

**FIRTINA VADİSİ'NDEKİ
POECILIMON SIMILIS RETOWSKI, 1889
(ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE)'İN YEREL
POPULASYONLARI ÜZERİNDE
MOLEKÜLER EKOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

ŞAFAK MERT

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

2008

**FIRTINA VADİSİ'NDEKİ
POECİLİMON SIMILIS RETOWSKI, 1889
(ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE)'İN YEREL
POPULASYONLARI ÜZERİNDE
MOLEKÜLER EKOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

**MOLECULAR ECOLOGICAL RESEARCH ON
THE LOCAL POPULATIONS OF
POECILIMON SIMILIS RETOWSKI, 1889
(ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE) IN THE
FIRTINA VALLEY**

ŞAFAK MERT

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

2008

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. Reyhan Öner

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Selim Süalp Çağlar

Üye :.....
Prof. Dr. Nurdan Özer

Üye :.....
Prof. Dr. Ercüment Çolak

Üye :.....
Doç. Dr. Salih Bülent Alten

ONAY

Bu tez/...../2008 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

...../...../2008

Prof. Dr. Erdem YAZGAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

FIRTINA VADİSİ'NDEKİ *POECILIMON SIMILIS* RETOWSKI, 1889 (ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE)'İN YEREL POPULASYONLARI ÜZERİNDE MOLEKÜLER EKOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Şafak Mert

Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Ekoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Bu çalışmada *Poecilimon similis* Retowski, 1889 (Orthoptera: Tettigoniidae)'nin Fırtına Vadisi'nde (Çamlıhemşin-Rize) yayılış gösteren populasyonlarında görülen morfolojik ve genetik varyasyon örüntüleri, hem kantitatif hem de nötral marker kullanımı ile incelenmiştir.

Bu amaçla vücut büyüklüğü ve vücut şekli gibi morfolojik karakterler kantitatif marker, mtCOI gen bölgesine ait DNA dizisi ise nötral genetik marker olarak kullanılmıştır. Çalışmanın yapıldığı 9 örnekleme istasyonu, 475–1930 m'ler arasında kalacak şekilde artan yüksekliklerden seçilmiş, bu sayede değişen çevre koşullarının populasyon üzerindeki etkileri, yukarıda sayılan markerlardaki değişikliklerin incelenmesiyle araştırılmıştır. Gözlenen morfolojik ve genetik varyasyon örüntüsü, hem ekosistemin iklimsel yapısı ve vejetasyon özellikleriyle hem de *P. similis*'in biyo-ekolojik özellikleriyle kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

Morfometrik analizler 239 bireyin hem klasik uzunluk ölçümleri hem de geometrik morfometri yaklaşımı kullanılarak gerçekleştirilirken, genetik analizler ise 28 bireyin mtDNA COI bölgesinden elde edilen sekans verisiyle gerçekleştirilmiştir.

Fırtına Vadisi'ndeki *P. similis* populasyonlarının yüksekliğe bağlı olarak hem vücut büyüklüğü hem de vücut şekli bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir varyasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Genetik analizlerde de benzer sonuçlar elde edilmiş olup, uzaklığa ve / veya yüksekliğe bağlı genetik izolasyon ile buna bağlı olarak farklı yüksekliklerdeki alt populasyonların yüksek F_{ST} değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu, farklı yüksekliklerdeki alt populasyonların birbirinden büyük oranda izole olduklarını göstermektedir ve genetik verilerden elde edilen alt populasyonlar arası göç oranlarının düşük olması bu savı desteklemektedir.

Kantitatif (morfolojik) ve nötral (genetik) markerlar beraber değ erlendirildiğinde, y ksekl ge bağlı olarak her bir alt populasyonun birbirinden farklı ekolojik ve tarihsel süreçlerin etkisi altında olduğu ve her bir alt populasyonun maruz kaldığı evrimsel süreçlerin kısmen birbirinden bağımsız olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *Poecilimon similis*, Orthoptera, Tettigoniidae, klasik morfometri, geometrik morfometri, populasyon genetiği, mtDNA, evrimsel ekoloji, F rtına Vadisi

Danışman: Prof. Dr. Selim S ualp  AğLAR, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ekoloji Anabilim Dalı

MOLECULAR ECOLOGICAL RESEARCH ON THE LOCAL POPULATIONS OF *POECILIMON SIMILIS* RETOWSKI, 1889 (ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE) IN THE FIRTINA VALLEY

Şafak Mert

Hacettepe University, Department of Biology Ecology Section

ABSTRACT

In this study, the morphological and the genetic variation pattern of *Poecilimon similis* Retowski, 1889 (Orthoptera: Tettigoniidae) which is situated in the Firtına Valley (Çamlıhemşin-Rize), were examined by quantitative and neutral markers.

To achieve this goal, morphological characters like the body size and body shape were taken as quantitative markers and the DNA sequences of mtCOI gene were taken as neutral genetic markers. The 9 sampling station of this study were chosen between the elevations of 475–1930 m and this enabled us to examine for the effects of changing environmental factors on populations using the markers mentioned above. The observed patterns of genetic and morphologic variation were evaluated by comparing the climatic and vegetative properties of the ecosystem with the bio-ecologic properties of *P. similis*.

Morphometric analysis were conducted by using traditional size measurements as well as the use of geometric morphometry on 239 individuals, and genetic analysis were conducted via sequence information on mtCOI gene site obtained from 28 individuals.

We determined statistically significant variation of body size and body shape contingent with the elevation of *P. similis* populations in the Firtına Valley. We obtained similar results from the genetic analysis and we determined high F_{ST} values for sub-populations at different elevations. This can be interpreted as high genetic isolation related to distance and / or elevation. This observation reveals the high isolation ratio of sub-populations from different elevations and this proposition is also supported by the low migration rates between sub-populations, which are obtained from the genetic data.

When quantitative (morphologic) and neutral (genetic) markers are taken into account together, we can say that, every sub-population is under the effects of different ecological and historical processes, and hence every sub-population is partially under independent evolutionary processes.

Keywords: *Poecilimon similis*, Orthoptera, Tettigoniidae, classical morphometry, geometric morphometry, population genetics, mtDNA, evolutionary ecology, Firtina Valley.

Advisor: Prof. Dr. Selim Süalp ÇAĞLAR, Hacettepe University, Department of Biology, Ecology Section

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında, pek çok kişinin cömertçe sunduğu destek ve yardımların önemli katkısı oldu. Aşağıda sadece bazılarının adı var. Hepsine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle Uzman Hasan Ünal'a son 10 yıldır bana katlandığı ve öğrettiği her şey için çok teşekkür ederim. Ayrıca tezle ilgili çalışmaların büyük çoğunluğu onun sorumluluğundaki laboratuarda gerçekleştirilmiştir. Hasan ağabey olmasaydı bu tez olmazdı kuşkusuz.

İsmail Kudret Sağlam ise, çok değerli dostluğu ve her umutsuzluğa kapıldığımda sağladığı eşsiz manevi desteğinin ötesinde, bu tez çalışmasına ciddi bilimsel katkıda bulunmuştur. Biyoistatistik gibi uzmanlık gerektiren bir konuda sadece uygulayarak değil her bildiğini paylaşarak çok büyük yol kat etmemi sağladı, sağ olsun.

Tezle ilgili okuma yazma çalışmalarının büyük kısmı Altan Görkem Gürcan ve Fethi Gürcan'ın evlerinde gerçekleştirildi. Dostlukları, teşekkürle sığmayacak kadar büyük.

Aynı şekilde Dilara Karadeniz de bu teze dostluğundan öte katkı koymuştur. Eğer Dilara'nın akıllıca eleştirileri olmasaydı tezin tartışma kısmı gayet tartışılır olacaktı.

Ayrıca Prof. Dr. Cihan Öner ve Doç. Dr. Celal Ülger yıllardır paylaştıkları bilgi ve deneyimleri ile eğitimime çok önemli katkılarda bulunmuşlardır. Bu birikimden tüm tez çalışmam boyunca yararlandım. Her ikisine de çok teşekkür ederim.

Doç. Dr. Hasan Sevgili tür teşhislerini yaparak, Araş. Gör. Çağaşan Karacaoğlu ise İsmail Kudret Sağlam ile birlikte örneklerimi toplayarak destek oldular. İkisine de çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması sırasında bana önemli ölçüde destek olan başka insanlar da var. Prof. Dr. Haluk Ataoğlu hiç beklemediğim bir destek verdi. Nilüfer ve Abdullah Ecevit ise beklediğim bir desteği verdiler. Beni verdiği bursla destekleyen Pro-Tıp A.Ş. sahibi A. Faruk Gülenç'e de teşekkürlerimi sunarım. Sık sık laboratuvarını dağıttığım Araş. Gör. Sibel Küçükyıldırım'a da sabrı ve desteği nedeniyle teşekkür ediyorum. Benzeri şekilde tüm EBAL ahalisi de her zaman yanımda oldu, destek verdi. Sağ olsunlar.

Danışmanım Prof. Dr. Selim Süalp Çağlar’a gelince... Doğaldır ki hocam bu tezin sahiplerinden biridir. Bu nedenle kendisine teşekkür etmeye kalkışmayacağım ama bir konuya değinmeden geçemem. Eğer kendisinin mevcut yaklaşımı olmasaydı böyle bir tez yapılamazdı. Bir çalışmayı örgütlemek, ekip oluşturup uzun dönemli bir iş ortaya koymak ve bir işin farklı kısımları için farklı kişilerin uzmanlaşmasını sağlamak ülkemizde pek sık görülen bir yaklaşım değil. Bu tarzı nedeniyle sadece benim değil pek çok arkadaşımızın da sevgi ve saygısını kazanmıştır. Umarım ilerleyen dönemlerde de kendisiyle çalışma fırsatı buluruz.

Ve... yıllardır yaptığı tüm fedakârlıklar için anneme teşekkür etmem hem yetersiz hem de olmazsa olmazdır. Ellerinden öperim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Çalışma Alanının Genel Özellikleri.....	4
2.1.1 İklimsel özellikler.....	4
2.1.1.1. Sıcaklık.....	5
2.1.1.1.1. Sıcaklık dağılışı.....	6
2.1.1.2. Yağış.....	9
2.1.1.2.1. Yağışın Dağılışı.....	10
2.2. Tettigoniidae (Orthoptera: Ensifera) Familyasının Genel Özellikleri..	12
2.2.1. Sistematigi.....	12
2.2.2. Çeşitlilikleri ve özellikleri.....	14
2.2.3. Üreme gelişme biyolojileri ve hayat döngüsü.....	15
2.3. <i>Poecilimon</i> Fischer, 1854 Cinsi.....	16
2.3.1. <i>Poecilimon</i> cinsinin dağılımı.....	16
2.4. <i>Poecilimon</i> similis Retowski, 1889.....	17
2.4.1. Sistematik durumu ve teşhis karakterleri.....	17
2.4.2. Biyo-ekolojik özellikleri.....	17
2.5. Çekirgelerin Dağılımını Belirleyen Faktörler (Habitat Seçimi).....	18
2.6. Çekirgelerin Yaşam Öyküleri ve Fenotipik Varyasyon.....	20
2.7. Populasyon Yapısı ve Evrimsel Süreç Üzerindeki Etkisi.....	22
2.7.1. Populasyonun genetik yapısı.....	23
2.7.2. Populasyonun demografik yapısı.....	24

2.7.3.	Populasyonun genetik yapısı ile coğrafya arasındaki ilişki.....	25
2.8.	Filogeni Yaklaşımı.....	26
2.8.1	Moleküler filogeni yaklaşımı.....	30
2.8.1.1.	İki ve daha fazla sayıdaki DNA dizisinin hizalanması.....	31
2.8.1.2.	Hizalanmış DNA dizilerinden evrimsel mesafe verisi elde etme.....	36
2.8.1.3.	Filogeni haritalarının oluşturulması ve incelenmesi.....	37
3.	YÖNTEM	41
3.1.	Örnekleme İstasyonlarının Genel Özellikleri.....	41
3.2.	Arazi Çalışmaları.....	43
3.2.1.	İklimsel yapının belirlenmesi.....	43
3.2.2.	Örneklerin toplanması.....	44
3.3.	Laboratuar Çalışmaları.....	44
3.3.1.	Fenotipik varyasyon analizleri.....	44
3.3.1.1.	Erkeklerde morfometrik analizler.....	44
3.3.1.2.	Dişilerde morfometrik analizler.....	46
3.3.2.	Genetik çalışmalar.....	47
3.3.2.1.	DNA izolasyonu ve çoğaltılması	47
3.3.2.2.	DNA dizi analizi.....	48
3.4.	İstatistiksel Analizler.....	48
3.4.1.	İklimsel analizler.....	48
3.4.2.	Morfometrik analizler.....	49
3.4.2.1.	Erkek bireyler.....	49
3.4.2.2.	Dişi bireyler.....	49
3.4.2.2.1.	Vücut büyüklüğü.....	50
3.4.2.2.2.	Vücut şekli analizleri.....	50
3.4.3.	Genetik analizler.....	51
3.4.3.1.	Populasyonun genetik yapısı ve çeşitliliği.....	51
3.4.3.2.	Filogenetik analizler.....	53
3.4.3.3.	Populasyon demografisi.....	54
3.4.3.4.	Populasyonlar arası farklılaşmada etkili olan faktörlerin analizi.....	55
4.	BULGULAR	56
4.1.	İklimsel Yapının Analizi.....	56
4.2.	Laboratuar Çalışmaları.....	59
4.2.1.	Morfometrik analizler.....	59
4.2.1.1.	Erkeklerde morfometrik analizler.....	59

4.2.1.2.	Dışilerde morfometrik analizler.....	60
4.2.1.2.1.	Vücut büyüklüğü.....	60
4.2.1.2.2.	Vücut şekli analizleri.....	61
4.2.2.	Genetik Analizler.....	66
4.2.2.1.	DNA izolasyonu ve mtCOI amplifikasyonu.....	66
4.2.2.2.	Populasyonun genetik yapısı ve çeşitliliği.....	67
5.	TARTIŞMA	79
5.1.	İklim, Yükseklik ve Kantitatif Morfolojik Karakterler Arası İlişkiler.....	79
5.2.	Yükseklik, Mesafe, Kantitatif Morfolojik Karakterler ve Nötral Genetik Marker Arası İlişkiler.....	82
5.3.	Genel Değerlendirmeler ve Sonuç.....	87
KAYNAKLAR DİZİNİ		89
ÖZGEÇMİŞ		100

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. İncelenen İstasyonların Bileşik Sıcaklık Grafikleri.....	6
Şekil 2.2. Bölgedeki aylık ortalama sıcaklık değerlerinin yüksekliğe bağlı değişimi.....	8
Şekil 2.3. İncelenen istasyonların aylık ortalama yağış grafiği.....	10
Şekil 2.4. Bölgede çok sık yaşanan sis, yoğunlaşma seviyesini göstermesi açısından önemlidir.....	11
Şekil 2.5. Ensifera takımına ait 9 familya arasındaki filogenetik ilişki.....	13
Şekil 2.6. Tettigoniidae alt familyaları arasındaki filogenetik ilişki.....	14
Şekil 2.7. <i>Poecilimon</i> cinsine ait türlerin Türkiye ve yakın çevresindeki bulunurluğu.....	16
Şekil 2.8. Filogeni haritalarında kullanılan temel terim ve şekiller.....	28
Şekil 2.9. Filogeni ağacı morfolojileri.....	29
Şekil 2.10. Köklü ve köksüz ağaç morfolojileri.....	29
Şekil 2.11. İlişkili, fakat farklı iki DNA dizisini kıyaslayarak en ideal hizalamanın ne olması gerektiğine karar vermekte kullanılan Nokta matrisi.....	32
Şekil 2.12. Birbiri ile ilişkisiz 502 farklı ökaryotik genin, RNA polimeraz II için promotor olan bölgesindeki dizi homolojisi.....	36
Şekil 2.13. Atasal diziyi belirlemekte kullanılan farklı yaklaşımlar.	37
Şekil 2.14. UPGMA evrimsel ağaçları oluşturma nın en basit yoludur.	38
Şekil 2.15. Mesafe verisinden türetilen maksimum parsimoni ve minimum mesafe tabanlı filogeni ağaçlarının incelenmesi.....	40
Şekil 3.1. Çalışma alanı haritası ve istasyonların alana dağılımı.....	42
Şekil 3.2. Erkek bireylerin fotoğraflanma açısı ve ölçümlerin alındığı referans noktaları.....	45
Şekil 3.3. Dişi bireylerin fotoğraflanma açısı ve ölçümlerin alındığı referans noktaları.....	46
Şekil 4.1. <i>Poecilimon similis</i> erkek bireylerinde, yükseklik ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi.....	59

Şekil 4.2.	<i>Poecilimon similis</i> erkek bireylerinde, vücut büyüklüğü ortalamalarının yüksekliğe göre dağılımı.....	60
Şekil 4.3.	<i>Poecilimon similis</i> dişilerinde, yükseklik ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi.....	61
Şekil 4.4.	<i>Poecilimon similis</i> dişi bireylerinde vücut büyüklüğü ortalamalarının yüksekliğe göre dağılımı.....	62
Şekil 4.5.	<i>Poecilimon similis</i> populasyonlarında, yükseklik ile vücut şekli değişkenliğini tanımlayan göreceli bükülme (GB1) puanları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi.....	64
Şekil 4.6.	<i>Poecilimon similis</i> populasyonlarında, vücut şekli değişkenliğini tanımlayan göreceli bükülme (GB1) puanlarının ortalama değerlerinin yüksekliğe göre dağılımı.....	65
Şekil 4.7.	En küçük bireyi referans alarak, göreceli bükülme 1 (GB1) puanlarını üzerinden oluşturulan thin-plate spline deformasyon gridleri.....	66
Şekil 4.8.	LCO1490 / HCO2198 primer çifti ile yapılan PCR sonuçları.....	67
Şekil 4.9.a	Farklı bireylere ait DNA dizilerinin hizalanması.	68
Şekil 4.9b.	DNA dizileri arasındaki benzerlik ve farklılıkların mega formatında (.meg) incelenmesi.....	68
Şekil 4.10.	Fırtına vadisindeki 9 istasyondan alınan 28 bireyin aralarındaki evrimsel ilişkiler. “Komşu Birleştirme” (Neighbour-Joining) yöntemi ile elde edilmiştir.....	70
Şekil 4.11.	Fırtına vadisindeki 9 istasyondan alınan 28 bireyin aralarındaki evrimsel ilişkiler. “Minimum Evrim” (Minimum Evolution) yöntemi ile elde edilmiştir.....	71
Şekil 4.12.	İstasyonlar arası genetik uzaklık (F_{st}) ve istasyonlar arası coğrafi uzaklık (Km) arasındaki korelasyonu gösteren grafik.....	76
Şekil 4.13.	Mahalonobis Uzaklıkları cinsinden vücut şekli (GEO) ile genetik uzaklık (F_{st}) arasındaki korelasyon.....	77
Şekil 4.14.	Ağırlık Merkezi Büyüklükleri cinsinden vücut büyüklüğü (VB) ile genetik uzaklık (F_{st}) arasındaki korelasyonu gösteren grafik..	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Aylık ve Yıllık Ortalama Dikey Sıcaklık Gradyanı.....	7
Çizelge 2.2. Aylık ve yıllık sıcaklık ortalamalarının yüksekliğe bağlı değişimi	8
Çizelge 2.3. Orthoptera takımına ait Ensifera alt takımı içerisinde yer alan iki büyük üst familya ve familyalar.....	12
Çizelge 2.4. Tettigoniidae familyasına ait alt familyalar ve içerdikleri ait tür sayıları.....	14
Çizelge 2.5. Farklı dallanmalara sahip olası filogenetik ağaç sayısının, OTU sayısındaki artışa paralel olarak değişimi.....	30
Çizelge 2.6. İki farklı DNA dizisine ait olası farklı hizalamalar.....	32
Çizelge 2.7. Dört hipotetik DNA dizisine ait olan üstteki hizalamaya göre oluşturulan uzaklık matrisi.....	37
Çizelge 3.1. Örneklem istasyonlarının konum ve yükseklikler.....	43
Çizelge 3.2. Morfometrik ölçümlerde kullanılan erkek ve dişi bireylerin istasyonlara göre dağılımı ve sayıları.....	45
Çizelge 3.3. Tek bir gruba ait populasyonlar için yapılan Hiyerarşik Moleküler Varyans Analizi'nin haplotip verisi için düzenlenmiş özeti.....	53
Çizelge 4.1. 1964-2003 yılları arası Pazar Meteoroloji İstasyonu uzun dönemli iklim verileri.....	57
Çizelge 4.2. Çamlıhemşin Meteoroloji İstasyonu uzun dönemli yağış verileri.....	57
Çizelge 4.3. Fırtına vadisi içerisinde farklı yüksekliklerde yer alan mikrohabitatların sıcaklık ve göreceli nem değerlerinin ortalama, standart hata ve varyasyon katsayıları (VK).....	58
Çizelge 4.4. Yükseklik ve vücut büyüklüğünün vücut şekli üzerindeki etkisini özetleyen çok değişkenli kovaryans analizi (MANCOVA) özet tablosu.....	63
Çizelge 4.5. Yükseklikler arası vücut şekil farkını gösteren Mahalanobis Uzaklıkları (D2) (alt matris) ve anlamlılık değerleri (üst matris)....	63
Çizelge 4.6. Poecilimon similis bireylerinin kısmi büzülme puanları üzerinden yapılan göreceli büzülme analizi sonuçları.....	64

Çizelge 4.7. Populasyondaki tüm bireylerin DNA dizi verilerinden elde edilen ve dizilerin istasyonlara dağılımına bakılmaksızın yapılan nötralite testi sonuçları.....	69
Çizelge 4.8. Haplotiplerin alt populasyonlara dağılımı ile alt populasyonlara ait polimorfik bölge sayısı (S) ve nükleotid çeşitlilik indeksleri (θ_s ve $\theta\pi$).....	73
Çizelge 4.9. Populasyonlar arası genetik uzaklıkları betimleyen Slatkin'in F_{st} değerleri ve bu F_{st} değerlerine ait P değerleri.....	74
Çizelge 4.10. Dört alt populasyondaki genetik varyasyonların populasyon içi ve populasyonlar arasındaki paylaşımını betimleyen AMOVA sonuçları.....	74
Çizelge 4.11. Alt populasyonlar arasındaki farklılıkları betimleyen F_{st} değerleri	74
Çizelge 4.12. Alt populasyonlar arasındaki gen akış (göç) oranlarına ilişkin M değeri matrisleri.....	75
Çizelge 4.13. Nötralite testleri.....	75
Çizelge 4.14. Fırtına Vadisi içerisindeki Poecilimon similis populasyonunun genetik farklılaşması ile uzaklık ve vücut şekli ve büyüklüğü farklılaşması arasındaki ilişkiyi gösteren Kısmi Mantel Testi sonuçları.....	78
Çizelge 5.1. İstasyonlar arası uzaklıklar matrisi.....	85

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AMOVA	Moleküler Varyans Analizi (Analyses of Molecular Variance)
ANOVA	Varyans Analizi (Analyses of Variance)
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm	Santimetre
CANOVAR	Kanonik Varyans Analizi (Canonicle Analyses of Variance)
F_{ST}	Fiksasyon indeksi
$F_{x,y}$	F istatistiği değeri ve serbestlik dereceleri
GBA	Görelî Büzölme Analizi (Relative Warp Analysis [RWA])
kg	Kilogram
km	Kilometre
m	Metre
MANCOVA	Çoklu kovaryans analizi (Multivariate analysis of covariance)
mm	Milimetre
mtCOI	Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz alt birim 1
p	İstatistiksel olasılık
ss	Standart sapma
TBA	Temel Bileşenler Analizi (Principle Component Analysis [PCA])
χ^2	Ki-Kare Testi
$\bar{x}$	Ortalama
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
♀	Dişi
♂	Erkek
'	Dakika
''	Saniye
°	Derece
$\approx$	Yaklaşık

1. GİRİŞ

Organik evrim, popülasyonların genetik kompozisyonlarındaki kısmi veya bütünsel ve geri dönüşsüz değişimlerdir. Bu değişimler, prensip olarak, popülasyonların çevreleri ile olan etkileşimleri üzerine gelişir (Dobzhansky et al., 1977). Bu uyumsal (adaptif) açılımların ortak özelliği, genetik bir temellerinin olmasıdır. Kalıtsal olmayan, diğer bir deyişle DNA üzerinde değişiklik yaratmayan, farklılıkların yeni kuşaklara aktarılması söz konusu olmadığından evrimsel değişim sürecinde de her hangi bir önemleri yoktur. Canlılar, çevreleriyle etkileşirken kazandıkları uyumsal açılımı bilinçli olarak edinmezler. Canlılarda var olan çeşitliliğin nasıl olup da uyumsal olan özelliklerin seçilmesi ile yeni popülasyonlar ürettiği ilk olarak C.R.Darwin ve A.R.Wallace tarafından açıklanmıştır (Linnean Society Meeting, 1858). Doğal seçim olarak adlandırılan bu mekanizma canlı popülasyonlarının doğal çeşitliliği üzerinden iş görür. Her ne kadar doğal seçim için ham madde görevi gören bu çeşitliliği oluşturan mutasyonlar rastgele olsa da evrim, çevre ile girilen etkileşimler sonucu olarak gelişen uyumsal açılımların toplamı olması nedeniyle rastgele olmaktan uzak bir olgudur. Çevresel şartlardaki değişim, canlıların doğal seçim süreçleri etkisiyle sürekli olarak bazı özellikleri ile ilgili genetik bilgiyi yitirmelerine neden olurken, bazı yeni özellikler kazandıran genetik değişikliklerin de popülasyonda sabitlemesi sonucunu doğuracaktır. Bu nedenle bir popülasyonun alel frekanslarında zamanla meydana gelen değişim yani evrimleşme, temel olarak canlının ekolojik ilişkilerinin bir sonucu olarak gelişir (Klug and Cummings, 2000; Freeman and Herron, 2001).

Doğal seçilimin popülasyonu yönlendireceği doğrultu, hem çevresel değişiklik veya durağanlığın doğasına hem de popülasyonun gen havuzunun içeriğine bağlıdır (Dobzhansky et al., 1977). Yani çevresel etki, popülasyonun gen havuzundaki alellerin canlıya kazandırdıkları farklı uyum yeteneklerinin kümülatif sonucu üzerinden bir doğal bir seçim baskısı yaratır (Beebe and Rowe, 2005). Bu nedenle bir canlının ekolojik özelliklerinin iyi bilinmesi, karşı karşıya kaldığı muhtelif seçim baskıları hakkında fikir verebilir.

Moleküler biyoloji, canlıları temel yapı taşları olan molekülleri itibariyle inceleyen bir bilim dalıdır. Tüm canlı hücrelerde yaşamsal bilginin taşıyıcısı olan molekülün DNA olduğunun anlaşıldığı 1944 yılından beri bu alanda pek çok atılım gerçekleştirilmiştir (Avery et al, 1944; Watson and Crick, 1953; Maxam, and Gilbert, 1977; Sanger et al. 1977; Mullis, and Faloona, 1987). Bu atılımlardan biri de, DNA üzerindeki bilginin evrim ve ekoloji çalışmaları için kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

Canlılar seçim baskısı nedeniyle evrimsel bir değişim geçirirken aslında içerdikleri yaşamsal bilgi değişmektedir ki bu bilgi de DNA molekülü üzerindedir. Böylece seçim baskısı ve daha fazlası, kalıtım materyali olan DNA üzerindeki değişiklikler izlenerek incelenebilir. Bu tür çalışmalarda temel yaklaşım kalıtsal olmayan varyasyonların popülasyonda evrimsel bir değişime neden olamayacağı düşüncesidir. Doğaldır ki kalıtsal olmayan herhangi bir farklılığa sahip bir bireyin doğal süreçlerce seçilmesi veya elenmesi bir sonraki kuşağın gen frekansı üzerinde herhangi bir değişiklik yaratmayacak ve sonuç olarak evrimsel bir değişime neden olmayacaktır. Aksi durumda ise kuşaklar boyunca DNA üzerindeki farklılık birikecek ve atasal popülasyonla soy popülasyon arasında belirli bir genetik farklılık ortaya çıkacaktır. İşte bu farklılığa dayalı incelemeler, moleküler filogeni çalışmalarının temelini oluşturur (Zuckerlandl and Pauling, 1962). Madem tüm canlılar ortak bir atadan gelmektedir, o halde iki canlı popülasyonunun DNA dizileri arasındaki farklılık evrimsel mesafeleri ile orantılı olmalıdır.

Tüm bu yaklaşımlar, ekolojik ilişkileri ve biyolojisi dikkate alındığında popülasyon içi veya metapopülasyon düzeyinde böyle bir farklılaşmanın oluşabileceği uygun bir model organizmanın varlığı koşulunda popülasyon içi düzeyde de kullanılabilir nitelik taşır. Aksi takdirde dar bir alandaki bireylerden oluşan bir popülasyon, üreme esnasında farklı alellerin farklı bireyler arasında rastgele dağılması nedeniyle genetik açıdan ilgili coğrafyanın her bölgesinde homojen bir çeşitlilik dağılımı (alel frekansı dağılımı) gösterecektir.

Ülkemizin doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Fırtına Vadisi'nde, 300–2500 m arasında dağılım gösteren *Poecilimon similis* Retowski, 1889 (Orthoptera: Tettigoniidae), bu açıdan ele alındığında dikkate değer biyolojik ve ekolojik özelliklere sahip bir canlıdır. *Poecilimon similis* hareket kabiliyeti düşük, kanatları körelmiş ve

vegetasyonu mikro habitat olarak aktif biçimde kullanan bir türdür. Bu nedenle, farklı yükseklik ve vegetasyon alanlarına dağılmış yerel populasyonları arasındaki gen akışı kısıtlı olan bir tür izlenimi vermektedir. Bu durum moleküler düzeyde incelenebilecek olası bir evrimsel ekolojik farklılaşmaya sebep olabilir. Bu farklılaşma ister seçilim baskısı nedeniyle isterse de rastgele genetik sürüklenme gibi kurucu etkisine bağlı sebeplerle gelişmiş olsun, yerel populasyonların birbirinden genetik ve/veya morfolojik olarak farklılaşması sonucunu doğuracaktır.

Sunulan bu tez çalışmasındaki temel amaç; *P. similis*'in farklı yerel populasyonları arasında bu öngörüye uygun morfolojik ve/veya genetik bir farklılığın olup olmadığını ortaya koymak ve bu farklılığın canlının ekolojik ilişkileri ile olan bağlantısı hakkında yorum yapabilecek bilgiler elde edebilmektir.

GENEL BİLGİLER

2.1 Çalışma Alanının Genel Özellikleri

Çalışma alanı, coğrafi konum olarak 41° 02' 14,9" – 40,7915 kuzey enlemleri ile 41° 00' 29,9" – 40,9574 doğu boylamları arasında ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nin Rize İli Çamlıhemşin İlçesi'nden başlayarak Fırtına Vadisi boyunca Çiçekli Yaylası'na kadar uzanan alanı kapsamaktadır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Çamlıhemşin İlçesi'nin deniz seviyesinden yüksekliği 350 m, Çiçekli Yaylası'nın deniz seviyesinden yüksekliği ise 2300 m'dir. Bu yükseklikler arasında yer alan çalışma alanı, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin genelinde olduğu gibi 300 ile 2000 m'ler arasında akarsular ile yarılmış platolar, daha yukarılarda da buz, kar ve buzullar ile kaplı sarp ve yalçın doruklu yüksek dağlık bir yapıdadır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

2.1.1 İklimsel özellikler

Bölgedeki topografik yapı nedeniyle yağış şartları kısa mesafelerde değişiklik göstererek mikroklimatik alanlar oluşturmaktadır. Bu nedenle ilde gerek kıyı boyu ve gerekse iç kesimler arasında yıllık yağış miktarlarında önemli farklılıklar görülmektedir.

Fırtına Vadisi genelinde Doğu Karadeniz'de her mevsimi yağışlı, kışları serin yazları az sıcak bir iklim hüküm sürmektedir. Ancak yörenin topografik özellikleri tüm Doğu Karadeniz için genellenen bu iklim tanımlamasının her yere uygulanmasını olanaksız kılar. Topografyanın kıyıdan itibaren hızla yükselmesi ve yaklaşık 40 km kadar içeride yüksekliğin 4000 m'ye yaklaşması iklim elemanlarında hızlı değişmeye neden olurken, yine yörenin kıyıya dik ve derin vadilerle yarılmaları özellikle yağış gibi iklim elemanlarının hızla değişmesine sebep olmaktadır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Ancak bölgede bu iklim değişikliğini yansıtacak istasyon ağı bulunmadığından, hüküm süren iklim koşullarını tam olarak yansıtabilmek mümkün değildir. Fırtına Deresi havzasında 4 adet istasyon bulunmakla birlikte bu istasyonlardan şu anda çalışan bir istasyon yoktur. Bu nedenle, aralarında veri benzerliği ve dönem süreleri açısından önemli farklılıklar olsa da, günümüzde veri toplayan Rize ve Pazar istasyonlarında tüm klimatolojik gözlemler yapılmaktadır. Ayrıca havza dışında olsa da, gerek bulunduğu vadinin jeomorfolojik özelliklerindeki benzerlik gerekse iklim koşullarındaki benzerlik değerlendirildiğinde, İkizdere istasyonunun kullanılması da uygun olabilir. Bu istasyonlara ait değerlerin karşılaştırılması, topografyaya bağlı olarak sıcaklık ve yağışın nasıl değiştiği hakkında fikir verebilir (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

2.1.1.1 Sıcaklık

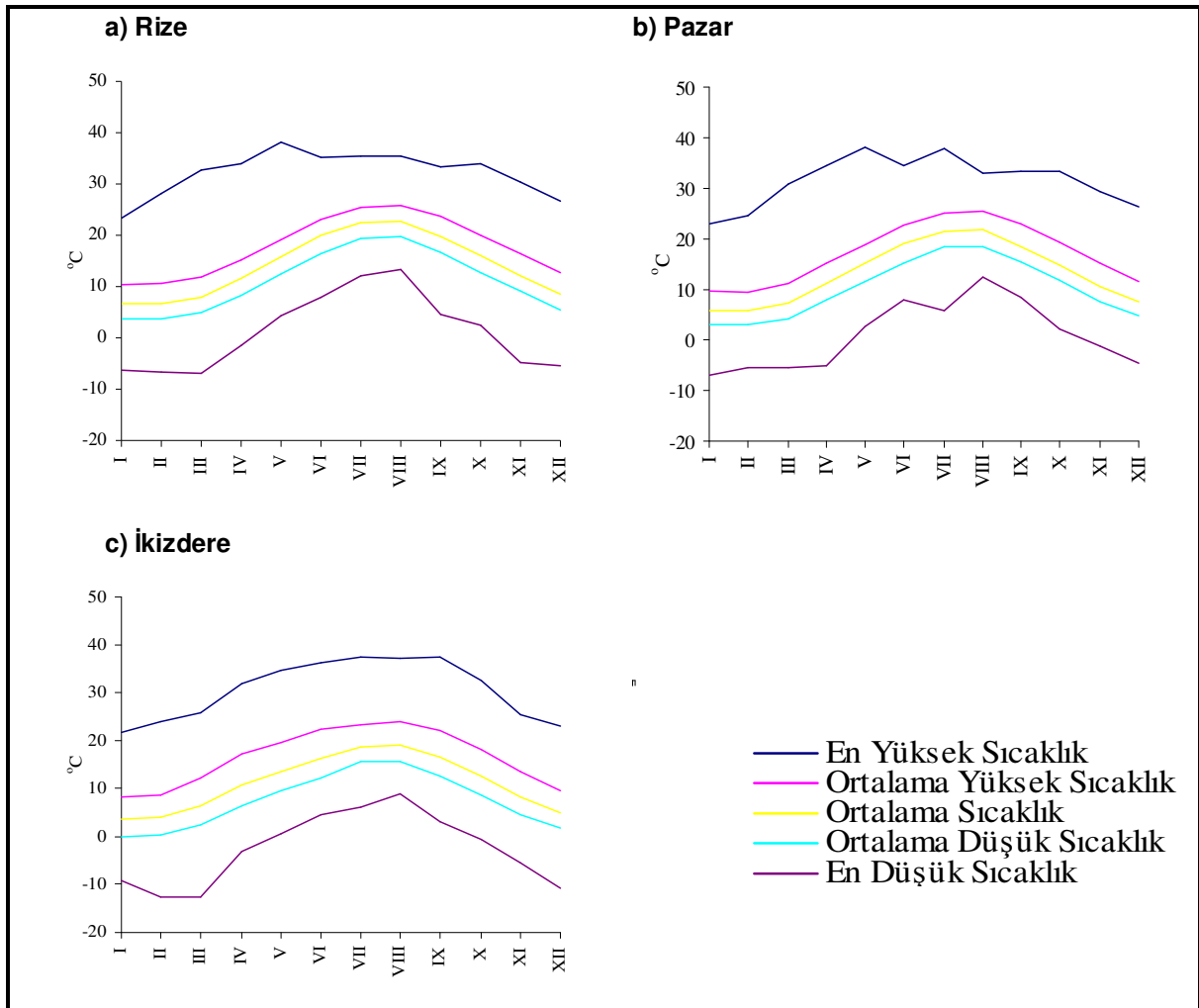
Bölgede genel olarak denizel etkilerin kuvvetli olduğu bir sıcaklık rejimi hâkimdir. Bu durum özellikle kış aylarında kendini belli eder. Kış aylarında kıyı kesimin ortalama sıcaklığı hiçbir ay 0 °C'nin altına düşmez, yaz aylarında ise çok yükselmez. Bu durum yaz ile kış ayları arasındaki sıcaklık farkının az ve sıcaklık değişimlerinin yavaş ve düzenli olmasına neden olur. Kıyı kesiminde mutlak maksimum sıcaklıkların hiçbir ayda 40 °C'yi bulmaması ve mutlak minimum sıcaklıkların ise ancak -7,0 °C'ye kadar düşmesi, kıyı kesiminde okyanussal bir termik rejime yakın sıcaklık koşullarının hüküm sürdüğünü göstermektedir (Şekil 2.1a-b) (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Yükseltinin kıyıdan itibaren ani artışı, sıcaklık koşullarında da değişmelere neden olur. Kıyı kesiminde yaşanan okyanussal koşullar sonucunda en soğuk aylarda (Ocak ve Şubat) ortalama sıcaklık; Rize'de 6,6 °C Pazar'da ise 5,8 °C iken, 800 m yükseklikteki İkizdere'de Ocak ayı ortalama sıcaklığı 3,5 °C'dir (Şekil 4.1c). Ancak, yine de yaşanan okyanussal koşullar sıcaklığın 0 °C altına düşmesini engeller. Mutlak sıcaklıklar incelendiğinde, yöredeki denizel koşulların İkizdere'de hala etkili olduğu görülmektedir (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

2.1.1.1.1 Sıcaklık dağılışı

Sıcaklık, hem yüksekliğe hem de denizden uzaklığa bağlı olarak değişmektedir. Çalışma alanı içerisinde sıcaklık, daha çok yüksekliğe bağlı olarak değişmektedir. Yüksekliğe bağlı olarak sıcaklık değişme oranına dikey sıcaklık gradyanı denilmektedir. Dikey sıcaklık gradyanı sabit bir değer değildir. Çünkü dikey sıcaklık değişiminde havanın içerisindeki su buharı miktarı önemlidir. Bu değer yaz ve kış arasında havadaki neme bağlı olarak değişmektedir. Kış aylarında havanın doyma noktasına yakın olması nedeniyle, sıcaklık gradyanı düşer. Bu değer kış aylarında ortalama $0,39\text{ }^{\circ}\text{C}/100\text{ m}$ 'dir. Yaz aylarında ise havanın doyma noktasından uzaklaşması nedeniyle sıcaklık gradyanı yükselerek ortalama $0,65\text{ }^{\circ}\text{C}/100\text{ m}$ civarında olur (Erol 1993).

Şekil 2.1 İncelen İstasyonların Bileşik Sıcaklık Grafikleri



Bölgedeki sıcaklık gradyanını hesaplayabilmek için Pazar Meteoroloji İstasyonu ile İkizdere Meteoroloji İstasyonu arasındaki sıcaklık gradyanı hesaplanmıştır. Sıcaklık gradyanını yansıtan Çizelge 2.1 incelendiğinde, yöredeki nemli koşulların etkisi nedeniyle değerlerin çok küçük olduğu görülmektedir. Yüksek bağıl nem havanın doyma noktasına çabuk erişmesini sağlamakta, bu da yöredeki sıcaklık değişimin nemli adyabatik koşullarına göre düşmesine neden olmaktadır. Çünkü yükselen doygun havanın içinde oluşan yoğunlaşma çevreye gizli ısı yayılmasına neden olarak sıcaklıkların yavaş düşmesini sağlamaktadır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Çizelge 2.1 Aylık ve Yıllık Ortalama Dikey Sıcaklık Gradyanı

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Yıllık
İkizdere	3,5	3,8	6,4	10,7	13,4	16,3	18,7	19	16,4	12,4	8,1	5	11,1
Pazar	5,9	5,8	7,4	11,3	15,2	19,1	21,6	21,7	18,6	14,8	10,6	7,6	13,3
Fark	2,4	2	1	0,6	1,8	2,8	2,9	2,7	2,2	2,4	2,5	2,6	2,2
Gradyan	0,33	0,28	0,14	0,08	0,25	0,39	0,40	0,38	0,31	0,33	0,35	0,36	0,31

İkizdere Meteoroloji İstasyonu'nun verilerinin kullanılması, bakı koşullarına bağlı olarak sıcaklık dağılımını yansıtmakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yüksekliğe bağlı sıcaklık dağılımını incelemek için yüksekliğe bağlı sıcaklık haritası ve aylık ve yıllık ortalama sıcaklık değişimi yüksekliğe bağlı çizelge oluşturulmuş (Çizelge 2.2) ve sıcaklık değişimini yansıtan izoplet sıcaklık grafiği çizilerek (Şekil 2.2), sadece yıllık ortalama sıcaklık dağılışı yerine 12 aylık sıcaklık dağılışının da değerlendirilmesi olanaklı kılınmıştır. Çizelge 2.2 oluşturulurken 2000 m yüksekliğe kadar Pazar ve İkizdere arasındaki sıcaklık gradyanı kullanılmış, ancak 2000 m yükseklikten sonraki sıcaklık değişimi için, havadaki nemin azalmasına bağlı olarak, 0,56 °C/100 m katsayısı kullanılmıştır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

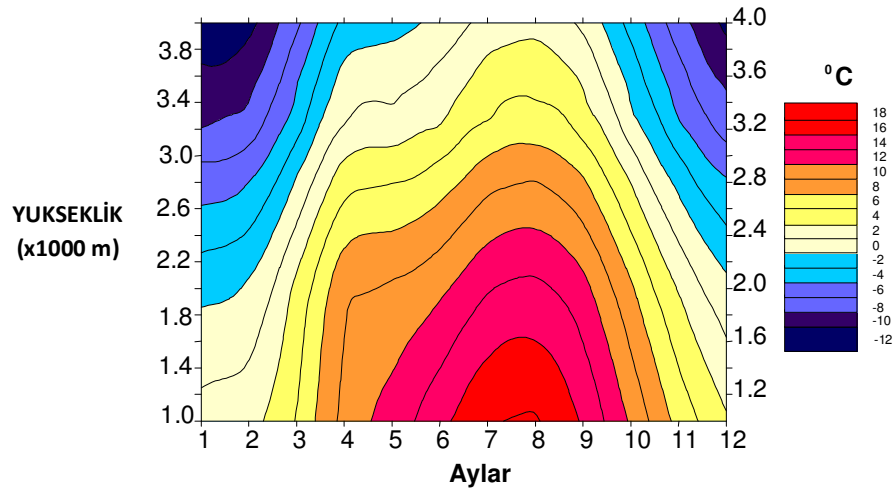
Burada özellikle iki farklı olgu üzerinde durulmuştur. Bunlardan ilki özellikle kar yağışları ile ilgisi bakımından 0 °C ortalama sıcaklığın yıl içerisinde zamansal ve yüksekliğe bağlı dağılışı incelenmiş ve kırmızı olarak gösterilmiştir. Vejetasyon dönemi, bitki türüne göre değişmekle birlikte, genel olarak 8 °C olarak kabul

edilmektedir (Atalay, 1998). İkinci olarak da vejetasyon döneminin zamansal ve yüksekliğe bağlı dağılışı incelenmiş ve kırmızı olarak gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 Aylık ve yıllık sıcaklık ortalamalarının yüksekliğe bağlı değişimi

Yükseklik (m)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Yıllık
1000	2,8	3,2	6,1	10,5	12,9	15,5	17,9	18,3	15,8	11,7	7,4	4,3	10,5
1200	2,2	2,7	5,8	10,4	12,4	14,7	17,1	17,5	15,2	11,1	6,7	3,6	9,9
1400	1,5	2,1	5,6	10,2	11,9	14,0	16,3	16,8	14,6	10,4	6,0	2,8	9,3
1600	0,8	1,6	5,3	10,0	11,4	13,2	15,5	16,0	14,0	9,7	5,3	2,1	8,7
1800	0,2	1,0	5,0	9,9	10,9	12,4	14,7	15,3	13,3	9,1	4,6	1,4	8,0
2000	-0,5	0,5	4,7	9,7	10,4	11,6	13,9	14,5	12,7	8,4	3,9	0,7	7,4
2200	-1,6	-0,7	3,6	8,6	9,3	10,5	12,7	13,4	11,6	7,3	2,8	-0,5	6,3
2400	-2,7	-1,8	2,5	7,5	8,2	9,4	11,6	12,3	10,5	6,2	1,7	-1,6	5,2
2600	-3,9	-2,9	1,4	6,3	7,0	8,3	10,5	11,1	9,4	5,0	0,6	-2,7	4,1
2800	-5,0	-4,0	0,3	5,2	5,9	7,2	9,4	10,0	8,3	3,9	-0,5	-3,8	3,0
3000	-6,1	-5,1	-0,9	4,1	4,8	6,0	8,3	8,9	7,1	2,8	-1,7	-4,9	1,8
3200	-7,2	-6,3	-2,0	3,0	3,7	4,9	7,1	7,8	6,0	1,7	-2,8	-6,1	0,7
3400	-8,3	-7,4	-3,1	1,9	2,6	3,8	6,0	6,7	4,9	0,6	-3,9	-7,2	-0,4
3600	-9,5	-8,5	-4,2	0,7	1,4	2,7	4,9	5,5	3,8	-0,6	-5,0	-8,3	-1,5
3800	-10,6	-9,6	-5,3	-0,4	0,3	1,6	3,8	4,4	2,7	-1,7	-6,1	-9,4	-2,6
4000	-11,7	-10,7	-6,5	-1,5	-0,8	0,4	2,7	3,3	1,5	-2,8	-7,3	-10,5	-3,8

Şekil 2.2 Bölgedeki aylık ortalama sıcaklık değerlerinin yüksekliğe bağlı değişimi



0°C'den düşük sıcaklıkların 2000 m civarında aralık ayında başladığı görülmektedir. Bu metrelerde 2 ay civarında sıcaklıklar 0°C altında iken, 3000 m'nin üzerinde sıcaklıkların yaşandığı dönem 5 ayı geçer. Sıcaklıklar kış aylarında 0 - 4 °C civarında değişirken ilkbahar ve sonbahar aylarında hızlı bir değişim yaşanır ve yaz mevsiminde 18 °C'nin üzerine çıkar. Oysa 3000 m'nin üzerinde kış aylarında sıcaklıklar -6 °C'ye kadar düşerken yaz aylarında 6 - 9 °C arasında değişir. 3000 m'de vejetasyon dönemi 2 aya kadar düşer. Bu metrenin üzerinde hiçbir ayda vejetasyon dönemi sıcaklığına ulaşılmaz (Çizelge 2.2; Şekil 2.2). Alpin floranın yayılışı ile yükseklerdeki düşük sıcaklıklar arasında büyük bir paralellik vardır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Sıcaklık dağılışını vejetasyon açısından değerlendirdiğimizde, çalışma alanının aşağı kesimlerinde sıcaklıklar 7 ay süreyle 8 °C'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. 2600 m'lerde vejetasyon dönemi 4 aya inmekte olup, zaten bu dönem ağaç üst sınırına karşılık gelmektedir (Şekil 2.2). Bodur ve çalı formu haline gelmiş bazı ardıç ve kızılağaç türleri bu seviyelere kadar çıkar. Ayrıca kuzeye bakan nemli yamaçlar üzerinde Kafkas Orman Gülü'ne (*Rhododendron caucasicum*) rastlanır. 3000 m yükseklikte ise vejetasyon 2 aya kadar iner. 3200 m'nin üzerinde sıcaklıklar uzun süre 5 °C'nin altında gerçekleşir. Bu sıcaklık koşulları yörede periglasyal şekillerin görülmesine neden olur (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

2.1.1.2 Yağış

Bölgede, hüküm süren Karadeniz yağış rejiminde, ekim ayında başlayan yağış artışı, ocak ayı sonuna kadar devam etmektedir. Şubatta başlayan aylık yağış miktarlarında azalma, en az değerlere nisan–mayısta ulaşır ve hazirandan itibaren tekrar artış gösterir (Koçman 1993).

İkizdere ve Meydan istasyonlarının yağış rejimleri, yağış miktarları açısından kıyaslandığında yüksek kesimlerde aylık yağış tutarlarının çok düşük olduğu görülür. Rize'de en yağışlı ay miktarı 286,8 mm iken Meydan'da 124,9 mm İkizdere ise 136 mm'dir. Diğer farklılık ise yağış rejimlerinde izlenmekte olup, yağış rejimi üzerinde yüksek dağlardaki basınç koşullarının büyük etkisi olduğu söylenebilir. Sahil

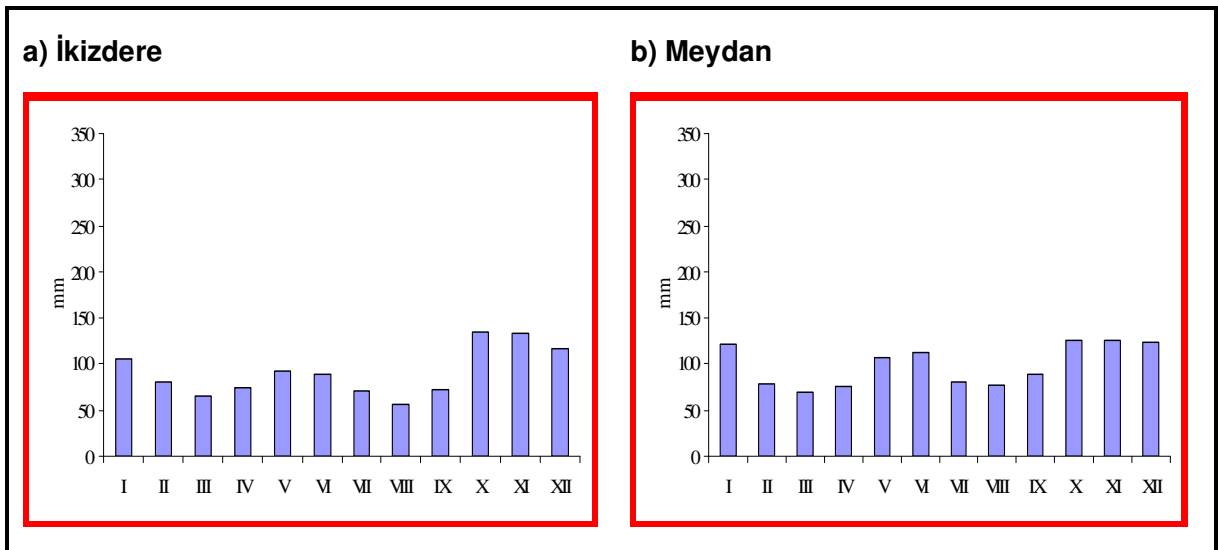
kesiminde tek maksimum ve minimumlu yağış rejimi varken dağlık alanda çift maksimum ve minimumlu yağış rejimi vardır (Şekil 2.3).

2.1.1.2.1 Yağışın Dağılışı

Yerşekillerinin yağış miktarına olumlu etkileri yanında dulda bölgelerde yağışın azalmasına neden olarak olumsuz etkileri de vardır. Genel bir kural olarak belirli bir düzeye kadar yükseldikçe yağış artar. Yer şekillerinin özellikleri bu artışa olumlu ya da olumsuz etki yapar. Bu bakımdan yüksekliğe bağlı yağış artışı belirli bir değer göstermez. Her yüksekliğin yeri genişliği ve diğer koşullara bağlı olarak yağış artışı 50-400 mm/100 m arasında değişmektedir (Erol 1993).

Fazla nemli sıcak hava kütlelerinde, alçalardan başlayan yağış fazladır, fakat oldukça az bir yüksekliğe kadar devam eder. Yani, en çok yağış düzeyi alçaktır. Çalışma bölgesinde, yüksekliğe bağlı yağış değişiminin incelenebilmesi için ihtiyaç duyulan yüksek istasyonların çok az olması, böyle bir genelleme yapmamızı olanaksız kılmaktadır. Bu çalışmada, yağışın 2000 m'ye kadar arttığı, daha sonra da azalmaya başladığı varsayımı kabul edilmiştir (Şekil 2.4) (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

Şekil 2.3 İncelenen istasyonların aylık ortalama yağış grafiği



Şekil 2.4 Bölgede çok sık yaşanan sis, yoğunlaşma seviyesini göstermesi açısından önemlidir.



Yağışın yüksekliğe bağlı değişimi için farklı formüller geliştirilmiştir. Bunlardan en çok bilineni Schrieber ile Hubber tarafından geliştirilen formüllerdir. Schrieber formülü uygulama kolaylığı nedeniyle ülkemizde çok yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu formül: $Y_h = Y_0 + (54 \cdot h)$ şeklindedir.

Formülde: Y_h yağış değeri bulunacak nokta

Y_0 yüksekliği ve yağışı bilinen nokta

h hektometre olarak yağışı bilinen ile bilinmeyen nokta arasındaki yükseklik farkı

Bu formül, Meydan istasyonunun bulunduğu yükseklikteki yağışı bulmak için Rize, Pazar ve İkizdere istasyonlarına uyguladığında aşağıdaki sonuç çıkmıştır.

Rize verilerini kullanarak 1100 m yüksekliğin yağışı: $Y_h = 2300,6 + (54 \cdot 10,96) = 2892,4$ mm'dir.

Pazar verilerini kullanarak 1100 m yüksekliğin yağışı: $Y_h = 2019,1 + (54 \cdot 10,21) = 2570,4$ mm'dir.

İkizdere verilerini kullanarak 1100 m yüksekliğin yağışı: $Y_h = 1094,7 + (54 \cdot 3) = 1256,7$ mm'dir.

Her üç istasyonun yağış değeri de Meydan İstasyonu'nun 1185,4 mm yağış değeri ile kıyaslandığında çok fazladır. Özellikle Rize ve Pazar Meteoroloji İstasyonları'nın verileri kullanılarak çalışma alanı için yapılacak yağış hesaplamalarının çok yanlış sonuçlara neden olabileceği gibi bir sonuca varılmıştır (Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006).

2.2 Tettigoniidae (Orthoptera: Ensifera) Familyasının Genel Özellikleri

2.2.1 Sistematığı

Poecilimon similis Retowski, 1889 Orthoptera takımı Tettigoniidae familyası içerisinde sınıflandırılan bir eklembacaktır. Tettigoniidae familyası, Orthoptera takımının Ensifera alt takımı içerisinde yer almaktadır. Günümüzde Ensifera alt takımında yer alan 10 familyanın (Çizelge 2.3) hepsi, atasal formlardan gelen bir takım ortak karakterlere sahiptir (Gwynne, 1995).

Ensifera, bu alttakım içerisinde yer alan canlılarda, çok belirgin bir karakter olan dış ovipozitörü tanımlamak için kullanılan ve “kılıç şeklinde” anlamına gelen “Ensiform” kelimesinden türemiştir. Bu alt takım üyelerinin bir başka önemli ortak karakterleri de, Caelifera alt takımından sahip oldukları uzun iplik şeklindeki antenleri yoluyla ayırt edilebilmeleridir. Ensifera üyelerinin birçoğu, bu karakterlerin yanında thorasik pleurayı örten kalkan şeklinde bir pronotuma (Gwynne, 2001) ve bir takım ortak DNA sekanslarına sahiptirler (Flook et al. 1999).

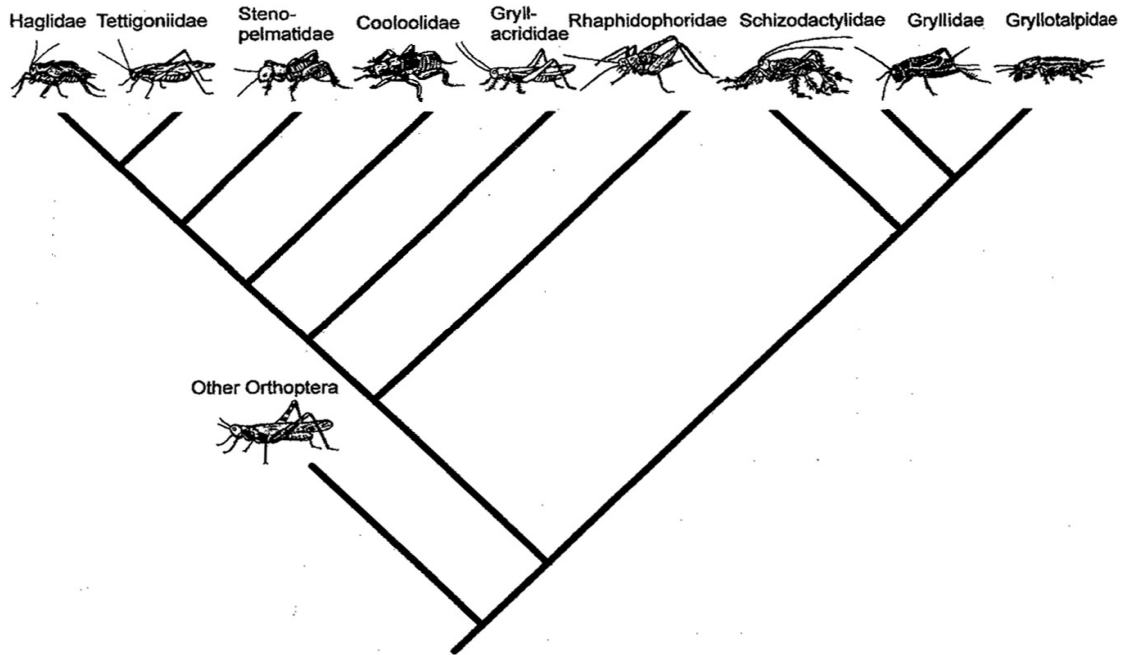
Ensifera’ya ait familyaların filogenetik ilişkilerine dair her hangi bir ortak kanı yoktur. Fakat burada, bütün cinsleri kapsayan büyük bir örneklem grubu ile yapılmış olmasından dolayı, Gwynne (1995)’in çizmiş olduğu sınıflandırma verilmiştir (Şekil 2.5).

Çizelge 2.3. Orthoptera takımına ait Ensifera alt takımı içerisinde yer alan iki büyük üst familya ve familyalar (Gwynne, 2001)

Tettigonioidea	Grylloidea
Haglidae	Gryllidae
Tettigoniidae	Gryllotalpidae
Stenopelmatidae	Mogoplistidae
Cooloolidae	Schizodactylidae
Gryllacrididae	
Rhaphidophoridae	

Tettigoniidae familyası üyeleri, 6 familya içeren Tettigonioidea üst familyası içerisinde yer alır (Çizelge 2.3). Bütün Tettigoniidae üyelerinde ortak olan başlıca karakterler; kılıç şeklini almış bir ovipozitörün varlığı ve oldukça büyük ve yenilebilir olan

spermatofor üretimidir. Tettigoniidae üyeleri, belki de en çok, erkeklerin tegminal stridülasyon yoluyla çıkarttıkları çağrı sesleri ve ön tibia dirseğinin hemen altında bulunan ses organları ile bilinirler. Fakat bu karakterler sadece Tettigoniidae üyelerine özgü olmayıp, Gryllidae ve Gryllotalpidae gibi başka familyalarda da bulunur (Gwynne, 2001). Tettigoniidae üst familyasına dâhil Tettigoniidae, Haglidae ve Stenopelmatidae familyalarının hepsinde tibial kulaklar yer alırken, tegminal stridülasyon sadece Tettigoniidae ve Haglidae familyalarında bulunur (Gwynne, 2001).



Şekil 2.5. Ensifera takımına ait 9 familya arasındaki filogenetik ilişki (Gwynne, 1995).

Tettigoniidae familyasının bu özelliklerinin yanında, kendine özgü bazı karakterleri de vardır. Mesela; erkeklerde sol tegminal kanadın sağ tegminal kanadı örtmesi, sol tegmenin altında yer alan stridulatör çizgi ve dört tarsal segment bu duruma örnek olarak sayılabilir (Gwynne, 2001).

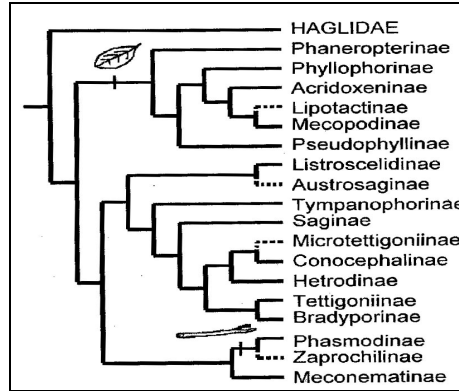
Tettigoniidae familyasının yaşam öyküleri diagnostik karakter olarak kullanılabilir. Çoğu Tettigoniidae türleri, özellikle inaktif oldukları dönemlerde, bitki yapraklarının arasına veya bitkiler arası boşluklara çekilerek vejetasyonu mikrohabitat olarak kullanırlar (Gwynne, 2001).

2.2.2 Çeşitlilikleri ve özellikleri

Permian döneminde ortaya çıkan atasal formlar bugün 1070 genus içerisinde yer alan 6000 yaşayan tür ile temsil edilmektedir (Otte, 1997). Ülkemizde “Çayırçekirgesi” olarak adlandırılmaktadırlar. Tettigoniidae içerisinde yer alan alt familyaların listesi Çizelge 2.4’de, bunların filogenetik ilişkileri ise Şekil 2.6’da verilmiştir. Burada görüldüğü gibi Tettigoniidae familyası içerisindeki en zengin grup, dünya üzerine yayılmış 2000 civarında tür ile temsil edilen Phaneropterinae alt familyasıdır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. Tettigoniidae familyasına ait alt familyalar ve içerdikleri tür sayıları (Otte, 1997)

Alt Familya	Tür sayısı
Austrosaginae	33
Bradyporinae	56
Conocephalinae	962
Hetrodinae	77
Lipotactinae	25
Listroscelidinae	50
Meconematinae	445
Mecopodinae	159
Microtettigoniinae	2
Phaneropterinae	2,013
Phasmodinae	3
Phyllophorinae	69
Pseudophyllinae	1,051
Saginae	50
Tettigoniinae	868
Tympanophorinae	7
Zaprochilinae	18



Şekil 2.6 Tettigoniidae alt familyaları arasındaki filogenetik ilişki (Gwynne, 2001).

Çayır çekirgeleri dünya geneline yayılmış bir gruptur. Aynı zamanda çok ciddi yükselti farklılığı bulunan bölgelere de yayılmış durumdadırlar. Öyle ki Antarktika haricindeki tüm kıtalarda bulunan bu hayvanlar, tropikal alanlardan çok yükseklerdeki alpin zonlara kadar dağılmış durumdadırlar (Heller, 1995). Ancak yayılım alanı ile kurdukları asıl önemli ilişki vejetasyonu bir mikrohabitat olarak etkin biçimde kullanmalarıdır. Öyle ki kanatları, yaprakları (Nickle and Castner, 1995) ya da dalları taklit eden pek çok kriptik tür bilinmektedir.

Çayır çekirgelerinin büyük çoğunluğu omnivordur. Populasyon yoğunlukları düşük olduğundan ciddi bir tarım zararlısı değildirler. Yine de Tettigoniinae ve Conocephaline gibi gruplara dâhil olan bazı sürü oluşturuıcı türler potansiyel zararlıdırlar (Jago 1997; Mbata, 1992). Bunların en bilinen örneği ise Kuzey Amerika'nın uçamayan Mormon çekirgesidir (*Anabrus simplex*).

2.2.3 Üreme gelişme biyolojileri ve hayat döngüsü

Çayır çekirgelerinin üreme davranışında sesin yeri ve önemi büyüktür. Çiftleşme çağrısı olan bu sesleri erkekler çıkarır ve sesler dişileri çeker. Böylece üreme davranışlarının başlamasını sağlamış olurlar. Hayvan kanatlarını yukarı doğru açıp sağ tegmende bulunan dorsal tarağı, sol tegmenin alt kısmında bulunan bir çizgiye sürterek ses çıkarır. Tüm bu etkileşimler için gerekli olan tibial kulaklar her iki eşeyde de bulunur ve ön bacaklarındadır (timpana). Ses timpana'ya hem arkadan hem de önden ulaşabilir (Morris, 1998). Bu canlılarda ilginç biçimde çiftleşme esnasında erkekler dişilerin altında bulunur. Spermier Orthoptera takımının tümünde olduğu gibi bir sperm kesesi (spermatofor) içerisinde dişiye aktarılır (Demirsoy, 1999). Çiftleşmeden hemen sonra başlayan yumurta bırakma davranışı ilkbahardan güzün sonuna kadar sürebilir. Genelde 150 – 200 arasında yumurta, ovipozitör yardımı ile uygun yerlere bırakılır.

Tettigoniidae türlerinde kışlama, yumurta şeklinde gerçekleştirilir (Gwynne, 2001). Ülkemizin Doğu Karadeniz Bölgesi gibi dağlık ve soğuk yerlerde, yılda bir kuşak görülmesi tipik hayat döngüsü modelidir Yumurtalar ertesi yıl baharda açılır, ancak bazı türlerde yumurtaların bırakıldığı mevsime göre diyapoz süresi 2 yıla çıkabilir (Ingrish, 1984). Daha sıcak iklimlerde bu tipik monovoltin hayat döngüsünden ciddi sapmalar hatta hayat döngüsünün tüm evrelerinin tüm yıl boyunca görüldüğü sürekli

çakışan kuşaklar gözlenebilir (Ando, 1991). Bu yumurtalardan çıkacak olan nimfler 4 ila 9 deri değişiminin ardından erginliğe ulaşacaklardır. Eşeyssel erginliğe ulaşım için ise erkeklerin kopulasyon organlarının sertleşmesi yeterliyken dişilerin erginleşmesi daha çok zaman almaktadır (Demirsoy, 1999).

2.3. *Poecilimon* Fischer, 1854 Cinsi

Poecilimon Fischer, 1854 (Orthoptera, Tettigoniidae) cinsi, yaklaşık 136 tür ile Phaneropterinae alt familyası içerisindeki en zengin cinslerden biridir (<http://data.gbif.org/species/browse/taxon/13189070>). Ülkemizde bu canlıların teşhis edilip bilim dünyasına kazandırılmasında, başta Prof. Dr. Tefik Karabağ (18 tür), Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÜNAL (12 tür) ve Doç. Dr. Hasan Sevgili olmak üzere ülkemizden pek çok bilim insanı da sayılabilir (<http://www.biolib.cz/cz/taxon/id106>).

2.3.1. *Poecilimon* cinsinin dağılımı

Cinsin Türkiye'deki genel dağılımı, "Catalogue of Life: 2007 Annual Checklist on the classification of *Poecilimon*" adlı yayına göre Şekil 2.7'de verildiği gibidir (<http://data.gbif.org/species/13189070>). Sadece bu şeklin ortaya çıkmasına sebep olan veri seti bile, *Poecilimon* cinsi içerisinde sınıflandırılan canlıların vejetasyon ile ne kadar yakın ilişkili olduklarını ortaya koymaktadır. Zira dağılımları belirgin sınırlar içinde kalmakta ve çok yakın çevrelerde bile bulunmamaları söz konusu olabilmektedir.



Şekil 2.7. *Poecilimon* cinsine ait türlerin Türkiye ve yakın çevresindeki (24°E, 36°N, 44°E, 46°N arası alanda) bulunurluğu (<http://data.gbif.org/species/13189070>).

2.4 *Poecilimon similis* Retowski, 1889

2.4.1 Sistematik durumu ve teşhis karakterleri

Takım	: Orthoptera
Alt Takım	: Ensifera
Üst Familya	: Tettigonioidea
Familya	: Tettigoniidae
Alt Familya	: Phaneropterina
Genus	: <i>Poecilimon</i> Fischer, 1854
Tür	: <i>Poecilimon similis</i> Retowski, 1889

Poecilimon türlerini ayırt etmek için kullanılan diagnostik karakterler, morfolojide görülen küçük farklılıklara dayanır. Kullanılan morfolojik karakterler arasında en önemlileri pronotum, tegmina, erkek serkuları ve subgenital plakası, dişi subgenital plakası ve ovipozitördür (Bei-Bienko, 1954; Salman, 1978).

Poecilimon cinsinde vücut rengi yeşilin tonlarındadır. Ovipositor ventralde daima düz, yalnız uç kısımda yukarı doğru kıvrık ve dişlidir. Vertexin fastigiumu antenin birinci segmentinden dar ve antenler vücuttan çok uzundur. Bu genel özellikler *P. similis* için de geçerli olmakla birlikte, genel renk yeşil, kirli yeşil ve kızılımsı yeşil olabilmektedir. Bu çalışmada da belirtildiği gibi *P. similis*'in erkeklerinde pronotum orta kısımda konkav (içbükey), dişilerde ise silindirik (Salman, 1978).

2.4.2 Biyo-ekolojik özellikleri

Bu türün bireyleri orman komünitesi içerisinde yer alır ve alçak kesimlerde genellikle ormanın yol kenarı açıklıklarındaki eğrelti otlarının arasında ve çalılar üzerinde bulunurken, yüksek kesimlerde ise subalpin çalılıklarda veya çayırlarda bulunur. Bu tür alçak kesimlerde *Poecilimon schmidtii*, *Isophya rizeensis*, *I. redtenbacheri*, *Pholidoptera griseoptera*; subalpin ve alpin zonlarda ise *Psorodonotus* spp. ve *Phonochorion uvarovi*, *Ph. satunini*, *Ph. artvinensis*, gibi diğer çayırçekirgeleri ile simpatrik olarak bulunmaktadır. *Isophya rizeensis* 'de olduğu gibi, nimfler genel olarak Haziran ayının başı ile beraber görülmeye başlar, fakat yüksek kesimlerde nimf çıkışı Haziranın sonunu bulabilir. Erginler temmuz ve ağustos ayları arasında görülür ve eylül ile beraber ortadan kalkarlar (Sevgili, 2004; Sağlam, 2004).

2.5 Çekirgelerin Dağılımını Belirleyen Faktörler (Habitat Seçimi)

Çekirge türlerinin habitatlarında görülen farklılıklar birçok şekilde açıklanmaya çalışılmıştır. 1930-1970 yılları arasında yapılan çoğu çalışmalar (van Wingerden et al. 1991) bu farkın nimflerin mikroklimatik ihtiyaçlarından doğduğunu belirtirken, sonraki yıllarda araştırmacılar besin varlığı, rekabet, predasyon gibi etkileşimlerin ve çekirgelerin vejetasyon içerisindeki hareket yeteneklerinin yanında yumurtlama alanı ve uygun termoregülatör bölgelerin seçimi gibi biyotik faktörlerin de önemli rol oynadığını belirlemişlerdir (Quinn et al. 1991).

Termal ortam çekirgeler için çok önemlidir. Çünkü sıcaklık çekirgelerin bütün biyolojik fonksiyonlarını ve sonuç olarak da uyumunu etkiler (Willot and Hassal, 1998). Hayatta kalabilmek ve üreyebilmek için çekirgelerin vücut sıcaklıklarını belirli bir derecede tutmaları gerekir. Düşük vücut sıcaklıklarında ($<15^{\circ}\text{C}$) çekirgeler çok yavaş hareket ederler ve beslenemezler, yüksek vücut sıcaklıklarında ise ($>45^{\circ}\text{C}$) enzimler denatüre olur ve canlı ölür (Chappel and Whitman, 1990). Bundan dolayı çekirgelerin maruz kaldıkları sıcaklık rejimleri, bunların yaşam öyküleri üzerinde etkili olan en önemli unsur olarak ele alınabilir. Çekirgelerin bulundukları habitattaki sıcaklık rejimleri, bölgenin maruz kaldığı güneş ışığının yanı sıra vejetasyon yapısı tarafından da belirlenir. Yüksek ve yoğun vejetasyon örtüsü ile kaplı alanlarda yüzey veya toprak sıcaklığı, vejetasyonsuz veya vejetasyon seviyesi az alanlara göre oldukça düşüktür [Barkman and Stoutjesdijk, 1987 (van Wingerden et al. 1991)]. Toprak ve yüzey sıcaklığı, hem embriyonik gelişme hem de yumurta açılımı için son derece önemlidir. (Ingrish, 1984, 1986) Yapılan çalışmalar, çekirgelerde diyapoz sonrası yumurta gelişimi ile sıcaklık ve alandaki vejetasyon yapısı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Ingrish, 1986; van Wingerden et al. 1991). Batı Avrupa'da yayılmış on Acridid türünün diyapoz sonrası embriyonik gelişimi ile sıcaklık arasındaki ilişki incelendiğinde, diyapoz sonrası embriyonik gelişmenin büyük ölçüde sıcaklık tarafından belirlendiği ve diyapoz sonrası gelişim süresi uzun olan türlerin dağılımı sıcak çayırılık alanlarla sınırlı iken, diyapoz sonrası gelişimi kısa olan türlerin daha soğuk çayırılık alanlarda da bulunabileceği saptanmıştır (van Wingerden et al. 1991). Buradan yola çıkarak, vejetasyon–sıcaklık-yumurta açılım ve gelişim oranı arasındaki ilişkinin çekirgelerin habitat seçimini etkilediği söylenebilir.

Tercih edilen vücut sıcaklıklarına göre, farklı ortamlarda bulunan çekirgeler tercih ettikleri sıcaklıklara ulaşabilmek için özel termoregülasyon davranışlarına sahiptirler. Çoğu çevrelerde çekirgeler güneş ışığı yoluyla vücut sıcaklıklarını artırırlar ve konveksiyon yoluyla ısı kaybederler (Chappel and Whitman, 1990). Dolayısıyla çekirgeler bulundukları alandaki konumlarını ısı kazanmak veya kaybetmek için değiştirebilirler. Çekirgeler sıcak ve nispeten kurak iklimlerde vejetasyonun alt kademelerine inerek gölgelik alanlara sığınır, aksine daha serin ortamlarda daha fazla ısınabilmek için vejetasyonun üst kademelerine çıkarlar (Harrison and Fewell, 1995).

Bunun yanında vejetasyon örtüsünün yapısı, predasyondan korunma açısından da son derece önemlidir. Potansiyel av olan bütün canlılar, predasyon riskini azaltmak için besin arama sıklıklarını veya uyumsal diğer faaliyetlerini belirli bir dengede tutmalıdırlar (Lima and Dill; 1990; McNamara and Houston, 1994; Peckarsky and McIntosh, 1998). Örneğin çekirgeler yüksek vücut sıcaklığına ulaşabilmek için vejetasyonun üst kademesine çıkma zorunluluğu ile bundan dolayı artabilecek predasyon oranını dengelemek durumundadırlar (Pitt, 1999). Çekirgelerin bir çok predatörleri vardır. Bunlar arasında en önemlileri kuşlar, küçük memeliler, kertenkeleler ve örümceklerdir. (Belovsky et al. 1990; Bock et al., 1992; Joern, 1986, 1992; Schmitz et al., 1997) Çayırılık vejetasyonunun farklı kademelerinde farklı predasyon baskısına, besin kalitesine ve mikroiklimlere maruz kalabilirler. Kuş predasyonundan kaçmak için vejetasyonun daha alt kademelerine kayabilir veya karasal predatörlerden kaçmak için vejetasyon üst kademelerine çıkabilirler.

Bunun yanında vejetasyon kademesi daha uygun besin kaynakları bulmaları bakımından da önemlidir (Ritchie and Tilman, 1992; Harrison and Fewell, 1995; Pitt, 1999). Bitki dokusunun kalitesi, dokunun kimyasal içeriğine, evaporasyonla su kaybetme oranına ve dokunun fiziksel yapısına bağlıdır (Champman, 1990; Bernays and Bright, 1993). Bitki yaprakları, bitki saplarına göre daha yüksek kaliteye sahiptirler ve genç dokular yaşlı dokulara göre daha kalitelidirler. Bitki sapları ve yaşlı dokuların protein içerikleri daha düşüktür ve daha yüksek oranda sindirilemeyen dokulara sahiptirler (Anten et al. 1998; Field, 1983). Buna ek olarak, yüksek kaliteli dokular (örneğin daha yüksek nitrojene sahip olanlar) vejetasyon kademesinin üst taraflarında

bulunurlar (Hirose et al. 1989; Werger and Hirose, 1991). Örtü oluşturan birçok bitkide, yaprakların çoğu ve daha genç dokular vejetasyonun üst kademesinde bulunur (Hirose et al. 1989).

Çekirgelerin mikrohabitat kullanımındaki bu gibi küçük ölçekli farklılıklar, vejetasyon kompozisyonu tarafından belirlenen mikrohabitatların Orthoptera türlerinin bollukları ve dağılımları üzerinde çok önemli etkileri olduğunu gösterir (Guido and Gianella, 2001).

Sonuç olarak yukarıda belirtildiği gibi çekirgelerde ovipozisyon, yumurta, nimf ve ergin gelişimi habitatın termal özellikleri ile yakından ilişkilidir. Habitatın termal özellikleri ise temel olarak alanın iklimsel ve vejetasyon yapısı tarafından belirlenir. Buna ek olarak vejetasyon yapısı predasyondan korunma ile yakından ilişkili olup, canlıların alandaki hayatta kalma başarısı üzerinde önemli etkisi vardır. Bundan dolayı vejetasyon yapısındaki küçük değişiklikler bile, çekirgelerin yaşam faaliyetlerini etkileyebilir. Sıcaklık tabakalaşmaları ve buna paralel olarak görülen vejetasyon farklılıkları, nispeten yakın alanlarda türler arası görülen farklılıkları yönlendirdiği (belirlediği) gibi aynı türe ait bireylerin yaşam öyküsü stratejilerinde de önemli farklılıklara yol açabilir.

2.6 Çekirgelerin Yaşam Öyküleri ve Fenotipik Varyasyon

Çekirgelerde yaşam öyküsü karakterleri bakımından populasyonlar arasında görülen farklılıklar, birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Telfer ve Hassal (1999), *Chortippus brunneus*'un Britanya adasına dağılmış 27 populasyonu arasında yaşam öyküsü bakımından (kuzey bölgelerdeki populasyonlar daha hızlı gelişip daha az deri değiştirirken, güneydekilere oranla daha küçük bireyler oluşturmaktadır) farklılıklar ortaya koymuşlardır. *Melanoplus sanguinipes*'in Kaliforniya populasyonlarının hayat döngülerinde; diyapoz süresi ve oranı ile nimf ve ergin gelişim sürelerinin, yükseklik gradienti boyunca değiştiği belirlenmiştir (Dingle et al. 1990). Bunun gibi nispeten büyük çaplı ekotipik farklılıkların yanında, daha küçük çaplı alanlar arasında da çekirge populasyonları bakımından farklar gözlemlenmiştir. Monk (1985), farklı habitatlarda bulunan *C. brunneus* ve *C. parallellus* populasyonlarının; yumurta ve nimf gelişimi ile üreme başarısı, gibi yaşam öyküsü karakterleri arasında farklılıklar tespit etmiştir. Yine Sibly ve Monk (1987), 8 km uzaklıktaki *C. brunneus* populasyonları

arasında yumurta büyüklüğü ve nimf gelişim süresi bakımından farklar bulmuşlardır. Atkinson ve Begon (1987a, 1987b) *M. maculatus*'un birbirinden bir kaç kilometre ile ayrılmış populasyonları arasında yumurta, batın büyüklüğü ve ergin vücut büyüklüğü bakımından farklar olduğunu ortaya koymuşlardır. Thorens (1991), iki bölgede yaptığı çalışmada *C. mollis* bireylerinin gelişimleri arasında fark olduğunu, hatta bir bölgede diğerine oranla bir fazla deri değiştirme gerçekleştirildiğini saptamıştır.

Belirli bir alanda yaşayan canlının yaşam öyküsü, evrimin o canlıyı üreme başarısına ulaşabilmek için nasıl şekillendirdiğini belirtir (Stearns, 2000). Dolayısıyla canlının uyumunu belirleyen hayatta kalma başarısı, çiftleşme başarısı ve yavru sayısı gibi uyumsal öğelerin her biri, yaşam öyküsünün şekillenmesinde rol oynar. Eğer farklı iki alanda yaşayan aynı türe ait populasyonların yaşam öykülerinde bir farklılık varsa, bu durum iki populasyonun uyumsal birimlerinde ve onu yönlendiren seçim sürecinde bir fark olduğu anlamına gelebilir (Futuyma, 1998).

Doğal seçim süreci fenotipler üzerinden etkisini gösterdiğine göre, canlıların yaşam öyküleri arasındaki farkın fenotipik bir bileşenin olması gerekmektedir. Bir başka deyişle, doğal seçim sonucunda uyumluluk ölçütü olarak kullanılabilen bir fenotipik karakterin güçlendiği varsayılır (Roff, 2001).

Vücut büyüklüğü, birçok araştırmacı tarafından en önemli yaşam öyküsü karakteri olarak ele alınmıştır. Birçok canlıda dişi üretkenliği ve erkeklerin çiftleşme başarısı vücut büyüklüğü ile doğru orantılıdır (Forrest, 1987; Higgins, 2000; Sokolovska et al. 2000). Büyük bireyler, küçük bireylere oranla avcılara daha az yem olurlar (King, 1992; Sparkes, 1996). Bunun yanısıra gelişimin zamanı ile ergin vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiden dolayı, vücut büyüklüğü artışı daha uzun bir erginleşme süresi anlamına gelir (Abrams et al. 1996; Atkinson, 1994; Blanckenhorn, 1997; Roff, 2000). Durum böyle olduğunda, büyük bireyler erginleşme tamamlanana ve üretken evreye geçene kadar daha yüksek ölüm oranlarına maruz kalacaklardır. Kısacası ergin vücut büyüklüğü ve canlının vücut büyüklüğünü belirleyen (yönlendiren) faktörler, canlıların yaşadıkları alanda gerçekleşen uyumsal süreçlerin bir göstergesi olarak ele alınabilir.

Çekirgeler ve diğer ektotermik organizmalar vücut sıcaklıklarını kontrol edebilmek için güneş gibi dış sıcaklık kaynaklarına ihtiyaç duyarlar ve metabolizma, büyüme ve

gelişim gibi yaşamsal faaliyetler sıkı sıkıya vücut sıcaklığına bağlıdır (Bennet, 1984; Huey and Hertz, 1984; Huey and Kingsolver, 1989). Dolayısıyla ektotermilerin gelişim süreleri boyunca maruz kaldıkları sıcaklık rejimleri, hem erginliğe ulaşma yaşı hem de ergin vücut büyüklüğü üzerinde etkili olup (Atkinson, 1994; Blanckenhorn, 1997; Forrest, 1987; Higgins, 2000; Partridge et al. 1995), bireylerin vücut sıcaklıklarını arttırmaya yarayabilecek herhangi bir varyasyon bu canlılar için çok büyük bir öneme sahip olacaktır.

2.7 Populasyon Yapısı ve Evrimsel Süreç Üzerindeki Etkisi

Evrimsel ekoloji en temelinde bir populasyon incelemesidir. Çünkü doğal seçim bireyler üzerinden çalışsa da sonuçları popülasyonda ortaya çıkar (Freeman and Herron, 2001). Dahası bir popülasyonda temel bir tip yoktur ve popülasyonun en temel niteliği içerdiği varyasyondur ki bu da evrimin ham maddesidir (Mayr, 1963; Hedrick, 2005). Tüm bunların doğal sonucu olarak evrimsel olaylar yalnızca popülasyonlar içinde gelişir (Şişli, 1999). Benzeri şekilde ekolojinin temel birimi de birey değil popülasyondur (Lowe, Harris and Ashton, 2006). Sonuç olarak incelediği canlıların popülasyon yapısını ortaya koymaya çalışmayan bir evrimsel ekoloji çalışması hayal etmek güçtür.

Bir popülasyonun yapısı demek aslında iki temel özelliğinin bir dökümü demektir. Bunlar, popülasyonun demografik yapısı ve genetik yapısıdır (Slatkin, 1994; Koderick, 1996). Popülasyonun demografik yapısı, bireylerin oluşturduğu fenotipik sınıfların sayısını ve dağılımını etkileyen her olgudur ki bunlar doğum, ölüm, dispersal, çiftleşme ve hayat-döngüsü ile ilişkili tüm süreçleri kapsar. Genetik yapı ise popülasyondaki genetik varyasyonun dağılımı şeklinde tanımlanabilir. Hem demografik yapı hem de genetik yapının birbiri üzerine etkisi vardır ancak bu etki dolaysız değildir. Çevresel etkileşimler burada anahtar bir rol oynar. Öyle ki genetik yapı, demografik özelliklerin girdiği çevresel etkileşimler nedeniyle yaşanan, seçim başta olmak üzere evrimsel süreçler tarafından şekillendirilir. Bu süreçler nedeniyle genetik varyasyonun bir kısmı kaybedilebilir veya yerel dağılımı değişebilir. Benzeri şekilde genetik yapının değişmesi örneğin yeni bir allelin popülasyonda yayılması demografik yapıyı etkileyip değiştirebilir. Kimi zaman canlıların yeni yerlere dağılmasını

tetikleyebilir veya çiftleşme etkinliğinde değişimlere neden olabilir vs. Böylece bir popülasyonun yapısını oluşturan temel değişkenler birbirleriyle doğrudan doğruya ekolojik ve evrimsel ilişkiler ağı aracılığı ile ilişkilendirilir. Bu bizi bir alanda gerçekleşen evrimsel sürecin mekanizmasını ve nedenlerini anlayabilmek için organizmanın ekolojisi ve biyolojisi hakkında detaylı bilgi edinilmesinin şart olduğu sonucuna götürür (Endler, 1986).

2.7.1. Popülasyonun genetik yapısı

Doğal popülasyonlar çoğu zaman genetik, ekolojik, davranışsal veya coğrafi nedenlerle birbirleri ile iletişimi az veya hiç olmayan yerel gruplara bölünmüşlerdir. Bu dispersalin doğal bir sonucudur. Ancak bu ayrışma gen havuzunu da ayıracağından farklı alt gruplar arasındaki gen akışını da kısıtlamış olacaktır. Kısıtlanmış gen akışı her alt popülasyonun gen havuzunun içeriğini özgünleştirebilir. Eğer gen akışı çok düşükse genetik sürüklenme, seçim ve hatta mutasyon bile gruplar arasında genetik farklılaşmaya neden olabilir (Hedrick, 2005). Popülasyonlar arası genetik farklılaşmayı ortaya koymakta en sık başvurulan yöntemlerden biri Wright'ın geliştirmiş olduğu F_{st} (Fisasyon indeksi) istatistiğidir. Bu istatistik yerel popülasyon içerisindeki kendileşme oranını kullanarak, yerel popülasyondaki genetik yapının popülasyonun genel genetik yapısından farklılaşma düzeyine ilişkin bilgi verir [(Wright 1951) Slatkin 1994].

Efektif popülasyon büyüklüğü de alt popülasyonları birbiri ile karşılaştırmakta son derece işlevsel bir parametredir. Bunun nedeni popülasyonların genetik yapılarını tanımlarken uygulanan olasılığa dayalı temel hesaplamaların aslında sonsuz büyüklükteki popülasyonlar için geçerli olmasıdır. Sonsuzdan küçük her popülasyonda ve popülasyon küçüldükçe artacak şekilde, ölçülen parametrelerin değerlerinde şansa bağlı sapmanın etkisi artar (örneğin belirli bir allelin frekansında) (Hedrick, 2005). Bu şansa bağlı olayların alt popülasyonlarda tamamen şans eseri olarak birbirine benzer örüntüler oluşturması ihtimali yok denecek kadar azdır. Bu nedenle alt popülasyonların herhangi bir genetik örüntü için beklenen değerden şansa bağlı sapmalarının birbirlerinden farkı, bu alt grupların birbirlerinden farklılaşma ve izole olma düzeyi hakkında önemli bilgiler verir. Aynı şekilde fakat biraz farklı bir

yaklaşım ile sınırlı büyüklükteki bir popülasyonun, çiftleşme sırasında örneklenen gametlerden kaynaklanan şansa bağlı allel frekansı değişimleri de genetik sürüklenme olarak bilinir (Hedrick, 2005). Aslında yukarıdaki yaklaşımın temeli bir popülasyonun içinde birbirinden bağımsızca gelişen farklı genetik sürüklenme modellerinin ve / veya örüntülerinin olup olmadığının analizidir.

F_{st} ve efektif popülasyon büyüklüğü değerleri yerel popülasyonları karşılaştırmakta son derece kullanışlıdır. Fakat bu karşılaştırma sonucu görülebilecek olası farklılaşmaların nedenleri ancak canlının biyolojisinin çalışılmasıyla ortaya konabilir. Bu nedenlerin başında dispersal gelir ki alt popülasyonlar arasında gen akışı yaratarak genetik yapının homojenize olmasına sebep olabilir (Nunney, 2001). Böylece genetik farklılaşma ile dispersal düzeyi arasında ters bir orantı bulunur. Bu durumda bir popülasyonun genetik yapısını ortaya koymak için dispersalin veya diğer bir değişle gen akışı miktarının ölçülmesi gerekir.

Slatkin (1985)'e göre dispersal ölçüm yöntemleri, doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki türdür. Doğrudan ölçüm yöntemleri, örneğin yakalama, işaretleme, bırakma, yeniden yakalama gibi, dispersali gerçekleştiren canlıların sayısını ve dispersal mesafesini ortaya koyarak uygulanır. Buna karşın dolaylı yöntemler popülasyonun gözlenen yapısının ortaya çıkması için gereken gen akışı miktarının mevcut genetik yapının incelenmesiyle ortaya konulduğu bazı matematiksel yaklaşımlardan oluşur. Örneğin belirli bir haplotipin frekansının alt popülasyonlar arasındaki dağılımının incelenmesi bu yaklaşımın tipik bir örneğidir. Burada amaç bir kökenden gelen genetik bir örüntünün, daha farklı genetik örüntüler sergileyen alt gruplara ne kadar yayıldığını ve buradan da ne kadar gen akışı gerçekleştiğini ortaya koymaktır. İşte F_{st} istatistiği, yerel popülasyonlar arası göç oranı (Nm) ve gen akışı verilerine ulaşmanın en etkili yollarından biridir.

2.7.2. Popülasyonun demografik yapısı

Bir popülasyonun demografik yapısı ve bu yapıyı ortaya koyan süreçler bilinmeden bu canlı üzerindeki evrimsel güçler hakkında söz söylemek zordur. Çünkü evrimsel değişimler fenotipik bir varyasyona neden olduklarında bu değişimin nedenleri organizmanın demografik geçmişinde saklıdır. Örneğin bu evrimsel değişimin, seçilim

nedeniyle olduğunun söylenebilmesi için, gelişen yeni fenotipik varyasyonun canlının uyumuna yaptığı katkı ortaya konulmalıdır. Demografik yapının ortaya konulmasında sıklıkla kullanılan hayat döngüsü parametrelerinin, farklı alt populasyonlar arasındaki olası farklılıkları bu konuda bilgi verebilir. Örneğin belirli bir fenotipik değişimin frekansının artışı ile paralel giden bir efektif populasyon büyüklüğü artışının gözlenmesi, bu özelliğin canlının uyumu veya bir diğer değişle gelecek nesile yaptığı katkıyı artırıcı özellikte olduğunun söylenmesini sağlayabilir. İşte bu, pozitif seçilimi ortaya koyan bir durumdur. Bu amaç için sadece efektif populasyon büyüklüğü değil hayat döngüsünü oluşturan her parametre (doğum ve ölüm oranı, erginleşme süresi, toplam ömür uzunluğu, çiftleşme dönemi, doğurganlık ve aktivite periyotları, dispersal dönemleri ve dispersal uzaklıkları gibi) incelenebilir. Bu parametreler bireylerin hayatta kalma başarıları üzerinden uyumsal niteliklerine dair bilgi edinilmesini sağlayacaktır. Elbette ki ilgili fenotipin hayatta kalma başarısını nasıl etkilediğine ilişkin doğrudan çalışmalar da bu yaklaşıma eklenebilir. Canlının eş veya av bulmasında doğrudan işlevsel olan organ ve / veya yapılarındaki fenotipik değişimlerin söz konusu işlevi nasıl etkilediğini incelemek bu tip doğrudan çalışmalara örnek olarak verilebilir.

2.7.3. Populasyonun genetik yapısı ile coğrafya arasındaki ilişki

Populasyonun genetik yapısını anlamakta son derece önemli olan gen akışı miktarının hesaplanması, mevcut gen akışı düzeyinin neden böyle olduğu hakkında bilgi veremez. Bu bilgiye ancak canlının yaşadığı fiziki ortamın özellikleri ile genetik yapısı arasındaki ilişkileri araştırarak varabiliriz. Öyle ki kısıtlı gen akışı, düşük hareketlilik ve yüksek mesafe ilişkisinden veya alt populasyonlar arasındaki ciddi bir coğrafi engelden kaynaklanıyor olabilir. Son dönemde hangisinin geçerli olduğunu anlamak için yeni bir çalışma alanı olan “yer şekilleri genetiği”nin (landscape genetics) yöntemleri kullanılmaktadır (Manel et al. 2003). Yer şekilleri genetiğinde, çalışılan populasyonun bulunduğu ortamın tüm fiziksel bileşenleri ile populasyonun genetik yapısına ilişkin örüntü kıyaslanarak populasyonda gözlediğimiz genetik yapı ile gözlenen çevresel faktörler arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılır.

Bu çalışmalarda sıklıkla kullanılan istatistiksel yöntemlerin başında “mantel testi” olarak bilinen yaklaşım gelir. Mantel testi, iki matris arasındaki korelasyonu inceleyen

istatistiksel bir analiz yöntemidir (Mantel, 1967; Sokal & Rohlf, 1995). Aynı dereceden (mertebeden) ve aralarında ilişki bulunduğu düşünülen verilerin, aynı yön ve büyüklükte dizildiği matrisler arasında uygulanır. Mantel testinin, genetik yapı ve coğrafya ilişkisinin belirlenmesinde kullanımına örnek vermek gerekirse, biri genetik yapının gruplara göre dağılımını içeren (örneğin F_{st} değerlerini) diğeri ise coğrafi bir özelliğin gruplara göre dağılımını betimleyen (örneğin istasyonlar arası uzaklığı) iki matrisin karşılaştırılmasında kullanılabilir. Dahası bu tip ikili karşılaştırmaların pek çok türü yapılabilir ve hangi genetik örüntü ile hangi coğrafi örüntünün birbiri ile korelasyon gösterdiği anlaşılabilir. Varılan bu sonuçlar evrimsel ekolojinin en temel sorularına ilişkin cevapları barındırır. Zira örneğin uzaklıkla örtüşen bir genetik farklılaşma örüntüsü, rastgele genetik sürüklenme gibi seçim dışı bir evrimsel olaya işaret eder. Uzaklıkla örtüşmeyen bir genetik örüntü ise canlının demografik tarihinde yatan ve seçim de dâhil olmak üzere daha başka süreçlerin yaşandığına işaret eder. Sonuç olarak uygulanan asıl strateji, fenotipik ve genotipik varyasyonun alansal yapısının, bu varyasyonun adaptif olması ve olmaması durumlarında karşılaşılabilecek olan alansal yapı ile karşılaştırılmasıdır (Reznick ve Travis, 2001). Bu tip bir yaklaşım, farklı evrimsel güçlerin mevcut populasyon yapısının şekillenmesinde ne derece etkili olduğunu analiz etme imkânı sunar.

2.8. Filogeni Yaklaşımı

Canlıların tür veya daha yüksek bir taksonomik grubunun evrimsel gelişimi ve tarihine filogeni denir. Bu bağlamda filogeni hem akrabalık ve türleşme ilişkilerini, hem de tarihsel gelişimi yansıtır. Filogeni haritalarında filogeni kavramının köken alındığı iki temel bilgiden (akrabalık ve tarihsel gelişim) en az birinin verilmiş olması beklenir. Ancak bu zor bir iştir. Çünkü evrimsel çeşitlenmenin bir yönü olmaması nedeniyle canlılar arasındaki ilişkiler zaman faktörü ile doğru orantılı olacak şekilde artıp azalmaz. Dahası çoğu durumda geçen uzun zaman geride kalan izlerin takibini ve analizini güçleştirir.

Tüm bu güçlükleri yenebilmek için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bunlar genellikle bir arada kullanılabilen yöntemler olmalarına rağmen birbirinden farklı dört temel filogenetik yaklaşım halinde sınıflandırılabilirler. Bunlar (1) klasik evrimsel taksonomi

(2) fenetik veya nümerik taksonomi, (3) kladistik taksonomi ve (4) moleküler taksonomi olarak sayılabilir.

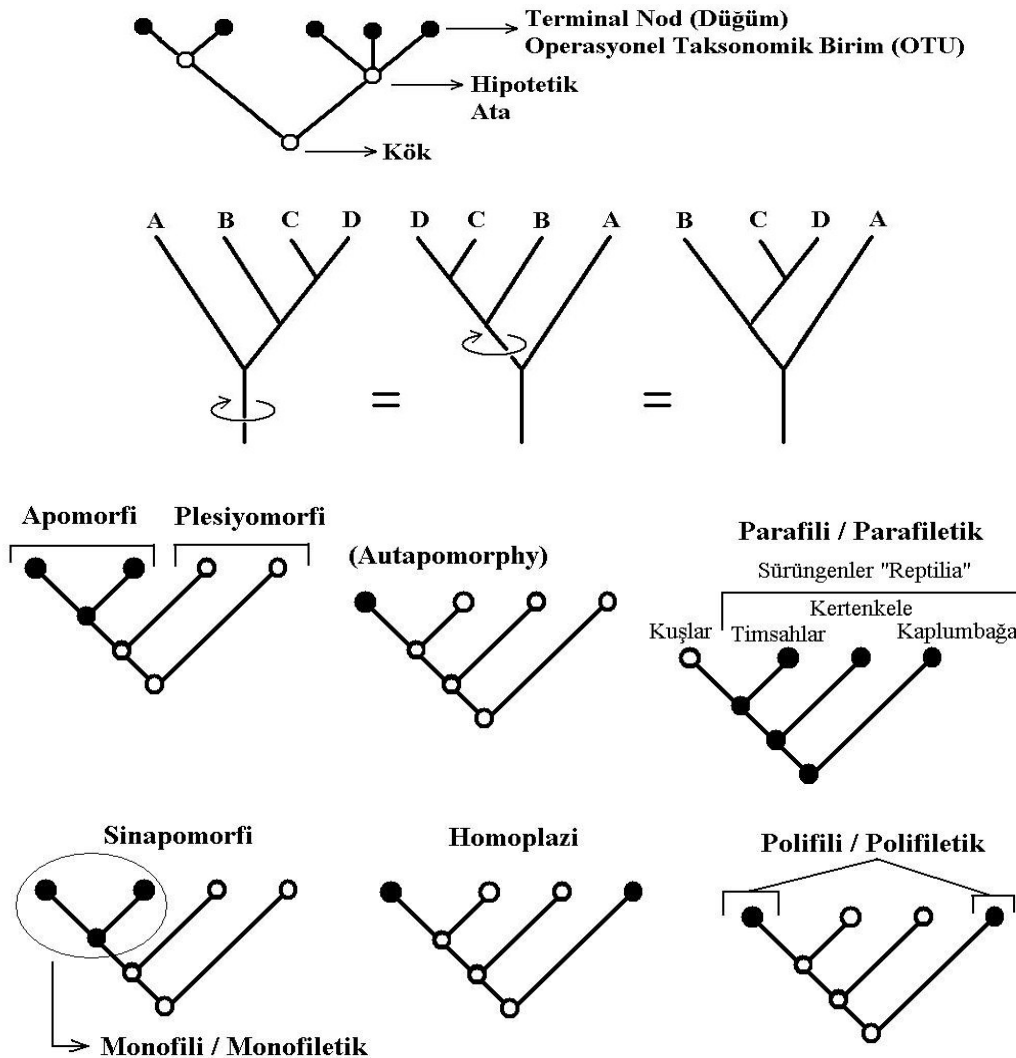
Klasik Evrimsel Taksonomi, anatomi, morfoloji ve embriyoloji verilerinin analizine dayalı yöntemler topluluğudur. Fenetik (Nümerik) Taksonomi daha sayısal ve bu nedenle daha güvenli bir yaklaşımdır. Temelde ilgilenilen canlı grubu için önemli olduğu düşünülen ve / veya bilinen bir morfolojik karaktere ilişkin ölçümlerin istatistiksel olarak analizine dayalı yöntemler topluluğudur. Kladistik Taksonomi, canlıları ortak ata ve türeme kavramlarını kullanarak gruplandırır. Temel önermesi şudur; eğer bir canlı grubu tek bir ortak atayı paylaşıyorlarsa, o zaman hepsinde ortak olan en az bir veya bir grup özellik bulunması gerekir.

Moleküler Taksonomi, iki canlı ne kadar yakın akraba ise moleküler düzeyde de o kadar benzer olmalıdır şeklindeki temel düşünce üzerine oturur. Gerçekten de eğer bir canlı grubu ortak bir atadan köken almışsa, bu ortak atadan türleştikleri zamandan bugüne kadar biriken uyumsal ve nötral mutasyonların toplamı kadar moleküler farklılık sergilemeleri beklenir. Bu farklılıkları belirlemek amacıyla tasarlanan moleküler analizler, yaklaşık tarihsel sırasıyla şöyledir.

- İmmünolojik çalışmalar: Serum ve anti serum çiftleri arasındaki reaksiyon zamanlarına bağlı olarak ilgili canlıların moleküler düzeyde ne kadar benzer veya farklı olduklarının analizi için uygulanmıştır.
- Protein dizlerine dayalı çalışmalar: Özellikle cytochrome c oksidaz ve hemoglobin gibi gayet geniş gruplarda ifade olan ve evrimsel olarak homolog olduğu bilinen proteinlerin amino asit dizilerinin kıyaslanması ile başlamış, günümüzde ise biyoinformatik yöntemlerinin gelişmesine paralel olarak protein domainleri ve korunmuş dizilerin analizine kayılmıştır.
- DNA hibridizasyonu: DNA'nın genetik bilginin taşıyıcısı olduğu anlaşıldıktan ve yapısı çözüldükten sonra yaygınlaşan bu çalışma alanı, temel olarak DNA'nın birbirinin tamamlayıcısı olan iki zincirden oluştuğu bilgisine dayanır. Bir arada denatüre edilip ortam şartların yeniden düzeltilmesi ile tekrar çift sarmal oluşturan uzun DNA molekülleri arasında oluşan hibrit moleküllerin, komplementer olma yüzdesi üzerinden benzerlik verisi üretilir.
- DNA ve RNA dizi analizleri: Bu tekniklerin gelişimi özellikle kodlayıcı bölgeler dışındaki nötral mutasyonların analiz edilebilmesini sağlamıştır.

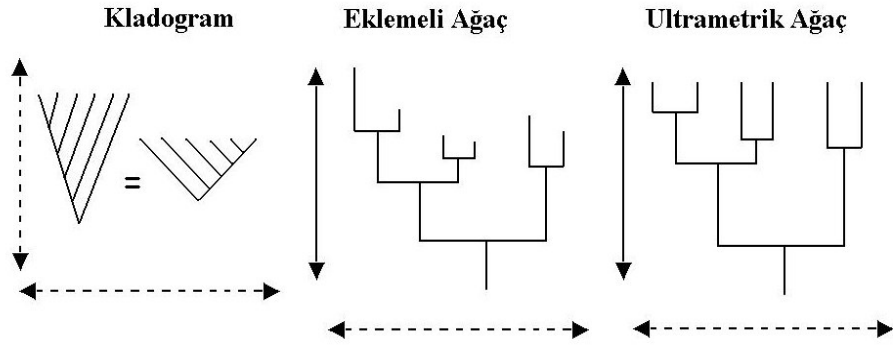
- Moleküler saat: Nötral mutasyonların birikim hızının tespit edilebilmesi ile geriye dönük zamanlamaların yapılabilmesinin önü açılmıştır. Bu çalışmalar moleküler saat analizi olarak bilinirler.
- Daha bilgi verici bölgelerin analizi: Günümüzde özellikle biyoinformatik gibi dalların da gelişmesine paralel olarak, ister protein olsun ister DNA, farklı diziler arasında en doğru sonucu verecek olan bölgelerin seçilmesi ve analizine doğru bir yöneliş vardır.

Tüm bu yaklaşımlar sonucu üretilen bilgi farklı biçimlerde görselleştirilebilir. Bu görselleştirmelere filogeni ağacı veya filogeni haritası denir. Filogeni haritalarında kullanılan temel terim ve şemalar Şekil 2.8’de verilmiştir.



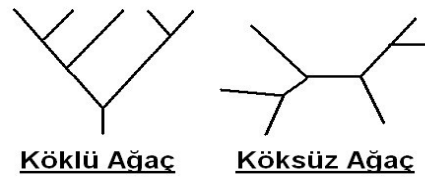
Şekil 2.8 Filogeni haritalarında kullanılan temel terim ve şekiller.

Filogeni haritalarında kullanılan temel ağaç morfolojileri üç grup altında toplanabilir. Bunlar Kladogram, Eklemeli Ağaç ve Ultrametrik Ağaç olarak sıralanabilir (Şekil 2.9). Kladogramlarda “x” ve “y” ekseni herhangi bir veri içermez. Bu tip ağaçların tek amacı kladları ve birbirleriyle olan türleşme ilişkilerini şematize edebilmektir. “x” ekseni diğer tür ağaçlarda da bir anlam ifade etmez. Ancak “y” ekseni eklemeli ağaçlarda farklılık miktarını, ultrametrik ağaçlarda ise ayrışma zamanını belirtir.



Şekil 2.9 Filogeni ağacı morfolojileri.

Filogeni haritaları, temelde köklü ve köksüz ağaç (Şekil 2.10) olarak iki farklı şekilde dallandırılır. Doğaldır ki köksüz ağaçlar filogeni bilgisi vermez, sadece tür veya grupların birbirlerine olan uzaklıklarını belirtir. Köksüz ağaçlarda ata bulunmaz. Köklü bir ağaç ise her zaman için ortak ata veya ataları görselleştirir. Böylece bir filogeni bilgisi verir. Köklü ağaçlar bir dış grup ile ilişkili olarak da verilebilir. Böylece filogenisi belirtilen tüm türler bu dış grup dikkate alındığında tek bir monofiletik grup halinde şekillenir.



Şekil 2.10 Köklü ve köksüz ağaç morfolojileri.

Bir filogeni haritasındaki her bir terminal nod'a (düğüm'e) bir "Operasyonel Taksonomik Birim" (OTU) denir. Her bir OTU bir canlıyı veya canlı grubunu temsil eder. Bu tür haritalarda her bir grup bulunduğu dal üzerinde çevrilebilir ve bu durumda bilgi değişmez. Tüm dallanma noktaları dikkate alındığında, olası farklı dallanmalı ağaçların sayısının OTU sayısı ile birlikte artacağı açıktır. OTU sayısı ile farklı

dallanmalı ağaçların sayısını veren matematiksel bağıntılar şöyledir [(Cavalli-Sforza and Edwards, 1967) Page and Holmes, 2000]

- n = her hangi bir ağaçtaki OTU'ların sayısı ise;
- $n \geq 2$; $Un = (2n - 5)(2n - 7)(2n - 9)...(3)(1)$, Olası köksüz ağaçların sayısı
- $n \geq 3$; $Rn = (2n - 3)(2n - 5)(2n - 7)...(3)(1)$, Olası köklü ağaçların sayısı = $(2n - 3)Un$

OTU sayısı arttıkça, farklı dallanmalara sahip olası ağaçların sayısı da inanılmaz bir hızla artmaktadır (Çizelge 2.5).

OTU	Olası Köksüz Ağaç Sayısı	Olası Köklü Ağaç Sayısı
2	1	1
3	1	3
4	3	15
5	15	105
6	105	945
7	945	10.395
8	10.395	135.135
9	135.135	2.027.025
10	2.027.025	34.459.425

Çizelge 2.5 Farklı dallanmalara sahip olası filogenetik ağaç sayısının, OTU sayısındaki artışa paralel olarak değişimi [(Cavalli-Sforza and Edwards 1967) Page and Holmes, 2000]

2.8.1 Moleküler filogeni yaklaşımı

Moleküler düzeyde evrim çalışması, organizmaların evrimsel geçmişlerinin yeniden inşası ve evrimin mekanizmalarının araştırılması şeklinde iki kısma ayrılabilir (Nei and Kumar, 2000). Ancak her durumda evrimin birincil sebebi genlerin mutasyonel değişimleridir. Bir mutant gen veya DNA dizisi nükleotid substitüsyonu, insersiyon ve delesyon olayları, rekombinasyon gibi olaylar sonucunda ortaya çıkabilir. Bu mutant allel genetik sürüklenme ve / veya doğal seçim ile populasyon içerisinde yayılabilir (Nei, 1987; Hartl ve Clark, 1997) ve nihayetinde fikse olabilir. Böylece evrimsel süreç canlılar arasında mutasyonel bir mesafe yaratır. Bu mutasyonel mesafenin incelenmesi bize istediğimiz veriyi sunacaktır. Ancak bunun yapılabilmesi için eldeki verinin inceleme ve kıyaslama yapılabilecek hale getirilmesi gereklidir. Bu amaçla baş vurulan ilk uygulama DNA (veya amino asit) dizilerinin uygun şekilde hizalanmasıdır.

2.8.1.1 İki ve daha fazla sayıdaki DNA dizisinin hizalanması

Elimizde bulunan iki farklı DNA dizisinin doğru biçimde hizalanması mutasyonel mesafe hesaplarında ve dizi homolojisini belirlemede ilk adımdır. Aşağıda verilen aynı uzunluktaki iki farklı diziyi ele alırsak bunlar arasındaki mutasyonel mesafe nedir?

- (1) AAA
- (2) ATA

Bu soruya cevap vermek zordur. Çünkü bu iki dizi, 2.sıradaki nükleotidin değişimini içeren tek mutasyonu temsil ediyor olabileceği gibi, tüm nükleotidlerin bir defa değişmesi ve ardından da 1. ve 3.sıralardaki iki nükleotidin tekrar değişimlerini içerecek şekilde beş farklı mutasyon olayını temsil ediyor da olabilir. Ancak aşağıdaki ikinci örnek incelendiğinde görülecektir ki bu yeni durumda tek mutasyon ihtimali belirgin biçimde daha yüksektir. Zira tüm nükleotidlerin bu kadar yüksek bir mutasyon frekansı ile değişip ardından da yeniden değişerek tek bir nükleotid farkla aynı diziyi verme ihtimalleri çok daha düşük olacaktır.

- (1) CTACGTATGCTAATCGTA
- (2) CTACGTATACTAATCGTA

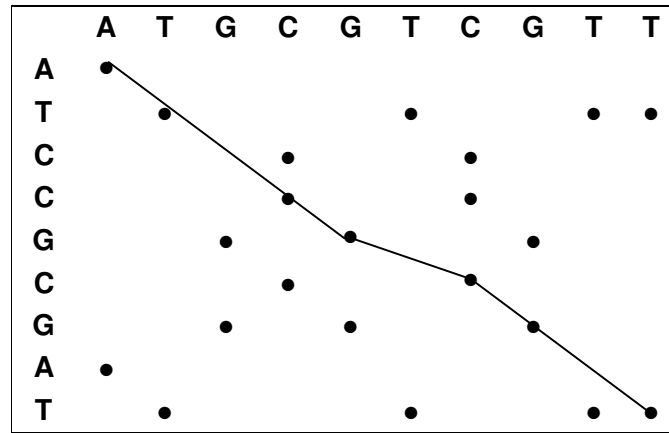
Bu nedenlerle moleküler benzerlik indeksleri oluşturulurken olasılık hesaplamaları yapılır. Peki ya hizalanarak incelenecek DNA dizileri aynı uzunlukta değilse? Bu durumlara tipik bir örnek aşağıda verilmiştir (verilen diziler hipotetiktir).

- (1) ATGCGTCGTT
- (2) ATCCGCGAT

Böyle bir durumda yapılması gereken iş sadece en uygun hizalamayı yapmak değil aynı zamanda olabilecek hizalamaların tamamını dikkate alarak her birini, gerçekleşme olasılıkları itibarıyla değerlendirmeyi ve bu değerlendirmeyi sayısallaştırmayı da başarabilmektir. Bu şekildeki iki farklı diziyi hizalamanın bir yolu eldeki veriyi bir nokta matrisi (dot matrix) üzerinde incelemektir. Bu hipotetik diziler için yapılmış olan bir nokta matrisi, Şekil 2.11'de gösterilmiştir.

Bu tür matrisler eğer tamamen eş DNA dizileri için çizilecek olsalar noktalar köşegen oluşturacak şekilde bir doğru üzerinde sıralanırlar. Eğer bir nükleotid eksik veya fazla ise o zaman o noktada doğru aşağı veya yana doğru olacak şekilde ilerler. Fakat çoğu DNA dizisi sadece in-del (insersiyon ve delesyon) bölgeleri içermez aynı

zamanda substitüsyon mutasyonu da içerir. İşte bu durumda hem köşegeni oluşturan doğrudan sapma hem de bazı noktaların olması gerek yerde boşluklar olur. Kimi zaman bu durum birbirinden farklı hizalanmaların gündeme gelmesine neden olur. Dahası bu birbirinden farklı hizalamalar gerçekte gerçekleşmiş olan tüm mutasyonel değişimleri ortaya koymaktan da uzaktırlar. Öyle ki yukarıdaki örnek dikkate alındığında bahsi geçen en çokla en az arasında olmak üzere daha farklı sayıda mutasyon sonucu bu gözlediğimiz diziler ile karşılaşmış olma ihtimalimiz de vardır ki yeterli uzunluktaki diziler ele alındığında çoğunlukla durum budur.



Şekil 2.11 İlişkili, fakat farklı iki DNA dizisini kıyaslayarak en ideal hizalamanın ne olması gerektiğine karar vermekte kullanılan Nokta matriksi (Nei and Kumar, 2000).

Eldeki veriler ve Şekil 2.11’de gösterilen nokta matriks kullanılarak Çizelge 2.6’da gösterildiği gibi iki farklı hizalama yapmak olasıdır. Hangi hizalamanın geçerli olduğuna karar vermek için de çeşitli matematiksel yöntemler kullanılır. Tüm bu yöntemlerdeki temel yaklaşım, en yüksek ihtimalli olguyu tespit etmektir. Burada verilen örnek gibi kısa dizilerde ihtimaller birbirlerine görece daha yakın olmakta, çalışılan dizi uzayıp karşılaştırmada kullanılan birey ve / veya dizi sayısı arttıkça çok yüksek ihtimalli bir veya birkaç hizalamaya ulaşılması ihtimali de artmaktadır.

Hizalama – 1	Hizalama – 2
(1) ATGC–GTCGTT	(1) ATGCGTCGTT
(2) AT–CCG–CGAT	(2) ATCCG–CGAT

Çizelge 2.6 İki farklı DNA dizisine ait farklı hizalamalar olabilir. Burada olabilecek farklı hizalamalardan sadece ikisi örnek olarak verilmiştir. Diziler hizalanırken kullanılan “–” işareti indel (insersiyon/delesyon) bölgelerine karşılık gelir (Nei and Kumar, 2000).

Çizelge 2.6'da verilen hizalamalar için matematiksel bir değerlendirme yapmanın bir yolu aşağıda verilen denklemi kullanmaktır;

$$E = \text{Min} (w_1\beta + w_2\gamma)$$

Burada “ β ” (beta) hizalama sonrasında hatalı eşleşen çiftlerin toplam sayısını, “ γ ” (gamma) ise boşluğun uzunluğuna bakmaksızın boşluk bulunduran eşleştirmelerin sayısını vermektedir. “ w_1 ” ve “ w_2 ” değerleri sırasıyla yanlış eşleşen ve boşluk içeren eşleşmeler için ceza katsayılarıdır. Bu şekilde yapılan hesaplamalardan denklemdaki “Min” ifadesinin de işaret ettiği şekilde en düşük değerli olanı üzerinde karar kılınan hizalama olur. Burada E, hizalamanın geçerliliği hakkındaki karar değeri anlamında kullanılmıştır ve değeri ne kadar düşükse ilgili hizalama o kadar yüksek bir ihtimalle doğru kabul edilir. Hizalama 1 ve 2 için $w_1 = 1$ ve $w_2 = 4$ değerleri kullanılarak yapılacak bir hesaplama, hizalama 1 için 13, hizalama 2 için 6 değerlerini verecektir. Bu durumda hizalama 2 daha güvenilir kabul edilir. Bu minimum yaklaşımı nedeniyle pek çok farklı hizalama arasından seçim yapan ve en düşük sayısal değere ulaşan hizalamayı seçmeye yarayan pek çok farklı algoritma geliştirilmiştir. Günümüz de bu tür hesaplar bilgisayar ortamında yapılmaktadır.

Ancak dikkatlice bakıldığında kolayca fark edilebilecek bir sıkıntı vardır. Bir hizalamada bulunan indel bölgelerinin (“-“ işareti ile gösterilen) alacağı ceza katsayısının bu bölgelerin uzunluğundan bağımsız olması mantıklı değildir. Toplam boşluk sayısı aynı olmasına rağmen diğer bir hizalamaya göre daha uzun boşluklar içeren bir hizalama, daha düşük bir ilişki durumuna işaret edebilir veya bu boşluklar korunan bölgeler arasında kalan DNA dizilerine karşılık gelebilir. Bu nedenle boşluk ceza katsayıları uzunluğun bir fonksiyonu olarak ele alınır (Gotoh 1982; Gu ve Li 1995). Ayrıca yanlış eşleşmiş nükleotidler için de benzeri bir sıkıntı vardır. DNA'daki tüm bazların birbirlerine dönüşme sıklıkları aynı değildir. Bu nedenle yanlış eşleşmiş bazlar için birbirinden farklı ceza katsayıları kullanılması gerekir. Benzeri şekilde protein kodlayan bölgeler söz konusu olduğunda da yanlış eşleşmiş amino asitlerin hepsi için aynı ceza katsayısını kullanmak hatalı bir yaklaşımdır. Örneğin bir polar amino asidin bir apolar amino asitle hizalandığı bir hatalı eşleşme durumu, aynı özellikteki ama yine farklı olan amino asitlerin yanlış eşleştiği bir duruma göre daha

yüksek bir uyumsuzluğa işaret ettiğinden, çeşitli amino asit değişimi matrisleri kullanılarak farklı değişim olayları için farklı ceza katsayıları kullanılır (Dayhoff et al. 1978).

Bu farklı ceza katsayılarının tespit edilebilmesi için eldeki verinin kökeni hakkında bilgi sahibi olunmalıdır ki, veri setindeki hangi mutasyonel değişimin hangi sıklıkla gerçekleştiği belirlenebilsin. DNA değişimlerinin dört temel türü vardır. Bunlar, bir nükleotidin bir diğerine değişimi olan substitüsyon (yer değiştirme), bir veya daha çok sayıda nükleotidin diziden çıkması şeklindeki delesyon, diziye yeni nükleotidlerin girmesi şeklindeki insersiyon ve bir grup nükleotidin dizi içerisindeki yerleşimlerinin tersine dönmesi şeklinde görülen inversiyon mutasyonlarıdır. Substitüsyon mutasyonları da kendi aralarında, bir pürinin bir diğer pürine veya bir pirimidinin bir diğer pirimidine dönüşümü olan transisyon (geçiş) ve diğer tür değişimler olan transversiyon (değişim) mutasyonları olacak şekilde sınıflandırılırlar (Klug and Cummings, 2000).

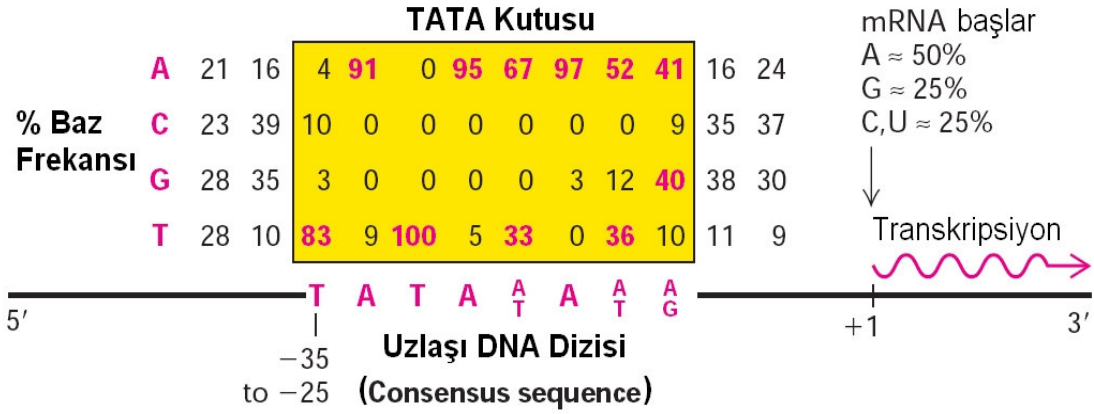
Doğal populasyonların yapısında her tür mutasyonu gözlemlemek mümkündür ancak her tür mutasyonun sıklığı aynı değildir. Kimi zaman oluşum sıklıkları moleküllerin salt kimyasal ve fiziksel etkileşimleri nedeniyle değişse bile, mutasyon sıklıklarını farklı kılan asıl olgu değişimin etkisinde saklıdır. Özellikle protein kodlayan bölgelerdeki eşanlamlı (sinonim) mutasyonlarla, eş anlamlı olmayan (non-sinonim) mutasyonların aynı sıklıkla görülmemeleri seçilim nedeniyledir. Aynı şekilde anlamsız (non-sense / dur kodonu oluşturan) mutasyonların sayısı da nötral mutasyon hızı ile oluşmasını beklediğimiz mutasyon rakamının çok daha altındadır. Eğer genomdaki tüm kodonların kullanım frekanslarını eşit ve tüm nükleotid çiftleri için substitüsyon olasılıklarını da aynı kabul edersek, sinonim, nonsinonim ve nonsense mutasyonların oranları sırasıyla %25, %71 ve %4 olur (Nei, 1975; Li, 1997; Nei and Kumar, 2000). Bir diğer gerçek, yine protein kodlayan bölgelerle sınırlı olmak üzere genetik kodun dejenere doğası nedeniyle gözlenen bir mutasyon frekansı farklılığıdır. Buna “biaslı mutasyon baskısı” denir ve genomun GC içeriği ile yakından ilişkilidir. Örneğin bilinen bakterilerde G ve C nükleotidlerinin göreceli frekansları % 25’den %75’ değişen bir aralık içerisinde (Osawa, 1995). Bu varyasyonun büyük çoğunluğunun nükleotid dizisi içerisindeki AT ve GC çiftlerinin ileri ve geri mutasyon oranlarının farklılığından

kaynaklandığına inanılmaktadır (Sueoka,1962). Genomunun AT içeriği yüksek olan bazı bakterilerde öyle yüksek bir mutasyon baskısı vardır ki neredeyse her kodonun üçüncü pozisyonundaki nükleotid A veya T'dir (Muto and Osawa, 1987). Zaten genel olarak üçüncü kodonlardaki bazın türü, organizmanın GC içeriğine yakın değerler almaktadır.

Gözlenen mutasyon frekansı ile gerçekleşen mutasyon frekansı arasında fark yaratan tüm olgular protein kodlayan dizilerle ilişkili olaylar değildir. DNA üzerinde yüksek düzeyde korunan pek çok regülatör bölge (cis-akting element) vardır. Evrimsel olarak ilişkili bir grup protein veya protein domaininin, farklı genlerin yukarı bölge dizilerinde (upstream'inde) bulunan ve birbirine benzeyen regülatör bölgelerle ilişki kurmak durumunda oldukları düşünülürse, bu tür bölgelerde DNA dizi içeriğinin büyük ölçüde korunacağı kolayca görülebilir.

Bunun en iyi bilinen örneklerinden biri "TATA kutusu" (TATA box) diye anılan regülatör bölgedir. Şekil 2.12, TATA kutusundaki dizi homolojisi ve yüksek düzeyde korunan uzlaşma dizisini, 502 farklı ökaryotik protein kodlayan genden elde edilen veri seti üzerinden özetlemektedir. Yine şekil 2.12'de transkripsiyon başlama bölgesinde bulunan ilk bazın türü için de benzeri bir mutasyonel baskının varlığına işaret eden frekans verisi gösterilmiştir.

İkiden çok sayıdaki DNA dizisinin hizalanması için de sadece iki dizinin karşılaştırılmasında kullanılanlara benzer yaklaşımlar uygulanır. Bunun için de pek çok farklı matematiksel algoritma geliştirilmiştir. Çoğunun dayandıkları temel ilke karşılaştırmanın yüksek benzerlik gösteren dizilerden daha düşük benzerlik gösteren dizilere doğru sıralı olarak yapılmasıdır. Yani önce yüksek düzeyde farklılık gösteren diziler hizalanır ardından da bu hizalanmış gruplar diğer dizilerle hizalanır. Bu işlem yapılırken daha önceden hizalanmış olan gruptaki tüm diziler tek bir girdi olarak ele alınır. Bu nedenle örneğin boşluk gerektiren bir hizalama yapılırsa, boşluk yerleştirme işlemi o gruptaki tüm dizilere uygulanır. Bu çalışmaların sonunda tüm filogenetik ilişkiler için olmasa da önemli bir kısım ilişki için, olasılığının yüksekliği dikkate alındığında neredeyse kaçınılmaz olan bir ilişki biçimini veya haritasını ortaya koyabilecek bilgiler seti elde edilmiş olur.



Şekil 2.12 -35 ila -25 arasındaki bölgede yer alan homolojiyi maksimize etmek için hizalanmış, birbiri ile ilişkisiz 502 farklı ökaryotik genin, RNA polimeraz II için promotor olan bölgesine ait nükleotid dizisi. Verilmiş rakamlar her pozisyondaki her bazın "%" cinsinden sıklığına işaret eder. Maksimum homoloji gösteren ve diziyi adını veren 8 bazlık bölge çerçeve içinde gösterilmiştir. Bir TATA kutusu içeren genlerden üretilen mRNA'ların ilk bazı yüksek sıklıkla adenindir [(Bucher, 1990) Lodish et al. 2003]

2.8.1.2. Hizalanmış DNA dizilerinden evrimsel mesafe verisi elde etme

Evrimsel değişimin ölçümünde ilk yapılması gereken iş dizilerin birbirlerine ve / veya ortak ataya olan mesafelerinin belirlenmesidir. Dizilerin birbirlerine olan mesafelerinin ölçülmesinde en sık kullanılan yöntem bir mesafe matrisi oluşturmaktır. Çizelge 2.7 hizalanmış 4 farklı DNA dizisini ve bu hizalamayı esas alarak hazırlanmış olan bir mesafe matrisini göstermektedir.

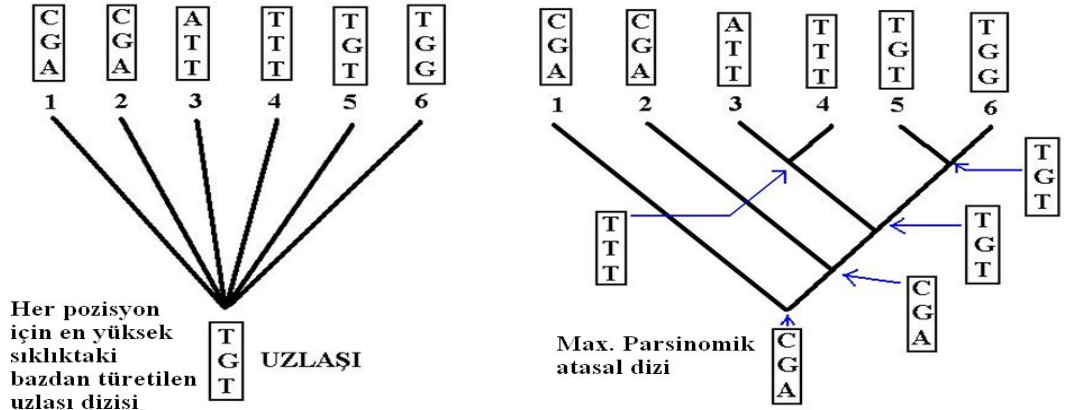
Hizalanmış dizileri içerisinde indel bölgesi içeren diziler söz konusu olduğunda ise bu tür uzaklık matrislerinin oluşturulmasında iki farklı yaklaşımdan yararlanılır. Bunlar tamamlanmış (complete) delesyon metodu ve karşılıklı (pairwise) delesyon metodudur. Tamamlanmış delesyon metodunda hizalanmış DNA dizileri arasında boşluk bulunan sütün tamamen delesyona uğramış kabul edilerek hesaplama dışı bırakılır. Pek çok durumda DNA'nı farklı bölümleri farklı biçimde evrimleşir ve bunları kalibre etmek çok da mümkün değildir. Ancak karşılıklı delesyon metodunda diziler ikili olarak karşılaştırılırken ilgili boşluklar dikkate alınır. Bu dizilerden biri bir diğer dizi ile karşılaştırılırken o pozisyon için aralarında indel durumu yoksa değerlendirilir. Bu yöntem indel bölgelerinin görece olarak az ve dağılımlarının geliştiği güzel olduğu hizalamalarda kullanılmaktadır.

		Nükleotid Pozisyonu								
		1	2	3	4	5	6	7		
Kaynak Dizi	1	T	T	A	T	T	A	A	Diziler	
	2	A	A	T	T	T	A	A		
	3	A	A	A	A	A	T	A		
	4	A	A	A	A	A	T	T		

		Mesafeler				
		1	2	3		
Diziler	2	3				
	3	5	4			
	4	5	4	2		

Çizelge 2.7 Dört hipotetik DNA dizisine ait olan üstteki hizalamaya göre oluşturulan uzaklık matrisi altta görülmektedir. Matristeki sayılar, karşılaştırılan dizilerin aralarında farklı olan nükleotid sayısını vermektedir (Page and Holmes, 2000).

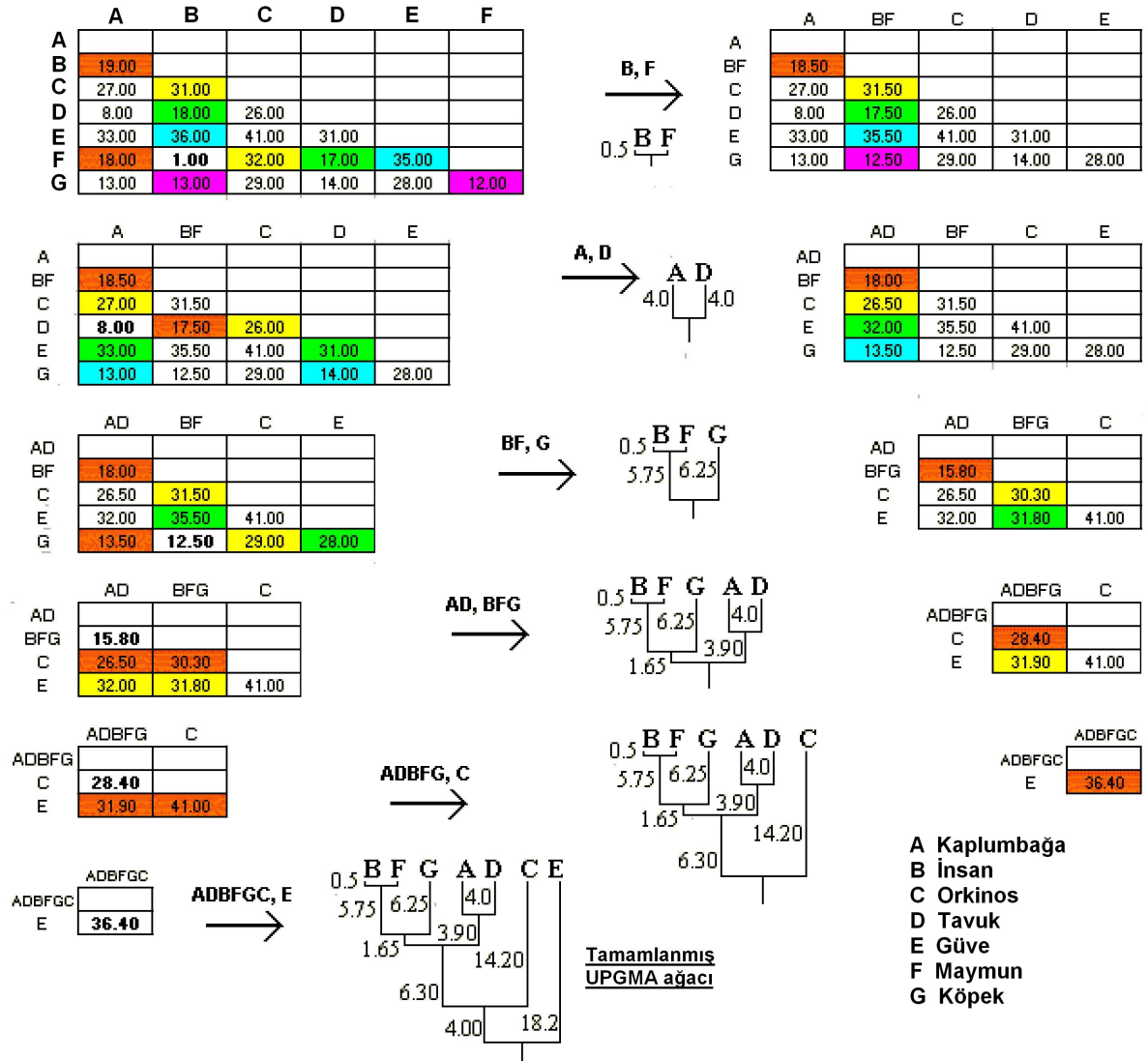
Ortak ataya olan mesafeyi belirlemek, dizilerin birbirlerine olan uzaklıklarını belirlemekten daha zordur. Çünkü ortak ata olarak kabul edilecek güvenilir bir diziye ihtiyaç vardır. Böyle bir diziye tespit etmenin iki yolu vardır. Bunlardan biri bir uzlaş (konsensüs) dizisi belirlemek diğeri ise var olan diziler arasındaki ilişkiyi dikkate alarak en parsimonik atasal dizinin tahminidir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Atasal diziyi belirlemede kullanılan farklı yaklaşımlar. Bir uzlaş dizisi, aynı pozisyondaki bazlar dikkate alındığında en yüksek sıklıkla görülen bazın seçilmesi ile belirlenir. Maksimum parsinomik atasal dizi ise gözlenen çeşitliliğin oluşmasını sağlayacak en az sayıdaki mutasyondan geriye doğru gidilerek türetilir (Page and Holmes, 2000).

2.8.1.3 Filogeni haritalarının oluşturulması ve incelenmesi

Filogeni haritalarının oluşturulmasında iki temel yaklaşım vardır. Birincisi mesafe metotları ikincisi ise kesikli (devamsız) metotlardır. UPGMA ve komşu birleştirme (neighbour joining) uygulamaları mesafe metotları içerisinde incelenirken, minimum evrim, maksimum parsimoni ve maksimum olabilirlik (maximum likelihood) gibi uygulamalar da kesikli (devamsız) metotlar arasında sınıflandırılır (Hall, 2005).



Şekil 2.14 UPGMA evrimsel ağaçları oluşturmanın en basit yoludur. Burada verilen örnek Fitch, W.M. ve Margoliash 1967'den alınmış verilerdeki citokrom c dizileri farklılığına dayanılarak yapılmış mesafe matrisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla mesafe matrisindeki uzaklıkları en az olan iki OTU eşlenir ve bu eşleme yeni bir OTU olarak matrise yazılır. Bu yeni grubun mesafe matrisine yeni bir bileşen olarak eklenmesi sırasında grubun üçüncü bir OTU'ye uzaklığı olarak da daha önce ayrı ayrı ele alınan ilk iki OTU'in bu üçüncü OTU'ya olan mesafelerinin aritmetik ortalaması kullanılır. Ortalaması alınacak gruplar aynı renkte gösterilmiştir.

Mesafe metotlarının dayandığı temel düşünce şudur: Eğer bir diziler setinin tüm üyeleri arasındaki gerçek evrimsel mesafeyi biliyorsak o zaman bu dizilerin evrimsel geçmişlerini kolayca yeniden inşa edebiliriz. UPGMA (Unweighted Pair Group Method

with Arithmetic mean / Aritmetik ortalama kullanımı ile Ağırlıklandırılmamış İkili Grup Metodu) en eski mesafe metotlarından birisidir. Mesafe matrisleri kullanarak uygulanır. Bu amaçla matris içerisinde birbirine uzaklığı en düşük olan iki OTU (grup veya birey) aralarındaki uzaklığın yarısını yansıtan uzunlukta birer doğru ile gruplanır. Bu yeni grubun mesafe matrisine yeni bir bileşen olarak eklenmesi için de grubun üçüncü bir OTU'ye uzaklığı olarak daha önce ayrı ayrı ele alınan ilk iki OTU'nin bu üçüncü OTU'ya olan mesafelerinin ortalaması kullanılır (Şekil 2.14).

UPGMA ile kümeleme işlemi yukarıda açıklanan mantıksal ve matematiksel yapısı nedeniyle OTU'ların eşit olmayan evrimsel değişim hızlarına karşı özellikle hassastır (<http://www.icp.ucl.ac.be/~opperd/private/upgma.html>). Zira UPGMA metodu sabit evrimsel hız ön kabulüne dayalı bir kümeleme yöntemidir. Bu nedenle farklı dallardaki ilişki biçimi ve grupların yerleşimi, farklı OTU'ların farklı evrimsel hızlara sahip olması durumunda çoğunlukla hatalı hesaplanır.

Bir diğer mesafe tabanlı yaklaşım olan “komşu birleştirme” (Neighbour-Joining) metodu parsimoni gibi bir minimum değişim metodu olmasına rağmen UPGMA gibi uzaklık matrisi üzerinden yapılan hesaplamalara dayanır. Bu yöntemde UPGMA için kullanılan uzaklık matrisi kullanılarak bir türev matris oluşturulur. Bu “Q” matrisini yapmaktaki amaç her bir taksonun diğer tüm taksonlara olan mesafesini yinelemeli olarak ölçerek mesafe verisini daha belirgin ve güvenilir yapmaktır. Örneğin “r” taksonlu bir mesafe matrisinden bir “Q” matrisi oluşturmak için kullanılan matematiksel eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$Q(i, j) = (r - 2)d(i, j) - \sum_{k=1}^r d(i, k) - \sum_{k=1}^r d(j, k)$$

Burada “d(i,j)” ifadesi takson “i” ile takson “j” arasındaki mesafeyi belirtir. Bu işlemten sonra en düşük değeri alarak en yakın kabul edilen iki takson tek bir grup halinde birleştirilir. Ardından bu yeni grubun tüm diğer taksonlarla mesafesi de hesaplanıp yeni bir mesafe matrisi elde edilir. Bu işlemlerin tüm taksonlar gruplanıncaya kadar tekrar edilmesiyle komşu birleştirme yoluyla bir ağaç oluşturulmuş olur.

Kesikli (devamsız / ayrık / discrete) metotlar ise ayrık filogenetik karakterler için oluşturulmuş bir matrisin kullanımına dayalı ve karakter tabanlı ağaç tahmini yapan

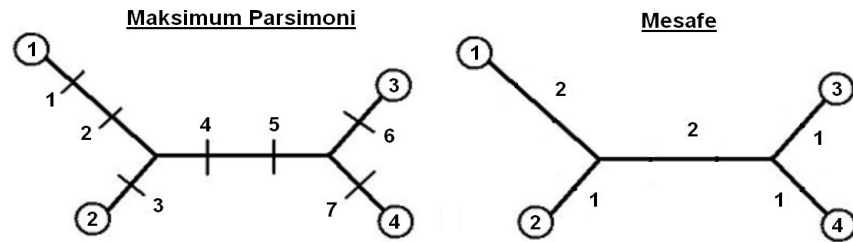
metotlardır. Temel amaçları bir veri setinden bir veya birkaç tane optimal özellikte filogenetik ağaç çıkarabilmektir. Temel yaklaşımları ise “Occam’ın usturası” diye bilinen bilimsel mantığı esas alır. Bu yaklaşıma göre olası açıklamalar arasından en doğrusu en kısa ve öz olanıdır. Yani açıklayıcı hipotez veya teoriye dayalı gözlenebilir özelliklerin öngörülmesinde herhangi bir fark yaratmayan her olgu açıklama içerisinde elenir. Bir diğer deyişle “olası açıklamalar arasında en basit açıklama büyük olasılıkla en iyi açıklamadır”.

“Minimum evrim” metodu bu mantığın evrimsel bir ağacın inşasına uygulanmasını temel alarak, olası ağaç modelleri içerisinde dal uzunlukları toplamı en az olan ağacın seçilmesi esasına dayanır (Gascuel et al. 2001; Page and Holmes, 2000). Köksüz bir ağaçta “ $2n - 3$ ” adet dal bulunur. Bu dalların toplam uzunluğu aşağıdaki formülle hesaplanır;

$$L = \sum_{i=1}^{2n-3} e_i$$

Burada “ L ” dalların toplam uzunluğu, “ e_i ” her bir dalın uzunluğu olup L ’nin en düşük değeri aldığı ağaç minimum evrimsel ağaç olarak kabul edilir.

Maksimum parsimoni metodunda ise veriler her bir bireysel nükleotid bölgesini tek tek içerecek şekilde incelenir. Burada temel olan bakış açısı mevcut hizalamada gözlenen veriyi oluşturacak en az sayıdaki mutasyonun ve bu mutasyonlara ilişkin filogeninin tespit edilmesidir. Bu yaklaşım Şekil 2.15’de mesafe metodu ile kıyaslanarak özetlenmiştir.



Şekil 2.15 Dört farklı nükleotid dizisi (Çizelge 2.7) ve buna bağlı mesafe verisinden türetilen maksimum parsimoni ve minimum mesafe tabanlı filogeni ağaçlarının her ikisi de topoloji olarak aynıdır. Ancak maksimum parsimonik ağaç, dalları üzerinde işaretlendiği şekilde bu 4 dizinin olabilecek en az sayıda mutasyondan nasıl türetilebileceği hesabı üzerine kurulur. Dalların üzerindeki her bir sayı ilgili pozisyondaki nükleotid değişimine işaret eder. Bu değişimler takip edilerek bir diziden bir diğeri adım adım türetilir.

3. YÖNTEM

Bu tez kapsamında hedeflenen çalışma morfometrik ve genetik olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar ile ilgili olarak yapılan çalışma ve uygulanan yöntemlerin ana başlıkları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

A- Morfometrik çalışmalar

1. Farklı yüksekliklerden örneklenen bireyler morfometrik olarak incelenmiş ve aralarındaki farklılıklar belirlenmiştir. Analizler erkekler ve dişiler üzerinde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.
2. Morfometrik çalışmalarda erkekler için vücut büyüklüğü, dişiler için ise hem vücut büyüklüğü hem de vücut şekli değerlendirilmeye alınmıştır.
3. Erkek ve dişi bireylerde gözlemlenen morfometrik farklılıkların, yükseklik ve yüksekliğe bağlı iklimsel parametreler ile olan ilişkisi irdelenmiştir.

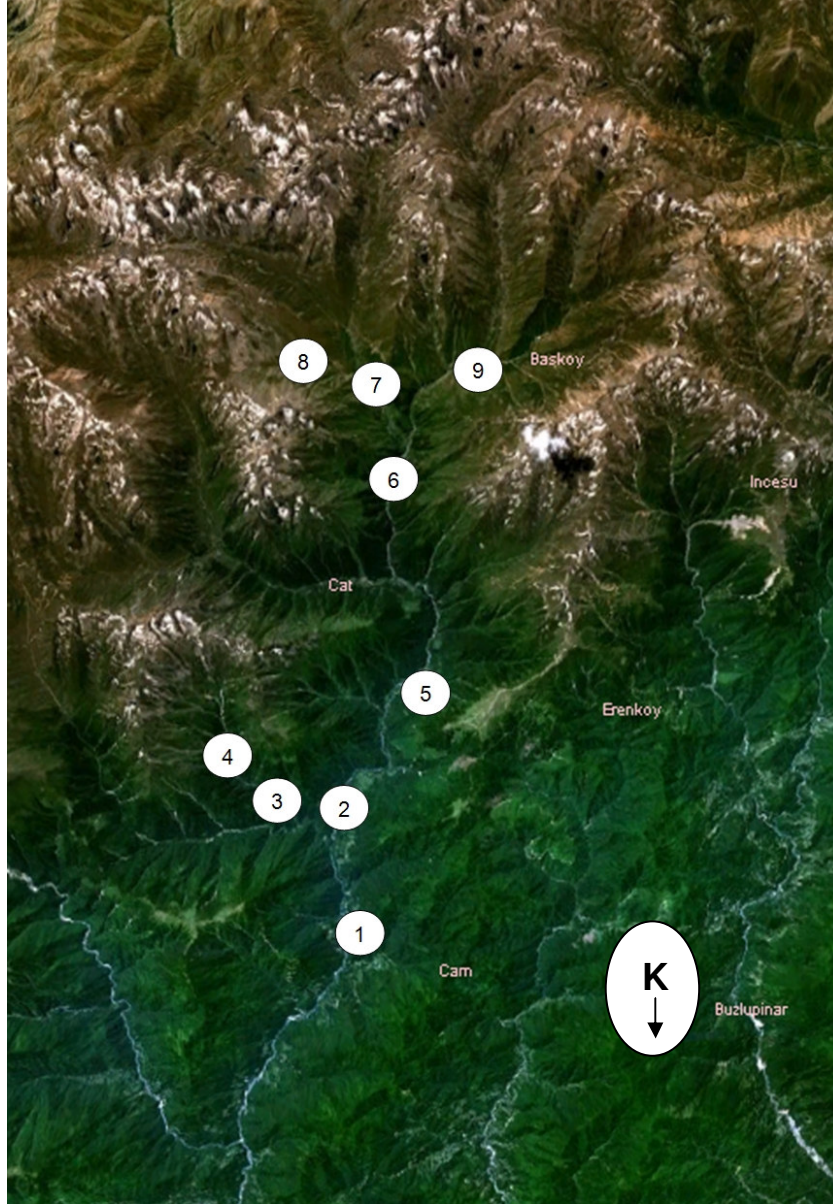
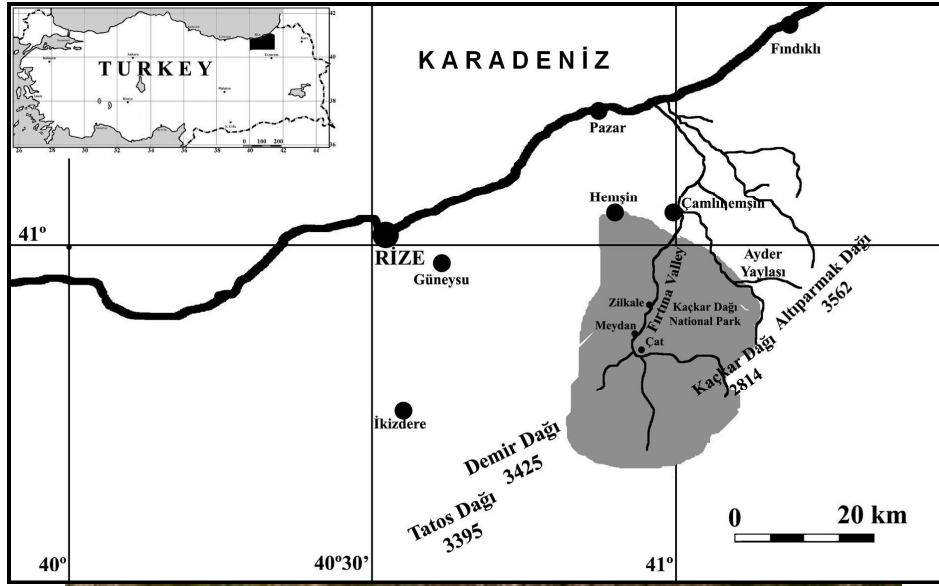
B- Genetik çalışmalar

1. mtDNA haplotipleri kullanılarak *P. similis* popülasyonunun genetik yapısı incelenmiştir.
2. mtDNA haplotipleri kullanılarak farklı yüksekliklerdeki yerel popülasyonlar arası genetik uzaklık ve farklılaşma derecesi incelenmiştir.

3.1 Örneklem İstasyonlarının Genel Özellikleri

Poecilimon similis türünün, Fırtına Vadisi içerisindeki yayılımının tamamını kapsayacak şekilde, Çamlıhemşin İlçesi ile Çiçekli Yayla arasında kalan bölgede yüksekliğe bağlı olarak 9 istasyon belirlenmiştir (Şekil 3.1)

Örneklem istasyonlarının çalışma alanına dağılımı Şekil 3.1’de, koordinatları ve yükseklikleri ise Çizelge 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışma alanı haritası ve istasyonların alana dağılımı.

Çizelge 3.1. Örnekleme istasyonlarının konum ve yükseklikleri.

İstasyon No	İstasyon Adı	Koordinat		Yükseklik (m)
		Kuzey	Doğu	
İstasyon 1	Ülkü köy	4539017	665264	475
İstasyon 2	Çeşme başı	4532426	665331	745
İstasyon 3	Palovit yolu	4533926	666660	789
İstasyon 4	Palovit yolu 2	4534237	667118	837
İstasyon 5	Meydan	4528170	662552	1050
İstasyon 6	Kale yol ayrımı	4520835	663556	1636
İstasyon 7	Kale yolu	4520240	663299	1713
İstasyon 8	Kale köy girişi	4520358	664004	1810
İstasyon 9	Verçenik yolu	4517553	660826	1930

3.2 Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmaları 2005 ve 2006 yıllarında Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarını kapsayacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 İklimsel yapının belirlenmesi

Çalışma alanının genel iklim özellikleri sıcaklık, nem ve yağış şeklinde ele alınarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, çalışma alanına en yakın meteoroloji istasyonu olan Pazar Meteoroloji İstasyonu'ndan 1964-2003 yılları arasını kapsayan sıcaklık, nem ve yağış değerleri Sağlam (2004)'dan alınarak değerlendirilmiştir. Ayrıca sadece yağış verisi toplayan ve şu anda kapalı olan Çamlıhemşin Meteoroloji İstasyonu'na ait veriler de Güner vd. (1987)'den alınmıştır.

Bunun yanında çalışma alanı içerisindeki mikrohabitatların yüksekliğe bağlı iklimsel özellikleri arasındaki farklılıkları ortaya koyabilmek için 450 – 2300 m arasına her 200 m yüksekliğe bir adet olacak şekilde uygun vejetasyon içerisine 10 adet veri kayıt cihazı (iButton, Hygrochron™) yerleştirilmiştir. Veri cihazları, aktif sezon boyunca (Haziran– Ağustos) her üç saatte bir (8 kez/gün) sıcaklık ve nem değerlerini kayıt etmesi için programlanmıştır.

3.2.2 Örneklerin toplanması

Morfometrik çalışmalarda kullanılacak bireyler toplanırken, yaşa bağlı vücut büyüklüğü etkisini ortadan kaldırmak için, bütün bireyler Ağustos ayında toplanmıştır. Böylece bütün yüksekliklerde bulunan bireylerde erginleşmenin tamamlandığından emin olunmuştur. İstasyonlarda yapılan bütün örneklemeler, erkek bireylerin gün içerisinde aktif olarak ses çıkardıkları 11⁰⁰–18⁰⁰ saatleri arasında yapılmıştır. Fırtına Vadisi içerisinde farklı yüksekliklerde bulunan 9 istasyondan, toplam 144 erkek ve 95 dişi birey toplanmıştır (Çizelge 3.2). Toplanan bütün örnekler bireysel kafesler içerisinde laboratuara getirilmiş ve burada siyanürlü öldürme şişeleri kullanılarak öldürülmüş, morfometrik ve genetik çalışmalarda kullanılmak üzere %96'lık alkol içerisinde 4 °C'de saklanmıştır.

3.3 Laboratuvar Çalışmaları

3.3.1 Fenotipik varyasyon analizleri

Morfometrik çalışmalarda kullanılmak üzere toplanan erkek ve dişi bireylerin sayıları ve istasyonlara dağılımları Çizelge 3.2'de verilmektedir. Morfometrik analizler erkekler ve dişiler için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

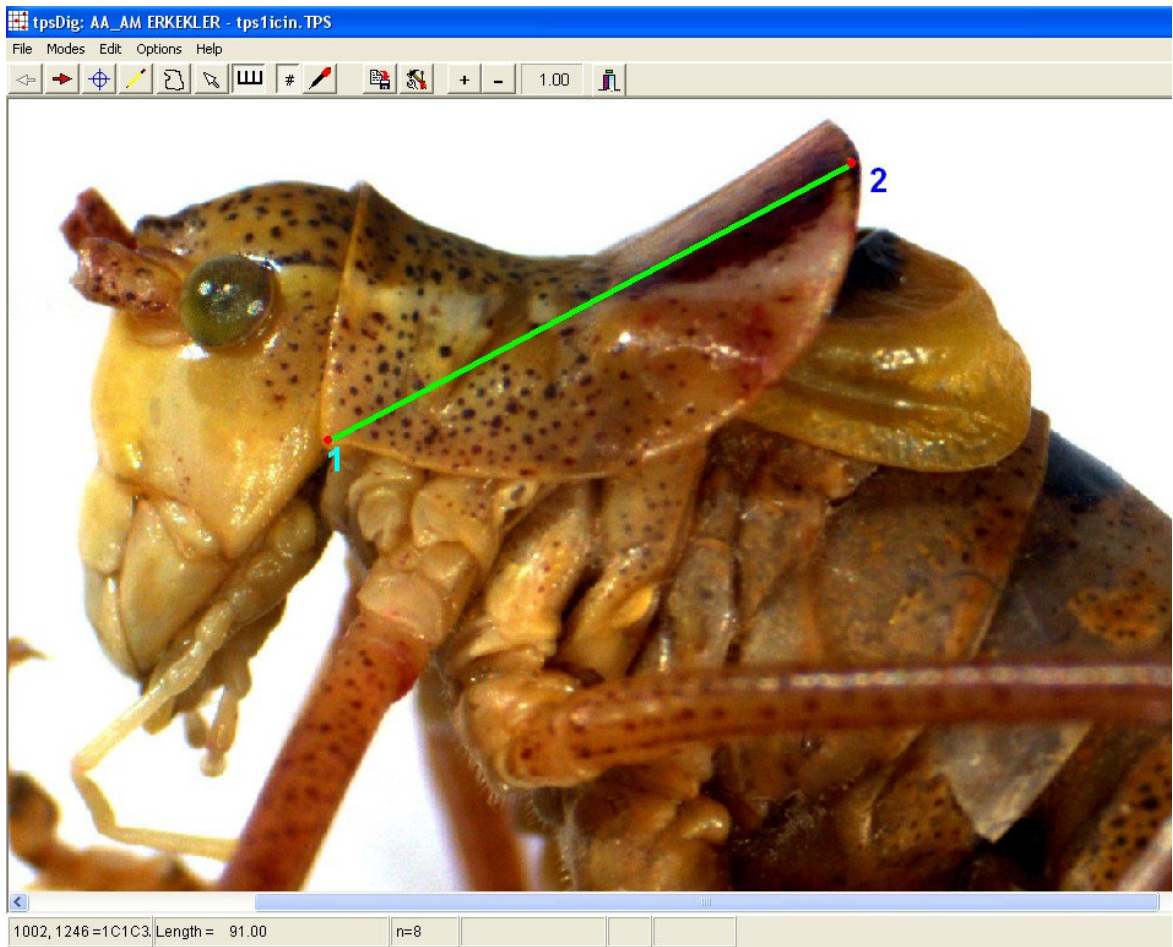
3.3.1.1 Erkeklerde morfometrik analizler

Erkeklerde geometrik morfometri yaklaşımına uygun bir vücut bölgesi bulunamadığı için morfometrik çalışmalar klasik uzunluk ölçümleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Erkeklerde morfometrik karakter olarak, çekirgelerde vücut büyüklüğü indeksi şeklinde adlandırılan ve uygunluğu oldukça iyi bilinen pronotum uzunluğu kullanılmıştır (Castillo et al. 1999; Castillo and Nunez-Farfan, 1999; Remis, 2002; Sağlam, 2004).

Pronotum uzunluğu tüm bireylerde vücudun sol yan tarafından Şekil 3.2'de gösterildiği gibi ölçülmüştür. Bütün bireyler Leica MZ7₅ Model stereo-mikroskop kullanılarak 0.64 büyütme oranında fotoğraflanmış, 1 mm'ye göre ölçeklendirilmiş ve bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Pronotum uzunluk ölçümleri bilgisayar ortamında TPSDig (Version 1.34) (Rohlf, 2003) programı kullanılarak ve yine Şekil 3.2'de gösterildiği gibi yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Morfometrik ölçümlerde kullanılan erkek ve dişi bireylerin istasyonlara göre dağılımı ve sayıları.

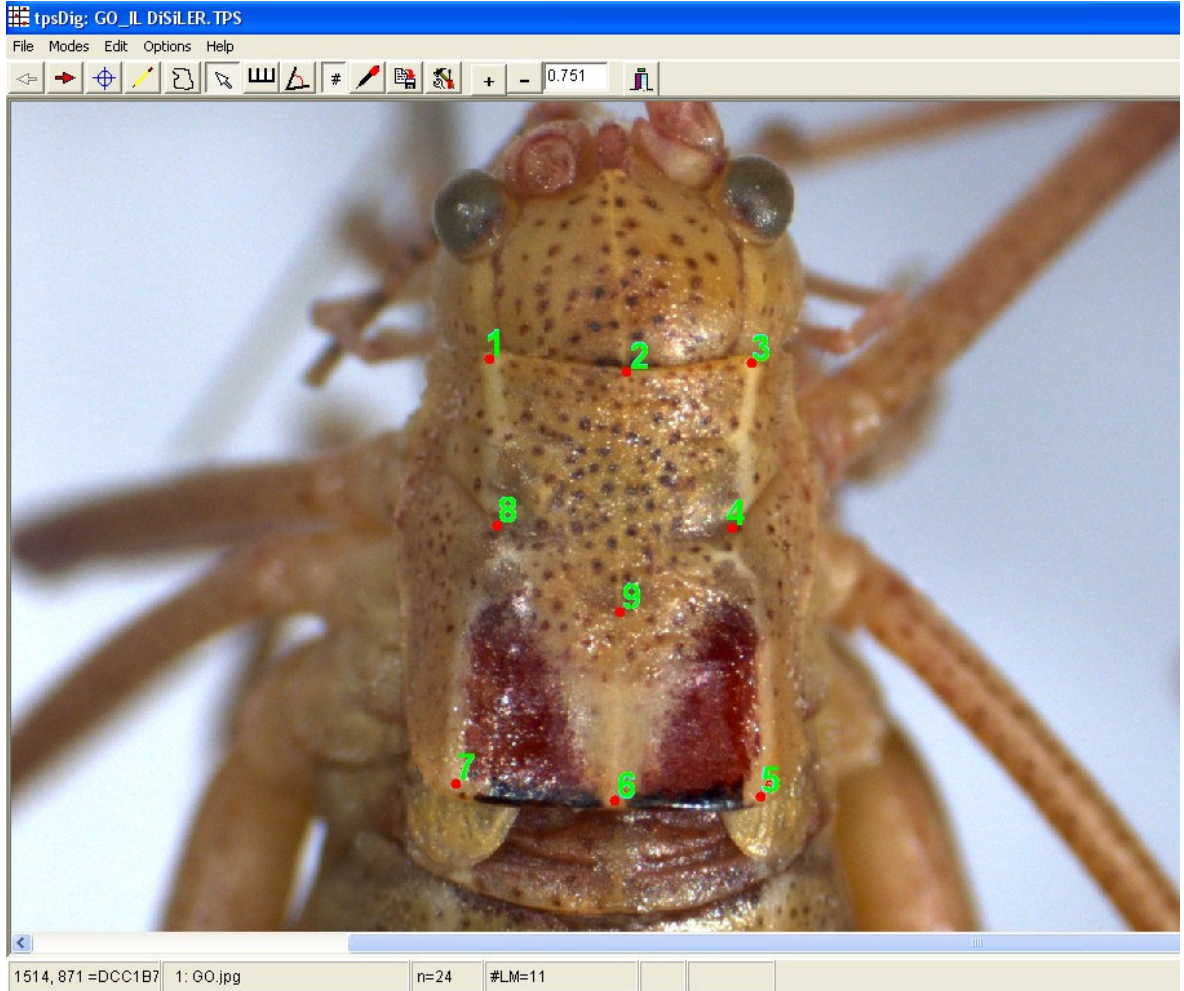
İstasyon	Yükseklik	Örnek Sayısı	
		Dişi	Erkek
1	475	17	26
2	745	5	8
3	789	24	20
4	837	8	12
5	1050	9	23
6	1636	5	9
7	1713	11	16
8	1810	6	13
9	1930	10	17
Toplam	–	95	144



Şekil 3.2. Erkek bireylerin fotoğraflanma açısı ve ölçümlerin alındığı referans noktaları.

3.3.1.2 Dişilerde morfometrik analizler

Dişilerde morfometrik çalışmalar, hem vücut şekli hem de vücut büyüklüğü farklılıklarını ortaya koyabilen geometrik morfometrik analizler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bütün bireyler Leica MZ7₅ Model stereo-mikroskop kullanılarak 0.64 büyütme oranında fotoğraflanmış, 1 mm'ye göre ölçeklendirilmiş ve bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Geometrik morfometrik çalışmalar için dişi pronotumunun dorsal yüzeyinde TPSDig (Version 1.34) (Rohlf, 2003) programı kullanılarak 9 referans noktası (landmark) belirlenmiştir (18 koordinat; Şekil 3.3). Vücut büyüklüğü ve şekil analizleri, bu belirlenen 9 referans noktası üzerinden gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Dişi bireylerin fotoğraflanma açısı ve ölçümlerin alındığı referans noktaları.

3.3.2 Genetik alışmalar

3.3.2.1 DNA izolasyonu ve oğaltılması

Genetik çalışmalarda kullanılmak üzere her istasyondan 2 erkek ve 2 dişi olmak üzere toplam 4 adet birey rastgele seçilmiştir. DNA izolasyon protokolü Subramanian and Mohankumar (2006)'dan alınarak modifiye edilmiş bir CTAB DNA izolasyon protokolü olup, uygulanan protokol basamaklar halinde aşağıda verilmiştir:

- Hayvanların bacaklarının femur bölgesi 1xTE tamponu içerisinde homojenize edilip 13000 rpm hızda 3 dakika santrifüj edilerek homojenize dokular kertilmiştir.
- Peletin zerine daha önceden 65 C'a kadar ısıtılmış olan CTAB tamponu 600l hacimde eklenmiştir. CTAB tamponu:5xTE (pH:8) ve 1,4M NaCl içerisinde %2 CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide / hexyldecyltrimethylammonium bromide) ve %0,2 -mercaptoethanol içerir.
- 65 C'da 1,5 saat inkübe edilen örneklere eşit hacimde kloroform:izoamil alkol (24:1) katılıp alt st edilerek muamele edilmiştir.
- 13000 rpm'da 3 dakika santrifüj sonrasında su fazı aradaki protein katmanını içermeyecek şekilde dikkatlice temiz bir ependorf tüpe alınmıştır. Bu yıkama işlemi sadece kloroform kullanılarak bir kere daha tekrarlanmıştır.
- DNA, sulu fazın iki katı hacimde soğuk (-20 C) izopropanol (2-propanol) ilavesi ile çökertilmiş, 13000rpm'da 3 dakika santrifüj edilerek DNA peletler halinde tüpün dibinde toplanmış ve alkol DNA'dan uzaklaştırılmıştır.
- %70'lik etanol ile yıkanan DNA peletleri kurutma işleminin ardından 50l steril deiyonize su içerisinde çözülmüştür.

Çalışma kapsamında hem populasyon içi hem de yakın türler arasındaki filogenetik analizler için uygun olduğu bilinen mtDNA COI gen bölgesi kullanılmıştır (Hebert, et al. 2003; Ratnasingham and Hebert, 2007).

Aşağıda maddeler halinde verilen PCR (Polymerase Chain Reaction [Polimeraz Zincir Reaksiyonu; PZR]) protokolu ve LCO1490/HCO2198 primer çifti (Folmer et al. 1994; Hebert, P.D.N., et al. 2003) kullanılarak mtDNA COI gen bölgesinin 658bp'lik bir kısmı amplifiye edilmiştir.

Forward Primer: LCO1490 5'–GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG–3'
Reverse Primer: HCO2198 5'–TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA–3'

Uygulanan PCR Protokolü:

1. 94 °C'da 2 dakika başlangıç denatürasyonu;
2. 94 °C, 45 saniye denatürasyon; primere özgül sıcaklık ve süre ile annealing;
3. 72 °C, kb başına 1 dakika ile polimerizasyon;
4. 1 ile 3 arası basamaklar 30 döngü tekrar edilir;
5. Yarım veya yetersiz polimerize olmuş bölgelerin tamamlanması için 72 °C'da 5 dakika son polimerizasyon yapılır.

Elde edilen PCR ürünleri %1,5'lik ethidium bromürlü agaroz jelde yürütülerek UV transilluminatör üzerinde incelenmiştir. Ürünün boyutu kullanılan marker (SIGMA Direct Load Step Ladder, 50bp D3812) ile tespit edilip PCR ürünü boyutunun beklentiler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

3.3.2.2 DNA dizi analizi

Her bir istasyondan toplanan bireylerin haplotipleri (DNA dizileri) PCR ile çoğaltılan mtDNA COI bölgesi kullanılarak elde edilmiştir. DNA dizi analizi çalışmaları MACROGEN firması (908 World Meridian Center #60-24 Gasan-dong, Geumchun-gu Seoul, Korea, 153-023) tarafından yapılmıştır.

3.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmelerinde kullanılan metodoloji, aşağıda alt başlıklar şeklinde verilmiştir. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde %95 güven aralığı kullanılmış ve önem değerleri $p = 0.05$ anlamlılık derecesinde belirlenmiştir.

3.4.1 İklimsel analizler

Mikrohabitatlardaki sıcaklık ve nem parametrelerinin yüksekliğe bağlı olarak gösterdikleri farklılık derecesini ve varyasyonu ortaya koyabilmek için, her

yüksekliğe özgü ortalama ve varyasyon katsayısı (VK: standart sapmanın ortalamaya olan oranı) değerleri hesaplanmıştır. Yüksekliğin sıcaklık ve nem üzerine olan etkisi tek yönlü varyans analizi ve bu analizi takiben yapılan Post-Hoc sınamalar (farklı N HSD yöntemi) kullanılarak ortaya konmuştur. Bütün analizler paket istatistik programı Statistica v.7.1 (StatSoft) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.2 Morfometrik analizler

Bütün analizler paket istatistik programı Statistica v.7.1 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geometrik morfometri ile ilgili analizlerde ise Statistica v.7.1'in yanı sıra Integrated Morphometrics Package (IMP) programı kullanılmıştır.

3.4.2.1 Erkek Bireyler

Erkek bireylerde yükseklik ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişki, regresyon ve tek yönlü varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Regresyon ve tek yönlü varyans analizlerinde, vücut büyüklüğü indeksi olarak seçilen pronotum uzunluğu bağımlı değişken yükseklik ise bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. İstasyonlar arasındaki karşılaştırmalar ise tek yönlü varyans analizini takiben yapılan olan Post-Hoc testler (farklı N HSD yöntemi) ile ortaya konmuştur.

3.4.2.2 Dişi bireyler

Dişi bireylerde gerek vücut büyüklüğü ve gerekse şekli ile ilgili bütün analizler, geometrik morfometrik yöntemler (Bookstein, 1991; Dryden & Mardia, 1998) kullanılarak analiz edilmiştir. Analizin ilk basamağı, Least-Squares Procrustes Superimposition (Dryden & Mardia, 1998) yöntemi yardımıyla istatistiksel analizlerde kullanılmak üzere şekil koordinatlarını ortaya koymaktır. Procrustes metodolojisi vücut büyüklüğünün şekil üzerindeki etkisini kaldırır ve örnekler arasındaki konum ve yönelim (oryantasyon) bakımından varyasyonu yok eder. Örnekler ilk önce birim kütle merkezi (birim centroid) büyüklüğüne ölçeklenmiştir. Ölçeklenmiş konfigürasyonlar daha sonra ortak kütle merkezine (ortak centroid) sahip olacak şekilde süperimpoze edilmiştir (biri üstüne aynı yönelimde olacak şekilde yerleştirilmiştir), least-squares kriterine göre optimal örtüşme bulunana kadar çevrilmiş ve son olarak da lineer tanjant şekil uzamına yansıtılmışlardır (Rohlf & Slice, 1990; Dryden & Mardia, 1998; Rohlf, 1999). Daha sonra geometrik morfometrik şekil değişkenleri (Partial warp scores), thin-plate spline (thin-plate eğri cetveli) denklemi kullanılarak (Bookstein 1991) elde edilmiştir. Bu değişkenler

genel şekil değişkenliğini sayısallaştırıp tek bir değişkene indirgediği için sonrasında yapılacak geleneksel istatistiksel analizler için veri olarak kullanılabilir.

3.4.2.2.1 Vücut büyüklüğü

Vücut büyüklüğü indeksi olarak Procusters analizi esnasında hesaplanan centroid büyüklükleri kullanılmıştır. Centroid büyüklüğü, her bir referans noktasından örneklemin centroidine (ağırlık merkezine) olan uzaklıkların karelerinin toplamı şeklinde hesaplanır. Her bir birey için hesaplanan centroid büyüklükleri kullanılarak yüksekliğe bağlı vücut büyüklüğünde görülen örüntü (pattern), regresyon analizi ve tek yönlü varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Regresyon ve tek yönlü varyans analizlerinde, centroid büyüklüğü bağımlı değişken yükseklik ise bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. İstasyonlar arasındaki ikili karşılaştırmalar ise tek yönlü varyans analizini takiben yapılacak olan Post-Hoc testler ile ortaya konmuştur.

3.4.2.2.2 Vücut şekli analizleri

Farklı yüksekliklerde bulunan populasyonlar arasındaki şekil varyasyonu birkaç istatistiksel yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk önce şeklin yüksekliğe bağlı olarak farklılık gösterip göstermediğini belirlemek için ve vücut büyüklüğünün (centroid büyüklüğü) şekil değişikliği üzerindeki etkisini (allometri) ortaya koyabilmek için çok değişkenli co-varyans analizi gerçekleştirilmiştir (MANCOVA). Vücut büyüklüğü indeksi olarak centroid büyüklüğü kullanılmıştır. MANCOVA’da farklı yükseklikler temel faktör, centroid büyüklükleri co-varyant, partial warp skorları ise bağımlı değişken olarak ele alınmıştır. Hangi İstasyonların (yüksekliklerin) birbirlerinden anlamlı derecede farklılık gösterdiğini ortaya koyabilmek için istasyonlar arasında ikili karşılaştırmalar Kanonik Varyans Analizi (KVA) sonucunda hesaplanan standartlaştırılmış Mahalanobis uzaklıkları (D^2) üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu testler için kullanılan kritik α değeri Bonferroni yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde birkaç α değeri olan 0.05 toplam karşılaştırma sayısına (36) bölünür ve bu da bize analiz için uygun olan kritik α değerini (0,00138) verir.

İkinci olarak istasyonlar arası şekil farklılıkları “Görelî Büzölme Analizi” (GBA [Relative Warp Analysis – RWA]) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizde Rohlf (1993)’ün önerdiği gibi ölçek parametresi (α) 0.00’a ayarlanmıştır. Bütün şekil

değişkenleri analiz içerisine dâhil edildiğinde ve $\alpha = 0$ olduğunda GBA, “kısmi büzülme” (partial warp) skorlarını kullanılarak yapılan “Temel Bileşenler Analiz”inden (TBA – [PCA – principle component analysis]) farksızdır. GBA’ni kullanarak şekil değişkenliğini özetleyen temel bileşenler oluşturulmuştur. Normal bir TBA de olduğu gibi göreceli büzülmeler, birçok değişkendeki varyasyonu birkaç temel bileşene indirgeyerek özetler.

Farklı yüksekliklere denk gelen istasyonlar arasındaki temel bileşen skorlarının ortalamaları arasındaki fark, tek yönlü varyans analizini takip eden Post-Hoc testler sonucunda ortaya konmuştur. Temel bileşen skorlarının yüksekliğe bağlı bir örüntü (artış veya azalış şeklinde) gösterip göstermediğini ortaya koyabilmek için, temel bileşenlerin bağımlı yüksekliğin ise bağımsız değişken olarak kullanıldığı regresyon analizi uygulanmıştır. Bunlara ek olarak temel bileşenler tarafından özetlenen şekil değişkenliğini görsel bir hale getirebilmek için, thin-plate spline deformasyon gridleri oluşturulmuştur. Bu gridlerde başlangıç şekli olarak (referans şekli) bütün bireylerin ortalama değerlerinden oluşan konfigürasyon seçilmiştir. Grid üzerindeki oklar temel bileşen skorlarına göre bireylerde görülen şekil değişikliğinin yönünü ve derecesini belirtmektedir.

Bunun yanında popülasyonda görülen şekil varyasyonunun vücut büyüklüğüne ne derece bağlı olduğunu ortaya koyabilmek için, kısmi büzülme skorları ve kütle merkezi büyüklüğü kullanılarak çoklu regresyon yapılmıştır (Monteiro, 1999). Buna ek olarak thin-plate spline yöntemi kullanılarak ve en küçük bireyi referans alarak, en küçükten en büyüğe doğru vücut şeklinin nasıl değiştiğini gösteren deformasyon gridleri oluşturulmuştur.

3.4.3 Genetik analizler

3.4.3.1 Popülasyonun genetik yapısı ve çeşitliliği

Popülasyon içi ve popülasyonlar arası nükleotid çeşitliği θ (theta) (Watterson, 1975) ve π (pi) (Tajima, 1983) istatistiklerinin hesaplanması ile ortaya konmuştur. Bu hesaplamalar için Arlequin v.3.1.1 (Excoffier et al. 2005) programı kullanılmıştır.

Popülasyonların genetik yapısı ve popülasyonlar arası farklılaşmanın hiyerarşik analizi, varyans analizi yaklaşımı kullanılarak gerçekleştirilecektir (Cockerham,

1969, 1973; Weir and Cockerham, 1984; Long, 1986). Moleküler varyans analizi haplotipler arasındaki mutasyon sayısını temel alarak Arlequin programı (Excoffier et al. 2005) kullanılarak gerçekleştirilecektir. Varyansın hiyerarşik analizi toplam varyasyonu populasyon içi bireysel farklılıklar ve populasyonlar arası farklılıklardan kaynaklanan kovaryans birimlerine ayırır. Bu kovaryans birimleri (σ_i^2 'ler) ilkin kendileşme oranlarına göre Wright (1951, 1965) tarafından daha sonradan da coalescent zamanlarına göre (Slatkin, 1991) tanımlanmış olan fiksasyon indekslerinin hesaplanmasında kullanılır. Haplotip verisinin kullanılması durumunda k'inci gruptaki j'ninci populasyondaki i'inci haplotip frekansının aşağıda verilen lineer denklem ile tanımlandığı varsayılır.

$$X_{ijk} = x + a_k + b_{jk} + c_{ijk}$$

Toplam moleküler varyans (σ^2), populasyon içi haplotip farklılaşmasından (σ_c^2), populasyonlar arası haplotip farklılaşmasından (σ_b^2) ve populasyon grupları arası haplotip farklılaşmasından (σ_a^2) kaynaklanan kovaryans birimlerinin toplamından elde edilir. Toplam moleküler varyansın bu şekilde populasyondaki farklı hiyerarşik seviyeler arasında paylaşılması bize F_{ST} indeksini hesaplama olanağı verir. F_{ST} indeksi kendileşme katsayısı ve coalescent zamanları bakımından aşağıdaki gibi ifade edilebilir:

$$F_{st} = \frac{f_0 - f_1}{1 - f_1} = \frac{\bar{t}_1 - \bar{t}_0}{\bar{t}_1} \quad (\text{Slatkin, 1991})$$

Burada f_0 aynı populasyon içerisinde örneklenen iki farklı genin ortak bir atadan türemiş olma olasılığı, f_1 farklı populasyonlar içerisinde örneklenen iki farklı genin ortak bir atadan türemiş olma olasılığı, $\bar{t}_1$ iki farklı populasyon içerisinde örneklenen iki genin ortalama coalescence zamanı ve $\bar{t}_0$ aynı populasyon içerisinde örneklenen iki genin ortalama coalescence zamanıdır. Fiksasyon indekslerin istatistiksel olarak anlamlılığı non-parametrik permütasyon yaklaşımı kullanılarak sınanacaktır (Excoffier et al. 1992). Özetlenen yöntem altında bu tez kapsamında yapılacak olan Moleküler Varyans Analizi'nin tasarımı Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tek bir gruba ait populasyonlar için yapılan Hiyerarşik Moleküler Varyans Analizi'nin haplotip verisi için düzenlenmiş özeti.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı (KT)	Beklenen ortalama kareler
Populasyonlar arası	P - 1	KT (PA)	$n\sigma_a^2 + \sigma_b^2$
Populasyon içi	N - P	KT (PI)	σ_b^2
Toplam	N - 1	KT (T)	σ_T^2

P = Toplam populasyon sayısı

N = Toplam farklı haplotip sayısı

$$n = \frac{N - \sum_p \frac{N_p^2}{N}}{P - 1}$$

$$F_{st} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$$

Alt populasyonlara özgü F_{st} değerleri (her bir alt populasyonun kendileşme değeri), AMOVA sonucunda elde edilen ve tüm populasyonu temsil edilen F_{st} değerini kullanarak aşağıda verilen formül yoluyla hesaplanacaktır (Excoffier et al. 2006). Burada n_i i'inci populasyondaki gen kopyası (haplotip) sayısıdır.

$$F_{ST_i} = \frac{\frac{1}{n} \left[\frac{1}{P-1} KT(PA) - \frac{1}{n_i} \frac{N}{N-P} KT(P_i) \right]}{\sigma_T^2}$$

Alt populasyonlar arası ikili F_{st} değerleri, Slatkin'in yukarıda formülü verilen F_{st} değerinin (sayfa 52) lineerize edilmiş formu üzerinden hesaplanacaktır. İkili F_{st} değerleri populasyonlar arası kısa dönemli genetik farklılaşma indeksi olarak kabul edilebilir ve populasyonlar arası farklılaşma zamanlarının bir uzaklık matrisi oluşturacak şekilde dönüştürülmesi sonucunda hesaplanır (Reynolds et al. 1983; Slatkin, 1995). F_{st} değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamlılığı permütasyon sınamaları sonucunda hesaplanacaktır. Bütün hesaplamalar Arlequin v.3.1.1 (Excoffier et al. 2005) programı kullanılarak yapılacaktır.

3.4.3.2 Filogenetik analizler

mtDNA dizileri (veya haplotipleri) arasındaki filogenetik ilişkiler ortaya konacak ve ortaya çıkan ağaçlarda bireylerin dağılımı ile istasyonların dağılımı arasındaki

örtüşmeye bakılacaktır. Filogenetik ağaçlar hem uzaklık tabanlı teknikler kullanılarak hem de ayrık (discrete) veri analizine dayalı (parsimoni tabanlı) teknikler kullanılarak çizilecektir. Çizilecek olan filogenetik ağaçların birbirleri ile olan uyumları karşılaştırılacaktır.

Uzaklık matriksi oluşturmak için kullanılan DNA Mutasyon Modeli Arlequin v.3.1.1 (Excoffier et al. 2005) programı kullanılarak belirlenmiştir.

Uzaklık Tabanlı Filogenetik Ağaçlar: Neighbour-Joining yöntemi kullanılarak (Nei and Kumar 2000) MEGA4 (Tamura et al. 2007) programı ile çizilmiştir.

Parsimoni Tabanlı Filogenetik Ağaçlar: Maximum-Likelihood yöntemi kullanılarak (Nei & Kumar, 2000) MEGA4 (Tamura et al. 2007) programı ile çizilmiştir.

3.4.3.3 Populasyon demografisi

Alt populasyonlar arasındaki gen akış oranları populasyon büyüklüğü başına göç oranını veren ikili M değerlerinin hesaplanması ile ortaya konacaktır. Haploit populasyonlar için $M = Nm$ 'dir. Burada N populasyon büyüklüğü m ise populasyonlar arası göç oranıdır. Bu durumda göç oranı ile popülasyona katılan yeni allel frekansı ile genetik sürüklenme ile popülasyondan elenen allel frekansları arasında bir denge olduğu koşulu altında F_{st} değerleri ile M değeri arasında aşağıdaki bağlantı geçerlidir.

$$F_{st} = \frac{1}{2M + 1}$$

Bu durumda M değeri (iki populasyon arasında değiş tokuş edilen birey sayısı) aşağıdaki gibi hesaplanabilir.

$$M = \frac{1 - F_{st}}{2F_{st}}$$

Her populasyon için Tajima'nın D indeksi (Tajima, 1989) hesaplanarak populasyonlar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Populasyon yayılımı altında (expansion) Tajima'nın D değeri negatif (-) olurken, populasyon bölünmesi modeli altında bu değer pozitif (+) olmaktadır (Aris-Brosou and Excoffier, 1996).

Yukarıdaki iki başlıkta verilen bütün analizler için, Arlequin v.3.1.1 (Excoffier et al. 2005) ve MEGA4 (Tamura et al. 2007) programları kullanılmıştır.

3.4.3.4 Populasyonlar arası farklılaşmada etkili olan faktörlerin analizi

Populasyonlar arası izolasyon derecesinin coğrafi uzaklığa paralel olarak artıp artmadığını ölçmek için alt populasyonlar arası ikili genetik farklılaşma oranlarını belirten Slatkin'in lineerize F_{st} matrisi ile alt populasyonlar arası km cinsinden coğrafi uzaklık matrisi arasındaki korelasyona bakılmıştır. Alt populasyonlar arası coğrafi uzaklık matrisi "Geographic Distance Matrix Generator" (Ersts, [Internet] version 1.2.2) programı kullanılarak doğrudan her bir alt populasyonun koordinat verileri kullanılarak oluşturulmuştur. Genetik farklılaşma oranları ile coğrafi uzaklıklar arasındaki korelasyonların istatistiksel anlamlılığı ise Arlequin programı kullanılarak 10000 permütasyonlu mantel testi sonucunda ortaya konmuştur.

Alt populasyonlar arası genetik farklılaşma örüntüsü ile alt populasyonlar arası vücut şekli ve büyüklüğü örüntüleri arasındaki ilişkinin varlığı ayrı ayrı mantel testlerinin uygulanması sonucunda ortaya konmuştur. Alt populasyonlar arası genetik farklılaşma matrisi olarak Slatkin'in lineerize edilmiş ikili F_{st} değerleri kullanılırken vücut şekli matrisi olarak alt populasyonlara arası Mahalanobis uzaklıkları ve vücut büyüklüğü matrisi olarak ise alt populasyonların ağırlık merkezleri arasındaki ikili uzaklıklar kullanılmıştır.

Mantel testleri 10000 permütasyon üzerinden Arlequin programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Populasyonlar arası genetik farklılaşma ile vücut şekli ve büyüklüğü farklılaşması arasındaki ilişkinin uzaklıktan bağımsız olup olmadığını ortaya koyabilmek için kısmi mantel testi uygulanmıştır. Kısmi Mantel testinde alt populasyonlar arası genetik farklılaşma matrisi (Slatkin'in lineerize ikili F_{st} değerleri) bağımlı değişken, coğrafi uzaklık (km), vücut şekli (Mahalanobis uzaklıkları) ve vücut büyüklüğü (ağırlık merkezi uzaklıkları) matrisleri ise bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Alt populasyonlar arası genetik farklılaşma oranları ile uzaklık, vücut şekli ve vücut büyüklüğü arasındaki kısmi korelasyon katsayılarının istatistiksel olarak anlamlılığı ise 10000'li permütasyon sınaması sonucunda elde edilen P değerleri ile ortaya konmuştur. Kısmi mantel testi S-plus programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İklimsel Yapının Analizi

Karadeniz üzerinden gelen nemli hava, Kuzey Anadolu Dağlarının denize bakan yamaçlarında yükselerek yoğunlaşır ve kıyılarda yaz mevsiminde de yağış bırakır. Yurdumuzun en çok yağış alan bölgesi Karadeniz'dir. Rize ve çevresinde yıllık yağış miktarı 2200 mm'yi bulmaktadır (<http://www.meteor.gov.tr>).

Araştırma alanının genelinde, Doğu Karadeniz iklim tipi (Okyanus iklimi) hâkimdir. Bölge her mevsim bol yağış aldığından kışlar ılık, yazlar serin geçmektedir. Yağışlar sonbahar, ilkbahar ve yaz aylarında genellikle yağmur şeklinde olup, yüksek kesimlerde kar şeklindedir. (Güner vd., 1987). Kışın çalışma alanının hemen hemen tamamının karla kaplandığı tespit edilmiştir (Duman, 2003).

Çalışma alanının genel iklim özelliklerinin değerlendirilmesi Pazar Meteoroloji İstasyonu'ndan alınan uzun dönemli iklim verilerine dayanılarak yapılmıştır (Çizelge 4.1). Ancak çalışma alanına daha yakın olması ve çalışma alanını daha iyi temsil etmesi bakımından, yağış özelliklerinin değerlendirilmesi Güner vd. (1987)'den alınan Çamlıhemşin Meteoroloji İstasyonu'na ait uzun dönemli yağış verilerine dayanılarak yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çamlıhemşin Meteoroloji İstasyonu verilerine göre, Çamlıhemşin İlçesi'nde yıllık ortalama yağış 1296.5 mm'dir. En yağışlı dönem ortalama 416.2 mm ile sonbahar iken, en kurak dönem ise 256.1 mm ile ilkbahar olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Yıllık ortalaması 13,5°C olacak şekilde genel olarak düşük bir sıcaklık vardır. Kaydedilmiş en yüksek sıcaklıklar temmuz ve ağustos aylarına aittir ve ortalama değeri 21,7°C civarındadır. Ancak gün içerisindeki sıcaklık değişkendir ve büyük ölçüde havanın güneşli veya yağmurlu olmasına bağlıdır.

Pazar Meteoroloji İstasyonu verileri incelendiğinde, en yüksek ve en düşük nisbi nem değerlerinin %73-82 arasında değiştiği ve düşük düzeyde bir sapma gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek değerlere (%79-82) yaz aylarında rastlanmıştır (Çizelge 4.1). Nitekim Güner vd. (1987), kış mevsiminde dağların üst kesimlerinde biriken karların, ilkbahar ve yaz başında erimesi ile zengin akarsu şebekesine sahip bu alanın daha nemli bir hale geldiğini ve orman katında oluşan buharlaşma nedeniyle

Çizelge 4.1 1964-2003 yılları arası Pazar Meteoroloji İstasyonu uzun dönemli iklim verileri

1964 - 2003	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Yıllık
Ortalama Nem (%)	69.7	69.4	71.7	72.9	75.9	75.4	77.5	77.5	76.6	74.8	71.3	69.1	73.4
Ortalama Sıcaklık (°C)	5.9	6	7.6	11.5	15.4	19.3	21.7	21.6	18.8	15	10.9	7.8	13.5
Ortalama Toplam Yağış (mm)	189.7	145.9	120.5	69.8	81.3	141.6	129.7	174.2	227.2	278.8	229.7	211.1	166.6

Çizelge 4.2 Çamlıhemşin Meteoroloji İstasyonu uzun dönemli yağış verileri

	İlkbahar		Yaz		Sonbahar		Kış		Yıllık Toplam
Çamlıhemşin	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm
	259.1	20	320	24.7	416.2	32.1	300.8	23.2	1296.5

hemen her gün sis oluşumuna neden olduğunu belirtmektedirler. Bu sis kütlelerinin vadi yamaçlarından alpin doruklara doğru gel-gitleri günlük olaylardandır.

Çalışma alanındaki mikrohabitatların sıcaklık ve nem değerlerinde yüksekliğe bağlı gösterdikleri farklar Çizelge 4.3'te verilmiştir. Beklendiği üzere yüksekliğin hem sıcaklık hem de nem üzerinde anlamlı bir etkisi vardır.

Çizelge 4.3. Fırtına vadisi içerisinde farklı yüksekliklerde yer alan mikrohabitatların sıcaklık ve göreceli nem değerlerinin ortalama, standart hata ve varyasyon katsayıları (VK).

Yükseklik	N	Sıcaklık (°C) [†]			Nem (%) [‡]		
		Ortalama	Std. Hat.	VK	Ortalama	Std. Hat.	VK
450 m	689	20.95 ^a	0.13	0.11	109.96 ^a	0.12	0.02
900 m	689	18.10 ^b	0.09	0.14	99.55 ^b	0.21	0.06
1100 m	689	17.74 ^b	0.19	0.28	90.94 ^c	0.63	0.18
1300 m	684	17.59 ^b	0.19	0.28	90.72 ^c	0.56	0.16
1900 m	701	15.50 ^c	0.21	0.35	95.05 ^d	0.59	0.16
2100 m	703	13.45 ^d	0.17	0.33	89.03 ^c	0.58	0.17
2300 m	701	13.75 ^d	0.19	0.37	82.29 ^e	0.59	0.19

† Yüksekliğin sıcaklık üzerine etkisi: $F_{6, 4473} = 181.4892$, $p < 0.001$

‡ Yüksekliğin nem üzerine etkisi: $F_{6, 4473} = 188.5341$, $p < 0.001$

§ Farklı harfler ortalamalar arasında anlamlı bir farkın olduğunu belirtir ($p < 0.001$; çoklu karşılaştırmalar için HSD sınaması kullanılmıştır).

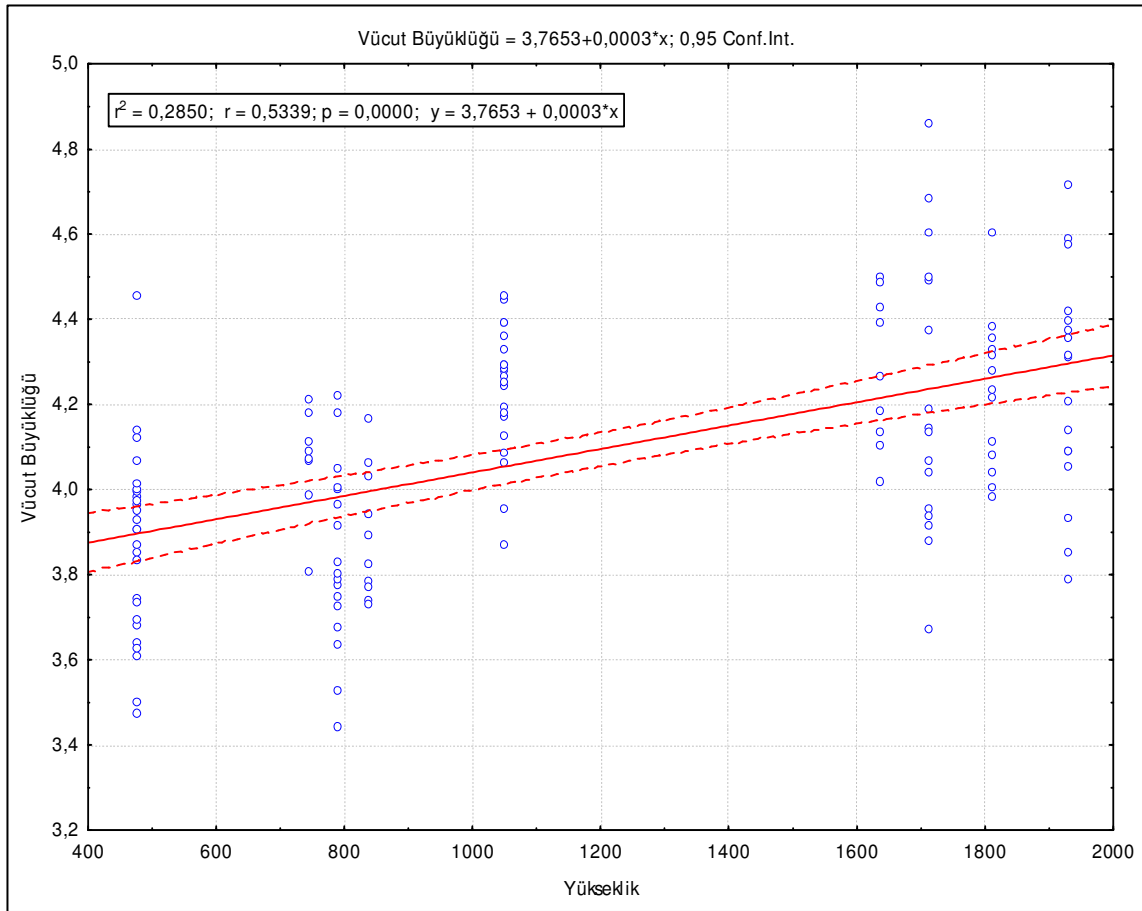
Mikrohabitat içerisindeki sıcaklık değerleri yükseklik arttıkça azalmış ve benzer bir azalma nem değerleri için görülse de nem değerleri genel olarak yüksek olup %80-%100 arasında değişmiştir. İklimsel değerlerdeki en çarpıcı sonuç varyasyon katsayısı değerlerinde gözlemlenmiştir. 450 – 1000 metre arasında hem sıcaklık hem de nem ile ilişkili VK değerleri düşük olmasına rağmen bu değerlerde 1000 metre ve üzerinde büyük oranda bir artış görülmüştür. Örneğin ortalama sıcaklıklar bakımından 900 metre ile 1100 metre arasında kayda değer bir farklılık gözlemlenmese de VK değerleri 2 kat artmıştır. Bu 1000 metre ve üzerinde bulunan yüksekliklerde iklimsel değerlerin değişkenliğinin daha büyük olduğunu belirtir.

4.2. Laboratuvar Çalışmaları

4.2.1 Morfometrik analizler

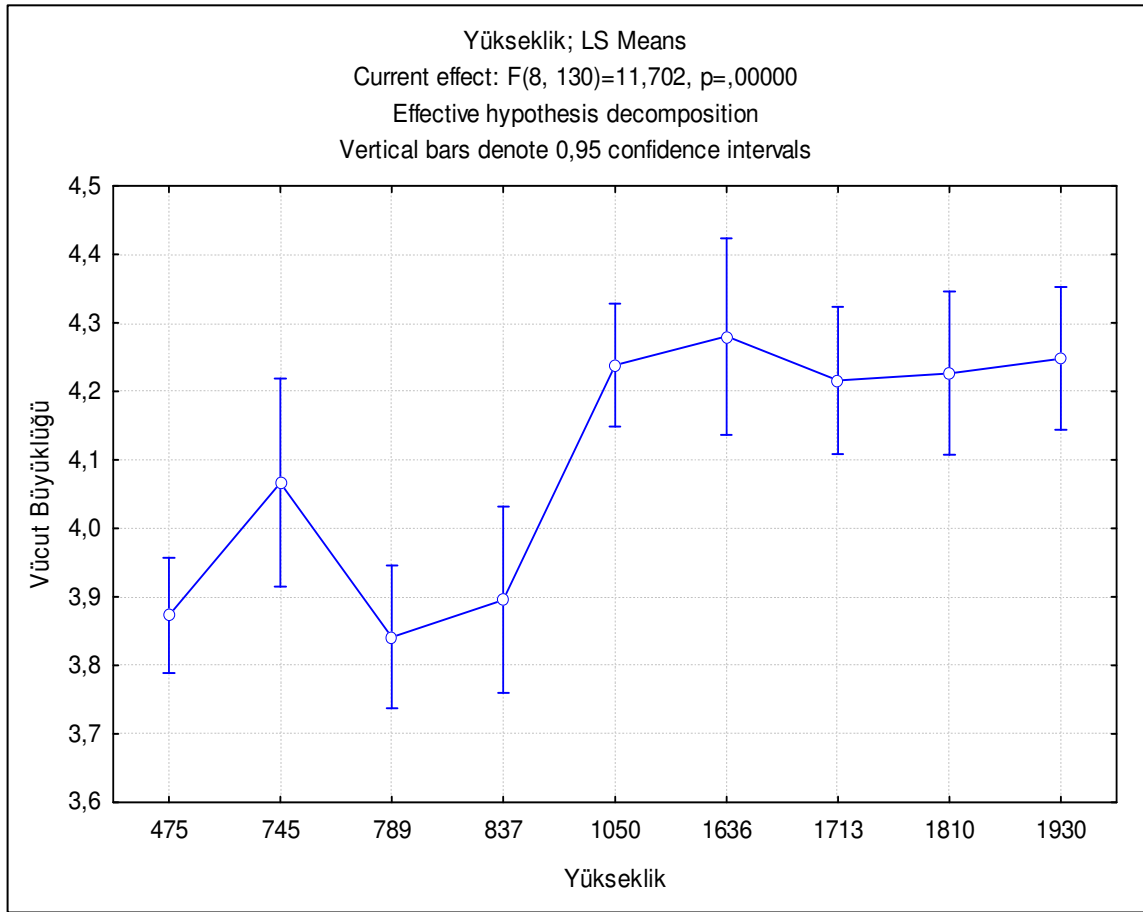
4.2.1.1 Erkeklerde morfometrik analizler

Morfometrik ölçümlerden elde edilen verilere dayanılarak yapılan regresyon analizi sonucunda, yükseklik ile vücut büyüklüğü arasında istatistiksel olarak anlamlı ($F_{1,137} = 54.61$ $P < 0.001$, $r^2 = 0,28$) pozitif bir ilişki olduğu görülmüş (Şekil 4.1), buna rağmen yükseklik erkeklerde vücut büyüklüğü bakımında görülen varyasyonun sadece % 28'ini açıklayabilmektedir.



Şekil 4.1. *Poecilimon similis* erkek bireylerinde, yükseklik ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi.

Erkek bireylerde vücut büyüklüğü indeksi olarak seçilen pronotum uzunluğunun ortalama değerlerinin farklı yüksekliklere göre dağılımı ve güven aralıkları Şekil 4.2 de verilmektedir. Tek yönlü varyans analizi farklı yüksekliklerdeki vücut büyüklüğü ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermiştir ($F_{8,130} = 11,70$, $P < 0.001$).



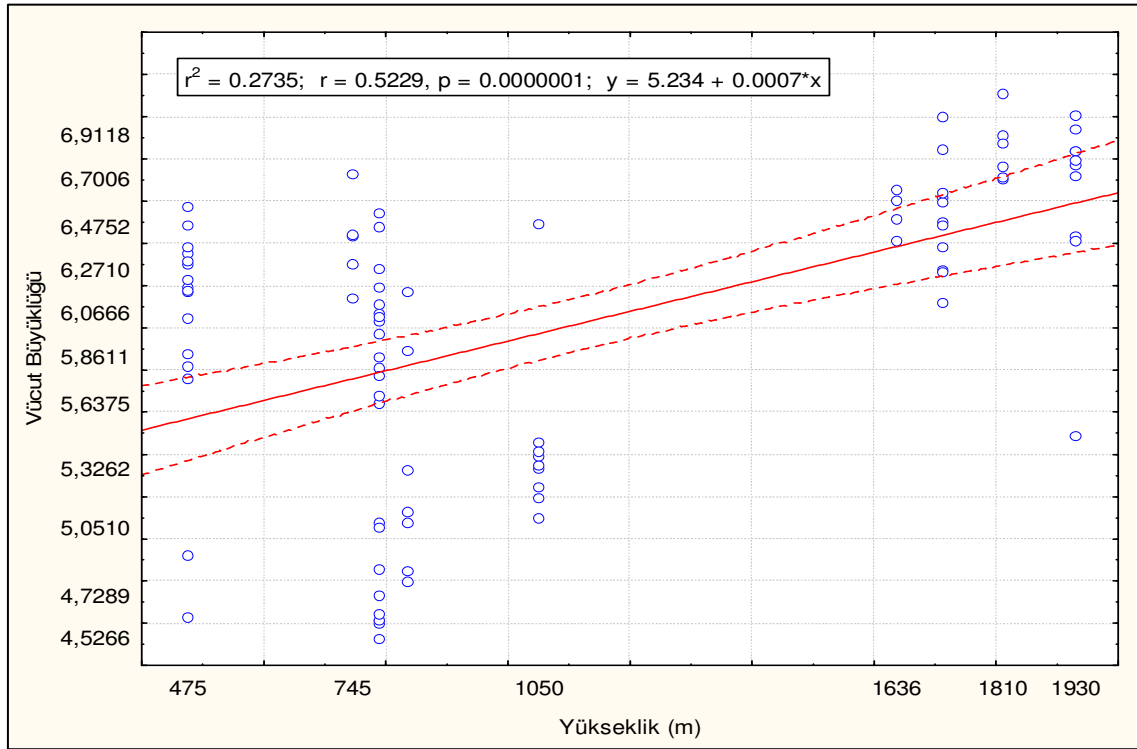
Şekil 4.2. *Poecilimon similis* erkek bireylerinde, vücut büyüklüğü ortalamalarının yüksekliğe göre dağılımı. Düşey çizgiler tek yönlü varyans analizi sonucunda hesaplanan %95 güven aralıklarını göstermekte olup, bu çizgilerin çakışmadığı istasyonlar birbirlerinden $\alpha = 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklılık göstermektedir.

Tek yönlü varyans analizini takiben yapılan Post-hoc Testler sonucunda 1100 m ve üzerinde dağılım gösteren bireylerin vücut büyüklüklerinin, 1100 m'nin altında dağılım gösteren bireylerden anlamlı derecede farklı olduğu belirlenmiştir. Sadece 745 m'den toplanan bireyler bu örüntünün dışında kalmıştır. Bu yükseklikten toplanan bireylerin ortalama vücut büyüklükleri 1100 m ve üstündeki bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4.2).

4.2.1.2 Dişilerde morfometrik analizler

4.2.1.2.1 Vücut büyüklüğü

Vücut büyüklüğü indeksi olarak Procusters Analizi esnasında hesaplanan ağırlık merkezi büyüklükleri kullanılmıştır. Ağırlık merkezi büyüklükleri ile yükseklik arasında yapılan regresyon analizi sonucunda, vücut büyüklüğü ile yükseklik arasında, erkek bireylerde olduğu gibi, istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif ($F_{1,89} = 33.50, P < 0.001, r^2 = 0,27$) bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *Poecilimon similis* dişilerinde, yükseklik ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi.

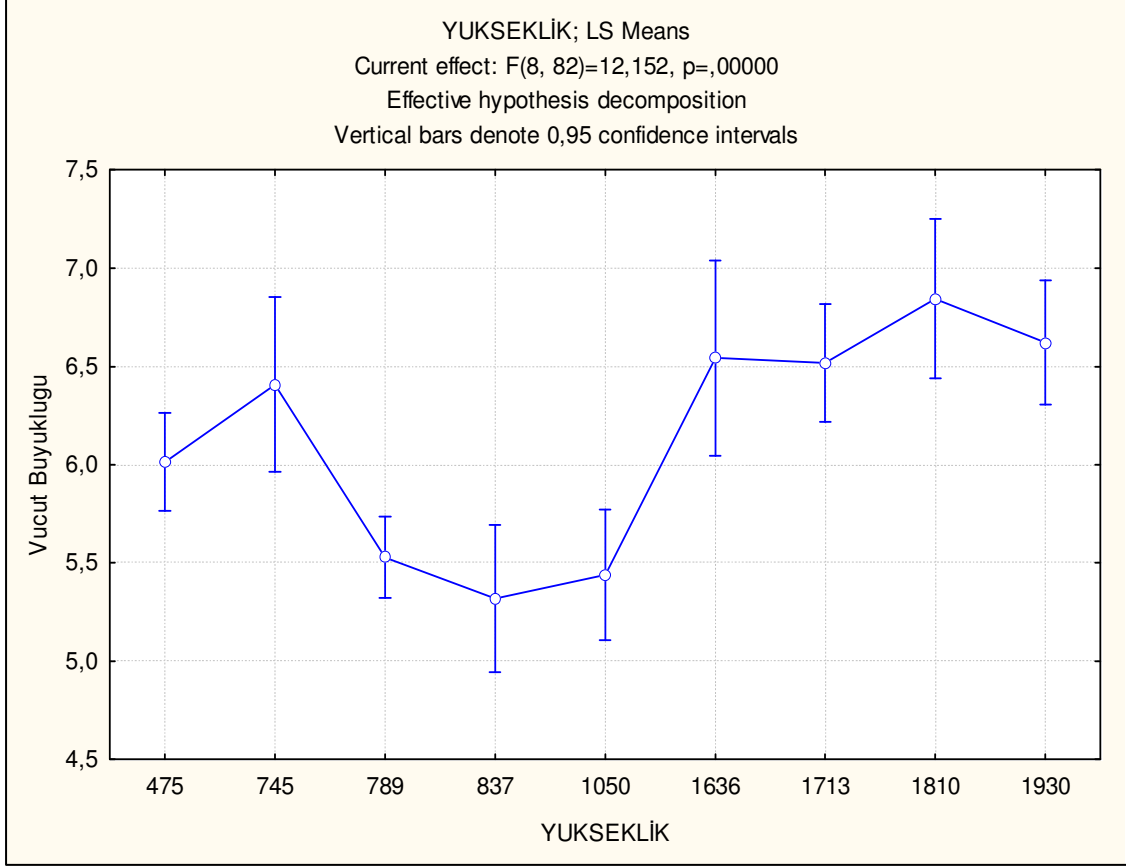
Buna rağmen yükseklik, dişilerde vücut büyüklüğü bakımında görülen varyasyonun sadece % 27'sini açıklayabilmiştir. Dişi bireylerde vücut büyüklüğü indeksi olarak kullanılan ağırlık merkezi büyüklüklerinin ortalama değerlerinin farklı yüksekliklere göre dağılımı ve güven aralıkları Şekil 4.4'te verilmektedir. Tek yönlü varyans analizi farklı yüksekliklerdeki vücut büyüklüğü ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermiştir ($F_{8,82} = 12,15$, $P < 0.001$).

Tek yönlü varyans analizini takiben yapılan post-hoc testler sonucunda genel olarak 1100 m ve üzerinde dağılım gösteren bireylerin vücut büyüklüklerinin, 1100 m altında dağılım gösteren bireylerden anlamlı derecede farklı ve yüksek olduğu belirlenmiş, ancak 475 ve 745 m'den toplanan bireyler bu örüntünün dışında kalmıştır. Bu yüksekliklerden toplanan bireylerin ortalama vücut büyüklükleri 1100 m ve üstündeki bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4.4).

4.2.1.2.2 Vücut şekli analizleri

Yapılan MANCOVA analizi sonucunda dişi bireylerin vücut şekli bakımından yüksekliklere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($Wilk's \lambda = 0.020$, $F_{14,60} = 2.888$,

$P < 0,001$; Çizelge 4.4). Bunun yanında analize co-varyant olarak eklenen ağırlık merkezi büyüklüğünün (AMB) etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olması ($Wilk's \lambda = 0.432$, $F_{14,60} = 5.629$, $P < 0,001$) dişi bireylerde allometri görüldüğü anlamına gelir. Bir başka deyişle vücut büyüklüğünde görülen değişim ile vücut şeklinde görülen değişimler birbirleri ile ilişkilidir.



Şekil 4.4. *Poecilimon similis* dişi bireylerinde vücut büyüklüğü ortalamalarının yüksekliğe göre dağılımı. Düşey çizgiler tek yönlü varyans analizi sonucunda hesaplanan %95 güven aralıklarını göstermekte olup, bu çizgilerin çakışmadığı istasyonlar birbirlerinden $\alpha = 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklılık göstermektedir.

Yükseklikler arasında vücut şekli açısından görülen farklılıkların ikili karşılaştırmaları Kanonik Varyans Analizi sonucunda elde edilen Mahalanobis Uzaklıkları (D^2) üzerinden gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu çizelge incelediğinde genel olarak yüksek rakımlarda bulunan bireylerin, düşük rakımlarda bulunan bireylerden vücut şekli bakımından anlamlı farklılıklar gösterdiği söylenebilir. Fakat vücut büyüklüğü analizlerinde olduğu gibi 745 m'den toplanan bireyler büyük ölçüde, 475 m'den toplanan bireyler ise kısmen bu genellemenin dışında kalmaktadır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Yükseklik ve vücut büyüklüğünün vücut şekli üzerindeki etkisini özetleyen çok değişkenli kovaryans analizi (MANCOVA) özet tablosu. Vücut şekil değişkenleri olarak Procusters Analizi sonucunda elde edilen Kısmi Büzülme Puanları (Partial Warp Skorları) kullanılmıştır.

	Sınama	Değer	F	Etki sd	Hata sd	P
Yükseklik	Wilk's λ	0.020	2.888	112	432.375	<0.001
AMB	Wilk's λ	0.432	5.629	14	60.000	<0.001
İstasyon*AMB	Wilk's λ	0.270	0.792	112	432.375	0.932

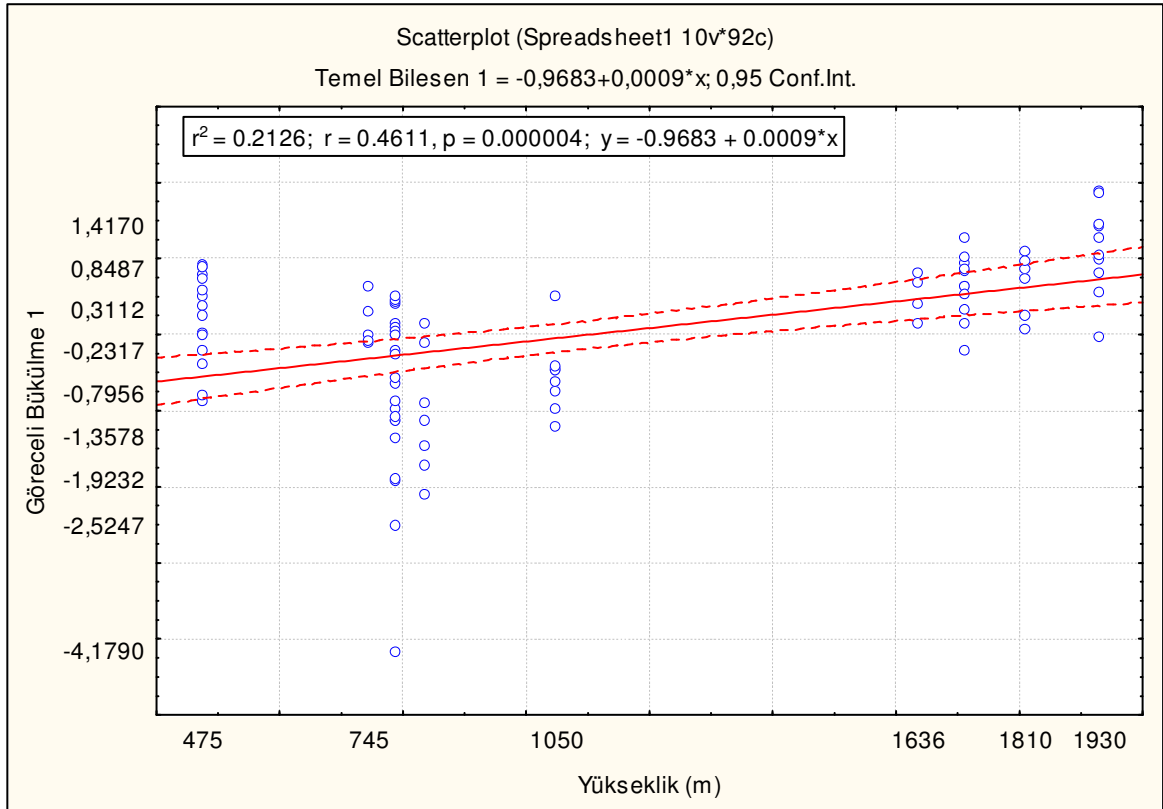
Çizelge 4.5. Yükseklikler arası vücut şekil farkını gösteren Mahalanobis Uzaklıkları (D^2) (alt matris) ve anlamlılık değerleri (üst matris). Kritik α değeri çoklu karşılaştırmalara göre Bonferroni Yöntemi kullanılarak düzeltilmiş olup, 0.00138 olarak belirlenmiştir.

	475	745	789	837	1050	1636	1713	1810	1930
475		0.094	0.0127	<u>≤ 0.001</u>	0.022	<u>≤ 0.001</u>	0.004	<u>≤ 0.001</u>	<u>≤ 0.001</u>
745	7.092		0.1216	0.0360	0.308	0.079	0.032	<u>≤ 0.001</u>	0.001
789	4.013	6.221		0.0054	0.158	<u>≤ 0.001</u>	<u>≤ 0.001</u>	<u>≤ 0.001</u>	<u>≤ 0.001</u>
837	13.259	11.092	7.882		0.284	0.009	0.003	<u>≤ 0.001</u>	<u>≤ 0.001</u>
1050	6.075	6.125	3.708	5.141		0.019	<u>≤ 0.001</u>	0.002	<u>≤ 0.001</u>
1636	16.970	12.598	15.210	15.645	12.878		0.095	0.076	0.112
1713	6.770	9.598	10.961	10.648	10.033	9.202		<u>≤ 0.001</u>	0.009
1810	20.988	18.695	23.496	16.108	13.126	11.760	14.598		0.069
1930	16.306	14.607	18.373	15.142	12.813	9.105	7.598	7.673	

Yükseklikler arasında vücut şekli bakımından görülen farklılıkları görselleştirebilmek ve şekil değişkenlerini daha az sayıya indirgeyebilmek için, kısmi büzülme (partial warp) puanları üzerinden görelî büzülme analizi (GBA) (relative warp analizi) gerçekleştirilmiştir. GBA sonuçları Çizelge 4.6'da özetlenmektedir. Sonuçlara göre istatistiksel olarak anlamlı tek GB bileşeni GB1 olup, bu bileşen tek başına şekil değişkenliğindeki varyasyonun %62'sini açıklamaktadır ve dolayısıyla vücut şeklinde görülen varyasyonu büyük oranda özetlemektedir. Bu nedenle takip eden analizler bu değişken üzerinden gerçekleştirilmiştir. GB1'in yükselti ile olan ilişkisi regresyon analizi yapılarak ortaya konmuş olup, sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir. Regresyon analizi sonuçlarına göre yükseklik ile GB1 arasında anlamlı bir ilişki olduğu ($F_{1,89} = 24.033$ $P < 0.001$, $r^2 = 0,21$) ve yükseklik artışının vücut şeklinde görülen varyasyonun %21 kadarını açıkladığı tespit edilmiştir.

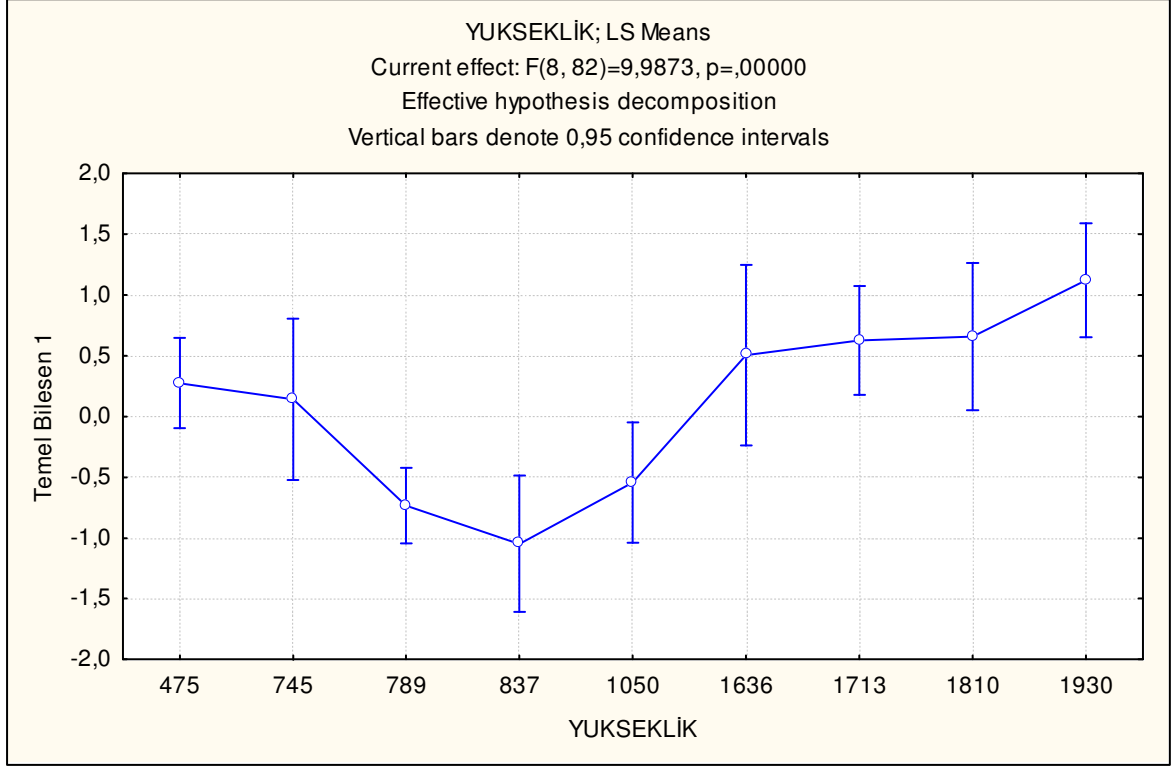
Çizelge 4.6. *Poecilimon similis* bireylerinin kısmi bükülme puanları üzerinden yapılan göreceli bükülme analizi sonuçları. GB özdeğerleri ve toplam varyansın % kaçını açıkladıkları verilmiştir.

GB	Özdeğer	% Toplam varyans	Kümülatif %
1	16.02×10^{-4}	62.405	62.406
2	2.57×10^{-4}	10.008	72.413
3	1.68×10^{-4}	6.552	78.965
4	1.53×10^{-4}	5.964	84.929
5	1.02×10^{-4}	3.976	88.905
6	0.70×10^{-4}	2.729	91.634
7	0.57×10^{-4}	2.231	93.865
8	0.38×10^{-4}	1.484	95.350
9	0.35×10^{-4}	1.372	96.722
10	0.29×10^{-4}	1.147	97.869
11	0.18×10^{-4}	0.703	98.572
12	0.17×10^{-4}	0.644	99.217
13	0.11×10^{-4}	0.414	99.631
14	0.09×10^{-4}	0.369	100.000



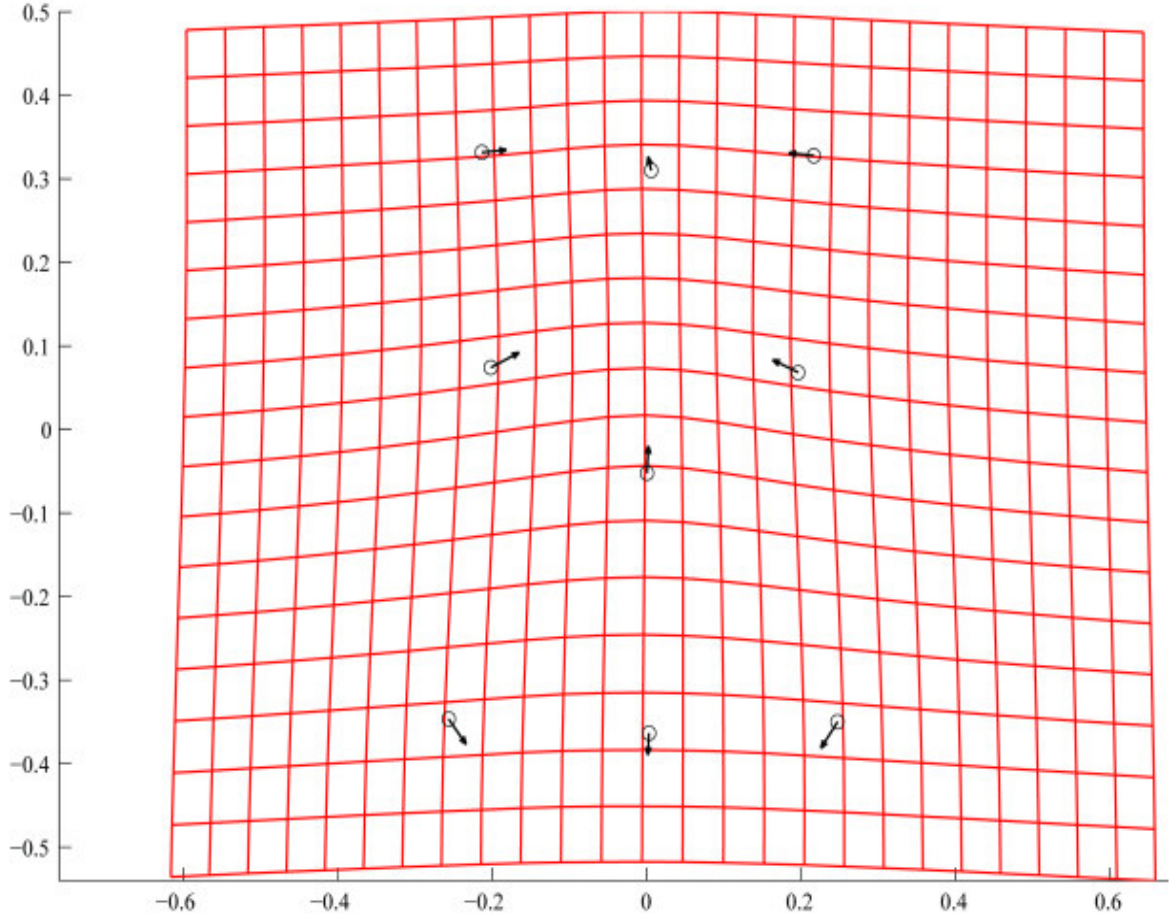
Şekil 4.5. *Poecilimon similis* populasyonlarında, yükseklik ile vücut şekli değişkenliğini tanımlayan göreceli bükülme 1 (GB1) puanları arası ilişkiyi gösteren regresyon analizi.

Farklı yükseklikteki bireylere ait GB1 puanlarının ortalama değerleri arasındaki farkın anlamlılığı, tek yönlü varyans analizi kullanılarak sınanmış ve farklı yüksekliklerdeki GB1 puanları arasında anlamlı bir farkın olduğu belirlenmiştir ($F_{8,82} = 9,987$, $P < 0.001$). GB1 puanlarının ortalama değerlerinin yüksekliğe göre dağılımına baktığımızda; 475 – 837 m aralığında azalma eğilimi gözlemlenirken, 837 - 1636 m aralığında bu eğilim artış yönünde değişmektedir (şekil 4.6).



şekil 4.6. *Poecilon similis* populasyonlarında, vücut şekli değişkenliğini tanımlayan göreceli bükölme (GB1) puanlarının ortalama değerlerinin yüksekliğe göre dağılımı. Yatay çizgiler % 95 güven aralıklarını betimlemektedir.

Vücut büyüklüğünün vücut şekli üzerindeki etkisinin derecesini anlayabilmek için, ağırlık merkezi büyüklüğü ile göreceli bükölme puanları arasında yapılan çoklu regresyon analizleri, vücut şeklindeki değişkenliğin büyük oranda vücut büyüklüğü ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur ($Wilks \lambda = 0.276$, $F_{14,76} = 14.264$ $P < 0.001$, $r^2 = 0.724$; şekil 4.7). GB1 puanları kullanılarak ve en küçük bireyi referans alarak oluşturulan Thin-Plate Spline deformasyon gridleri GB1'in yansıttığı şekil değişkenliğini görsel hale getirmekte olup, şekil 4.7'de verilmiştir. şekli incelediğimizde pronotumun uzunluğundaki bir artışın pronotumda bir daralmaya yol ağtışını, yine benzer bir şekilde pronotum uzunluğundaki bir kısalmanın ise pronotum genişliğinde bir artmaya neden olduğu söylenebilir. Bir başka değişle küçük bireylerde pronotum kısa ve tıknaz olurken büyük bireyler de pronotum uzun fakat dar olmaktadır.



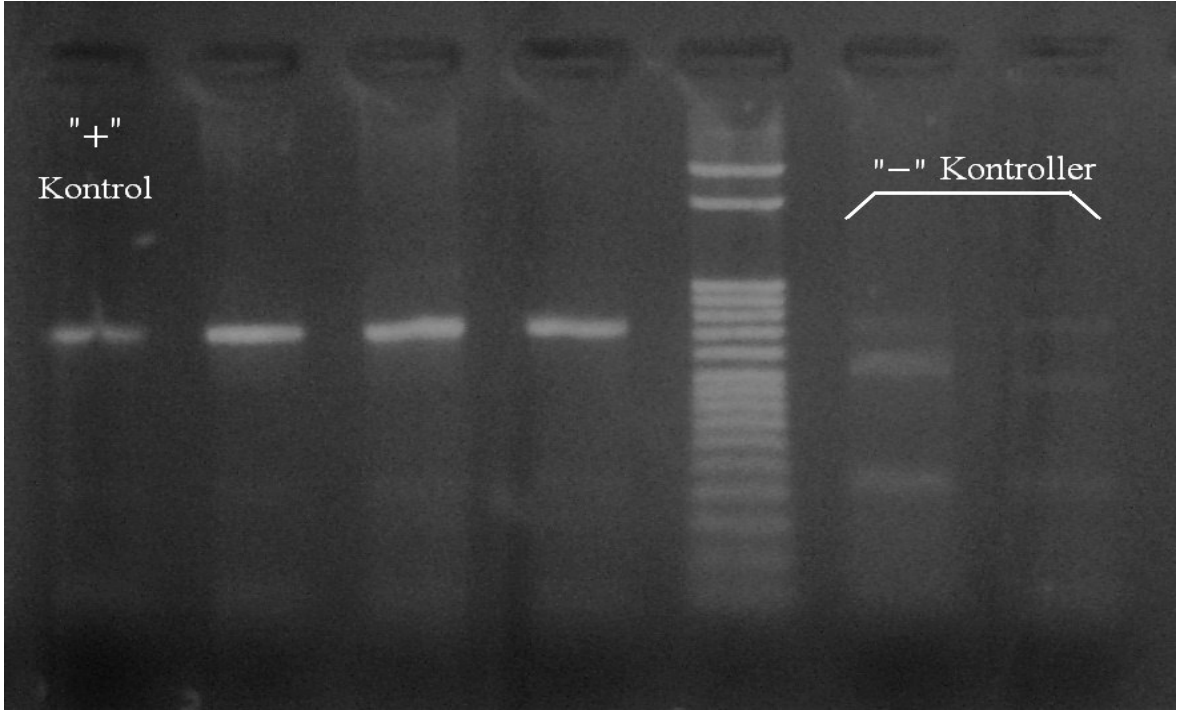
Şekil 4.7. En küçük bireyi referans alarak, göreceli bükülme (GB1) puanlarını üzerinden oluşturulan thin-plate spline deformasyon gridleri. Bu gridler GB1'in yansıttığı şekil değişkenliğinin görsel bir ifadesidir.

4.2.2 Genetik Analizler

4.2.2.1 DNA izolasyonu ve mtCOI amplifikasyonu

Çalışmanın yürütüldüğü Fırtına Vadisi'ndeki 9 istasyonun her birinden, örneklenen bireyler içerisinde seçilen iki erkek iki dişi bireyin, CTAB DNA izolasyon protokolü uyarınca saflaştırılan DNA örneklerinden mtCOI gen bölgesi LCO1490 / HCO2198 primer çiftinin kullanımı ile amplifiye edilmiştir.

Mitokondriyal DNA'nın yetersiz miktarı ve kolay degrede olabilir bir yapıda olduğu bilinmektedir. Bu durum PCR sürecine zorlaştırdığından bu durumu giderebilmek için öncelikle düşük sıcaklıkta bir ön amplifikasyon basamağı gerçekleştirilmiş, hedef molekül sayısının artırılmasının ardından da primere spesifik sıcaklık derecesinde PCR süreci tamamlanmıştır. Her PCR uygulaması negatif ve pozitif kontrol örnekleriyle birlikte gerçekleştirilmiş ve oluşan ürünler %1,5'lik agaroz jel üzerinde marker eşliğinde yürütülerek incelenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. LCO1490 / HCO2198 primer çifti ile yapılan PCR sonuçları. Ürünlerin marker'ın 700 bazlık bandına çok yakın boyda görünmeleri, istenen bölgenin amplifiye edildiğini göstermektedir.

4.2.2.2 Populasyonun genetik yapısı ve çeşitliliği

PCR amplifikasyonları yapılan 36 bireyden 28'ine ilişkin sağlıklı DNA dizi analizi verisi elde edilmiş ve bu veriler populasyon genetiği çalışmalarında kullanılmıştır. Dizi analizleri her örnek için hem ileri (forward) hem de geri (reverse) istikamette yapılmış ve MEGA4 yazılımının kullanımı ile farklı istikametteki okumalar kıyaslanıp okumaların birinde tanımlanamayan ancak diğerinde tanımlanmış durumda olan bazların belirlenmesiyle tek ve olabildiğince sağlıklı bir dizi verisi elde edilmeye çalışılmıştır. Son olarak elde edilen DNA dizilerinin MEGA4 yazılımı ile hizalanması (alignment) yapılmış ve bu hizalanmış veriler fasta (.fas), mega (.meg) ve arlequin (.arp) formatlarına dönüştürülerek ileriki analizlerde kullanılmıştır (Şekil 4.9a ve b).

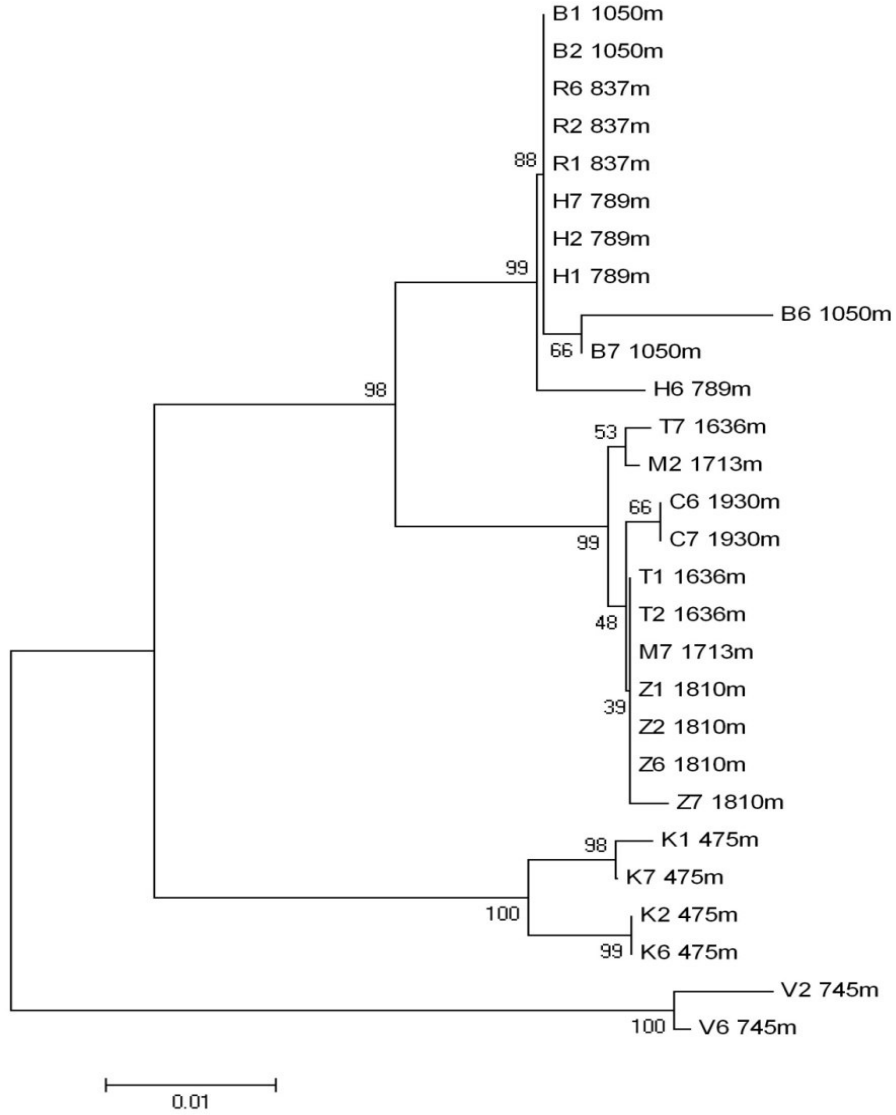
Örneklere ilişkin DNA dizileri A-T'ce zengin olup %62.75 oranında A-T, %37.25 oranında ise G-C içerir. Toplam 81 polimorfik bölge içerisinde 84 nükleotid substitüsyonu gözlemlenmiştir. Bu substitüsyonlardan 55'i transisyon iken 29'u transversiyondur. Nükleotid çeşitliliği hem θ_s hem θ_{π} indekslerine göre yüksek olup, sırasıyla 20.300 ± 6.655 ve 17.092 ± 8.724 olarak belirlenmiştir.

Populasyonun tümünün, rastgele (nötral) veya yönlü / dengeleyici seçim ya da populasyon yayılımı / küçülmesi gibi rastgele olmayan süreçler altında mı evrildiğini anlamak için yapılan nötralite sınamaları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Her iki nötralite indeksi negatif değerler vermekle birlikte, sadece Fu’nun *F_s* sınaması istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç vermiştir.

Çizelge 4.7 Populasyondaki tüm bireylerin DNA dizi verilerinden elde edilen ve dizilerin istasyonlara dağılımına bakılmaksızın yapılan nötralite testi sonuçları.

Nötralite Testleri				
	İstatistik	P.similis	Ortalama	s.s.
Tajima’nın D testi				
Örneklem büyüklüğü		28	28.00000	0.00000
S		79	79.00000	0.00000
Pi	17.09259		17.09259	0.00000
Tajima’nın D’si	-0.63316		-0.63316	0.00000
Tajima’nın D’si p-değeri	0.27900		0.27900	0.00000
Fu’nun FS testi				
Alel sayısı		28	28.00000	0.00000
Theta_pi	17.09259		17.09259	0.00000
Beklenen alel sayısı	16.89570		16.89570	0.00000
FS	-15.25492		-15.25492	0.00000
FS p-değeri	0.00100		0.00100	0.00000

Tüm sekanslar arasında ortalama nükleotid farklılaşması $p = 0.033 \pm 0.004$ olarak hesaplanmıştır. Populasyonlar arası farklılaşma ve akrabalık derecelerini incelerken hangi nükleotid uzaklık indeksinin kullanıldığı önem kazanır (Nei and Kumar 2000). Fakat p değerinin 0.1 düzeyinin altında olduğu çalışmalarda bütün farklı uzaklık indekslerinin verdikleri sonuçlar hemen hemen aynı olup bu durumda en düşük standart hata değerini veren p uzaklığının ($p = nd/n$; nd: sekanslar arasındaki farklı nükleotid sayısı, n: toplam nükleotid sayısı) kullanılması tavsiye edilir (Nei and Kumar 2000). Dolayısıyla populasyonlar arasındaki bütün karşılaştırmalarda nükleotid uzaklık indeksi olarak p değeri kullanılmıştır.



Şekil 4.11. Fırtına vadisindeki 9 istasyondan alınan 28 bireyin aralarındaki evrimsel ilişkiler.

Evrimsel geçmişi yansıtan bu ağaç “Minimum Evrim” (Minimum Evolution) yöntemi ile elde edilmiştir (Rzhetsky & Nei, 1992). Burada, dal uzunlukları toplamı = 0.15376231 değeri ile en küçük olan optimal ağaç verilmiştir. 1000 tekrarla yapılan Bootstrap Testi sonuçları her bir dallanma noktasının yanında görülmektedir (Felsenstein, 1985). Rakamlar Bootstrap Testi’ndeki tekrarlar sırasında gösterilen biçimdeki ağacın ortaya çıkma yüzdesini vermektedir. Ağaç ölçekli olarak çizilmiş olup, filogenetik analiz yapılmasında kullanılan evrimsel mesafe ile aynı birimdedir (p değeri). Bu Minimum Evrim Ağacı, inceleme düzeyi 1 olacak şekilde “Yakın-Komşu-Değiş Tokuşu” (Close-Neighbor-Interchange [CNI]). algoritması (Nei and Kumar, 2000) kullanılarak incelenmiştir. Başlangıç ağacını oluşturmak için “Komşu Birleştirme” (Neighbour-Joining) algoritması (Saitou and Nei, 1987) kullanılmıştır. Analiz, hizalamadaki tüm boşluk ve bilinmeyen verilerin elimine edildiği “Tam Delesyon” modeli kullanılarak yapılmıştır. Son veri setinde toplam 446 pozisyon bulunmaktadır.

Her iki farklı yöntemle çizilen ağaçların sonuçları birbirlerine son derece yakın olup, Fırtına Vadisi'ndeki *Poecilimon similis* populasyonunu 1) 475 m, 2) 745 m, 3) 789 m, 837 m ve 1050 m ve 4) 1636 m, 1713 m, 1810 m ve 1930 m yüksekliklerdeki alt populasyonlardan oluşan 4 filogenetik gruba bölmektedir. Gruplardaki her nodülün, bir diğer değişle dallanma noktasının, Bootstrap değerlerinin %96 - %100 arasında çıkması, bu grupların güven aralıklarının son derece yüksek olduğunu belirtmektedir.

Filogenetik analizler sonucunda ortaya çıkan bu 4 grup içerisinde yer alan 28 bireyden 14 farklı haplotip elde edilmiştir. Haplotiplerin alt populasyonlara dağılımı ve alt populasyonlara ait polimorfik bölge sayısı **S**, nükleotid çeşitlilik indeksleri **θs** ve **θπ** Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Alt populasyonlar arası ikili genetik uzaklıklar ise, Slatkin'in F_{st} değerinin hesaplanması ile ortaya konmuş olup Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Dört alt populasyon arasındaki genetik varyasyonu, populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyona göre paylaştırabilmek için AMOVA yapılmıştır. AMOVA sonuçları Çizelge 4.10'da verilmektedir.

Sonuçlara göre Fırtına Vadisi'nde bulunan *Poecilimon similis* populasyonundaki genetik varyasyonun %91.35'i alt-populasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır ($F_{st} = 0.913$; $p < 0.0001$). Dolayısıyla alt-populasyonlar arasında genetik izolasyonun yüksek ve göç oranlarının (gen akış oranlarının) çok düşük olduğu söylenebilir. Alt populasyonlara ait F_{st} değerleri (Çizelge 4.11) ve alt populasyonlar arasındaki gen akış oranları (Çizelge 4.12) bu genellemeyi doğrulamaktadır.

Çizelge 4.8. Haplotiplerin alt populasyonlara dağılımı ile alt populasyonlara ait polimorfik bölge sayısı (S) ve nükleotid çeşitlilik indeksleri (θ_s ve θ_n).

Etiket	Populasyon adı					
1:	Populasyon 475m					
2:	Populasyon 745m					
3:	Populasyon 789m-1050m					
4:	Populasyon 1636m-1930m					
Moleküler çeşitlilik indeksleri			/ Populasyonlar			
İstatistikler	1	2	3	4	Ortalama	s.s.
Transisyonların sayısı	3	1	2	5	2.750	1.708
Transversiyonların sayısı	5	2	7	2	4.000	2.449
Substitüsyonların sayısı	8	3	9	7	6.750	2.630
İndel'lerin sayısı	1	0	1	0	0.500	0.577
Transisyon bölgeleri	3	1	2	5	2.750	1.708
Transversiyon bölgeleri	3	1	2	5	4.000	2.449
Substitüsyon bölgeleri	8	3	9	7	6.750	2.630
Özgün subst. böl. sayısı	3	1	9	6	4.750	3.500
İndel bölgeleri sayısı	1	0	1	0	0.500	0.577
Pi	5.500	3.000	1.964	1.564	3.00682	1.76890
S	9	3	10	7		
θ_s (Theta_S)	4.36364	3.00000	3.07275	2.38992	3.20658	0.82992
s.s. θ_s (Theta_S)	2.68002	2.44949	1.52750	1.25102	1.97701	0.69440
θ_n (Theta_pi)	5.50000	3.00000	1.96364	1.56364	3.00682	1.76890
s.s. θ_n (Theta_pi)	3.99247	3.46410	1.35538	1.13678	2.48718	1.45199

Çizelge 4.9. Populasyonlar arası genetik uzaklıkları betimleyen Slatkin'in F_{st} değerleri ve bu F_{st} değerlerine ait P değerleri.

Etiket	Populasyon adı			
1:	Populasyon 475m			
2:	Populasyon 745m			
3:	Populasyon 789m–1050m			
4:	Populasyon 1636m–1930m			
Populasyonların ikili F_{st} değerleri ve P değerleri				
	1	2	3	4
1		0.06504	<u>0.00050</u>	<u>0.00040</u>
2	0.89845		<u>0.01247</u>	<u>0.01346</u>
3	0.89673	0.94378		<u>0.00000</u>
4	0.92652	0.97389	0.88202	
İkili farklılıklar sol alt, 10100 permütasyonla hesaplanmış P değerleri sağ üstte gösterilmiştir. Anlamlı olan P değerleri ($p < 0.05$) altı çizili olarak işaretlenmiştir.				

Çizelge 4.10. Dört alt populasyondaki genetik varyasyonların populasyon içi ve populasyonlar arasındaki paylaşımını betimleyen AMOVA sonuçları.

AMOVA tasarımı ve sonuçlar				
Varyasyonun kaynağı	df.	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	Varyasyon yüzdesi
Populasyonlar arasında	3	206.023	10.88523 Va	91.35
Populasyonlar içinde	24	24.727	1.03030 Vb	8.65
Toplam	27	230.750	11.91553	
Fiksasyon İndeksi (F_{st}): 0.91353				

Çizelge 4.11. Alt populasyonlar arasındaki farklılıkları betimleyen F_{st} değerleri

Populasyona özgü F_{st} indeksleri		
	Populasyon adı	F_{st}
1	Populasyon 475m	0.89790
2	Populasyon 745m	0.91563
3	Populasyon 789m-1050m	0.91221
4	Populasyon 1636m-1930m	0.92016

Çizelge 4.12. Alt populasyonlar arasındaki gen akış (göç) oranlarına ilişkin M değeri matrisleri

M değeri matrisi (haploit veri için $M=Nm$, diploit veri için $M=2Nm$)				
M değeri populasyon büyüklüğü başına göç oranını vermektedir.				
	1	2	3	
2	0.05651			
3	0.05758	0.02979		
4	0.03966	0.01340	0.06688	

Alt populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmaya yol açan süreçlerin rastgele (nötral) veya rastgele olmayan (yönlü / dengeleyici seçilim ya da populasyon yayılımı / küçülmesi) süreçler tarafından yönlendirildiğini ortaya koymak için yapılan nötralite sınamaları Çizelge 4.13’de verilmiştir.

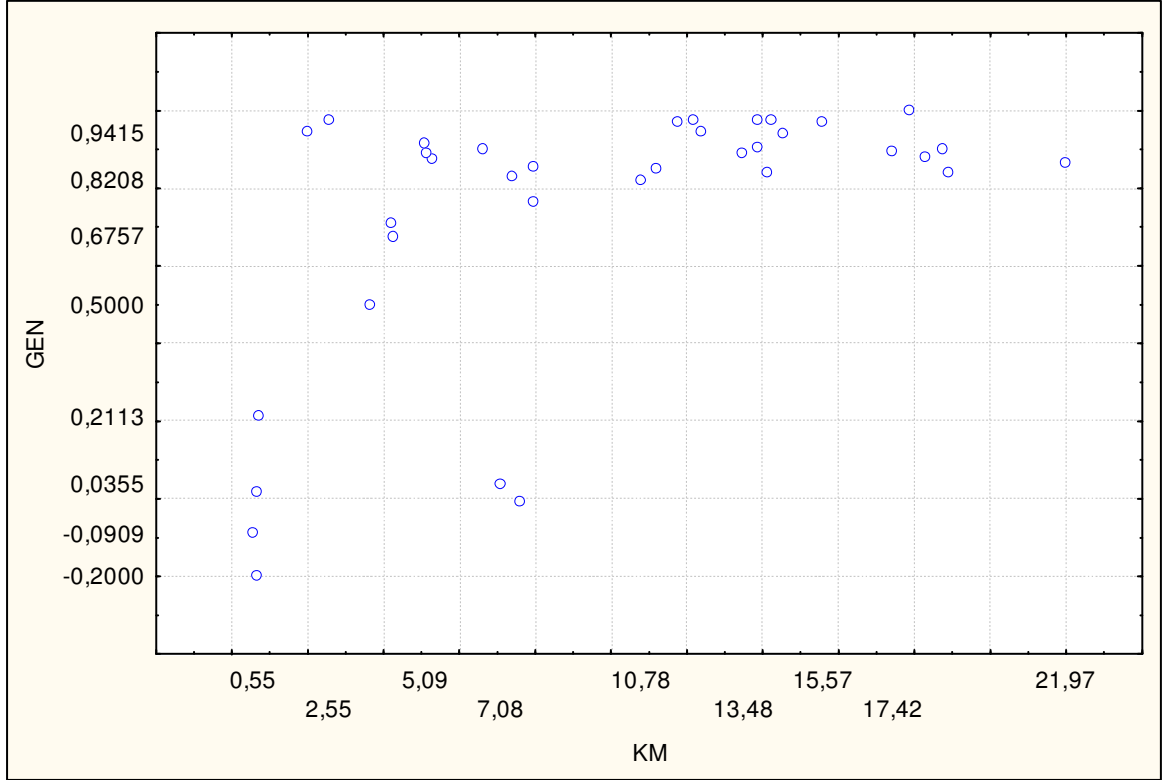
Çizelge 4.13. Nötralite testleri.

Nötralite testleri / Populasyonlar						
İstatistikler	1	2	3	4	Ort.	s.s.
Tajima'nın D testi						
Örneklem büyüklüğü	4	2	11	11	7.00	4.69
S	8	3	9	7	6.75	2.63
$\Pi(Pi)$	5.50000	3.00000	1.96364	1.56364	3.00	1.77
Tajima'nın D'si	1.44213	0.00000	-1.76557	-1.40298	-0.43	1.46
T. D'si p-değeri	0.88730	1.00000	0.02450	0.08920	0.50	0.51
Fu'nun FS testi						
Alel sayısı	4	2	11	11	7.00	4.69
Θ_n (Theta_pi)	5.50000	3.00000	1.96364	1.56364	3.00	1.77
Beklenen alel say.	3.22655	1.75000	4.17081	3.74667	3.22	1.06
FS	-0.39918	1.09861	-12.48757	-14.09211	-6.47	7.93
FS p-değeri	0.21400	0.43330	0.00000	0.00000	0.16	0.21

Sonuçları incelediğimizde, hem Tajima'nın D hem de Fu'nun Fs değerlerinin bütün alt populasyonlar için negatif olduğunu görürüz. Fakat istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar Tajima'nın D değeri için sadece 789 m alt populasyonunda gözlemlenirken, Fu'nun FS değeri için ise hem 789 m alt populasyonu hem de 1600 m alt populasyonundaki değerler istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu sonuçlar bu iki alt populasyonun nötral olmayan süreçler tarafından etkilendiğini ve buradaki bireylerin yönlü seçilim veya populasyon yayılım alanlarını arttırmakta oldukları sonucuna götürebilir.

Genetik izolasyon derecesinin populasyonlar arası uzaklık ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için, koordinat verisinden elde edilen uzaklık matrisi ile alt populasyonlar arası genetik uzaklık (F_{st}) matrisi arasındaki ilişki Mantel Testi ile ortaya konmuştur.

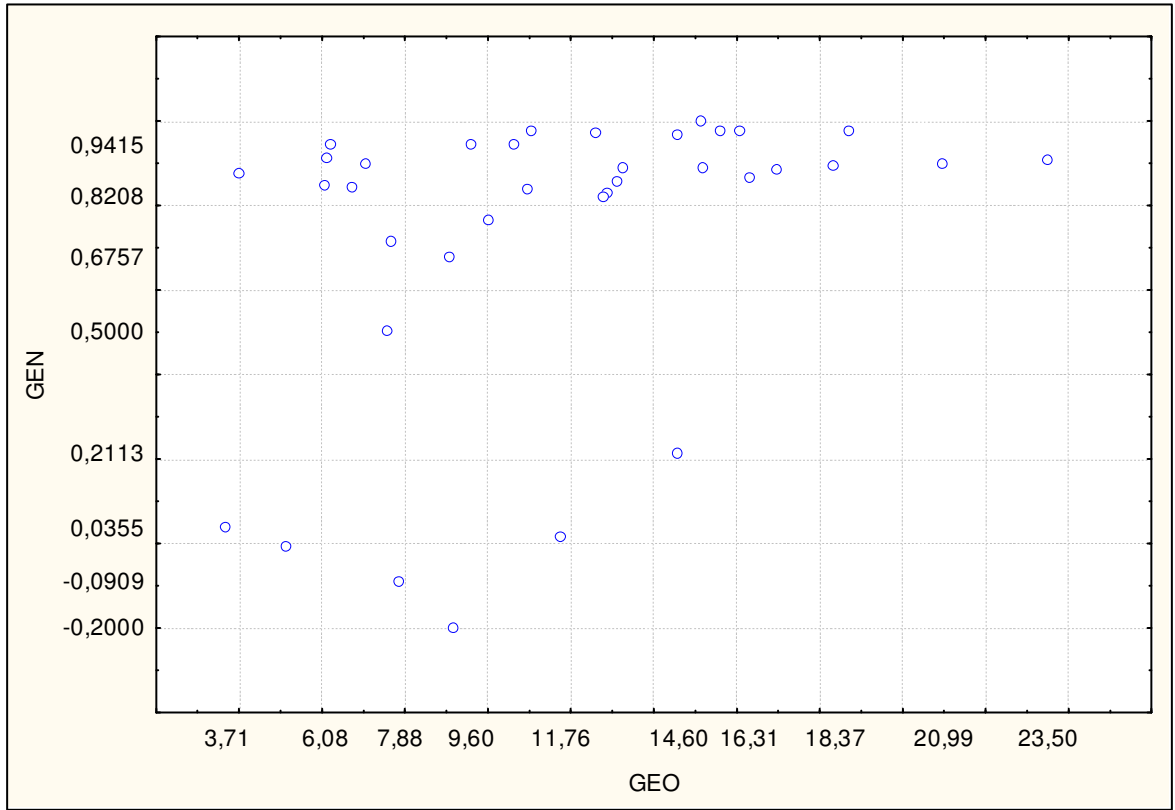
Sonuçlar Fırtına Vadisi'nde yayılım gösteren *Poecilimon similis* populasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı derecede uzaklığa bağlı genetik izolasyon örüntüsü gösterdiğini ortaya koymuştur (Kk: 0.57; $r^2 = 0.326$; $p = 0.004$) (Şekil 4.12).



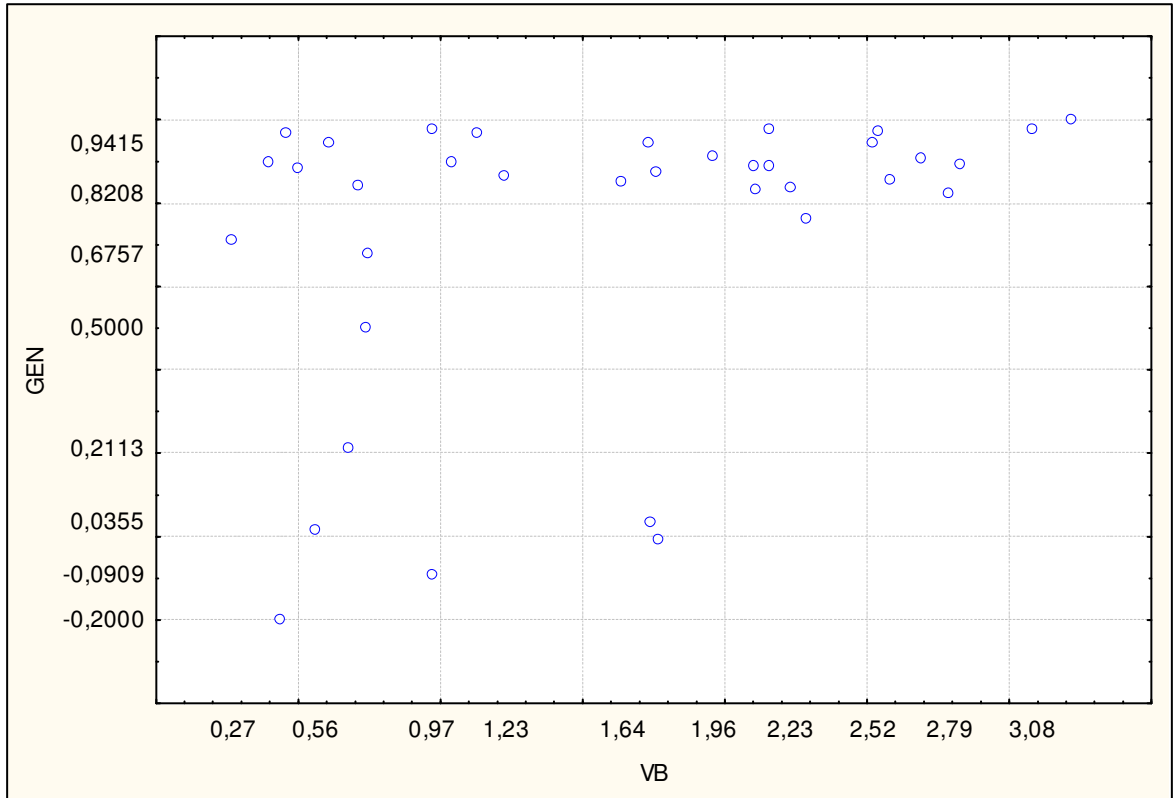
Şekil 4.12. İstasyonlar arası genetik uzaklık (F_{st}) ve istasyonlar arası coğrafi uzaklık (Km) arasındaki korelasyonu gösteren grafik.

Farklı yüksekliklerdeki 9 alt populasyonun, şekil ve vücut büyüklüğü farklılıkları ile genetik farklılaşmaları arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilmek için, dişilerdeki vücut şekli (Mahalonobis Uzaklıkları) ve vücut büyüklüğü (Ağırlık Merkezi Büyüklükleri) uzaklık matrisleri ile genetik uzaklık (F_{st}) matrisi arasında ayrı ayrı Mantel Testleri uygulanmıştır.

Sonuçlara baktığımızda, hem vücut büyüklüğü farklılığının hem de vücut şekli farklılığının alt populasyonlar arası genetik farklılaşma ile istatistiksel olarak anlamlı derecede pozitif ilişki gösterdiği belirlenmiştir (Kk: 0.36, $r^2 = 0.130$, $p = 0.017$; Kk: 0.37; $r^2 = 0.139$, $p = 0.024$) (Şekil 4.13 ve 4.14).



Şekil 4.13. Mahalanobis Uzaklıkları cinsinden vücut şekli (GEO) ile genetik uzaklık (F_{st}) arasındaki korelasyon.



Şekil 4.14. Ağırlık Merkezi Büyüklükleri cinsinden vücut büyüklüğü (VB) ile genetik uzaklık (F_{st}) arasındaki korelasyonu gösteren grafik.

Populasyonlar arası genetik farklılaşma ile vücut şekli ve büyüklüğü farklılaşması arasındaki ilişkinin uzaklıktan bağımsız olup olmadığını ortaya koyabilmek için kısmi Mantel Testi uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14 Fırtına Vadisi içerisindeki *Poecilimon similis* populasyonunun genetik farklılaşması ile uzaklık ve vücut şekli ve büyüklüğü farklılaşması arasındaki ilişkiyi gösteren Kısmi Mantel Testi sonuçları. Katsayı ve standart hata değerleri ve her faktörün görece katkısını belirten t değeri verilmiştir. t değerinin anlamlılığını veren P değerleri 10,000’li permütasyon testi sonucunda hesaplanmıştır.

	Katsayı	Std. Hata	t	P
Uzaklık (Km)	0.028	0.010	2.858	0.003
Vücut Şekli	0.004	0.012	0.297	0.388
Vücut Büyüklüğü	0.084	0.058	1.447	0.083

$$r^2 = 0.372, F_{3,32} = 6.33, P = 0.002$$

Kısmi Korelasyon Katsayıları:

$$\begin{aligned} \text{Uzaklık (Km)} &= 0.485 \\ \text{Vücut Şekli} &= 0.050 \\ \text{Vücut Büyüklüğü} &= 0.212 \end{aligned}$$

Sonuçlara baktığımızda, populasyonlar arası genetik farklılaşma ile vücut şekli ve vücut büyüklüğü örüntüsü arasında uzaklıktan bağımsız bir ilişkinin olmadığı sonucuna varılabilir. Populasyonlar arası genetik farklılaşma ile vücut şekli ve vücut büyüklüğü arasındaki korelasyon katsayıları 0.05 ve 0.21 olup, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P = 0.39$ ve $P = 0.08$, 10000 permütasyon).

5. TARTIŞMA

5.1. İklim, Yükseklik ve Kantitatif Morfolojik Karakterler Arası İlişkiler

Çalışma alanı, genel iklimsel özellikleri itibariyle son derece homojendir ve iklimde gözlenen değişkenlikler çok dar bir aralıkta gerçekleşmektedir. Bu tür bir iklimsel örüntü, pek çok hayvan ve bitki türü için dengeleyici (stabilizing / purifying) bir evrimsel değişim modelini gündeme getirir. Bu durum seçim baskısı altındaki karakterler açısından çoğunlukla çeşitliliğin düşük olduğu bir alansal yapının ortaya çıkması demektir. Doğu Karadeniz Bölgesi'nin homojen iklimsel yapısına bağlı olarak vejetasyonunun düşük tür çeşitliliği de bu görüşü destekler niteliktedir.

Poecilimon similis nimf ve ergin dönemlerini yağışlı, yumurta dönemini ise karla kaplı ortamda geçirdiği için, yaşamı boyunca önemli bir iklimsel varyasyon etkisi altında kaldığını söylemek mümkün değildir (Çizelge 4.2). Nitekim nem ve sıcaklık değerlerine ilişkin ölçümler de bu düşük seviyedeki iklimsel varyasyonu doğrulamaktadır (Çizelge 4.1). Dolayısıyla *Poecilimon similis*'in iklimsel parametreler açısından varyasyona maruz kalmasına neden olan temel değişken yüksekliktir (Çizelge 4.3). Bu nedenlerle artan yüksekliklerde yer alan istasyonlardan toplanan örneklerin, vücut büyüklüğü ve vücut şekli gibi kantitatif karakterler açısından bir farklılık göstermesi beklenmelidir. Çünkü bu karakterler seçim baskısı altında şekillenmeye açıktırlar.

Bergmann Kuralı olarak bilinen biyoklimatik genelleme, homoiterm canlıların daha yüksek enlemlerde daha büyük vücutlu ve kısa–kalın üyeli morflarının yaşayacağını öngörür. Ancak yılın belli bir döneminde yaşamını sürdürebilen poikiloterm canlılarda (seasonal poikiloterm=dönemsel poikiloterm), genel olarak bunun tersi bir durum gözlenir. Çünkü vücut sıcaklığı, yumurta üretimi, çiftleşme başarısı gibi çok sayıda özellik, enerji dinamikleri açısından çevre sıcaklığına bağlıdır. Embriyonik gelişim, yumurtaların açılma zamanı, diapoz, dormansi, büyüme ve üreme dönemi gibi biyolojik olaylar, iklimsel koşulların izin verdiği mevsimlerde gerçekleşecek şekilde düzenlenmelidir. Yüksek enlemlerdeki ve yüksek irtifalardaki iklimsel koşullar düşünüldüğünde, yıl içerisinde tüm bu

yaşamsal olayların gerçekleştirilebileceği uygun sıcaklık aralığına sahip dönemin periyodu daha kısadır.

Sonuç olarak dönemsel poikiloterm canlılarda yetersiz büyüme koşulları nedeniyle Bergmann Kuralı tersine işleyip, daha yüksek enlem ve irtifalarda daha küçük vücutlu bireylerin görülmesine neden olur. Benzeri şekilde çalışma konusu *P.similis*'in daha yüksek istasyonlardan toplanan örneklerinin de daha küçük olması beklenir.

Gerek bölgenin iklimsel yapısı gerekse *P.similis*'in morfolojik karakterlerinden çıkarılabilecek ilk önemli sonuç, Çizelge 4.3, Şekil 4.1 ve Şekil 4.3'ün birlikte incelenmesinden elde edilebilir. Bergmann Kuralı'nın dönemsel poikilotermilere uyarlanmasına ilişkin genellemeden kaynaklanan beklentinin aksine, Şekil 4.1 ve Şekil 4.3'te de görülebileceği gibi, daha yüksek irtifadan toplanan *P.similis* örnekleri daha büyük vücutludur. Her ne kadar tek başına yükseklik, vücut büyüklüğündeki artış eğiliminin sadece yaklaşık %28'ini açıklayabilmekteyse de, bu anlamlı pozitif korelasyon genel beklentinin dışındadır.

İklimsel parametrelere ait varyasyon katsayısı değerleri, 1000 m irtifadan sonra belirgin şekilde artmaktadır (Çizelge 4.3). Bu artış, *P.similis*'in etkin olarak kullandığı mikro habitat üzerinde etkili olan iklimsel parametrelerin gün içerisinde daha değişken olduğunu göstermektedir. Aşağıda bu durumun vücut büyüklüğündeki artış eğilimi ile olan ilişkisi tartışılmaktadır.

Önceden de belirtildiği gibi, dönemsel poikiloterm canlılardan beklenen daha yüksek irtifada daha küçük vücutlu bireyler genellemesi bu durumda tersine işler görünmektedir. Bu çalışmada olduğu gibi, aynı bölgede yayılım gösteren *Isophya rizeensis* bireylerinde de irtifa artışına paralel olarak vücut büyüklüğünde bir artış eğilimi belirlenmiş, dahası yine 1000 m yüksekliğin üzerindeki bireylerin aşağıdaki bireylerden belirgin farklılıklar gösterdikleri de tespit edilmiştir (Sağlam, 2004). Yani varyasyon katsayısı değerleri yanında hem *P.similis* hem de *I. rizeensis*'in morfolojik karakterlerindeki farklılaşmalar 1000 m sınırına işaret etmektedir.

Bu durumun hipotetik sebebi, büyük vücutlu hayvanların vücut sıcaklıklarını daha iyi koruyarak değişken sıcaklık aralıklarına daha iyi uyum sağlamaları olabilir. Bazı

poikilotherm canlı türlerinde sıcaklık düştükçe vücut büyüklüğü artmaktadır (James et al. 1997; Arnett & Gotelli 1999; Huey et al. 2000; Karen et al. 2000). Bu varyasyon genellikle büyüme sıcaklığı ve gelişme süresi arasındaki negatif ilişkiden kaynaklanır. Çünkü erginliğe ulaşma süresinin ortam sıcaklığının düşüklüğü nedeniyle gecikmesi, hayvanın vücut büyüklüğünü artıracak şekilde ergin öncesi dönemin uzamasına neden olmaktadır.

Bu tartışma ile bağlantılı ve benzeri düzeyde ilginç bir sonuç Çizelge 4.4’de verilen MANCOVA özet tablosu ve Şekil 4.7’nin incelenmesiyle elde edilebilir. MANCOVA sonuçları bu canlılarda allometri görüldüğünü açıkça ortaya koymaktadır. Yani vücut şekli, vücut büyüklüğü ile ilişkilidir ve birinde meydana gelen değişim diğeri de etkilemektedir. Thin-plate spline deformasyon gridleri üzerindeki yönelim vektörleri (Şekil 4.7), hayvanların vücut büyüklüğü arttıkça daha uzun ve ince olduklarını göstermektedir. Böyle bir vücut yapısının, daha soğuk bölgelerde yaşayan canlılar için vücut yüzey alanı / vücut hacmi oranını artırarak metabolik ısıнын korunmasında dezavantaj yaratacağı açıktır. Oysa bu veriler yukarıdaki tartışmada aktarılan “*metabolik ısıyı korumak için vücut büyüklüğünü artırmak*” tezi ile çelişir niteliktedir. Belki de gerçek neden sadece ergin öncesi dönemin uzamasına bağlı büyüme eğilimidir. Tüm bu veriler, evrimsel ekolojik araştırmalar için bu coğrafyanın ve sahip olduğu faunanın önemli bir potansiyel taşıdığına işaret etmektedir.

Sonuç olarak bu canlının; hem vücut şekli hem de vücut büyüklüğü analizleri sonucunda, (1) yükseklikle vücut büyüklüğü arasında bir paralellik olduğunu, (2) *P.similis*’de allometri görüldüğünü, (3) pronotumun yükseklik artışıyla incelerek uzadığını, (4) 1000 m’nin her iki tarafındaki erkeklerin vücut büyüklüğü bakımından anlamlı biçimde farklı olduğunu, ancak 745 m’deki bireylerin bu örüntünün dışında kaldığını ve (5) yine 1000 m’nin her iki tarafındaki dişilerin de vücut şekli ve vücut büyüklüğü bakımından anlamlı biçimde farklı olduğunu, ancak 475 ve 745 m’deki bireylerin bu örüntünün dışında kaldığını söyleyebiliriz.

5.2. Yükseklik, Mesafe, Kantitatif Morfolojik Karakterler ve Nötral Genetik Marker Arası İlişkiler

Bu çalışmada genetik marker olarak kullanılan mitokondriyal COI gen bölgesine ait DNA dizilerinin de, istasyonlar arasında farklılık göstermesi beklenir. Zira populasyonların yayılım alanı itibariyle alt populasyonlara bölünmeleri, seçilim baskısı ve alansal heterojenite olmadığında bile, bu alt populasyonların birbirlerinden farklılaşmalarıyla sonuçlanabilir (King, 1987). Çünkü bir populasyonu alt populasyonlara bölen temel kuvvet, gen havuzlarının birbirinden ayrılması yani bir diğer değişle üreme izolasyonudur (Hedrick, 2005). Gen havuzunun bu şekilde bölünmesinden sonra salt stokastik olaylar bile genetik farklılaşma için yeterli olur. Bunun temel nedeni, nötral değişikliklerin alt populasyonların gen havuzlarında birbirinden bağımsız olarak birikmesidir. Bu nedenle bu tip farklılaşmaların incelenmesi, ancak nötral bir markerdaki değişimlerin takip edilmesi ile mümkündür. Bu çalışmada kullanılan mtCOI gen bölgesi gibi bazı genetik markerların, seçilim baskısı açısından nötral olması nedeniyle, istasyonlar arası mesafe ve genetik sürüklenme gibi seçilim dışı bir süreç ile ilişkili bir farklılaşma örüntüsü göstermesi beklenir.

Bu çalışmada mtCOI gen bölgesinin nötral marker olarak kullanılabilmesinin temel nedeni, bu genin ürünü olan proteinin metabolik işlevinin bütün metazoa için korunmuş ve ortak olmasıdır. Bu nedenle bu gende meydana gelecek değişikliklerin, ancak metabolik işlev açısından uyumsal nitelikte olması ve canlının ekolojik ilişkileri itibariyle ciddi bir seçilim baskısı altında kalmaması beklenir. Yine de bu genin bile farklı bölgeleri üzerindeki varyasyon düzeyleri değişkendir. Örneğin Lunt ve arkadaşları (1996), mtCOI proteinindeki 522 amino asit pozisyonundan 125'inin 9 farklı böcek türü arasında varyasyon gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Dahası, 510-530 amino asitten oluşan bu proteinin amino asit içeriğindeki varyasyon düzeyi protein boyunca da farklılık göstermekte ve en yüksek varyasyon karboksi terminaline doğru olan bölümlerde gözlenmektedir (<http://www.dnabarcoding.ca/primer/COIProtein.html>). Bu tip molekül içi varyasyon düzeyi farklılıkları, yani proteinin farklı kısımlarındaki mutasyonel değişim hızı varyasyonları, proteinin işlevini farklı düzeylerde etkiler. Bu durum, doğrudan doğruya proteinin o bölgesinin, proteinin işlevselliği açısından taşıdığı öneme

bağlıdır. Sonuç olarak protein kodlayan dizilerin varyasyon biriktirme hızı açısından seçilecek uygun bölümleri üzerinden, seçim baskısından arı süreçlere ilişkin araştırmalar yürütülebilir.

Her ne kadar daha önce *P.similis* için kullanılmamış olsalar da, LCO1490 ve HCO2198 primerleri tüm hayvan gruplarında korunmuş hedef dizilere sahiptirler (Hebert et al. 2003). Bu nedenle hemen her hayvan grubunda kullanılabilmekte ve benzeri boylarda ürün vermektedirler. Yukarıda sayılan tüm bu sebeplerle mtCOI geninin verilen primerler arasında kalan bölümü, bu çalışmada nötral marker olarak kullanılmıştır.

Yapılan DNA dizi analizi (sekans analizi), hizalama (alignment), nükleotid çeşitlilik indeksi (Çizelge 4.7) ve nötralite testleri (Çizelge 4.8) sonucunda açığa çıkan ilk gerçek, bu bölgedeki canlıların tam da öngörüldüğü gibi genetik kompozisyonlarını, basit bir mutasyon-sürüklenme dengesi durumundan uzaklaştıracak bazı tarihsel olayları yaşadıklarını ortaya koyacak niteliktedir.

Bu durum yüksek nükleotid çeşitlilik indeksi verileri (θ_s ve θ_π) ve ortalama nükleotid farklılığı olan p değerinin yüksekliğinden çıkarılabilir. Örneğin p 'nin " 0.033 ± 0.004 " şeklindeki değeri, orta düzeyde bir mutasyon hızı esas alınarak değerlendirildiğinde -ki bu tam bir üreme izolasyonu durumunda her milyon yıl için %2 dizi farklılaşmasıdır (Hebert et al. 2003)- 1.65 milyon yıl gibi son derece uzun bir üreme izolasyonu zamanına işaret eder. Alanın coğrafi özelliklerinin zorlayıcı olduğu açık olsa da, birbirinden birkaç yüz metre yükseklik ve birkaç kilometre de mesafe farkıyla ayrılan alt populasyonların bu kadar uzun bir süre boyunca üreme izolasyonu etkisinde kaldıkları düşünülemez. Yüksek mutasyon hızı, genetik sürüklenmeye bağlı farklılaşmalar ve populasyon genişlemesi (yayılımı), bu durumu açıklayacak bazı durumlar olarak sayılabilir.

Nötralite testi sonuçları bu değerlendirmeyi doğrular nitelikte olup (Çizelge 4.7), istatistiksel olarak anlamlı durumdaki F_u 'nın F_s sınaması bu populasyonun yayılım halinde olduğuna veya en azından mevcut demografik ve genetik yapısının populasyon yayılımından etkilenmiş olduğuna işaret etmektedir. Aynı şekilde Tajima'nın D değeri bir populasyonun yayıldığına işaret edecek şekilde negatif bir

değer almışsa da, bu değer in istatistiksel olarak anlamlı olmaması değerlendirme dışı kalmasına neden olmaktadır.

Her ne kadar DNA dizileri arası p uzaklığı zaman içinde biriken mutasyonlar nedeniyle oluşsa da, p ile t (zaman) doğrusal ilişki içerisinde değildirler. Bunun temel nedeni, iki DNA dizisinin birbirinden farklılığı arttıkça gerçek mutasyon mesafesinin ölçülmesinin zorlaşmasıdır. Çünkü zamanla farklı mutasyon olaylarının aynı bölgede gerçekleşme ihtimali artar. Yani p büyüdükçe hesaba katılmayan geri ve paralel substitüsyonların sayısı artmaktadır. Bu nedenle nükleotid substitüsyonlarının gerçek sayısının, gözlenen sayısı üzerinden tahmin edilmesi gerekir (Nei and Kumar, 2000). Birbirinden farklı pek çok nükleotid substitüsyon modeli geliştirilmiştir (Jukes-Cantor, Kimura, Equal-input, Tamura, HKY, Tamura-Nei, modelleri vb). Bu modellerin kullanımı ile gerçeğe en yakın substitüsyon değeri tahminleri Tamura-Nei modelinden elde edilmekte ve en kötü tahminler ise doğrudan p değerinin kullanımından kaynaklanmaktadır. Ancak Nei ve Kumar'ın (2000) belirttiklerine göre p değerini 0,1'in altında olduğu durumlarda tüm mutasyon modelleri aynı sonucu vermektedir.

Bu tez çalışmasında elde edilen p değerinin de bu ölçek içerisinde kalacak biçimde küçük olması nedeniyle, analizlerde sadece p değeri kullanılmış ve başka bir mutasyon modeli üzerinden tahmin yapılmamıştır.

p değerinin kullanımı ile çizilmiş olan filogenetik ağaçların neredeyse tamamen aynı sonucu verecek şekilde birbirleri ile uyum içerisinde olmaları, çalışma alanındaki *P.similis* popülasyonunun yapısı hakkında önemli ipuçları vermektedir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10). Her şeyden önce 9 farklı istasyondan toplanan örneklerin 4 grup oluşturacak şekilde alt popülasyonlara bölündükleri açıkça görülmektedir. Bunlar 475 m, 745 m, 789-837-1050 m ve 1636-1713-1810-1930 m'deki istasyonlara denk düşen alt popülasyonlar olup, yükseklik sırasıyla Alt Pop 1, Alt Pop 2, Alt Pop 3 ve Alt Pop 4 olarak adlandırılmışlardır.

Bu alt popülasyonlar arası farklılaşmanın, büyük ölçüde mesafe ile ilişkili olduğu ilk bakışta görülebilmektedir. Ancak tıpkı morfolojik verilerde olduğu gibi 745 m istasyonu, (Alt Pop 2), genetik analizlerde de ayrı bir grup olarak davranmaktadır.

Bu populasyonun filogenetik ağaçlardaki konumu, ilk beklentinin aksine Alt Pop 1 ile Alt Pop 3 arasında değil de, Alt Pop 1, Alt Pop 3 ve Alt Pop 4'ün dışında kalacak şekildedir. Bu durum Çizelge 5.1'in incelenmesiyle elde edilebilecek verilerle birlikte ele alındığında, daha da ilginç bir hal alır. Örneğin Alt Pop 3'ün istasyonları arasındaki uzaklıklar 0,55 km'den 7,6 km'ye kadar değişmektedir. Ancak Alt Pop 2'yi oluşturan tek istasyonun Alt Pop 3'ü oluşturan istasyonlara olan mesafesi sırasıyla 2,01 km, 2,55 km ve 5,09 km'dir. Alt Pop 2, Alt Pop 3'ü oluşturan istasyonlara, bu istasyonların kendi aralarındaki mesafelerden daha uzak değil iken nasıl böyle farklılaşmıştır?

Çizelge 5.1 İstasyonlar arası uzaklıklar matrisi. Kullanılan uzaklık birimi km'dir. Farklı alt populasyonları oluşturan istasyon gruplarına ilişkin satırlar, inceleme kolaylığı sağlaması için gri ve beyaz tonlarda belirginleştirilmiştir.

		İst.1	İst.2	İst.3	İst.4	İst.5	İst.6	İst.7	İst.8	İst.9
Alt Pop.-1	İst.1 – 475 m	0								
Alt Pop.-2	İst.2 – 745 m	6,61	0							
	İst.3 – 789 m	5,29	2,01	0						
Alt Pop.-3	İst.4 – 837 m	5,14	2,55	0,55	0					
	İst.5 – 1050 m	11,21	5,09	7,08	7,6	0				
Alt Pop.-4	İst.6 – 1636 m	18,31	11,75	13,48	13,9	7,42	0			
	İst.7 – 1713 m	18,93	12,38	14,12	14,54	7,98	0,65	0		
	İst.8 – 1810 m	18,75	12,17	13,86	14,26	7,96	0,65	0,71	0	
	İst.9 – 1930 m	21,97	15,57	17,42	17,87	10,78	4,27	3,65	4,24	0

Bu sorunun muhtelif cevaplarından biri, hayvanın biyolojik ve ekolojik özelliklerinden ileri gelmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi hareket kabiliyeti düşük, kanatları körelmiş ve vejetasyonu mikrohabitat olarak aktif biçimde kullanan bir tür olan *P.similis*'in, vejetasyon ile sınırlı bir dağılım göstermesi beklenir. Gerçekten de bu bölgede hayvanın kullandığı çalı tipi vejetasyonun dağılımı heterojendir ve ancak ağaçların bulunmadığı açıklıklar alanlar ile sınırlıdır (Sağlam, 2004). Bu durum *P.similis* için ada tipi populasyon dağılımı modelini

ortaya çıkarabilir. Bu durumda birbirine yakın olsa da, uygun olmayan vejetasyon nedeniyle, izole olmuş ada populasyonların görülmesi söz konusu olabilir. Mevcut sonuçlar, hem bu değerlendirmelerle hem de analizler öncesi beklentilerle uyumludur.

Benzeri şekilde hem AMOVA sonuçları hem de F_{st} değerleri, alt populasyonlar arasında yüksek düzeyde bir izolasyona işaret etmektedir. Bütün örneklerde gözlenen toplam genetik varyasyonun %91.35'i alt populasyonlar arası varyasyondan kaynaklanmaktadır (Çizelge 4.9). F_{st} değerleri hem her bir alt populasyon için son derece yüksek (%90 civarında) hem de alt populasyonlar arasında karşılaştırmalı olarak bakıldığında, benzeri boyutta yüksek ve anlamlı bir farklılığa işaret etmektedir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.10).

Sonuç olarak tüm bunlar düşük bir gen akışı düzeyine işaret eder. Gerçekten de populasyon büyüklüğü başına göç oranını veren Çizelge 4.11'deki "M" değerleri matrisi bu öngörüğü doğrulamaktadır.

Yine Mantel Testi kullanılarak var olan genetik farklılıkların uzaklıkla korelasyon gösterip göstermediği analiz edildiğinde de yukarıdaki sonuçlara benzer bir durumla karşılaşmıştır. Uzaklık matrisi ile istasyonlar arası F_{st} matrisi kullanılarak yapılan Mantel Testi'nin sonucu anlamlı ve pozitif çıkmış olup, bu durum "uzaklığa bağlı genetik izolasyon" değerlendirmesini kanıtlamaktadır (Çizelge 5.1). İstasyonlara ait F_{st} değerlerinin 2,5 km mesafede neredeyse "1" olacak şekilde arttığı, yani bu hayvanlar için genetik izolasyon örüntüsünden türetilebilecek dispersal mesafesinin 2 ila 3 km arasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).

Vücut büyüklüğü ve vücut şekli ile genetik farklılaşma arasında yapılan Mantel Testleri de beklediği gibi pozitif yönde anlamlı bir sonuç vermiştir. Ancak bu durum gözlenen morfolojik karakterlere ilişkin değişimin, sadece uzaklığa bağlı genetik izolasyondan kaynaklı nötral bir değişiklik olduğunu ispatlamaz. Çünkü genetik bir farklılaşma gösteren alt populasyonlar arasında, bu genetik farklılaşma ile birlikte gelişebilecek ve nötral olmayan süreçler nedeniyle ortaya çıkmış morfolojik farklılıklar da olabilir. Bu durumda genetik mesafe ile bu morfolojik mesafeler arasındaki ilişkinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi gerekir.

Bu amaçla kısmi Mantel Testi uygulanmıştır. Bu testte F_{st} matrisi ile istasyonlar arası mesafe, vücut büyüklüğü ve şekline ilişkin farklılık matrisleri birlikte değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda genetik uzaklıkların coğrafi mesafe ile anlamlı biçimde ilişkili olduğu, ancak vücut şekli ve büyüklüğüne ilişkin farklılık matrislerinin benzeri bir korelasyon göstermediği bulunmuştur. Yani populasyonlar arası genetik farklılaşma ile vücut şekli ve vücut büyüklüğü farklılaşmaları arasında uzaklıktan bağımsız bir ilişki yoktur. Tüm bunlar morfolojik karakterler gibi nötral olmayan markerların, nötral marker ile korelasyon göstermeyen bir değişiklik örüntüsü sergilediğini ortaya koymaktadır. Bu durum bizi canlıların nötral olaylara ek olarak tarihsel sebepler nedeniyle de farklılaşmış oldukları gerçeğine götürür.

Varılan bu sonuç, istasyonların neden alt populasyonlar şeklinde birbirlerinden farklılaşmış oldukları sorusuna yönelik ikinci bir cevabı da oluşturmaktadır. Görülen odur ki her bir alt populasyon, izolasyonu takiben, nötral olmayan bir veya birkaç sürecin etkisi altında yeniden şekillenmiştir. Bu süreçler seçimden, kurucu etkisine bağlı genetik sürüklenmeye, populasyon yayılımından, düşük efektif populasyon büyüklüğüne bağlı genetik kararsızlıklara varıncaya dek geniş bir spektrum içerisinde gerçekleşmiş olabilir. Ancak elimizde bu konuda yorum yapmaya ve süreçte etkin olan mekanizmanın ne olduğunu belirlemeye yönelik yeterli veri bulunmamaktadır.

5.3. Genel Değerlendirmeler ve Sonuç

Bu çalışmada, *P. similis*'in farklı yerel populasyonları arasında, canlıya ilişkin daha önceki bilgilerimiz ışığında öngörüldüğü gibi, morfolojik ve genetik farklılıkların olduğu ve bu farklılıkların canlının ekolojik ilişkileri ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Elbette bu sonucun elde edilmesindeki temel faktör, uygun bir model organizmanın seçilmiş olmasıdır. Bu sayede, beklentilerimize uygun sonuçlar elde edilmiştir. Ancak beklentilerden farklı olabilecek sonuçların çıkması durumunda bile, bu beklentilere olumsuz yanıt alınmasına yol açan süreçlerin analizi yapılarak yine ilginç evrimsel ilişkilere ışık tutulabilmesi mümkün olacaktır.

Bu çalışmada her ne kadar beklentiler ile uyumlu sonuçlar alınmış olsa da, belirli bir coğrafyanın birbirini takip eden çalışmalarla sistematik olarak incelemesine dayalı yaklaşımlarla, o bölgenin doğal süreçlerini aydınlatmadaki gücünü ortaya koyan beklenmedik sonuçlara da ulaşılmıştır. Örneğin, 1000 m yükseklik sınırının iki tarafında farklılaşan populasyon yapılarına ilişkin bilgi, belki de bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuçtur. Fakat bu sonuç, ancak daha önceki çalışmalarla göstermiş olduğu paralellik sayesinde anlam kazanmıştır.

Geleceğe yönelik olarak, bu bölgenin ve özellikle model organizmanın efektif populasyon büyüklüğünü ortaya koyabilmek amacıyla daha detaylı incelenmesi ve sadece ykseklіęe bağlı olmayıp aynı zamanda alandaki genel yayılış itibariyle de tasarlanacak çalışmalarla incelenmesine devam edilmesinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abrams, P., Leimar, O., Nylin, S. and Wiklund, C., 1996. The effect of flexible growth rates on optimal sizes and development times in a seasonal environment, *Am. Nat.* 147: 381–395.
- Ando, Y. 1991. Photoperiodic control of adult diapause in a subtropical katydid, *Euconocephalus pallidus* Redtenbacher (Orthoptera: Tettigoniidae). *Appl. Ent. Zool.* 26:347-355.
- Anten, N.P.R., Miyazawa, K., Hikosaka, K., Nagashima, H. and Hirose, T. 1998. Leaf nitrogen distribution in relation to leaf age and photon flux density in dominant and subordinate plants in dense stands of a dicotyledonous herb. *Oecologia* 113, 314-324.
- Aris-Brosou, S., and Excoffier, L., 1996 The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. *Mol. Biol. Evol.* 13: 494-504.
- Arnett, A.E., and Gotelli, N.J. 1999. Bergmann's rule in the ant lion *Myrmeleon immaculatus* DeGeer (Neuroptera: Myrmeleontidae): geographic variation in body size and heterozygosity. *Journal of Biogeography* 26, 275–283.
- Atalay, İ., 1998. Paleoenvironmental conditions of the Late Pleistocene and Early Holocene in Anatolia, Turkey. In: Alsharhan Glennie and Whittle (eds.), *Outernary Deserts and Cilmatic Changes*, Balkema. Rotterdam: 227-237.
- Atkinson, D. and Begon, M., 1987b. Ecological correlations and heritability of reproductive variation in two co-occurring grasshopper species. *Ecol. Entomol.* 12: 129-138.
- Atkinson, D., 1994. Temperature and organism size. *Adv. Ecol. Res.* 25: 1–58.
- Atkinson, D., and Begon, M., 1987a. Reproductive variation and adult size in two co-occurring grasshopper species. *Ecol. Entomol.* 12: 119-127.
- Avery, O.T., MacLeod, C.M., and McCarty, M. 1944. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types: Induction of Transformation by a Desoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type III. *Journal of Experimental Medicine* 79, 2 (February 1944): 137-158.
- Barcoding Life: Towards a DNA-Based Identification System for Animals <http://www.dnabarcoding.ca/primer/COIProtein.html>
- Barkman, J.J. and Stoutjesdijk, Ph., 1987. *Mikroklimaat, vegetatie en fauna*. PUDOC, Wageningen.
- Beebee, T. and Rowe, G., 2005. *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford University Press, NY, 346p.

- Bei-Bienko, G. Y. 1965 Fauna of the U.S.S.R.: Orthoptera, vol.2, no. 2; Tettigonioidae; Phaneropterinae. Jerusalem: Israel programme for scientific translations.
- Belovsky, G.E., Slade, J.B. and Stockhoff, B.A., 1990. Susceptibility to predation for different grasshoppers: an experimental study. *Ecology* 71:624-634.
- Bernays, E.A. and Bright, K.L., 1993. Mechanisms of dietary mixing in grasshoppers: a review, *Comparative Biochemistry and Physiology A* **104** (1993), pp. 125–131.
- Blanckenhorn, W.U., 1997. Effects of temperature on growth, development and diapause in the yellow dung fly – against all the rules? *Oecologia* 111: 318–324.
- Bock, C.E., Bock, J.H. and Grant, M.C., 1992. Effects of bird predation on grasshopper densities in an Arizona grassland. *Ecology* 73:1706-1717.
- Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology. Cambridge Univ. Press, New York.
- Bucher, P. 1990. "Weight Matrix Descriptions of 4 Eukaryotic RNA Polymerase-II Promoter Elements Derived from 502 Unrelated Promoter Sequences." *Journal of Molecular Biology* **212**(4): 563-578.
- C.R.Darwin ve A.R.Wallace (Linnean Society Meeting, 01. 07. 1858).
- Catalogue of Life: 2007 Annual Checklist on the classification of Poecilimon <http://www.catalogueoflife.org/search.php>
- Cavalli-Sforza, L.L. and Edwards, A.W.F., 1967. Phylogenetic Analysis: Models and Estimation Procedures. *Evolution*, Vol. 21, No. 3 (Sep., 1967), pp. 550-570.
- Chapman, R. F., 1990. food selection. In R.F. Chapman and A. Joern (eds) *Biology of Grasshoppers*. John Wiley & Sons, New York, pp. 39-72.
- Chappell, M.A., and Whitman, D.W., 1990. Grasshopper thermoregulation. In: Chapman RF, Joern A, editors. *Biology of Grasshoppers*, 43–172. Wiley and Sons.
- Cockerham, C.C. 1969. "Variance of Gene Frequencies." *Evolution* **23**(1): 72-&.
- Cockerham, C.C. 1973. "Analyses of Gene Frequencies." *Genetics* **74**(4): 679-700.
- Data Portal of the Global Biodiversity Information Facility (GBIF) <http://data.gbif.org/welcome.htm>
<http://data.gbif.org/species/browse/taxon/13189070>
<http://data.gbif.org/species/13189070>

- Dayhoff, M.O. 1978 *Atlas of Protein Sequence and Structure. Vol. 5, Suppl. 3.* National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, MD.
- Del Castillo, R. C. and Nunez-Farfan, J., 1999. "Sexual selection on maturation time and body size in *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae): Correlated response to selection." *Evolution* **53**(1): 209-215.
- Del Castillo, R. C., Farfan, J. N. and Cano-Santana, Z., 1999. The role of body size in mating success of *Sphenarium purpurascens* in Central Mexico. *Ecol. Entomol.*24: 146-155.
- Demirsoy, A. 1999 Yaşamın Temel Kuralları: Cilt-II / Kısım-II, Entomoloji. Meteksan A.Ş. Yayını, Ankara, 941s.
- Dingle, H., Mousseau, T. A. and Scott, S. M., 1990. Altitudinal variation in life cycle syndromes of California populations of the grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (F.). *Oecologia* 84: 199-206.
- Dobzhansky, T., Ayala, F.J., Stebbins, G.L., Valentine, J.W., 1977. *Evolution.* W. H. Freeman and Company, San Francisco, 572p.
- Dryden, I.L. and Mardia, K.V. 1998. *Statistical Shape Analysis.* Wiley, ISBN-13: 978-0471958161, 376p.
- Duman, İ., 2003. Sözlü görüşme.
- Endler, J.A 1986. *Natural Selection in the Wild.* Princeton Univ. Press, Princeton, NJ
- Erol, O. 1993. Genel klimatoloji. 4. Baskı, Gazi Büro Kitabevi, 399 s., Ankara
- Excoffier, L., Estoup A, Cornuet J-M. 2005 Bayesian Analysis of an Admixture Model With Mutations and Arbitrarily Linked Markers. *Genetics* 169:1727-1738
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 2005:1 47-50
- Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992 Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Field, C. (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**, 341-347.

- Flook, P.K., Klee, S., and Rowell, C.H.F., 1999. Combined molecular phylogenetic analysis of the Orthoptera (Arthropoda, Insecta) and implications for their higher systematics, *Syst. Biol.* **48** (1999), pp. 233–253.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294-297.
- Forrest, T.G., 1987. Insect size tactics and development strategies. *Oecologia* 73: 178–184.
- Freeman, S. ve Herron, J.C., 2001. Evrimsel Analiz, (Çeviri Editörleri: B. Çıplak, H.H. Başbüyük, S. Karaytuğ, İ. Gündüz), Palme Yayıncılık, Ankara 2002, 708s.
- Futuyma, D. J., 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts U.S.A. pp. 763.
- Gascuel, O., Bryant, D. and Denis, F. 2001, Strengths and Limitations of the Minimum-Evolution Principle. *Systematic Biology* 50(5), 621-627.
- Gotoh, O. 1982. An improved algorithm for matching biological sequences. *J. Mol. Biol.* 162, 705-708.
- Gu, X. and Li, W-H. 1995. The size distribution of insertions and deletions in human and rodent pseudogenes suggests the logarithmic gap penalty of sequence alignment. *J. Mol. Evol.* 40: 464-473.
- Guido, M. and Gianelle, D., 2001. Distribution patterns of four Orthoptera species in relation to microhabitat heterogeneity in an ecotonal area. *Acta Oecologica* 22: 175-185.
- Güner, S., Vural, M. ve Sorkun, K., 1987. Rize florası, vejetasyonu ve yöre ballarının polen analizi. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu Matematik, Fiziki ve Biyolojik Bilimler Araştırma Grubu. Proje No: TBAG-650.
- Gwynne, D.T. and Snedden, A.W., 1995. "Paternity and female remating in *Requena verticalis* (Orthoptera: Tettigoniidae)." *Ecological Entomology* **20**(2).
- Gwynne, D.T., 2001, *Katydid and Bush-Crickets: Reproductive Behavior and Evolution of the Tettigoniidae* (Cornell Series in Arthropod Biology), Comstock Publishing, ISBN-13: 978-0801436550, 317p.
- Hall, B.,G., 2005, *Phlogenetic trees made easy, a how-to manuel*. 2nd edition, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 221p.
- Harrison, J.F. and Fewell, J.H., 1995. Thermal effects on feeding behavior and net energy intake in a grasshopper experiencing large diurnal fluctuations in body temperature. *Physiological Zoology*. 68:453-473.

- Hartl, D.L. and Clark, A.G., 1997. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. 2003, Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B (2003) 270, 313–321.
- Hedrick, P.W., 2005, Genetics of Populations. Jones and Barlett Publishers, Sudbury, Massachusetts, 737p.
- Heller, K.-G., 1995. Acoustic signaling in paleotropical bush-cricket (Orthoptera: Tettigoniidae, Pseudophyllidae): Does predation pressure by eavesdropping enemies differ in the paleotropics and neotropics? J. Zool. 237: 469-485.
- Higgins, L., 2000. The interaction of season length and development time alters size at maturity. Oecologia 122: 51–59.
- Hirose, T., Werger, M.J.A. and van Rheeën, J.W.A. (1989) Canopy development and leaf nitrogen distribution in a stand of *Carex acutiformis*. *Ecology* **70**, 1610-1618.
- <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id106>
- Huey R. B. and Hertz, P. E., 1984. Is a jack-of-all temperatures a master of none? Evolution 38: 441-444.
- Huey, R. B. and Kingsolver, J. G., 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. Trends Ecol. Evol. 4: 131–135.
- Huey, R. B., G. W. Gilchrist, M. L. Carlson, D. Berrigan, and L. Serra. 2000. Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. Science 287:308-309.
- Ingrish, S., 1984. The influence of environmental factors on dormancy and duration of egg development in *Metrioptera roeseli* (Orthoptera: Tettigoniidae). Oecologia 61: 254-258.
- Jago, N.D. 1997. Crop-centred integrated pest management in grasshoppers and other Orthoptera. In The Bionomics of Grasshoppers, Katydid and their Kin, ed. by S. K. Gangwere, M. C. Mulalirangen and M. Muralirangen, Oxford, CAB International. Pp. 443-480.
- James, A.C., Azevedo, R.B.R., Partridge, L. 1997. Genetic and environmental responses to temperature of *Drosophila melanogaster* from a latitudinal cline. Genetics 146, 881-890.
- Joern, A. 1982. Distribution, densities, and relative abundances of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) in a Nebraska sandhills prairie. Prairie Naturalist 14:37-45.

Kaçkar Dağları MP Analitik Etüd Raporu, 2006

Karan D, Dubey S, Moreteau B, Parkash R, David JR (2000). Geographical Clines for Quantitative Traits in Natural Populations of a Tropical Drosophilid: *Zaprionus Indianus*. *Genetica* 108, 91-100.

Kevan, D. K. M., 1989. Grigs that dig and grasshoppers that grovel. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 26: 267-289.

King, P. S. 1987. Macro- and microgeographic structure of a spatially subdivided beetle species in nature. *Evolution* 41: 401-416.

King, R. B., 1992. Lake Erie water snakes revisited: morph- and age-specific variation in relative crypsis. *Evol. Ecol.* 6: 115–124.

Klug, W.S. ve Cummings, M.R. 2000. Genetik Kavramlar, (Çeviri Editörü: Cihan Öner), Palme Yayıncılık, Ankara 2002, 816p.

Koçman, A. 1993, Türkiye İklimi. Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Yayınları No: 72, İzmir.

Li, Wen-Hsiung, 1997. Molecular evolution. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 487p.

Lima, S.L. and Dill, L. M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Can. J. Zool.* 68: 619-640.

Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Zipursky, L. and Darnell, J., 2003, Molecular Cell Biology, W. H. Freeman, ISBN-13: 978-0716743668, 973p.

Lowe, A., Harris, S., and Ashton, P., 2006, Ecological Genetics: Design, Analysis and Application. Blackwell Publishing, Malden MA, USA, 326p.

Lunt, D.H., Zhang, D.-X., Szymura, J.M., Hewlitt, O.M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology* 5 (3), 153–165

Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P. (2003) "Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics" *Trends Ecol. Evol.* 18: 189-197

Mantel, N., 1967, The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.

Maxam, A.M. and Gilbert, W., 1977, A new method for sequencing DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74(2): 560-4, 1977 Feb, PMID:265521

Mayr, E. 1963, Animal Species and Evolution. London. Harvard University, 797 p.

- Mbata, K. J., 1992. The biology and host plant specificity of *Acanthoplus speiseri* Brancsik (Orthoptera: Tettigoniidae, Hetrodinae), a pest of grain crops. J. Entomol. Soc. S. Afr. 55: 99-106.
- McNamara, J.M., and Houston, A.I., 1994. The effect of a change in foraging options on intake rate and predation rate. American Naturalist 144:978-1000.
- Monk, K. A., 1985. Effect of habitat on the life history strategies of some British grasshoppers. J. Anim. Ecol. 54: 163-177.
- Monteiro, L.R., Lessa, L.G. and Abe, A.S., 1999. Ontogenetic variation in skull shape of *Thrichomys apereoides* (Echimyidae: Rodentia). J. Mammal. 80:120-111.
- Morris, G.K., 1998. Songs of Arthropods, pp. 508-517. In Knobil, E. & Neill, J.D. (Eds), Encyclopedia of Reproduction, Academic Press.
- Mullis, K.B. and Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro. via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods Enzymot. 155: 335-350.
- Muto, A. and Osawa, S., 1987. The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacterial evolution Proc Natl Acad Sci USA **84**:166-169
- Nei, M. 1975. Molecular Population Genetics and Evolution. North-Holland, Amsterdam, The Netherlands.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.
- Nei, M., and Kumar, S., 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, NY, 333p.
- Nickle, D. A. and Castner, J. L., 1995. strategies utilized by katydids (Orthoptera: Tettigoniidae) against diurnal predators in rainforests of northeast Peru. J. Orthop. Res. 4: 75-88.
- Nunney, L., and McKean, K.A., 2001. Increased sexual activity reduces male immunocompetence in *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. 98:7904-7909.
- Osawa, S., 1995. Evolution of the Genetic Code. Oxford Universtiy Press, Oxford, U.K.
- Otte, D., 1997. Orthoptera species file. 7. Tettigoniidae. Academy of Natural Science, Philadelphia.
- Page, R., D., M., ve Holmes, E., C., 2000. Molecular Evolution – A Phylogenetic Approach. Blackwell Science, Oxford, 346p.

- Partridge, L., Barrier, B., Barton, N. H., Fowler, K. and French, V., 1995. Rapid evolution of adult life-history traits in *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution* 49: 538–544.
- Peckarsky, B.L. and McIntosh, A.R., 1998. Fitness and community consequences of avoiding multiple predators. *Oecologia* 113:565- 576.
- Pitt, W.C. 1999. Effects of multiple vertebrate predators on grasshopper habitat selection: trade-offs due to predation risk, foraging and thermoregulation. *Evolutionary Ecology* 13:499-515.
- Quinn M. A., Kepner R. L., Walgenbach D. D., Bohls R. A., Pooler P. D., Foster R. N., Reuter K. C., Swain J. L. 1991. Habitat characteristics and grasshopper community dynamics on mixed-grass rangeland. *Canadian Entomologist* 13: 89-105.
- Ratnasingham, S. ve Hebert, P.D.N., 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*. **7(3)** 355-364
- Reynolds, J., Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, **105**, 767–779.
- Reznick, D. and Travis, J., 2001. *Evolutionary Ecology: Concepts and Case Studies*. Fox, C.W., Roff, D.A. and Fairbairn, D.J. (eds.). Oxford University Press, USA. ISBN-13: 978-0195131550. 448p.
- Ritchie, M.E., and Tilman, D., 1992. Interspecific competition among grasshoppers and their effect on plant abundance in experimental field environments. *Oecologia* 89:524-532.
- Roff, D. A., 2000. Trade-offs between growth and reproduction: an analysis of the quantitative genetic evidence. *J. Evol. Biol.* 13: 434-445.
- Roff, D. A., 2001. *Life History Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts U.S.A, pp. 527.
- Rohlf, F.J. and Slice, D., 1990. Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks. *Systematic Zoology*, 39(1):40-59
- Rohlf, F.J., 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. Pp. 131-159 in Marcus et al. (eds.) *Contributions to morphometrics*. Musuo Nacional de Ciencias Naturales.
- Rohlf, F.J., 1999. Shape Statistics: Procrustes Superimpositions and Tangent Spaces. *Journal of Classification*, 16:197-223.
- Rohlf, F.J., 2003. Bias and error in estimates of mean shape in morphometrics. *Journal of Human Evolution*, 44:665-683.

- Rzhetsky, A. & Nei, M., 1992, A simple method for estimating and testing minimum – evolution trees *Mol. Biol. Evol.* 9(5):945-967. 1992.
- Sağlam, İ.K., 2004, *Isophya rizeensis* Sevgili, 2004 (orthoptera: tettigonidae)'de yüksekliğe bağlı ekolojik yayılım ve renk polimorfizmi üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Saitou, N. & Nei, M., 1987. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees'. *Mol. Biol. Evol.* 4(4):406-425. 1987
- Salman, S., 1978. Ağrı Kars ve Artvin illerinin Orthoptera (Insecta) faunası üzerine taksonomik araştırmalar. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Basımevi-Erzurum, 184s.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977 December; 74(12): 5463–5467.
- Schmitz, O.J. 1997. Press perturbations and predictability of ecological interactions in a food web. *Ecology* 78:55-69.
- Sibly, R. and Monk, K., 1987. A theory of grasshopper life cycles. *Oikos* 48: 186-194.
- Şişli, N. 1999, Çevre Bilim; Ekoloji. Gazi Kitabevi, Ankara 1999, 492p.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139: 457-462.
- Slatkin, M., 1985, Rare Alleles as Indicators of Gene Flow. *Evolution*, Vol. 39, No. 1 (Jan., 1985), pp. 53-65.
- Slatkin, M., 1991, Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genet. Res.* 58: 167-175.
- Slatkin, M., 1994, A Measure of Population Subdivision Based on Microsatellite Allele Frequencies. *Genetics* 139 4.57-462 (January, 1995)
- Sokal, R. R., and Rohlf, F. J., 1995, *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 3rd edn. W. H. Freeman and Company, New York, 887p.
- Sokolovska, N., Rowe, L. and Johansson, F., 2000. Fitness and body size in mature odonates. *Ecol. Entomol.* 25: 239–248.
- Sparkes, T. C., 1996. Effects of predation risk on population variation in adult size in a stream-dwelling isopod. *Oecologia* 106: 85–92.
- Stearns, S. C., 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87: 476-486.

- Subramanian, S. and Mohankumar, S., 2006, Genetic variability of the bollworm, *Helicoverpa armigera*, occurring on different host plants. *Journal of Insect Science*: Vol. 2006 | Article 26 pages 1-8
- Sueoka, N., 1962 On the genetic basis of variation and heterogeneity of DNA base composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **48**: 582–592.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123: 585-595.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105:437-460.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S., 2007, MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, August 2007; 24: 1596 - 1599.
- Telfer, G. T. and Hassall, M., 1999. Ecotypic differentiation in the grasshopper *Chorthippus brunneus*: life history varies in relation to climate. *Oecologia* 121: 245-254.
- Thorens, P., 1991. Development and morphology of *Chorthippus mollis* (Charp.) (Orthoptera: Acrididae). *Bull. SocEntomol. Suisse* 64: 9-25.
- van Wingerden, W.K.R.E., Musters, J.M.C., and Maaskamp, F.I.M., 1991. The influence of temperature on the duration of egg development in West European grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Oecologia* 87: 417–423.
- Watson, J.D. and Crick, F.H.C. 1953. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid." *Nature* 171: 737-738.
- Watterson, G.A., 1975, On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theor. Pop. Biol.* **7**: 256-276.
- Weir, B.S. and Cockerham, C.C., 1984, Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, Vol. 38, No. 6 (Nov., 1984), pp. 1358-1370.
- Werger, M.J.A. and Hirose, T. (1991) Leaf nitrogen distribution and whole canopy photosynthetic carbon gain in herbaceous stands. *Vegetatio* **97**, 11-20.
- Willet, S.J. & M. Hassall, 1998. Life-history responses of British grasshoppers (Orthoptera. Acrididae) to temperature change. *Func. Ecol.* 12: 232-241.
- Wright, S., 1951 The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- Wright, S., 1965, The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution*, Vol. 19, No. 3 (Sep., 1965), pp. 395-420

Zuckerkandl, E., and Pauling, L., 1962. Molecular disease, evolution, and genic heterogeneity. In M. Kasha and B. Pullman (eds.), *Horizons in Biochemistry*, Academic Press, New York, 189-225.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şafak MERT

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 1979

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1990-1997 Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi

Lisans 1997-2003 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yabancı Dil: İNGİLİZCE (ÜDS; 86,250 [EKİM 2007])

İş Tecrübesi:

2005-2006 Özel Odtülüler Dershanesi Biyoloji Öğretmeni

2007 Özel Kilit Anahtar Dershanesi (Tatkan Dershanesi) Biyoloji Öğretmeni

2007-Devam edi. Özel Ertuğrul Global Dershanesi Biyoloji Öğretmeni