda bulunan bir enzim grubudur ve kimyasal yapılarında bulunan amid, ester ve fosfat grupları nedeniyle çoğu pestisitin zararsız metabolitlerine dönüştürülmesinde görev alırlar. Bu grup içerisinde yer alan esterazlar, böceklerde çoğu biyolojik olayın gerçekleşmesinde rol alırlar. Bu kapsamda sinir iletimi,

hormon ve feromon metabolizması, üreme davranışı ve pestisitlerin biyotransformasyonu gibi olaylar yer alır (Demiröz, 2015; Pittendrighvd., 2014; Yorulmaz ve Ay, 2010).

1.6.1. Direnç Mekanizmaları

Artropodlarda insektisit direncini oluşturan başlıca iki mekanizma vardır: 1) Hedef etki alanına ulaşan etkili insektisit dozunun azaltılması yoluyla (farmakokinetik), 2) Hedef etki alanının kendisinin değiştirilmesi yoluyla (farmakodinamik) dır. (Van Leeuwen ve Dermauw, 2016). Detoksifikasyon (genellikle sitokrom P450 monooksijenaz, esteraz ve glutatyon S-transferaz aracılığıyla), davranışsal direnç, adsorpsiyonun azalması ve penetrasyon (kütikular kalınlaşma gibi), detoksifikasyon gibi (genellikle sitokrom P450 monooksijenaz, esteraz ve glutatyon S-transferaz aracılığıyla) mekanizmaların tümü, nihayetinde hedef bölgeye varan pestisit miktarının azalmasına (farmakokinetik) yardımcı olmaktadır. Pestisitin hedef proteine bağlanmasını (farmakodinamik) azaltan ve engelleyen ise hedef nokta mutasyonlarıdır (Feyereisen vd., 2015). Sineklerde görülen direnç olgularının %90'ından fazlası detoksifikasyon (metabolik direnç) veya hedef yeri mutasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir (Van Leeuwen vd., 2009; Van Leeuwen ve Dermauw, 2016). Hedef etki yerinde meydana gelen değişiklikler, öncelikle hedef genin diziliminin bilinmesi ve akabinde bu hedef yerinin çoğaltılması ve hassas-dirençli popülasyonlar arası yapılan karşılaştırmalar ile gerçekleştirilmektedir (Feyereisen vd., 2015).

Bu çalışma ile Ankara ilinde yer alan, ev sineklerinin önemli yaşam alanlarından biri olan kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında, hedef etki yeri voltaj duyarlı sodyum kanalları olan permetrin (tip 1 piretiroid), deltametrin (tip 2 piretiroid); asetilkolinesteraz olan bendiokarb ve GABA reseptörleri olan fipronil'e karşı gelişen direnç durumlarının ortaya konması amaçlanmıştır. Bu bağlamda yaptığımız çalışma ile; Türkiye'de ilk defa kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında direnç durumları incelenmiştir. Ayrıca ilk defa detaylı olarak voltaj duyarlı sodyum kanalları, asetilkolinesteraz ve GABA reseptörleri mutasyonları taranarak, elde edilen mutasyonlar toksisite testleri ile değerlendirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırma Alanı

2.1.1. Genel Özellikleri

Ankara ili (Şekil 2.1.) İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeybatısında, 32° 50' doğu boylamı ve 39° 55' kuzey enlemi koordinatlarında yer alır. Doğusunda Kırıkkale ve Kırşehir, batısında ise Eskişehir ve kuzeyinde de Çankırı yer alır. Ankara ili 13 Ekim 1923 tarihinden beri Türkiye'nin başkentidir. Türkiye'nin en yoğun nüfusa sahip ikinci şehridir; TÜİK 2023 yılı verilerine göre nüfusu 5.782.285 olarak tespit edilmiştir. Yüz ölçümü ise 25.978 km^2'dir.

Cumhuriyetin ilk senelerinde ekonomisi tarım ve hayvancılığa bağlı olan Ankara'nın arazilerinin yarısı günümüzde de tarım amaçlı kullanılır. Ekonomik etkinliği yüksek oranda sanayi ve ticarete bağlıdır. Tarım ve hayvancılığın yaygınlığı son zamanlarda iyice azalmaktadır. Ankara ve çevresindeki kamu ve özel sektör yatırımları, diğer şehirlerden yoğun bir nüfus göçünü teşvik etmiştir. İl sınırları içerisinde 25 ilçe yer alır.

2.1.2. İklim Özellikleri

Ankara'nın güney-orta kesimlerinde karasal iklim kar yağışlı ve soğuk kışlarla, sıcak ve kurak yazlarla, kuzey kesimlerinde ise Karadeniz iklimi ılık ve yağışlı koşullar şeklinde görülür. Karasal iklimin gördüldüğü yerlerde gece-gündüz, yaz-kış mevsimleri arasında kayda değer sıcaklık değişiklikleri bulunur. Temmuz veya Ağustos en sıcak ay olarak kabul edilir. İlde görülen en yüksek sıcaklıklar 27-31° C'dir. Ocak ayı ise en soğuk aydır, en düşük sıcaklıklar ise -6 ila -1 °C arasında görülür. Yağışın gördüldüğü aylar en fazla Mayıs, en az Temmuz veya Ağustos ayıdır. Ankara ilinin bitki örtüsü ise bozkır ve ormanlardır.



Şekil 2.1. Ankara ili haritası

2.2. Arazi ve Laboratuvar Çalışmaları

Musca domestica populasyonlarının Türkiye'de Ankara ilinde faaliyet gösteren 16 adet kesimhaneden (Şekil 2.2.) toplanması planlanmıştır. Ancak bu kesimhanelerden 3 tanesinin aktif olarak çalışmamasından dolayı 13 adet kesimhaneden örnekler toplanmıştır (Çizelge 2.1.). Örneklerin toplanması sineklerin yeni çoğalmaya başladıkları Haziran ayında ve çok yüksek populasyon sayılarına ulaştıkları Eylül aylarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.2. Ankara ilinde bulunan bir kesimhane

Çizelge 2.1. Kesimhanelerin bulunduğu ilçeler

Sıra No	İlçe Adı	Kesimhane Sayısı
1	Ayaş	1
2	Beypazarı	1
3	Çubuk	1
4	Elmadağ	1
5	Kazan	1
6	Kızılcahamam	1
7	Nallıhan	1
8	Polatlı	4
9	Sincan	3
10	Şereflikoçhisar	1
11	Yenimahalle	1

2.2.1. Ev Sineklerinin Toplanması

Ev sinekleri, kesimhanelerin etrafından atrap yardımıyla toplanmıştır (Şekil 2.3.). Sinekler toplanırken diğer sinek türlerinden ayırt etmek için özellikle renk, boyut, kanat,

toraks ve abdomen morfolojisine dikkat edilerek toplanmıştır. Sinekler toplandıktan sonra yüksek sıcaklığa, yüksek neme ya da açlık stresine maruz kalmamalıdır. Bu nedenle, atrap yardımıyla toplanan sinekler, içinde %20'lik sukroz emdirilmiş pamuk bulunan 50×50×50 cm'lik tül kafesler içerisine konulmuştur. Daha sonra kafesler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilmiştir. Ev sineklerinin toplandığı yerler, toplanma tarihleri, son ilaçlamada kullanılan kimyasallar ve ilaçlama tarihleri not edilmiştir.



Şekil 2.3. Ev sineklerinin toplanması

2.2.2. Kültürlerin Bakımı

Kesimhanelerden canlı olarak yakalanan ev sinekleri uygun sıcaklık ve nem değerleri altında kültüre alınmıştır. Popülasyonların gelişimini ve sürekliliğini sağlamak için 25±1 ^{0}C ve %70-75 bağıl nemde (RH), 16:8 aydınlık/karanlık ışık periyodunda tutulmuştur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Ev sineklerinin tutulduğu ortam

2.2.2.1. Ergin Sineklerin Beslenmesi ve Yumurtlaması

Laboratuvar koşullarında ergin sineklerin beslenmesi için ½ oranında şeker/süt karışımı kullanılmıştır. Hazırlanan şekerli süt karışımları ekmeğe emdirilerek sineklerin

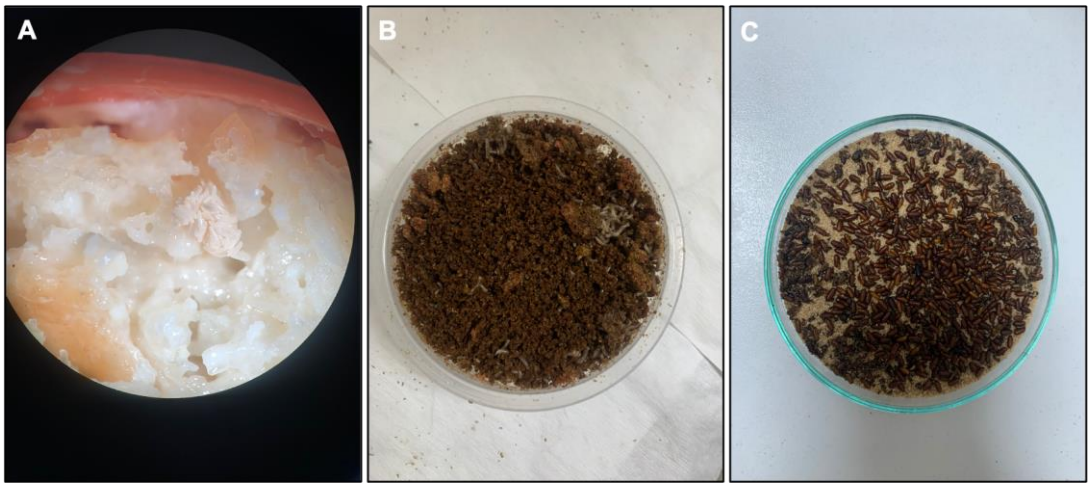
bulunduğu kafesler içerisine petri içinde aktarılmış; bu besin, her 48 saatte bir yeniden hazırlanarak eskisiyle değiştirilmiştir.

Ayrıca sineklerin su ihtiyaçlarını karşılamaları için su emdirilmiş pamuklar düzenli olarak yetiştirme kafeslerinin içerisine bırakılmıştır. Bu şekilde susuzluk nedeniyle ölümler engellenmiştir.

2.2.2.2. Larvaların Yetiştirilmesi

Dişi sinekleri yumurtlama olarak cezbetmek amacıyla bir kağıt peçete yoğunlaştırılmış süte batırılmıştır. Daha sonra bu peçete derin bir plastik kaba boşluklar olacak biçimde hafif kıvrılarak yerleştirilerek dişi sineklerin yumurtlaması sağlanmıştır. Yumurtalar piset ile nazikçe yıkanarak petri kabı içine aktarılmıştır.

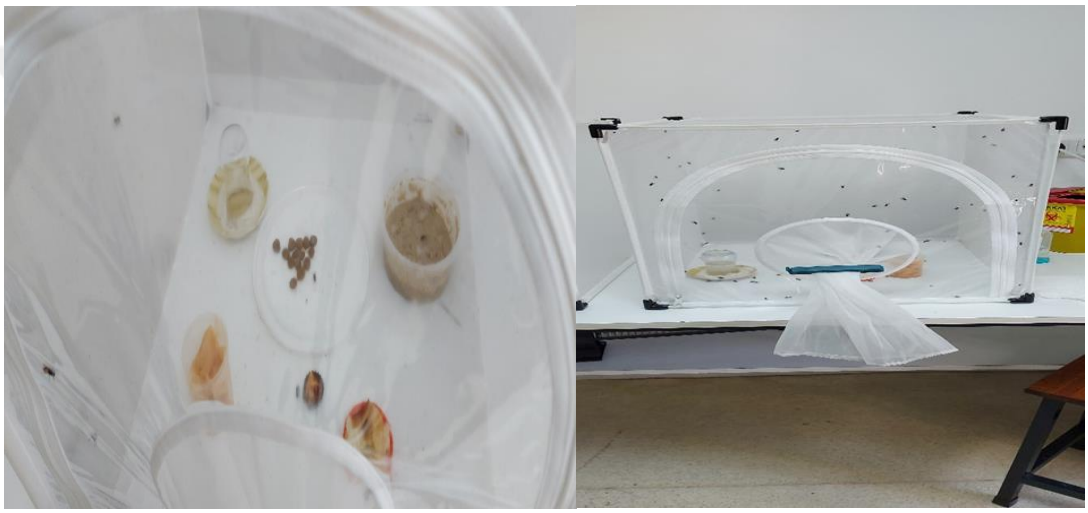
Toplanan yumurtalardan larvaların çıkması ve gelişimlerini tamamlaması amacı ile uygun ortamlar hazırlanmıştır. Bu amaçla kare plastik kap içerisinde 10 gr süt tozu, 4 gr kuru maya, 15 gr ıslak ve yumuşak kıvamda yonca peleti, 56 gr buğday kepeği, 150 ml distile su karıştırılarak uygun ortam hazırlanmıştır. Yıkanarak toplanan yumurtalar bu ortam üzerine bırakılmış ve iki gün boyunca toplanan yumurtalar aynı medya üzerine aktarılarak her iki günde bir yeni medya hazırlanmıştır. Bu işlem düzenli bir şekilde devam ettirilmiştir (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. a. yumurta, b. larva ve c. pupa evreleri

Yonca peletinin hazırlanması için, kemirgen yemi olarak kullanılan yonca peletleri distile su ile 3:1 oranında karıştırılıp 20-30 dakika bekletilerek yumuşak kıvam elde edilmiştir. Hazırlanan yonca peletleri +4 ^{0}C'de 3 hafta kadar muhafaza edilebilir niteliktedir.

Ev sineği larvaları laboratuvar ortamında yaklaşık 2-4 hafta arasında gelişimlerini tamamlar. Bu süreç uygun sıcaklık, nem ve ışık periyodu içeren iklim kabini (Nüve, TK252) içerisinde gerçekleştirilir. Bu süre boyunca larvalar gözlemlenmekte ve pupa aşamasına geçer geçmez plastik kaplar tül kafes içine alınmakta ve ergin aşamaya geçiş beklenilmektedir (Şekil 2.6 ve Şekil 2.7.).



Şekil 2.6. Kültürlerin bakımı ve beslenmesi (1)



Şekil 2.7. Kültürlerin bakımı ve beslenmesi (2)

2.2.2.3. *Musca domestica* Populasyonlarının Tür Teşhislerinin Doğrulanması

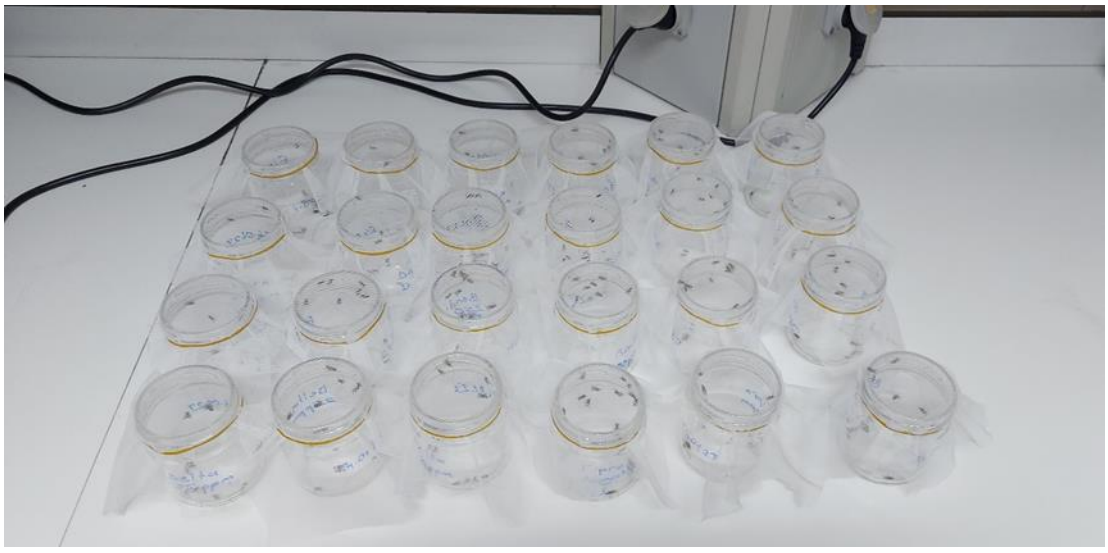
Sineklerin tür tayini, her biri ayrı kesimhaneden olmak üzere toplamda 13 popülasyon içerisinden rastgele örneklem yapılarak hem morfolojik anahtarlar hem de moleküler (mtCOI bölgesi) yöntemlerle doğrulanmıştır. DNA izolasyonu literatüre dayanarak 30 bireye ait bacaklardan havuz yapılarak elde edilmiştir. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu için DNeasy Blood & tissue kit (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır. Elde edilen DNA'nın ölçümü için NanoDrop spektrofotometresi kullanılmıştır. DNA konsantrasyonları 11,4-17 ng/µL arasında ölçülmüştür. Daha sonra tür teşhisi için universal Folmer COI primerleri (LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3,' HC02198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') kullanılmıştır (Folmer vd., 1994). PCR reaksiyonları EmeraldAmp® Mastermix (Takara, Japonya) ile gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonu 30 µL hacimde PCR cihazında (Thermal cycler, Applied Biosystems, ABD) gerçekleştirilmiştir. Her reaksiyon 2 µL DNA, 15 µL PCR mastermix, 1 µL ileri primer, 1 µL geri primer, 11 µL ultra saf su olarak hazırlanmıştır. Folmer primerleri için PCR koşulu için 95 ºC'de 4 dk'lık başlangıç denaturasyonu, devamında 35 siklus olacak şekilde; 95 ºC'de 30 sn (denaturasyon) 48 ºC'de 30 sn (bağlanma), 72 ºC'de 45 sn (uzama) ve 72 °C'de 7 dk son ekstensiyon basamağından oluşmaktadır. PCR ürünleri elektroforez jelde (Bioevopeak, Jinan, Çin) görüntülenerek sekans hizmeti alınmıştır. Elde edilen dizilimler NCBI veribankasında "BLAST" (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) analizine tabi tutularak tür teşhisi gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. Biyolojik Etkinlik Testleri

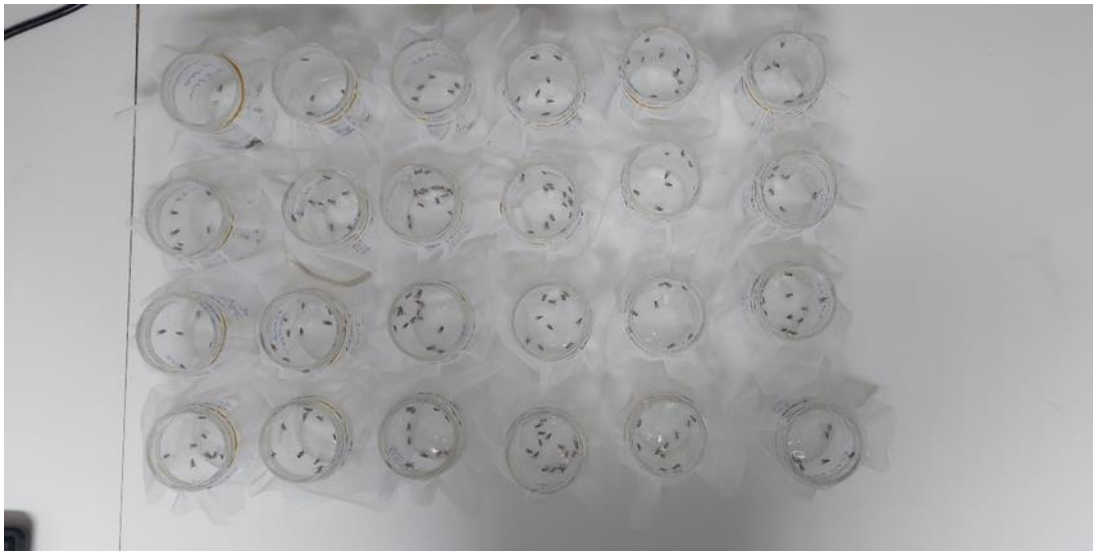
Toksisite testleri IRAC'da belirtilen yöntem temel alınarak yapılmıştır (IRAC, 2011). Bunun için toplanarak laboratuvara getirilen sinekler yukarıda belirtildiği gibi yetiştirilme ünitesine alınmıştır. Yeterli sayıya ulaştığı gözlenen ergin dişi sinekler toksisite denemeleri için kullanılmıştır.

Toksisite denemeleri (Şekil 2.8. ve Şekil 2.9.) zaman ve iş gücü göz önünde bulundurularak Haziran ve Eylül aylarında toplanan beş farklı *M. domestica* popülasyonunda gerçekleştirilmiştir.

Toksisite testlerinde, insektisitlere ait ticari formülasyonlar yerine teknik maddeler kullanılmıştır. Her ticari formülasyon içinde farklı taşıt maddeler bulunmaktadır. Bunları elimine ederek direkt insektisitlerin etkisini görmek için teknik maddeler kullnılmıştır. Her kimyasal için distile su içinde stok solüsyon hazırlanmış, ön deneme yapılarak dozlar belirlenmiş ve kademeli azalan şekilde %20'lik sukroz içinde dozlanmıştır. Her bir yoğunluk için yaklaşık olarak 5 ml pestisit solüsyonu gerekmektedir. Hazırlanan her dilüsyon rulo diş pamuğuna (2cm) emdirilerek 175 ml hacimli plastik kap içerisine yerleştirilmiştir. 10 adet aynı boyutta ergin dişi sinek alınarak her bir kaba yerleştirilmiş ve delikli tül ile kapatılmıştır. Hazırlanan deney düzenekleri 25±1 ^{o}C ve %70-75 bağıl nemde (RH), 16:8 aydınlık/karanlık ışık periyodunda tutulmuştur. Denemeler, her pestisit için en az 5 farklı dozda ve 3 tekrarlı olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu dozlar; permetrin (CAS No:52645-53-1, Merck, Almanya), deltametrin (CAS No:52918-63-5, Merck, Almanya) ve bendiokarb (CAS No:22781-23-3, Merck, Almanya) için 100-500-1000-1500-2500 ppm, fipronil (CAS No:120068-37-3, Merck, Almanya) için 1,5-3-7,5-10-15 ppm olarak belirlenmiştir. Her denemede negatif kontrol için en az 3 tekrarlı %20'lik sukroz kullanılmıştır. Kontrol petrilerinde ölü sinek oranının %10'u geçmesi halinde deneme grubu iptal edilerek yeniden hazırlanmıştır. Mortalite 24. ve 48. saatlerde ölü/canlı sayımları yapılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede, sinekler; etkilenmemiş olanlar, kaplar hafifçe hareket ettirildiğinde normal tepki verenler ya da ölü veya etkilenmiş olanlar, etkiye normal dışı tepki verenler ya da anormal hareketler sergileyenler olarak sınıflandırılmıştır. Bu nedenle, yanıt yüzdesi veya ölüm oranı hem ölü hem de etkilenen sinekleri içermektedir. Hassas popülasyon olmadığı için de direnç katı az orta yüksek şeklinde hesaplanamamaktadır.



Şekil 2.8. Toksisite denemeleri (1)



Şekil 2.9. Toksisite denemeleri (2)

2.2.4. Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

Deneme sonlarında LC50 (Letal konsantrasyon: popülasyonun yarısını öldüren konsantrasyon) ve LC90 (popülasyonun %90'ını öldüren konsantrasyon) değerleri PoloPlus-PC programı (LeOra, Software, Berkeley, CA, ABD) kullanılarak probit analizi ile hesaplanmıştır. Kontrol gruplarında ölü *M. domestica* oranının %10'u geçmesi halinde deneme grubu iptal edilerek yeniden hazırlanmıştır.

2.2.5. *Musca domestica* Populasyonlarından DNA İzolasyonu

Genomik DNA (gDNA), DNeasy Blood & tissue kit (Qiagen, Almanya) ile firmanın talimatlarına uyularak gerçekleştirilmiştir. Kısaca, her kesimhaneden 30 adet *M. domestica* bacakları ayrılarak havuz yapılıp, 180 µL buffer ATL bulunan tüpe aktarılmış; 20 µL Proteinase K eklenerek, steril pestle ile dikkatli bir şekilde ezilmiştir. Bu şekilde gece boyu 56 °C su banyosunda inkübasyona bırakılmış, ardından 200 µL Buffer AL eklenerek 10 dk boyunca 56 °C su banyosunda tutulmuştur. Devamında 200 µL %96-100'lük etanol eklenerek karışım DNeasy filtreli kolon tüpe aktarılmış ve 1 dk, 8.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Tüp ve içindekiler uzaklaştırılmış, filtre ise ayrılmıştır. Filtre üzerindeki DNA 500 µL AW1 Buffer ile yıkanmış ve 1 dk süre ile 8.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Aynı yıkama işlemi ikinci defa AW2 ile tekrarlanmıştır. Ancak bu sefer 3 dakika 13.000 rpm'de santrifüj

uygulanmıştır. Son olarak DNA, filtreden 150 - 200 µL Elution Buffer aracılığıyla ayrıştırılmış ve 1 dk 8.000 rpm'de santrifüj edilerek 1.5 ml'lik eppendorf tüp içine aktarılmıştır. Elde edilen DNA'nın kalite ve kantitesi %2 'lik jel elektroforezi (Bioevopeak, Jinan, Çin) ve spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, OH, ABD) ile kontrol edilmiş, sonrasında muhafazası için -20 °C'de depolanmıştır.

2.2.6. Hedef Bölge Mutasyonlarının Araştırılması

Kesimhanelerden toplanan *M. domestica* popülasyonlarında hedef bölge mutasyonları taranmıştır. Yapılan toksisite denemelerinde, permetrin, deltametrin ve bendiokarb'ın yüksek dozlarda etkinlik gösteremedikleri tespit edilirken, fipronil uygulamalarında hassasiyet açık bir şekilde görülmüştür. Bu nedenle, zaman ve maddi kayıbın önüne geçebilmek için hassas bulunan fipronil etken maddesi için mutasyon taraması yapılmamıştır. Çizelge 2.2.'de yer alan primerler kullanılarak direncin tespit edildiği permetrin, deltametrin ve bendiokarb etken maddeleri için Vssc, CYP6D1, Ace gen bölgelerinde yer alan mutasyonlar incelenmiştir. Tespit edilen mutasyonlar ve toksisite test sonuçları karşılaştırılmıştır.

Her bir PCR reaksiyonu 30 µL hacimde gerçekleştirilmiştir. Her reaksiyon 2 µL DNA, 15 µL PCR mastermix, 1 µL ileri primer, 1 µL geri primer, 11 µL ultra saf su olarak hazırlanmıştır.

Vssc primerleri için PCR koşulu için 95 °C'de 4 dk'lık başlangıç denaturasyonu, devamında 35 siklus olacak şekilde; 95 °C'de 30 sn (denaturasyon), 57 °C'de 20 sn (bağlanma), 72 °C'de 10 sn (uzama) ve 72 °C'de 7 dk son ekstensiyon basamağından oluşmaktadır. CYP6D1 primerleri için PCR koşulu için 95 °C'de 4 dk'lık başlangıç denaturasyonu, devamında 35 siklus olacak şekilde; 95 °C'de 30 sn (denaturasyon), 55 °C'de 30 sn (bağlanma), 72 °C'de 30 sn (uzama) ve 72 °C'de 7 dk son ekstensiyon basamağından oluşmaktadır. AChE primerleri için PCR koşulu için 95 °C'de 4 dk'lık başlangıç denaturasyonu, devamında 35 siklus olacak şekilde; 95 °C'de 30 sn (denaturasyon), 55 °C'de 30 sn (bağlanma), 72 °C'de 30 sn (uzama) ve 72 °C'de 7 dk son ekstensiyon basamağından oluşmaktadır.

Çizelge 2.2. Hedef bölgelerin çoğaltılmasında kullanılacak primerler (Freeman, 2019)

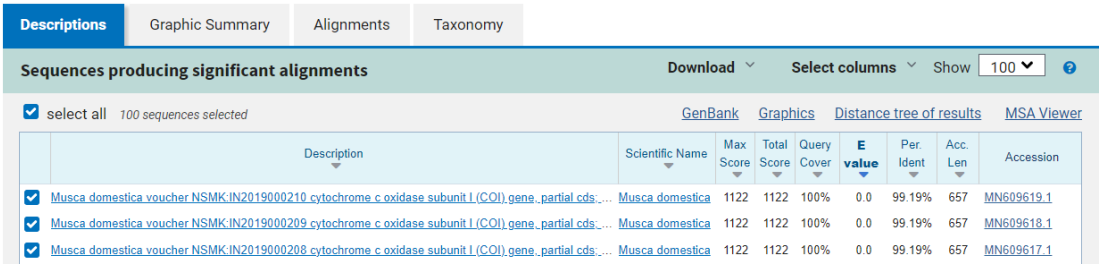
Gen	Genotiplendirilmiş Alanlar	Primer Adı	Sekans
Vssc	L1014H/F	kdrFL	TCGCTTCAAGGACCATGAATTACCGCGCTG
	L1014H/F	MdSCR7	TGGTATCATTGTCGGCAGTC
	M918 T, T929I	MdSCF52	GCAAAATCATGGCCCACACT
	M918 T, T929I	MdSCR3	GTTCTTTCCGAAAAGTTGCATTCC
	D600N	MdSCF61	AATACGAAATGGGCGTGGAC
	D600N	MdSCR62	CATTCTCTTCGGACATTGGTG
CYP6D1	5’ UTR insertion	Md6D1F1	CCGTCATTTACAACGCATTAGG
	5’ UTR insertion	Md6D1R2	ACCTTCTCGTGGCATTTGTC
AChE	V260 L, A316S, G342A/V, F470Y	MdAceF1	CCGTCATTTACAACGCATTAGG
	V260 L, A316S, G342A/V, F470Y	MdAceR1	ACCTTCTCGTGGCATTTGTC

3. BULGULAR

Çalışma süresince Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Elmadağ, Kazan, Kızılcahamam, Nallıhan, Şereflikoçhisar ve Yenimahalle ilçelerinden birer adet; Polatlı ve Sincan ilçelerinden ise ikişer adet olmak üzere toplamda 13 adet büyükbaş kesimhanesi ziyaret edilmiştir. Ziyaret edilen her kesimhaneden en az 50 adet sinek yakalanarak %90'lık alkol içerisine alınmıştır. Ayrıca toksisite denemelerini gerçekleştirmek için; Yenimahalle, Kazan, Çubuk, Sincan ve Polatlı kesimhanelerinden 45x45x45 cm ölçülerinde tül kafesler içine canlı popülasyonlar da toplanmıştır.

3.1. *Musca domestica* Tür Teşhisi

Toplanan *M. domestica* popülasyonlarının tür teşhisi için hem morfolojik teşhis anahtarları hem de mitokondrial COI gen bölgesi kullanılmıştır. Moleküler karakterizasyonu için her popülasyondan elde edilen DNA örnekleri Folmer primerleri ile çoğaltılmış ve dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Sekans dizilerinin BLAST analizi sonucunda %99 ve üzeri *M. domestica* benzerliği tespit edilmiştir. En yüksek benzerlik oranı Kore'den paylaşılan gen dizilimi ile kurulmuştur (Aksesyon numarası: MN609619) (Şekil 3.1.). Elde edilen COI dizilimleri GenBank sistemine kaydedilmiştir.



Şekil 3.1. GenBank BLAST analiz sonuçları

3.2. Toplanan *M. domestica* Popülasyonlarında Direncin Belirlenmesi

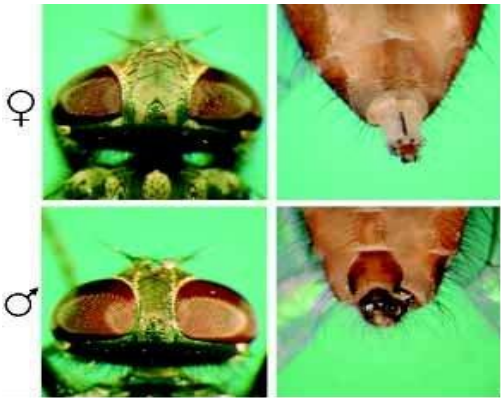
Bu amaçla Ankaranın farklı ilçelerinde yer alan mezbahalardan toplanan *M. domestica* popülasyonlarında, halen yoğun olarak kullanılan pestisitlerden olan permetrin, deltametrin, bendiokarb ve fipronil aktif maddelere karşı olan direnç durumu ve hedef bölge mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. Direnç durumunun toksisite testleri ile

belirlenmesinde Yenimahalle, Kazan, Çubuk, Sincan ve Polatlı popülasyonları kullanılırken, hedef bölge mutasyonlarının varlığı 13 kesimhaneden toplanan bütün örneklerde taranmıştır. Sineklerin toplandığı kesimhanelere ait *M. domestica* mücadelesinde kullanılan kimyasallar ve toplanmadan kaç gün önce son ilaçlamanın yapıldığı bilgileri kaydedilmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Kesimhanelerde kullanılan kimyasallar ve ilaçlama tarihleri

No	Kesimhaneler	*M. domestica* mücadelesinde kullanılan kimyasallar	Son ilaçlama tarihi (gün önce)
1	Birlik	deltametrin, tetrametrin, sipermetrin, piperonil bütoksit	5
2	Et Süt Kurumu	deltametrin, tiametoksam	10
3	Temelli	tiametoksam	7
4	Ayaş	permetrin, deltametrin	14
5	Beypazarı	deltametrin	19
6	Çubuk	deltametrin	8
7	Kazan	tiametoksam	7
8	Kızılcahamam	tiametoksam	10
9	Nallıhan	deltametrin, permetrin,tetrametrin	20
10	Polatlı	alfasipermetrin	5
11	Sincan	permetrin, tetrametrin	14
12	Susuz	tiametoksam	3
13	Şereflikoçhisar	tiametoksam	13

Toksisite denemeleri sonucunda elde edilen veriler Çizelge 3.2.'de verilmiştir. LC50 değerlerini hesaplayabilmek için en az 5 farklı dozda ve 3 tekrarlı olacak şekilde denemeler hazırlanmıştır. Toksisite testlerinde sadece dişi bireyler kullanılmış ve her doz için ilgili viale 10 adet dişi *M. domestica* aktarımı gerçekleştirilmiştir. Dişi erkek ayrımında ise göz ve abdomen morfolojisinden faydalanılmıştır (Şekil 3.2.). Elde edilen ölü-canlı verileri PoloPlus-PC programında probit analizine tabi tutulmuştur. Bu bağlamda, tüm popülasyonlarda permetrin ve deltametrin, ayrıca Kazan ve Çubuk popülasyonunda ek olarak bendiokarb LC50 değerleri çok yüksek dozlarda dahi tespit edilememiştir ve en son denenen dozdan büyük olduğu şeklinde veriler kaydedilmiştir. Bu veriler direnci göstermekte yeterli olduğu ve çok yüksek dozların uygulayıcıya olan yan etkilerinden de kaçınmak için daha üst dozlar denenmemiştir. Fipronil LC50 değerleri ise Yenimahalle popülasyonunda 7,132 (5,499 – 8,779) ppm tespit edilirken, Kazan popülasyonunda 5,142 (3,796 – 6,214) ppm ve Çubuk popülasyonunda 6,850 (4,567 – 8,953) ppm, Sincan popülasyonunda 2,813 (1,116-4,375) ppm, Polatlı popülasyonunda 4,618 (3,352-5,852) ppm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Dişi ve erkek ev sineği ayrımı

Çizelge 3.2. *Musca domestica* popülasyonlarında permetrin, deltametrin, fipronil ve bendiokarb aktif maddelerine karşı belirlenen LC50 değerleri ve direnç oranları.

Populasyon	Aktif madde	n (sinek sayısı)	Slope+SE	LC_{50} (mg a.i./L) (95% CL)	df	x^2
KAZAN	Permetrin	180		>2500		
	Deltametrin	180		>2500		
	Fipronil	180	4,066 ± 0,907	5,142 (3,796 – 6,214)	13	12,267
	Bendiokarb	180		>2500		
YENİMAHALLE	Permetrin	180		>2500		
	Deltametrin	180		>2500		
	Fipronil	180	3,141 ± 0,617	7,132 (5,499 – 8,779)	13	7,912
	Bendiokarb	180	7,054 ± 2,341	1541,866 (1087,904 – 1828,928)	13	4,985
ÇUBUK	Permetrin	180		>2500		
	Deltametrin	180		>2500		
	Fipronil	180	3,329 ± 0,668	6,850 (4,567 – 8,953)	13	12,206
	Bendiokarb	180		>2500		
SİNCAN	Permetrin	180		>2500		
	Deltametrin	180		>2500		
	Fipronil	180	1,270 ± 0,353	2,813 (1,116- 4,375)	13	11,896
	Bendiokarb	180	4,349 ± 1,097	1321,045 (1029,875- 1566,257)	13	3,592
POLATLI	Permetrin	180		>2500		
	Deltametrin	180		>2500		
	Fipronil	180	2,746 ± 0,508	4,618 (3,352-5,852)	13	4,448
	Bendiokarb	180		>2500		

Hedef bölge mutasyonlarının varlığının araştırılması için çalışmada kullanılan ilaçların etki bölgelerinde olabilecek mutasyonlar incelenmiştir. Bu amaçla, toplanan tüm popülasyonlardan elde edilen DNA'lardan, permetrin ve deltametrin aktif maddesi için voltaj kapılı sodyum kanalları ve CYP6D1 bölgesi, bendiokarb aktif maddesi için asetilkolin esteraz (AChE) geni çoğaltılarak sekans dizileri elde edilmiştir. Bu gen bölgelerini çoğaltmak için toplamda 5 adet primer çifti kullanılarak 13 popülasyon için toplamda 65 adet sekans dizilimi elde edilmiştir. Bu bölgelerde hem daha önceden tespit edilen mutasyonlar (voltaj kapılı sodyum kanalları için; M918T, T929I, D600, L1014F/H, asetilkolin esteraz gen bölgesi için; V260L, G342A/V, F407Y) (Şekil 3.5. ve 3.6.) hem de yeni olası mutasyonlar (Şekil 3.3. ve 3.4.) yönünden incelenmiştir. CYP6D1 bölgesi ise 15 bp'lik alanın bu gen içine insersiyonu olup olmadığı yönünden incelenmiştir. Ancak, bu bölgede herhangi bir insersiyon tespit edilmemiştir.

Voltaj kapılı sodyum kanalları mutasyonları incelendiğinde, M918 ve D600 aminoasitlerinde hiçbir popülasyonda mutasyon tespit edilmemiştir. Ancak, T929 aminoasit pozisyonunda 13 popülasyonun 12'sinde Treonin (T) aminoasitinin Izolösin'e (I) dönüştüğü görülmüştür. Lösin (L) 1014 aminoasit pozisyonunda ise bütün popülasyonlarda mutasyon tespit edilmiştir. Tespit edilen mutasyonların tamamında Fenilalanin (F) aminoasitini ortak içerirken, 5 tanesi ek olarak Histidin (H) aminoasitini de içermektedir. Çalışmada havuz DNA kullanıldığı için mutasyonlara ait homozigot ve heterozigotluk hakkında yorum yapılamamaktadır. Tespit edilen mutasyonlar Çizelge 3.3. ve Çizelge 3.4.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada Haziran ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının voltaj kapılı sodyum kanallarında tespit edilen ve piretroid direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar.

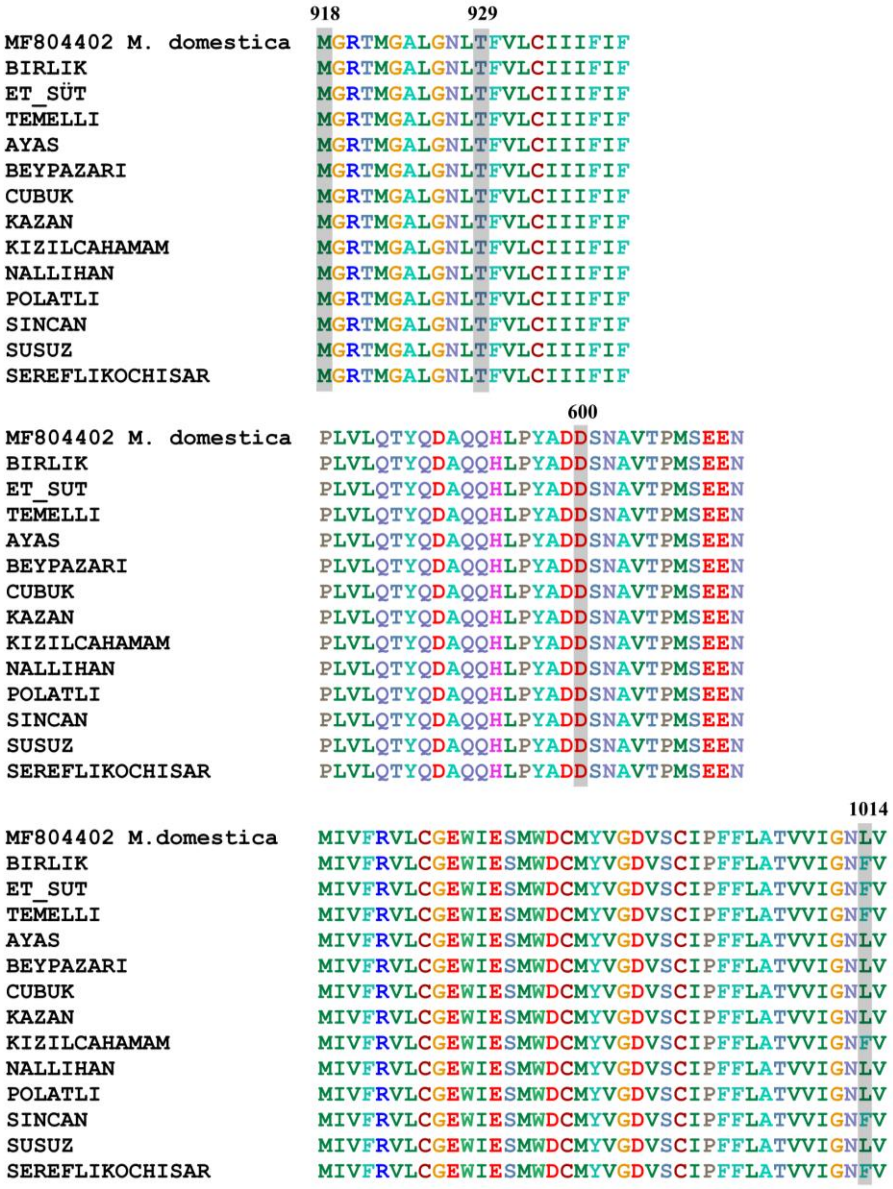
No	Populasyon	M918	T929	D600	L1014
1	Birlik	M	T/I	D	F/L
2	Et Süt Kurumu	M	T/I	D	F/L
3	Temelli	M	T/I	D	F/L
4	Ayaş	M	T/I	D	L/F/H
5	Beypazarı	M	T/I	D	L/F
6	Çubuk	M	T	D	L/H/F
7	Kazan	M	T/I	D	L/F
8	Kızılcahamam	M	T/I	D	F/L/H
9	Nallıhan	M	T/I	D	L/F
10	Polatlı	M	T/I	D	L/F
11	Sincan	M	T/I	D	F/L/H
12	Susuz	M	T/I	D	L/F
13	Şereflikoçhisar	M	T/I	D	F/H/L

M: Metiyonin, T: Treonin, I: İzolösin, D: Aspartat, F: Fenilalanin, L: Lösin, H: Histidin

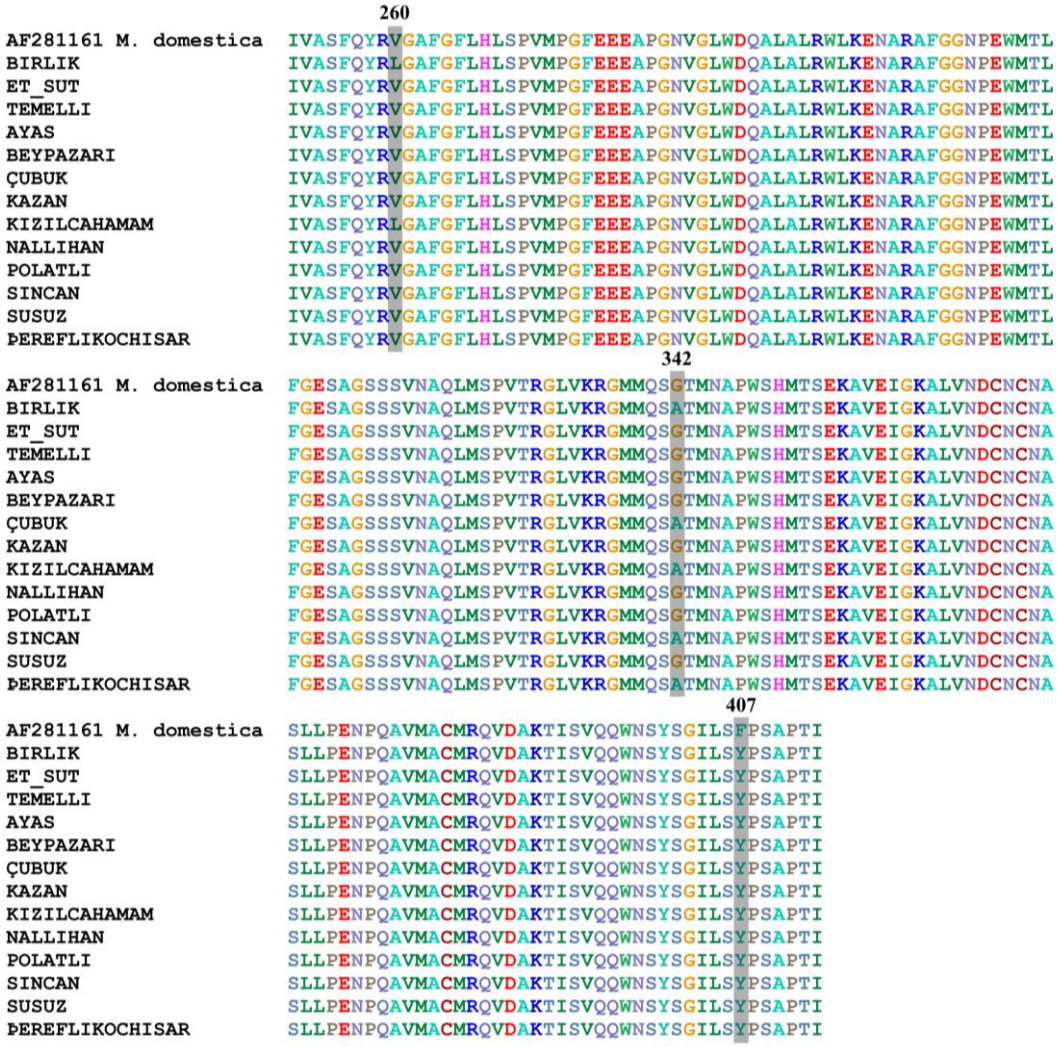
Çizelge 3.4. Çalışmada Eylül ayında toplanan *Musca domestica* popülasyonlarının voltaj kapılı sodyum kanallarında tespit edilen ve piretroid direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar.

No	Populasyon	M918	T929	D600	L1014
1	Birlik	M	T/I	D	F/H/L
2	Et Süt Kurumu	M	T/I	D	F/L/H
3	Temelli	M	T/I	D	F/L
4	Ayaş	M	T/I	D	L/F/H
5	Beypazarı	M	T/I	D	L/H
6	Çubuk	M	T/I	D	L/H/F
7	Kazan	M	T/I	D	L/F
8	Kızılcahamam	M	T/I	D	F/L/H
9	Nallıhan	M	T/I	D	L/F
10	Polatlı	M	T/I	D	L/H/F
11	Sincan	M	T/I	D	F/L/H
12	Susuz	M	T/I	D	L/F
13	Şereflikoçhisar	M	T/I	D	F/H/L

M: Metiyonin, T: Treonin, I: İzolösin, D: Aspartat, F: Fenilalanin, L: Lösin, H: Histidin



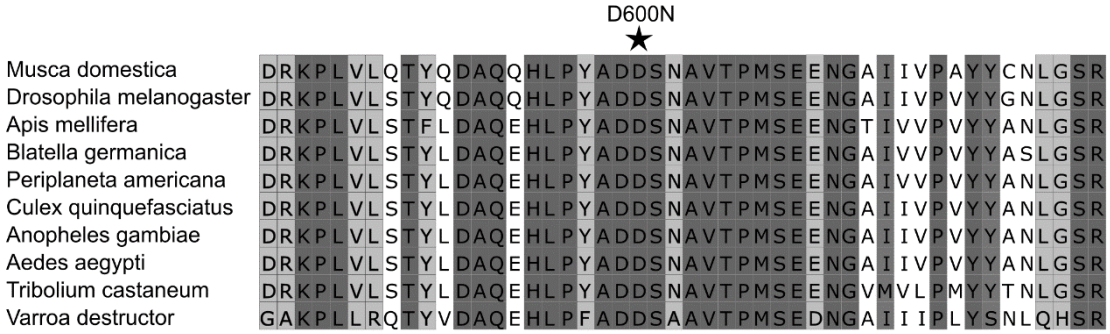
Şekil 3.3. Voltaj kapılı sodyum kanalları mutasyonları sekans dizilimi



Şekil 3.4. Asetilkolin esteraz gen bölgesi mutasyonları sekans dizilimi



Şekil 3.5. Farklı artropodlardaki voltaj kapılı sodyum kanalının kısmi dizilimi, daha önce piretroid direnci ile ilişkilendirilen M918T, T929I, L1014F/H mutasyonlarının sekans dizilimleri üzerindeki pozisyonları. Açıktan koyuya değişen renkler bölgelerin korunmuşluk seviyesini göstermektedir.



Şekil 3.6. Farklı artropodlardaki voltaj kapılı sodyum kanalının kısmi dizilimi, daha önce piretroid direnci ile ilişkilendirilen D600 mutasyonunun sekans dizilimleri üzerindeki pozisyonu

Asetilkolin esteraz (AChE) geni mutasyonları incelendiğinde, Valin (V) 260 aminoasit pozisyonunda 10 popülasyonda L mutasyonu tespit edilmiştir. Birlik ve Kızılcahamam popülasyonlarında L aminoasit mutasyonu dominat olarak bulunurken, diğer popülasyonlarda V baskınlığı görülmektedir. Glisin (G) 342 aminoasit pozisyonunda Alanin (A) ve V mutasyonları gözlemlenmiştir. A aminoasiti 12 popülasyonda mevcutken, V aminoasiti 5 popülasyonda bulunmuştur. F407 pozisyonunda ise Tirozin (Y) aminoasiti tespit edilmiş, hatta bu mutasyona sahip olmayan bir popülasyon bulunmamıştır. Çalışmada havuz DNA kullanıldığı için mutasyonlara ait homozigot ve heterozigotluk hakkında yorum yapılamamaktadır. Tespit edilen mutasyonlar Çizelge 3.5. ve Çizelge 3.6.'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. Çalışmada Haziran ayında *Musca domestica* popülasyonlarının asetilkolin esteraz gen bölgesinde tespit edilen ve organik fosforlu insektisit direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar.

No	Populasyon	V260	G342	F407
1	Birlik	L/V	A/G	Y
2	Et Süt Kurumu	V	G	Y
3	Temelli	V/L	G/A	Y
4	Ayaş	V/L	G/A	Y
5	Beypazarı	V/L	G/A/V	Y
6	Çubuk	V/L	A/G/V	Y
7	Kazan	V/L	G/A/V	Y
8	Kızılcahamam	L/V	A/G	Y
9	Nallıhan	V	G/A/V	Y
10	Polatlı	V	G/A	Y
11	Sincan	V/L	A/G	Y
12	Susuz	V/L	G/A/V	Y
13	Şereflikoçhisar	V/L	A/G	Y

V: Valinn, L: Lösin, A: Alanin, G: Glisin, Y: Tirozin

Çizelge 3.6. Çalışmada Eylül ayında toplanan *M. domestica* popülasyonlarının asetilkolin esteraz gen bölgesinde tespit edilen ve organik fosforlu insektisit direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar.

No	Populasyon	V260	G342	F407
1	Birlik	V/L	A/G	Y
2	Et Süt Kurumu	V/L	G/A	Y
3	Temelli	V/L	G/A	Y
4	Ayaş	L/V	A/G	Y
5	Beypazarı	V/L	G/A/V	Y
6	Çubuk	L/V	A/G/V	Y
7	Kazan	V/L	G/A/V	Y
8	Kızılcahamam	L/V	A/G	Y
9	Nallıhan	V/L	G/A/V	Y
10	Polatlı	V	A/G	Y
11	Sincan	V/L	A/G	Y
12	Susuz	L/V	G/A/V	Y
13	Şereflikoçhisar	V/L	A/G	Y

4. TARTIŞMA

Kesimhanelerde hayvansal atıkların fazla olması sineklerin gelişimi için uygun bir ortam oluşturur. *Musca domestica, Lucilia sericata, Chrysomia albiceps, Calliphora vicina, Sarcophaga haemorrhoidalis* gibi çok farklı sinek türleri buralardan identifiye edilebilir. Bu türler içinde *Musca domestica* en yoğun popülasyonu oluşturur (Şaki ve Şimşek, 2014). Ev sineği olarak da bilinen *M. domestica,* kesimhanelerin yanısıra yerleşim bölgelerindeki bütün sineklerin yaklaşık %90'ını oluşturmakta ve 200'den fazla patojenin bulaştırılmasında rol oynamaktadır (Geden vd., 2021; Nayduch ve Burrus, 2017). Bu tez çalışmasında, Ankara iline bağlı 11 ilçede, Mayıs 2023-Haziran 2024 tarihleri arasında, büyükbaş kesimhanesinden ev sineği örnekleri toplanmış, yaygın olarak kullanılan pestisitlere karşı direnç durumları hem toksisite hem hedef yeri mutasyonları bakılarak tespit edilmiştir.

Dünyada uzun yıllardan beri, taksonomi, popülasyon yapısının anlaşılması, coğrafi kökenlerin tespiti ve ekolojik adaptasyonun tayini dahil olmak üzere çeşitli amaçları araştırmak için artropodlarda moleküler belirteçler kullanılır (Dong vd., 2021; Hebert vd., 2003; Rubinoff vd., 2006) ve moleküler belirteçler de nükleer ve mitokondriyal olarak iki başlık altında sınıflandırılır (Dabert, 2006). Nükleer gen/gen bölgeleri arasında, 18S rRNA, ITS1 ve ITS2 filogenetik sınıflandırmada faydalı olduğu kanıtlanmıştır ancak özellikle soy bazında ayrımda daha yeterli oldukları vurgulanmaktadır (Doolittle, 1999; Hebert vd., 2003). Mitokondriyal DNA (mtDNA) genleri ise mtDNA kopyalarının çokluğu, anneden kalıtımı, haploid durumu ve hızlı mutasyon oranlarının yanı sıra primer tasarlamanın basitliği nedeniyle filogenetik çalışmalarda çok daha sıklıkla kullanılır (Avise, 1987; Behura, 2006). Mitokondriyal sitokrom C oksidaz 1 (mtCOI) geni, diğer protein kodlayan mt genlerine kıyasla daha yavaş gelişir ve moleküler filogenileri tahmin etmek için yaygın olarak tercih edilir (Dong vd., 2021; Simon vd., 1994). Bu nedenle bu çalışmada mtCOI geni kullanılmış ve başarılı şekilde tür tayini gerçekleştirilmiştir.

Halk sağlığı için oluşturduğu tehdit göz önüne alındığında, tüm dünyada ev sineği mücadelesinde çok büyük çaba harcanmaktadır. Öyle ki, dünyada *M. domestica* hasarı ve mücadelesinin yıllık maliyetinin yaklaşık 500 milyon ile 1 milyar dolar arasında olduğu varsayılır (Geden vd., 2021). Farklı sağaltım yöntemleri arasında dünya genelinde en fazla tercih edilen yöntem kimyasal mücadeledir (Scott, 2017).

İlk piretroid insektisit ilk kez 1949 yılında Schechter ve LaForge tarafından keşfedilmiştir (Matsuo, 2019). Sentetik piretiroidler doğada yıkımlanma süresinin kısa olması ve toksik dozunun memelilerde oldukça yüksek olmasından dolayı insan sağlığı için güvenli olarak kabul edilir (WHO, 2005). Permetrin, ilk piretroid olarak, 1980'li yılların başında Amerika'da, 1980'li yılların ortalarında ise Avrupa'da *M. domestica* mücadelesinde kullanılmak üzere ruhsatlanmıştır. Piretroidler günümüzde hala sıklıkla evsineği mücadelesinde kullanılır. Bununla birlikte direnç bildirimleri artan oranlarda rapor edilmektedir. Ev sineklerinde piretroid direncinin voltaj kapılı sodyum kanallarındaki mutasyonlar kaynaklı olduğu bilinmektedir. Tespit edilen ilk direnç mutasyonu *kdr* (knockdown resistance) olarak isimlendirilmiş ve 1014 aminoasit pozisyonunda Lösin (L) aminoasitinin Fenilalanin (F)'e dönüşümü (L1014F) şeklinde tanımlanmıştır. Tespit edilen ikinci direnç mutasyonu 918 aminoasit pozisyonunda gerçekleşen Metiyonin (M) aminoasitinin Treonin (T) aminoasitine dönüşümü olarak kaydedilmiştir. L1014F kdr mutasyonunun M918T mutasyonu ile görülmesi ise *super-kdr* olarak adlandırılmıştır. Üçüncü direnç mutasyonu 1014 aminoasit pozisyonunda Lösin (L) aminoasitinin Histidin (H) aminoasitine dönüşümü olarak tespit edilmiştir ve *kdr-his* olarak isimlendirilmiştir. Dirence gelen karışıkları göz önüne alındığında, *super-kdr* (M918T+L1014F) mutasyonu en fazla dirence karşılık gelirken, bunu devamında *kdr* (L1014F) mutasyonu takip eder. *kdr-his* (L1014H) mutasyonu ise piretiroidlere karşı en az direnci ifade eden mutasyon olarak belirtilir (Scott, 2017). Ek olarak, 2017 yılında, Amerika'da piretroid direncini ifade eden iki yeni aminoasit değişimi daha tespit edilmiştir. İlki 929 aminoasit pozisyonunda gerçekleşen T aminoasitinin İzolösin (I) aminoasitine dönüşümü, diğeri ise 600 aminoasit pozisyonunda bulunan Aspartat (D) aminoasitinin Asparajin (N) aminoasitine dönüşümü olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada toplanan bütün *M. domestica* popülasyonunda *kdr* mutasyonu tespit edilirken, 5 tanesinde *kdr-his* mutasyonu bulunmuştur. Ayrıca bir popülasyon hariç hepsinde T929I mutasyonu da tespit edilmiştir. Toksisite testlerinde pertmetrin ve deltametrin kullanılmış ve elde edilen nokta mutasyon verileri toksisite testleri ile uyumlu çıkmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında her üç mutasyon da 2011 yılında Ege ve Akdeniz bölgelerinden toplanan ev sineği örneklerinde bildirilmiştir (Taşkın vd., 2011). *super-kdr* mutasyonu ise toplanılan popülasyonların hiç birinde tespit edilmemiştir. Mevcut çalışmalar yaşamsal faaliyetler üzerinde dezavantaj oluşturduğu için, doğada *super-kdr* mutasyonunun çok az bulunduğunu ifade etmekte ve böylelikle bu çalışmada elde edilen veriyi desteklemektedir (Scott, 2019).

Türkiye'de *M. domestica* üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde;

Antalya ili Kumluca ilçesinden Haziran ve Kasım ayları arasında toplanan *M. domestica* popülasyonlarının deltametrin'e karşı direnç seviyelerinin biyolojik analizler ile araştırıldığı çalışmada tarım ve seracılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde deltametrin direnci yüksek olarak tespit edilmiştir (Erdoğan, 2017).

Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki 16 farklı ilden (Afyon, Adana, Aydın, Denizli, Antalya, İzmir, Manisa, Kütahya, Burdur, Muğla, Isparta, Uşak, Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye, Mersin) toplanan ev sineği popülasyonları asetilkolinesteraz bölgesinin incelendiği bir çalışmada, L260V - A342G - T407P mutasyonları yüksek yoğunlukta tespit edilirken V260 - A316 -G342 - P407 mutasyonları tespit edilmemiştir (Başkurt, 2010).

Akıner ve Çağlar (2012) tarafından yapılan çalışmada, Antalya, İzmir illerinde bulunan inek ciftlikleri ve Adana, Ankara, Şanlıurfa, İstanbul illerinde bulunan çöp depolama alanlarından 2004 ve 2006 yılları arasında toplanan *M. domestica* popülasyonlarının 5 farklı insektisite karşı (sipermetrin, sifenotrin, deltametrin, permetrin ve fenitrotion) direnç seviyeleri incelenmiştir. Toplanan popoülasyonlarda deltametrin LD_{50} değerleri 0.04-5.58 arasında tespit edilirken, permetrin LD_{50} değerleri 0.24-23.78 arasında bulunmuştur.

Polat (2022) tarafından yapılan çalışmada, Antalya ilindeki ilçelerden toplanmış ev sineklerinde sinerjistik ajan PBO (1:0, 1:0,25, 1:0,5 ve 1:1; neonikotinoid: PBO) kombinasyonları şeklinde dört neonikotinoid (tiametoksam, imidakloprid, asetamiprid ve dinotefuran) insektisit toksik etkileri bakımndan araştırılmıştır. Sonuçlara baktığımızda, PBO'nun tüm denemelerde neonikotinoidlerin toksik etkisini arttırdığı görülmüştür. Denemelerde PBO miktarı arttıkça knock down süreleri azalarak ölüm değerlerinin yükseldiği görülmüştür. Bu kapsamda PBO kullanımının, neonikotinoid içeren formülasyonlarda, neonikotinoidlere karşı olan direnci azaltmada kullanılabileceği gösterilmiştir.

Çivril (2021) tarafından yapılan çalışmada, Antalya iline bağlı ilçelerden toplanan ev sineği popülasyonlarının diflubenzuron ve piriproksifen'e karşı oluşan direnç seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Testlerde kullanılan dozlar, %10-95 arasında ölüme yol açan

dozlar içinden seçilmiştir. Gelişimlerini tamamlayarak ergin hale gelen ve gelişimlerini tamamlamamış larva sayıları dikkate alınarak larvasidal etki oranlarının tespiti yapılmıştır. Yapılan testlerle diflubenzuron için Kemer ve Serik ilçeleri yüksek direnç aralığında iken diğer ilçelerin orta direnç aralığında bulunduğu gözlenmiştir. Piriproksifen için tüm örneklem alanlarındaki sonuçlar çok yüksek direnç aralığında tespit edilmiştir.

Çakır (2018) tarafından yapılan çalışmada, Antalya'nın Serik, Kemer, Konyaaltı, Döşemeaaltı ve Kepez ilçelerinden toplanmış olan ev sineği popülasyonlarında tiametoksam'a karşı direnç seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada LD50 değerleri ile KT50 değerlerinin belirlenmesi amacıyla tiametoksam'ın dört farklı dozu kullanılmıştır. KT50 değerinin belirlenmesi için ev sinekleri 5 dakika aralıklarla bir saat süresince gözlemlenmiştir. Yapılan tüm testler kontrol grubu da dahil 3 defa tekrarlanmıştır. Ölen ev sineklerinin sayısı 24 saat sonunda kaydedilerek ölüm oranları ve düşüş oranları SPSS kullanılarak karşılaştırılması yapılmıştır. LD50 değerleri ve KT50 değerleri probit analiz programı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak, Antalya'da örnekleme yapılan tüm lokasyonlarda tiametoksam'a karşı çok yüksek direnç seviyeleri tespit edilmiştir.

Bayraktar (2017) tarafından yapılan çalışmada, neonikotinoid grubu insektisitlerden tiamethoksam, imidakloprid, asetamiprid ve klotianidinin ev sineklerinin Ankara popülasyonlarındaki biyolojik etkinliklerine bakılmıştır. Laboratuvar koşullarında tutulan tül kafesler içindeki sineklerde biyolojik etkinlik testleri yapılarak popülasyonların etkinlikleri belirlenmiştir. Yapılan testlerde 5., 15. ve 30. dakikalardaki Knock Down sonuçları ile probit analiz metodu kullanılarak KT50 değerleri hesaplanmıştır. Duyarlı popülasyon ile karşılaştırma yapılarak dirençler (R/S) belirlenmiştir. Bulunan değerlere bakıldığında; imidaklopride karşı Beytepe popülasyonu, tiametoksama karşı Çubuk popülasyonu, asetamipride karşı Sincan popülasyonu ve klotianidine karşı da Beytepe popülasyonunda yüksek direnç (R/S) görülmüştür. 24., 48. ve 72. saatteki ölüm değerlerine bakılarak LT50 değerleri hesaplanmıştır. Duyarlı popülasyonla karşılaştırması yapılarak da R/S belirlenmiştir. Bulunan değerler incelendiğinde; imidakloprid ve tiametoksama karşı Mamak popülasyonu, asetamipride karşı Gölbaşı popülasyonu ve klotiniadine karşı ise Sincan popülasyonunda yüksek direnç (R/S) tespit edilmiştir.

Gaçar (2008) tarafından yapılan çalışma ile ülkemizde yoğun olarak tarım yapılan Ege ve Akdeniz bölgelerinde bulunan 16 ilden toplanmış olan karasinek örneklerinde genom DNA'sı izole edilerek MdaE7 geni PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Ekson 3 bölgesinin başı ve ekson 4 bölgesinin ortasına kadar olan kısmın baz dizi analizi yapılmıştır. Ayrıca, metiltiyobütirat substratı kullanılmış ve örneklerdeki karboksilesteraz enzim aktivitesinin tayini yapılmıştır. Bölgelerin her birinden 32 adet, toplamda ise 64 adet karasinek kullanılarak deneyler yapılmıştır. Deneylerin sonucunda, Ege Bölgesi'nden toplanan 15 örnekte, malatiyon direnç tip alleli Gly137- Ser251, 7 örnekte ise diyazinon direnç tip alleli Asp137 - Trp251 gözlemlenmiştir. Yine Ege bölgesi'nden toplanan 6 örnekte Gly137 - Ser251 / Trp, 2 örnekte Asp137 - Ser251 / Trp alleleri, 1 örnekte duyarlı allel tipi Gly137 - Trp251, 1 örnekte de Gly137 - Ser251 / Leu alleli tespit edilmiştir. Akdeniz Bölgesi'nden toplanan 19 örnekte diyazinon direnç tip alleli Asp137 - Trp251, 5 örnekte malatiyon direnç tip alleli Gly137 - Ser251, 4 örnekte duyarlı tip alleli Gly137 - Trp251, 2 örnekte Asp137 - Ser251 / Trp alleleri, 1 örnekte ise Gly137 - Leu251 ve 1 örnekte de Gly137 - Ser251 / Trp allelleri tespit edilmiştir. Malatiyon ve diyazinon direnç tipinin allelleri bulunan örneklerde aktivite değerlerinin 31,4 ± 3,5 nmol/dk/mg ile 136,8 ± 36,8 nmol/dk/mg arasında değiştiği görülmüştür. Sonuçta direnç allellerinin frekansının ve dağılımının bölgeler bazında değiştiği saptanmıştır.

Asetilkolinesteraz (AChE) gen bölgesi organik fosforlu insektisit ve karbamatların hedef bölgesi olarak bilinir. Bu gen bölgesinde meydana gelen bazı mutasyonların dirençle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde mevcut üç önemli aminoasit pozisyonunda organik fosforlu insektisitlerde dirence karşılık gelen mutasyon tanımlanmıştır. İlki 260 aminoasit pozisyonunda meydana gelen Valin (V)'in Lösin aminoasitine dönüşümü olarak tanımlanmıştır. Diğer mutasyon ise 342 aminoasit pozisyonunda oluşan Glisin (G) aminoasitinin Alanin (A) veya Valin (V) 'e dönüşmesi olarak bildirilmiştir. Son olarak 407 aminoasit pozisyonunda meydana gelen Fenilalanin (F) aminoasitinin Tirozin (Y)'e dönüşümü bildirilmiştir. Mevcut mutasyonların hepsi çalışmada toplanan popülasyonlarda çok yüksek yoğunluklarda tespit edilmiştir. Hatta 407 aminoasit pozisyonunda hassaslığı ifade eden F aminoasiti hiç tespit edilememiştir. Bu çalışmada, toksisite testlerinde karbamat grubu olarak bendiokarb kullanılmış ve LC50 değerleri elde edilen mutasyon verilerini doğrular şekilde sonuçlanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde her mutasyon 2011 yılında Ege ve Akdeniz bölgelerinden toplanan ev sineği örneklerinde bildirilmiş ancak mutasyon verileri toksisite testleri ile doğrulanamamıştır (Başkurt vd., 2011).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Ankarada bulunan Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Elmadağ, Kazan, Kızılcahamam, Nallıhan, Polatlı, Sincan, Şereflikoçhisar ve Yenimahalle ilçelerinde yer alan 13 adet resmi kayıtlı kesimhanelerden *M. domestica* örnekleri toplanarak durumu ve hedef bölge mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. Canlı toplanan popülasyonlarla yapılan toksisite testlerinde permetrin, deltametrin ve bendiokarb etken maddesine karşı oldukça yüksek LC50 değerleri tespit edilmiştir. Hem toksisite testlerinin yapıldığı popülasyonlarda hem de diğer popülasyonlarda bu yüksek toksisite değerlerini açıklayacak hedef bölge mutasyonları tespit edilmiştir. Bunlar voltaj kapılı sodyum kanallarında L1014F/H ve T929I, AChE gen bölgesinde ise V260L, G342A/V ve F407Y olarak kaydedilmiştir. Bu nedenle, piretroid ve organik fosforlu pestisit grubu ilaçların ilgili bölgelerde sınırlandırılması, tespit edilen düşük fipronil LC50 değerleri ise *M. domestica* mücadelesinde bu etken maddenin iyi bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

Çalışma sonucunda; olası direnç durumunu daha iyi yansıtmak için ek popülasyonların elde edilmesi, hatta Türkiye'de mutasyonlarının yaygınlığının geniş çapta belirlenebilmesi için daha çeşitli şehirlerden örneklerin de alınması önerilmektedir. Mutasyonların tek tek ve kombinasyon halinde yol açtıkları direnç seviyelerinin belirlenmesi ve genotiplemenin bireysel DNA kullanılarak yapılması da önem arz etmektedir. Bunların yanı sıra, dirençli popülasyonlarda uyum bedelinin (fitness-cost) olup olmadığının ileri çalışmalarla araştırılması önerilmektedir.

Kentsel alanlardaki ev sineği popülasyonlarının direncinin kesimhanelerle benzer olup olmadığının araştırılması, laboratuvar ortamında elde edilen toksisite sonuçlarının saha koşullarında da benzer olup olmadığını öğrenmek için arazi denemelerinin de gerçekleştirilmesi ileri çalışmalar için önerilmektedir.

Bu çalışma sonucunda, arazi koşullarından toplanan popülasyonlarda tespit edilen çoklu dirençli olguların varlığı nedeniyle alternatif mücadele yöntemlerine ağırlık verilmesi gerekliliği de ortaya çıkmaktadır. Ayrıca entegre zararlı yönetim programlarının oluşturulması sürdürülebilir bir zararlı yönetimini de gerekli kılmaktadır.

KAYNAKLAR

Ajiboye, T. O., Oladoye, P. O., Olanrewaju, C. A., & Akinsola, G. O. (2022). Organophosphorus pesticides: Impacts, detection and removal strategies. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, *17*, 100655.

Akıner, M. (2003). *Karasinek Musca domestica L.,(Diptera: Muscidae)'da insektisitlere karşı direnç düzeyinin tespiti ve alana özgü direnç yönetimi* (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ekoloji Anabilim Dalı, Ankara).

Akıner, M. M., & Çağlar, S. S. (2012). Monitoring of five different ınsecticide resistance status in Turkish house fly musca domestical.(Diptera: Muscidae) populations and the relationship between resistance and ınsecticide usage profile.

Alten, S. B., & Çağlar, S. S., (1998). *Vektör ekolojisi ve mücadelesi; Sıtma vektörünün biyo-ekolojisi mücadele organizasyonu ve yöntemleri.* TC Sağlık Bakanlığı Sıtma Savaş Daire Başkanlığı ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 242.

Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., ... & Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, *18*(1), 489-522.

Başkurt, S. (2010). *Ege ve akdeniz bölgelerinden toplanan karasinek (Musca domestica L.) populasyonlarında ace geninin kısmi baz dizi analizinin yapılması ve bu örneklerde% kalan asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Başkurt, S., Taşkın, B. G., Doğaç, E., & Taşkın, V. (2011). Polymorphism in the acetylcholinesterase gene of Musca domestica L. field populations in Turkey. *Journal of vector ecology*, *36*(2), 248-257.

Bayraktar, H. (2017). *Neonikotinoid grubu insektisit formülasyonlarının, farklı Ankara ergin ev sinekleri (musca domestica l.) populasyonlarındaki etkinliklerinin araştırılması* (Master's thesis, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Behura, S. K. (2006). Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular ecology*, *15*(11), 3087-3113.

Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., Saran, A., & Winkler, M. (1999). The role of houseflies (Musca domestica) in harbouring Corynebacterium pseudotuberculosis in dairy herds in Israel. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, *18*(3), 681-690.

Buss. (2014). Eggs of house fly, third-instar larva (maggot) of house fly, puparium of house fly, *Musca domestica Linnaeus* https://entnemdept.ufl.edu/projex/gallery/dl/Beneficial_Arthropods_Parasitoids/TEXT/DIP_House_fly_Musca_domestica.html

Casida, J. E., & Quistad, G. B. (2004). Why insecticides are more toxic to insects than people: the unique toxicology of insects. *Journal of Pesticide Science*, *29*(2), 81-86.

Castner. (2014). Adult female house fly, *Musca domestica Linnaeus* https://entnemdept.ufl.edu/projex/gallery/dl/Beneficial_Arthropods_Parasitoids/TEXT/DIP_House_fly_Musca_domestica.html

Chifanzwa, R., & Nayduch, D. (2018). Dose-dependent effects on replication and persistence of Salmonella enterica serovar Typhimurium in house flies (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, *55*(1), 225-229.

Çakır, D. (2018). Antalya ilinde ev sineği (Musca domestica L.) popülasyonlarının Thiamethoxam'a karşı direnç durumunun belirlenmesi.

Çakır, Ş., & Yamaner, Ş. (2005). Böceklerde insektisidlere direnç. *Ahi Evran Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, *6*(1), 21-29.

Çetin, H. (2016). *Kent zararlıları, biyoloji, ekoloji ve mücadele yöntemleri*. Antalya: Yıldız Ofset Matbaacılık Medya Hiz. İth.İhr. Tic. ve San. Ltd. Şti.

Çivril, M. (2021). Antalya'da ev sineğinde (Musca domestica L.) Pyriproxyfen ve Diflubenzuron'a karşı direnç seviyelerinin araştırılması.

Dabert, M. (2006). DNA markers in the phylogenetics of the Acari. *Biological Letters*, *43*(2), 97-107.

Demiröz, D. A. (2015). Böcekler Neden Direnç Kazanıyor?. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, *3*(2), 91-98.

Dong, Z., Wang, Y., Li, C., Li, L., & Men, X. (2021). Mitochondrial DNA as a molecular marker in insect ecology: current status and future prospects. *Annals of the Entomological Society of America*, *114*(4), 470-476.

Doolittle, W. F. (1999). Phylogenetic classification and the universal tree. *Science*, *284*(5423), 2124-2128.

Doud, C. W., & Zurek, L. (2012). Enterococcus faecalis OG1RF: pMV158 survives and proliferates in the house fly digestive tract. *Journal of medical entomology*, *49*(1), 150-155.

Dübendorfer, A., Hediger, M., Burghardt, G., & Bopp, D. (2002). Musca domestica, a window on the evolution of sex-determining mechanisms in insects. *International Journal of Developmental Biology*, *46*(1), 75-79.

Emden, V. (2004). *Pest and Vector Control*. Cambridge University Press, 363-365.

Erdoğan, G. (2017). Antalya ili Kumluca ilçesinde, ev sineği (Musca domestica L.) popülasyonlarında deltamethrin'e karşı direnç seviyelerinin araştırılması.

Feyereisen, R. (2015). Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities. *Pest management science*, *71*(6), 793-800.

Fleming, A., Kumar, H. V., Joyner, C., Reynolds, A., & Nayduch, D. (2014). Temporospatial fate of bacteria and immune effector expression in house flies fed GFP- Escherichia coli O157: H7. *Medical and veterinary entomology*, *28*(4), 364-371.

Freeman, J. C., Ross, D. H., & Scott, J. G. (2019). Insecticide resistance monitoring of house fly populations from the United States. *Pesticide biochemistry and physiology*, *158*, 61-68.

Fu, H., Tan, P., Wang, R., Li, S., Liu, H., Yang, Y., & Wu, Z. (2022). Advances in organophosphorus pesticides pollution: Current status and challenges in ecotoxicological, sustainable agriculture, and degradation strategies. *Journal of Hazardous Materials*, *424*, 127494.

Gaçar, F. *Ege ve Akdenizzbölgelerinden toplanan karasinek (Musca domestica L.) populasyonlarında MdaE7 geninin kısmi baz dizi analizinin yapılması ve örneklerde karboksilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Geden, C. J., Nayduch, D., Scott, J. G., Burgess IV, E. R., Gerry, A. C., Kaufman, P. E., ... & Machtinger, E. T. (2021). House fly (Diptera: Muscidae): biology, pest status, current management prospects, and research needs. *Journal of Integrated Pest Management*, *12*(1), 39.

Gill, C., Bahrndorff, S., & Lowenberger, C. (2017). Campylobacter jejuni in Musca domestica: An examination of survival and transmission potential in light of the innate immune responses of the house flies. *Insect science*, *24*(4), 584-598.

Goulson, D. 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50 (4): 977-987.

GraphicsRF. (2024). Housefly Lifecycle. *GraphicsRF* https:// https://www.youtube.com/watch?v=uzvt2LBHISM

Hamilton, A. J., Basset, Y., Benke, K. K., Grimbacher, P. S., Miller, S. E., Novotný, V., ... & Yen, J. D. (2010). Quantifying uncertainty in estimation of tropical arthropod species richness. *The American Naturalist*, *176*(1), 90-95.

Hawley, J. E., Penner, L. R., Wedberg, S. E., & Kulp, W. L. (1951). The role of the house fly, Musca domestica, in the multiplication of certain enteric bacteria. *American Journal of Tropical Medicine*, *31*(5), 572-82.

Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *270*(1512), 313-321.

Hinkle, N. C., & Hogsette, J. A. (2021). A review of alternative controls for house flies. *Insects*, *12*(11), 1042.

Holt, P. S., Geden, C. J., Moore, R. W., & Gast, R. K. (2007). Isolation of Salmonella enterica serovar Enteritidis from houseflies (Musca domestica) found in rooms containing Salmonella serovar Enteritidis-challenged hens. *Applied and environmental microbiology*, *73*(19), 6030-6035.

IRAC. (2011). IRAC susceptibility test methods series. *IRAC* https://irac-online.org/content/uploads/2009/09/Method026_Musca_v1.5.pdf

Ishaaya, I. (2001). Biochemical processes related to insecticide action: an overview. *Biochemical sites of insecticide action and resistance*, 1-16.

Jacques, B. J., Bourret, T. J., & Shaffer, J. J. (2017). Role of fly cleaning behavior on carriage of Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. *Journal of medical entomology*, *54*(6), 1712-1717.

Joyner, C., Mills, M. K., & Nayduch, D. (2013). Pseudomonas aeruginosa in Musca domestica L.: temporospatial examination of bacteria population dynamics and house fly antimicrobial responses. *PLoS One*, *8*(11), e79224.

Karaağaç, S. U. (2012). Insecticide Resistance. In: F. Perveen (Ed.), Insecticide Resistance, Insecticides - Advances in Integrated Pest Management. inTech. pp. 469–478.

Kaya, S. (2014). Veteriner Toksikoloji, Baskı 3. Medisan Yayınevi, Ankara.

Koç, S., Çetin, H. (2017). Ev sineği (Musca domestica L.) biyolojisi ve mücadele yöntemleri. *Vektör artropodlar ve mücadelesi.* Türkiye Parazitoloji Derneği.

Koçak, Ö. (1998). Zararlı savaşımı. *Hacettepe Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, İnsektisid Test Üretim Birimi, Ankara*.

Larraín, P., & Salas, C. (2008). House fly (Musca domestica L.) (Diptera: Muscidae) development in different types of manure. *Chilean journal of agricultural research*, *68* (2), 192-197.

Malik, A., Singh, N. & Satya, S. (2007). House fly (Musca domestica): a review of control strategies for a challenging pest. *Journal of environmental science and health part B*, *42*(4), 453-469.

Matsumura, F. (1985). *Toxicology of insecticides*. Plenium Press, 598.

Matsuo, N. (2019). Discovery and development of pyrethroid insecticides. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, *95*(7), 378-400.

Mcgaughey, J. & Nayduch, D. (2009). Temporal and spatial fate of GFP-expressing motile and nonmotile Aeromonas hydrophila in the house fly digestive tract. *Journal of medical entomology*, *46*(1), 123-130.

Metcalf, R. L. (1989). Insect resistance to insecticides. *Pesticide Science*, 26 (4): 333–358.

Moon, R. D. (2019). Muscid flies (muscidae). In *Medical and veterinary entomology* (pp. 345-368). Academic Press.

Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A. G., & Worm, B. (2011). How many species are there on Earth and in the ocean?. *PLoS biology*, *9*(8), e1001127.

Nayduch, D., Pittman Noblet, G., & Stutzenberger, F. J. (2002). Vector potential of houseflies for the bacterium Aeromonas caviae. *Medical and Veterinary Entomology*, *16*(2), 193-198.

Nayduch, D., Cho, H., & Joyner, C. (2013). Staphylococcus aureus in the house fly: temporospatial fate of bacteria and expression of the antimicrobial peptide defensin. *Journal of medical entomology*, *50*(1), 171-178.

Nayduch, D., & Burrus, R. G. (2017). Flourishing in filth: house fly–microbe interactions across life history. *Annals of the Entomological Society of America*, *110*(1), 6-18.

Öncüer, C. (2004). *Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri Ve İlaçları,* Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, 185- 220.

Polat, S. B. (2022). Bazı neonikotinoid insektisitlerin farklı oranlarda piperonyl butoxide ile kombinasyonlarının Antalya ilindeki ev sinekleri (Musca domestica L.) üzerindeki toksik etkisinin araştırılması.

Pedigo L. P. (1996). *Entomology and Pest Management*. Prentice-Hall Pub, Englewood Cliffs, 679.

Pittendrigh, B. R., Margam, V. M., Walters Jr, K. R., Steele, L. D., Olds, B. P., Sun, L., ... & Clark, J. M. (2014). Understanding resistance and induced responses of insects to xenobiotics and insecticides in the age of "omics" and systems biology. In *Insect Resistance Management* (pp. 55-98). Academic Press.

Rozendaal, J. A. (1997). *Vector control: methods for use by individuals and communities*. World Health Organization.

Rubinoff, D., Cameron, S., & Will, K. (2006). A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for "barcoding" identification. *Journal of heredity*, *97*(6), 581-594.

Sasaki, T., Kobayashi, M., & Agui, N. (2000). Epidemiological potential of excretion and regurgitation by Musca domestica (Diptera: Muscidae) in the dissemination of Escherichia coli O157: H7 to food. *Journal of medical entomology*, *37*(6), 945-949.

Selçuk, Ö. (2022). *Bursa Büyükşehir Belediyesi sınırları içerisinde ev sineği (Musca domestica) popülasyonlarında bazı insektisitlere karşı oluşan direncin belirlenmesi* (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).

Ser, Ö., & Çetin, H. (2016). Pestisitlerin vektör mücadelesinde kullanımları. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 2 (2): 26–34.

Scott, J. G. (2017). Evolution of resistance to pyrethroid insecticides in Musca domestica. *Pest management science*, *73*(4), 716-722.

Scott, J. G. (2019). Life and death at the voltage-sensitive sodium channel: evolution in response to insecticide use. *Annual review of entomology*, *64*, 243-257.

Service, M. (2008). *Medical entomology for students, fourth edition.* New York: Cambridge University Press.

Shane, S. M., Montrose, M. S., & Harrington, K. S. (1985). Transmission of Campylobacter jejuni by the housefly (Musca domestica). *Avian diseases*, 384-391.

Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the entomological Society of America*, *87*(6), 651-701.

Sparks, T. C., & Lorsbach, B. A. (2017). Perspectives on the agrochemical industry and agrochemical discovery. *Pest management science*, *73*(4), 672-677.

Şaki, C. E., & Şimşek, S. (2014). Bazı Sinek (Dizi: Diptera) Türlerinde Wolbachia spp'nin PZR ile Araştırılması. *Cilt/Volume: 20 Sayı/Number: 3 Yıl/Year: 2014*, 417.

Şanlı, Y. (1988). *Veteriner Farmakoloji Kemoterapotik İlaçlar,* Veteriner Fakültesi Yayınları, 658- 696.

Şanlı, Y. (1998). *Veteriner İlaçları Rehberi ve Bilinçli İlaç Kullanım El Kitabı*, ICC Yayınevi, Ankara, 1260.

Taskin, V., Baskurt, S., Dogac, E., & Taskin, B. G. (2011). Frequencies of pyrethroid resistance-associated mutations of Vssc1 and CYP6D1 in field populations of Musca domestica L. in Turkey. *Journal of Vector Ecology*, *36*(2), 239.

Tingle, C. C., Rother, J. A., Dewhurst, C. F., Lauer, S., & King, W. J. (2003). Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews*, 1-66.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45: 247-268.

Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., & Tirry, L. (2009). Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite Tetranychus urticae. *Biorational Control of Arthropod Pests: Application and Resistance Management*, 347-393.

Van Leeuwen, T., & Dermauw, W. (2016). The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual review of entomology*, *61*, 475-498.

Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol, 3(5), 294-9.

Wasala, L., Talley, J. L., DeSilva, U., Fletcher, J., & Wayadande, A. (2013). Transfer of Escherichia coli O157: H7 to spinach by house flies, Musca domestica (Diptera: Muscidae). *Phytopathology*, *103*(4), 373-380.

Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., & Hollingworth, R. M. (2008). Analysis of global pesticide resistance in arthropods. In *Global pesticide resistance in arthropods* (pp. 5-31). Wallingford UK: CABI.

World Health Organization. (2005). *Safety of pyrethroids for public health use* (No. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.10). World Health Organization.

Yavuz, O., & 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*.

Yorulmaz, S., & Ay, R. (2010). Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *24*(2), 137-148.

Yu, S. J. (2008). The toxicology and biochemistry of insecticides. CRC Press.

Zurek, L., Denning, S. S., Schal, C., & Watson, D. W. (2001). Vector competence of Musca domestica (Diptera: Muscidae) for Yersinia pseudotuberculosis. *Journal of Medical Entomology*, *38*(2), 333-335.