

Bazı Simuliidae (Diptera) Türlerinin Sitotaksonomik Özelliklerinin İncelenmesi

Ayfer Tuzla

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyoloji Anabilim Dalı

Kasım 2008

Investigations on Cytotaxonomic Features of Some Simuliidae (Diptera) Species

Ayfer Tuzla

**MASTER OF SCIENCE THESIS**

Department of Biology

November 2008

Bazı Simuliidae (Diptera) Türlerinin Sitotaksonomik Özelliklerinin İncelenmesi

Ayfer Tuzla

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Zooloji Bilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ümit ŞİRİN

Kasım 2008

## ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ayfer Tuzla'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Bazı Simuliidae (Diptera) Türlerinin Sitotaksonomik Özelliklerinin İncelenmesi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

**Danışman** : Yrd. Doç. Dr. Ümit Şirin

**İkinci Danışman** : -

### **Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:**

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Ümit Şirin

**Üye** : Prof. Dr. Yalçın Şahin

**Üye** : Prof. Dr. Yavuz Kılıç

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Mustafa Tanatmış

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Hakan Çalışkan

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Bu çalışmada Eskişehir ve çevresinde yayılış gösteren 6 farklı Simuliidae (Diptera) türünün larvaların da tükürük bezi politen kromozomları araştırılmış ve farklı zoocoğrafik bölgelerde yaşayan populasyonların kromozomları ile karşılaştırılmıştır.

Çalışılan türlerden *Simulium velutinum* (Santos Abreau, 1922), *Simulium variegatum* Meigen, 1818 ve *Simulium bezzi* (Corti, 1914)'nin politen kromozom yapılarının diğer zoocoğrafik bölgelerde yayılış gösteren populasyonlarla yapısal ve sayısal olarak benzerlik gösterdiği saptanmıştır. *Prosimulium rufipes* Meigen, 1830, *Simulium caucasicum* Rubtsov, 1940 ve *Simulium costatum* Friederichs, 1920'un ise kromozomal özelliklerinde sayısal bir fark olmadığı ancak yapısal olarak inversiyonlar olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Simuliidae, Diptera, Sitotaksonomi, Politen koromozom, Fauna. Türkiye

## SUMMARY

In this study, Salivary gland polytene chromosomes of six different Simuliidae (Diptera) species in Eskişehir city and around were researched and compared with those of other populations in different zoogeographic areas.

From examined species, polytene chromosome structures of *Simulium velutinum* (Santos Abreau, 1922), *Simulium variegatum* Meigen, 1818 and *Simulium bezzi* (Corti, 1914) are same numerically and structurally with those of the other populations living in other regions. However, it was observed that chromosomal features of the others, *Prosimulium rufipes* Meigen, 1830, *Simulium caucasicum* Rubtsov, 1940 and *Simulium costatum* Friederichs, 1920, were not different from other population numerically but there were structural inversions in chromosomes of our species.

**Keywords:** Simuliidae, Diptera, Cytotaxonomy, Polytene chromosome, Fauna.  
Turkey

## TEŞEKKÜR

Tez konusunu bana veren ve çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan, danışmanlığımı üstlenerek, beni yönlendiren ve her türlü olanağı sağlayan değerli hocam ve danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ümit Şirin'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında desteğini gördüğüm, hem yüksek lisans hem de daha sonraki hayatımızda faydalanabileceğimiz bilgiler ve tecrübeler edindirdiği için değerli hocam Prof. Dr. Yalçın Şahin'e; tezimde bana yol gösteren ve yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr Peter Adler'e; tez çalışmalarım sırasında makale desteğini gördüğüm sevgili arkadaşım Ferhat Altunsoy'a; arazi çalışmalarımda bana yardımcı olan Mehmet İpek'e ve Ailesine; maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim hocam Yrd. Doç. Dr. Hakan Çalışkan ve hocam Dr. Figen Çalışkan'a, tez arkadaşlarıma ve sevgili annem Mesure Kangeldi' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayfer TUZLA

Kasım 2008

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Sistematikteki Yeri.....	8
2.2. Morfolojisi.....	9
2.3.Yaşam Döngüleri.....	15
2.4.Simuliidae Larvası Anatomisi.....	16
2.4.1 Tükürük bezinin yapısı ve işlevi.....	17
2.5. Simuliidae Larvası Sitolojisi.....	18
2.5.1 Tükürük Bezi Politen Kromozomları Ve Sitolojik Önemi.....	18
2.5.2. Politen Kromozom Çalışmalarının Yararları.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Örneklerin Araziden Toplanması.....	24
3.2. Örneklerin Morfotaksonomik Olarak İncelenmesi.....	24
3.3. Politen Kromozomlarının Hazırlanması.....	26
3.3.1.Örneklerin Fiksasyonu.....	26
3.3.2.Diseksiyonu.....	26
3.3.3.Hidroliz.....	26
3.3.4.Boyama.....	26
3.3.5.Ezme-Yayma Yöntemi.....	27
3.4. Politen Kromozomların Analizi.....	27
3.5. Preparatların Saklanması.....	27
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	42
EK-1 Solüsyonların Hazırlanması.....	48



## ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Larva Morfolojisi.....	11
Şekil 2: Pupanın Genel Görünüşü.....	13
Şekil 3: Simuliidae Ergin.....	14
Şekil 4: Simuliidae Yaşam Döngüsü.....	16
Şekil 5: Simuliidae Larvası Anatomisi ve Tükürük Bezinin Yapısı.....	17
Şekil 6: <i>Simulium sp.</i> Politen Kromozom Kolları ve Chromocenter'ın Gösterimi.....	19
Şekil 7: <i>Simulium sp.</i> Kromozom Kolları ve Üzerindeki Yapıların Gösterimi .....	22
Tablo 1: Çalışılan Simuliidae Türleri, Toplandıkları Yer ve Tarihler.....	25
Şekil 8: <i>Prosimulium rufipes</i> Politen Kromozomu.....	30
Şekil 9: <i>Simulium velutinum</i> Politen Kromozomu.....	31
Şekil 10: <i>Simulium variegatum</i> Politen Kromozomu.....	32
Şekil 11: <i>Simulium bezzii</i> Politen Kromozomu .....	33
Şekil 12: <i>Simulium caucasicum</i> Politen Kromozomu (Mollaoğlu Deresi).....	34
Şekil 13: <i>Simulium caucasicum</i> Politen Kromozomu (Kızılcıören Çeşmesi)..	35
Şekil 14: <i>Simulium costatum</i> Politen Kromozomu.....	36
Şekil 15: <i>Simulium costatum</i> B kromozomu.....	36

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Simuliidae, Diptera (sinekler) takımının Nematocera (sivrisinekler) alt takımında yer alan ve larvaları akıntılı sularda yaşayan bir familyasıdır (Currie and Adler, 2007). Familyanın en fazla tür sayısına sahip olan ve dünyada geniş yayılış gösteren cinsi *Simulium* cinsidir. Ailenin adı da bu cinsten gelmektedir. “*Simulium*” kelimesi Latince “küçük kalkık burunlu” anlamına gelir (Crosskey, 1990). Yabancı dillerde yapılan araştırmalarda bu sinekler için İngilizce “Blackflies” ya da “Buffalo-gnats”; Almanca “Kriebelmücken”; Rusça “Moshki” gibi isimlerin kullanıldığı görülmektedir (Şirin 2001). Dünyada yaygın olarak tercih edilen “blackfly” teriminin Türkçe karşılığı olan “karasinek” terimi bir diğer tür *Musca domestica* için kullanıldığından Simuliidler için Türkçe karşılık olarak “siyah sivrisinekler” ismi tercih edilmiştir (İpekdal vd., 2006). Ülkemizde halk arasında bu hayvanlara “Kör sinek”, “Tatarcık” ya da “Üvez Sinekleri” de denilmektedir (Şirin ve Şahin, 2005).

Hem karasal hem sucul ekosistemlerde yaygın olan bu sinekler, bir çok türünün ergin dişilerinin kan emmeleri ve dolayısıyla pek çok hastalığın yayılmasına neden olmaları ile iyi tanınırlar (Malmqvist et al., 2004; Chubareva and Petrova 2007; Hopkins, 2007). Özellikle tropik bölgelerde “Onchocerciasis (Nehir körlüğü)” olarak bilinen ve sık rastlanan bir parazit hastalığın etmeni olan *Onchocerca volvulus*’un tek vektörü *Simulium spp.* dir. İnsanlar, evcil hayvanlar, diğer memeliler ve kuşların sağlıklarını etkilediği gibi diğer parazit formların aktarılmasını da sağlayarak konaklarının çoğunun ölümüne sebep olurlar (Adler, et al., 2004; Shelley, 2002; Vivas-Martínez et al., 1998; Jamnback, 1973). Tropiklerde yaygın olan bir başka insan paraziti *Mansonella ozzardi*’nin taşıyıcıları arasında Simuliidae türleri vardır. Kümes hayvanlarında malarya benzeri ölümcül bir hastalık olan “Leucocytozoonosis”in etmeni *Leucocytozoon* cinsine ait kan paraziti protozoonların vektörü yine bu familya üyeleridir. Benzer şekilde sığırlarda ve atlarda rastlanılan *Onchocerca* cinsine ait filarial parazitlerin neden olduğu “Onchocerciasis” hastalıklarında *Culicoides spp.* ile birlikte vektör olarak Simuliidler görülmektedir. İnsanlarda ve sığırlarda görülen

“Vesicular stomatitis” hastalığının etmeni virüsün vektörleri arasında yine bu familya türleri yer almaktadır. Virüs insanlarda “influenza” benzeri rahatsızlıklara neden olmaktadır. Bu familya türlerinin diğer kan emen böcek ve kene türleri gibi Tularemi'nin vektörü olma olasılıkları yüksektir (Crosskey, 1990). Vektör özelliklerinin yanı sıra dişi bireylerin son derece acı veren ısırılmaları insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olur. Bu sinekler, insan ve hayvanların burun delikleri, gözler, kulaklar ve vücut boşluklarına direkt saldırarak rahatsızlık verirler (Rozendaal, 1997). Benzer şekilde bu sineklerin toplu saldırıları çiftlik hayvanlarında direk ölümlere yol açmaktadır. Kan emme sırasında salgıladıkları “Simuliotoksin” adı verilen madde kılcal damarların geçirgenliğini arttırarak dolaşım sıvısının vücut boşluğu ve dokulara kaçışına neden olmaktadır. Çok sayıda sineğin toplu ısırması konağı öldürebilmektedir (Crosskey, 1990). Isırdığı bölge genelde kızarıp ve aşırı şekilde kaşınır. Kişinin hassasiyetine bağlı olarak; baş ağrısı, ateş, bulantı ve adenitis (Lenf bezlerinin iltihabı) meydana gelebilir. Bu durum "Blackfly fever" olarak adlandırılır ve genellikle 48 saat veya daha az sürer. (Jamnback, 1973).

Son yıllarda *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* bakterileri kullanılarak larvalar hedef alınmış ve siyah sivrisineklerin kontrolü için programlar geliştirilmiştir. Pozitif sonuçlar alınmasına karşın su ve dünya ekosisteminin dengesinin bozulmaması için çalışmalar sınırlı tutulmuştur ( Malmqvist et al., 2004).

Tüm bu negatif özelliklerine karşın Simuliidae larvaları, lotik ekosistemlerin en önemli bileşenleridir ve çoğunlukla yüksek yoğunlukta bulunurlar. Uygun ortam koşullarında metrekareye düşen birey sayısı yaklaşık bir milyon olarak belirlenmiştir. Bu da bu sinekleri ekosistem düzeyinde önemli yapar. Erginleri pek çok yırtıcı için besin kaynağı olması nedeniyle besin zincirinde önemli bir yere sahip olmuşlardır (Malmqvist, 1994; Malmqvist et al., 2004). Larvaları ise suda asılı olan taneciklerle beslenerek akarsu omurgasızları ve balıklar gibi yırtıcı omurgalılara bu enerji kaynağını aktararak bağlantıyı sağlamış olurlar. Larvanın yoğun bulunmasının bir başka avantajı da bulunduğu ortamda iri tanecikli organik maddeleri filtre ederek dışkılama ile birlikte daha küçük parçacıklar haline dönüştürmesidir (Şirin, 2001). Bu sayede organik parçacıkların dibe çökmesini engelleyerek omurgasız hayvanlar ve mikroorganizmalar

için besin sağladıkları gibi, nehir kenarlarının da gübrenmesini sağlamaktadırlar (Malmqvist et al., 2004).

Simuliidae türleri Antarktika Kıtası, bazı çöller ve akarsu kaynaklarının olmadığı bazı adalar dışında tüm dünyada yayılış gösterirler (Şirin, 2001; Adler and Crosskey, 2008). Neartik ve Palearktik bölgede hakim olan boreal biyomu suları siyah sivrisineklerin gelişimi için en uygun ortamı sağlamıştır (Malmqvist et al., 2004).

Simuliidae familyasının dünyada tanımlanmış 2027 türü vardır (2015 aktüel ve 12 fosil). Günümüze kadar gelmiş olan türlerin zoocoğrafik dağılımı şöyledir: 11% Afrotropikal, 12% Avusturalya, 11% Neartik, 16% Neotropikal, 17% Oriental ve en fazla orana sahip olan 33% Palearktik (Adler and Crosskey, 2008). Familya ile ilgili bu faunal bilgiler yine de yetersiz kalmaktadır. Üstelik larvaların dev politen kromozom çalışmaları morfolojik olarak yakın türlerin gerçekte sibling (kardeş) türler olduğu ve çoğunun yapısal olarak ayırt edilemediğini göstermiştir (Currie and Adler, 2007).

Sağlam yapılmış bir sınıflandırmanın en önemli faydası tahmin yapabilme değerine sahip olmasıdır. Çok zengin olan canlı türlerini bir düzen içinde toplayan ve bunları çeşitli yöntem ve ilkeler geliştirerek sınıflandıran taksonomi; bilinen özelliklerden faydalanarak bilinmeyen karakterler hakkında tahmin yapar (Altunsoy, 2005'e göre Mary, 1969). Taksonomik çalışmalar günümüzde hızla ilerlemektedir. Bu çalışmalarda taksonomistler genetik, sitolojik, morfolojik ve anatomik farklılıkları göz önünde bulundurarak morfolojik olarak ayıramayan türlerin sınıflandırılmasında ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde sağlıklı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu bilim dallarından sitolojinin, taksonomi ile olan ilişkisi büyük önem taşır (Türkoğlu, 2002).

Klasik taksonomi bilindiği gibi sadece morfolojik karakterler kullanılarak canlıları sınıflandırır. Fakat çevresel faktörlerin etkisi ile bu karakterler değişime uğrayabilirken kromozomlar daha sabit bir yapı göstermektedir. Aynı türün farklı populasyonları arasında görülebilecek bazı morfolojik farklılıklar, türlerin ayrımlarında yeterli katkı sağlamayacakları için dikkate alınmaz. Klasik taksonomide bu durum bazen problem oluşturabilir. Kromozom çalışmaları bu aşamada sistematığe yardımcı olur ve evrimsel değişimlerin gözlenmesinde temel oluşturur (Altunsoy, 2005).

Araştırmacılar Simuliidae türlerinin morfotaksonomik yöntemlerle teşhisinde büyük zorluklarla karşılaşırlar. Bu güçlükler hayvanların çok küçük olmaları (2-7 mm), zayıf olarak morfolojik karakterlere sahip olmaları, araştırmacının zararlı kan emen dişilerle uğraşması ve suya bağımlı çalışılması şeklinde sıralanabilir. Erkek bireylerde üreme organları güvenilir karakter olduğu için tür ayrımı daha kolaydır. Bu zorluklar araştırmacıları farklı çalışmalara yönlendirmiş ve karyolojik çalışmalar ön plana çıkmıştır (Rothfels, 1956). Klasik metot ile karyolojik metot güncel olarak başarılı bir şekilde Simuliidae familyası taksonomisine uyarlanmıştır. Familya yelerinin politen kromozoma sahip olmaları ve her tür için politen kromozomların kendine özgü deseni ve diziliminin olması bu gurubun taksonomisinde kolaylık sağlamaktadır (Chubareva and Petrova 2007).

Hexapodlar arasında sadece Diptera ve Collembola'da gözlenen dev kromozomların ilk keşfi E. G. Balbiani tarafından 1881 yılında yapılan Chironomidae (titrek sinek) larvalarında olmuştur. Dev kromozomlar tükürük bezlerinde, malpigi kanalındaki hücrelerde ve bazı yağ dokularında hücrelerinde bulunur (Demirsoy, 1991). Diptera'nın taksonomisinde larval tükürük bezi kromozom çalışmaları ön plana çıkmıştır. Özellikle politen kromozomların fark edilmiş olması kardeş (sibling) türlerin ayrımında büyük rol oynamıştır (Rothfels, 1979). Geitler, 1934 yılında politen kromozomları ilk kez Simuliidae larvalarında rapor etmiştir. Bu alışmalar baştan sona birçok filogenetik araştırmanın merkezi olmuştur. Bu kromozomlar mikromorfolojik karakterlerin düzenli ve sıralı halidir. Sitotaksonomik disiplin de politen kromozomları kapsayan bir çalışmadır (Adler et al., 2004).

Kromozom çalışmalarında hücrelerin sadece belli dönemlerinde gözlemlediğimiz somatik metafaz kromozomlarından farklı bir yapı gösteren dev kromozomlar, endomitozis olayı ile meydana gelir. Bu olay için endomitoz ile birlikte endoreduplikasyon veya politenizasyon terimleri de kullanılır. Kromozomlar binlerce defa bölünmesine karşın, yavru kromonemalar yan yana kalır, nkleomembran erimez ve bu suretle kuvvetli boyanan DNA bantları meydana gelir. Dev kromozomları haploit olarak kabul edilir. Çünkü anne ve babadan gelen kromozom çifti bunlarda birbirine kaynaşmış durumdadır. Mutasyonların gösterilmesinde önemli rol oynarlar; haploit

olduğundan çekinik genler dahi etkisini fenotipte gösterebilecektir (Demirsoy, 1991; Ozban, 1994; Klug and Cummings, 2002).

Her kromozom başlangıçta iki kromatidden oluşur. Birbirini izleyen on bölünme geçirdikten sonra 1000 den fazla kromatid bir arada kalır ( $2^{10}=1024$ ) kromonema artışı ile uyuşan DNA artışı olduğu gözlenmiştir. Politen Kromozomlar normal kromozomlardan 100–200 kat daha fazla büyük olup, bant biçimleri farklıdır ve belirlenen özel morfolojik mutasyonları da açık şekilde üzerinde gösterir. Politen kromozoma sahip olan hücreler mitoz geçirmezler. Belli bir süre sonunda ölürlür. Bir başka özellikleri ise normal kromozomlardan farklı olarak interfaz nükleusu içinde görülmeleridir. Politen kromozomlar mayoz profazında somatik kromozomlar gibi davranır. Homolog kromozom çiftleri sıkıca yan yanadır. Somatik eşleşme dediğimiz bu olayda somatik kromozom sayısı 8 olan bir bireyde interfaz nükleusunda politen kromozomlar 4 tane gözlenir. Politen kromozomlar, uzunlukları boyunca enine dizilmiş değişik kalınlıkta DNA'nın bulunduğu bantlar ve bunların arasında kalan DNA'nın bulunmadığı açık renkli interbantlar içerir (Ozban, 1994). Her bir bant bazen kromozom eksenini boyunca materyalin yana doğru kalınlaşmasını tanımlayan genel bir terim olan kromomer olarak adlandırılır. Bantların varlığı önceleri her bir genin görünen şekli olarak açıklanmıştır. Bantlardaki zincirlerin genetik aktivite sırasında bükülmenin çözüldüğü bölgeler olduğunun anlaşılması bu görüşü desteklemiştir. Her bantta kaç genin bulunduğu dair kesin bir bilgi yoktur. Bir bant ortalama büyüklükteki 50-100 geni kodlamak için yeterli olan  $10^7$  baz çifti kadar DNA içerebilir (Klug and Cummings, 2002).

Bu bantlar büyüme süresi içerisinde belli zamanlarda genişleme gösterir. Bu şişkinliklere puf adı verilir. Puf oluşumu dönüşümlü bir olaydır bu nedenle zamanla kaybolur. Bunlar üzerinde çok yoğun transkripsiyon olayı olduğu ve RNA sentezlendiği ve protein depolandığı gözlenmiştir. Sentezlenen RNA'lar pufardan sitoplazmaya salınır. Aynı zamanda yapılan araştırmalar sonucunda pufun yer değiştirdiği de saptanmış ve bu olay tıpkı yılanın besin yutmasına benzetilmiştir. Farklı dokularda (tükürük bezlerinde, malpigi kanalındaki hücrelerde ve bazı yağ dokularında) politen kromozomların gelişimi farklı olduğu, yani aynı derecede poliploidi

göstermedikleri gibi puflaşmada dokular arasında farklılık gösterir. Puf oluşumu sırasında kromonemaların birbirinden uzaklaşmaları ve katlanmaların açıldığı düşünülmektedir. Bazı durumlarda kromonemaların uzaması daha da artar ve yüzük benzeri bir yapı oluşturur. Buna Balbiani Halkası denir ( Demirsoy, 1991; Ozban, 1994).

Böceklerde deri değişimini denetleyen hormon olan Ekdison hormonunun salgılanması ile son larval evreden pup evresine geçerken I. politen kromozomda bir puf oluşur. Bu nedenle sitogenetik çalışmalarda puf oluşumlarını da inceleyebilmek için son larval evredeki örnekler kullanılır (Klug and Cummings, 2002).

Karyotaksonomik çalışmalarda önemli olan bir diğer aşama da sitolojik haritaların hazırlanmasıdır. Sitolojik haritalar, kromozomların mikroskop altında gözlenen morfolojik farklılıklarına göre yapılır ve genetik çalışmalarla elde edilen verilerle birleştirilerek gen lokuslarının kromozom üzerindeki yerleri saptanır. Dev kromozomlarda gözlenen eksene dikey bantlar aynı türün bireylerinde aynıdır. Diğer taraftan çeşitli dış etkenler bu kromozomlarda çeşitli yapı değişimleri meydana getirebilir. Kromozomal evrimin bu yapı değişimleri (inversiyon, delesyon, duplikasyon ve translokasyon) sonucu oluştuğu tahmin edilmektedir (Ozban, 1994).

Sitotaksonomik çalışmalarda sibling türlerin politen kromozomları arasındaki ayrımlarında fikse inversiyonlar önemlidir (Curler, 2006).

Dev kromozomlar, interfazda gözlenebildiklerinden kromozom morfolojisi çalışmalarında pek çok fiziksel ve kimyasal faktörün kromozom morfolojisine etkilerinin araştırılmasında büyük kolaylık sağlarlar (Zeytinoğlu, 1987).

Türkiye Simuliidae faunası ile ilgili yapılan morfotaksonomik çalışmalarda familyanın 53 türü tespit edilmiştir (Crosskey ve Zwick, 2007). Bu araştırmalar Austen (1925); Crosskey (1967); Jedlicka (1975); Kazancı ve Clergue-Gazeau (1990); Özbek ve ark. (1995); Balık ve ark. (2002); Şirin (2001); Şirin ve Şahin (2005) ile Crosskey ve Zwick (2007)'in çalışmalarıdır.

Bu çalışmada Prosimulim ve Simulim cinslerine ait ülkemizde yayılış gösteren *Prosimulium rufipes* (Meigen, 1830), *Simulium velutinum* (Santos Abreau, 1922), *Simulium variegatum* Meigen, 1818, *Simulium caucasicum* Rubtsov, 1940, *Simulium bezzi* (Corti, 1914) ve *Simulium costatum* Friederichs, 1920 türlerinin politen kromozomları çıkartılmış ve standart kromozom haritaları ile karşılaştırılmıştır. Araştırmada seçilen türler, familya içerisinde sıkça rastlanan ve morfolojik olarak birbirine çok benzer olan farklı tür guruplarındaki türlerdir.

Çalışmada morfolojik özelliklerine göre tür tespiti yapılan ve ülkemizde geniş yayılış gösteren bu türlerin kromozomal özellikleri ile de konfirmasyonu amaçlanmıştır. Bununla birlikte söz konusu türlerin Palearktık bölgedeki diğer popülasyonları ile kromozomal varyasyonlarının olup olmadığı kontrol edilmiştir.



## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1. Simuliidae'nin Sistematikteki Yeri

Bu familyaya ait ilk tanımlama 1758'de Linnaeus tarafından yapılmıştır. Ancak bu tanımlama *Culex* şeklinde olmuş ve 1802'ye kadar Simuliidler *Culex* ve *Tipula* cinsleri içerisinde sınıflandırılmıştır. Bu tarihte Latreille familyanın tip cinsi olan *Simulium*'u tanımlamıştır. Familyanın ismini ise 1834 Newman vermiştir (İpekdal vd., 2006).

Simuliidae familyasının *Regnum: Animalia* içindeki konumu;

*Phylum* : *Arthropoda*,

*Classis* : *Insecta*,

*Ordo* : *Diptera*,

*Subordo* : *Nematocera*,

*Familya* : *Simuliidae*

Familya erginleri; diğer nematoserlere oranla tıknaz ve kuvvetli bir vücut yapısı, 11 segmentli antenleri, kısa fakat kuvvetli hortumları ve dinlenme halinde çatı gibi birbirinin üzerinde duran geniş kanatları ile kolayca tanınırlar. Tıknaz yapılı larvalarının ön ve arka ucu topuz şeklinde şişkinleşmiştir. Başları filtre organı olarak görev yapan bir çift büyük ve küçük yelpaze taşır (Croskey, 1990; Demirsoy, 2001).

Entomologlara göre tür sayısına bakıldığında şaşırtan böcek zenginliği ile kıyaslanırsa çok da zengin bir familya olmadığı görülür. Diptera'nın bilinen yaklaşık 120 000 türünün ancak %1,3 nü Simuliidler oluşturur (Crosskey, 1990).

## 2.2. Simuliidae Morfolojisi

*Larva:* Görünüş olarak larvalar kurtçuk benzeri yapıdadır. Vücut kitinize olmuş bir baş kapsülü, silindirik yapıda thorax ve abdomen bölgesi olarak ayrılır. Larvanın baş kısmında yer alan sefalik fan adı verilen yapılar sayesinde filtre ederek beslemeye özelleşmiş olması ile dikkat çekicidir. Eucephalik, apneustik ve yüzeye tutunmaları sağlayan thorasik ve abdominal olmak üzere iki tane proleg adını verdiğimiz pseudopod taşımalarına rağmen apoda tipte larvalardır. Abdomen diğer vücut kısımlarına göre daha yumuşak yapıdadır ve ince yarısaydam bir üst deri ile örtülüdür. Karakteristik bir vücut yapısı vardır; 8 segmentli abdomen sonuna doğru şişkinleşirken ilk beş segmenti vücudun en dar kısmını oluşturur. Bu kendine özgü “simuliidsi” yapısı ile diğer sucul omurgasızlardan ayrılır (Bass, 1998; Crosskey, 1990). Prognat konumlu olan başın yüzeyi düz ve pürüzsüzdür. Baş kapsülü; ağız parçaları, filtrasyon organları, antenler, gözler ve duyu kılları taşır. Kapsülün thoraxa bağlandığı yer geniş ve hafif daireseldir. Bu bölge occipital foramen olarak adlandırılır. Kafa kapsülünün dorsalindeki plak sefalik apotom her iki yanda epicranial sturlarla diğer parçalardan ayrılır. Lateral plaklar (postgenalar) ise ventraldeki anteromedian plakla (hypostomium ya da submentum) birleşerek kapsülün ikinci büyük parçasını oluşturur. Postgenalar türlerin çoğunda ventralde birleşmez ve kapsülün arka kenarında zarımsı postgenal yarığı meydana getirir. Taksonomik karakterlerden bir tanesidir. Postgenaların ön kenarında mandibullara bağlantı yüzeyi oluşturan X şeklindeki fragmanlar yer alır. Dorsalde kapsülün thoraxa bağlantı noktasında iki tane servikal sklerit bulunur (Şekil 1). *Prosimulium spp.* bu skleritler kapsüle bağlı iken *Simulium spp.* de kapsülden ayrık noktalar halindedir (Crosskey, 1990; Bass, 1998).

Ağız üyeleri: Labrum, bir çift sefalik fan, bir çift mandibul, bir çift maksil ve labiohypopharinks'ten oluşur. Baş kapsülünün dorsalindeki Sefalik fanlar, her iki yanda, mandibulların üzerinde ve antenlerin hemen önünde bulunan silindirik birer gövde ile bu gövdeden çıkan fan ışınlarından oluşmuştur. Her bir sefalik fan; primer, sekonder, median ve pul fanları kapsar. Besinlerini filtrasyon yerine kazıyarak alan türlerde sefalik fanlar ortadan kalkmıştır. Labrum, arka ucu ile apotoma, laterallerde de sefalik fanların saplarına bağlıdır. Bu parça temelde cibariumun kapalı kalmasını sağlar.

Labrumun üst yüzeyi iri dikenler, kısa kıl ve kıl demetleri ile örtülüdür. Mandibullar, maksiller ile sefalik fan gövdeleri arasındadır. Gövde kısmı yanlardan hafif basık olup uzundur. Apical uçları güçlü bir kancaya benzer. Kıl demetleri, diş ve dikenlerle donatılmış olan mandibullar, özellikle apikal ve preapikal tarak dişlerinin şekil ve sayıları bakımından, taksonomik çalışmalarda diagnostik karakter olarak değerlendirilir. Mandibullar, sayıları 2-4 arasında değişen dişlere sahiptir. Bunlardan apikaldaki diğerlerine (preapikal dişlere) göre daha büyüktür. Bu dişler sefalik fanların filtre ettikleri besin partiküllerinin alınmasında, üretilen ipek iplikçiklerinin tutulmasında ve kesilmesinde, avın yakalanmasında ve parçalanmasında işlev görürler (Crosskey, 1990). Mandibulların altında maksillalar yer alır ve tek parmaklı bir eldivene benzer. Çoğu zaman türden türe benzer özellik gösterir. Bazal lob kısmında 3 grup fırça benzeri kıl demeti ve duyarga taşırlar. Antenler başın üstünde bulunur ve yumurtadan çıktığında tek segmentli iken olgunlaşınca genellikle 3 segmentli olur. Akıntının yavaş olduğu yerlerde yaşayan türlerin antenleri çok ince ve uzundur. Akıntı hızının çok fazla olduğu suları tercih edenlerde ise antenler kısa ve biraz daha kalındır. Üzerinde sensillalar taşımakla birlikte antenlerin fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır (Crosskey, 1990; Jedlicka ve Stloukalova, 1997).

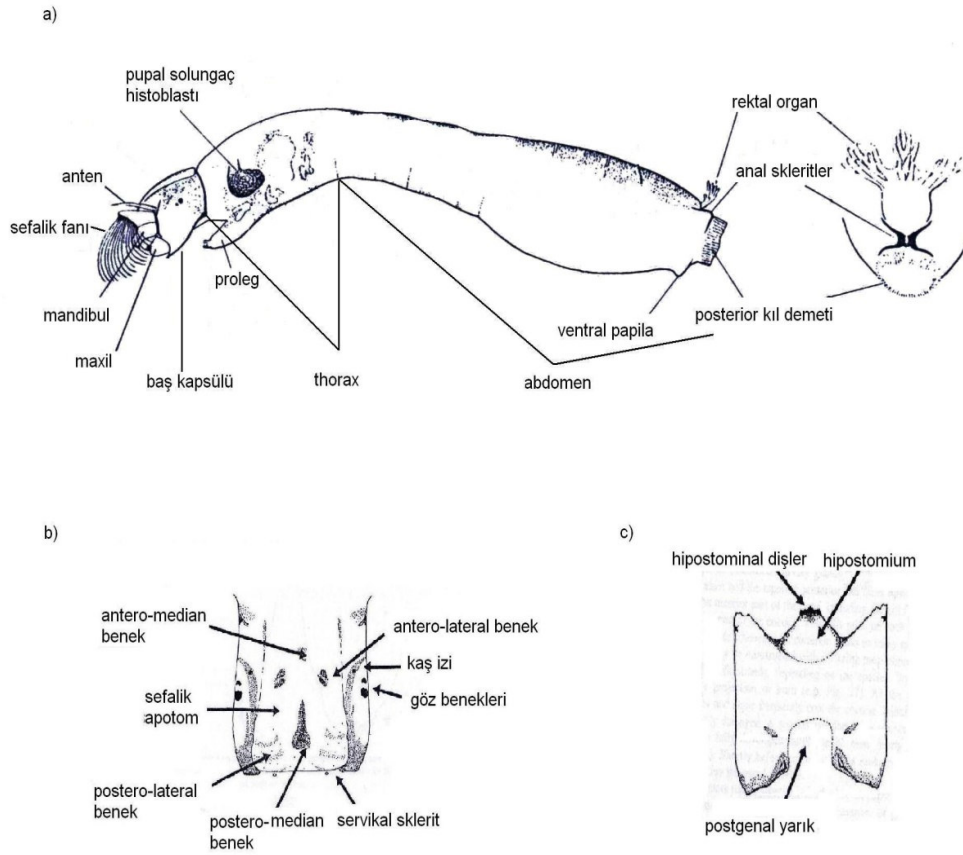
Simuliidae larvaları anüs duvarının dışı doğru döndürülmesi ile oluşan ve rektal organ adı verilen yapılara sahiptirler. Bu organlar tüm larvalarda bulunur ve gerektiğinde anüs içerisine çekilir ya da dışarı çıkarılabilir. Temelde tüp şeklindeki ince derili üç lobdan meydana gelen bu organın yapısı türler arasında farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle larval tür teşhislerinde ayırt edici özellik olarak kullanılmaktadır (Crosskey, 1990).

Temel larva vücut morfolojisinin de benzer olmasına rağmen bazı türlerde farklılık gösterir. Örneğin hafif akıntılı sularda abdomenin sonunda iki tane ventral papilla bulunurken, akıntılı sularda yaşayan bazı türlerde ventral papillalar yok olmuştur (Crosskey, 1990).

Larvanın büyüklüğü türden türe ve geçirdiği evreye göre farklılık gösterir 0.6 mm (1. instar) ve 5-11 mm (son instar) (Bass, 1998). Bununla birlikte olgun

larvaların, familya içerisinde, ortalama boyu 5, 5-9, 5 mm' dir. Larvaya ait instar sayısı 6 yada 7 dir (Crosskey, 1990).

Larval gelişimin son evresinde pup ya da ergine ait bazı karakterler gözlenebilir. Bu yapılardan en dikkat çekici olanı son larva evresinde prothorax üzerinde her iki yanda proleg kaidesinin hemen üstünde ayırt edilen koyu renkli pupal solungaç histoblastlarıdır. Tür teşhisinde ve taksonomik çalışmalarda oldukça önemlidir (Crosskey, 1990).



**Şekil 1:** Larva morfolojisi a)Genel vücut yapısı b)Kafa kapsülünün dorsali c)Kafa kapsülünün ventrali (Bass, 1998' den).

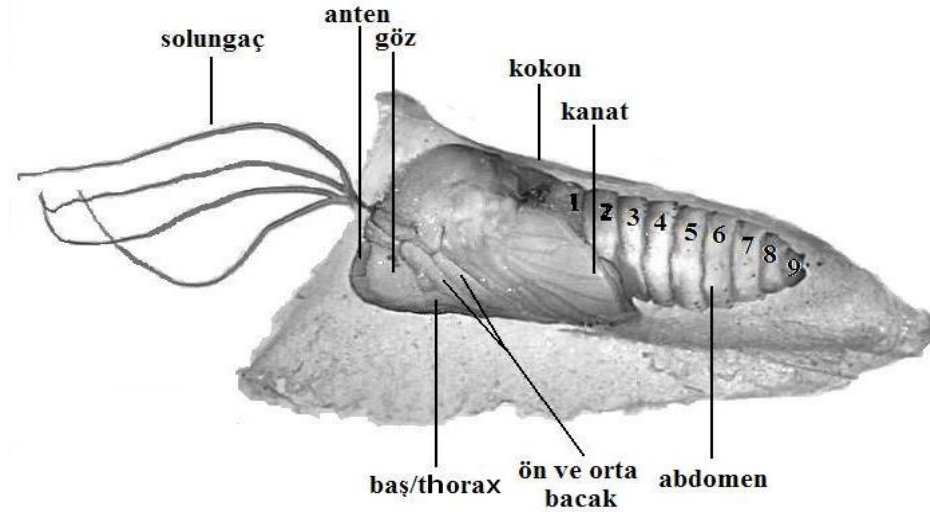
Larva yaşam yeri olarak seçtiği bölgede öncelikle ipek salgısı ile kendini emniyete alır. Kendini sabitlediği yüzeyin göreceli olarak temiz olması, bu yüzeyin algal büyümelerin en yoğun olduğu ya da bakteri yoğunluğunun fazla olduğu bitki yüzeyleri ya da pürüzsüz yüzeyler (taş gibi) larvanın tercihlerindedir. Akıntının yetersiz olduğu durumlarda beslenmesi ve solunum istekleri karşılanmaz. Organik kirliliğin yoğun olduğu yerleri de tercih etmedikleri gözlenmiştir. Hafif organik kirlilik veya zenginleşme göz ardı edilebilir. Ama yoğun kirliliğin bulunduğu su yataklarında rastlanmamıştır (Bass, 1998).

*Pup:* Puplar genelde kokon içinde “obtect” tiptedir. Pupun vücut rengi çoğunda baş ve thoraxta kahverengi, abdomende yarı şeffaf sarımsı gri renktedir. Geliştikçe renk koyulaşır ve olgun pupta siyaha dönüşür (Crosskey, 1990; Jedlicka, 1997).

Türden türe 2-7 mm. arasında değişen vücut boyu; familya için ortalama 3-5 mm.dir. Larva boyu ve beslenme düzeyi pupun boyunu da etkiler (Jedlicka and Stloukalova, 1997).

Pup vücudunda, erken evrelerde baş ile thorax bir bütün (sefalothorax) halindedir. Ancak olgun puplarda bir sturla baş ile thorax birbirinden ayrılmıştır. Sefalothorax kütikulası dorsalde, değişik sayı, yapı ve yoğunlukta tuberküller ile trichomlar taşır. Bu yapılar özellikle yakın türlerin birbirinden ayırımında taksonomik kriterlerdir. Baş hypognath tipte olup, kısmen thoraxın altına gizlenmiştir, üzerinde tek parça halinde basit bir plak (larvanın sefalik apotomu) bulunur. Bu plak dişilerde genişken, erkeklerde dardır. Antenlerin ve ağız üyelerinin taslakları ayırt ettiği pupa evresinin sonlarına doğru ergine ait tüm bu yapılar daha belirgin hale gelir. Olgun puplarda ergin gözleri belirginleştiği için eşey ayırımı yapmak kolaylaşır. Erkek puplarda, tıpkı erginde olduğu gibi gözler alında birbirine değer (Holoptic), dişilerde ise ayrıktır (Dichoptic) (Crosskey, 1990).

Solungaç gövdesinden ayrılan her bir filament; merkezi bir boşluğu çevreleyen en dışta plastron adı verilen ince bir kutikula tabakası ile içteki epidermal filament zarından oluşur. Solunum gazları alış verişi, bu ince filament boşluğu ile su arasında gerçekleşir. Solunum organları yapı, şekil, boyut, yön, renk ve filament sayısı



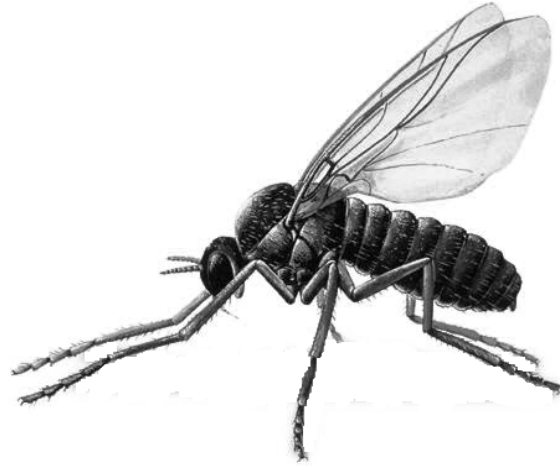
**Şekil 2:** Pupanın genel görünüşü

(<http://parasit.meb.uni-bonn.de/~maezo/tagungen/tagung03/pictures>).

bakımından familya içerisinde, türler arasında büyük farklılıklar gösterir. Familyanın aquatik evreleri ile yapılan taksonomik çalışmalarda, tür tayinlerinde pup solunum organlarının yapısı, şekli, filamentlerin sayıları ve dallanma şekilleri temel diagnostik karakterler olarak kullanılmaktadır (Crosskey, 1990).

Abdomen ise 9 belirgin segmentten oluşur ve genelde subovoid bir şekli vardır (Şekil 2). Kutikula çoğu türde yumuşaktır. Abdomen segmentleri üzerinde uçları öne doğru kıvrılmış basit ya da dallı kanca, kıl ve setalar vardır. Bu yapılar, özellikle kancalar, kokonun vücuda tutunmasını sağlarlar. Kokon ipek bezlerinin iplikçikleri ile örülmüştür. Örgü şekli, iplikçiklerin kalınlıkları ve sıklıkları türden türe değişiklik gösterir. Kokon düz deliksizdir ya da üzerinde küçük delikler, bazı türlerde ise özellikle ön tarafında yanlarda pencere gibi büyük açıklıklar vardır (Crosskey, 1990).

*Ergin:* Erginlerin vücutları tıknaz, kanatları geniş, bacakları güçlü ve antenleri kısadır ve bu özellikleri ile diğer Nematocera familyalarından ayrılırlar (Şekil 3). Vücut



**Şekil 3:** Erginin genel görünüşü

([http://ipm.ncsu.edu/AG369/notes/black\\_flies.html](http://ipm.ncsu.edu/AG369/notes/black_flies.html)).

boyu farklı türlerde 1, 2 mm ile 6, 0 mm arasında değişiklik gösterir. Renkleri ise tropiklerde yaşayan türlerde sarımsı ya da portakal rengi, kahverengi gibi farklı renkler olmasına karşın, Paleartik'te, siyah, kahverengimsi siyah nadiren gridir. Kanatlar saydamdırlar, ancak bazı türlerde kirli beyaz renkler de olabilir (Crosskey, 1990).

Baş thoraxın altına doğrudur, genişliği uzunluğundan fazladır ve dişi ya da erkekte belirgin farklar vardır. Erkeklerde dorsalde alın bölgesinde her iki bileşik göz çifti birbirine temas eder, yani holoptiktir. Dişilerde ise gözler birbirine değmez, ayrıkçırlar (dichoptic). Nokta göz, diğer çoğu böcek ve Diptera türünün aksine Simuliidae'de yoktur (Crosskey, 1990).

Antenler 9 yada 11 (hemen hemen bütün Paleartik türlerde) segmentten oluşmuş olup, nispeten kısa ve kalındırlar. Yüzün ortasına eklidirler. Antennal segmentler az çok silindirik, üzerleri kısa kıllarla kaplı ve duyargaları küçüktür. Pedisel

ve 3. Antennal segmentler bütün segmentlerin en büyüğüdürler ve Pedisel görünmeyen bir “Jhonston organı” taşır (Jedlicka and Stloukalova, 1997)

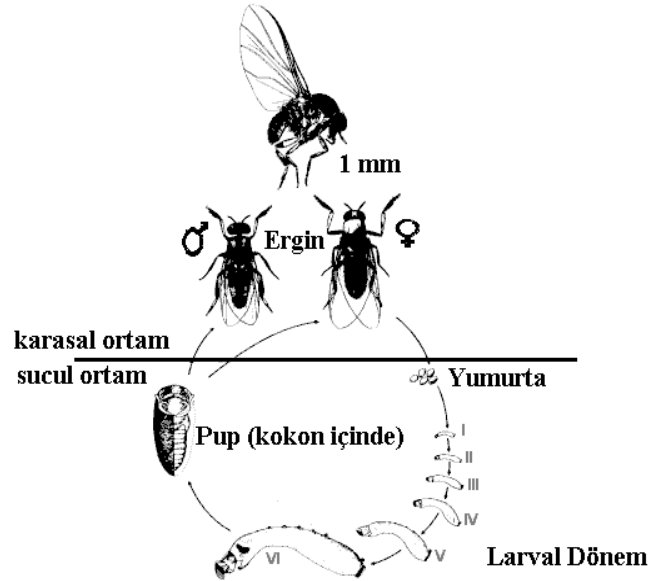
Larvanın aksine erginler sıvı ile beslenir ve ağız delici emici tipte olup konumu hypognathdır. Yine ağız parçaları dişi ve erkeklerde farklar gösterir; çoğu türün dışısında deriyi kesmeye ve kan emmeye uyum yapmıştır. Emme hortumu proboscis kısa, kalın ve silindirikdir. Mandibulları güçlüdür ve bir bıçağı andırır. Thorax büyük ölçüde mesothoraxtan oluşur ve erkeklerde daha belirgin şekildedir, sırtta bir kavis yapar. Dorsalinde scutum, scutellum ve postnotum ile örtülüdür. Kanat yapısı kısa, geniş ve anal lobuda büyüktür, kanadın zarı şeffaftır ve üstünde; direnç artırmaya yarayan mikrotrichia ve mikroskobik tüberküller vardır (Crosskey, 1990). Anepistemum metathoraxın bir plağıdır ve büyük zarlı bir yapısı vardır; bu özellik bu familyayı diğerlerinden ayıran bir özelliktir. Bu kısım çıplak ya da kıllar ile örtülüdür (Jedlicka and Stloukalova, 1997).

### 2.3. Yaşam Döngüleri

Siyah sivrisinekler holometabol canlılardır. Yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört dönem geçiren Simuliidae üyelerinin yumurta larva ve pupası suya bağımlıdır. Ergin dişi yumurtasını su yüzeyi ya da su içinde bir substrat üzerine bırakır. Substrat çoğunlukla taş ve bitkiler olmak üzere filtrasyonun yapılabilecek herhangi bir yüzey olabilir ve türden türe farklılık gösterir (Crosskey, 1990; İpekdal vd., 2006).

Bir dişi 200-800 arasında yumurta bırakır. Yaşam süreleri iklimsel ve coğrafik özelliklere bağlı olarak büyük değişiklikler gösterir; yumurta evresinde 2 gün ile bir yıl arasında, larval dönemde 4 gün ile 3-4 ay arasında, pupada minimum iki gün ile maksimum iki üç hafta arasında, erginde ise, dişi için minimum iki ya da üç hafta ile maksimum dört ay arasında değişirken, erkeklerde ise yaşam süresi ortalama bir kaç gün ile sınırlıdır (Crosskey, 1990). Yumurtadan çıkan larvalar kayalara ya da bitki yüzeylerine kendilerini sabitlerler. Pupaya girinceye kadar besinlerini filtre yolu ile alırlar. Larva türler arasında farklılık gösterdiği gibi yaşadığı ortam faktörlerine de bağlı olarak 6 veya 9 defa deri değiştirir (Şekil 4). Pupaya gireceği zaman salgıladığı ipek salgısı ile kendine bir kokon örür. Ergin, pupanın kafa kısmında bir çizgi şeklinde



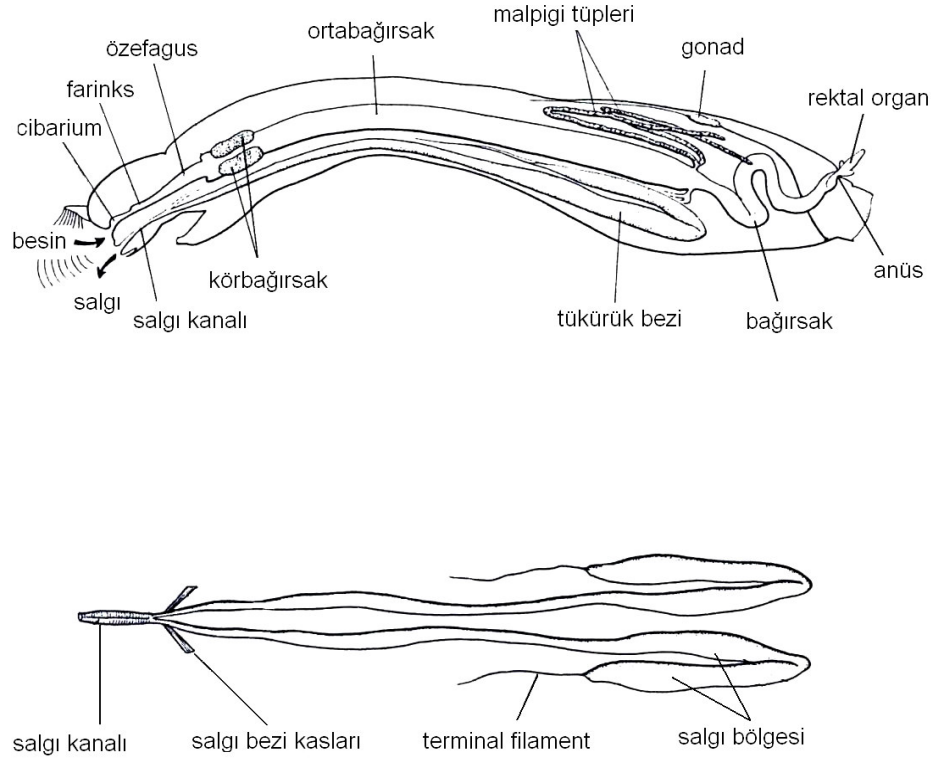


**Şekil 4:** Simuliidae Yaşam Döngüsü (Crosskey, 1990' den).

kesik oluşur ve buradan dışarı çıkar. Yumurtadan ergine kadar geçen süre türe göre değişken olmakla birlikte ortalama 3-4 haftadır. Siyah sivrisinekler, buldukları ortamda muazzam sayılara ulaşırlar (Butler and Hogsette, 1998).

#### 2.4. Simuliidae Larvası Anatomisi

Larvaların iç organlar sisteminin büyük bir kısmını sindirim ve boşaltım sistemleri oluşturmaktadır. Sindirim sistemi vücut içinde ağızdan anüs'e kadar uzanan bir tüp şeklindedir. Sindirim kanalı sırası ile; cibarium, farinks, özefagus, orta bağırsak, kaim bağırsak ve rektumdan meydana gelir. Orta ve son bağırsakların arasında sindirim sistemine bağlanan malphigi tüpleri boşaltım organlarıdır ve vücut boşluğunda 4 tane ince tüp halinde uzanırlar (Şekil 5). Solunum sistemleri trake sistemidir. Ancak apneustik olduklarından gaz alış veriş vücut yüzeyince gerçekleştirilir. Vücut boşluğu hemosöl tiptedir. Eşey organları abdomene yerleşmiş şekildedir. Dişi üreme sistemi, bir çift ovaryum, yumurtaların dışarıya atılmasını



**Şekil 5:** Simuliidae larvası anatomisi ve tükürük bezinin yapısı (Crosskey, 1990'dan).

sağlayan bir kanal sistemi ve bazı yardımcı organlardan ibarettir. Erkek üreme sistemi, bir çift testis, buradan dışarı doğru uzanan bir kanal ve yardımcı bezlerden ibarettir (Jedlicka and Stloukalova, 1997; Crosskey, 1990).

#### 2.4.1. Tükürük bezinin yapısı ve işlevi

Larva tükürük ve salgi bezleri, ipek bezlerine dönüşmüştür. İpek bezleri arkada abdomenin yedinci segmentine kadar uzanan, uzun, U şeklinde, tüp yapısında bezlerdir. Salgılanan ipek, başa doğru uzanan bir kanalla dışa iletilerek substrata tutunmak için, hareket sırasında ve kokon örmede kullanılır (Crosskey, 1990). Dişi ve erkek larvalarda tükürük bezi farklıdır. Dişide, U şeklinde silindrsel apikal ve ampül (basal lop benzeri)

olmak üzere iki parçadan oluşmuştur. Erkeklerde ise, çok daha küçüktür ve sadece depo ampulünden oluşur (Şekil 5).

Tükürük bezi hücre çekirdekleri dev politen kromozom taşır. Bu kromozomların, sayı ve yapıları ile bantlaşma özellikleri sitotaksonomik çalışmalarda kullanılır (Kachvoryan, et al., 2000, Jedlicka and Stloukalova, 1997).

## **2.5. Simuliidae Larvası Sitolojisi**

### **2.5.1. Tükürük bezi politen kromozomları ve sitolojik önemi**

Familyanın sitotaksonomisinde güncel olarak kullanılan isimlendirme ilk olarak 1953 yılında Rothfels ve Dumbar tarafından ortaya atılmış ve daha sonraki yıllarda Basrur, Bedo, ve Rothfels bu çalışmayı genişletmişlerdir. Bu familya türleri ile yapılacak sitotaksonomik çalışmalarda bu kural ve yöntemleri uygulamak gerekir (Adler, et al., 2004).

Simuliidae karyotipinde en önemli karakterler; sentromer, bantlar, interbantlar, Balbiani halkaları, nukleolus, seks kromozomları, B-kromozomlardır. Politen kromozom tanımlanmasında ise; interkromozomal homolog translokasyonları ve Tandem Füzyonu ile evrimsel açıdan karyotipteki değişiklikler tartışılır (Chubareva and Petrova 2007).

Siyah sivrisineklerin karyotipi altı kromozomdan oluşur, yani  $2n=6$  dır.  $2n=4$  ve  $2n=9$  olan türler de vardır (Chubareva and Petrova 2007). Siyah sivrisineklerin üç kromozomu I, II, III en uzundan en kısaya göre sıralandırılır ve sentromerin bulunduğu kısımlardan bir noktada birleşirler. Bu birleşme bölgesine Kromosentir (chromocenter) denir (Şekil 6). Tüm kromozomal komplementin yaklaşık olarak I. kol %42'sini, II. kol %30'unu ve III. Kol %28'ni oluşturur. (Adler, et al., 2004).

Kromozom I: Metasentrik ya da Submetasentrik.

Kromozom II ve III: Her zaman Submetasentrik.

Genelde kromozom boyları da eşit değildir. I>II>III şeklindedir. Bazı cinslerde ise farklılık gözlenir örneğin, *Heledon* Enderlan, 1921’da I>II=III şeklindedir (Chubareva and Petrova 2007).



**Şekil 6:** *Simulium* sp. politen kromozom kolları ve kromosentir’in (chromocenter) gösterimi (Adler, et al’ den 2004).

Sentromer (C): Her bir kromozom kolu submedian sentromer ile iki kola bölünmüştür. Çoğunlukla geniş bir çizgi şeklindedir. Bazen geniş bant şeklinde değildir, böyle olunca da diğer bantlardan ayırt edilemez. Sentromerin yeri daha önceden belirlenmiş olan bir türün bant sırası ile karşılaştırarak veya sentromer bantlarının ektopik bağlanması durumuna göre tespit edilmeye çalışılır (Şekil 7). *Prosimulium*’un bazı türlerinde çok abartılı şekilde geniş bir sentromer bölgesi vardır, buraya “transformed centromere” (C<sub>T</sub>) adı verilir (Basrur, 1959). İki kromozom kolundan kısa olan (S) uzun olan kol ise (L) harfi ile isimlendirilir. Kromozomların

uzun ve kısa kolları arasındaki fark II. ve III. kromozomlar arasında açıktır, kromozom I ise ihmal edilebilir şekilde kısadır ( %2 dolaylarında) (Adler, et al., 2004).

Nükleolus Düzenleyici: Kromozomun belirli bir parçasıdır. Hücrede kalıtsal özellikleri taşıyan öğelerden bir tanesidir. Nükleoli sayısındaki veya yerindeki değişiklik önemlidir. Simuliidae mononükleolar ailesindedir yani hücrede tek nükleolus düzenleyici vardır. Eğer hücrede bir translokasyon olmuşsa nükleolus sayısında artış olur. (Chubareva and Petrova 2007). Nükleolus düzenleyicisi, bütün siyah sineklerde bulunur ve ribosomal RNA sentezinin yapıldığı yerdir. Teşhislerde kolaylık sağlar çünkü yeri türe özgüdür. Her ne kadar türe özgü olsa da familya içinde yeri değişkendir (Golini and Rothfels ,1983; Adler, et al., 2004).

Puff ve balbiani halkaları: Pufun yapısına katılan bant sayısı 1-20 arasında değişir. Simuliidae de puf oluşumları genellikle kromozom II ve III de gözlenir (Şekil 7). Pufunların özel bir grubu olan balbiani halkaları (BR) dev puflardır ve bunlar salgı proteininin sentezinin yapıldığı yerler olduğu tespit edilmiştir (Adler, et al., 2004).

Bantlar: Bir politen kromozomda bantlar belirgindir ve karşılaştırmaya izin verir. Bununla birlikte her bir kolun ortak belirli işaretçileri vardır;

*IS kolunda* → "basal 3" ve "sonlandırıcı marker" (yani dönemsel yeni bantlar)

*IL kolunda* → "Z marker" ve boyun

*IIS kolunda* →Balbiani halkası"trapezoid " ve neredeyse tüm hepsinde bulunan " bulges-şişkinlik" (double bubble-çift balon) ve shoestring

*III kolunda* →"DNA puff" ,"gri band", "jagged-çentik", "puffing band", "sawtooth" Parabalbiani ve "3 sharp"

*IIIS kolunda* →blister-kabartı, "capsule"

*IIIL kolunda* →"cup and saucer" ve "basal marker" (Şekil 6).

İnversiyonlar ve isimlendirmesi: İversiyonlar genellikle bulunduğu kolla birlikte bir sayı verilerek gösterilir. Örneğin IIIIL-1 bu ilk inversiyonu temsil eder. Çoğunlukla isteğe göre adlandırılır ya da bazı yazarlar harf verir. Örneğin perisentrik inversiyonu yerini adlandırırken önce kromozom kolu S yada L yerine (P) harf ile perisnetrik inversiyon gösterilir (IIIP-2 gibi). Fikse inversiyonları göstermek için altı çizilir (IIS-1 gibi) veya italic yazılır. Değişken (kayan) inversiyonlardan ayırmak için kısaltılan tür ismi ile de gösterilebilir (IIS-1im *Simulium impar* için). Üst üste çakışan inversiyonlar virgule gösterilir (IIL-5,8 gibi). Bir inversiyon başka bir inversiyonu kapsıyorsa ya da iki inversiyon ard arda ise araya nokta konur (IL-4.5 gibi) (Adler, et al., 2004).

Ters çevirmelerin tam kırık noktaları, kromozom haritaların da parantezler tarafından ifade edilir (Şekil 7).

Seks-İlgili inversiyonlar çoğunlukla, X-bağlanan ters çevirmeler için nokta koyulan parantezler tarafından haritalarda veya Y-bağlanan ters çevirmeler için çizgili parantezler tarafından gösterilir.

Bantların durumu ise üç farklı biçimde gösterilir,

(Ss) (Homozygous standart sırası)

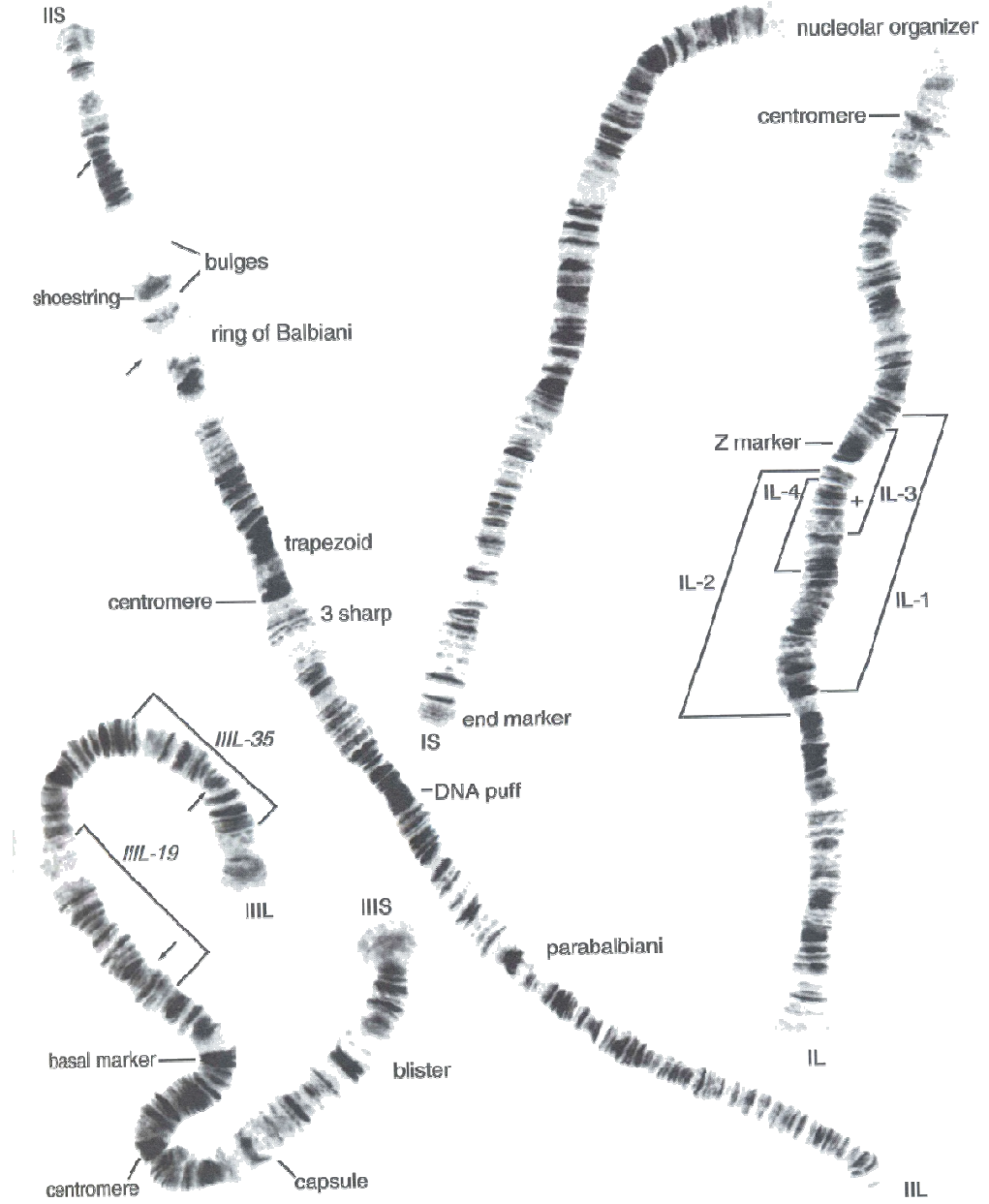
(Si) (Heterozygous hali)

(Ii) (Homozygous, ters çevrilmiş dizi).

Böylece, IL-1 ss, kendisinde IL-1 ilk ters çevirmesinin, meydana gelebildiği kromozomun kısmı için standart homozygous sırasını temsil eder.

Alternatif olarak st/st, IL-1/St, and IL-1/IL-1 üç farklı şekli için veya kısaca, St/St, 1/St, ve 1/1 yazılır.

Tüm komplement yaklaşık 100 eşit parçaya bölünür. IS en üst kısmından başlanır ve IIIIL kolunun sonuna kadar devam eder.



**Şekil 7:** *Simulium sp.* kromozom kolları ve üzerindeki yapıların gösterimi (Adler, et al' den 2004).

Bazen de kollar **p**, **c** ve **d** harfleri ile isimlendirilir proximal, sentral, ve distal olarak sayıların yönünde göstermek için kullanılırlar.

Fotoğraflanmış ve çizilmiş bir kromozom haritasında, bütün kromozomların tüm özellikleri ve yeniden düzenlenmeleri ayrıntı olarak gösterilir. Genelde her takson için standart bir harita belirlenir ve onun rehberliğinde haritalama yapılır Bir takson için belirlenen standart harita kesin olmayabilir yani her zaman gerçek bir türü temsil etmeyebilir (Adler, et al., 2004).

### **2.5.2. Politen kromozom çalışmalarının yararları**

Politen kromozomların populasyon düzeyinde incelendiğinde yüksek derecede taksonomik kararlılığa sahip olduğu görülür. Bu nedenle Sibling (kardeş) tür dediğimiz, yapısal olarak benzer ya da ayırt edilemeyen türlerin ayrılmasında kullanılır. (Adler, et al., 2004). Simuliidae sitotaksonomisinde inversiyonların tespiti, seks kromozom ayrımları ve autosomal polimorfizmler sibling türlerin belirlenmesinde yardımcı olur (Rothfels, 1956)



## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Örneklerin Araziden Toplanması

Bu çalışmada incelenen Simuliidae larva örnekleri Eskişehir civarındaki akarsulardan 2006 ve 2007 yıllarında Nisan-Ağustos ayları arasında toplandı. Suyun sığ ve özellikle akıntı hızının fazla olduğu kısımlarında yer alan bitki ve taşlar el yardımı ile süratli bir şekilde sudan çıkarıldı, larvalar tutundukları yüzeylerden ince uçlu bir pens yardımı ile dikkatlice alındı. Alınan larva örnekleri literatüre uygun şekilde kromozom çalışmaları için direkt içinde Carnoy fiksatifli bulunan 5mm'lik tüplere alındı ve çalışma anına kadar buzdolabında +4°C de saklandı (Adler, et al., 2004; Crosskey, 1993).

Benzer şekilde arazi çalışmaları sırasında, morfolojik tür tayinlerinde taksonomik değeri olan pup kokonu dikkatli bir şekilde pensle tutunduğu yüzeyden ayırarak ya da pupun yapışmış olduğu bitki yaprak ve gövdeleri bir makasla kesilerek alındı, içerisinde % 85'lik etanol bulunan 5 mm'lik kapaklı plastik tüplerde fikse edildi. Pupa örnekleri ile birlikte yine türlerin morfotaksonomik teşhisi için alkol tüplerine son larva örnekleri de alındı. Bu işlemler sonrasında 15-20 dakika beklenerek ve tüplerdeki fiksatifler dökülerek yenilendi, daha sonra bu kaplarda bırakılarak etiketli ve kaydedildi.

#### 3.2. Örneklerin Morfotaksonomik Olarak İncelenmesi

Toplanan pup ve alkole alınan larva örneklerinin öncelikle laboratuvarda diseksiyon mikroskobu yardımı ile makro düzeyde incelemeleri yapıldı. Her lokalite için ayrı ayrı olmak üzere, örnekler kaydedildi. Daha sonra Carnoy fiksatifine alınan örneklerin son larvaları ayrıldı ve alınan pup örnekleri ve teşhisi yapılan larva örnekleri ile karşılaştırılarak tayin edildi. Pupa ve larva tür teşhisi için: Şirin, 2001; Bass, 1998; Jensen, 1984; Jensen, 1997 kaynaklardan yararlanıldı.

Yapılan arazi çalışmaları sonucunda sitolojik çalışma için belirlenen 6 türden toplam 51 Simuliidae son larva örneği ile çalışıldı. Çalışmada incelenen türler, toplandıkları yerler ve tarihleri Tablo 1’de görülmektedir.

**Tablo 1:** Çalışılan Simuliidae Türleri, Toplandıkları Yer ve Tarihler.

Tür	Tarih	İstasyon Adı	Çalışılan Örnek Sayısı
<i>Simulium velutinum</i>	11.04.2007	Sökmen Deresi Sökmen Köyü Kütahya-Merkez	13 larva
<i>Simulium caucasicum</i>	14.06.2007	Kızılcaören Çeşmesi Kızılcaören Köyü Eskişehir-Merkez	6 larva
	26.06.2007	Mollaoğlu Deresi Mollaoğlu Köyü Eskişehir-Merkez	6 larva
<i>Simulium variegatum</i>	21.06.2007	Sakarı Kaplıcaları Sakarılıca Köyü Eskişehir- Mihalgazi	4 larva
<i>Simulium bezzi</i>	21.06.2007	Sakarı Kaplıcaları Sakarılıca Köyü Eskişehir-Mihalgazi	10 larva
<i>Simulium costatum</i>	18.04.2007	Akdere Akdere Köyü Eskişehir-Han	6 larva
<i>Prosimulium rufipes</i>	11.04.2007	Sökmen Deresi Sökmen Köyü Kütahya-Merkez	6 larva

Örneklerin diseksiyonunda diseksiyon mikroskobu ve inceleme mikroskobu kullanıldı. Hazırlanan preparatların dijital fotoğraf makinesi kullanılarak fotoğrafları çekildi.

### 3.3. Politen Kromozom Preparatlarının Hazırlanması

Kara sivrisineklerin sitotaksonomisinde kullanılan genelde Feulgen, Lactopropionic orsein veya Aseto-orsein metotlarıdır. Bu çalışmada Feulgen tercih edildi.

#### 3.3.1. Örneklerin fiksasyonu

Simuliidae politen kromozom analizi için kullandığımız fiksatif 1 birim glasiyal asetik asit ile 3 birim absollü alkolün karıştırılmasıyla elde edilen "Karnoy fiksatif" dir. Fiksasyon ve diseksiyon işlemleri sırasında ortam sıcaklığının 14–16°C'yi geçmemesine dikkat edildi. Bu karışım taze olarak hazırlandı ve hazırlanan fiksatif en geç bir saat içinde kullanıldı.

#### 3.3.2. Diseksiyonu

Diseksiyon mikroskobu yardımı ile larva 5. abdominal segmentinden kesildi. Kesilen abdomen ventralinden orta hat boyunca açıldı ve tükürük bezi çıkartıldı. Şeffaf yapıda olan ve vücudun her iki tarafında bulunan bu bez, içinde distile su bulunan bir petride 20 dakika yıkanarak fiksatif uzaklaştırıldı.

#### 3.3.4. Hidroliz

Feulgen metot için hidroliz en önemli aşamalardan biridir. 1M HCL kullanılır. Hidroliz için 3 önemli aşama vardır; HCL asittin konsantrasyonu, sıcaklık ve zamandır. Buradaki amaç DNA moleküllerine zarar vermeden sadece pürin-deoksiriboz bağlarını koparmaktır. Böylece aldehit grupları serbest kalır ve aldehitler renk verir. Yeteri kadar aldehit oluşmamışsa kromozomlar boyanmayacaktır. Bu çalışmada 1M HCL, 10 dakika ve 60°C de su banyosunda tutularak en iyi hidroliz gerçekleştirildi (<http://www.nottingham.ac.uk/pathology/protocols/feulgen.html>).

#### 3.3.5. Boyama

Fiksasyondan sonra hücre içindeki yapıların her biri farklı kırılma indisi kazanırlar. Bu durumda farklı hücre kısımlarını birbirinden ayırmak son derece güçleşir. Bunun önüne geçip iyi bir inceleme yapabilmek için farklı boyalar kullanmak

gereklidir. Bu amaçla boyamada bazik bir boya yöntemi olan Feulgen yöntemi kullanıldı. Politen kromozom bantları bazik boyalarla kuvvetlice boyanır. Bu yüzden pozitif feulgen reaksiyonu verir ve mor ötesi ışığı 2600 Å dalgı boyunda emerler. İnterbantlar ise fibrilli bir yapı gösterip bazik boyalarla boyanmazlar. Negatif feulgen reaksiyonu verirler ve ışığı çok az emerler (Ozban, 1994). Reaktif nükleik asitlerin aldehit grupları ile reaksiyonundan ibarettir. Sadece çekirdek kromatini veya kromozomu bu reaksiyonu verir. Sitoplazma ve hücrenin DNA içermeyen kısımlarında Feulgen negatiftir (Şaylı, 1974). Feulgen metod için kullanılacak Schiff reaktifini hazırlanması EK-1 de verilmiştir.

### 3.3.6. Ezme-yayma yöntemi

Boyamadan sonra tükürük bezi içinde sülfür suyu bulunan bir petri kabına alındı ve 10 dakika bekletilerek boya atıklarından ve boya kristallerinden arındırıldı. Daha sonra çeşme suyu ile iki kez yıkandı. Tükürük bezinden küçük bir parça lam üzerine alınarak üzerine % 50 lik asetik asit damlatıldı ve lamel kapatıldı. Kurutma kağıdı kullanılarak ezme yayma yöntemi ile preparat hazırlandı.

Preparatlar karanlıkta saklanmalıdır. Kromozomlarda bununla beraber bazı çekimler ve büzülmelere uğrar ve zamanla solar. Fotoğraflama bu nedenle geçicilerde yapıldığında, tercihen süreklilerde yapılmalıdır. Standart haritalamalar, bant örnekleri ile birlikte özellikle karşılaştırma yapmak için oil inversion lensle birlikte görüntülenmesi gerekir. Çekimlerim hemen yapılması gerekmektedir. Preparat yapıldıktan sonra kromozom çaplarında çekmelerin olduğu gözlenmiştir. Özellikle Simulium da yapılan bir araştırmada (Painter and Griffen, 1937) bu çekmelerin % 10-17 olduğu saptanmıştır. Çok hızlı gerçekleşen bu süreç özellikle aseto-carminle yapılan çalışmalarda daha fazla olduğunu göstermiştir. Aseto-Carmin ve ya Feulgen metodu ile yapılan politen kromozom çalışmalarında en iyi görüntü, lamel kapatıldıktan hemen sonra yapılan çekimlerde elde edilebilmiştir. Fotoğraflama işleminden sonra preparat sürekli hale getirilir.

### **3.4. Politen Kromozomların Analizi**

Hazırlanan preparatlar önce 40X objektifte incelendi. Belirlenen kromozomların 100X objektif ve inversiyon yağı kullanılarak fotoğrafları çekildi. Çekilen her bir fotoğrafın önceden belirlenmiş standart haritalarla karşılaştırması yapıldı. Karşılaştırmada Basrur, 1962; Rothfels, 1956; Rothfels, 1979; Leonhardt, 1985; Kachvoryan et al, 2000; Adler, Currie ve Wood, 2004; Adler, 2008'den yararlanıldı. Türlerin standart haritaları ile karşılaştırılmasında Clemson Üniversitesinden Prof. Dr. Peter ADLER'den yardım alındı.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

Çalışılan 6 türün biri *Prosimulium* diğer 5 tanesi *Simulium* genusuna aittir. Bu türlerin sistematik kategorileri aşağıda verilmiştir.

Takım :Diptera

Alttakım : Nematocera

Familya : Simuliidae Newman, 1834

Cins : *Prosimulium* Roubaud, 1906

Altcins : *Prosimulium*

*Prosimulium rufipes* (Meigen, 1830)

Cins : *Simulium* Latreille, 1802

Altcins : *Eusimulium*

*Simulium velutinum* (Santos Abreau, 1922)

Altcins : *Simulium*

*Simulium variegatum* Meigen, 1818

*Simulium caucasicum* Rubtsov, 1940,

*Simulium bezzi* (Corti, 1914)

Altcins : *Nevermannia*

*Simulium costatum* Friederichs, 1920

**Tür 1: *Prosimulium (Prosimulium) rufipes* (Meigen, 1830)**

**Sinonim:** *Prosimulium gali* (Edwards, 1921); *Prosimulium conistylum* Rubtsov, 1956; *Prosimulium fuscipens* Knoz, 1965; *Prosimulium aestivalis* Knoz, 1963

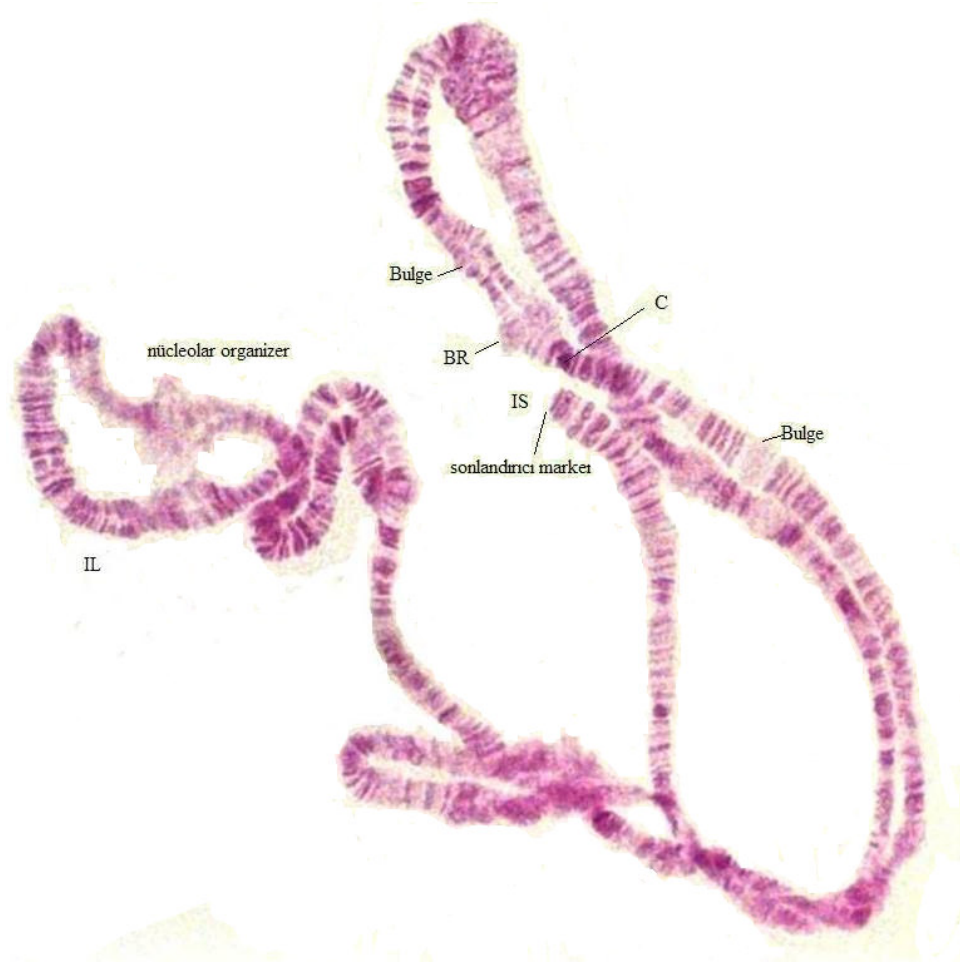


**Şekil 8:** *Prosimulium rufipes* Politen kromozom X100

**Sitoloji:** Analizi yapılan *Prosimulium rufipes* kromozomlarında standart tür kromozom özelliklerinden (Basrur, 1962) farklı olarak; III. kromozomun sentromerinin konumunda ve Y kromozomlarının baz diziliminde farklılık ile IS kolunda inversiyonlar saptandı. IS kolundaki inversiyonlar 4 ve 14. bantlar arasındadır. Aynı istasyondan alınan ve morfoloksonomik özellikleri ile *P. rufipes* olarak tayin edilen bir larvada bu inversiyonun olmadığı gözlemlendi.

**Tür 2: *Simulium (Eusimulium) velutinum* (Santos Abreau, 1922)**

**Sinonim:** *Simulium latinum* Rubzov, 1962; *Simulium rubzovianum* Serban, 1961.



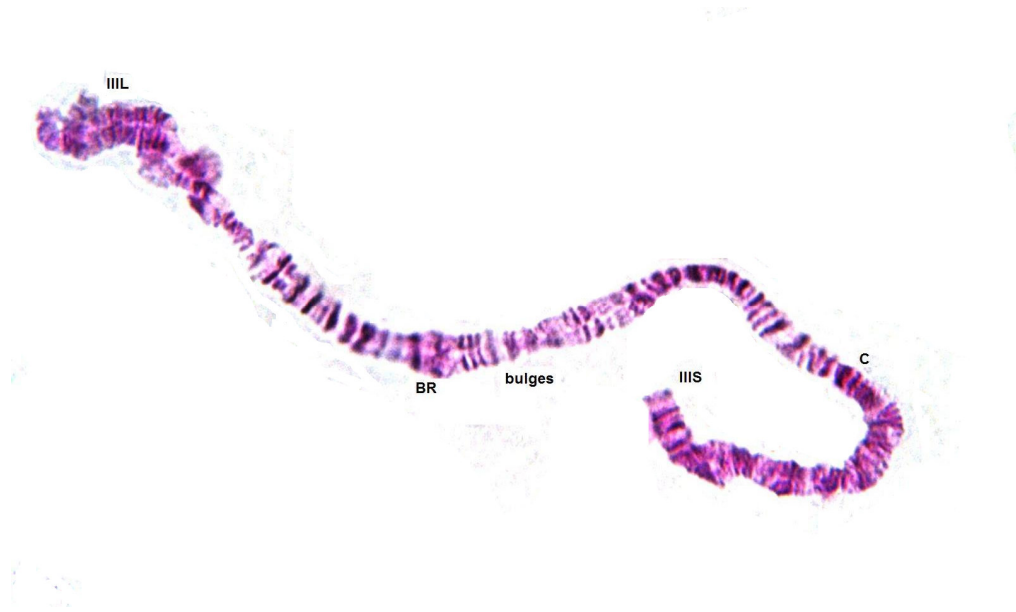
**Şekil 9:** *Simulium velutinum* Politen kromozomu X100

**Sitoloji:** Yapılan incelemede *Simulium velutinum* örneklerinin kromozom bant deseninin bu tür için belirlenen (Leonhardt, 1985) kromozomal özelliklerle uyumlu olduğu tespit edildi.



**Tür 3: *Simulium (Simulium) variegatum* Meigen, 1818**

**Sinonim:** *Simulium vernale* (Rubtsov, 1956); *Simulium autumnale* (Rubtsov, 1956); *Simulium padanum* (Rubtsov, 1964); *Simulium slovakense* (Rubtsov, 1964); *Simulium pseudovernale* (Rubtsov, 1964)

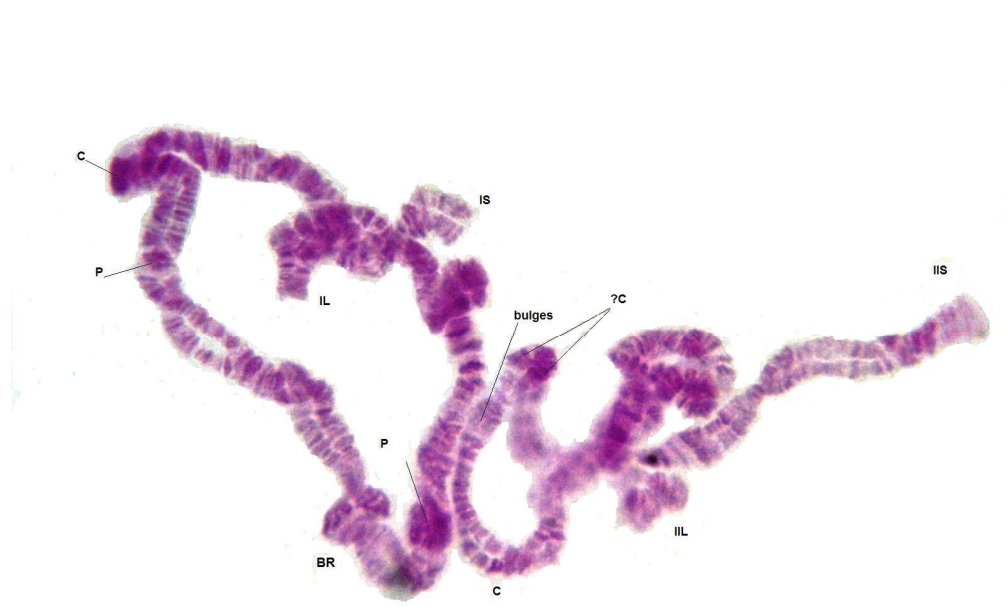


**Şekil 10:** *Simulium variegatum* Politen kromozomu X100

**Sitoloji:** *Simulium variegatum* ülkemizde ve paleartik bölgede çok yaygın bir türdür. Bu türün Avrupa ülkeleri ve Kafkaslardaki populasyonlarının kromozomal özelliklerinde farklılıkların olduğu bildirilmektedir (Adler, 2008) Yapılan incelemede çalışmadaki örneklerin kromozom bant dizisinin Batı Avrupa ile değil daha çok Kafkasya'daki populasyonlarla benzerlik gösterdiği gözlemlendi. Özellikle Y ve B kromozomları yapısal olarak aynıdır.

**Tür 4: *Simulium (Simulium) bezzi* (Corti, 1914)**

**Sinonim:** *Simulium kondici* (Baranov, 1926); *Simulium atlas* (Seguy, 1930); *Simulium crinitum* (Rubtsov, 1956); *Simulium gorjense* (Dinulescu, 1966); *Simulium granium* (Couvert, 1967)

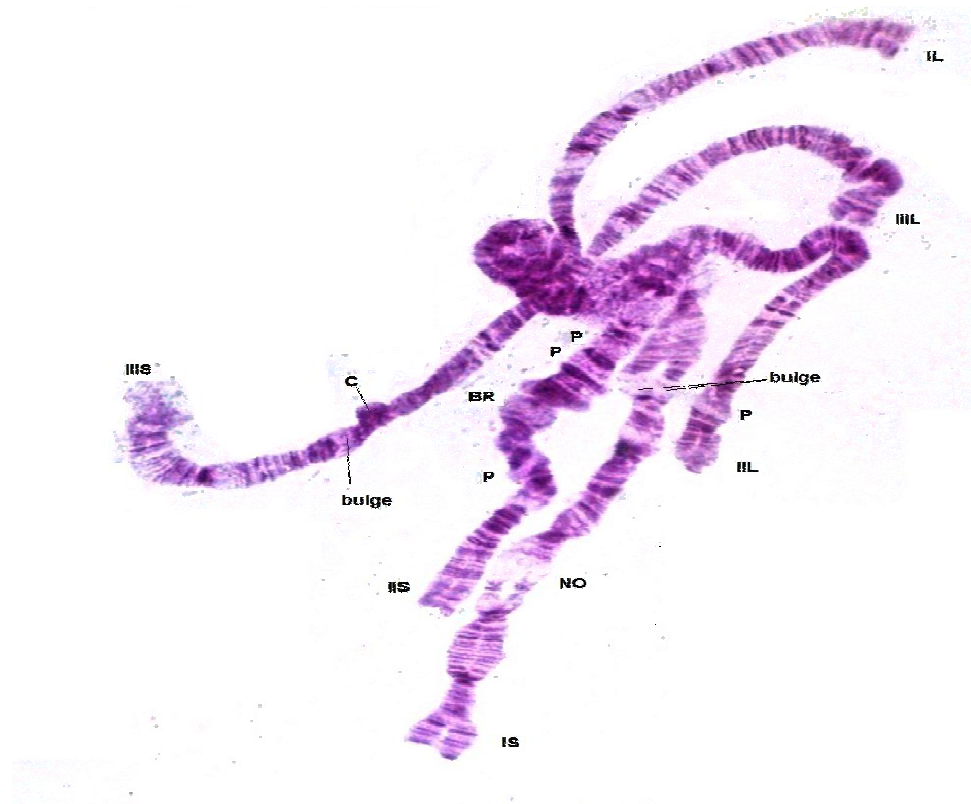


**Şekil 11:** *Simulium bezzii* Politen kromozomu X100

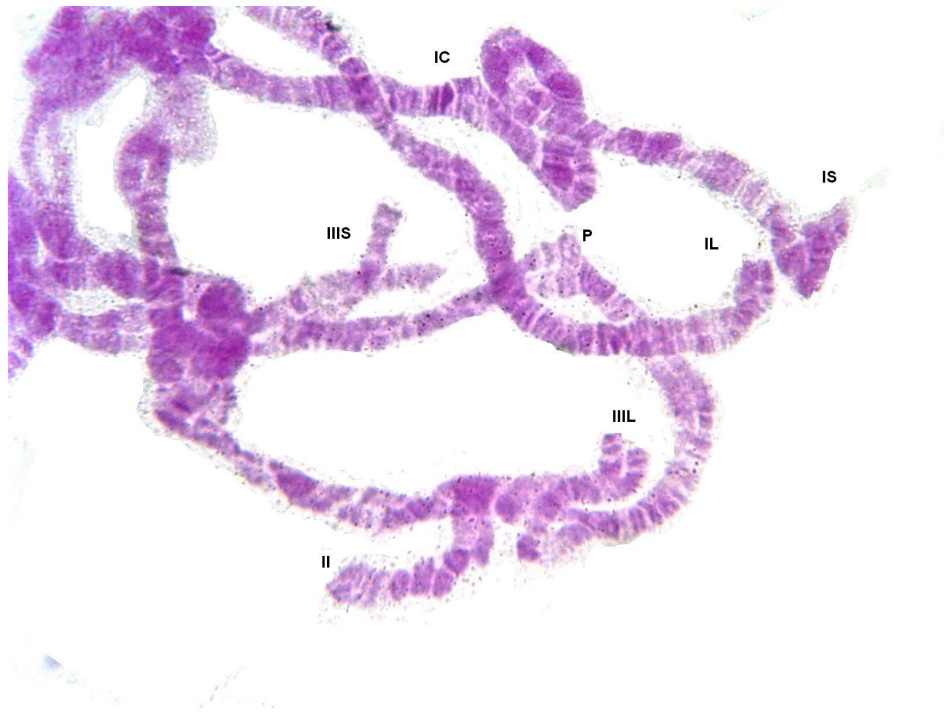
**Sitoloji:** Karşılaştırılan kromozom bant desenleri dikkate alındığında *Simulium bezzii*'nin Kafkasya bölgesi populasyonlarının belirlenen kromozom yapıları ile benzer olduğu gözlemlendi (Adler, 2008).

**Tür 5: *Simulium (Simulium) caucasicum* Rubtsov, 1940,**

**Sinonim:** *Simulium sevanense* Rubtsov&Terteryan, 1952; *Simulium cisalpinis* (Rubtsov, 1956); *Simulium longicaulis* (Rubtsov, 1956); *Simulium abacum* (Rubtsov, 1956); *Simulium minutistyli* (Rubtsov, 1963) *Simulium maculitibia* (Rubtsov, 1963)



**Şekil 12:** *Simulium caucasicum* Politen kromozomu (Mollaoğlu Deresi) X100



**Şekil 13:** *Simulium caucasicum* Politen kromozomu (Kızılcaören Çeşmesi)  
X100

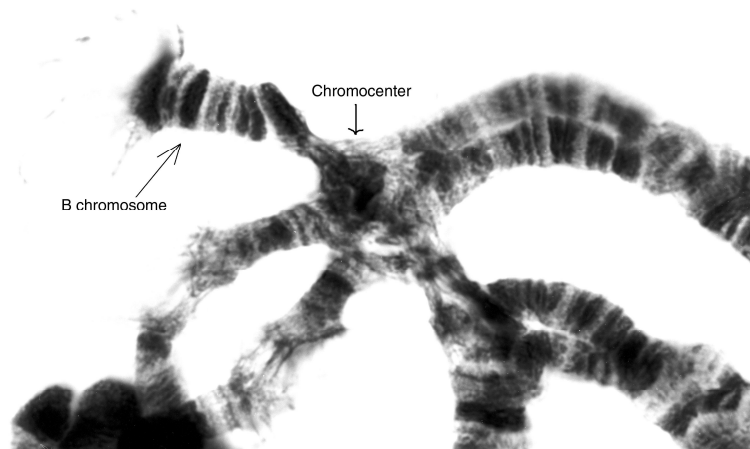
**Sitoloji:** Yapılan karşılaştırmalarda iki farklı lokaliteden (Kızılcaören Çeşmesi 14.06.2007 ve Mollaoğlu Deresi 26.06.2007) alınmış örnekler incelendi. Mollaoğlu deresine ait incelenen örneklerin kromozom bantlaşma özellikleri bu türle ilgili Ermenistan’da yapılan çalışmalarda (Kachvoryan et al, 2000; Adler, 2008) belirlenen kromozomal özelliklerle örtüşmektedir. Kızılcaören’den toplanan larva örneklerinde ise 8 farklı inversiyon saptandı. Morfotaksonomik özellikleri ile *S. caucasicum* türüne ait olduğu düşünülen bu larvaların kromozomal özelliklerinde görülen bu farklılıklar dikkate alındığında, bu lokalitede yaşayan populasyonun başka bir tür olabileceği sonucuna varıldı. İlgili lokaliteden yeniden örnekleme yapılması ve ergin bireylerin de değerlendirilmesi ile türün hangi tür olduğunun belirlenmesi gerekir.

**Tür 6:** *Simulium (Nevermannia) costatum* Friederichs, 1920

**Sinonim:** *Simulium incornutum* (Enderlein, 1929)



**Şekil 14:** *Simulium costatum* Politen kromozomu X100



**Şekil 15:** *Simulium costatum* B kromozomu

**Sitoloji:** Bant deseni, *Simulium costatum*'un diğer populasyonlarında görülen bant deseni ile aynıdır (Hunter, 1987). Sadece B kromozomuna ait desende Avrupa'daki populasyonlardan farklı olduğu görüldü. Morfolojik olarak da postgenal yarığın farklı ve diğer populasyonlara göre oldukça büyük olması dikkat çekmiştir.

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Klasik taksonomi bilindiği gibi sadece morfolojik karakterler kullanılarak canlıları sınıflandırır. Ancak çevresel faktörlerin etkisi ile bu karakterler değişime uğrayabilirken kromozomlar daha sabit bir yapı göstermektedir. Simuliidae familyasının morfotaksonomisinde karşılaşılan bazı güçlükler vardır. Bu hayvanların çok küçük vücuda ve zayıf morfolojik karakterlere sahip olmaları ile birlikte familya içerisinde morfolojik olarak ayrımı güç olan tür guruplarının çok fazla olması bu familya için kromozom çalışmalarını zorunlu hale getirmiştir. Diğer Diptera familyaları ile karşılaştırıldığında Simulidler'in politen kromozom özelliklerinin daha yalın ve kararlı bir yapıda olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada Simuliidae familyasının ülkemizde yaşadığı morfotaksonomik fauna çalışmaları ile daha önce belirlenmiş, her biri farklı bir tür gurubu üyesi olan *Prosimulium rufipes*, *Simulium velutinum*, *Simulium variegatum*, *Simulium caucasicum*, *Simulium bezii* ve *Simulium costatum* türlerinin politen kromozomları incelenmiştir. Çalışılan türlerin kromozom sayısının  $2n=6$  olduğu saptanmış ve belirlenen politen kromozom özelliklerinin literatür ile karşılaştırması yapılmıştır.

Araştırmada politen kromozom analizi yapılan *Prosimulium rufipes*'in kromozom özelliklerinin bu türle ilgili yapılan önceki çalışmalarda (Basrur, 1962) belirlenen kromozomal yapıdan farklı inversiyonlar gösterdiği tespit edilmiştir. Belirlenen inversiyonlar dikkate alındığında çalışmada değerlendirilen örneklerin kromozomal olarak bu türün Fransa ve İsviçre'deki popülasyonlarının sahip olduğu kromozomal özelliklerden çok farklı olmasına karşın Fas'ta yaşayan popülasyonlarının kromozomlarına daha çok benzediği görülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmada değerlendirilen örneklerin politen kromozomlarında özellikle sentromerin konumu sözü edilen diğer çalışmalarda belirlenen özelliklerden dikkate değer şekilde farklılık göstermektedir. Benzer şekilde Y kromozomu da farklı bir

inversiyona sahiptir. III. kromozom kolunda görülen bu farklı bantlaşmalar *Prosimulium rufipes*'in bir tür kompleksi oluşturduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte çalışmada aynı lokaliteden alınan bazı larva örneklerinde sözü edilen inversiyonların ve bantlaşmaların görülmemesi burada *Prosimulium* cinsinin bir başka popülasyonunun varlığını göstermektedir. Dolayısı ile çalışmada morfolojik özellikleri bakımından *P. rufipes* olduğu düşünülen örneklerin kromozomal analiz sonucunda iki farklı türe ait olduğu görülmüştür.

*Simulium velutinum* çalışmada politen kromozom analizi yapılan bir diğer türdür. Bu türün politen kromozom bantlaşma özellikleri, Leonhardt, (1985)'in saptadığı Avrupa'da yayılış gösteren bu türe ait popülasyonların kromozomal özellikleri ile büyük oranda benzerlik göstermektedir.

*Simulium variegatum* ülkemizde ve Paleartik bölgede çok yaygın olan türlerden bir tanesidir. Çalışmada belirlenen bu türün politen kromozom bantlaşma özelliklerinin Adler (2008)'in Kafkaslarda yaptığı çalışmadaki örneklerle büyük benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu benzerlik özellikle Y ve B kromozomlarında son derece dikkat çekicidir. Çalışmada incelenen bir diğer tür olan *Simulium bezzii* larvalarının politen kromozom özellikleri de benzer şekilde yine Adler (2008)'in Kafkasya'daki çalışmasında gözlemlendiği özellikler ile büyük oranda örtüşmektedir.

Paleartik bölgede çoğunlukla Batı Avrupa'da yaygın olan *Simulium costatum* türünün larval politen kromozom desenlenmeleri genel olarak Hunter, (1987)'nin belirlediği Avrupa popülasyonlarının özellikleri ile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte çalışmada incelenen larvaların B kromozomu taşıdığı ve bu kromozomun özellikle Batı Avrupa popülasyonlarından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. İncelenen larvaların kafa kapsüllerindeki önemli taksonomik yapılardan olan postgenal yarığın literatürde belirlenen ölçülerden daha geniş olması da dikkat çekmiştir.

Araştırmada yer verilen son tür olan *Simulium caucasicum*, ülkemizde de yayılış gösterdiği bilinen, Paleartik bölgede büyük bir yayılışa sahip, morfolojik olarak çok benzer özellikler gösteren ve familya içerisinde ayrımı en zor yapılabilen büyük bir ikiz tür gurubu olan "ornatum-tür gurubu"nun bir üyesidir. Çalışmada



morfolojik özelliklerine göre bu türe ait oduğu düşünölen larva örnekler iki farklı lokaliteden (Kızılcaören Çeşmesi 14.06.2007 ve Mollaoğlu Deresi 26.06.2007) toplanmıştır. Bu örnekler içerisinde Mollaoğlu Deresi'nden toplanan larvaların kromozom bantlaşma özellikleri bu türle ilgili Ermenistan'da yapılan çalışmalarda (Kachvoryan et al, 2000 & Adler, 2008) belirlenen kromozomal özelliklerle örtüşmektedir. Dolayısı ile incelenen larvaların bu türe ait olduğu açıktır. Ancak diğer lokaliteden (Kızılcaören) toplanan larvaların ise politen kromozomlarının temel bantlaşma özellikleri ve göstermiş oldukları en az 8 farklı inversiyonla *S. caucasicum*'dan farklı bir türe ait olabileceği saptanmıştır. Belirlenen kromozomal özelliklerin ornatım-tür gurubunun diğer üyelerinin tariflenen politen kromozom yapılarından farklı olduğu düşünölmektedir. Bu türle ilgili yapılacak yeni örneklemelerle birlikte daha kapsamlı morfotaksonomik ve sitolojik incelemeye ihtiyaç vardır.

Çalışma sonuçlarına göre incelenen 6 türden 3 tanesi (*Simulium velutinum*, *S. variegatum* ve *S. bezzii*) ile ilgili ortaya çıkan kromozomal verilerin bu türlerle ilgili ölkemizdeki morfotaksonomik tespitleri destekler nitelikte olduğu görölmektedir. Bu türlerden *Simulium velutinum*'un kromozomal özellikleri Avrupa'daki örnekleri ile benzerlik gösterirken; *S. variegatum* ve *S. bezzii* türlerinin kromozomal özellikleri Kafkaslar'daki popülasyonlar ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçların ölkemizde yaygın olan söz konusu bu türlerin zoocoğrafik bakımdan ölkemizdeki yayılışının belirlenmesine ve Anadolu'ya hangi zoocoğrafik yollar üzerinden girdiğinin ortaya konmasına katkı sağladığı açıktır. Kromozomal olarak Avrupa popülasyonları ile benzerlik gösteren *Simulium velutinum*'un ölkemize bu kıtadan girdiği, benzer şekilde *S. variegatum* ve *S. bezzii*'nin ise Kafkaslar ve Karadeniz bağlantısı ile Anadolu'ya yayılmış olduğu sonucu çıkarılabilir.

Kromozomal özelliklerinde farklılıklar tespit edilen diğer üç türle (*Prosimulium rufipes*, *Simulium caucasicum* ve *S. costatum*) ilgili olarak ise morfotaksonomik ve sitotaksonomik yöntemlerin birlikte değerlendirildiği daha kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu ve daha önceki morfotaksonomik çalışmalarda elde edilen verilerin revizyon gerektirebileceği düşünölmektedir.

Elde edilen sonuçlar, ülkemizde bilgilerimizin sınırlı olduğu bu sineklerle ilgili faunistik çalışmalara katkı sağladığı gibi, gelecekte yapılacak çalışmalarda temel morfotaksonomik yöntemlerin yanı sıra, en azından familya içerisinde görülen çok sayıda tür gurubu için, daha kesin sonuçların elde edilebilmesi adına sitotaksonomik değerlendirmelerin de yapılmasının bir zorunluluk olduğunu ortaya koymuştur.

## KAYNAKLAR

Adler, P. H., Currie D. C. & Wood, D. M., 2004. The Black Flies (Simuliidae) of North America. Cornell University Press, Ithaca, NY. xv + 941 pp. + 24 color plates.

Adler, P. H., & Crosskey, R. W., 2008, World blackflies (Diptera: Simuliidae): a fully revised edition of the taxonomic and geographical inventory 105 p.

Adler P., Kachvoryan E.A. 2001, Cytogenetics of the Holarctic Black fly *Simulium noelleri* (Diptera, Simuliidae). Canadian Journal of Zoology, 79: Pp.1972-1979.

Adler, P. H., 2005, Black Flies, the Simuliidae In: The Biology of Disease Vectors, Second Edition (Marquardt, W.C., Black, W.C., Freier, J., Hagedorn, H., Hemingway, J., Higgs, S., James, A.A. and Kondratieff, B., eds.) Academic Press. Vol. 11 127–140. Çeviri: K. İpekdal

Adler, P. H., 2008, Research notes on Chromosomal Features of Black flies species in Armenia and other Caucasian Countries (unpublished)

Altunsoy, F., 2005, Bazı Tabanidae (Insecta:Diptera) Türlerinin karyotip analizi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005, 63 s.

Austen E. E., 1925. A contribution to knowledge of the blood-sucking Diptera of the Dardanelles. Bulletin of Entomological Research 16:1 – 23.

Balık S., Ustaoglu M. R., Özbek M., Taşdemir A., Topkara E. T., 2002. Yelköprü Mağarası (Dikili, İzmir) ve Yakın Çevresinin Sucul Faunası Hakkında Ön Araştırma [A preliminary study on the aquatic fauna of Yelköprü Cave (Dikili, İzmir) and its vicinity]. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi [E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences] 19:2210 – 225. [In Turkish with short English abstract.].

Bass, J., 1998, Last-instar larvae and pupae of the Simuliidae of Britain and Ireland: A key with brief ecological notes. *Freshwater Biological Association*, Publication no. 55. 102 p.

Bedo, D. G., 1977. Cytogenetics and evolution of *Simulium ornatipes* Skuse (Diptera: Simuliidae) I. Sibling speciation. *Chromosoma* 64: 37-65.

Basrur P. K., 1959. The salivary gland chromosomes of seven segregates of *Prosimulium* with a transformed centromere. *Can J Zool* 37: 527-570.

Basrur, P. K., 1962. The salivary gland chromosomes of seven species of *Prosimulium* (Diptera: Simuliidae) from Alaska and British Columbia. *Canadian Journal of Zoology* 40: 1019-1033.

Butler, J. F., And Hogsette J. A., 1998, Black flies, *Simulium* spp. Department of entomology, University of Florida. Featured Creature, EDIS Publication. <http://creatures.ifas.ufl.edu/livestock/bfly.htm>

Chubareva L.A., Petrova N.A. 2007, Karyological characters of blackflies (Diptera: Simuliidae), *Comparative Cytogenetics*, Vol.1, No.1, p.89-94,

Crosskey, R. W., 1990, *The natural history of Blackflies*. London, The British Museum of Natural History, 711 p.

Crosskey, R. W., 1993, Section on Collecting, Preserving and Rearing Simuliid material, *Medical Insects and Arachnids*, Total 282 p. 241-287 pp. Chapman&Hall, London.

Crosskey RW. & Zvick H. 2007. New faunal records, with taxonomic annotations, for the blackflies of Turkey (Diptera, Simuliidae), *Aquatic Insects*, 29(1):21-48.

Crosskey RW. 1967. A preliminary revision of the black-flies (Diptera: Simuliidae) of the Middle East. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 119:1 – 45.

Curler, G., 2006, Polytene chromosomes. EPP 525 3 p. (yayınlanmamış)

Currie, D. C. and Adler, P. H., 2007, Global diversity of black flies (Diptera: Simuliidae) in freshwater, *Hydrobiologia*, Vol. 595, No. 1. (5 January 2008), pp. 469-475.

Demirsoy, A. 2001, Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar/Böcekler, Entomoloji, Cilt II/KısımII, Metaksan A. Ş. Ankara, s. 713-741

Demirsoy, A. (1985) Yaşamın Temel Kuralları, Cilt-1 / Kısım 1, Ankara, Metaksan Kağıt Karton Üretim Tesisleri.

Demirsoy, A., 1991 Genetik, Anadolu Üniversitesi Yayınları: 428, Açıköğretim Fakültesi Yayınları: 187, 275 s; 128 şekil, Eskişehir,

Golini V. I. ;Rothfels K., 1983, The polytene chromosomes of North American blackflies in the *Eusimulium canonicolum* group (Diptera: Simuliidae), Canadian journal of zoology ISSN 0008-4301, 1984, vol. 62, pp. 2097-2109 (21 ref.)

Hopkins, J. S., 2007, Black flies, like mosquitoes, carry disease, Times-News Dergisi.

Hunter, F. F., 1987. Cytotaxonomy of four European species in the *Eusimulium vernum* group (Diptera: Simuliidae). Canadian Journal of Zoology 65: 31023115.

İpekdal, K., Çağlar, S. S., Karacaoğlu, Ç., 2006 Siyah Sivrisinekler (Simuliidae) Ankara Büyükşehir Belediyesi Çevre Koruma Daire Başkanlığı Vektör Mücadelesi ve Yönetimi Koordinasyon Merkezi Personel Teknik Eğitim Notları- II BİOTEK. 15 s.

Jamnback, H., 1973, Recent Developments in Control of Blackflies, Annual Review of Entomology Vol. 18: 281-304.  
(doi:10.1146/annurev.en.18.010173.001433)

Jedlicka L. 1975. *Odagmia ornata caucasica* Rubtsov, 1940 (Diptera, Simuliidae) in Turkey. Acta Rerum Naturalium Musei Nationalis Slovaciae, Bratislava 21:255 – 258 [in English].

Jedlicka, L., and Stloukalova, V., 1997, Family: Simuliidae, Manual of Palearctic Diptera, Volume 2: Nematocera and Lower Brachycera, pp. 331-347, Budapest.

Jensen, F., 1984, A revision of the taxonomy and distribution of the Danish black-flies (Diptera: Simuliidae), with keys to the larval and pupal stages. Natura Jutlandica 21: 69–116.

Jensen, F., 1997, Diptera Simuliidae, Blackflies. In: A.N. Nilson (ed.) Aquatic Insects of North Europe 2:209.241

Kachvoryan EA, Harutyunova MV, Adler PH. 2000. Variability of morphological and kariological features of *Simulium causicum* (Diptera: Simuliidae) associated with anthropogenic factors in Armenia. In: Sagatelyan AK,

editor. The future of Ecological Science in Armenia, Proceedings of Republican Youth Scientific Conference. Yerevan State University. pp 77 – 80. p 112

Kazancı N, Clergue-Gazeau M. 1990. Simuliidae de Turquie. I. Premières données faunistiques et biogéographiques (Diptera, Simuliidae). Annales de Limnologie 26:45 – 50.

Klug, W. S., Cummings, M. R., 2002, Genetik Kavramlar, (Çeviri Editörü: Öner, C.) Palme Yayıncılık 537-540 s.

Leonhardt, K. G., 1985. A cytological study of species in the *Eusimulium aureum* group (Diptera: Simuliidae). Canadian Journal of Zoology 63: 20432061.

Malmqvist, B., 1994, Preimaginal blackflies (Diptera: Simuliidae) and their predators in a central Scandinavian lake outlet stream. Annales Zoologici Fennici 31: 245–255.

Malmqvist, B., Adler, P. H., Kuusela, K., Merritt, R. W., & Wooton, R. S., 2004, Black flies in the boreal biome, keyorganisms in both terrestrial and aquatic environments: areview. Ecoscience 11: 187–200.

Ozban, N., 1994, Hücre-Sitoloji Ders Kitabı. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 209-335

Özbek H, Hayat R, Aslan I. 1995. Erzurum'un bazı ilçelerinde simuliid (Diptera, Simuliidae) salgını. [An outbreak of black fly (Diptera, Simuliidae) in some towns of Erzurum]. Türkiye Entomoloji Dergisi 19:37– 42.

Painter, . S., and Griffen, . B., 1937 The Structure And The Development Of The Salivary gland chromosomes of *Simulium*. Genetics 22 : 61 2-633.

Rothfels, K.H. 1956. Blackflies: Sibling, sex and species grouping.J. Hered. 47: 113–122.

Rothfels, K. H., 1979. Cytotaxonomy of black flies (Simuliidae). Annual Review of Entomology 24: 507-539.

Rothfels, K H, Feraday, R, and Kaneps, A. 1978. A cytological study of sibling species of *Simulium venustum* and *S. verecundum* with standard maps for the subgenus *Simulium* Davies (Diptera). Can J Zool, 56, 11101128.

Rothfels K. H., 1980, Chromosomal variability and speciation in blackflies. In RL Blackman, GM Hewitt, M Ashburner (eds), *Insect Cytogenetics*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 207-224.

Rothfels, K. and V.I. Golini. 1983, The polytene chromosomes of species of *Eusimulium* (*Hellichiella*) (Diptera: Simuliidae). *Canadian Journal of Zoology* 61: 1220-1231.

Rozendaal J. A., 1997, *Vector Control*. WHO. Geneva. p. 17-18

Shelley, A. J., 2002, Human onchocerciasis in Brazil: an overview. *Cad Saúde Púb* 18: 1167-1177.

Şaylı, B. S., 1974, *Biyokimyasal genetik (moleküler genetik ve doğumsal metabolizma kusurları)*, Ankara Üniversitesi Diyarbakır Tıp Fakültesi yayınlarından sayı: 9 303 s.

Şirin, Ü., 2001, Yukarı Sakarya nehir sistemi Simuliidae (Diptera) faunasının tespiti, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir. 124 s.

Şirin U. 2002. Türkiye Simuliidae Tür Listesi ve Yayılışları, Genel Zoocoğrafya ve Türkiy Zoocoğrafyası, A. Demirsoy, 5.Baskı, Ankara s.819-822.

Şirin U & Şahin Y. 2005. New records of black flies (Diptera, Simuliidae) for the Turkish fauna. *Zoology in the Middle East* 36:87 – 98.

Türkoğlu, Ş., 2002, Türkiye’de yayılış gösteren bazı çekirge (Insecta: Orthoptera) türlerinde karyolojik incelemeler, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 98 s.

Vivas-Martínez S, Basáñez MG, Grillet ME, Weiss H, Botto C, García M, Villamizar NJ, Chavasse D. 1998. Onchocerciasis in the Amazonian focus of southern Venezuela: altitude and black fly species composition as predictors of endemicity to select communities for ivermectin control programmes. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 92:613 - 620.

Zeytinoğlu, H., 1987, Kansorejen Maddelerin *Chironomus thumni* K. (Chronomidae, Diptera) Larvalarının Tükürük Bezindeki Politen Kromozomlar Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 27 s.

http-1 <http://parasit.meb.uni-bonn.de/~maezo/tagungen/tagung03/pictures>

http-2 <http://www.nottingham.ac.uk/pathology/protocols/feulgen.html>

http-3 [http://ipm.ncsu.edu/AG369/notes/black\\_flies.html](http://ipm.ncsu.edu/AG369/notes/black_flies.html)



**EK-1: Kullanılan kimyasallar ve hazırlanması****Schiffs Reaktifinin Hazırlanışı:**

1. 200 ml kaynamış distile suyun içerisine 1 gr bazik fuksin konur.
2. Daha sonra 50 °C'ye soğutulur.
3. 2 gr potasyum metabisülfid bir cam bagetle karıştırılarak ilave edilir
4. Oda sıcaklığına soğutulur, 2 ml konsantre hidroklorik asit karıştırılır ve bir gün karanlıkta bekletilir
5. bir gün beklemiş olan karışıma aktive etmek için büyük bir parça kömür tozu katılır. İyice çalkalandıktan sonra filtre edilir. Solüsyon soluk sarı bir renkte olacaktır.
6. +4 derecede saklanır...

**1N HCL hazırlanışı:**

İstenen hacimde, %37'lik stok HCl 'den 0.1N'lik HCl solüsyonu hazırlamak için gerekli hesaplamalar yapılır. (82,89 ml HCL 1000 ml distile suya tamamlanır). Öncelikle distile su ölçülür, daha sonra asit yavaş yavaş suya ilave edilir. İyice çalkalanarak kullanılır.

**Sülfür solüsyonunun hazırlanışı:**

1. 200ml distile su
2. 1 gr potasyum metabisülfid
3. 10 ml 1 N HCl

**% 45 lik asetik asit solüsyonu:**

Asetik asit bir mezür yardımıyla 45ml ölçülür ve üzerine 100ml oluncaya kadar bidistile su ilave edilir. Küçük hacimler halinde, 4 °C'de, ağzı sıkıca kapalı bir şekilde saklanır.

Yukarıdaki kimyasalların ve solüsyonların hazırlanmasında kaynak olarak <http://www.nottingham.ac.uk/pathology/protocols/feulgen.html> internet adresinden yararlanılmıştır.

**Carnoy fiksatif:**

İstenen hacimde Metanol / Glacial asetik asit 3:1 oranında karıştırılır Bu karışım, taze olarak hazırlanmalı ve kullanılmalıdır. (P. H. Adler 2007, yazılı görüşme)