

Türkiye *Simulium ornatum* Tür Grubunun (Simuliidae: Diptera), Filogenisi,
Filocoğrafyası ve Taksonomisi

Ebru Ceren Fidan

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2020

Phylogeny, Phylogeography and Taxonomy of *Simulium ornatum* Species Group
(Simuliidae: Diptera) of Turkey

Ebru Ceren Fidan

DOCTORAL DISSERTATION

Department of Biology

January 2020

Türkiye *Simulium ornatum* Tür Grubunun (Simuliidae: Diptera), Filogenisi,
Filocoğrafyası ve Taksonomisi

Ebru Ceren Fidan

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

Danışman: Doç. Dr. D. Ümit Şirin

Bu Tez Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 201619A220 no'lu proje çerçevesinde desteklenmiştir.

Ocak 2020

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Ebru Ceren Fidan'ın DOKTORA tezi olarak hazırladığı “Türkiye *Simulium ornatum* Tür Grubunun (Simuliidae: Diptera), Filogenisi, Filocoğrafyası ve Taksonomisi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. D. Ümit ŞİRİN

İkinci Danışman : -

Doktora Tez Savunma Jürisi:

Üye : Doç. Dr. D. Ümit ŞİRİN

Üye : Prof. Dr. Battal ÇIPLAK

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hakan ÇALIŞKAN

Üye : Prof. Dr. Serap MUTUN

Üye : Doç. Dr. Recep Sulhi ÖZKÜTÜK

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

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. D. Ümit Şirin danışmanlığında hazırlamış olduğum Türkiye “*Simulium ornatum* Tür Grubunun (Simuliidae: Diptera) Filogenisi, Filocoğrafyası ve Taksonomisi” başlıklı DOKTORA tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 06/01/2020

Ebru Ceren Fidan

İmza

ÖZET

DNA, türlerin, tür gruplarının ve daha üst taksonların arasındaki evrimsel ilişkiyi belirlemede kullanılan oldukça işlevsel bir araçtır. Bu çalışmada Palearktik'te geniş yayılış gösteren *Simulium* cinsi *ornatum* tür grubunun Anadolu'da yayılış gösteren türlerinin filogenileri, filocoğrafyaları ve taksonomik durumları COI, NADH₂ ve ITS 1 ve 2 gen bölgeleri kullanılarak araştırılmıştır.

Türkiye'nin 19 farklı su havzası sınırları içindeki, 54 il ve 222 farklı lokaliteden 2014-2018 yılları arasında tür grubuna ait çok sayıda örnek elde edilmiştir. Bununla birlikte Avrupa'daki 17 farklı lokaliteden toplanan bireyler de çalışmaya dâhil edilmiştir. Toplam 384 bireyden total DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu ve Sanger sekanslama sonrasında her gen bölgesi için farklı sayıda veri setleri oluşturulmuş ve veri setlerine; maksimum olasılık, maksimum parsimoni, Bayesian filogeni, haplotip ağı analizleri, moleküler saat analizi ve genetik çeşitlilik analizleri uygulanarak tür grubunun evrimsel ilişkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Çalışma sonucunda; morfotaksonomik olarak *Simulium ornatum* Meigen, 1818 ve *Simulium kiritshenkoi* Rubtsov, 1940 olduğu tespit edilen türlerin genetik olarak iki ayrı tür olmadığı tespit edilmiştir. Tür grubunun bir diğer türü olan *Simulium intermedium* Roubaud, 1906 türü ülkemizden ilk kez kaydedilmiştir. Yapılan filogenetik analizler sonucunda bu türün *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* türlerinden farklılaşmakta olan kardeş bir tür olarak değerlendirilebileceği ön görülmüştür. *Ornatum* tür grubu Anadolu türleri ile ilgili faunistik verilerin revizyona ihtiyacı olduğu sonucuna varılmıştır. Geometrik morfometri analizleri sonucunda morfolojik teşhislerde sık kullanılan pupa solunum filamentlerinin, tür grubu için tür ayrımlarında işlevsiz olduğu görülmüştür. Tür grubu içinde *S. intermedium* türünün, *S. kiritshenkoi*+*S. ornatum* kladı ile yaklaşık olarak 3,5 milyon yıl önce (Pleistosen-Pliyosen geçişi) son ortak atayı paylaştıkları tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik analizleri sonucunda elde edilen verilerle tür grubunun Anadolu popülasyonları arasında hibritleşme oranının fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Simulium ornatum*, COI, NADH₂, ITS 1-2, Filogeni, Filocoğrafya

SUMMARY

DNA is a highly functional tool for determining evolutionary relationship between species, species groups and higher taxa. In this study, phylogeny, phylogeography and taxonomy of the Anatolian *S. ornatum* species group, which is widely distributed in Palearctic, were investigated using COI, NADH₂ and ITS 1 and 2 regions.

A high number of specimens collected from 222 different localities representing 54 provinces in 19 freshwater basins in Turkey between 2014-2018. Besides, specimens from 17 different localities from Europe were included in the study. Total DNA was extracted from 384 individuals. After polymerase chain reaction and Sanger sequencing, datasets were generated for each region and; maximum likelihood, maximum parsimony, Bayesian phylogeny, haplotype network analysis, molecular clock analysis and genetic diversity analysis were applied to the data sets with the aim of the assessment of the evolutionary relationships of the species group.

The following conclusions were drawn for the species group; morphotaxonomically, identified as *Simulium ornatum* Meigen, 1818 and *Simulium kiritshenkoi* Rubtsov, 1940 were found to be genetically not as two distinct species. *Simulium intermedium* Roubaud, 1906, which is another species of the species group, was recorded for the first time from our country. As a result of the phylogenetic analysis, it was predicted that this species could be considered as a sibling species differentiating from *S. ornatum* + *S. kiritshenkoi* clade. It is concluded that faunistic data of *Ornatum* species group of Anatolia need revision. As a result of geometric morphometry analysis, pupae respiratory filaments, which are frequently used in morphological diagnoses, were found to be dysfunctional in species separation in this species group. Within the species group, *S. intermedium* species, shared the last common ancestor with *S. kiritshenkoi* + *S. ornatum* clade about 3.5 million years ago (Pleistocene-Pliocene transition). As a result of genetic diversity analyzes, it is concluded that the hybridization rate of the species group among Anatolian populations is very high.

Keywords: *Simulium ornatum*, COI, NADH₂, ITS 1-2, Phylogeny, Phylogeography.

TEŞEKKÜR

Tez konusuna karar verme aşamasından yazdığım son cümleye kadar her türlü desteği ve yardımıyla daima yanımda olan, akademik anlamda yetişmem için bana çok emek veren, çalışma hayatındaki özeni ve titizliğiyle bana yol gösteren değerli danışmanım Doç. Dr. D. Ümit Şirin'e, minnettarlığımı sunarım.

Tez izleme komitemde yer alan ve tezimin tüm aşamalarında sabırla ve değerli yorumlarıyla beni yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Battal Çıplak'a (Akdeniz Üniversitesi, Biyoloji Bölümü), ve sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Hakan Çalışkan'a tezimin şekillenmesindeki katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince beni 2211A-Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı ile destekleyen TÜBİTAK'a ve tezimi 201619A220 kodu proje ile destekleyen Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Verilerin analizi sürecinde bıkmadan her sorumu yanıtlayan, başım her sıkıştığında yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Sarp Kaya'ya (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü), çalışmanın tamamlanmasındaki katkılarından ötürü teşekkür ederim.

Çalışmada yer alan Avrupa örneklerini temin edip tarafıma gönderen Dr. Simone Ciadamidaro (İtalya –Torino, Biyoçeşitlilik ve Çevre Bilimleri Laboratuvarı) ve Dr. Tatiana Kúdelová (Slovakya-Bratislava Üniversitesi Zooloji Bölümü)'ya teşekkür ederim. Tez sürecinde bana laboratuvarını açan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Çabuk'a ve destek olan sevgili arkadaşlarım, Dr. Belma Yaman, Dr. Serap Gedikli, Dr. Seda Hoşgün, Özgül Yahyaoğlu ve Onur Uluar, Merve Küçükuyum, Burcu Daşer Özgüşi ve Dr. Kurtuluş Özgüşi'ye ve örnek toplamadaki desteklerinden dolayı Ceyhun Destire'ye teşekkür ederim.

Son olarak her koşulda benim yanımda olan, en yoğun dönemlerimde anlayışla bana destek olan sevgili eşim Volkan Fidan'a, biricik kızım Eylül Fidan'a ve haklarını ödeyemeyeceğim annem Nuran Küçükkayk ve babam Süleyman Küçükkayk'ya, en içten teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Ebru Ceren Fidan

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışma Materyali	23
3.2. Morfotaksonomik Çalışmalar	24
3.3. Landmark Tabanlı Geometrik Morfometri Çalışmaları	25
3.4. Moleküler Çalışmalar	26
3.4.1. Total DNA eldesi	26
3.4.2. DNA'nın nanodrop ölçümü, miktar ve kalite tayini	28
3.4.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	28
3.4.4. Jel elektroforezi	31
3.4.5. Veri analizleri ve kullanılan programlar	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	38
4.1. Morfotaksonomik Analizler	56
4.2. Geometrik Morfometrik Analizler	61
4.3. Filogenetik Analizler	68
4.3.1. <i>Simulium ornatum</i> tür grubunun cins içindeki yeri	69
4.3.2. <i>S. ornatum</i> tür grubu COI gen bölgesi filogenetik bulguları	80
4.3.3. <i>S. ornatum</i> tür grubu NADH ₂ gen bölgesi filogenetik bulguları	99
4.3.4. <i>S. ornatum</i> tür grubu ITS 1-2 bölgesi filogenetik bulguları	108
4.4. Genetik Çeşitlilik Analizleri	118
4.4.1. COI gen bölgesi için elde edilen genetik çeşitlilik bulguları	118
4.4.2. NADH ₂ gen bölgesi için elde edilen genetik çeşitlilik bulguları	131

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	143
5.1. <i>Simulium ornatum</i> Tür Grubu'nun Cins İçindeki Yeri Analizlerinin Değerlendirilmesi	146
5.2. <i>S.ornatum</i> Tür Grubu COI Gen Bölgesi Filogenetik Bulguları Değerlendirilmesi	147
5.3. <i>S.ornatum</i> Tür Grubu NADH ₂ Gen Bölgesi Filogenetik Bulguları Değerlendirilmesi	149
5.4. <i>S.ornatum</i> Tür Grubu ITS 1-2 Bölgesi Filogenetik Bulgularının Değerlendirilmesi	150
5.5. Geometrik Morfometri Bulgularının Değerlendirilmesi.....	151
5.6. Genetik Çeşitlilik Bulgularının Değerlendirilmesi	151
KAYNAKLAR DİZİNİ	156
ÖZGEÇMİŞ	171

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Anadolu'nun coğrafik pozisyonu ve temel coğrafik bariyerleri (Bilgin, 2011'den).	4
1.2. Türkiye su havzaları (Anonim, 2019b).....	4
1.3. <i>Simulium kiritshenkoi</i> 'ye ait pupal solungaç yapısı.....	9
2.1. <i>Simulium kiritshenkoi</i> a) ergin genel vücut görüntüsü b) pupa genel vücut görüntüsü.	14
2.2. <i>Simulium kiritshenkoi</i> larva genel görüntüsü.....	14
2.3. Böcek halkasal Mtgenomu, (Li vd., 2012'den değiştirilerek alınmıştır).	20
2.4. ITS 1-2 (internal transcribed spacer) gen bölgelerinin nüklear genomdaki yeri (Aguilera-Muñoz vd., 2008).	22
3.1. Tez kapsamında örnekleme yapılan akarsu havzaları	27
3.2. COI gen bölgesine ait PZR örneklerinin Jel elektroforez görüntüleri.....	31
4.1. Tür grubunun elde edildiği lokalitelerin uydu-lokasyon görüntüsü	39
4.2. Avrupa'nın çeşitli ülkelerinden gönderilen karşılaştırma materyallerinin uydu- lokasyon görüntüsü	39
4.3. <i>S. kiritshenkoi</i> (A-solunum filament, B-Kokon, C-Larva kafa kapsülü dorsal, D- Larva kafa kapsülü ventral, E-ventral plak) <i>S. ornatum</i> (F- solunum filament, G- Kokon, H-Larva kafa kapsülü dorsal, I- Larva kafa kapsülü ventral), ve <i>S.</i> <i>intermedium</i> (J- solunum filament, K- Kokon, L- Larva kafa kapsülü dorsal, M- Larva kafa kapsülü ventral) türleri larva ve pupa görüntüleri.....	60
4.4. Filamentler üzerinde belirlenen landmark noktaları.....	61
4.5. Pupa filamentlerindeki varyasyon miktarını gösteren eğri.....	61
4.6. Procrustes analizi (örtüşürme analizi) sonucu landmarkların dağılımı	62
4.7. Bireylerin ilk iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC1-PC2).....	65
4.8. Bireylerin 2. iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC1-PC3).....	65
4.9. Bireylerin 2. iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC2-PC3).....	66
4.10. Grupların ilk iki kanonik düzlem üzerindeki dağılımı	67
4.11. UPGMA ağacında 4 grubun karşılaştırılması.....	67
4.12. <i>Simulium</i> cinsine ait COI haplotiplerinin Maksimum Olasılık ağacı, dallar üzerindeki değerler 100 tekrarlı seç-bağla testi desteklerini göstermektedir.....	75
4.13. <i>Simulium</i> cinsine ait COI haplotiplerinin Bayesian filogenetik ağacı.....	76

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.14. <i>Simulium cinsine</i> ait COI haplotiplerin SVDquartets filogenetik ağacı	77
4.15. Network analizi ile gerçekleştirilen <i>Simulium</i> cinsi haplotip ağı analizi.....	78
4.16. Network analizi ile gerçekleştirilen <i>Simulium</i> cinsi haplotip ağı analizi içerisinde <i>S. ornatum</i> tür grubu haplotip ağı ilişkisi.....	79
4.17. 162 haplotiple gerçekleştirilen MP analizleri sonucu elde edilen katı uyum ağacı. Dallar üzerindeki değerler 100 tekrarlı seç bağla analizi destek değerlerini göstermektedir. Siyah ile işaretlenen ana dal destek değerlerinden ilki SVDquartets ikincisi MO, üçüncüsü MP analizi değerini göstermektedir.	84
4.18. <i>S. ortanum</i> tür grubu COI gen bölgesi 162 haplotip ayrıntılı görünümü.	85
4.19. COI 162 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı).....	86
4.20. COI 162 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı).....	87
4.21. Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (COI-162 haplotip)	88
4.22. <i>Simulium ornatum</i> tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (COI-162 haplotip).....	89
4.23. <i>S. ornatum</i> tür grubunun COI geni 277 haplotip veri seti ile oluşturulan MO ağacı. (SVDquartets, ve BI analizi değerleri ağaç üzerinde verilmiştir	93
4.24. <i>S. ortanum</i> tür grubu COI gen bölgesi 277 haplotip ayrıntılı görünümü.	94
4.25. Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (COI-277 haplotip veri seti).....	95
4.26. COI 277 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı).....	96
4.27. COI 277 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı).....	97
4.28. <i>Simulium ornatum</i> tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (COI-277 haplotip).....	98

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.29.S. <i>ornatum</i> tür grubunun NADH ₂ geni ile MO analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaç (SVDquartets ve BI analiz sonuçları eklenmiştir).....	102
4.30.S. <i>ortanum</i> tür grubu NADH ₂ gen bölgesi 232 haplotip ayrıntılı görünümü.	103
4.31.Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (NADH ₂ -232 haplotip)	104
4.32.NADH ₂ 232 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı).....	105
4.33.NADH ₂ 232 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı).....	106
4.34. <i>Simulium ornatum</i> tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (NADH ₂ -232 haplotip).....	107
4.35.ITS1-2 168 allel veri seti ile oluşturulan allel ağı analizi (Network programı)	114
4.36.Network analizinde Kuzey Anadolu fay hattı üzerinde şekillenen haplogrup lokalitelerinin Türkiye Deprem tehlike haritası üzerinde gösterimi	115
4.37.SVDquartets analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaç ve Tür sınırları belirleme testleri sonucu.....	116
4.38.SVDquartets analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaç ve Tür sınırları belirleme testleri sonucu.....	117

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1.Türkiye Nehir Havzaları Hakkında Genel Bilgi.....	5
3.1.Çalışılacak gen bölgeleri için sentezlenen Primer dizilimleri	29
3.2.Polimeraz Zincir Reaksiyonu için hazırlanan materyal içerikleri	29
3.3.PZR reaksiyon basamakları (COI)	30
3.4.PZR reaksiyon basamakları (NADH ₂)	30
3.5.PZR reaksiyon basamakları (ITS1-5.8S rRNA-ITS2).....	30
3.6. <i>Simulium</i> cinsine ait türlerin NCBI Kodları ve Tür isimleri, Tez çalışmasından alınan türlerin kod ve isimleri	35
4.1.Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri,Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir	40
4.2.Türlerin tespit edildiği lokaliteler	56
4.3.Her bir landmark'ın görece katkı değerleri	63
4.4.Her bir landmark'ın görece katkı değerleri	63
4.5.Görece warplar için hesaplanan tek ve kümülatif değerler	64
4.6.Tür düzeyinde CVA tabanlı kümeleşme çizelgesi. (yeşil ile işaretlenenler farklı tür içerisinde çıkan birey sayıları)	68
4.7.Tez çalışmasında gerçekleştirilen tüm filogenetik analizlerin karşılaştırmalı özellikleri; MO (Maksimum Olasılık), BI (Bayesian Filogeni), MP (Maksimum parsimony), SVD (SVDquartets), ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery).....	69
4.8. <i>Simulium</i> cinsine ait 84 haplotipin frekans ve isimleri (COI-351 bp).....	70
4.9.ITS 1-2 gen bölgesi haplotiplerinin frekans ve isimleri	108
4.10. <i>S. ornatum</i> tür grubuna ait 19 populasyon için genetik çeşitlilik indeksleri (COI) (tanımlayıcı istatistikler)	120
4.11. <i>S.ornatum</i> tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)	121
4.12. <i>S. ornatum</i> tür grubuna ait 19 populasyonun Pairwise F _{st} değerleri (COI)	129
4.13. <i>S. ornatum</i> tür grubuna ait populasyonların tarihsel demografik analizleri (COI)....	130
4.14. <i>S. ornatum</i> tür grubuna ait 19 populasyon için genetik çeşitlilik indeksleri (NADH ₂) (tanımlayıcı istatistikler).....	133

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.15.S. <i>ornatum</i> tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (NADH ₂)	134
4.16.S. <i>ornatum</i> tür grubuna ait 19 populasyonun Pairwise F _{st} değerleri (NADH ₂)	141
4.17.S. <i>ornatum</i> Tür grubuna ait populasyonların tarihsel demografik analizleri (NADH ₂)	142

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
π	Pi
θ	Teta
τ	Tau
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
A	Adenin
C	Sitozin
D	Tajima test istatistik değeri
G	Guanin
n	Dizi sayısı veya örnek sayısı
N	Populasyon sayısı
m	Metre
m ³	Metre küp
μ l	Mikrolitre
T	Timin

Kısaltmalar **Açıklama**

ABGD	Automatic Barcode Gap Discovery
AIC	Akaike Information Criterion
ATP	Adenozin trifosfat
atp6	ATP sentaz 6 geni
atp8	ATP sentaz 8 geni
bç	Baz çifti
BEAST	Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees
BEAUti	Bayesian Evolutionary Analysis Utility
BI	Bayesian Inference

SİMGELER VE KISALTMALAR (devam)

Kısaltmalar Açıklama

BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
COI	Sitokrom oksidaz alt ünite I
cox1	Sitokrom oksidaz 1 geni
cox2	Sitokrom oksidaz 2 geni
cox3	Sitokrom oksidaz 3 geni
CVA	Canonical Variance Analysis
Cyt	Cytoform
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika
dNTP	Deoksiribonükleotit Trifosfat
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EtBr	Etidyum Bromid
F _{st}	Populasyonlar arası genetik farklılaşma
GPS	Global Positioning System Küresel Konumlandırma Sistemi
GTR	General Time Reversible
HPD	High Posterior Density
ITS	Internal transcribed spacer
IMP	Birleştirilmiş Morfometri Paketi
kb	Kilobaz
lnL	Log-likelihood
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MO	Maksimum Olasılık
MP	Maksimum Parsimoni
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
Myö	Milyon yıl önce
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

SİMGELER VE KISALTMALAR (devam)

Kısaltmalar **Açıklama**

NCBI	National Center for Biotechnology Information veritabanı
ng	Nanogram
nd1	NADH dehidrojenaz 1 geni
nd2	NADH dehidrojenaz 2 geni
nd3	NADH dehidrojenaz 3 geni
nd4	NADH dehidrojenaz 4 geni
nd4l	NADH dehidrojenaz 4L geni
nd5	NADH dehidrojenaz 5 geni
nd6	NADH dehidrojenaz 6 geni
PAUP	Pylogenetic Analysis Using Parsimony Program
PCA	Principal Component Analysis
pH	Power of hydrogen (hidrojenin gücü)
PLS	Partial least square
pmol/ul	Picomol per microlitre
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	Ribozomal DNA
rRNA	Ribozomal RNA
RNAse	Ribonükleaz
SVDquartets	Singular Value Decomposition Scores for Species Quartets
sn	Saniye
sp	Species
s. str	Sensu stricto
Taq	Thermus aquaticus
TAE	Tris-Asetat-EDTA
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UV	Ultra Viole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyolojik çeşitlilik ya da daha yaygın kullanımıyla biyoçeşitlilik terimi 1980'li yıllarda ortaya çıkan, tür içerisinde ve türler arasında olduğu kadar ekosistemler arasındaki çeşitliliği ele alan, herhangi bir kökenden canlı organizmaların çeşitliliği olarak tanımlanmaktadır (Başbüyük vd., 2013).

Sistemik araştırmalar, biyolojik tür zenginliklerinin ortaya çıkarılması ve korunması açısından biyolojik bilimler arasında önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda moleküler biyoloji tekniklerinin daha etkin hale gelmesi diğer temel biyoloji alanlarında olduğu gibi biyoçeşitlilik araştırmalarında da çok yönlü verilerin elde edilmesine imkân tanımaktadır. Geleneksel faunistik araştırmalarda belirlenen tür listelerinin kullanılabilirliği sınırlıdır. Bu nedenle biyoçeşitliliğin çok yönlü anlaşılması konusunda birçok soruya cevap olmazlar (Çıplak, 2004).

Evrim bilimi türlerin nasıl çeşitlendiği ve ekosistemlerin nasıl ortaya çıktığı sorularını cevaplamaya çalışır (Başbüyük vd., 2013). Çeşitli gen bölgelerini kullanan DNA dizisine dayalı yaklaşımlar; soyları tanımlamak, biyolojik çeşitliliği keşfetmek ve betimlemek için sağlam bir araçtır (Low vd., 2015). Moleküler verilerin filogenetik yaklaşımlarla analizi; çeşitliliğin çok boyutlu tanımı, çeşitliliğin kökeni ve oluşumunun yanı sıra, oluşum süreci ile ilişkili nedenleri ve bu günkü durumunu çeşitlenme nedenleri ile ilişkilendirilerek gelecekteki durumunun tanımlanabilmesine olanak sağlamaktadır (Çıplak, 2004). Yerküre üzerinde eşit bir dağılışı göstermeyen biyoçeşitlilik; farklı yaşam alanlarında farklı yaşam formlarının ve birlikteliklerinin ortaya çıkması ile zenginleşmiştir.

Biyocoğrafya; hücrelerden, organizmalara ve biyomlara kadar her seviyedeki canlının dağılışı, dağılışı nedenlerini, zamansal ve evrimsel yönden inceleyen bir bilim dalıdır. Bir canlının biyocoğrafik geçmişini yorumlayabilmek için evrim, taksonomi, ekoloji, jeoloji, paleontoloji vb. bir çok bilim dalından faydalanmamız gerekmektedir (Cox ve Moore, 2005). Biyocoğrafyanın özellikle ekoloji ve filogeniyi birleştiren bütünleyici bir disiplin olduğu varsayılabilir. Ancak güncel veriler bu bilim dalının kesişim noktası olmadığını, aksine ekolojiyi bir miktar göz ardı ettiğini göstermektedir. Kalıtsal verinin tür

ve türleşme çalışmalarında kullanılmaya başlamasıyla biyocoğrafya çalışmalarının çehresi değişmiş çoğunlukla filogeni ile birlikte yol almaya başlamıştır. Son zamanlarda yapılan biyocoğrafya çalışmalarında elde edilen bulgular, çalışılan bölgeler arasındaki jeolojik bağlantı hipotezleriyle ilişkilendirilmekte; jeoloji ve filogeni sonuçlarının ilişkilendirilmesi için ise moleküler bir zaman ölçeği kullanılmaktadır (Wiens ve Donoghue, 2004).

Dünyanın milyonlarca yıldır geçirmiş olduğu jeomorfolojik ve iklimsel değişimler farklı coğrafyaları farklı şekillerde etkilemiş, farklı coğrafyalardaki türlerin bu değişimlere cevabı da farklı olmuştur. DNA dizilerinin türlerin coğrafi dağılımları ile ilişkili gen ağaçlarının çıkarılıp kullanılması olarak tanımlanabilecek filocoğrafyanın üretmiş olduğu bilgi bu alandaki araştırmalara önemli katkılar sağlamaktadır (Avice, 2004). Filocoğrafya; genetik varyasyonun tür içi ve yakın türler arasındaki dağılımını belirleyen süreçleri anlamayı amaçlar. Bununla birlikte jeolojik olayların, çevresel etkilerin ve coğrafi etkenlerin bir türün ekolojisi ve doğa tarihi ile etkileşerek o türün evrimini nasıl şekillendirdiği ile ilgili türe özgü bilgiler verir (Knowles, 2009; Pramual vd., 2012). Modern filocoğrafik yaklaşımlar, şaşırtıcı bir dizi farklı yöntem ve moleküler araç kullanır ve toplum ekolojisi, klimatoloji ve jeolojiden; moleküler ve evrimsel genetiğe kadar geniş bir disiplin kesitinden elde edilen verileri kullanır (Knowles, 2009).

Kriptik çeşitliliği keşfetmek ve tür sınırlarını belirlemek mümkün müdür? Bir türün, tür grubunun veya cinsin içerisindeki popülasyonlarda gen aktarımı hangi düzeydedir? Geçmiş öyküsü bilinen bir popülasyonun taksonomik devamlılığı ile ilgili tahmin yapılabilir mi? Morfolojik olarak farklı olduğu düşünülen bir taksonun üst taksonla bağlantısı ve izolasyonu bulunmakta mıdır? Bu ve benzeri birçok bilimsel sorunun cevabına filogeni ve filocoğrafya ile ulaşılabilir (Adler vd., 2010; Low vd., 2015).

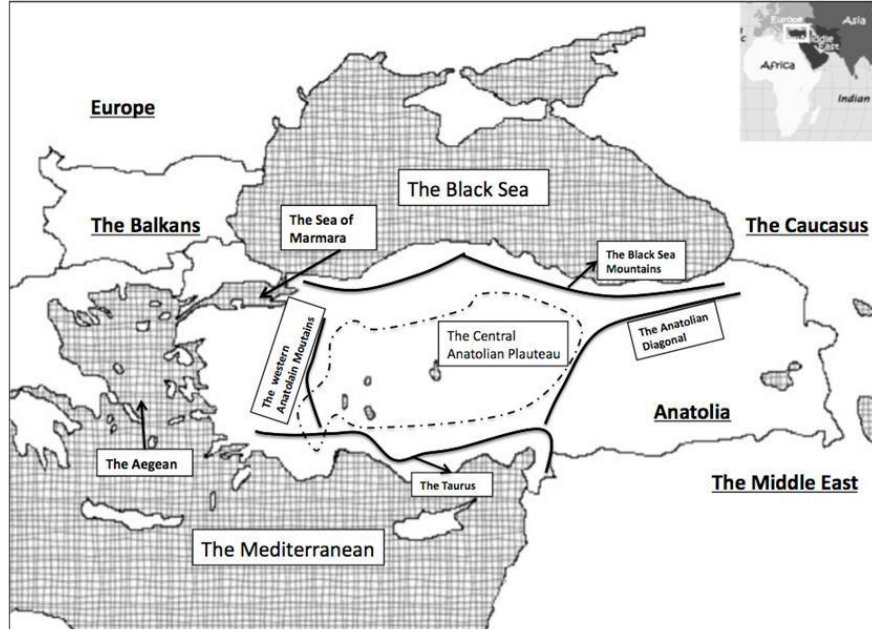
Anadolu, Dünya'da biyoçeşitlilik merkezi (hot spot) olarak nitelenen 36 biyoçeşitlilik alanından üçüne (Kafkas, İran-Anadolu ve Akdeniz) ev sahipliği yapan, kendine özgü eşsiz biyolojik zenginliği ile kıta özelliği gösteren bir ülkedir (Myers vd., 2000; Çıplak, 2003; Şekercioğlu vd., 2011; Gür, 2017).

Nispeten genç bir kara parçası olan Anadolu, Afrika kıtasının Avrasya bloğuna bindirmesi sonucu oluşan Alp Himalaya orojenezine bağlı olarak yükselmeye başlamış bir

kara parçasıdır (Şengör vd., 1983). Milyonlarca yıllık jeolojik süreçlerin sonucu olarak alanda birçok dağ sırası meydana gelmiş, birçok çöküntü oluşmuştur. Zaman içerisinde bu coğrafik yapıların bir kısmı canlılar için doğal birer bariyer, bir kısmı ise yayılış koridoru oluşturmuşlardır. Anadolu içerisinde hayvan türlerinin yayılışları üzerine etkili olan başlıca bariyerler; Toroslar, Karadeniz Sıradağları, Anadolu Diyagonalı (Amanos, Binboğa, Munzur, Kargapazarı, Palandöken, Allahuekber Dağları), Marmara denizi, İstanbul ve Çanakkale boğazlarıdır. Buzul devirleri gibi dönemlerde canlılar için sığınak ve yayılış koridoru oluşturan önemli yükseltiler; Dinar, Babadağ, Uludağ, Kaz Dağı, Erciyes, Süphan, Nemrut ve Ağrı dağlarıdır (Şekil 1.1) (Bilgin, 2011; Ambarlı vd., 2016). Buzul dönemlerinde sığınak görevi görmüş Anadolu'daki soy hatlarına ait genetik çeşitliliğin oluşumunda, Pleistosen devrindeki iklimsel değişimlerin etkisi görülmektedir (Çıplak, 2004; Çıplak, 2008; Kaya vd., 2014).

Bir popülasyonun belirli bir bölgede dağılışı göstermesi milyonlarca yıllık bir tarihsel olaylar örüntüsü sonucu meydana gelmiştir. Bu nedenle; yapılan biyocoğrafik çalışmalar sistematik, ekoloji, evrim ve tarihsel/plaka tektoniği coğrafyasının sentezi olmalıdır. Özellikle yapılan moleküler çalışmalar jeolojik bulgularla birlikte değerlendirilmeli ve yorumlanmalıdır. Coğrafik bariyerlerin taksonlarda meydana getirdiği genetik farklılıklar bu şekilde objektif olarak değerlendirilebilir (Çıplak, 2008; Bilgin, 2011).

Ülkemiz topoğrafik yapıya bağlı olarak 25 hidrolojik su havzasına ayrılmıştır (Şekil 1.2). Bu havzaların toplam yıllık ortalama akışları 186 milyar m³'tür. Hidrolojik havzaların her birinde yıllık yağış miktarı aynı olmadığından, verimleri ve su potansiyelleri de farklıdır. Fırat Havzası 31.61 milyar m³ ile en fazla su verimine sahiptir. Akarçay Havzası 0.49 milyar m³ ve Burdur Gölü Havzası 0.50 milyar m³ ile su potansiyeli en düşük havzalardır (Çizelge 1.1). Türkiye'nin jeolojik yaş olarak oldukça genç ve arazinin fazla eğimli olmasına bağlı olarak oluşan topoğrafyası sonucu akarsuların rejimleri genellikle düzensiz ve vahşi dere (akış) karakterindedir (Akın ve Akın, 2007; Ulusal Havza Yönetim Stratejisi, 2014).



Şekil 1. 1. Anadolu'nun coğrafik pozisyonu ve temel coğrafik bariyerleri (Bilgin, 2011'den).



Şekil 1. 2. Türkiye su havzaları (Anonim, 2019b).

Çizelge 1. 1. Türkiye Nehir Havzaları Hakkında Genel Bilgi (Anonim, 2019b).

Havza Adı	Havza Numarası	Alan-Hektar
Meriç Ergene	01	1687165,126
Marmara	02	2306345,985
Susurluk	03	2430612,724
Kuzey Ege	04	984021,9976
Gediz	05	1712481,453
Küçük Menderes	06	697659,3057
Büyük Menderes	07	2595756,289
Batı Akdeniz	08	2103004,92
Antalya	09	2020683,177
Burdur	10	628985,4029
Akarçay	11	798926,5919
Sakarya	12	6329971,818
Batı Karadeniz	13	2887552,678
Yeşilirmak	14	3956797,723
Kızılırmak	15	8217407,412
Konya Kapalı	16	5007301,317
Doğu Akdeniz	17	2182270,589
Seyhan	18	2149860,725
Asi	19	789235,9189
Ceyhan	20	2173038,962
Fırat ve Dicle	21	17705147,78
Doğu Karadeniz	22	2286706,243
Çoruh	23	2026324,92
Aras	24	2853440,461
Van Gölü	25	1788007,505

Diptera takımı içerisinde bulunan Simuliidae sahip olduğu 26 cins ve bu cinslere ait 2328 tür sayısı ile oldukça büyük bir taksondur (Adler, 2019). Familya üyeleri kutup bölgeleri dışında tüm Dünya'da geniş bir yayılışa sahip olup, larva ve pupa evrelerinde akarsu sistemlerinin temel fauna bileşenlerinden biridir. Ülkemiz akarsu havzalarının hemen hepsinde yayılış gösterdiği bilinmektedir (Başören ve Kazancı, 2016).

Rheofilik larva ve pupaları akarsu bentozunda yoğun birey sayıları ile baskın bir grupturlar. Larvalar genel olarak su içerisindeki asılı organik maddeler, detritus, bakteriler, diatomlar, diğer alg türleri ve protozoonlar gibi diğer küçük hayvansal organizmaları filtre ederek beslenirler. Dolayısı ile besin zincirinde, predatörleri ve beslendikleri organizmalar arasındaki halkayı oluşturmaktadırlar (Crosskey, 1990).

Simuliidae larvalarının lotik ekosistemlerdeki önemli bir rolü de filtre ettikleri asılı organik partikülleri parçalayarak sediment halinde dibe çökmelerine engel olarak sistemdeki madde döngüsüne katılımlarını sağlamalarıdır. Öte yandan çoğu türden oksijen

duyarlılıkları nedeniyle su kirliliği araştırmalarında biyoindikatör olarak yararlanılmaktadır (Malmqvist vd., 2004).

Familya içerisinde omurgalı hayvanlardan kan emen türler bulunmaktadır. Özellikle ergin dişiler yumurtlama döneminde kan ile beslenirler. Kan yoluyla taşıdıkları hastalıklar ve ısırma sonucu meydana gelen komplikasyonlar nedeniyle zararlı eklembacaklılar içerisinde medikal ve veterinerlik açısından dünyada üçüncü sırada yer almaktadırlar (Adler vd., 2010; Medmedev vd., 2017). Yüksek ateş, kilo kaybı, zayıflık, vücut kondüsyonunda düşüş gibi belirtilerle karakterize edilen "Blackfly fever" adı verilen ateşli bir hastalığa neden olurlar. Narin hayvanlarda bu durum ölümlle sonuçlanabilir. Bazı türlerin populasyon patlaması yaşamasıyla hindi ve tavuk gibi çiftlik hayvanlarında toplu ölümler meydana getirdiği bildirilmiştir. Bu familyanın bazı türleri ördeklerde filaria, kuş ve çiftlik kanatlılarında ise Leucocytozoonosis taşıyıcısı olarak görülmektedirler (Srisuka vd., 2017). Yoğun birey sayısına sahip populasyonların kan emme aktiviteleri hayvanlar üzerinde üreme stresine, anemiye ve fiziksel rahatsızlığa yol açmaktadır. Bunun yanında taşıdıkları hastalık etmenleri çiftlik hayvanlarının ürün veriminde % 30'lara varan düşüş meydana getirip ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla yaban hayatındaki kuş ve memelilere verdikleri zararlar da çalışılmaktadır (Bukacinski ve Bukacinska, 2000; Adler vd., 2004).

Familyanın bazı türleri *Onchocerca volvulus* nematodunun vektörüdürler. Bu nematod insanlarda ve çiftlik hayvanlarında (büyük ve küçükbaş) Onchocerciasis (Nehir körlüğü) hastalığını meydana getirir. Bir bireye virüs bulaştığında, yetişkin dişi nematod, deri altı bağ dokularında dolaşarak, binlerce larva üretir. Bu larvalar deriye ve göze göç eder ve bu organlarda hasara neden olarak korkunç kaşıntı ve oküler lezyonlara neden olurlar. Yıllarca tekrarlanan üreme döngüsüne maruz kalan vücut bu lezyonlar nedeniyle geri dönüşü olmayan sakatlıklara ve körlüklere neden olabilir (Hill vd., 2019).

Simuliidae içerisinde morfolojik olarak çok benzer kriptik türler bulunmakta ve bunlar tür grupları olarak adlandırılmaktadır. Familya taksonomisinde sucül evredeki bireyler örnekleme kolaylığı nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir. Ancak tür grupları içerisindeki türlerin birbirlerinden ayrımlarında kullanılan larva kafa kapsülü ve pupa solunum filamentleri gibi morfolojik karakterlerdeki benzerlikler önemli bir sorun

olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte bireylerin küçük vücut yapısına sahip olmaları da araştırmacıları klasik morfotaksonomik incelemelerin yanı sıra özellikle aynı tür grubunda yer alan türlerin birbirinden ayırımında politen kromozom özelliklerine dayalı sitotaksonomik yöntemler ve DNA temelli moleküler yöntemleri kullanmaya yönlendirmiştir (Adler vd., 2004).

Simulium s. str. alt cinsi tüm Dünya'da 25 tür grubu ve bu gruplara ait 496 türle temsil edilmektedir. Palearktikte 24, ülkemizde ise 5 türle temsil edilen, *Simulium ornatum* tür grubu, alt cinsin 8. büyük tür grubudur.

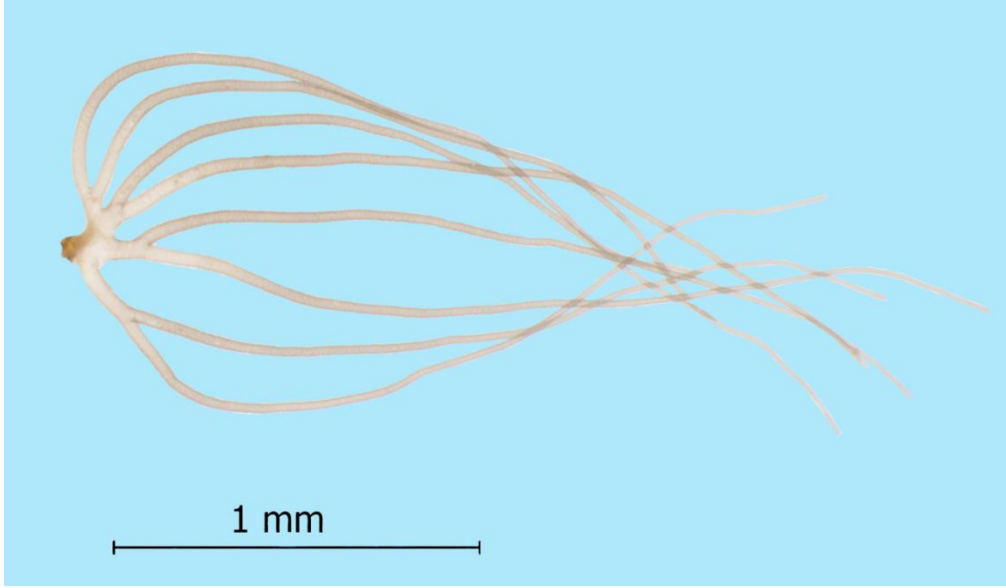
S. ornatum tür grubuna ait türlerin pupal solungaçlarının dal sayısı 8 olup filamentlerin dallanma düzeni, kokon örgülerinin yapısı, larval evredeki karakterler cinsin diğer türlerinden ayrı bir özgünlüğe sahiptir (Şekil 1.3). Bununla birlikte *ornatum* tür grubu içerisinde tanımlanmış 24 türü ile Paleartik bölgede yayılış gösteren, taksonomik açıdan sorunlu ve türlerinin birbirinden ayırt edilmesi en zor gruplarından bir tanesi olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Knoz, 1965; Zwick, 1995; Crosskey, 2002, 2004; Jedlicka vd., 2004). Türlerin tanımlanmasında temel olarak sucul evrelerdeki bireylere dayalı tanımlamalar ve bu evrelerdeki bireylerde görülen varyasyon sıklığı problemin temel nedeni olarak görülmektedir. Familyanın genelinde olduğu gibi türlerin teşhislerinde özellikle larval ve pupal evredeki bireylerden yararlanılması; larval karakter olarak postgenal yarıklık, hipostomium dişleri, apotom benekleri, pupal solungaç filamentlerinin dallanma düzeni ve kokon örgüsü gibi zayıf sayılabilecek taksonomik karakterlerin kullanılması, bazı türlerin orijinal deskripsiyonlarındaki yetersizlikler gibi özellikle bu tür grubuna ait taksonların belirlenmesinde problemlerin varlığı da bilinmektedir (Crosskey ve Zwick, 2007; Bernotien, 2010). Özellikle Rubtsov (1956) ve Rivosecchi (1978) gibi araştırmacılar bu zayıf taksonomik karakterlere dayalı olarak çok sayıda alttür de tanımlamışlardır. Tür ayrımlarında kullanılan pupa solungaç filamentlerinin dallanma yapıları ve ortak sap boyutları gibi kullanılan karakterlerin aynı türün farklı jenerasyonlarında dahi değişkenlik gösterebileceği bildirilmiştir (Jedlicka, 1975).

S. ornatum tür grubu türlerinin substrat yapısı, suyun sıcaklığı ve akış hızı gibi biyoekolojik tercihlerinin çok çeşitli ve toleranslarının çok geniş olması sayesinde, temiz,

soğuk yoğun akışlı ve düşük pH'lı sulardan, kirlilik düzeyi yüksek az akışlı geçici akarsulara kadar birçok sistemde gözlemlenebilmektedirler (Bernotiene, 2010; Başören vd., 2013; Şirin vd., 2015). Yıl boyunca 4-5 nesil veren bu tür grubunun bireylerine Mart-Ekim ayları arasında akarsularda ve ergin olarak karada rastlanması, türlerin geniş bir coğrafyada çok yoğun bir yayılışa sahip olduğunu göstermektedir (Petric vd., 2006).

Tür grubu bireylerinin benzer ekolojik çevreleri paylaşımlarının yanı sıra morfolojik karakterlerin de benzerlik göstermesi tür grubu taksonlarının çalışılmasında farklı metot ve yaklaşımların uygulanmasını şart koşmaktadır. Son yıllarda, sitotaksonomi ve moleküler taksonomi yöntemleri familya için olduğu gibi *ornatum* tür grubu içerisinde de teşhisi zor olan taksonların belirlenebilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Day ve Godall, 2008; Adrianov vd., 2015; Low vd., 2018; Shields ve Procunier 2019; Shields ve Hokit, 2019.).

Bu nedenle Anadolu'da gerçekleştirilen özellikle sadece sucul evrelerdeki bireylerin kullanıldığı çalışmalarda yanlış teşhislerin olabileceği ve tür grubunda sıkça gözlenen gizli türlerin varlığı nedeniyle, mevcut tür sayısının daha fazla ya da daha az olabileceği ön görülmektedir. Bu durum tür grubunun taksonomik, filogenetik ve filocoğrafik olarak çözümlenmesi gereken problemleri olduğunu düşündürmektedir. Anadolu'nun coğrafik yapısı ve jeolojik geçmişi göz önüne alındığında yapılan bu çalışmada elde edilen DNA temelli verilerin tür grubunun taksonomisi ile ilgili problemlerin çözümlenmesine katkı sağlayacağı açıktır.



Şekil 1. 3. *Simulium kiritshenkoi*'ye ait pupal solungaç yapısı

Tür grubunun ülkemizde varlığı bilinen türleri; *Simulium baracorne* Smart, 1944; *Simulium fontanum* Terteryan, 1952; *Simulium kiritshenkoi* Rubtsov, 1940; *Simulium ornatum* Meigen, 1818; *Simulium trifasciatum* Curtis, 1839 'dur (Adler, 2019). Yapılan çalışmalarda morfolojik olarak *S. ornatum* tür grubuna ait olduğu belirlenen ama kesin tür teşhisi gerçekleştirilemeyen türler *S. ornatum* sp. olarak listelenmiştir.

1) Cins; **SİMULIUM** Crosskey

Alt Cins; *Simulium* Latreille s. str

ORNATUM tür grubu

1. *Simulium baracorne* Smart, 1944

Dünya yayılışı: Bulgaristan, Yunanistan, Romanya, Sırbistan, Slovakya, Türkiye, Ukrayna (Kırım), Özbekistan (Adler, 2019).

Türkiye yayılışı: Büyük Menderes havzası, Sakarya havzası (Kazancı ve Ertunç, 2016).

2. *Simulium fontanum* Terteryan, 1952

Dünya yayılışı: Ermenistan; Azerbaycan, İran, Romanya, Rusya (SR), Türkiye (Adler, 2019).

Türkiye yayılışı: Sakarya havzası (Başören ve Kazancı, 2016).

3. *Simulium kiritshenkoi* Rubtsov, 1940

Dünya yayılışı: Ermenistan, Azerbaycan, Bulgaristan, Kıbrıs, İran, Irak, Pakistan, Romanya, Rusya (Kafkasya), Tacikistan, Türkiye, Ukrayna (Adler, 2019).

Türkiye yayılışı: Eskişehir-Kartal Deresi, Kütahya-Uludere, Kütahya-Gelinkaya Deresi Kütahya-Akse Deresi, (Şirin, 2001); İzmit- İzmit-Bolu yolu, Çorum-Boğazkale, Çorum-Alacahöyük, Erzurum-Pasinler, Adana-Kozan, Adana-Saimbeyli, Kahramanmaraş-Yalakköy (Crosskey ve Zwick, 2007); Eskişehir-Merkez-Kızılcaören köyü, Eskişehir-Merkez-Mollaoğlu köyü (Tuzla, 2008); Büyük Menderes Havzası, Ceyhan Haczası, Fırat Havzası, Kızılırmak Havzası, Yeşilirmak Havzası, Zamantı Nehri (Kazancı ve Ertunç, 2008); Kocaeli-Gölcük-Şirinköy Deresi, Kocaeli-Çayırova-Göçbeyli Deresi, Kocaeli-İzmit-Emirhanlar Deresi, Kocaeli-Kartepe-Eşme Deresi, Kocaeli-Kandıra-Karaağaç Deresi, Ferizli Deresi ve Hediyeli Deresi, İstanbul-Ağva-Küçükklü Deresi, İstanbul-Çekmeköy-Hüseyinli Deresi, İstanbul-Beykoz- Çavuşbaşı Deresi- Polonezköy Deresi ve Cumhuriyet Deresi, İstanbul-Şile-Bıçkı Deresi, Bursa-İznik-Karasu Deresi; Sakarya-Akyazı-Bıçkıdere, Sakarya- Sapanca- Mahmudiye Deresi (Şirin vd., 2014); İstanbul-Gaziosmanpaşa, İstanbul-Silivri, Kırklaeli-Kıyıköy, Kırklaeli-Vize, Kırklaeli-Demirköy, Kırklaeli-Armağan, Kırklaeli-Merkez, Kırklaeli- Kofçaz, Kırklaeli-Babaeski, Edirne-Merkez, Edirne-Keşan, Edirne-Hatıpköy, Tekirdağ-Malkara, Tekirdağ-Şarköy, Çanakkale-Gelibolu (Şirin vd., 2015)

4. *Simulium ornatum* Meigen, 1818

Dünya yayılışı: Cezayir, Andorra Avusturya, Beyaz Rusya, Belçika, Bosna, İngiltere (CI, En, Sc, Wa), Bulgaristan, Çin (Gu, Jilin, LiYu), Hırvatistan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Estonya, Finlandiya , Fransa, Almanya, Yunanistan (Girit, Rodos dahil), Macaristan, İrlanda, İsrail, İtalya (Sardunya, Sicilya), Ürdün, Kazakistan, Letonya, Lübnan, Lihtenştayn, Lituanya, Lüksemburg, Makedonya, Moğolistan, Karadağ, Fas, Hollanda, Norveç, Polonya, Portekiz, Romanya, Rusya (CR, KM, NR, SR), Sırbistan, Sibirya (ES, FE, WS), Slovakya, Slovenya, İspanya, İsveç, İsviçre, Tunus, Türkiye, Ukrayna, Özbekistan (Adler, 2019).

Türkiye yayılışı: Bursa-Mezit Deresi (Kazancı ve Clergu-Gazeau, 1990); Kütahya-Porsuk Çayı, Eskişehir-Kargın Deresi, Eskişehir-Kırka Akın Deresi, Sivrihisar-Pünek Deresi, Nallıhan-Kocaçay (Şirin, 2001); Tunceli-Pülümür-Munzur, (Crosskey ve Zwick, 2007); Büyük Menderes Havzası, Fırat Havzası, Göksu Havzası, Yeşilirmak Havzası, Zamantı

nehri, (Kazancı ve Ertunç, 2008); Muğla-Yuvarlakçay, Muğla-Namnam çayı, Amasya-Akçay, Aydın-Çine çayı, Bolu-Yedigöller (Ertunç ve Kazancı, 2009); Giresun-Şebinkarahisar (Kazancı ve Ertunç 2010); Giresun-Dereli yolu, Trabzon-Sümela Kilisesi, Rize-Anzer platosu, Gümüşhane Zigana geçidi (Başören ve Kazancı, 2012); Ankara-Çubuk (Başören vd., 2013).

5. *Simulium trifasciatum* Curtis, 1839

Dünya yayılışı: Cezayir, Andorra, Avusturya, Belçika, Britanya (İngiltere, CI), Bulgaristan, Hırvatistan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda, İtalya, Litvanya, Hollanda, Polonya, Portekiz, Slovakya, Slovenya, İspanya, İsviçre, Türkiye, Ukrayna (Adler, 2019).

Türkiye yayılışı: Aras nehri, Köyceğiz koruma alanı, Yedigöller National Park, Yeşilirmak Havzası, (Kazancı ve Ertunç, 2008); Muğla- Yuvarlakçay, (Ertunç ve Kazancı, 2009) Giresun-Şebinkarahisar (Kazancı ve Ertunç 2010); Trabzon-Akçaabat, Trabzon-Uzungöl, Rize-Ayder yaylası, Rize-Anzer platosu, Gümüşhane Zigana geçidi, Giresun-Dereli yolu (Başören ve Kazancı, 2012); Ankara-Hatip çayı (Başören vd., 2013).

6. *Simulium ornatum* sp.

Türkiye yayılışı: Mersin-Sertavul geçidi, Elazığ-Kömürhan geçidi, Tunceli-Pülümür yolu (Crosskey ve Zwick, 2007); Kayıhan- Kunduzözü deresi, Gecek deresi, Ayvalı köyü-Akarçay deresi, Düzagaç deresi, Deliyusuf çesmesi, Savran-Çayıçi deresi, Kocatepe-Gazipasa çesmesi, Dağılgan deresi, Bolvadin-Gerenlik deresi (Kalafat, 2008); Kırıkkale - Yahşihan, Kırıkkale-Merkez (Gazyacı, 2011).

Ülkemizde bu gruba ait tür kayıtlarının önemli bir kısmı larval ya da pupal bireylere dayalı olarak yapılmıştır (Crosskey ve Zwick, 2007). Türlerin rapor edildiği çoğu çalışmada detaylı deskripsiyonların bulunmaması bazı tür teşhislerinde hataların olma olasılığı yüksektir. Bununla birlikte tür grubunda sıkça gözlenen gizli türlerin varlığı nedeniyle, mevcut tür sayısının daha fazla ya da daha az olabileceği ön görülmektedir. Bu durum tür grubunun taksonomik, filogenetik ve filocoğrafik olarak çözümlenmesi gereken problemleri olduğunu düşündürmektedir. Anadolu'nun coğrafik yapısı ve jeolojik geçmişi göz önüne alındığında yapılan bu çalışmada elde edilen DNA temelli verilerin tür grubunun taksonomisi ile ilgili problemlerin çözümlenmesine katkı sağlayacağı açıktır. Bu

zamana kadar tür grubuna dair elde edilen faunistik kayıtların türlerin yayılış örüntülerini yeterince yansıtmadığı da bir gerçektir.

Taksonlar arasındaki filogenetik ve filocoğrafik ilişkilerin belirlenmesinde en güvenilir verilerin DNA'dan elde edildiği açıktır. Çalışmada *ornatum* tür grubunun Anadolu'daki varlıkları morfotaksonomik yöntemlerle tespit edilmiş olan üyeleri ve popülasyonlarının genetik ilişkileri araştırılmış ve taksonomik statüleri ile ilgili problemlerin çözülmesi amaçlanmıştır. Buradan yola çıkarak; Avrupa'nın doğusundan elde edilen tür grubuna ait bireylerle birlikte, Anadolu da yayılış gösteren tür grubuna ait bireylerden çekirdek ve mitokondri genomuna ait 3 farklı DNA bölgesi (NADH₂, COI, ITS 1-2) çalışılmıştır. Elde edilen verileri ile;

- i) tür grubunun ülkemizdeki popülasyonlarının sahip olduğu genetik çeşitliliği saptamak,
- ii) türler arasındaki filogenetik ilişkileri ve filocoğrafik yapılanmasını belirlemek,
- iii) Anadolu ve Avrupa temsilcilerinin filogenetik ilişkisini saptamak,
- iv) Grup içerisindeki olası kriptik ve yeni türlerin varlığını aydınlatmak,
- v) Dünyadaki diğer çalışmalardan elde edilen dizilerle birleştirilerek (Gen Bank'tan indirilip) tür grubunun filogenisine ve taksonomisine yönelik çıkarımlarda bulunmak,
- vi) Elde edilecek DNA dizileri ile tüm dünyada birçok canlı için yürütülen DNA barkodlama çalışmalarına bu familya açısından katkıda bulunmak,
- vii) COI ve NADH₂ gibi moleküler saat tahminleri için kullanışlı mitokondriyal gen bölgeleri ile türlerin ayrılma zamanını belirlemek,
- viii) Morfolojik teşhislerde sık kullanılan pupa solunum filamentlerinin türlerin ayırımındaki yetkinliğini geometrik morfometrik analizlerle test etmek amaçlanmıştır.

Çalışmada elde edilecek bulgularla tür grubunun Anadolu temsilcilerinin fauna yapısı ve yayılış örüntüsü ortaya konacaktır. Çalışılan türlere ait 3 farklı gen bölgesi dizileri gen bankasına kaydedilerek familya türlerinin sistematığı ve evrimi ile ilgili gelecek araştırmalara veri altyapısı oluşturulacaktır.

2. TEORİK BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

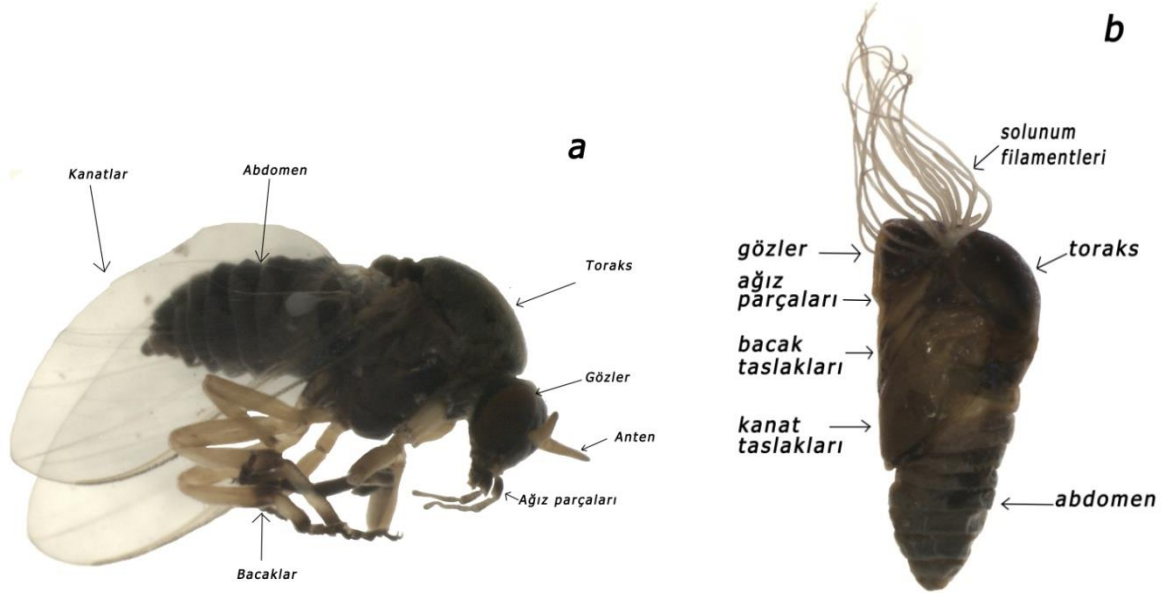
Simuliidae, Diptera'nın Nematocera alt takımı içerisinde yer almaktadır. Genellikle siyah renkli tıknaz vücutları, güçlü bacakları ve geniş kanat yapıları ile alttakımın diğer familyalarından kolaylıkla ayırt edilebilirler (Adler vd., 2004).

Simuliidae türleri hem yaşam döngülerinin bir kısmını akarsularda geçirmesi, hem de bazı türlerde ergin dişilerin kan emmesi vasıtasıyla parazit taşımalarından dolayı oldukça önemli bir gruptur (Crosskey, 1990).

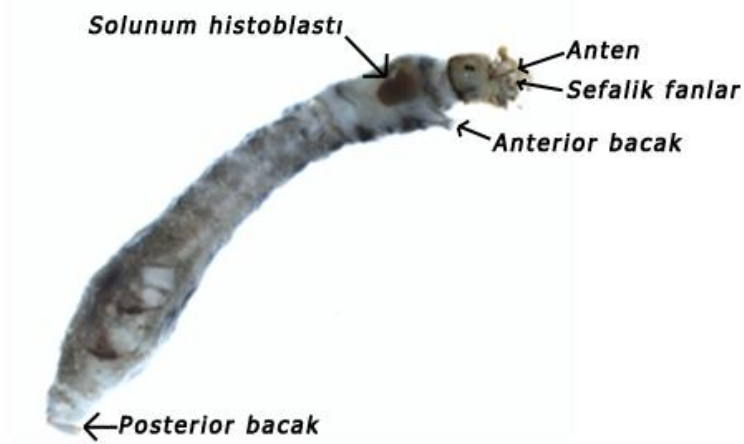
Vücutları baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Abdomen ayrımları çok belirgin olmayan 11 segmentten meydana gelmiştir. Eusefalik yapıda olan baş kısmı belirgin şekilde vücuttan ayrılır. Sklerotize olmuş sağlam görünüşlü başta, iyi gelişmiş bir çift anten, bir çift sefalik fan ve ağız parçaları bulunur (Şekil 2.1.a). Toraks baş bölgesine oranla kalın olup ventral tarafında, ucunda kancalardan oluşmuş bir halkanın bulunduğu bir adet proleg (ön ayak) bulunur. Abdomen ilk segmenti ince olan ve son segmente doğru genişleyip kalınlaşan sekiz segmente sahiptir. Abdomenin son segmentinde çok sayıda kanca içeren bir halka (posterior proleg) mevcuttur. Anal açıklığın dorsal kısmında “rektal organ” ya da “anal solungaçlar” adı verilen çıkıntılar yer almaktadır.

Pupanın vücudu, sefalotoraks ve abdominal segmentlerden meydana gelmiştir. Son pupal evrede ergin vücudunun tüm kısımları açıkça ayırt edilebilir halde bulunur. Pupanın toraksının dorsal bölgesi kambur biçimindedir. Baş ve toraksın ventralinde anten, ağız parçası, kanat ve bacakların taslaklarını görmek mümkündür. Başın ve toraksın üst epidermisi yuvarlak veya sivri uçlu tüberküllerle kaplanmış olabilir. Bu tüberkül ve trikomal (setalar) tür teşhisinde önemlidir. Pupada taksonomik öneme sahip yapılardan biri torasik segmentten dorso-lateral yönde dışarı çıkan solungaçlardır (Şekil 2.1.b), diğer önemli yapı ise vücudu tamamen ya da kısmen örten kokondur. Kokon, pupa oluşmadan önceki larvanın (son instar) tükürük bezleriyle oluşturduğu ipeği kullanmasıyla meydana getirilir. Pupalar, çoğunlukla akıntının yavaş olduğu yerlerde bulunurlar ve yer değiştirmezler. Pupalar, beslenmedikleri için besin miktarı haricinde suyun sıcaklığı ve

oksijen miktarı gibi faktörlere bağlı olarak 2 gün - birkaç hafta arasında bir sürede gelişimlerini tamamlamaktadırlar (Rubtsov, 1990). Larvalar; taş, kaya, yaprak veya düz yüzeyli plastik materyaller üzerine tutunarak yaşarlar (Şekil 2.2). Sefalik fanları ile beslenirler. 2-8 hafta süre içerisinde pupa evresine geçerler (Rubtsov, 1990).



Şekil 2. 1. *Simulium kiritshenkoi* a) ergin genel vücut görüntüsü b) pupa genel vücut görüntüsü



Şekil 2. 2. *Simulium kiritshenkoi* larva genel görüntüsü

Batı Palearktık'de zengin bir biyoçeşitliliğe sahip olmasına rağmen Anadolu, Simuliidae tür çeşitliliği bakımından hakkında en az bilgiye sahip olunan alanların başında gelmektedir. Ülkemizde Simuliidae faunasına yönelik araştırmalar 20. yüzyılın başlarında yapılmaya başlanmıştır.

Austen'in 1925 yılında Çanakkale'nin Biga yarımadasından tanımladığı *Simulium pulchripes* türü Türkiye'de bu sineklere yönelik ilk çalışmadır (Crosskey ve Zwick, 2007). Bundan sonraki 50 yıllık periyotta ülkemizden bu iki kanatlı grubuna yönelik herhangi bir veri kaydı bulunmamaktadır. Jedlicka (1975) *Simulium caucasicum* türünü, *Odogmia ornata caucasica* olarak Afyon ve Çanakkale illerinden kaydetmiştir. Alman araştırmacı Heide Zwick ise 1978 yılında, Limnofauna Europea kataloğunda Türkiye'den 3 farklı türün kaydına yer vermiştir. Kazancı ve Clergu-Gazeau (1990) ülkenin farklı bölgelerinden 21 türü rapor etmişlerdir. Aynı iki araştırmacı 1992 yılında önceki çalışmalarına ek olarak türlerin habitat tercihlerini bildirmişlerdir. Özbek vd. ise 1995 yılında Doğu Anadolu bölgesinde ve özellikle Erzurum ilinde *Simulium bezzi* salgını olduğunu ve yaklaşık 100 civarı küçükbaşın telef olduğunu rapor etmişlerdir. Balık vd. 2002 yılında İzmir Dikili'den bir türü ülkemizden ilk kayıt olarak bildirmişlerdir. Şirin, 2001 yılında Doktora tezini Yukarı Sakarya havzası Simuliidae türlerinin belirlenmesi üzerine hazırlamıştır. Bu doktora çalışmasında tespit edilen 23 türden 8 tanesi ülkemiz için ilk kayıt olarak verilmiştir (Şirin ve Şahin, 2005). Kuzey Marmara Bölgesi Simuliidae faunasının tespitine yönelik TÜBİTAK destekli proje çalışması Şahin vd. (2004) tarafından tamamlanmıştır. Kazancı 2006 yılında yaptığı çalışmada bazı Simuliidae türleriyle çevresel parametreler arasındaki ilişkileri CCA (Canonical Correspondance Analysis) ile değerlendirmiştir.

Crosskey ve Zwick, 2007 yılında yayınladıkları çalışmalarında 9 yeni kayıt ve dağılım bilgilerinin yanı sıra o zamana kadarki tüm çalışmaları değerlendirerek bir kontrol listesi yayınlamışlardır. 2006 ve 2007 yıllarında Orta Kızılırmak havzasında görülen ve bölgede insan ve hayvan sağlığının yanı sıra ekonomik açıdan ciddi bir sorun oluşturan *Simulium lineatum* türünün istilası ve yürütülen biyolojik mücadele çalışmaları Yılmaz vd. (2007) tarafından rapor edilmiştir. Kazancı ve Ertunç (2008a) tarafından Türkiye'nin Batı ve Doğu bölgelerindeki bazı akarsularda 15 tür tespit edilmiş olup bunların beş tanesi yeni kayıt olarak verilmiştir. Altı tanesi yeni kayıt olmak üzere toplam 63 türü kapsayan bir kontrol listesi yayınlanmıştır (Kazancı ve Ertunç, 2008b). Tuzla (2008) 6 farklı türün

sitogenetik özelliklerini belirlemiştir. Kalafat (2008) yüksek lisans tez çalışmasında Afyon ve çevresinde yayılış gösteren bu familyaya ait türleri belirlemeye çalışmıştır. Ertunç (2009) yüksek lisans çalışmasında Batı Anadolu'daki bazı akarsuların Simuliidae faunalarını araştırmıştır. Çağlar ve İpekdal (2009) 45 türü kapsayan çalışmaları ile Türkiye Simuliidae faunasını yakın ülke faunaları ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Ülke faunası için 1 yeni tür kaydı Kalafat ve Şirin (2011) tarafından yayınlanmıştır. Yeşilöz (2011) yüksek lisans tez çalışmasında Nevşehir Kızılırmak havzasında sorun oluşturan simulidlerin moleküler sınıflandırmasını mitokondriyal sitokrom C oksidaz alt ünite I (COI) ve ribozomal transkripte edilen ara bölge-2 (internal transcript spacer 2) ve 28S rDNA'nın bir kısmını içeren (ITS-2/28S) DNA bölgeleri ile çalışmıştır. Gazyağcı (2011), Kırıkkale ve Ankara yöresi Kızılırmak havzasında *Simulium* cinsi türlerinin belirlenmesi üzerine Doktora çalışmasını tamamlamıştır. Adler vd. (2012) Kızılırmak havzasında *Wilhelmia* alt cinsi türlerinin kromozomal yapılarını araştırmışlar ve aynı tür olabileceği düşünülen iki ayrı türün (*Simulium (Wilhelmia) lineatum* ve *S. (W.) balcanicum*) kromozomal olarak farklılığını belirlemişlerdir. 2013 yılında Başören vd. Ankara çayı Simuliidae türlerini araştırmış ve 11 çalışma alanından 9 tür bildirmişlerdir. Demircioğlu (2014) Erciyes dağı akarsularında *Simulium* türlerinin araştırılması ve moleküler klasifikasyonu üzerine araştırma gerçekleştirmiştir.

Adler ve Şirin (2014) *Prosimulium* cinsinin Batı Asya populasyonlarının sitotaksonomik değerlendirmesini yaptıkları çalışmalarında cinsin 3 farklı türünün Batı Anadolu'daki populasyonlarını da incelemiş ve söz konusu 3 türden bir tanesinin yeni bir tür olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada *Prosimulium rachiliense* türünün özellikle Ermenistan'daki populasyonlarında kromozomal inversiyonlarla belirgin farklılıklar gösterdiğini saptamışlardır. Şirin vd. (2014), Doğu Marmara bölgesinde yaptıkları çalışmada 17 tür tespit etmişlerdir. Başören 2015'te gerçekleştirdiği doktora tez çalışmasında Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki çeşitli akarsuların fiziko-kimyasal değişkenlerini ölçmüş ve bölgeden tespit edilen Simuliidae 'ye ait türlerle ilişkilendirmiştir. Başören ve Kazancı (2015) Yeşilirmak nehrinde Simuliidae türlerinin yayılışını ve çevresel etmenlerle ilişkisini tespit etmişlerdir. Şirin vd. (2015), Trakya bölgesinde yaptıkları bir diğer çalışmada ise bir tanesi Türkiye için yeni kayıt olmak üzere 18 tür kaydı vermişlerdir. Adler ve Şirin (2015) ve yine Şirin ve Adler (2015) iki yeni tür tanımlamışlardır. Her iki çalışmada da türlerin kromozomal ve morfolojik özellikleri

detaylıca incelenmiştir. Başören ve Kazancı 2015 yılında Doğu Karadeniz bölgesi akarsularındaki Simuliidae türleri için teşhis anahtarı oluşturmuşlardır. Aynı araştırmacılar Türkiye Simuliidae türlerine ait bir kontrol listesi yayınlamışlardır. İnci vd. (2017) yaptıkları çalışmada *Wilhelmia* alt cinsi türlerinin Kuzeydoğu Anadolu'daki popülasyonlarının genetik çeşitliliklerini COI gen bölgesini kullanarak araştırmışlardır. Araştırma sonucunda *S. lineatum* ve *S. turgaicum* arasındaki ayrımın çözülemediği ve potansiyel kriptik tür olabilecekleri sonucuna varmışlardır. Küçükyetim (2018), ülkemizde geniş yayılışa sahip *Wilhelmia* altcinsi türlerinin Batı Anadolu popülasyonlarının genetik çeşitliliklerini COI ve ITS gen bölgeleri aracılığıyla araştırmıştır. Araştırma sonucunda *S. turgaicum* ve *S. balcanicum* türlerinin monofiletik bir grup oluşturduklarını ve yeni ayrılan ortak soy hattından geldiklerini *S. pseudequinum* ve *S. paraequinum* türlerinin arasındaki genetik belirsizliğin çalışılan gen bölgeleriyle çözülemediğini tespit etmişlerdir. Önder vd. 2019 yılında Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde sorun yarattığı düşünülen Simuliidae'ye ait 4 türün (*S. kiritshenkoi*, *S. vernum*, *S. bezzii*, *S. bergi*) COI gen bölgesi ile filogenetik analizlerini gerçekleştirmiştir. 4 lokasyondan toplanılan türlerin yanı sıra veri setine Gen Bankasındaki mevcut türlerin COI bölgesini de ekleyerek genişletmişlerdir ve her bir türün ait olduğu taksonomik grup için yorumlar yapmışlardır. Özel, 2019'da gerçekleştirdiği yüksek lisans tez çalışmasında Isparta Deresi'nden tespit ettiği türlerin adaptasyon ölçütlerini ve yoğunluklarını bazı fizikokimyasal parametrelerle ilişkilendirerek belirlemiştir.

Türkiye'de belirlenen Simuliidae tür sayısı son verilerle birlikte 55'e yükselmiştir (Adler, 2019). Bu sayı tüm familya türlerinin yaklaşık % 4'üne, Palearktik faunasının ise yaklaşık % 10 'una karşılık gelmektedir.

Anadolu'da *S. ornatum* tür grubu türlerini içeren morfotaksonomik ve ekolojik çalışmalar ise şu şekilde özetlenebilir. Kazancı ve Clergu-Gazeau (1990) tarafından yapılan çalışmada *S. ornatum* türünün Bursa-Mezit Deresinden kaydı verilmiştir. Şirin, 2001 yılında Doktora tezini Yukarı Sakarya havzası Simuliidae türlerinin belirlenmesi üzerine hazırlamıştır ve tezinde *S. fontanum*, *S. baracorne*, *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* türlerine ait kayıtlar bildirmiştir. Şirin ve Şahin (2005)'in 8 yeni kayıt bildirdikleri çalışmada *S. fontanum* türüne ilişkin Sakarya havzasından lokalite kaydı vermişlerdir. Crosskey ve Zwick (2007) yayınladıkları Anadolu'nun genel değerlendirme ve kontrol

listesinde *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum* türleri için lokalite kayıtlarına yer verilmiştir. Kalafat (2008) yüksek lisans tez çalışmasında Afyon ve çevresinde yayılış gösteren *S. ornatum comp.* ait örneklerin bilgilerine yer vermiştir. Ertunç ve Kazancı 2009 yılında Batı Anadolu'daki bazı akarsularda bulunan Simuliidae larvaları için verdikleri teşhis anahtarında *S. ornatum* ve *S. trifasciatum* türlerine ait lokalite bilgilerine yer vermişlerdir. Kazancı ve Ertunç'un 2010 yılında Yeşilirmak havzasında yaptıkları çalışmada *S. ornatum* ve *S. trifasciatum* türlerine ait kayıt verilmiştir. Başören ve Kazancı'nın 2012 yılında Doğu Karadeniz bölgesindeki bazı akarsularda yürüttükleri çalışmada *S. ornatum* ve *S. trifasciatum* türleri bildirilmiştir. Başören vd. (2013) Ankara çayında Simuliidae türlerini tespit çalışmasında *S. ornatum* ve *S. trifasciatum* türlerini de elde etmişlerdir. Şirin vd. (2014, 2015) Doğu Marmara ve Trakya'da yürüttükleri faunistik Simuliidae çalışmasında *S. kiritshenkoi* türüne lokaliteleri bildirmişlerdir. Başören ve Kazancı 2016, Önder vd. 2019 ve Özel, 2019 yaptıkları çalışmalarda *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. trifasciatum* türlerine ait lokalite kayıtları bildirmişlerdir.

Son yıllarda gerek ülkemizde gerekse dünyada familya içerisindeki gizli türlerin belirlenmesinde ve taksonların filogenetik ilişkilerinin anlaşılmasında moleküler teknikler yoğun olarak kullanılmaktadır (Pfenninger ve Schwenk, 2007, Yeşilöz ve Yıldırım, 2015, Day vd., 2008; Phayuhaseña vd., 2010; Pramual vd., 2012; Low vd., 2014; Sriphom vd., 2014). Palearktik bölgede de (Orta ve kuzey Avrupa'da COI gen bölgesi aracılığıyla *Simulium reptans* türü popülasyonlarının genetik karakterizasyonunun yapılması gibi) familya türlerinin ayırımında ve filogenilerinin araştırılmasında moleküler tekniklerin kullanıldığı çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Özellikle familya içerisindeki tür grupları üzerine yapılan popülasyon genetiği çalışmaları oldukça fazla sayıdadır (Thanwisai vd., 2006; Jedlicka vd., 2012; Kudela vd., 2014; Pramual ve Adler, 2014; Pramual vd., 2015; Takaoka vd., 2017, 2018a, 2018b, 2019a, 2019b).

Simuliidae sistematigi üzerine geometrik morfometri yöntemi ile yapılan ilk çalışma olan Pepinelli vd. (2013) çalışmasında 13 cinsin ergin kanat damarları ile Prosimuliini ve Simuliini tribüs ayırımının evrimsel ve morfolojik olarak nasıl gerçekleştiği tartışılmıştır. Adrianov vd. (2015) Ermenistan'da yaptıkları çalışmada moleküler genetik ve kromozomal analiz çalışmalarının yanında morfometrik analizler yaparak karşılaştırmalı bir çalışma gerçekleştirmişlerdir.

Önerilen araştırmada seçilen *Simulium ornatum* tür grubu üzerine yapılan moleküler çalışmalar şu şekilde sıralanabilir.

Otsuka vd., 2003'te 16S rRNA gen bölgesini kullanarak *Himalayum altcinsinin* filogenetik analizini gerçekleştirmiş, bu çalışmada *S. ornatum* tür grubunda bulunan *Simulium iwatense* türünde 16S rRNA gen dizisini çalışmaya dâhil etmişlerdir.

Day ve Godall tarafından 2008 yılında İngiltere'de yapılan *Simulium ornatum* tür grubunun intragenomic rDNA ITS1 ve ITS2 varyasyonları isimli çalışmada *Simulium ornatum*, *Simulium trifasciatum* ve *Simulium intermedium* türlerinin 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S rDNA gen bölgelerini kapsayan diziler veri bankasına yüklenmiştir.

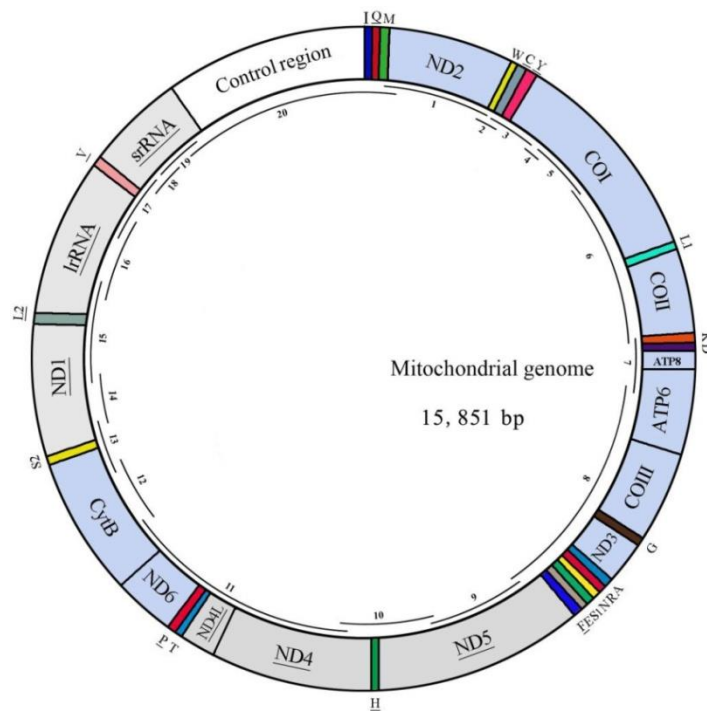
2014 yılında Demircioğlu tarafından yapılan yüksek lisans tez çalışmasında Erciyes dağı akarsularında simuliid türlerinin moleküler karakterizasyonunun yapılmış ve morfolojik ve kromozomal analizler ile araştırma yöresinden toplanan 100 larvanın 20'sinin *S. bezzi* sitoform (Cyt) 2, 20'sinin *S. bezzi* Cyt 3, 50'sinin *S. ornatum* grup ve 10'unun ise *S. velutinum* olduğu tespit edilmiştir. Teşhisi yapılan türlerin COI ve ITS2 gen bölgeleri dizilenmiş ve gen bankasına kayıtları gerçekleştirilmiştir.

Adrianov vd. (2015) yaptıkları çalışmada Ermenistan'daki istilacı Simuliidae türlerinin COI varyasyonları üzerine çalışılmış ve *Simulium kiritshenkoi* türünün COI gen bölgesi dizilenmiştir. Aynı çalışmada türlerin morfometrik, moleküler genetik ve kromozomal analizleri de gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada *S. ornatum* tür grubunun Anadolu'da yayılış gösterdiği bilinen 5 türünün mitokondri ve çekirdek genomuna ait 3 farklı DNA bölgesi (NADH₂, COI, ITS1-2) çalışılmıştır.

Hayvan Mitokondriyal DNA'sı halkasal yapıdadır. Yaklaşık 15-17 kb büyüklüğündedir ve kodlama yapmayan bölgeleri oldukça az orandadır (Spanos vd., 2000). MtDNA gen bölgeleri ve mitogenomun tamamı, tür içi ve türler arası hatta daha yüksek taksonların ilişkilendirilmesinde, bunun yanında filogenetik ve evrimsel örüntünün ortaya

konulmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Simon vd., 1994; Boore, 1999; Spanos vd., 2000, Avise, 2004). Bu tür çalışmalarda mitokondriyal genlerin kullanılmasının başlıca nedenleri şu şekilde sıralanabilir; Mitokondriyal DNA endosimbiyotik kökenli ve anasal kalıtılan bir genomdur, intron bölgelerini içermezler, rekombinasyona uğramadıkları ve ayrıca DNA sentezi sırasında meydana gelen hataları düzeltecek bir mekanizma bulunmamasından dolayı yüksek mutasyon oranına sahip oldukları bilinmektedir. Mitokondriyal genler taksonların evrimsel örüntüsünü, soyhatlarının ilişkisini ve moleküler saat tahminlerini çalışmada yaygın olarak kullanılan genetik belirteçlerdir (Spanos vd., 2000).



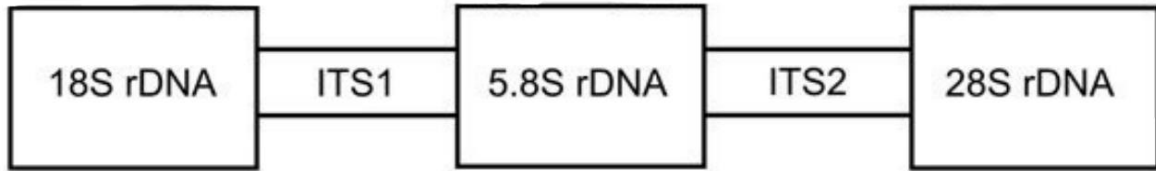
Şekil 2. 3. Böcek halkasal Mitogenomu, (Li vd., 2012'den değiştirilerek alınmıştır).

Böcek mitogenomunda 37 gen bulunur, bunlardan 13 tanesini protein kodlayan genler, 22 tanesini tRNA genleri ve 2 tanesini rRNA genleri oluşturmaktadır (Şekil 2.4) (Li vd., 2012). Protein kodlayan genler oksidatif fosforilasyonda görevli mitokondriyal membrana gömülmüş beş mitokondriyal kompleksin dördünün alt ünitelerini oluşturmaktadır. Bu genlerden NADH dehidrojenaz altünite 1 (*nd1*), *nd2*, *nd3*, *nd4*, *nd4l*, *nd5* ve *nd6* kompleks 1 (NADH-ubiquinol oksidoredüktaz)'in, sitokrom b (*cytb*) kompleks 3 (ubiquinon-sitokrom-c- oksidoredüktaz)'ün, sitokrom-c-oksidadz alt ünite 1 (*cox1*), *cox2* ve *cox3* kompleks 4 (sitokrom-c-oksidadz)'ün, son olarak da ATP sentaz FO alt ünite 6 (*atp6*) ve *atp8* kompleks 5 (ATP sentaz)'in proteinlerini kodlar (Ördek, 2015).

Mitokondriyal genlerden sitokrom c oksidaz altünite I (COI) biyo-oksidasyon zincirinin elektron alışverişinde rol alan bir enzimdir. Solunum elektron transport zincirinde son enzim olarak görev alır. Genin alt ünitelerinden yaklaşık 650 bç'lik kısa ön bölümü oluşturan COI bölgesi tür içerisinde ve türler arasında ideale yakın genetik değişime sahip olduğu, kendi içinde heterojenlik sergilediği ve evrensel primerlerle çoğaltılabildiği için kullanımı çok yaygınlaşmış DNA ile tanımlama (Barkodlama) çalışmalarında kullanılmaya başlanılmıştır (Simon vd., 1994; Hebert vd., 2003; Pramual ve Wongpakam, 2013, 2014). Bu kısa ön bölge ile kriptik türlerin ve teşhis edilemeyen türlerin tanımlanması gibi birçok çalışma gerçekleştirilmektedir (Pramual vd., 2011; Pramual ve Kuvangkadilok, 2012). Fakat COI ve II alt ünitelerinin tamamının (yaklaşık 1200 bç) populasyon genetiği, filocoğrafik analizler, tür komplekslerinin filogenisi gibi çalışmalarda populasyon arası farklılıkları ve çeşitlilikleri belirlemede daha etkin olacağı öngörülmektedir (Senatore vd., 2014). Bu genin başka mitokondriyal ve nüklear genlerle desteklenerek daha uzun bç'lik bölgelerin karşılaştırılması (multigen çalışmaları) ve daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi mümkündür (Phayahasena vd., 2010; Low vd., 2014; Sriphom vd., 2014). Mitokondriyal genom içerisinde çok hızlı mutasyona uğrayarak tür ve türler arasındaki değişimleri belirtebilen bir diğer bölge NADH Dehidrogenaz bölgesidir. NADH Dehidrogenaz altünite 2 (ND2) (yaklaşık 1000 bç) birçok filogenetik çalışmada mitokondriyal ve nüklear gen bölgeleriyle birlikte kullanılmıştır (Simon vd., 1994; Moulton, 2000).

Mitokondriyal genler dışında filogenetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir diğer gen bölgesi ise çekirdekte bulunan transkripsiyonu yapılan ara bölgeler olan ITS1 ve 2 (internal transcribed spacer) dir. Bu DNA bölgesi ribozomal DNA (rDNA) genlerinden 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S rDNA gen bölgelerini kapsayan bir fragmandır (Thanwisai vd., 2006). Ribozomal DNA 18S, 5.8S ve 28S alt birimlerini içeren gen bölgelerine sahiptir ve bu genler yüksek seviyede korunmuştur (Şekil 2.5). Bu alt birimler arasında bulunan ITS1 (yaklaşık 490 bç) ve ITS2 (247-308 bç) adı verilen bölgeler birer intron olup ribozomal bölgelere oranla çok daha hızlı evrimleşmektedir (Şekil 4) Evrimsel değişimin hızlı olması ve DNA dizisindeki varyasyonlar nedeni ile cins ve daha alt kategorideki taksonomik sınıflar için kullanışlı olduğu birçok yayında bildirilmiştir (Thanwisai vd., 2006; LaRue vd., 2009; Yeşilöz ve Yıldırım, 2015).

Bu tez çalışmasında mtDNA'dan COI gen bölgelerinin birlikte oluşturduğu yaklaşık 1200 bç'lik bölge ve NADH₂ Dehidrogenaz alt ünite 2; çekirdek DNA'dan ise ITS 1-2 gen bölgesi çalışmıştır.



Şekil 2. 4. ITS 1-2 (internal transcribed spacer) gen bölgelerinin nükleer genomdaki yeri (Aguilera-Muñoz vd., 2008).

Taksonlar arasında benzerlik ve farklılıkların belirlenmesinde ne kadar çok karakterden faydalanılırsa o oranda doğru sonuç elde edilmiş olur. Genellikle daha çok morfolojik karakterlerin kullanılmasının nedeni bunların daha kolay ve ucuz ölçümler sonucu elde edilebileceği gerçeğidir. Bilgisayar teknolojisi ve istatistiksel metotların gelişimiyle nümerik taksonomi isim ve içerik değiştirmiş çalışmalarda geometrik morfoloji analizleri kullanılmaya başlanmıştır. Takson içindeki bireylerde gözlenen şekil varyasyonlarının diğer değişkenlerin varyasyonu ile kovaryasyonunu ölçen istatistiksel analiz serileri geometrik morfometri olarak adlandırılmaktadır (Adams vd., 2013).

Geometrik morfometrik çalışmalarda organizmanın biçimsel özelliklerini incelemek için landmark tabanlı yöntemler ve eliptik Fourier analizler gibi çeşitli metotlar kullanılabilir (Özenirler, 2010). Landmark tabanlı geometrik morfometrik analizler ile organizmalar tanımlanabilmekte; tür içi ya da türler arası farklılıklar kanonik varyans analizleri, temel öğeler analizleri gibi farklı metotlarla ortaya konabilmektedir (Adams vd., 2004). Bu yöntem omurgasızlarda baş, kanatlar ve genitalya gibi morfolojik öneme sahip yapıların biçimsel karakterlerini değerlendirebilmek adına kullanışlı bir araçtır (Aytekin vd., 2009). Özellikle böcek kanat morfolojisi 2 boyutlu yapısı nedeniyle landmark çalışmalarında kullanılmaya oldukça uygundur. Bu nedenle özellikle Diptera grubunda yapılan geometrik morfometri çalışmalarında böcek kanat morfolojisi kullanılmıştır (Riva vd., 2001; Jirakanianakit ve Dujardin, 2005; Aytekin vd., 2009; Francuski vd., 2009; Pepinelli vd., 2013).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Materyali

Simuliidae türlerinin larva ve pupaları akarsu kaynaklarında gelişim gösterirler. Familya taksonomisinde özellikle pupa başta olmak üzere tüm yaşam evrelerindeki bireyler kullanılmaktadır. Çalışma materyalini toplamak amacı ile örnekleme istasyonlarının belirlenmesinde Türkiye'deki tüm akarsu havzaları dikkate alınmış ve homojen bir örnekleme yapılmasına özellikle dikkat edilmiştir. Çalışmada ülkemizde daha önce yapılmış araştırmalardan bilinen gruba ait türlerin yayılış bilgileri göz önünde bulundurularak 54 il ve 239 farklı lokaliteden örnek toplanmıştır. Örnekleme çalışmaları, familya ve hedef tür grubunun mevsimsel aktivitesine dikkat edilerek; 2014-2018 yılları, Mart-Temmuz ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte çalışmada 2014 yılından önce yapılan örnekleme çalışmalarında toplanmış ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Entomoloji Laboratuvarı'nda korunan tür grubuna ait örnekler de kullanılmıştır. Benzer şekilde Avrupa'dan (Fransa, İtalya, Sırbistan, Polonya ve Hırvatistan) 13 farklı lokaliteden Dr. Simone Ciadamidaro (İtalya –Torino, Biyoçeşitlilik ve Çevre Bilimleri Laboratuvarı) ve Dr. Tatiana Kúdelová (Slovakya-Bratislava Üniversitesi Zooloji Bölümü) tarafından toplanmış ve tayin edilmiş tür grubu örnekleri de kullanılmıştır.

Örnekleme çalışmalarında Crosskey (1990) ve Adler vd. (2004) tarafından önerilen yönteme uygun olarak simulid larva ve pupaları su içerisinde üzerine tutundukları taşlar, bitkiler, döküntü yapraklar vb. substratlardan ince uçlu pens yardımı ile alınmıştır. Alınan örneklerin bir kısmı morfotaksonomik çalışmalar için içerisinde % 85'lik etanol bulunan 5 mm'lik kapaklı plastik tüplerde fikse edilmiş, alkollerini yenilenecek aynı kaplarda saklanmıştır. Moleküler çalışmalar için toplanan larva ve pupalar ise içerisinde absolute alkol (% 96) bulunan tüplerde fikse edilmiştir. Ergin örneklerin elde edilmesi için yönteme uygun olarak, toplanan pupalar arasındaki olgun bireylerden bir kısmı içerisinde nemlendirilmiş pamuk bulunan plastik tüplere alınmış ve bu türler delikli kapaklar ile kapatılmıştır. Birkaç gün içerisinde pupadan çıkan ergin örnekleri kütikularının sertleşmesi için bir gün beklendikten sonra boş kokonları ile birlikte içerisinde % 85'lik

etanol bulunan 5 mm'lik kapaklı plastik tüplerde fikse edilmiştir. Toplanan örnekler istasyon numaralarına göre etiketlenerek kaydedilmiştir. Örnekler en kısa sürede -20 °C'lik dondurucularda koruma altına alınmıştır.

Arazi çalışmaları sırasında çalışılan her istasyonun bilgileri, koordinatları ve deniz seviyesinden yüksekliği GPS ile ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2. Morfotaksonomik Çalışmalar

Morfotaksonomik çalışmalar için öncelikle % 85'lik etil alkolde bulunan örnekler kullanılmış, tür teşhisleri yapıldıktan sonra moleküler analiz için absolü alkolde saklanan bireylerle eşleştirilmiştir. Laboratuarda örneklerin öncelikle stereo diseksiyon mikroskobu yardımı ile makro düzeyde incelemeleri yapılmıştır. Her lokalite için ayrı ayrı olmak üzere örnekler genç larvalar, yaşlı larvalar (pupa solungaç histoblastları belirgin), pupalar ve erginler olarak ayrılmış ve içerisinde % 85'lik etil alkol bulunan plastik kapaklı tüplere alınarak etiketlenmiştir. Bu tüpler, alkolün zamanla buharlaşarak azalabileceği ihtimali düşünülerek her istasyon için ayrı ayrı, içerisinde yine % 85'lik etil alkol bulunan kavanozlara konarak +4 °C'de Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Entomoloji Laboratuvarı'nda korunmaktadır.

Tür teşhisleri için yaşlı larva, pupa ve ergin bireylerin, larva kafa kapsülü, pupa solunum filamentleri, erkek ve dişi genitelyaları gibi pek çok taksonomik yapılarının preparasyonu yapılmıştır. Örneklerin teşhislerinde Rubtsov (1956), Knoz (1965), Terteryan (1968), Crosskey (1991, 1998, 2002), Bass (1998), Crosskey ve Malicky (2001), Yankovsky (2003), Crosskey ve Zwick (2007), Jensen (1997), Crosskey ve Crosskey (2000), Jedlicka ve Stloukalova (1997), Jedlicka vd. (2004), Belqat ve Dakki (2004)'ün hazırlamış oldukları teşhis anahtarlarından yararlanılmıştır. Tespit edilen türlere ait nomenklatür ve Dünyadaki dağılış bilgilerinin hazırlanmasında Adler (2019) tarafından hazırlanan Dünya tür kontrol listesi takip edilmiştir.

3.3. Landmark Tabanlı Geometrik Morfometri Çalışmaları

Populasyonlardan belirlenen bütün türlerin filamentleri geometrik morfometri çalışması için ayrılmış ve fotoğraflama için preparat haline getirilmiştir. DNA izolasyonu büyük çoğunlukta pupa evresindeki bireylerle gerçekleştirilmiştir. Pupa olmayan istasyonlarda solunum filamentleri belirgin yaşlı larva evresindeki bireyler kullanılmış ve filamentleri belirli prosedürlerle sabit preparat haline getirilmiştir.

Pupa için;

- % 99,8 lik absolute alkol- 1 dk.
- saf su- 1 dk.
- ksilol- 1 dk.
- saf su ile yıkama- 1 dk.
- entellan ile lam üzerine filamentleri sabitleme prosedürü uygulanmıştır.

Larva için;

- % 10'luk potasyum hidroksit ile 2 dk.
- % 99,8 lik absolute alkol- 1 dk.
- saf su- 1 dk.
- ksilol- 1 dk.
- saf su ile yıkama- 1 dk.
- entellan ile lam üzerine filamentleri sabitleme prosedürü uygulanmıştır.

Analizde doğru sonuç alınması için tüm bireylerin sol filamentleri daimi preparat haline getirilmiştir. Lam altına yerleştirilen milimetrik kâğıt aracılığı ile kök ve dal yapıları aynı düzleme oturtulacak şekilde Leica MZ-16 streoskopik diseksiyon mikroskobu ve üzerine bağlı DFC-490 dijital kamera kullanılarak fotoğraflanmış ve dijital ortama aktarılmıştır. Landmarkların konulması amacı ile Tps adlı program serisi kullanılmıştır (Rohlf, 2007). Fotoğraflar Tps-UTIL1.28 (Rohlf, 2007a) programı ile düzenlenmiş ve filament üzerine daha önceden belirlenmiş landmarkların konabileceği formata getirilmiştir. Her örnek için Tps-DIG 2.10 (Rohlf, 2007b) programı ile landmarkların iki boyutlu Kartezyen koordinatları saptanmıştır. TpsSuper1.14 (Rohlf, 2004) programı ile landmark sayılarının analiz için yeterli olup olmadığı test edilmiştir. TpsRelw (Rohlf,

2007c) programında Procrustes analizi uygulanmış, landmarkların dağılımı tespit edilerek, dağılımda bir sapma olup olmadığı anlaşılmıştır.

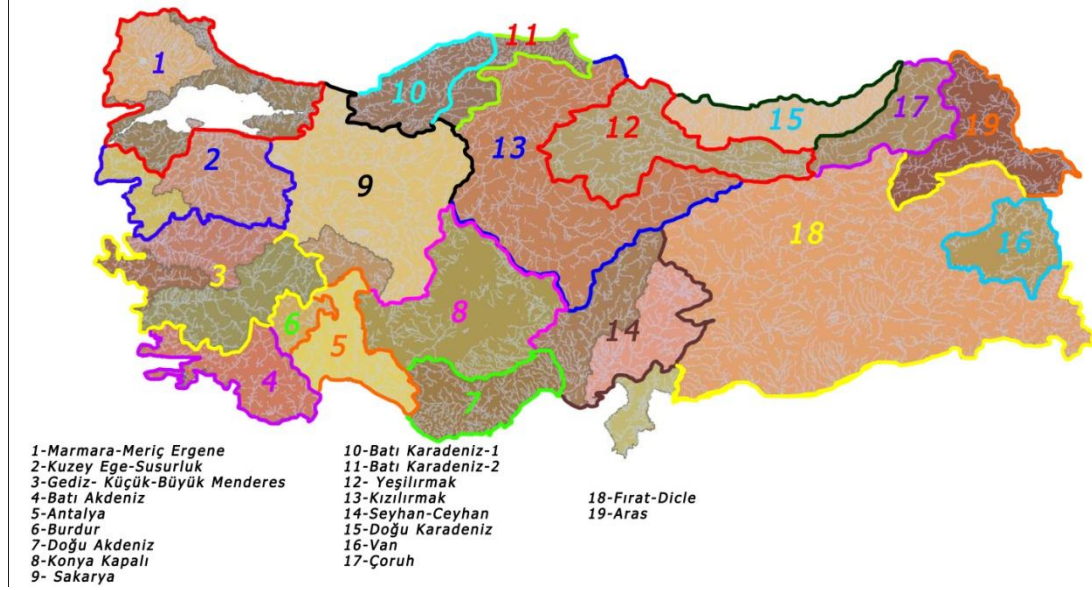
Procrustes rotasyonu, PCA (Principal Component Analysis) ve LDA (Linear Discriminant Analysis) Past 3.26B programı aracılığı ile uygulanmıştır. tpsRelw (Rohlf, 2007c) programı aracılığıyla görece warp'lar belirlenmiş ve kovaryasyonun eksenler üzerinde açıklanması için gerçekleştirilen Partial Least Square (PLS) analizi gerçekleştirilmiştir.

Morpheus Programında (Slice, 2007) Tps verisi kullanılarak süperimpozisyon GPA rotasyonu sonrasında grupların hesaplanan ortalama (mean) değerleri, NTSYS Programında (Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi) Euclid mesafesi esas alınarak ve SAHN Kümeleme Yöntemi (Rohlf, 2000) uygulanarak gruplandırılmış ve UPGMA ile bir ağaç haline getirilmiştir. Türler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı IMP programı içerisinde CVAGen6p'de analiz edilmiş, program içerisinde uygulanan çok yönlü varyans analizi (MANOVA) uygulanmıştır.

3.4. Moleküler Çalışmalar

3.4.1. Total DNA eldesi

Tür teşhis işlemleri sonrası her tür için populasyonlar arasındaki coğrafik uzaklık, akarsu havzası ve bariyerler göz önünde bulundurularak çalışılacak populasyonlar belirlenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. Tez kapsamında örnekleme yapılan akarsu havzaları

Total DNA eldesi;

- DNA çıkarılabilecek dokunun bulunması,
- Bu hücrelerin DNA'ya zarar vermeyecek şekilde parçalanması,
- Hücre içeriğinin DNA'dan uzaklaştırılması
- DNA'nın çöktürülmesi olmak üzere 4 basamakta gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda Thermo Scientific Tissue DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Protokol basamakları şu şekildedir;

1. Örnekler küçük parçalara ayrıldıktan sonra 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine alınmıştır.

2. Eppendorf tüpleri içerisine parçalanmış dokuyu kaplayacak kadar sıvı su konulmuş, 30 sn sıvı azot içerisinde 1 dk 70 °C' ye ayarlı su banyosunda bekletilmiş ve dokuların daha küçük parçalara ayrılması sağlanmıştır. 5 kez döngüsel olarak tekrar edilen bu işlem sonrasında tüp içerisindeki saf suyu uzaklaştırmak için konsantratör kullanılmış ve sadece küçük parçalara ayrılmış örnek elde edilmiştir.

3. Dokuların bulunduğu eppendorf tüplerine 180 µl sindirim solüsyonu konulmuştur. 20 µl proteinazK solüsyonu eklendikten sonra pipetleme ve vorteksleme yapılmıştır. Vorteksleme işleminden sonra eppendorf tüpleri 56°C'lik su banyosunda içerik homojen oluncaya kadar bekletilmiştir.

4. Su banyosundan alınan örnek tüplerine 20µl RNase eklenmiş ve vortekslenmiştir.

5. 10 dk oda sıcaklığında inkubasyona bırakılan örnek üzerine 200 µl lizis solüsyonu eklenmiş ve tekrar vortekslenmiştir.

6. 400 µl % 50'lik etanol eklenen örnekler pipetle karıştırılmıştır. Daha sonra lizat koleksiyon tüpüne aktarılmış ve 1 dakika 6000×g de santrifüj edilmiştir.

7. Santrifüj sonucunda koleksiyon tüpündeki sıvı atılmış ve filtre üzerine ilk yıkama solüsyonundan 500µl eklenmiştir, 1 dakika 8000×g de santrifüj edilen örnek tüpü içerisindeki sıvı kısım tekrar atılarak aynı filtre üzerine 500µl yıkama solüsyonu 2 eklenmiştir.

8. 3 dk 12000×g de santrifüj edilen örnek tüpleri içerisindeki sıvı uzaklaştırılmış ve örnekler filtre üzerine eklenen 200 µl Elution tamponu içerisinde 2 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. İnkübasyondan hemen sonra 1 dk 8000×g de santrifüj edilmiş ve filtre atılmış, elde edilen total DNA -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.2. DNA'nın nanodrop ölçümü, miktar ve kalite tayini

Tez çalışması kapsamında total DNA eldesi gerçekleştirilmiş tüm örneklerin konsantrasyonu Thermo Fisher Nanodrop 2000 cihazı ile ölçülmüştür. DNA'nın içine çözdürüldüğü Elüsyon tamponu cihaza kör olarak tanıtılmıştır. 50 ng/µl altında değer okunan total DNA'lardan Polimeraz Zincir Reaksiyonu gerçekleştirilmemiştir.

3.4.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PZR için gerekli olan primerler daha önce yapılmış çalışmalardan yola çıkılarak belirlenmiş (Simon vd., 1994; Boore, 1999; Spanos vd., 2000), laboratuarda denemeleri yapılmıştır. Denemelerde sonuç aldığımız mitokondriyal COI ve NADH₂ genleri ile nükleer DNA'dan ITS1-2 bölgesi için sentezlettilen primerler ile PZR gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonları Bio-RadT-100 Thermal Cycler PZR makinesinde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen primerlerin dizilimleri Çizelge 3.1'de ki şekildedir;

Çizelge 3. 1. Çalışılacak gen bölgeleri için sentezlenen primer dizilimleri

Gen Bölgesi	Primer bağlanma yönü	Primer Dizilimi
COI	F	1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' 25 mer
	R	3014: 5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3' 25 mer
ITS 1-2	F	ITS5 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' 22mer
	R	ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 20mer
NADH ₂	F	N2L-J210 5'-AATTAAGCTAATGGGTTTCATACCC-3
	R	TW-N1284 5'-AYAGCTTTGAARGYTATTAGTTT-3'

Polimeraz Zincir Reaksiyonları 50 µl'lik hacimde yapılmıştır (Çizelge 3.2). Reaksiyon içeriği her bir gen bölgesi için standardize edilmiştir.

Çizelge 3. 2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu için hazırlanan materyal içerikleri

Materyal	Hacim (µl)	
dH ₂ O	36,35	
Buffer 10X	5	
MgCl ₂ (25 mM)	4	
dNTP (10 mM)	1	
Primer 100 pmol/ul	F	0,2
	R	0,2
Taq	0,25	
Total DNA	3	
Toplam	50	

Standart PZR reaksiyonunun aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

- Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz-I (COI) geni için belirlenen reaksiyon basamakları Çizelge 3.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 3. 3. PZR reaksiyon basamakları (COI)

Reaksiyon	°C	Zaman	Döngü
İnitial (Başlangıç denatürasyonu)	95 °C	30s	
Denatürasyon	95 °C	20sn	35X
Annealing (Bağlanma)	41°C	30sn	
Elongation (Uzama)	68 °C	1:40 sn	
Final Extension (Son uzama)	68 °C	5 dk	

- Mitokondriyal Dihyronicotinamide adenine dinucleotide (NADH₂) geni için belirlenen reaksiyon basamakları Çizelge 3.4.'te belirtilmiştir.

Çizelge 3. 4. PZR reaksiyon basamakları (NADH₂)

Reaksiyon	°C	Zaman	Döngü
İnitial (Başlangıç denatürasyonu)	95 °C	30s	
Denatürasyon	95 °C	20sn	35X
Annealing (Bağlanma)	45°C	30sn	
Elongation (Uzama)	72 °C	1:40 sn	
Final Extension (Son uzama)	72 °C	5 dk	

-Nüklear DNA Internal transcribed spacer (ITS1-5.8S rRNA-ITS2) gen bölgesi için belirlenen reaksiyon basamakları Çizelge 3.5'te belirtilmiştir.

Çizelge 3. 5. PZR reaksiyon basamakları (ITS1-5.8S rRNA-ITS2)

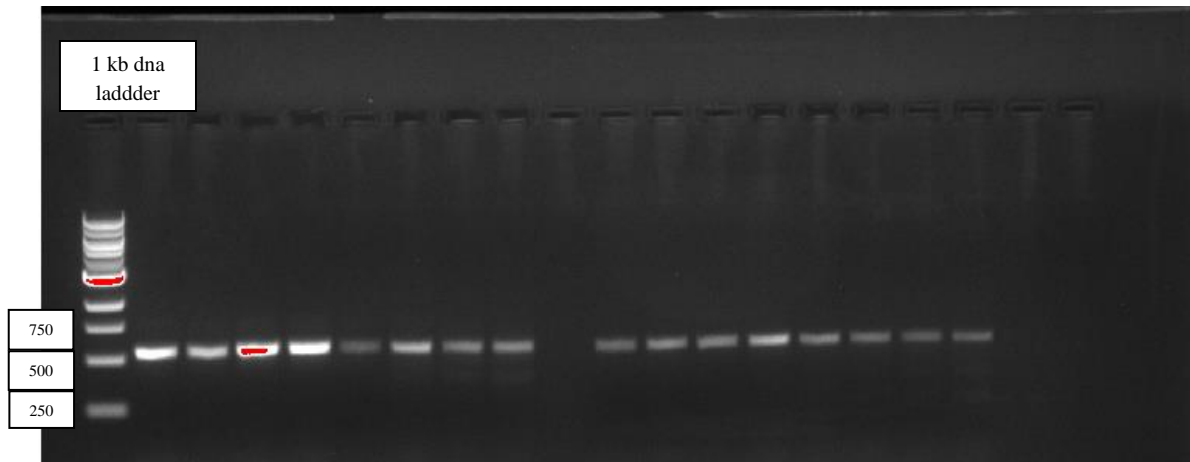
Reaksiyon	°C	Zaman	Döngü
İnitial (Başlangıç denatürasyonu)	95 °C	30sn	
Denatürasyon	95 °C	20sn	35X
Annealing (Bağlanma)	43°C	40sn	
Elongation (Uzama)	72 °C	2 dk	
Final Extension (Son uzama)	72 °C	5 dk	

PZR ürünlerinin diziletilmesi çift yönlü olarak Macrogen Inc. (Korea) firmasından hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

3.4.4. Jel elektroforezi

Elde edilen PZR ürünlerinin yeterli saflıkta ve istenilen uzunlukta olup olmadığı % 1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir.

Jel, 100 ml 1X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) ve 1 gr agaroz toz ile hazırlanmıştır. Mikrodalga fırında berrak hale getirilmiş karışıma 1 µl Etidyum Bromür eklenmiş ve karıştırılarak homojen hale getirilmiştir, daha sonra elektroforez kalıbına dökülerek polimerleşmesi beklenmiştir. Polimerleşen jel elektroforez tankına konulmuştur (1X TAE bulunan). Yükleme kuyucuklarına baz uzunlukları belirlenmiş belirteçle birlikte PZR sonucu elde edilmiş ürünler yüklenmiştir. 90 volt'da 45 dk süreyle yürütülen ürünler işlem sonunda UV ışını altında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. ITS1-2 gen bölgesine ait PZR örneklerinin Jel elektroforez görüntüleri

3.4.5. Veri analizleri ve kullanılan programlar

Hizmet alımı yoluyla Macrogen firmasından elde edilen .ab1 uzantılı ve gen bölgelerine ait baz piklerini içeren kromatogramlar Sequencer v4.1.4 (GeneCodes Corp.) ya da Codoncode v5.1.4 (CodonCode Corporation, USA) programında açılmış ve her iki primerden diziler birlikte hizalanmıştır. Her bir primer çifti için hizalamalar gerçekleştirilip

kontrol edildikten sonra konsensüs diziler contigler halinde düzenlenmiş ve dosyalar .fasta formatında kaydedilmiştir. Dizi bilgisinin doğru gen bölgesine ve doğru organizmaya ait olup olmadığı NCBI veri tabanındaki (Anonim, 2019c) BLAST nükleotid opsiyonu ile kontrol edilmiştir.

Mega v7.0 (Tamura vd., 2011) programı kullanılarak, COI ve NADH₂ gen bölgeleri için, pseudogen varlığı, nükleotid kompozisyonu ve aminoasit tipleri analiz edilmiştir. Yine Mega v7.0 programı ile her bir gene ait dizilerin çoklu hizalaması gerçekleştirilmiş ve veri matrisleri elde edilmiştir. Filogenetik analizler gerçekleştirilmeden önce veri setlerinin haplotip dosyaları oluşturulmuş ve Nexus, Phylip ve Fasta formatlarına DnaSP v5.0 (Librado ve Rozas 2009) ve DAMBE programı ile dönüştürülmüştür. Arlequin v3.0.1 (Excoffier vd., 2005) populasyon genetiği programı ile haplotip ve nükleotid çeşitliliği analiz edilmiş, nötral teori baz alınarak nükleotid çeşitliliğinin nötralite ilişkisinin belirlemek için Tajima'nın *D* (1989) ve Fu'nun *F_s* değerleri (1997) analiz edilmiştir. jModelTest 2.1.6 (Posada, 2008) programında yer alan AIC (Akaike Information Criterion) ve BIC (Bayesian Information Criterion)'ye göre, yapılacak filogenetik analizin doğasına göre en uygun evrimsel model belirlenmiş ve ağaç inşalarında kullanılacak olan parametre tahminleri gerçekleştirilmiştir.

PAUP v4.0 (Swofford, 2002) programı ile maksimum parsimoni analizi ve uzaklık hesaplaması yapılmıştır. Analiz ağaç arama opsiyonunda heuristic search (search = heuristic), dal eleme yönteminde TBR (tree bisection reconnection) (swap = tbr) seçeneği kullanılarak ve "random" dal ekleme metoduyla (addseq = random), 10 tekrarlı (nreps = 10) olarak gerçekleştirilmiştir. MP analizi sonucunda elde edilen parsimonik ağaçların "Strict consensus" (Katı uyum) ağacı yine PAUP komut bloğunda hesaplanmıştır. Ağacın topolojik güvenilirliği 100 tekrarlı (bootstrap nreps = 100) nonparametrik bootstrap analizi ile gerçekleştirilmiştir (Felsenstein, 1985).

Parsimoni analizi için uygun olmayan veri setlerine yine PAUP komut bloğu analizlerinden SVDquartets analizi uygulanmıştır. Bu analizin amacı, birleştirici model altında çoklu lokus veya SNP verileri kullanılarak tür düzeyinde bir filogenetik analiz yapmaktır. Hem tür düzeyinde, hem de soy düzeyinde çıkarımlar dikkate alınacaktır. Tekli

haplotiplerin çok olduğu veri setlerinde yoğun olarak kullanılmaya başlayan bu analiz ile türler arasındaki ilişki ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır (Villaverde vd., 2018).

Maksimum olasılık (MO) analizleri için Geneious Prime v 2019.1.3 (Anonim, 2019e; Kearse vd., 2012), ve raxmlGUI1.5b2 (Stamakis, 2006) programları kullanılmıştır. Jmodeltest programında hesaplanan baz-değişim modeli doğrultusunda 1000 tekrarlı non-parametric bootstrap testi ile MO analizleri gerçekleştirilmiştir.

MrBayes v3.1.2 (Ronquist ve Huelsenbeck, 2003) programı kullanılarak veri setine Bayesian filogenetik analizi uygulanmıştır. Analiz, baz değişim modeline uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Aynı anda dört analiz dosyası (nrun=4) üzerinden 4 Marko Chain simulasyonu çalıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Simule edilen 15 milyon jenerasyonun her 100'üncü jenerasyonundan örnekleme yapılmıştır. Analizdeki parametrelerin yeterli işlevsel örneklem büyüklüğüne ulaşip ulaşmadığı Tracer v.1.5 (Rambout ve Drummond, 2003) programı aracılığıyla takip edilmiştir. Analiz sonucunda oluşan ağaçların sapma gösteren ilk %25'lik kısmı yakılmış, geri kalan ağaçlardan, %50 destek uyum ağacı posterior olasılık değerleriyle hesaplanmıştır. Elde edilen filogenetik ağaçlar FigTree v1.3.1 (Rambout, 2008) programı ile açılarak incelenmiştir.

Haplotipler arasındaki ilişki median-joining, MJ şebeke yaklaşımı Network 4.5.1.6 (Anonim, 2019a) programı yoluyla gerçekleştirilirken, haplotipler arası mutasyonel uzaklıklar SplitsTree v.4.11.3 (Huson ve Bryant, 2006) programı ile analiz edilmiştir. Uzaklık algoritması ile çalışan Analiz MODELTEST ile hesaplanan baz değişim modeli kullanılarak "Neighbour Net haplotip ağı" opsiyonu sadece iç grup haplotiplere uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Veri setleri ile 2 farklı tür sınırı belirleme testi gerçekleştirilmiştir. Bunlardan ilki TCS 1.21 programı ile gerçekleştirilen İstatistiksel Parsimoni kullanarak Filogenetik Ağ Tahmini analizidir (Clement vd., 2000). TCS çoklu dallanma ve/veya retikülasyon (ağsılaşma) dâhil edilerek soy tahmini yapan Java temelli bir programdır. Restriksiyon endonükleaz haritalaması ve DNA sekans verilerinden çıkan haplotiplerle fenotipik ilişkilerin kladistik analizidir. Analizde haplotipler arasındaki yakınlık limiti % 90 ve % 95 olmak üzere 2 alt analizle gerçekleştirilmiştir.

İkinci tür sınırları belirleme testi ise ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) dir (Anonim, 2019d). Bu analiz dizileri barkod boşluğuna dayanarak hipotetik türlere ayırır. Haplotiplerde Limit ve boşluk tespiti yapıp gruplama gerçekleştirir. Daha dar gruplama yapmak için veri setine tekrar tekrar uygulanır ve kesin sonuç belirler. Tür sınırlarını belirleme zamansal olarak büyük kolaylık sağlayan bir analizdir.

Tür grubu içerisindeki türlere ait popülasyonların ve haplotiplerin ayrılma zamanları Bayesian metodu altında Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simülasyonları ile çalışan BEAST v. 1.7.4 ve BEAUti (Drummond ve Rambaut, 2007) programları aracılığıyla hesaplanmıştır. Analiz MODELTEST'in önerdiği nükleotid değişim modelleri ile birlikte "uncorrelated lognormal relaxed clock" saat modeli ve gen bölgeleri için Papadopoulou vd. (2010) tarafından verilen baz/milyon yıl oranı girilerek gerçekleştirilmiştir. Veri setleri, "Yule process" ağaç tarama opsiyonu ile ve her 1000'inci simülasyonda örnekleme alınacak şekilde 80 milyon jenerasyonlu analiz edilmiştir. Simülasyonlardaki yeterlilik Tracer v.1.3.1 programı ile analiz süresince kontrol edildi. BEAST programında gerçekleştirilen analiz sonrası TREEANNOTATOR programı ile elde edilen ağaçların ilk % 30'luk kısmı yakılarak kronogram elde edilmiştir.

S. ornatum tür grubunun Anadolu ve Avrupa'da yayılış gösteren türleri ile ilgili farklı araştırmacılar tarafından yapılan genetik çalışmalar sonucunda, gen bankasına COI, COII ve ITS 1-2 gen bölgelerine ait çok sayıda dizi yüklenmiştir. Yüklenen dizilerin büyük çoğunluğu COI gen bölgesinin 658bp kısmına aittir. Tür grubuna ait NADH₂ gen bölgesi ile ilgili kayıt bulunamamıştır. NCBI veri tabanına yüklenen *Simulium* cinsine ait türlerin COI gen bölgesine ait verilerinin bir kısmı indirilmiş ve tez çalışmasından örneklerle bir veri seti oluşturulmuştur (Çizelge 3. 6).

Çizelge 3. 6. *Simulium* cinsine ait türlerin NCBI Kodları ve Tür isimleri, Tez çalışmasından alınan türlerin kod ve isimleri

	Tür İsmi	NCBI ulaşım numaraları	Menşei ülke-Referans
1	<i>M.lyra (dış grup)</i>	KT278290.1	İsveç
2	<i>M.crassifistula (dış grup)</i>	JQ220492.1	Finlandiya
3	<i>M.bilineata (dış grup)</i>	JQ220479.1	
4	<i>S. aestivum</i>	FJ524569	Kanada-Riviera vd., 2009
5		FJ524570	
6	<i>S. decorum</i>	JF867294	Kanada-Yayınlanmamış
7		JF868083	
8		JF875754	
9		JF876457	
10	<i>S. noelleri</i>	JF876910	Kanada-Yayınlanmamış
11		JF876911	
12		JF877782	
13		JN303052	
14		JN303054	
15	<i>S. angustipes</i>	KF640045	Ermenistan-Adrianov vd., 2015
16		KF640048	
17		KF640049	
18		KF640051	
19	<i>S. kiritshenkoi</i>	KF640056	Ermenistan- Adrianov vd., 2015
20		KF640057	
21		KF640058	
22			KX673595
23	<i>S. intermedium</i>	KP861024	İngiltere- Yayınlanmamış
24		KP861025	
25		KP861026	
26		KP861027	
27	<i>S. ornatum</i>	KP861029	İngiltere- Yayınlanmamış
28		KP861030	
29		KP861031	
30		KP861032	
31		KP861033	
32	<i>S. trifasciatum</i>	KP861039	İngiltere-Yayınlanmamış
33		KP861040	
34		KP861041	
35		KP861042	
36		KP861043	
37	<i>S. morsitans</i>	KP861055	İngiltere-Yayınlanmamış
38		KP861056	
39		KP861057	
40		KP861059	
41		KP861060	
42	<i>S. costatum</i>	KP861180	İngiltere-Yayınlanmamış
43		KP861181	
44		KP861182	
45		KP861183	
46		KP861184	
47	<i>S. vernum</i>	KP861185	İngiltere-Yayınlanmış
48		KP861186	
49		KP861218	
50		KP861219	
51			

Çizelge 3.6.(devam) *Simulium* cinsine ait türlerin NCBI Kodları ve Tür isimleri, Tez çalışmasından alınan türlerin kod ve isimleri

52	<i>S. turgaicum</i>	KX759639	Türkiye-İnci vd., 2017
53		KX759640	
54		KX759641	
55		MH549565	Slovenya-Duknik vd., 2019
56		MH549566	Bosna-Hersek- Duknik vd., 2019
57	<i>S.intermedium</i>	MG599014	İskoçya-Woodford vd., 2018
58	<i>S. lineatum</i>	MG894247	İspanya- Ruiz-Arrondo vd., 2018
59		MG894282	
60		MG894293	
61		MG894309	
62	<i>S sergenti</i>	MH549564	Hırvatistan-Duknik vd., 2019
63		MG894290	İspanya- Ruiz-Arrondo vd., 2018
64		MG894312	
65		MG894320	
66		MG894324	
67		MG894332	
68	<i>S. equinum</i>	MH549553	Sırbistan- Duknik vd., 2019
69		MH549554	Sırbistan- Duknik vd., 2019
70		MH549555	Makedonya- Duknik vd., 2019
71		MH549557	Bosna-Hersek- Duknik vd., 2019
72	<i>S. balcanicum</i>	MH549568	Hırvatistan- Duknik vd., 2019
73		MH549569	Sırbistan
74		MH549570	
75		MH587353	
76		MH587354	
77	<i>S. pseudequinum</i>	MH587347	Hırvatistan
78		MH587348	Yunanistan
79		MH587349	
80		MH587350	Bulgaristan
81		MH587351	Sırbistan
	Tezde kullanılan tür ismi	Tez analiz kodu	
82	<i>S. intermedium</i>	336CitrusO	İtalya
83		335CitfegO	İtalya
84		280Cdengum	Türkiye
85		216Cankkal	Türkiye
86	<i>S. ornatum</i>	66Cbrdkoz	Türkiye
87		30Cadhoc	
88		29Cadhoc	
89	<i>S. kiritshenkoi</i>	329CispboO	Türkiye
90		295Cusgur	
91		375tokucF	
92		370CsamasK	
93		211Cankcil	
94		181Cezu	
95		163Cbayyil	
96		142Cortur	
97		111Ckarcum	
98		85Cmugor	
99		68Cantan	
100		54Cispcal	
101		25kocpi	
102	24Ckocpi		

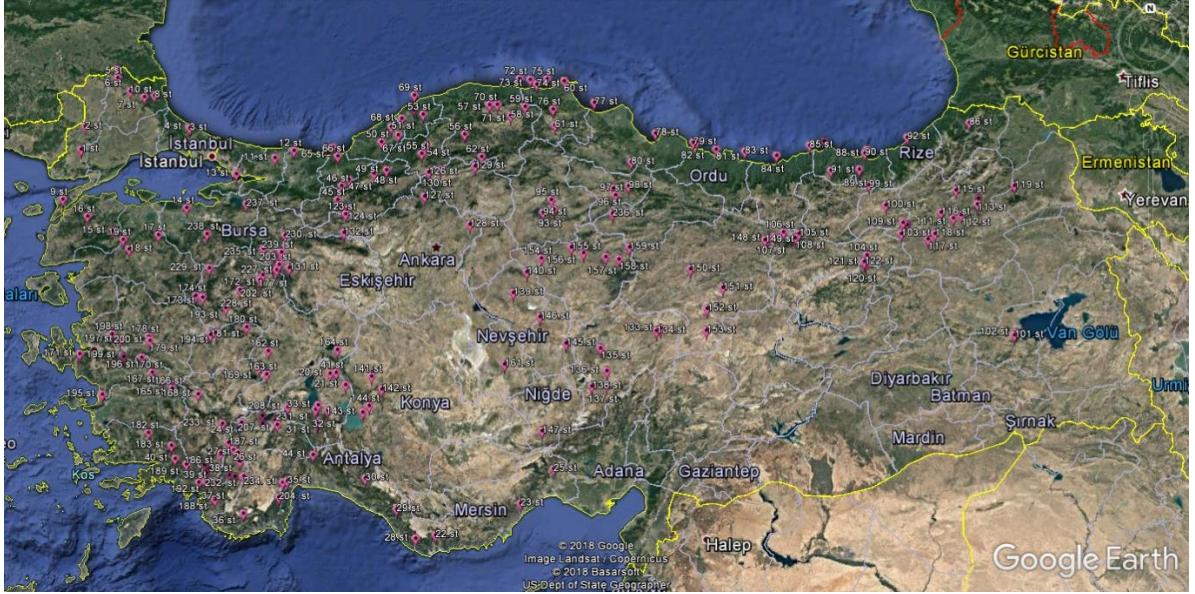
Çizelge 3.6.(devam) *Simulium* cinsine ait türlerin NCBI Kodları ve Tür isimleri, Tez çalışmasından alınan türlerin kod ve isimleri

103		23Ckirkp	
104		22Ckirkp	
105		21Ckirkp	
106		16Ckirkkom	
107		15Ckirkman	
108		14Ckirkko	
109	<i>S. kiritshenkoi</i>	11Ckirkka	Türkiye
110		10Cistkiz	
111		9Cistkiz	
112		8istkiz	
113		7Cistkiz	
114		6Cedbal	
115		4Cedbal	

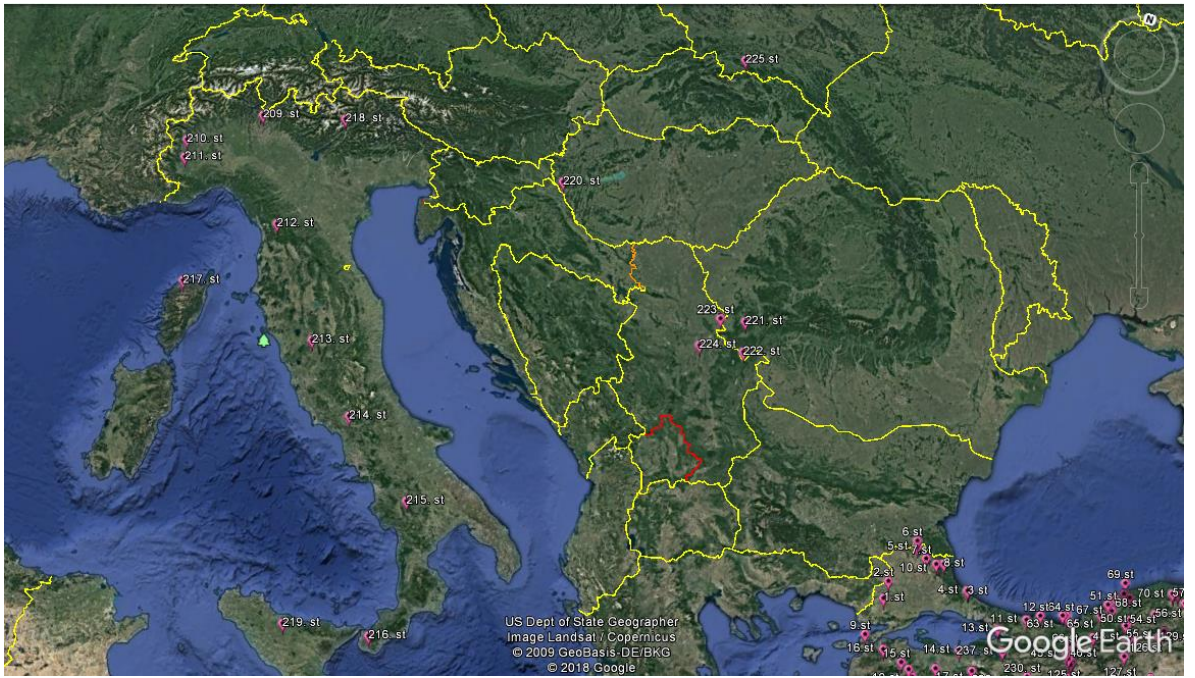
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Simulium ornatum tür grubunun Anadolu'daki yayılış alanlarını belirlemek ve homojen bir örnekleme sağlamak adına 2014-2018 yılları arasında 23 su havzası 54 il ve 222 farklı lokaliteden örnek alınmıştır. Örnekleme çalışmaları Fırat ve Dicle su havzasının güneyi haricindeki Türkiye'deki tüm havzaları kapsamaktadır. Arazi yapılan su havzalarının tümünde tür grubu örneklenmiş fakat Seyhan, Ceyhan, Van ve Çoruh havzalarından çok sayıda birey elde edilememiştir. Tür grubunun iki türüne (*ornatum* ve *intermedium*) ait Avrupa'daki 5 farklı ülke ve 17 lokaliteden toplanan materyal de filogenetik ve geometrik morfometri analizlerine dâhil edilmiştir.

Örneklerin Türkiye ve Avrupa'da toplandığı lokaliteler Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de görülebilir. Lokalitelerin deniz seviyesinden yüksekliği 5 metre ile 2170 metre arasında değişiklik göstermektedir (Çizelge 4.1).



Şekil 4. 1. Tür grubunun elde edildiği lokalitelerin uydu-lokasyon görüntüsü



Şekil 4. 2. Avrupa'nın çeşitli ülkelerinden gönderilen karşılaştırma materyallerinin uydu-lokasyon görüntüsü

Çizelge 4. 1. Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri, Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

N	Analiz kodu	Lokalite kodu	Şehir	Alan	Tarih	Koordinat		Yükseklik	Tür ismi
						Boylam	Enlem		
1	1edke	1	Edirne	Keşan	05.04.2018	40°52'26.51"K	26°38'2.45"D	42 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
2	2edke	1	Edirne	Keşan	05.04.2018	40°52'26.51"K	26°38'2.45"D	42 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
3	3edbal	2	Edirne	Balıklidere	05.04.2018	41°10'29.84"K	26°40'3.04"D	32 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
4	4edbal	2	Edirne	Balıklidere	05.04.2018	41°10'29.84"K	26°40'3.04"D	32 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
5	5edbal	2	Edirne	Balıklidere	05.04.2018	41°10'29.84"K	26°40'3.04"D	32 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
6	6edbal	2	Edirne	Balıklidere	05.04.2018	41°10'29.84"K	26°40'3.04"D	32 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
7	7istkız	3	İstanbul	Kızılcaali	03.06.2018	41°13'54.08"K	28°33'41.40"D	41 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
8	8istkız	3	İstanbul	Kızılcaali	03.06.2018	41°13'54.08"K	28°33'41.40"D	41 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
9	9istkız	4	İstanbul	Kızılcaali-2	03.06.2018	41°14'42.30"K	28°33'7.61"D	45 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
10	10istkız	4	İstanbul	Kızılcaali-2	03.06.2018	41°14'42.30"K	28°33'7.61"D	45 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
11	11kırkka	5	Kırklareli	Kadıköy deresi	05.06.2018	41°49'57.27"K	27°10'50.36"D	250 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
12	12kırkka	5	Kırklareli	Kadıköy deresi	05.06.2018	41°49'57.27"K	27°10'50.36"D	250 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
13	13kırkko	6	Kırklareli	Koçaz deresi	05.06.2018	41°56'21.18"K	27°9'18.30"D	407 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
14	14kırkko	6	Kırklareli	Koçaz deresi	05.06.2018	41°56'21.18"K	27°9'18.30"D	407 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
15	15kırkman	7	Kırklareli	Manastır	05.04.2018	41°40'5.33"K	27°26'13.38"D	184 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
16	16kırkkom	8	Kırklareli	Kömür köyü	04.06.2018	41°37'55.24"K	27°52'56.28"D	173 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
17	17kırkkom	8	Kırklareli	Kömür köyü	04.06.2018	41°37'55.24"K	27°52'56.28"D	173 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
18	18canbig	9	Çanakkale	Bigalıdere	05.04.2018	40°12'41.18"K	26°23'9.07"D	9 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
19	19canbig	9	Çanakkale	Bigalıdere	05.04.2018	40°12'41.18"K	26°23'9.07"D	9 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
20	20kırkpaz	10	Kırklareli	Pazarlı deresi	05.04.2018	41°36'16.81"K	27°42'3.91"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
21	21kırkp	10	Kırklareli	Pazarlı deresi	05.04.2018	41°36'16.81"K	27°42'3.91"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
22	22kırkp	10	Kırklareli	Pazarlı deresi	05.04.2018	41°36'16.81"K	27°42'3.91"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
23	23kırkp	10	Kırklareli	Pazarlı deresi	05.04.2018	41°36'16.81"K	27°42'3.91"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
24	24kocpi	11	Kocaeli	Pirceler	02.06.2018	40°53'51.85"K	30°5'15.04"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

25	25kocpi	11	Kocaeli	Pirceler	02.06.2018	40°53'51.85"K	30° 5'15.04"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
26	26kocpi	11	Kocaeli	Pirceler	02.06.2018	40°53'51.85"K	30° 5'15.04"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
27	27kocpi	11	Kocaeli	Pirceler	02.06.2018	40°53'51.85"K	30° 5'15.04"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
28	28adhoc	12	Adapazarı	Hocaoğlu	02.06.2018	40°59'52.75"K	30°24'36.70"D	36 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
29	29adhoc	12	Adapazarı	Hocaoğlu	02.06.2018	40°59'52.75"K	30°24'36.70"D	36 m	<i>S. ornatum</i>
30	30adhoc	12	Adapazarı	Hocaoğlu	02.06.2018	40°59'52.75"K	30°24'36.70"D	36 m	<i>S. ornatum</i>
31	31adhoc	12	Adapazarı	Hocaoğlu	02.06.2018	40°59'52.75"K	30°24'36.70"D	36 m	<i>S. ornatum</i>
32	32yalka	13	Yalova	Kabaklı	02.06.2018	40°40'23.58"K	29°26'4.42"D	50 m	<i>S. ornatum</i>
33	33buryen	14	Bursa	Yenikaraağaç K.	04.04.2018	40°12'38.39"K	28°36'25.58"D	10 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
34	34buryen	14	Bursa	Yenikaraağaç K.	04.04.2018	40°12'38.39"K	28°36'25.58"D	10 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
35	35buryen	14	Bursa	Yenikaraağaç K.	04.04.2018	40°12'38.39"K	28°36'25.58"D	10 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
36	36buryen	14	Bursa	Yenikaraağaç K.	04.04.2018	40°12'38.39"K	28°36'25.58"D	10 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
37	37cankay	15	Çanakkale	Kayatepe K.	04.04.2018	39°51'2.40"K	27°19'49.91"D	190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
38	38cankay	15	Çanakkale	Kayatepe K.	04.04.2018	39°51'2.40"K	27°19'49.91"D	190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
39	39cankay	15	Çanakkale	Kayatepe K.	04.04.2018	39°51'2.40"K	27°19'49.91"D	190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
40	40cankay	15	Çanakkale	Kayatepe K.	04.04.2018	39°51'2.40"K	27°19'49.91"D	190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
41	41candu	16	Çanakkale	Duman K.	04.04.2018	40° 1'0.34"K	26°51'51.83"D	141 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
42	42candu	16	Çanakkale	Duman K.	04.04.2018	40° 1'0.34"K	26°51'51.83"D	141 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
43	43candu	16	Çanakkale	Duman K.	04.04.2018	40° 1'0.34"K	26°51'51.83"D	141 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
44	44candu	16	Çanakkale	Duman K.	04.04.2018	40° 1'0.34"K	26°51'51.83"D	141 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
45	45balba	17	Balıkesir	Babaköy	04.04.2018	39°50'27.53"K	28° 8'44.19"D	52 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
46	46balba	17	Balıkesir	Babaköy	04.04.2018	39°50'27.53"K	28° 8'44.19"D	52 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
47	47balkil	18	Balıkesir	Killik ç.	04.04.2018	39°38'0.88"K	27°38'57.31"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
48	48balkil	18	Balıkesir	Killik ç.	04.04.2018	39°38'0.88"K	27°38'57.31"D	180m	<i>S. kiritshenkoi</i>
49	49balaz	19	Balıkesir	Azapdere	04.04.2018	39°45'7.48"K	27°31'56.93"D	214 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

50	50balaz	19	Balıkesir	Azapdere	04.04.2018	39°45'7.48"K	27°31'56.93"D	214 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
51	51ıspsen	20	Isparta	Senilli	03.04.2018	38°11'33.34"K	31° 9'44.88"D	1042 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
52	52ıspsen	20	Isparta	Senilli	03.04.2018	38°11'33.34"K	31° 9'44.88"D	1042 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
53	53ıspsen	20	Isparta	Senilli	03.04.2018	38°11'33.34"K	31° 9'44.88"D	1042 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
54	54ıspcal	21	Isparta	Çaltı	03.04.2018	38° 3'20.72"K	31°25'13.67"D	1192 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
55	55ıspcal	21	Isparta	Çaltı	03.04.2018	38° 3'20.72"K	31°25'13.67"D	1192 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
56	56ıspcal	21	Isparta	Çaltı	03.04.2018	38° 3'20.72"K	31°25'13.67"D	1192 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
57	57meran	22	Mersin	Anamur Çayı-2	02.05.2016	36°10'26.01"K	32°53'21.80"D	88 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
58	58merlim	23	Mersin	Limonlu çayı	01.05.2016	36°35'24.02"K	34°13'52.71"D	244 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
59	59brdyes	24	Burdur	Yeşilova	01.05.2016	37°30'49.79"K	29°43'35.11"D	1159 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
60	60merpa	25	Mersin	Pamuklu çayı	30.04.2016	37° 1'43.11"K	34°45'29.88"D	134 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
61	61brdya	26	Burdur	Yamadı burnu	02.04.2018	37° 9'22.58"K	29°36'47.06"D	959 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
62	62brdya	26	Burdur	Yamadı burnu	02.04.2018	37° 9'22.58"K	29°36'47.06"D	959 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
63	63brdya	26	Burdur	Yamadı burnu	02.04.2018	37° 9'22.58"K	29°36'47.06"D	959 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
64	64brdkoz	27	Burdur	Koz ağacı sapğı	02.04.2018	37° 7'29.30"K	29°41'17.04"D	1021 m	<i>S. ornatum</i>
65	65brdkoz	27	Burdur	Koz ağacı sapğı	02.04.2018	37° 7'29.30"K	29°41'17.04"D	1021 m	<i>S. ornatum</i>
66	66brdkoz	27	Burdur	Kozağacı sapğı	02.04.2018	37° 7'29.30"K	29°41'17.04"D	1021 m	<i>S. ornatum</i>
67	67antan	28	Antalya	Anıtlı	22.05.2015	36° 7'23.68"K	32°34'24.47"D	25 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
68	68antan	28	Antalya	Anıtlı	22.05.2015	36° 7'23.68"K	32°34'24.47"D	25 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
69	69anttır	29	Antalya	Tırılar köyü	24.04.2015	36°29'29.71"K	32°16'15.34"D	140 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
70	70anttır	29	Antalya	Tırılar köyü	24.04.2015	36°29'29.71"K	32°16'15.34"D	140 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
71	71antmur	30	Antalya	Murtiçi	21.05.2015	36°52'39.45"K	31°45'57.53"D	487 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
72	72antmur	30	Antalya	Murtiçi	21.05.2015	36°52'39.45"K	31°45'57.53"D	487 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
73	73ıspbog	31	Isparta	Boğazköy 5 km sonra	25.05.2015	37°33'52.62"K	30°58'45.03"D	940 m	<i>S. ornatum</i>
74	74ıspbog	31	Isparta	Boğazköy 5 km sonra	25.05.2015	37°33'52.62"K	30°58'45.03"D	940 m	<i>S. ornatum</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

75	75ıspkoc	32	Isparta	Koçular	27.06.2015	37°43'26.17"K	31° 8'23.99"D	1252 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
76	76ıspyıl	33	Isparta	Yılanlı köyü	03.04.2018	37°47'10.10"K	30°58'48.74"D	1190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
77	77ıspyıl	33	Isparta	Yılanlı köyü	03.04.2018	37°47'10.10"K	30°58'48.74"D	1190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
78	78ıspyıl	33	Isparta	Yılanlı köyü	03.04.2018	37°47'10.10"K	30°58'48.74"D	1190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
79	79antur	34	Antalya	Urluca	02.04.2018	36°49'49.58"K	29°33'42.72"D	951 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
80	80antsak	34	Antalya	Urluca	02.04.2018	36°49'49.58"K	29°33'42.72"D	951 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
81	81antsak	35	Antalya	Saklıköy	23.05.2015	36°47'45.15"K	30°30'9.78"D	644 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
82	82antsak	35	Antalya	Saklıköy	23.05.2015	36°47'45.15"K	30°30'9.78"D	644 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
83	83antdir	36	Antalya	Dirgenler deresi	23.05.2015	36°20'42.48"K	29°48'1.23"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
84	84antdir	36	Antalya	Dirgenler deresi	23.05.2015	36°20'42.48"K	29°48'1.23"D	220 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
85	85mugor	37	Muğla	Ortaköy	27.04.2015	36°43'38.02"K	29°21'25.63"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
86	86mugor	37	Muğla	Ortaköy	27.04.2015	36°43'38.02"K	29°21'25.63"D	180 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
87	87brdba	38	Burdur	Batisöke Çavdır	27.04.2015	37° 0'58.50"K	29°43'25.34"D	1074 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
88	88brdba	38	Burdur	Batisöke Çavdır	27.04.2015	37° 0'58.50"K	29°43'25.34"D	1074 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
89	89mugkar	39	Muğla	Kargı çayı	27.03.2016	36°42'23.62"K	29° 2'54.05"D	22 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
90	90mugkar	39	Muğla	Kargı çayı	27.03.2016	36°42'23.62"K	29° 2'54.05"D	22 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
91	91mugkoy	40	Muğla	Köyceğiz	26.04.2015	36°59'20.20"K	28°38'19.88"D	6 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
92	92mugkoy	40	Muğla	Köyceğiz	26.04.2015	36°59'20.20"K	28°38'19.88"D	6 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
93	93ıspbag	41	Isparta	Bağ konak	21.05.2015	38°12'20.72"K	31°15'46.96"D	1104 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
94	94ıspbag	41	Isparta	Bağkonak	21.05.2015	38°12'20.72"K	31°15'46.96"D	1104 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
95	95brdyar	42	Burdur	Yarım köy	30.03.2016	37°36'58.12"K	30° 4'11.34"D	862 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
96	96brdyar	42	Burdur	Yarım köy	30.03.2016	37°36'58.12"K	30° 4'11.34"D	862 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
97	97brdbog	43	Burdur	Boğaziçi köyü	26.06.2015	37°30'54.97"K	30° 4'37.87"D	990 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
98	98brdbog	43	Burdur	Boğaziçi köyü	26.06.2015	37°30'54.97"K	30° 4'37.87"D	990 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
99	99antuc	44	Antalya	Uçan şelale mesireliği yolu	23.04.2015	37° 8'53.89"K	30°54'45.56"D	56 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

100	100antuc	44	Antalya	Uçan şelale mesireliği yolu	23.04.2015	37° 8'53.89"K	30°54'45.56"D	56 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
101	101antuc	44	Antalya	Uçan şelale mesireliği yolu	23.04.2015	37° 8'53.89"K	30°54'45.56"D	56 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
102	102bolbo	45	Bolu	Bostancılar	09.06.2016	40°23'25.16"K	31°11'45.99"D	1010 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
103	103bolce	46	Bolu	Cepni çayı	09.06.2016	40°34'2.06"K	31°15'11.81"D	948 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
104	104boldö	47	Bolu	Dereceören çayı	09.06.2016	40°38'55.03"K	31°22'15.99"D	967 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
105	105bolbü	48	Bolu	Bürnük çayı	10.06.2016	40°44'2.80"K	31°47'45.45"D	810 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
106	106bolye	49	Bolu	Yeniçağa çayı	10.06.2016	40°46'46.81"K	32° 0'12.33"D	999 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
107	107zonsa	50	Zonguldak	Sabunlar Çayı	10.06.2016	41° 8'8.02"K	31°54'3.67"D	41 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
108	108zonor	51	Zonguldak	Örmece çayı	10.06.2016	41°19'48.11"K	32° 3'38.44"D	63 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
109	109bargok	52	Bartın	Gökırmak	11.06.2016	41°32'53.07"K	32°26'1.94"D	50 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
110	110barcan	53	Bartın	Çanakçar çayı	11.06.2016	41°29'32.17"K	32°35'44.68"D	162 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
111	111karcum	54	Karabük	Cumayanı	11.06.2016	41° 5'55.78"K	32°40'10.87"D	372 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
112	112karkar	55	Karabük	Karahasanlar deresi	11.06.2016	40°59'40.41"K	32°35'19.11"D	600 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
113	113kasza	56	Kastamonu	Zala deresi	11.06.2016	41°14'36.02"K	33°18'28.60"D	644 m	<i>S. ornatum</i>
114	114kasor	57	Kastamonu	Örcünler	12.06.2016	41°37'51.84"K	33°42'32.25"D	1026 m	<i>S. ornatum</i>
115	115kasku	58	Kastamonu	Kurudere	12.06.2016	41°28'47.74"K	34° 4'37.49"D	613 m	<i>S. ornatum</i>
116	116kaskı	59	Kastamonu	Kıvrım çay	12.06.2016	41°35'37.85"K	34°19'20.77"D	516 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
117	117sinkı	60	Sinop	Kırcalı deresi	12.06.2016	41°54'52.68"K	34°59'2.04"D	105 m	<i>S. ornatum</i>
118	118sinas	61	Sinop	Asarcık Deresi	13.06.2016	41°21'21.98"K	34°49'16.72"D	389 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
119	119kasak	62	Kastamonu	Akbük	13.06.2016	40°57'33.12"K	33°35'47.18"D	692 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
120	120duzmel	63	Düzce	Melen D	06.05.2017	41° 3'1.76"K	30°57'35.64"D	5 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
121	121duzkal	64	Düzce	Kalkın deresi	06.05.2017	41° 3'17.92"K	31° 2'51.40"D	38 m	<i>S. ornatum</i>
122	122duztah	65	Düzce	Tahirli	06.05.2017	41° 3'30.16"K	31° 4'4.90"D	17 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
123	123duzbog	66	Düzce	Boğaziçi	06.05.2017	40°56'39.82"K	31° 9'57.19"D	236 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

124	124karsek	67	Karabük	Şeker deresi	07.05.2017	41°13'37.15"K	32°10'56.47"D	93 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
125	125zonter	68	Zonguldak	Terziler	07.05.2017	41°26'14.24"K	32°13'58.46"D	43 m	<i>S. ornatum</i>
126	126barin	69	Bartın	İnpiri deresi	07.05.2017	41°44'13.91"K	32°26'11.48"D	130 m	<i>S. ornatum</i>
127	127kassey	70	Kastamonu	Seydiler	07.05.2017	41°37'2.34"K	33°43'15.11"D	1035 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
128	128kassey	70	Kastamonu	Seydiler	07.05.2017	41°37'2.34"K	33°43'15.11"D	1035 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
129	129kasdev	71	Kastamonu	Devrekani 1	08.05.2017	41°37'18.58"K	33°51'4.18"D	1062 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
130	130kasdev	72	Kastamonu	Devrekani 1	08.05.2017	41°56'58.98"K	34°13'36.82"D	16 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
131	131sintac	73	Sinop	Taçahmet	08.05.2017	41°56'11.66"K	34°24'24.40"D	30 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
132	132sinom	74	Sinop	Ömerdüz	08.05.2017	41°52'35.65"K	34°31'11.64"D	351 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
133	133sinol	75	Sinop	Oluza Deresi	08.05.2017	41°56'40.14"K	34°41'39.34"D	9 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
134	134sinmar	76	Sinop	Marufçayı deresi	30.04.2018	41°33'31.19"K	34°47'35.80"D	404 m	<i>S. ornatum</i>
135	135sinmar	76	Sinop	Marufçayı deresi	30.04.2018	41°33'31.19"K	34°47'35.80"D	404 m	<i>S. ornatum</i>
136	136samas	77	Samsun	Asmapınar	09.05.2017	41°38'15.47"K	35°29'35.36"D	17 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
137	137samham	78	Samsun	Hamzalı	09.05.2017	41°13'58.83"K	36°30'34.75"D	7 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
138	138samak	79	Samsun	Akçay	09.05.2017	41° 6'12.92"K	37° 8'8.90"D	56 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
139	139samdes	80	Samsun	Destek köyü	26.06.2018	40°52'34.74"K	36° 5'26.02"D	928 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
140	140ordme	81	Ordu	Meşebükü	09.05.2017	41° 0'22.13"K	37°30'52.66"D	13 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
141	141ordsay	82	Ordu	Say deresi	01.05.2018	41° 6'36.19"K	37°11'43.10"D	39 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
142	142ortur	83	Ordu	Turna suyu	01.05.2018	40°58'0.59"K	37°59'53.02"D	13 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
143	143girke	84	Giresun	Keşap deresi	01.05.2018	40°53'55.14"K	38°31'28.84"D	34 m	<i>S. ornatum</i>
144	144giryal	85	Giresun	Yalakoda Deresi	01.05.2018	41° 0'28.55"K	39° 5'32.85"D	94 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
145	145artsey	86	Artvin	Seyitler	02.06.2016	41°10'8.22"K	41°52'4.33"D	342 m	<i>S. ornatum</i>
146	146tracar	87	Trabzon	Çarşıbaşı	01.05.2018	41° 3'2.00"K	39°20'36.80"D	57 m	<i>S. ornatum</i>
147	147trakuc	88	Trabzon	Küçükdere	02.05.2018	40°54'45.96"K	40° 3'36.53"D	35 m	<i>S. ornatum</i>
148	148traar	89	Trabzon	Araklı-Bayburt	02.05.2018	40°40'9.83"K	39°54'13.26"D	594 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
149	149traay	90	Trabzon	Ayvadere	28.06.2018	40°52'20.19"K	40° 1'20.15"D	62 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

150	150trazit	91	Trabzon	Zitaş	28.06.2018	40°40'29.03"K	39°25'13.20"D	1650 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
151	151rizcay	92	Rize	Çayeli-Azsu Deresi	02.05.2018	41° 2'23.24"K	40°46'0.66"D	106 m	<i>S. ornatum</i>
152	152rizcay	92	Rize	Çayeli-Azsu Deresi	02.05.2018	41° 2'23.24"K	40°46'0.66"D	106 m	<i>S. ornatum</i>
153	154corkur	93	Çorum	Küre köyü	07.05.2018	40°17'26.87"K	34°47'50.77"D	1124 m	<i>S. ornatum</i>
154	155corge	94	Çorum	Gelincik deresi	07.05.2018	40°15'19.71"K	34°37'5.75"D	1000 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
155	156corham	95	Çorum	Hamdiköy	25.06.2018	40°24'58.51"K	34°45'20.75"D	805 m	<i>S. ornatum</i>
156	157amada	96	Amasya	Dadı	10.05.2017	40°32'56.71"K	35°47'3.30"D	415 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
157	158amaul	97	Amasya	Ulutepe	10.05.2017	40°27'48.92"K	35°49'2.50"D	1060 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
158	159amakız	98	Amasya	Kızılca	26.06.2018	40°34'30.13"K	36° 2'13.63"D	636 m	<i>S. ornatum</i>
159	160amakız	98	Amasya	Kızılca	26.06.2018	40°34'30.13"K	36° 2'13.63"D	636 m	<i>S. ornatum</i>
160	161baysor	99	Bayburt	Sorkunlu köyü	02.05.2018	40°28'0.94"K	40° 2'51.92"D	1852 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
161	162baysor	99	Bayburt	Sorkunlu köyü	02.05.2018	40°28'0.94"K	40° 2'51.92"D	1852 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
162	163bayyıl	100	Bayburt	Yıldırım Çayı	02.05.2018	40°11'41.32"K	40°18'21.46"D	1603 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
163	164bittat	101	Bitlis	Tatvan-Küçüksu	23.07.2018	38°25'1.00"K	42°18'41.27"D	1805 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
164	165bittat	101	Bitlis	Tatvan-Küçüksu	23.07.2018	38°25'1.00"K	42°18'41.27"D	1805 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
165	166bitta	102	Bitlis	Tatvan-Yoncabaşı	24.07.2018	38°26'47.20"K	42°20'38.56"D	1760 m	<i>S. ornatum</i>
166	167bitta	102	Bitlis	Tatvan-Yoncabaşı	24.07.2018	38°26'47.20"K	42°20'38.56"D	1760 m	<i>S. ornatum</i>
167	168erzas	103	Erzincan	Aşkale 2km	03.05.2018	39°49'16.22"K	40°31'50.99"D	1681 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
168	169erzas	103	Erzincan	Aşkale 2km	03.05.2018	39°49'16.22"K	40°31'50.99"D	1681 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
169	170erzder	104	Erzincan	Derebük	03.05.2018	39°34'51.57"K	39°55'52.32"D	1243 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
170	171erzder	104	Erzincan	Derebük	03.05.2018	39°34'51.57"K	39°55'52.32"D	1243 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
171	172erzol	105	Erzincan	Olgun köyü	03.05.2018	39°53'56.19"K	38°49'23.59"D	1614 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
172	173erzol	105	Erzincan	Olgun köyü	03.05.2018	39°53'56.19"K	38°49'23.59"D	1614 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
173	174erzcob	106	Erzincan	Çobanlı çayı	03.05.2018	39°55'43.45"K	38°34'5.51"D	1555 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
174	175erzcob	106	Erzincan	Çobanlı çayı	03.05.2018	39°55'43.45"K	38°34'5.51"D	1555 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
175	176erzkas	107	Erzincan	Kasaplar	03.05.2018	39°52'31.94"K	38°25'8.55"D	2009 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

176	177erzkas	107	Erzincan	Kasaplar	03.05.2018	39°52'31.94"K	38°25'8.55"D	2009 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
177	178erzcam	108	Erzincan	Çamdibi	02.07.2018	39°50'48.66"K	38°45'25.81"D	1677 m	<i>S. ornatum</i>
178	179erzcam	108	Erzincan	Çamdibi	02.07.2018	39°50'48.66"K	38°45'25.81"D	1677 m	<i>S. ornatum</i>
179	180ezu	109	Erzurum	Erzurum'a 70 km	02.05.2018	39°57'38.02"K	40°34'30.51"D	1635 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
180	181ezu	109	Erzurum	Erzurum'a 70 km	02.05.2018	39°57'38.02"K	40°34'30.51"D	1635 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
181	182ezuak	110	Erzurum	Akçayırlar deresi	02.05.2018	39°55'52.34"K	40°38'20.19"D	1625 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
182	183ezuak	110	Erzurum	Akçayırlar deresi	02.05.2018	39°55'52.34"K	40°38'20.19"D	1625 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
183	184ezunen	111	Erzurum	Nenehatun	03.05.2018	39°58'14.44"K	41°25'59.62"D	1835 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
184	185ezunen	111	Erzurum	Nenehatun	03.05.2018	39°58'14.44"K	41°25'59.62"D	1835 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
185	186ezubuy	112	Erzurum	Büyükçay	03.05.2018	40° 0'8.64"K	41°34'21.13"D	1712 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
186	187ezubuy	112	Erzurum	Büyükçay	03.05.2018	40° 0'8.64"K	41°34'21.13"D	1712 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
187	188ezulı	113	Erzurum	İlçasu	30.06.2018	40° 7'24.27"K	41°52'7.09"D	2117 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
188	189ezulı	113	Erzurum	İlçasu	30.06.2018	40° 7'24.27"K	41°52'7.09"D	2117 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
189	190ezucim	114	Erzurum	Çimenli	30.06.2018	40°11'36.93"K	41°53'43.01"D	2127 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
190	191ezucim	114	Erzurum	Çimenli	30.06.2018	40°11'36.93"K	41°53'43.01"D	2127 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
191	192ezukal	115	Erzurum	Kaledibi	30.06.2018	40°19'18.80"K	41°31'15.07"D	1506 m	<i>S. ornatum</i>
192	193ezukal	115	Erzurum	Kaledibi	30.06.2018	40°19'18.80"K	41°31'15.07"D	1506 m	<i>S. ornatum</i>
193	194ezuuum	116	Erzurum	Umudum Yaylası	01.07.2018	40° 3'22.35"K	41°13'55.74"D	1905 m	<i>S. ornatum</i>
194	195ezuuumu	116	Erzurum	Umudum Yaylası	01.07.2018	40° 3'22.35"K	41°13'55.74"D	1905 m	<i>S. ornatum</i>
195	196ezukm	117	Erzurum	Erzurum'a 37 km	01.07.2018	39°43'48.68"K	40°58'28.34"D	2247 m	<i>S. ornatum</i>
196	197ezukm	117	Erzurum	Erzurum'a 37 km	01.07.2018	39°43'48.68"K	40°58'28.34"D	2247 m	<i>S. ornatum</i>
197	198ezukm	118	Erzurum	Erzurum'a 19 km	01.07.2018	39°47'27.27"K	41° 5'58.73"D	1992 m	<i>S. ornatum</i>
198	199ezukm	118	Erzurum	Erzurum'a 19 km	01.07.2018	39°47'27.27"K	41° 5'58.73"D	1992 m	<i>S. ornatum</i>
199	200karsar	119	Kars	Sarıkaşı'a 5km	29.06.2018	40°19'6.47"K	42°32'35.72"D	2132 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
200	201karsar	119	Kars	Sarıkaşı'a 5km	29.06.2018	40°19'6.47"K	42°32'35.72"D	2132 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

201	202tunpul	120	Tunceli	Pülümür çayı-1	02.07.2018	39°27'38.24"K	39°53'53.43"D	1394 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
202	203tunpul	120	Tunceli	Pülümür çayı-1	02.07.2018	39°27'38.24"K	39°53'53.43"D	1394 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
203	204tunpul	121	Tunceli	Pülümür çayı-2	02.07.2018	39°29'23.61"K	39°53'21.21"D	1507 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
204	205tunpul	121	Tunceli	Pülümür çayı-2	02.07.2018	39°29'23.61"K	39°53'21.21"D	1507 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
205	206tunpis	122	Tunceli	Pişi deresi	02.07.2018	39°29'54.96"K	39°52'39.36"D	1541 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
206	207tunpis	122	Tunceli	Pişi deresi	02.07.2018	39°29'54.96"K	39°52'39.36"D	1541 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
207	208ankna	123	Ankara	Nallı Çayı	09.06.2016	40°12'41.14"K	31°20'19.23"D	669 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
208	209ankna	123	Ankara	Nallı Çayı	09.06.2016	40°12'41.14"K	31°20'19.23"D	669 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
209	210ankboz	124	Ankara	Bozkaya	09.06.2016	40°16'25.09"K	31°22'21.20"D	737 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
210	211ankcil	125	Ankara	Çiller	09.06.2016	40°18'41.04"K	31°16'3.11"D	784 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
211	212ankcil	125	Ankara	Çiller	09.06.2016	40°18'41.04"K	31°16'3.11"D	784 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
212	213ankbes	126	Ankara	Beşkonak köyü	13.06.2016	40°45'34.90"K	32°42'54.19"D	1536 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
213	214ankham	127	Ankara	Hamam çayı	13.06.2016	40°27'16.91"K	32°39'11.00"D	939 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
214	215ankham	127	Ankara	Hamam çayı	13.06.2016	40°27'16.91"K	32°39'11.00"D	939 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
215	216ankkal	128	Ankara	Kalecik deresi	07.05.2018	40° 6'23.95"K	33°24'41.52"D	714 m	<i>S. intermedium</i>
216	217ankkal	128	Ankara	Kalecik deresi	07.05.2018	40° 6'23.95"K	33°24'41.52"D	714 m	<i>S. intermedium</i>
217	218cnkrcör	129	Çankırı	Çörekçiler	30.04.2018	40°50'21.20"K	33°29'19.08"D	929 m	<i>S. ornatum</i>
218	219cnkrceer	130	Çankırı	Çerkeş çayı	13.06.2016	40°47'42.20"K	32°54'31.65"D	1139 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
219	220cnkrceer	130	Çankırı	Çerkeş çayı	13.06.2016	40°47'42.20"K	32°54'31.65"D	1139 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
220	221eskbes	131	Eskişehir	Beşikderesi	20.05.2016	39°30'31.12"K	30°25'30.66"D	1027 m	<i>S. ornatum</i>
221	222eskbes	131	Eskişehir	Beşikderesi	20.05.2016	39°30'31.12"K	30°25'30.66"D	1027 m	<i>S. ornatum</i>
222	223eskbes	131	Eskişehir	Beşikderesi	20.05.2016	39°30'31.12"K	30°25'30.66"D	1027 m	<i>S. ornatum</i>
223	224eskgur	132	Eskişehir	Gürleyik şelalesi	10.11.2016	39°58'38.99"K	31°19'10.88"D	1030 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
224	225kayasa	133	Kayseri	Aşağı boran	04.05.2018	38°46'40.03"K	36°30'7.83"D	1578 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
225	226kayalt	134	Kayseri	Altıkese köyü	04.05.2018	38°44'52.93"K	36°26'4.46"D	1509 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

226	227kayerc	135	Kayseri	Erciyes dağı	05.05.2018	38°32'43.61"K	35°31'41.64"D	2170 m	<i>S. ornatum</i>
227	228kaygum	136	Kayseri	Gümüüşören	05.05.2018	38°15'34.57"K	35°37'31.93"D	1291 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
228	229kaysih	137	Kayseri	Şihli köyü	05.05.2018	38° 4'39.36"K	35°37'8.45"D	1391 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
229	230kayyah	138	Kayseri	Yahyalı köyü	05.05.2018	38° 4'14.03"K	35°22'55.68"D	1306 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
230	231kirkil	139	Kırşehir	Kılıçözü çayı	06.05.2018	39°15'1.81"K	34° 7'41.06"D	1050 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
231	232kirkil	139	Kırşehir	Kılıçözü çayı	06.05.2018	39°15'1.81"K	34° 7'41.06"D	1050 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
232	233kırrib	140	Kırşehir	İbikli deresi	06.05.2018	39°30'39.07"K	34°20'51.84"D	1080 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
233	234kırrib	140	Kırşehir	İbikli deresi	06.05.2018	39°30'39.07"K	34°20'51.84"D	1080 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
234	235kongec	141	Konya	Geçitköy	03.04.2018	38°10'22.80"K	31°50'22.97"D	1107 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
235	236kongec	141	Konya	Geçitköy	03.04.2018	38°10'22.80"K	31°50'22.97"D	1107 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
236	237konder	142	Konya	Derbent	03.04.2018	38° 0'53.53"K	32° 0'42.40"D	1469 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
237	238konder	142	Konya	Derbent	03.04.2018	38° 0'53.53"K	32° 0'42.40"D	1469 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
238	239konbey	143	Konya	Beyşehir	03.04.2018	37°42'55.13"K	31°42'31.49"D	1131 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
239	240konbey	143	Konya	Beyşehir	03.04.2018	37°42'55.13"K	31°42'31.49"D	1131 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
240	241konak	144	Konya	Akköprü	03.04.2018	37°48'3.79"K	31°48'40.51"D	1210 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
241	242konak	144	Konya	Akköprü	03.04.2018	37°48'3.79"K	31°48'40.51"D	1210 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
242	243nevkari	145	Nevşehir	Karacaören	05.05.2018	38°36'44.95"K	34°58'29.38"D	1150 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
243	244nevkari	145	Nevşehir	Karacaören	05.05.2018	38°36'44.95"K	34°58'29.38"D	1150 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
244	245nevhac	146	Nevşehir	Hacıbektaş	05.05.2018	38°56'47.12"K	34°33'29.96"D	1260 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
245	246nevhac	146	Nevşehir	Hacıbektaş	05.05.2018	38°56'47.12"K	34°33'29.96"D	1260 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
246	247nigcak	147	Niğde	Çakıt suyu	29.04.2016	37°30'41.79"K	34°34'46.92"D	1264 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
247	248sivor	148	Sivas	Ortaköy	03.05.2018	39°51'22.34"K	38°18'41.64"D	1788 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
248	249sivor	148	Sivas	Ortaköy	03.05.2018	39°51'22.34"K	38°18'41.64"D	1788 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
249	250sinkoy	149	Sivas	Koyunkaya	03.05.2018	39°50'29.31"K	38°15'23.07"D	1684 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
250	251sivtas	150	Sivas	Taşlı deresi	04.05.2018	39°30'42.40"K	37° 0'58.11"D	1359 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

251	252sivtas	150	Sivas	Taşlı deresi	04.05.2018	39°30'42.40"K	37° 0'58.11"D	1359 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
252	253sivkan	151	Sivas	Kangal çayı	04.05.2018	39°15'52.08"K	37°32'0.92"D	1434 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
253	254sivman	152	Sivas	Mancılık deresi	04.05.2018	39° 0'27.26"K	37°15'55.71"D	1650 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
254	255sivman	152	Sivas	Mancılık deresi	04.05.2018	39° 0'27.26"K	37°15'55.71"D	1650 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
255	256sivtoh	153	Sivas	Tohma çayı	04.05.2018	38°44'1.23"K	37°14'22.64"D	1345 m	<i>S. ornatum</i>
256	257sivtoh	153	Sivas	Tohma çayı	04.05.2018	38°44'1.23"K	37°14'22.64"D	1345 m	<i>S. ornatum</i>
257	258yozyuk	154	Yozgat	Yukarielma hacılı	06.05.2018	39°40'50.90"K	34°35'12.09"D	929 m	<i>S. ornatum</i>
258	259yozyuk	154	Yozgat	Yukarielma hacılı	06.05.2018	39°40'50.90"K	34°35'12.09"D	929 m	<i>S. ornatum</i>
259	260yozey	155	Yozgat	Eyri çayı-2	06.05.2018	39°48'57.74"K	35° 4'39.91"D	1111 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
260	261yozey	155	Yozgat	Eyri çayı-2	06.05.2018	39°48'57.74"K	35° 4'39.91"D	1111 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
261	262yozos	156	Yozgat	Osmaniye	06.05.2018	39°44'41.43"K	35°16'34.20"D	1065 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
262	263yozos	156	Yozgat	Osmaniye	06.05.2018	39°44'41.43"K	35°16'34.20"D	1065 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
263	264yozak	157	Yozgat	Akdağ madeni 25 km	06.05.2018	39°41'21.58"K	35°38'19.50"D	1194 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
264	265yozak	158	Yozgat	Akdağ madeni	06.05.2018	39°39'26.13"K	35°51'7.87"D	1315 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
265	266yozak	158	Yozgat	Akdağ madeni	06.05.2018	39°39'26.13"K	35°51'7.87"D	1315 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
266	267yozgok	159	Yozgat	Gökdelen deresi	06.05.2018	39°48'16.70"K	36° 1'42.23"D	1192 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
267	268yozcig	160	Yozgat	Çiğdemli köyü	06.05.2018	39°49'26.33"K	35°18'0.67"D	1121 m	<i>S. ornatum</i>
268	269akmel	161	Aksaray	Melendiz çayı	29.04.2016	38°21'8.81"K	33°59'5.41"D	962 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
269	270akmel	161	Aksaray	Melendiz çayı	29.04.2016	38°21'8.81"K	33°59'5.41"D	962 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
270	271sivkoy	149	Sivas	Koyunkaya	03.05.2018	39°50'29.31"K	38°15'23.07"D	1684 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
271	272kayerc	135	Kayseri	Erciyes dağı	05.05.2018	38°32'43.61"K	35°31'41.64"D	2170 m	<i>S. ornatum</i>
272	273afbass	162	Afyon	Baştepe	31.03.2016	38°26'38.59"K	30° 7'43.02"D	1061 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
273	274afkız	163	Afyon	Kızıllı	31.03.2016	38° 8'45.72"K	30° 6'51.83"D	1238 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
274	275afder	164	Afyon	Dereçine	03.04.2018	38°29'44.75"K	31°16'17.73"D	1006 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
275	276aydyor	165	Aydın	Yöre köyü	26.03.2016	37°56'9.85"K	28°31'36.15"D	261 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

276	277ayddan	166	Aydın	Dandalas Çayı	26.03.2016	37°53'29.45"K	28°32'27.09"D	80 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
277	278aydbay	167	Aydın	Bayındır	26.03.2016	37°59'12.56"K	28°22'25.67"D	215 m	<i>S. ornatum</i>
278	279denbey	168	Denizli	Beyler	25.03.2016	37°50'27.65"K	28°58'59.63"D	429 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
279	280dengum	169	Denizli	Gümüşsu	31.03.2016	38°13'20.27"K	29°59'14.02"D	845 m	<i>S. intermedium</i>
280	281izmbe	170	İzmir	Beydağ'a 2km	26.03.2016	38° 4'35.31"K	28°11'27.22"D	352 m	<i>S. ornatum</i>
281	282izmkoc	171	İzmir	Kocabahçe dere	01.05.2017	38°14'7.53"K	26°54'22.41"D	190 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
282	283kutfel	172	Kütahya	Felet Çayı	05.05.2017	39°24'16.54"K	29°59'7.42"D	1092 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
283	284kutsim	173	Kütahya	Simav çayı	16.06.2017	39° 4'45.72"K	28°58'54.05"D	958 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
284	285kutor	174	Kütahya	Öreylar	16.06.2017	39° 5'43.10"K	28°51'40.25"D	1076 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
285	286kutsob	175	Kütahya	Sobran köyü	29.06.2018	39°39'59.13"K	30°10'2.67"D	891 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
286	287kutsob	175	Kütahya	Sobran köyü	29.06.2018	39°39'59.13"K	30°10'2.67"D	891 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
287	288kutsab	176	Kütahya	Sabunpınar	29.06.2018	39°33'34.27"K	30°11'23.73"D	954 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
288	289kutsab	176	Kütahya	Sabunpınar	29.06.2018	39°33'34.27"K	30°11'23.73"D	954 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
289	290kutinl	177	Kütahya	İnli	29.06.2018	39°28'34.25"K	30°13'2.03"D	1087 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
290	291kutinl	177	Kütahya	İnli	29.06.2018	39°28'34.25"K	30°13'2.03"D	1087 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
291	292mancok	178	Manisa	Çökelek köyü (Salihli- Gölmarmara)	25.03.2016	38°31'59.32"K	28° 5'24.16"D	79 m	<i>S. ornatum</i>
292	294usban	180	Uşak	Banaz çayı	25.03.2016	38°43'58.06"K	29°45'1.77"D	912 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
293	295usgur	181	Uşak	Güre	25.03.2016	38°36'32.31"K	29° 8'38.73"D	638 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
294	296mugala	182	Muğla	Alaşar deresi	27.03.2016	37°17'46.31"K	28°10'9.74"D	399 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
295	297mugala	182	Muğla	Alaşar deresi	27.03.2016	37°17'46.31"K	28°10'9.74"D	399 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
296	298mugyay	183	Muğla	Yaylasöğüt	27.03.2016	37° 9'22.26"K	28°34'10.19"D	78 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
297	299mugyay	183	Muğla	Yaylasöğüt	27.03.2016	37° 9'22.26"K	28°34'10.19"D	78 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
298	300denkar	184	Denizli	Karabayır	26.06.2015	36°56'6.71"K	29° 8'24.98"D	996 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
299	302denkar	184	Denizli	Karabayır	26.06.2015	36°56'6.71"K	29° 8'24.98"D	996 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

300	303denkir	185	Denizli	Kirazlıyayla	26.06.2015	36°59'2.34"K	29°12'3.71"D	827 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
301	304denkir	185	Denizli	Kirazlıyayla	26.06.2015	36°59'2.34"K	29°12'3.71"D	827 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
302	305denim	186	Denizli	İmamlar köyü	26.06.2015	37° 6'6.65"K	29°24'0.61"D	1319 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
303	306denim	186	Denizli	İmamlar köyü	26.06.2015	37° 6'6.65"K	29°24'0.61"D	1319 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
304	307dencam	187	Denizli	Çamköy	07.05.2016	37°14'42.01"K	29°31'20.96"D	920 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
305	308mugcay	188	Muğla	Çaykenarı	28.03.2016	36°30'5.62"K	29°19'43.57"D	85 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
306	309mugcay	188	Muğla	Çaykenarı	28.03.2016	36°30'5.62"K	29°19'43.57"D	85 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
307	310mugpin	189	Muğla	Pınarköy	27.03.2016	36°55'35.41"K	28°49'42.45"D	136 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
308	311mugsek	190	Muğla	Seki	27.04.2015	36°49'7.76"K	29°39'1.84"D	1231 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
309	313mugnif	191	Muğla	Nif Çayı	24.05.2015	36°49'59.03"K	29°10'29.57"D	918 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
310	314mugyes	192	Muğla	Yeşilüzümlü yolu	24.05.2015	36°43'6.74"K	29°11'7.84"D	439 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
311	316kutged	193	Kütahya	Gediz çıkışı	17.03.2018	38°57'48.67"K	29°23'5.34"D	692 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
312	317uskesk	194	Uşak	Eskisaray	17.03.2018	38°38'21.80"K	29°14'9.04"D	645 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
313	318aydsok	195	Aydın	Söke-Ağaçlı	18.03.2018	37°44'16.20"K	27°20'28.94"D	228 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
314	319izmod	196	İzmir	Ödemiş-Bozdağ yolu	21.04.2018	38°15'28.75"K	27°59'44.90"D	206 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
315	320izmyig	197	İzmir	Yiğitler-Turgutlu	21.04.2018	38°28'0.60"K	27°35'48.52"D	79 m	<i>S. ornatum</i>
316	321izmbes	198	İzmir	Beşpınar-Spil dağı	21.04.2018	38°31'43.61"K	27°27'4.19"D	976 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
317	322izmhis	199	İzmir	Hisarlık	22.04.2018	38°15'44.30"K	27°39'23.86"D	305 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
318	323mancak	200	Manisa	Çakallar köprüsü	22.04.2018	38°28'55.42"K	28° 7'15.26"D	109 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
319	324izmder	201	İzmir	Dereköy	22.04.2018	38°14'51.37"K	27°40'47.93"D	159 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
320	325kutaLO	202	Kütahya	Aloğlu	05.06.2012	39°20'11.40"K	29°56'38.23"D	1176 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
321	326kutinO	203	Kütahya	İncik	03.04.2013	39°32'38.65"K	30°15'21.86"D	975 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
322	327antalO	204	Antalya	Altınyaka çıkışı	29.03.2015	36 34 910	030 22 224	1130 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
323	328brdkO	205	Burdur	Kökez	25.03.2015	37 33 966	030 16 987	1380 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
324	329ıspbogO	206	Isparta	Boğazköy	26.03.2015	37 33 015	030 58 696	924 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

325	330brdaksO	207	Burdur	Aksu	25.03.2015	37 30 687	030 19 111	1379 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
326	331ispgoO	208	Isparta	Gölcük	26.03.2015	37 44 976	030 28 969	1269 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
327	332itlurO	209	İtalya	Lura	22.03.2016	45°40'59.75	9°02'44.85	247 m	<i>S. ornatum</i>
328	333itpoO	210	İtalya	Po-2	23.05.2012	44°44'52.51	7°28'41.46	255 m	<i>S. ornatum</i>
329	334itstuO	211	İtalya	Stura	23.05.2012	44°27'02.02	7°37'54.95	401 m	<i>S. ornatum</i>
330	335itfegO	212	İtalya	Fegana	02.07.2013	44°01'50.31	10°33'21.18	176 m	<i>S. intermedium</i>
331	336itrusO	213	İtalya	Rustica	09.10.2013	42°22'15.36	12°24'17.99	85 m	<i>S. ornatum</i>
332	337itgarO	214	İtalya	Garigliano	07.04.2015	41°23'23.06	13°52'45.31	22 m	<i>S. ornatum</i>
333	338itagO	215	İtalya	Agri	08.03.2013	40°22'43.53"K	15°44'44.30"D	620 m	<i>S. ornatum</i>
334	339itameO	216	İtalya	Amendolea	16.08.2013	37°58'18.39	15°53'18.98	106 m	<i>S. ornatum</i>
335	340ftriO	217	Fransa - Korsika	Riviere de Porto Pont Genois	17.09.2013	42.25 63 59°	8.76 10 40°	234 m	<i>S. intermedium</i>
336	341itgesO	218	İtalya	Gesso - Andono	22.07.2012	44.292039°	7.436646°	699 m	<i>S. intermedium</i>
337	342itimeO	219	İtalya - Sicilya	Imera - Resuttano	13.04.2013	37.677936°	14.056767°	436 m	<i>S. intermedium</i>
338	343croamO	220	Hırvatistan	Mura - Kotoriba	08.05.2014	46.369231°	16.832575°	135 m	<i>S. ornatum comp.</i>
339	344serbO	221	Sırbistan	Boljetinska nehri	11.04.2012	44.541191°	22.029514°	97 m	<i>S. ornatum</i>
340	345serpO	222	Sırbistan	Porečka nehri	13.04.2012	44.411494°	22.172758°	79 m	<i>S. ornatum</i>
341	346sernO	223	Sırbistan	Nera - Bela Crkva	08.05.2015	44.873264°	21.426892°	80 m	<i>S. ornatum comp.</i>
342	347servO	224	Sırbistan	Velika Morava Velika Plana	08.05.2015	44.340052°	21.123532°	86 m	<i>S. ornatum</i>
343	348poldO	225	Polonya	Dunajec - Stary Sacz	14.06.2013	49.582456°	20.632817°	294 m	<i>S. ornatum</i>
344	349kutsokK	226	Kütahya	Sökmen-Uluköy	21.03.2014	39°30'16.64"K	30° 9'24.55"D	988 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
345	350kutkaK	227	Kütahya	Kargın-İncik	28.03.2014	39°33'38.61"K	30°15'47.41"D	941 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
346	352kutaizK	228	Kütahya	Aizonoi	05.06.2012	39°11'54.32"K	29°36'36.46"D	1009 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
347	353kutaK	202	Kütahya	Aloğlu	05.06.2012	39°20'11.40"K	29°56'38.23"D	1176 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
348	354kutavK	229	Kütahya	Avçılar	03.05.2011	39°27'22.20"K	29° 3'42.91"D	986 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

350	355kutulK	230	Kütahya	Uludere	11.04.2013	39°54'57.10"K	30°19'44.04"D	1047 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
351	356brdkzK	27	Burdur	Kozağacı sapağı	27.03.2015	37 07 297	029 41 658	1021 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
352	357brdkK	205	Burdur	Kökez	25.03.2015	37 33 966	030 16 987	1380 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
353	358ispgolK	208	Isparta	Gölcük	26.03.2015	37 44 976	030 28 969	1269 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
354	359ispyuK	231	Isparta	Yuvalı	26.03.2015	37 43 095	030 56 109	1170 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
355	360antalK	204	Antalya	Altınyaka çıkışı	29.03.2015	36 34 910	030 22 224	1130 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
356	361antypK	232	Antalya	Yapraklı	01.05.2014	36 49 542	29 47 190	1416 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
357	362denovK	233	Denizli	Ova deresi	02.05.2014	37 29 427	29 24 572	873 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
358	363antpalK	234	Antalya	Palamutlar	23.05.2015	36 44 326	30 26 800	972 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
359	364sinoK	74	Sinop	Ömerdüz	08.05.2017	41°52'35.65"K	34°31'11.64"D	351 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
360	368duztaK	65	Düzce	Tahirli	06.05.2017	41° 3'30.16"K	31° 4'4.90"D	17 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
361	369samhamK	78	Samsun	Hamzalı	09.05.2017	41°13'58.83"K	36°30'34.75"D	7 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
362	370samask	77	Samsun	Asmapınar	09.05.2017	41°38'15.47"K	35°29'35.36"D	17 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
363	371ordmeK	81	Ordu	Meşebükü	09.05.2017	41° 0'22.13"K	37°30'52.66"D	13 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
364	372bureK	235	Bursa	Eceköy	05.05.2017	39°44'17.56"K	29°58'37.63"D	1135 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
365	373amaulK	97	Amasya	Ulutepe	10.05.2017	40°27'48.92"K	35°49'2.50"D	1060 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
366	374sintacF	73	Sinop	Taçahmet	08.05.2017	41°56'11.66"K	34°24'24.40"D	30 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
367	375tokucF	236	Tokat	Üçköy	10.05.2017	40°13'46.37"K	35°45'38.25"D	972 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
368	376kutfelF	172	Kütahya	Felet	05.05.2017	39°24'16.54"K	29°59'7.42"D	1092 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
369	378duzmelO	63	Düzce	Melen D	06.05.2017	41° 3'1.76"K	30°57'35.64"D	5 m	<i>S. ornatum</i>
370	379burkozO	237	Bursa	Kozdere	05.05.2017	40°17'45.58"K	29°38'21.83"D	269 m	<i>S. ornatum</i>
371	380burorO	238	Bursa	Orhaneli	05.05.2017	39°53'25.33"K	28°59'38.49"D	522 m	<i>S. ornatum</i>
372	381amadO	96	Amasya	Dadı	10.05.2017	40°32'56.71"K	35°47'3.30"D	415 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
373	382esmol	239	Eskişehir	Mollaoğlu deresi	24.04.2019	39°42'6.11"K	30°16'57.41"D	938 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.1. (devam) Lokalite, Tarih, Koordinat, Yükseklik bilgileri, Tür bilgileri Analiz kodu: ilk hece şehir ikinci hece lokalite ismini vermektedir.

374	383esmol2	239	Eskişehir	Mollaoğlu deresi	24.04.2019	39°42'6.11"K	30°16'57.41"D	938 m	<i>S. kiritshenkoi</i>
375	384esmol3	239	Eskişehir	Mollaoğlu deresi	24.04.2019	39°42'6.11"K	30°16'57.41"D	938 m	<i>S. kiritshenkoi</i>

4.1. Morfotaksonomik Analizler

Çalışmada tür grubuna ait 222 farklı lokaliteden toplanan larva, pupa ve pupadan çıkarılan ergin bireylerinin morfotaksonomik teşhisleri yapılmıştır. Çalışma kapsamında bu türlerden *S. kiritshenkoi* 180 lokalitede; *S. ornatum* 38 lokalitede tespit edilmiştir. Türkiye'den rapor edilen *S. trifasciatum*, *S. fontanum* ve *S. baracorne* türleri ise bulunamamıştır. Ancak 3 lokalitede (128. Ankara, Kalecik; 169. Denizli, Gümüşsu; 171. İzmir, Kocabahçe) grubun özellikle Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde yaygın olan bir diğer türü olan *Simulium (Simulium) intermedium* Roubaud, 1906 ülkemizden ilk kez kaydedilmiştir. Tespit edilen türler ve lokalite bilgileri aşağıda Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4. 2. Türlerin tespit edildiği lokaliteler

Tür	Lokaliteler (Çizelge 4.1'deki lokalite kodları ile)
<i>S. ornatum</i>	12, 13, 27, 31, 56, 57, 58, 60, 63, 64, 68, 69, 76, 84, 86, 87, 88,92, 95, 98, 102, 108, 115, 116, 117, 118, 129, 131,135, 153, 154, 160, 167, 170, 178, 197, 237, 238
<i>S. intermedium</i>	128, 169, 171
<i>S. kiritshenkoi</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 85, 89, 90, 91, 93, 94, 96, 97, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 130, 132, 133, 134, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 152, 155, 156, 157, 158, 159, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 168, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 239

Türkiye'de varlığı bilinen *Simulium ornatum* tür grubu türlerine ait larva ve pupa teşhis anahtarı aşağıda verilmiştir.

- **Pupa teşhis anahtarı**

1 (2). Solunum filamentleri sayısı 8 ve ortak sapları birbirine eşit uzunlukta,

***Simulium (Simulium) baracorne* Smart, 1944**

2 (1). Solunum filamentleri sayısı 8 ve ortak sapları birbirinden farklı uzunluklarda.

3 (4). En üst filament çiftinin ortak sapı ile en alttaki filament çiftinin ortak sapı arasındaki açı 90° ya da daha az,

***Simulium (Simulium) fontanum* Terteryan, 1952**

4 (3). En üst filament çiftinin ortak sapı ile en alttaki filament çiftinin ortak sapı arasındaki açı 90° den daha fazla.

5 (6). Alt ve üst ortak saplar arasındaki açı $150-180^\circ$; ortak saplar öne doğru uzamış, üstteki üç ortak sapın uzunlukları farklı olabilir; en alt sap ve filamentleri diğer ortak sap ve filamentlere oranla daha ince (Şekil 4.3),

***Simulium (Simulium) ornatum* Meigen, 1818**

6 (7). Üstteki iki ortak sap birbirine eşit uzunlukta ve uzunlukları genişliklerinden biraz fazla; Üçüncü ortak sap, ilk ikisine oranla biraz daha uzun en alt ortak sap ise diğerlerine oranla daha ince (Şekil 4.3),

***Simulium (Simulium) kiritshenkoi* Rubtsov, 1940**

7 (8). Filament ortak sapları çok kısa, en alt ortak sap üsttekilerden çok az uzun; toraks tüberkülleri dairemsi ve yoğundur (Şekil 4.3),

***Simulium (Simulium) intermedium* Roubaud, 1906**

8. Filament ortak sapları kısa, en alt ortak sap üsttekilerden çok az uzun; toraks tüberkülleri kubbemsi ve daha seyrek,

***Simulium (Simulium) trifasciatum* Curtis, 1839**

- ***Larva teşhis anahtarı***

1 (2). Hipostomiumun her iki kenarında 4-5 tane kıl var,

***Simulium (Simulium) baracorne* Smart, 1944**

2 (1). Hipostomiumun kenarındaki kıllar 6-9 tane.

3 (4). Mandibulun apical dişleri kısa ve kalın,

***Simulium (Simulium) fontanum* Terteryan, 1952**

4 (3). Mandibulun apical dişleri kısa ve kalın değil, posterior vantuz her sırada 15 diken taşıyor.

5 (6). Kafa kapsülü sarı renkte, tüm apotom benekleri az çok belirgin, postgenal yarığın genişliği ve derinliği eşit ve anterior kenarı köşelerde yuvarlak,

***Simulium (Simulium) ornatum* Meigen, 1818**

6 (5). Kafa kapsülü koyu kahverengi-sarı renkte, sefalik apotom açık renkli ve apotom benekleri posteromedian benek dışında belirgin değil, postgeneal yarığın genişliği derinliğinden çok az fazla ve anterior kenarı köşelerde az çok yuvarlak,

***Simulium (Simulium) kiritshenkoi* Rubtsov, 1940**

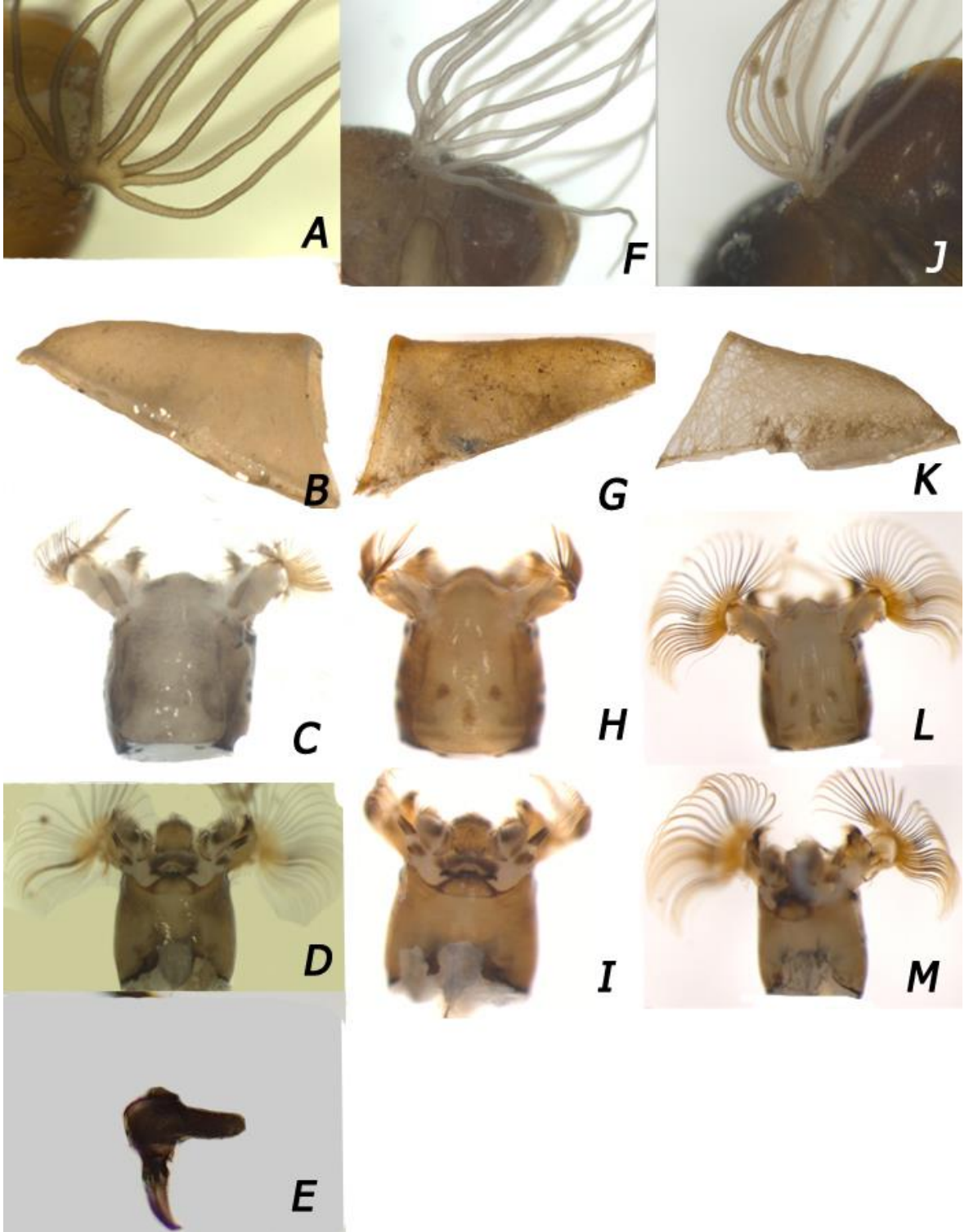
7. Hipostomium dişleri daha kısa ve koyu renkli, mandibul iç dişi ise ayrı ve daha uzun, apotom benekleri az çok belirgin, postgenal yarık kare şeklinde ve ön köşeleri az çok yuvarlaktır,

***Simulium (Simulium) intermedium* Roubaud, 1906**

Çalışmada en yaygın türün *Simulium kiritshenkoi* olduğu görülmektedir. Çalışma materyali içerisindeki larva ve pupalar ile pupadan çıkarılan ergin bireyler bu türün teşhisinde kullanılmıştır. Türün, *ornatum* grubunun diğer türlerinden farklı olan temel özellikleri şu şekildedir: Larva; anten 4 segmentli, kafa kapsülü koyu kahverengi-sarı renkte, sefalik apotom açık renkli ve apotom benekleri posteromedian benek dışında belirgin değil, postgeneal yarığın genişliği derinliğinden çok az fazla ve anterior kenarı köşelerde az çok yuvarlak, posterior vantuz her sırada 15 diken taşıyor. Pupa; kokon ince iplikçiklerle örülü olup anteriorde küçük delikler taşıyabilir, solunum filamentlerinden üst iki çiftinin ortak sap uzunlukları ve kalınlıkları eşit, alttaki filament çiftlerinin ortak saplarından daha kısa, en alt filament çiftinin ortak sapı diğerlerinden belirgin şekilde ince ve uzun, torasik tüberküller kubbe şeklinde ve çok seyrek. Erkek genitalyasında ventral plağın iç çıkıntısı gaga şeklinde yukarı doğru hafif kıvrılmıştır. (Şekil 4.3 A-B-C-D-E).

Simulium ornatum türü grubun tüm Palearktikte yayılış gösteren tip türüdür. Çalışmamızda *S. ornatum* olduğu tespit edilen bireylerin larva ve pupa evresindeki bireylerin sıralanan karakterleri ile yapılmıştır. Larva; anten 4 segmentli; kafa kapsülü sarı renkte, tüm apotom benekleri az çok belirgin, postgenal yarığın genişliği ve derinliği eşit ve anterior kenarı köşelerde yuvarlak, posterior vantuz her sırada 15 diken taşıyor; Pupa; kokon sıkı örülü ve deliksiz, solunum filamentlerinden ortak sap uzunlukları değişiklik gösteriyor, üst 3 filament çiftlerinin ortak sapları vertikal konumlu ve daha kısa; en alt filament çiftinin ortak sapı diğerlerinden uzun ve horizontale dönmüş, torasik tüberküller kubbe şeklinde ve seyrek (Şekil 4.3. F-G-H-I). Çalışmada ülkemizden toplanan bu türe ait bireyler, Avrupa'dan gönderilen ve *ornatum* olarak teşhis edilmiş bireylerle karşılaştırılmış ve herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Simulium intermedium türü ülkemizden ilk kez kaydedilmesine karşın, *ornatum* tür grubunun tüm Avrupa ile birlikte Akdeniz ülkelerinde yayılış gösteren türlerinden bir tanesidir. Türün belirgin morfotaksonomik özellikleri şu şekildedir: Larva; *ornatum*'a çok benzemekle birlikte ondan farklı olarak hipostomium dişleri daha kısa ve koyu renkli, mandibul iç dişi ise ayırık ve daha uzun, apotom benekleri az çok belirgin, postgenal yarık kare şeklinde ve ön köşeleri az çok yuvarlaktır. Pupa; kokon gevşek örülü, ince yapılı ve delikli, filament ortak sapları çok kısa, en alt ortak sap üsttekilerden çok az uzun; toraks tüberkülleri dairemsi ve yoğundur (Şekil 4.3 J-K-L-M). Çalışmada incelenen *intermedium* bireylerinin bir kısmı İtalya ve Fransa'daki lokalitelerden toplanan bireylerdir. Anadolu'dan toplanan bireyler ile yurt dışından toplanan bireylerin arasında herhangi bir morfolojik fark gözlemlenmemiştir.



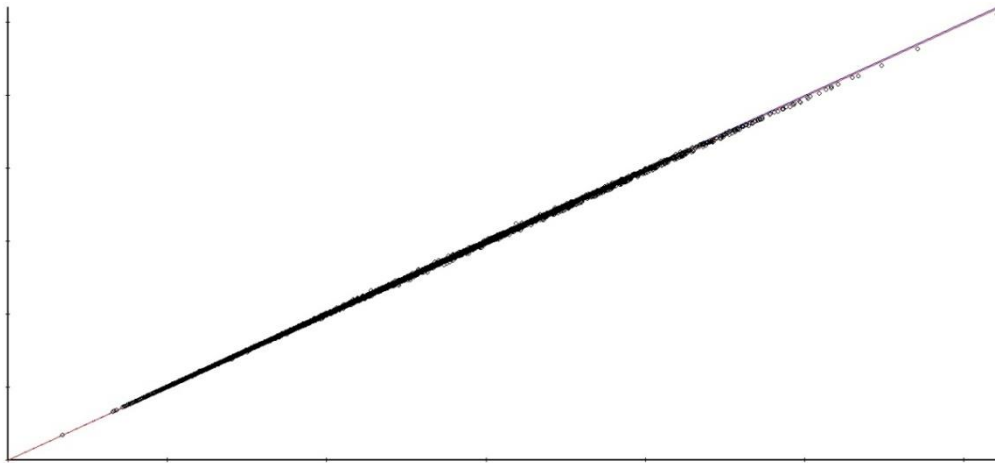
Şekil 4. 3. *S. kiritshenkoi* (A-solunum filamenti, B-Kokon, C-Larva kafa kapsülü dorsal, D-Larva kafa kapsülü ventral, E-ventral plak) *S. ornatum* (F- solunum filamenti, G- Kokon, H-Larva kafa kapsülü dorsal, I- Larva kafa kapsülü ventral), ve *S. intermedium* (J- solunum filamenti, K- Kokon, L- Larva kafa kapsülü dorsal, M- Larva kafa kapsülü ventral) türleri larva ve pupa görüntüleri

4.2. Geometrik Morfometrik Analizler

Çalışmada taksonomik kriter değeri olan pupa solunum filamentleri yapı ve dallanmasındaki varyasyonların araştırılması için, 19 farklı populasyonu temsilen 196 bireyden alınan görüntüler üzerine tpsDIG 2.32 analizi ile 18 landmark noktası yerleştirilmiştir (Şekil 4.4). tpsSmall 3.2 (Rohlf, 2003) programı ile yapılan analiz sonucunda veride bulunması gereken düşük varyasyon miktarının türler arasındaki yakınlığın belirlenmesi için yeterli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.5).

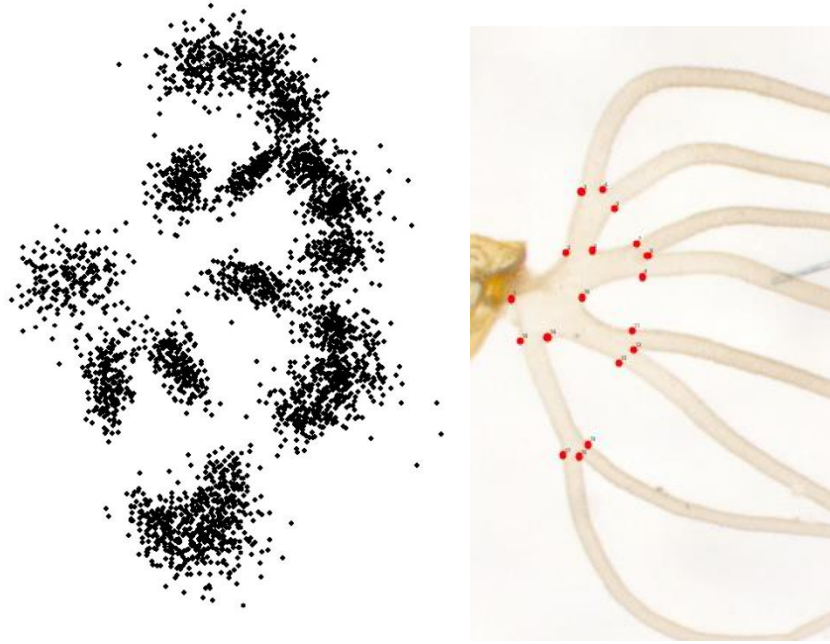


Şekil 4. 4. Filamentler üzerinde belirlenen landmark noktaları



Şekil 4. 5. Pupa filamentlerindeki varyasyon miktarını gösteren eğri

tpsSuper1.14 programında gerçekleştirilen analiz sonucunda yeterli sayıda landmark kullanıldığı sonucuna ulaşılmış ve tpsRelw programında Procrustes analizi uygulanmıştır. Analiz sonucunda 18 landmarkın dağılımı tespit edilerek, dağılımda bir sapma olmadığı anlaşılmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4. 6. Procrustes analizi (örtüşürme analizi) sonucu landmarkların dağılımı

tpsRelw (Rohlf, 2007c) programı aracılığıyla görece warp'lar belirlenmiş, sayısal verilerden en yüksek görece katkısı olan landmarkların sırasıyla 7. (0,13870), 8. (0,12970) ve 16. (0,11363) landmarklar olduğu tespit edilmiştir (sarı ile işaretlenmiştir). 1. landmark'ın (0,00262) ise görece katkısı en düşük olan landmark olduğu belirlenmiştir (yeşil ile işaretlenmiştir) (Çizelge 4.3).

Varyans değerleri incelendiğinde sırasıyla 1. ($S^2 = 0,00236990$), 15 ($S^2 = 0,00204881$) ve 16. ($S^2 = 0,00190758$) landmarkların en yüksek varyans değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (sarı ile işaretlenmiştir). En düşük varyansa sahip landmark ise 7. ($S^2 = 0,00082330$) landmark olarak belirlenmiştir (yeşil ile işaretlenmiştir) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 3. Her bir landmark'ın görece katkı değerleri

LM	SS
1	0,00262
2	0,01305
3	0,01769
4	0,06321
5	0,07125
6	0,03689
7	0,13870
8	0,12970
9	0,07366
10	0,01291
11	0,07748
12	0,08998
13	0,03920
14	0,01387
15	0,06232
16	0,11363
17	0,03309
18	0,01076

Çizelge 4. 4. Her bir landmark'ın görece katkı değerleri

LM	S ² x	S ² y	S ²
1	0,00133111	0,00103879	0,00236990
2	0,00034158	0,00058957	0,00093115
3	0,00116995	0,00069477	0,00186472
4	0,00067428	0,00057517	0,00124945
5	0,00040636	0,00053704	0,00094340
6	0,00060094	0,00046748	0,00106843
7	0,00050714	0,00031617	0,00082330
8	0,00060760	0,00030723	0,00091483
9	0,00074458	0,00049501	0,00123959
10	0,00119188	0,00030669	0,00149857
11	0,00088260	0,00048575	0,00136835
12	0,00102756	0,00044992	0,00147748
13	0,00105894	0,00057128	0,00163022
14	0,00051339	0,00087110	0,00138448
15	0,00054712	0,00150169	0,00204881
16	0,00079467	0,00111291	0,00190758
17	0,00091331	0,00085972	0,00177303
18	0,00029616	0,00128222	0,00157838

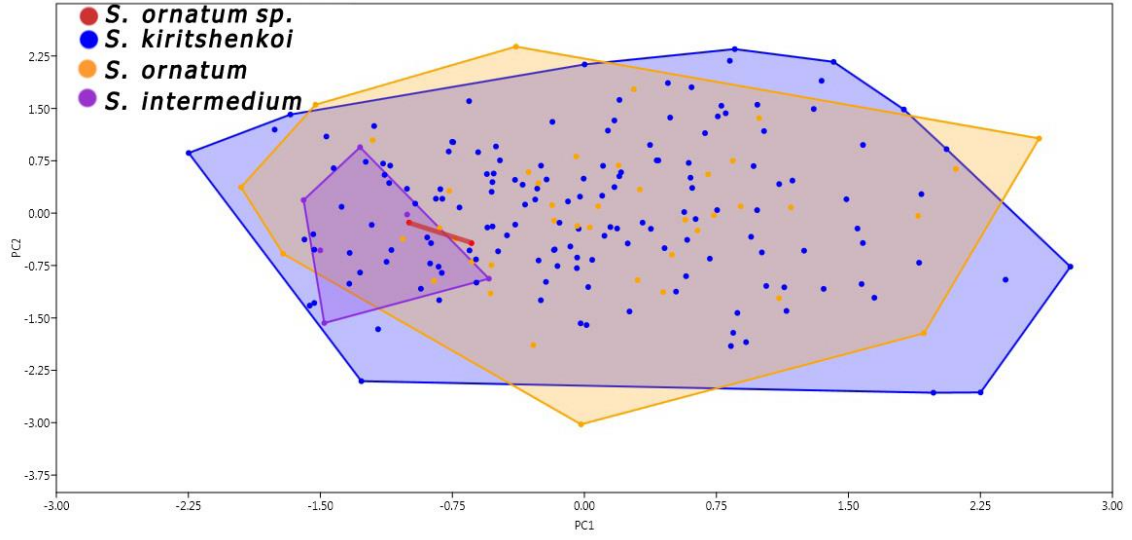
Procrustes rotasyonu, Past 3.26b programında uygulanmıştır. PCA (Principal Component Analysis) ve LDA (Linear Discriminant Analysis) için gerekli gruplamalarda *S. intermedium*, *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum sp.* türlerini temsil edecek şekilde belirlenmiştir. Sonuç olarak 4 grup tayin edilmiştir.

Past 326b programında gerçekleştirilen çok değişkenli koordinasyon analizlerinden PCA'da bireylerin birinci, ikinci ve üçüncü (PC1, PC2, PC3) temel öğeler üzerindeki

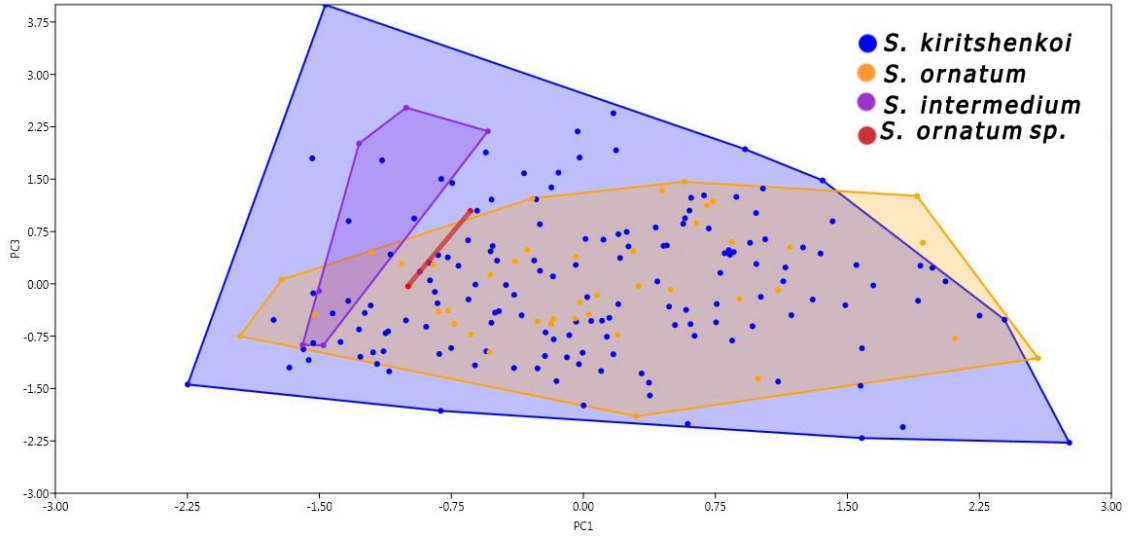
dağılımı ikili kümeleme ile incelenmiştir. PC1 ve PC2'deki dağılımda çalışma kapsamındaki tüm türlerin (*S. intermedium*, *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum sp.*) belirgin kümeler oluşturduğu ama bu kümelerin birbiriyle iç içe şekillendiği ve sınırlarının belirlenemediği gözlenmektedir (Şekil 4.7). PC2-PC3 ve PC1-PC3'deki dağılımlarda da aynı sonuca ulaşılmıştır (Şekil 4.8- Şekil 4.9). Bireyler arasındaki varyasyonun Yüzde oranları; PC1'de % 29.352, PC2'de % 19.219 ve PC3'te % 15.503 lük değer ile açıklanmıştır.

Çizelge 4. 5. Görece warplar için hesaplanan tek ve kümülatif değerler

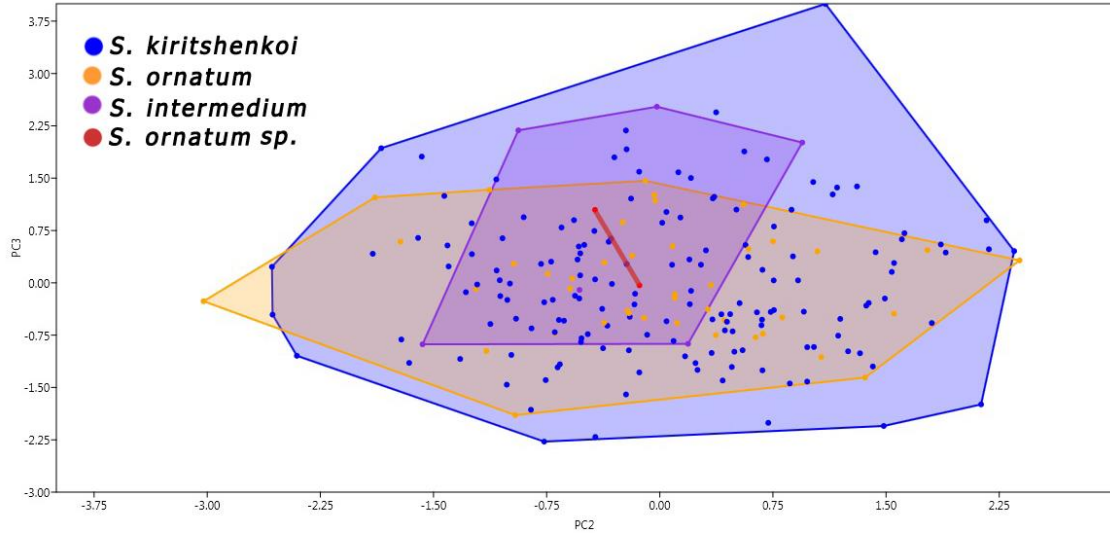
No.	TD	%	Küm (%)
1	1,26250	29,82	29,82
2	1,01973	19,46	49,28
3	0,91702	15,73	65,01
4	0,69406	9,01	74,03
5	0,60245	6,79	80,82
6	0,57683	6,23	87,04
7	0,38502	2,77	89,82
8	0,28510	1,52	91,34
9	0,26031	1,27	92,60
10	0,24823	1,15	93,76
11	0,21946	0,90	94,66
12	0,19664	0,72	95,38
13	0,18878	0,67	96,05
14	0,16599	0,52	96,56
15	0,14907	0,42	96,98
16	0,14026	0,37	97,35
17	0,12769	0,31	97,65
18	0,12140	0,28	97,93
19	0,11811	0,26	98,19
20	0,11506	0,25	98,44
21	0,10897	0,22	98,66
22	0,10549	0,21	98,87
23	0,10009	0,19	99,05
24	0,09744	0,18	99,23
25	0,09463	0,17	99,40
26	0,08664	0,14	99,54
27	0,08101	0,12	99,66
28	0,07549	0,11	99,77
29	0,06482	0,08	99,85
30	0,05641	0,06	99,91
31	0,05188	0,05	99,96
32	0,04713	0,04	100,00



Şekil 4. 7. Bireylerin ilk iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC1-PC2).



Şekil 4. 8. Bireylerin 2. iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC1-PC3).

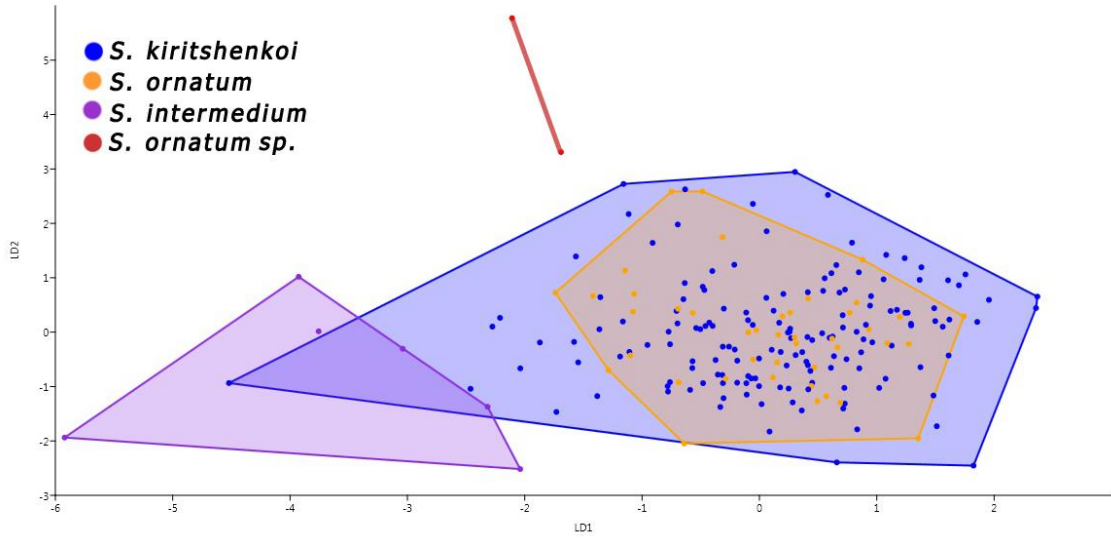


Şekil 4. 9. Bireylerin 2. iki temel öge üzerindeki dağılımı (PC2-PC3).

tpsRelw programı ile yapılan bir diğer analizde kovaryasyonun eksenler üzerinde açıklanması için gerçekleştirilen Partial Least Square (PLS) analizidir. Görece warp'lar için hesaplanan tek değerler ve kümülatif değerler filament üzerinde 32 eksenle açıklanmıştır (Çizelge 4.5).

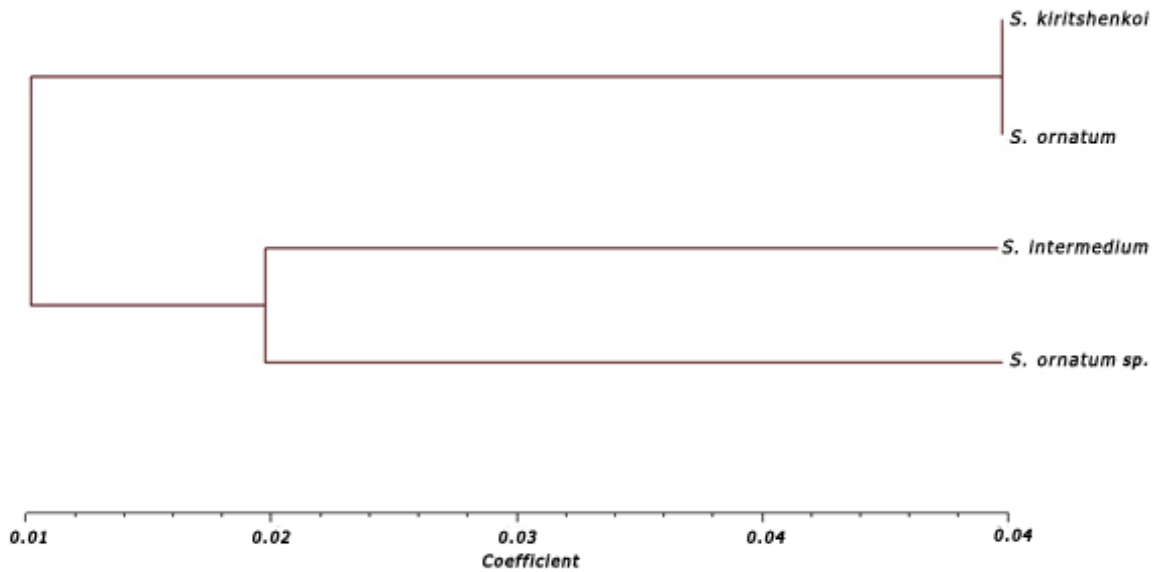
Gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için uygulanan LDA analizi (Linear Discriminant Analysis) sonucunda gruplar arasında farklılık görülmediği ortaya konulmuştur. *S. ornatum-sp.*'ye ait bireyler diğer 3 türün dışında marjinde gruplanmıştır.

S. intermedium türünün *S. kiritshenkoi* türü ile ilişkili olduğu görülmektedir. *S. ornatum* türü PCA analizlerinde olduğu gibi *S. kiritshenkoi* türü ile iç içe şekillenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. Grupların ilk iki kanonik düzlem üzerindeki dağılımı

Morpheus Programında Tps verisi kullanılarak süperimpozisyon GPA rotasyonu sonrasında grupların hesaplanan ortalama (mean) değerleri, NTSYS Programında (Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi) Euclid mesafesi esas alınarak ve SAHN Kümeleme Yöntemi uygulanarak gruplandırılmış ve UPGMA ile bir ağaç haline getirilmiştir (Şekil 4.11). Bu analize göre UPGMA ağacından elde edilen veriler PCA verilerini doğrular niteliktedir. *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum* türleri arasında hiç bir fark yoktur. Düşük farklılık derecesi ile *S. intermedium* ve *S. ornatum sp.* türleri birbirlerine yakın gruplanmışlardır.



Şekil 4. 11. UPGMA ağacında 4 grubun karşılaştırılması

Türler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı IMP programı içerisinde CVAGen6p'de analiz edilmek istenmiştir fakat program içerisinde uygulanan çok yönlü varyans analizi (MANOVA), sonucu 4 grubun anlamlı olmadığı ve analizin uygulanmadığı görülmüştür (p-değeri: 0,102241). Morfolojik karakterler üzerinden yapılan teşhisler sonucu bireyler gruplandırılmıştır, fakat veri seti üzerinden bu gruplandırmanın anlamlı bir sonuç vermediği görülmüştür. Morfolojik karakter, türler arasındaki ayrım açısından yetersizdir.

CVA, tüm bireyleri tek bir tür altında gruplamıştır. Bu analize göre veri setinde yalnızca bir türün bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4. 6. Tür düzeyinde CVA tabanlı kümeleşme çizelgesi. (yeşil ile işaretlenenler farklı tür içerisinde çıkan birey sayıları)

	<i>S. kiritshenkoi</i>	<i>S. ornatum</i>	<i>S. intermedium</i>	<i>S. ornatum sp.</i>
<i>S. kiritshenkoi</i>	156	0	0	0
<i>S. ornatum</i>	42	0	0	0
<i>S. intermedium</i>	6	0	0	0
<i>S. ornatum sp.</i>	2	0	0	0

4.3. Filogenetik Analizler

Tez çalışmasında oluşturulan tüm veri matrisleri, matrislerin özellikleri ve uygulanan analizler Çizelge 4.7 'de verilmiştir.

Çizelge 4. 7. Kullanılan matrislerin özellikleri ve hesaplanan evrimsel modeller; MO (Maksimum Olasılık), BI (Bayesian Filogeni), MP (Maksimum parsimoni), SVD (SVDquartets), ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery),

Çalışılan gen bölgeleri	Model	Çalışılan sekans sayısı	Haplotip sayıları	Baz çifti	Korunmuş	Varyasyonel	Pars-info	Uygulanan analizler
COI	GTR+I+G	115	84	351	208	143	127	MO, BI, SVD, Network, BEAST
	TIM2+I+G	296	162	1117	792	325	224	MO, MP, SVD, Network, SplitsTree, ABGD, TCS (90/95), BEAST
	GTR+I+G	181	277	1117	771	346	248	MO, BI, SVD, Network, SplitsTree, ABGD, TCS (90/95), BEAST
NADH ₂	GTR+I+G	266	232	903	516	387	246	MO, BI, SVD, Network, SplitsTree, ABGD, TCS (90/95), BEAST
ITS 1-2	-	302	168	598	372	198	71	SVD, Network

4.3.1. *Simulium ornatum* tür grubunun cins içindeki yeri

Tür grubunun filogenisini sorgulamak adına *Simulium* cinsine ait ülkemizde ve Palearttik'te yaygın görülen toplamda 21 tür 81 bireyin genetik verisi NCBI veri tabanı aracılığıyla elde edilmiştir (Alınan türler ve kodları için bkz. Çizelge 3.7.). NCBI'dan indirilen dizilerin ise ortalama uzunlukları 658 bç'dir. Yaptığımız tez çalışmasında ise COI gen bölgesinin 1200 bç'lik kısmı çoğaltılmıştır. İki farklı baz çifti uzunluğuna sahip toplamda 115 adet dizi Mega Programı ile hizalanmıştır. Veri seti oluşturulurken en anlamlı veri bloğu elde edilecek şekilde uzun kalan kısımlar kesilmiştir. Veri bloğu oldukça kısalmış ve 351 bç olarak şekillenmiştir.

İç gruba ait, toplamda 351 bç uzunluğunda 84 farklı haplotip elde edilmiştir (Çizelge 4.8). Türler arasında haplotip paylaşımı olmadığı görülmektedir. Nükleotidlerin

208'inin korunmuş, 143'sinin variable (varyasyonel) ve 127'sinin ise Parsim-info (parsimonik bilgi verici) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 8. *Simulium* cinsine ait 84 haplotipin frekans ve isimleri (COI-351 bç)

Haplotip numarası	Haplotip frekansı	Haplotipi oluşturan bireyler
1	1	M.lyra.KT278290.1
2	1	M.crassifistula.JQ22
3	1	M.bilineata.JQ220479
4	1	FJ524569.1CaestivumC
5	1	FJ524570.1CaestivumC
6	1	JF867294.1CdecorumCa
7	1	JF868083.1CdecorumCa
8	1	JF875754.1CdecorumCa
9	1	JF876457.1CdecorumCa
10	1	375tokucF
11	1	370CsamasK
12	4	336CitrusO 335CitfegO 280C dengum 216Cankkal
13	1	329CispboO
14	1	295Cusgur
15	1	211Cankcil
16	1	181Cezu
17	1	163Cbayyil
18	1	142Cortur
19	1	111Ckarcum
20	2	85Cmugor 66Cbrdkoz
21	1	68Cantan
22	1	54Cispcal
23	1	30Cadhoc
24	1	29Cadhoc
25	2	25kocpi 22Ckirkp
26	2	24Ckocpi 23Ckirkp
27	1	21Ckirkp
28	1	16Ckirkkom
29	1	15Ckirkman
30	1	14Ckirkko
31	1	11Ckirkka
32	1	10Cistkiz
33	1	9Cistkiz
34	1	8istkiz
35	1	7Cistkiz
36	1	6Cedbal
37	1	4Cedbal
38	2	JF876910.1CnoelleriC JF876911.1CnoelleriC
39	1	JF877782.1CdecorumC
40	2	JN303052.1CnoelleriC JN303054.1CnoelleriC
41	1	KF640045.1Cangustipe

Çizelge 4.8. (devam) *Simulium* cinsine ait 84 haplotipin frekans ve isimleri (COI-351 bç)

42	2	KF640048.1Cangustipe KF640049.1Cangustipe
43	1	KF640051.1Cangustipe
44	1	KF640056.1Ckiritshen
45	1	KF640057.1Ckiritshen
46	1	KF640058.1Ckiritshen
47	4	KP861024.1Cintermedi KP861026.1Cintermedi KP861027.1Cintermedi MG599014.1Cintermedi
48	1	KP861025.1Cintermedi
49	1	KP861029.1CornatumEN
50	1	KP861030.1CornatumEN
51	1	KP861031.1CornatumEN
52	1	KP861032.1CornatumEN
53	1	KP861033.1CornatumEN
54	1	KP861039.1Ctrifascia
55	2	KP861040.1Ctrifascia KP861043.1Ctrifascia
56	1	KP861041.1Ctrifascia
57	1	KP861042.1Ctrifascia
58	3	KP861055.1Cmorsitans KP861059.1Cmorsitans KP861060.1Cmorsitans
59	1	KP861056.1Cmorsitans
60	1	KP861057.1Cmorsitans
61	5	KP861180.1CcostatumE KP861181.1CcostatumE KP861182.1CcostatumE KP861183.1CcostatumE KP861184.1CcostatumE
62	1	KP861185.1CvernumENG
63	1	KP861186.1CvernumENG
64	2	KP861218.1CvernumENG KP861220.1CvernumENG
65	1	KP861219.1CvernumENG
66	1	KX673595.1Ckiritshen
67	1	KX759639.1Cturgaicum
68	1	KX759640.1Cturgaicum
69	1	KX759641.1Cturgaicum
70	1	MG894247.1ClineatumS
71	1	MG894282.1ClineatumS
72	3	MG894290.1CsergentiS MG894312.1CsergentiS MG894332.1CsergentiS
73	2	MG894293.1ClineatumS MG894309.1ClineatumS
74	2	MG894320.1CsergentiS MG894324.1CsergentiS
75	4	MH549553.1CequinumSE MH549554.1CequinumSE MH549555.1CequinumMA MH549557.1CequinumBH
76	1	MH549564.1ClineatumC

Çizelge 4.8. (devam) *Simulium* cinsine ait 84 haplotipin frekans ve isimleri (COI-351 bç)

77	2	MH549565.1Cturgaicum MH549566.1Cturgaicum
78	2	MH549568.1Cbalcanicu MH587354.1Cbalcanicu
79	1	MH549569.1Cbalcanicu
80	1	MH549570.1Cbalcanicu
81	3	MH587347.1Cpseudequi MH587348.1Cpseudequi MH587350.1Cpseudequi
82	1	MH587349.1Cpseudequi
83	1	MH587351.1Cpseudequi
84	1	MH587353.1Cbalcanicu

Elde edilen veri seti ile Bayesian Filogeni, Maksimum Olasılık, SVDquartets ve Haplotip ağı analizleri gerçekleştirilmiştir. Yanı sıra veri setine moleküler saat analizi de uygulanmıştır.

PAUP bloğunda yapılması planlanan Maksimum Parsimoni analizi gerçekleştirilirken veri setinde tekli haplotip sayısının fazla olması sebebiyle analiz bootstrap değerini 1 den yukarıya yükseltmemiştir. Bunun sonucunda parsimoni analizi gerçekleştirilememiştir.

MO ve BI analizleri yapılmadan önce dizilere en uygun baz değişim modeli Jmodeltest programı kullanılarak saptanmıştır. Akaike Information Criterion (AIC)'ye göre en uygun model GTR+G+I (-lnL= 2842.3381) olarak belirlenmiştir. Baz frekansları; freqA = 0.3118, freqC = 0.1863, freqG = 0.1058, freqT = 0.3962 olarak belirlenmiştir. Substitüsyon modelinin önerdiği baz değişim oranları R(a) [AC] = 6.0571, R(b) [AG] = 99.0809, R(c) [AT] = 11.6902, R(d) [CG] = 2.4319, R(e) [CT] = 41.1619, R(f) [GT] = 1.0000 olarak hesaplanmıştır. Değişken bölgelerin oranı (G)= 0.7900, değişmeyen bölgelerin oranı ise (I)= 0.5110 olarak hesaplanmıştır. Önerilen parametreler ve model doğrultusunda raxmlGUI1.5b2 programı kullanılarak MO analizi gerçekleştirilmiştir.

Maksimum olasılık ağacının haplotipler ve türler arasındaki ilişkiyi beklenen derecede çözümleyemediği görülmektedir. Ağaç üzerinde birçok tür monofiletik olarak görülmesine rağmen dal destek değerleri düşüktür. *Wilhelmia* alt cinsine ait türlerden *S. pseudequinum* ve *S. turgaicum* türlerine ait haplotipler alt cins içerisinde farklı türlerin haplotipleriyle gruplanmıştır. Aynı problem tez konusunu oluşturan *S. ornatum* tür grubu

içinde de gözlemlenmektedir. *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi*, *S.intermedium* ve *S. trifasciatum* haplotiplerinin oluşturduğu haplogrup 31 gibi düşük bir dal destek değeriyle *S. decorum-noelleri-morsitans* haplogrubundan ayrılmıştır. *ornatum* tür grubu içindeki türler oldukça düzensiz bir taksonomik yapılanma göstermektedir. Türlerin haplotipleri kendi aralarında gruplanmamıştır. Dal destek değerleri incelendiğinde tüm haplotiplerin ağaçta politomik dallanma gösterdiği ve tür grubunun tek bir haplogrup olarak şekillendiği görülmektedir (Şekil 4.12).

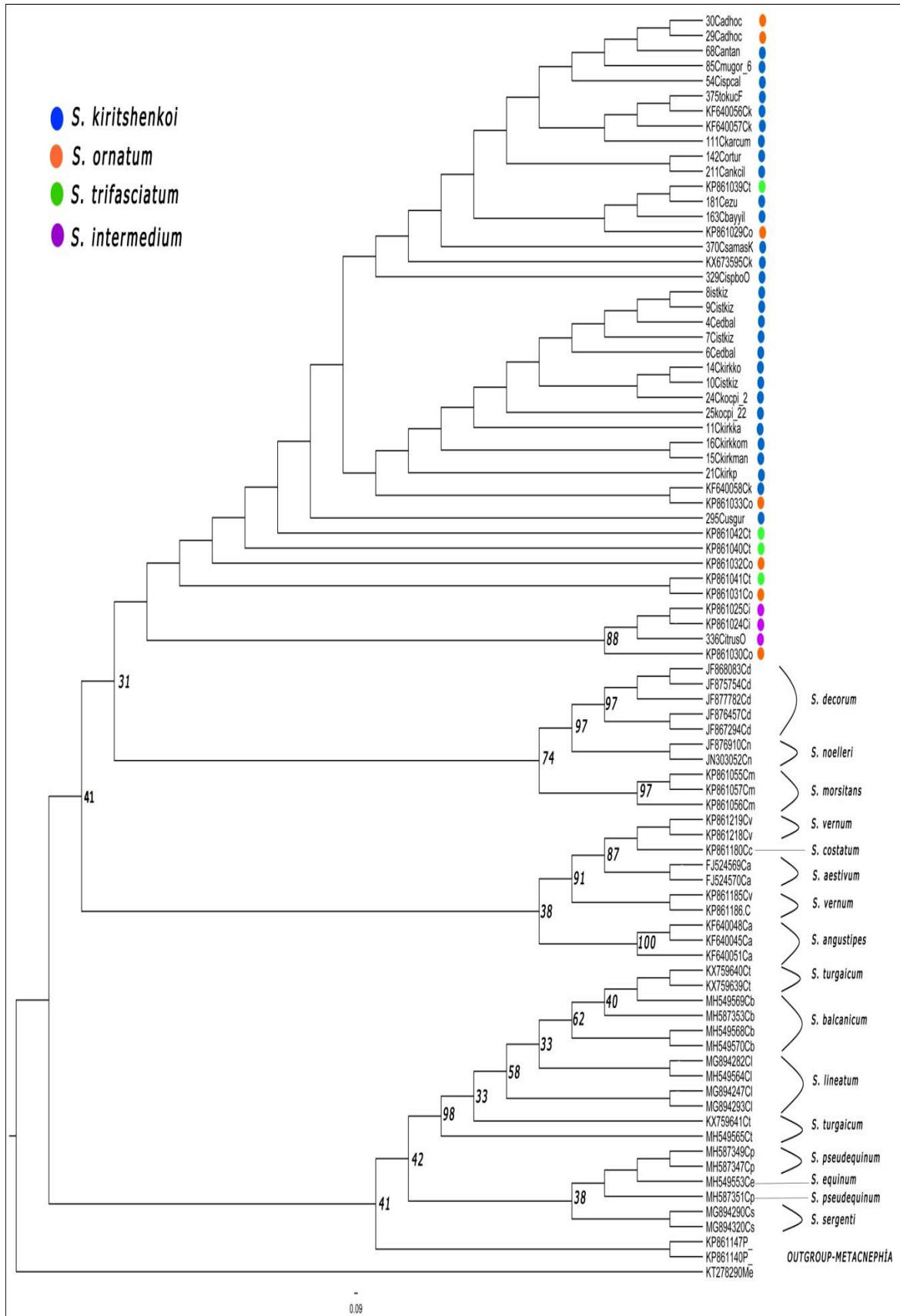
Veri setine aynı parametre ve model ile uygulanan Bayesian filogeni analizi, posterior olasılık değerleriyle birlikte, MO ağacının aksine, oldukça yüksek dal destek değerli bir filogenetik ağaç önermiştir. *Wilhelmia* alt cinsine (son olasılık değeri; 1) ve *S. ornatum* tür grubuna (son olasılık değeri; 0,7) ait haplotiplerin oluşturduğu haplogrupların son olasılık değerleri yüksektir. Fakat haplogruplar içinde MO ağacında görülen problemler tekrar etmektedir. Tez konusunu oluşturan tür grubunda türler politomik bir haplogrup oluşturmuş, türlerin haplotipleri taksonomik olarak kesin bir yargıya varamayacak şekilde karışık dallanmıştır (Şekil 4.13).

Veri setine uygulanan üçüncü analiz SVDquartets analizidir. 100 tekrarlı bootstrap döngüde çalıştırılan analizde toplamda 100000 rastgele örneklem yapılmış bunun % 92.034 uyumlu, % 7.966 ise uyumsuz sonuç vermiştir. Bu analizde de MO analizine benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Analiz cins içerisindeki örüntüyü güvenilir bir biçimde çözümleyememiştir. Ağaçta tür grubunun tek bir haplogrup olarak şekillendiği görülmektedir (Şekil 4. 14).

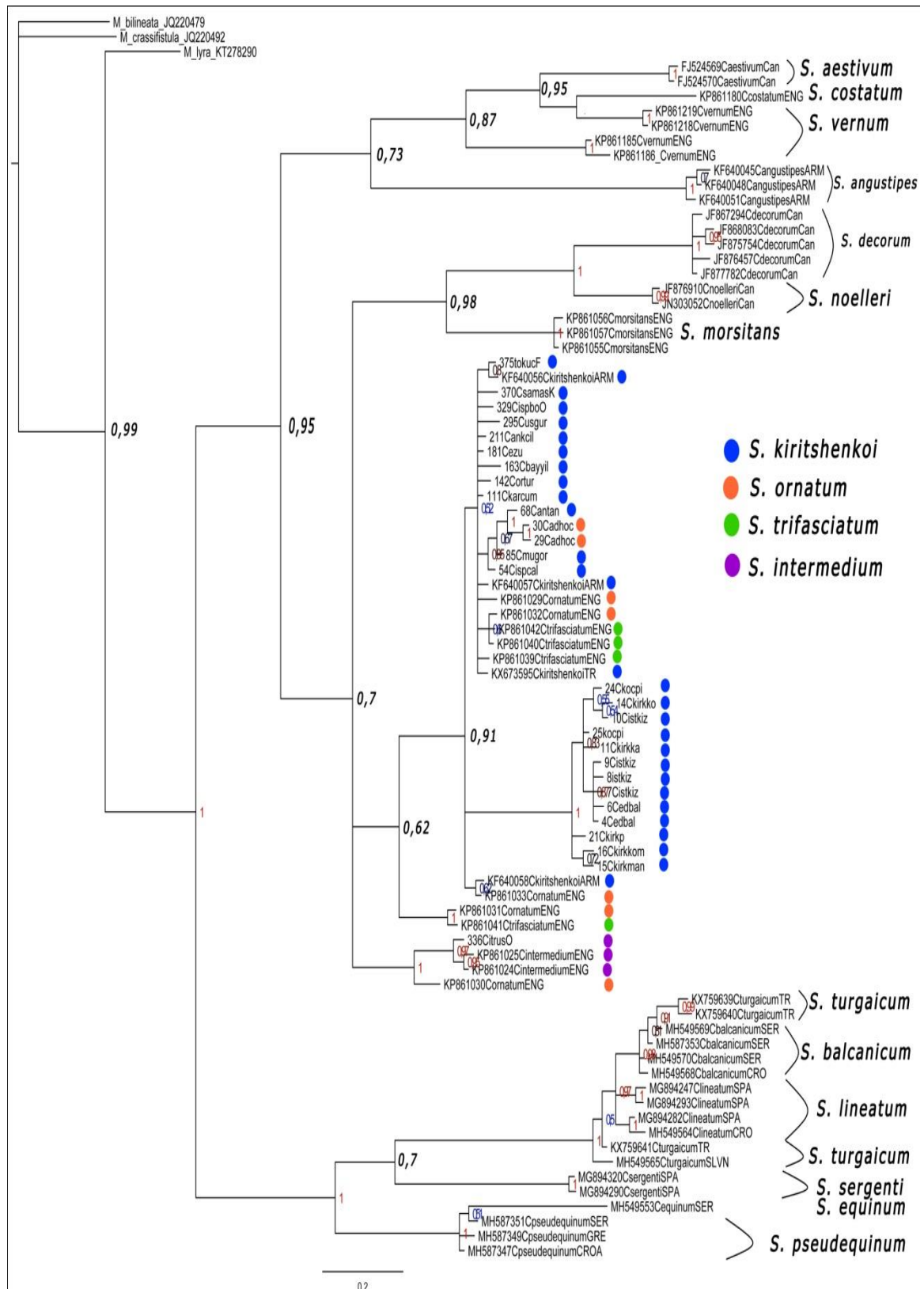
NETWORK analizi sonuçlarına göre elde edilen haplotip ağı görüntüsünde (Şekil 4. 15), *S. ornatum* tür grubu ve *Wilhelmia* alt cinsi haricindeki hiçbir türde grup içinde ya da dışında haplotip paylaşımı görülmemektedir.

Bu veri setine uygulanan tüm analizlerde görüldüğü gibi Network analizinde de *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. trifasciatum* haplotipleri belirgin bir ayırım göstermemektedir. Yalnızca *S. intermedium* türü haplotipleri kendi içinde gruplanmıştır ve tür grubuna ait diğer türler ile arasında birçok hipotetik haplotip atanmıştır (Şekil 4. 16).

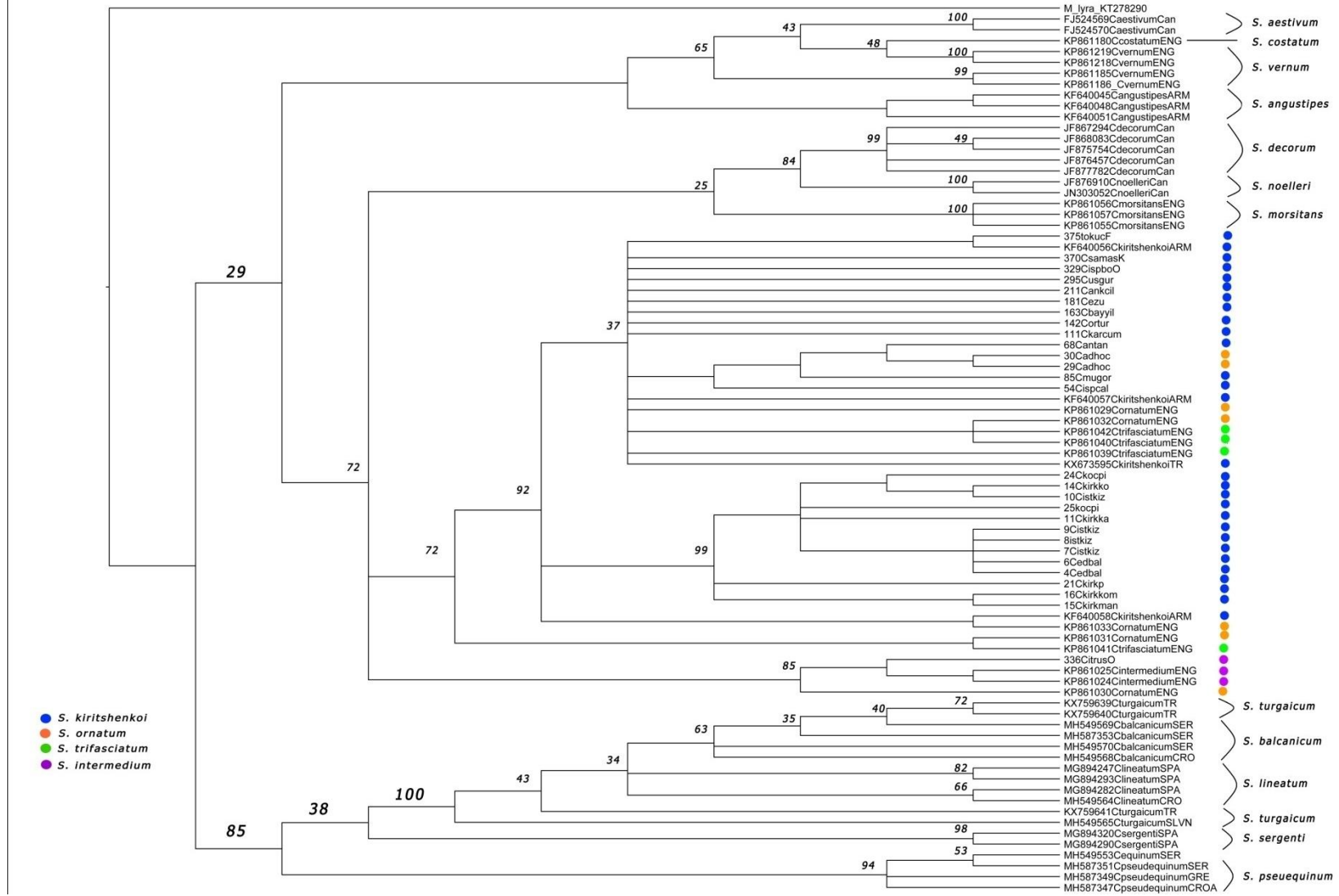
Orta kısımda kırmızı renkle gösterilen haplotipler, çalışmadaki veri setinde bulunmayan fakat mevcut haplotip bağlantıları arasında bulunması gereken (Hipotetik) haplotipleri göstermektedir.



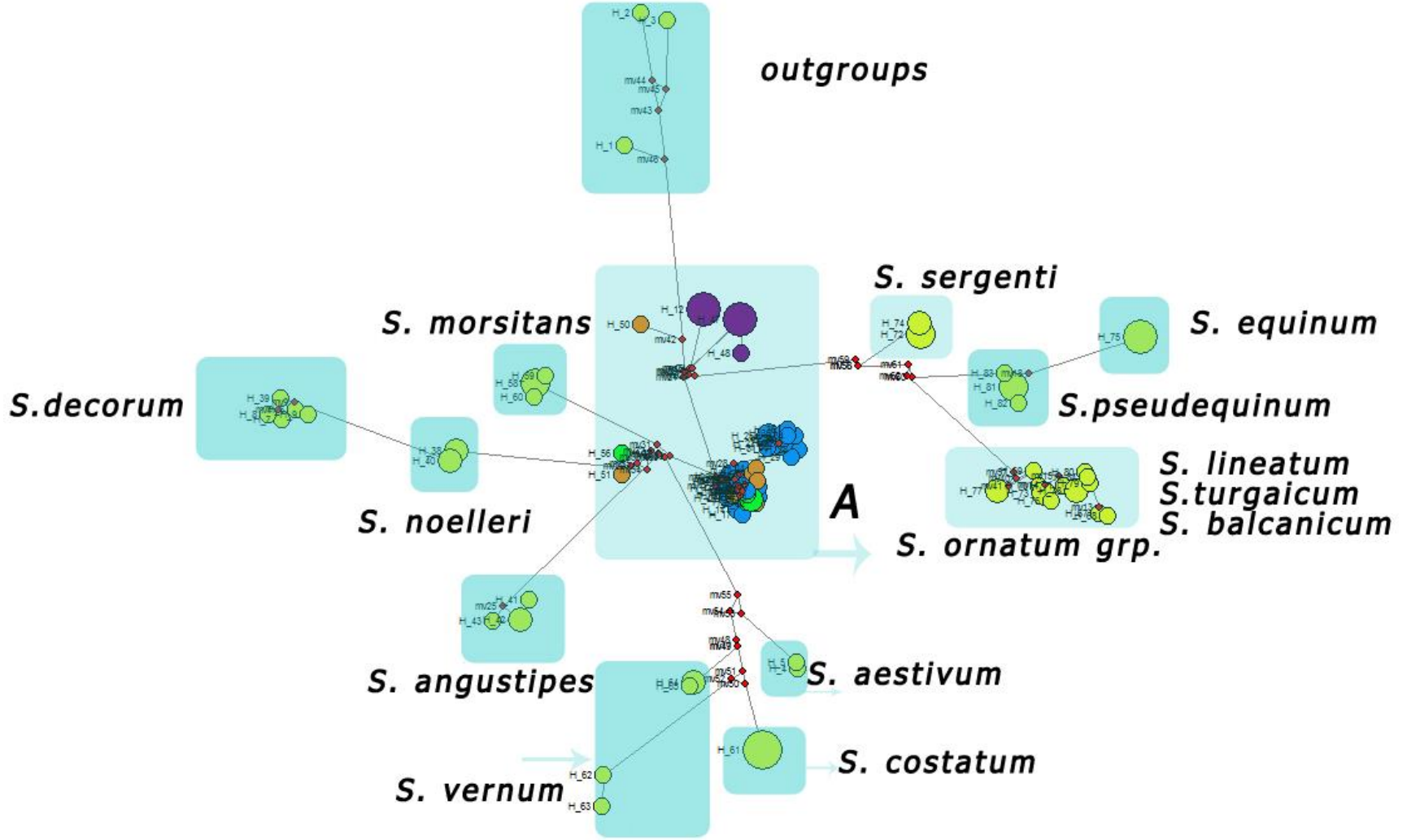
Şekil 4. 12. *Simulium* cinsine ait COI haplotiplerinin Maksimum Olasılık ağacı, dallar üzerindeki değerler 100 tekrarlı seç-bağla testi desteklerini göstermektedir.



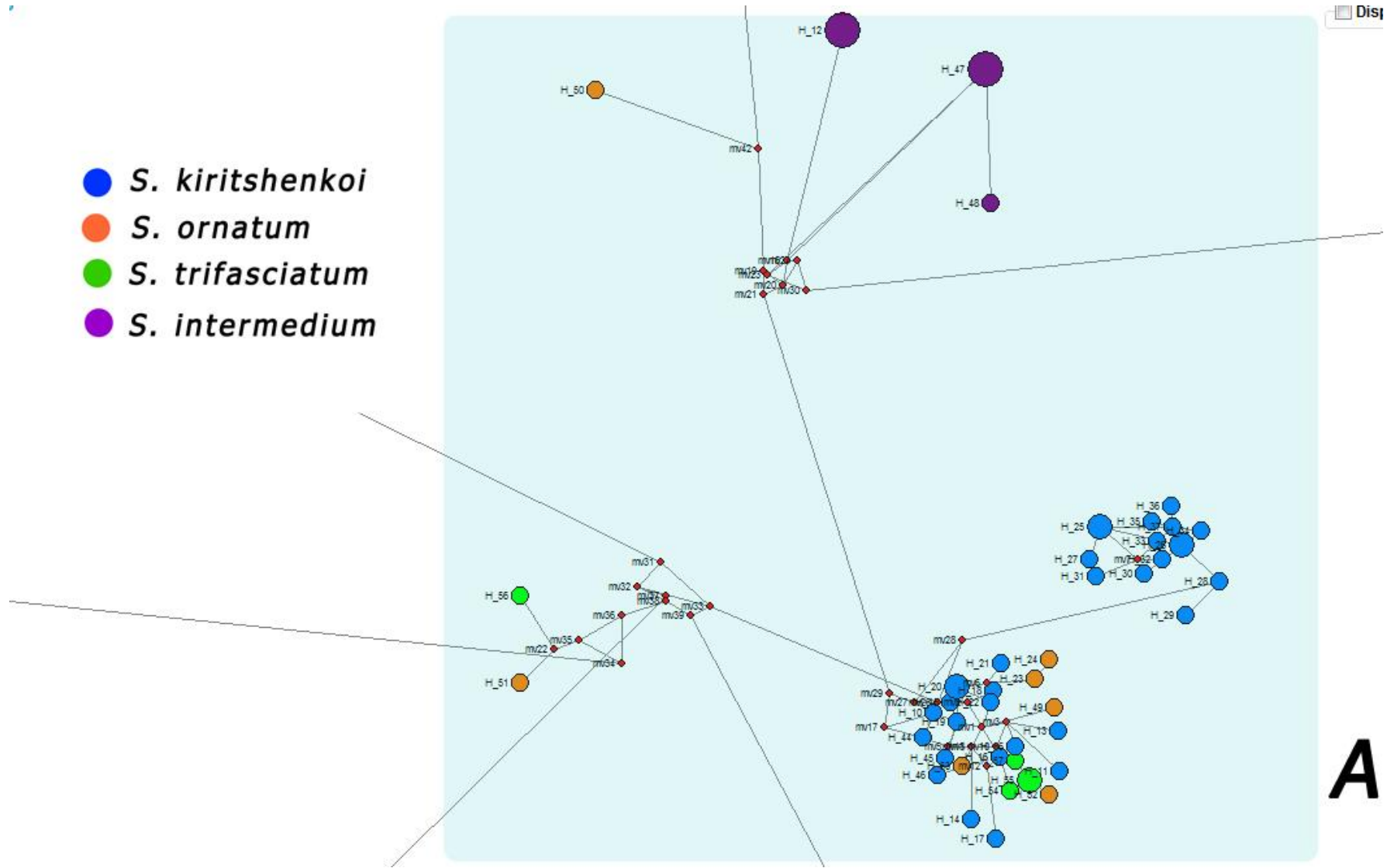
Şekil 4. 13. *Simulium cinsine* ait COI haplotiplerinin Bayesian filogenetik ağacı



Şekil 4. 14. *Simulium cinsine* ait COI haplotiplerin SVDquartets filogenetik ağacı



Şekil 4. 15. Network analizi ile gerçekleştirilen *Simulium* cinsi haplotip ağı analizi



Şekil 4. 16. Network analizi ile gerçekleştirilen *Simulium* cinsi haplotip ağı analizi içerisinde *S. ornatum* tür grubu haplotip ağı ilişkisi

4.3.2. *S. ornatum* tür grubu COI gen bölgesi filogenetik bulguları

Analizler gerçekleştirilmeden önce yapılan dış grup seçiminde, familyaya ait 3 farklı cinsten 3 farklı tür tercih edilmiştir. Seçilen türler, *Prosimulium rachiliense* Djafarov, 1954 *Metacnephia subalpina* (Rubtsov, 1956) ve *Simulium degrangei* Dorier and Grenier, 1960 dir. İç gruba yeterli uzaklıkta ve 3. pozisyonda doygunluk yaratmayan türlerin her birinden 3 gen bölgesi çoğaltılmış ve analize dâhil edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında yurt dışından elde edilmiş örnekler de dâhil olmak kaydıyla; tür grubuna ait 384 bireyden Total DNA çıkarılmıştır. DNA elde etmek için kullanılan protokol ve primerler aynı olmasına karşın 2015 ve öncesi tarihli ve % 85'lik alkolde saklanan örneklerin birçoğunda COI gen bölgesi çoğaltmak mümkün olmamıştır. Çalışmaya dâhil edilen tüm bireyler arasından 302 örnekten başarılı bir şekilde COI gen bölgesinin dizileri elde edilmiştir.

Macrogen firması tarafından gönderilen .ab1 uzantılı dosyaların ikili hizalanmaları Sequencer v4.1.4 programında gerçekleştirilmiştir. Hizalanma sonrasında tüm dosyaların doğru gen bölgesine ait olduğu nükleotid BLAST programı ile kontrol edilmiştir. Dizilerin veri bloğu halinde düzenlenmeden önce 1050-1290 bp arasında değiştiği görülmektedir. Diziler MEGA programı ile bir blok olarak hizalanmış, bütünlüğü bozan ve veri setine göre kısa kalan diziler çıkarılmıştır. Sonuçta 296 dizi ve 1117 baz çifti uzunluğunda veri seti elde edilmiştir. Dosya, MEGA, DnaSP, Mesquite ve DAMBE programlarıyla filogenetik analizlerde kullanılmak üzere farklı formatlara çevrilmiştir.

İç gruba ait, toplamda 1117 baz çifti uzunluğunda 277 farklı haplotip elde edilmiştir, nükleotidlerin 771'inin korunmuş, 346'sinin varyasyonel ve 248'inin ise parsimonik bilgi verici olduğu tespit edilmiştir. Haplotip sayısındaki fazlalığın analizlerin yapılmasını zorlaştıracığı düşünülerek haplotip sayısında azaltmaya gidilmiştir. Veri seti her lokaliteden bir birey alınacak şekilde homojen olarak küçültülmüş ve 162 haplotip elde edilmiştir. Her iki veri seti farklı bir sonuç alınıp alınamayacağı öngörülemediği için aynı analizlere tabi tutulmuştur.

Öncelikle küçültülen 162 haplotipli veri matrisi ile SVDquartets, MO ve MP analizleri gerçekleştirilmiştir. Veri setine uygulanan ilk analiz SVDquartets analizidir. 100 tekrarlı bootstrap döngüde çalıştırılan analizde toplamda 100000 rastgele örneklem yapılmış bunun % 77.79 uyumlu, % 22.21 ise uyumsuz sonuç vermiştir. Analiz sonucunda iç grupta düşük dal destek değerli bir ağaç elde edilmiştir. *S. intermedium* türü ilk haplogrup olarak görülürken (dal destek değeri % 49) *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin (dal destek değeri % 48) oluşturduğu grup ise ikinci haplogrup olarak görülmektedir. Analizin verdiği dal destek değerleri düşük olduğu için iç gruptaki haplogrupları tek bir türün 2 ayrı popülasyonu (*S. kiritshenkoi*+*S. ornatum* ve *S. intermedium*) gibi yorumlanabileceği düşünülmüştür.

MP analizi sonucu COI için 77721 eş derecede parsimonik ağaç ile sonuçlanmıştır. Veri setine uygulanan 100 tekrarlı MP analizinde dalların büyük çoğunluğu düşük destek değeri almıştır. Bu değerlere göre iç grupta (destek değeri % 86) iki ana haplogrup önerilmektedir; *S. intermedium* olarak teşhis edilen örnekler bir haplogrup oluşturmuştur (% 100). *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum* türlerinin içinde bulunduğu haplogrupta dal destek değerleri çok düşüktür ve bu türler yüksek oranda politomi gösteren ikinci haplogrupta şekillenmiştir (% 48).

MO analizi yapılmadan önce dizilere en uygun baz değişim modeli Jmodeltest programı kullanılarak saptanmıştır. Akaike Information Criterion (AIC)'ye göre en uygun model TIM2+I+G (-lnL=7058.9114) olarak belirlenmiştir. Baz frekansları; freqA = 0.3228, freqC = 0.1826, freqG = 0.1200, freqT = 0.3746 olarak belirlenmiştir. Substitüsyon modelinin önerdiği baz değişim oranları R(a) [AC] = 3.5777, R(b) [AG] = 57.9009, R(c) [AT] = 3.5777, R(d) [CG] = 1.0000, R(e) [CT] = 17.7367, R(f) [GT] = 1.0000 değişken bölgelerin oranı (G)=0.4880, değişmeyen bölgelerin oranı ise (I)=0.6030 olarak hesaplanmıştır. Önerilen parametreler ve model doğrultusunda raxmlGUI1.5b2 programı kullanılarak MO analizi gerçekleştirilmiştir.

MO analizi sonucunda haplotipler arası ilişkinin iyi çözülemediği ve diğer analizlere benzer sonuç verdiği görülmektedir. Bu analizde de *S. intermedium* olarak teşhis edilen örnekler bir haplogrup oluşturmuştur. *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum* türlerinin içinde bulunduğu haplogrupta dal destek değerleri çok düşük olup, bu türler yüksek oranda

politomi gösteren ikinci haplogrupta şekillenmiştir. Seç-Bağla testi ilk haplogrup için % 92 ikinci haplogrup için % 37 destek değeri önermiştir (Şekil 4.18-Şekil 4.19).

162 hp COI gen bölgesi ile gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda, *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. intermedium* türlerinin ayrı türler olduğuna dair bir bulgu elde edilememiştir. Aksine veri setindeki tüm haplotiplerin tek bir türe işaret ettiği görülmektedir. *S. kiritshenkoi*+*S. ornatum* haplotiplerinin tümünün bir populasyon, *S. intermedium* türüne ait haplotiplerin ise iç dalda aldığı yüksek dal destek değerleri ile farklılaşmakta olan 2. bir populasyona işaret ettiği yorumu yapılabilir.

Network analizi sonuçlarına göre orta kısımda siyah renkle gösterilen haplotipler, çalışmadaki veri setinde bulunmayan fakat mevcut haplotip bağlantıları arasında bulunması gereken (Hipotetik) haplotipleri göstermektedir. Analiz sonucunda *S. intermedium* türü haplotiplerinin kendi içinde gruplandığı, diğer haplogruplarla haplotip paylaşımı yapmadığı ve belirgin biçimde ayrıldığı görülmektedir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu grup kendi içinde 2 küçük haplogruba ayrılmıştır (gruplar O1-O2 olarak isimlendirilmiştir) (Şekil 4.20).

Farklı algoritmalarla gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda da bu haplogrup içeride ikiye ayrılmış fakat düşük dal destek değerleri nedeniyle politomik olarak değerlendirilmiştir. Tür grubuna ait bireyler ile arasına birçok hipotetik haplotip atanmıştır.

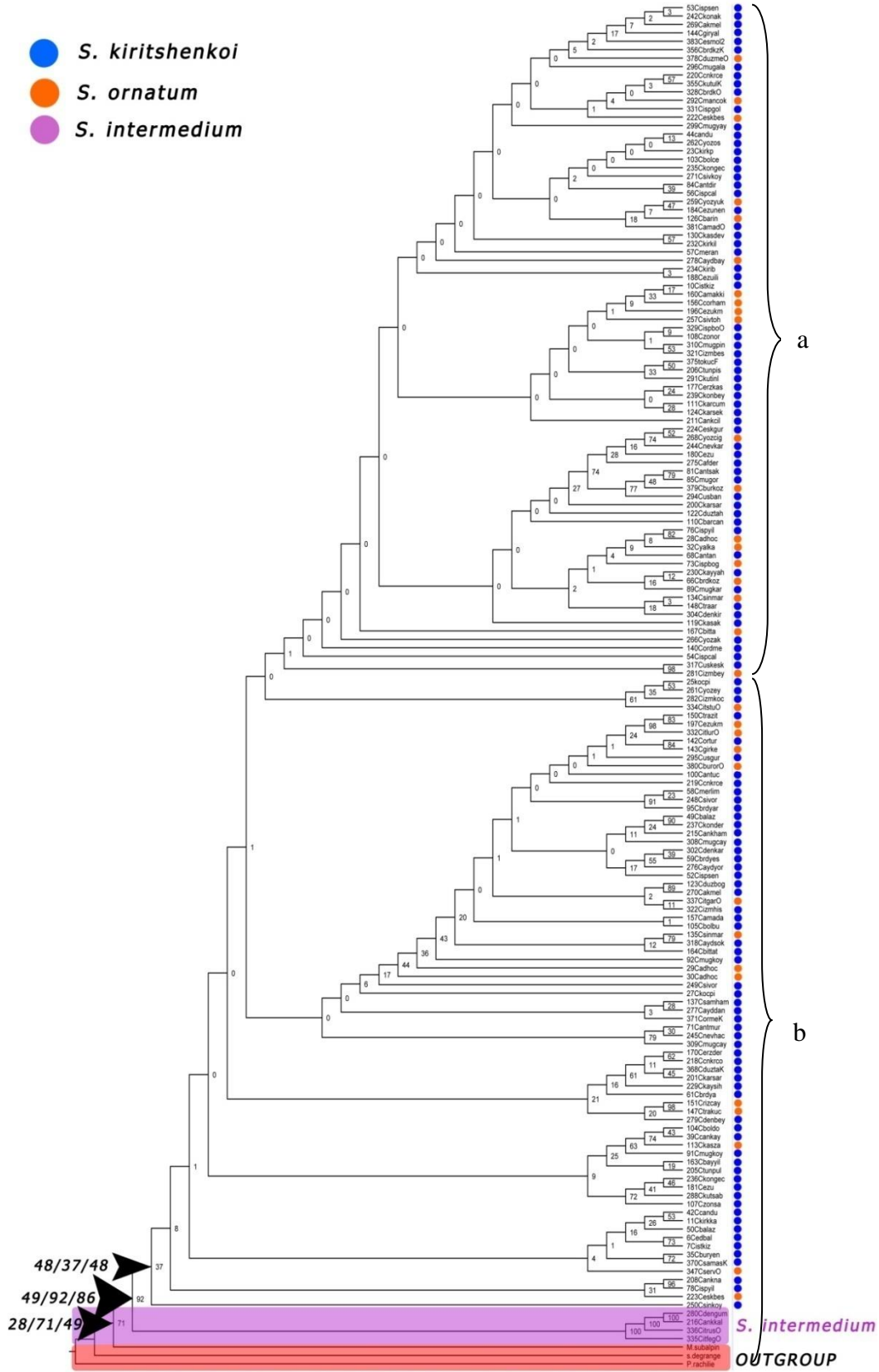
Network analizini desteklemek amacıyla gerçekleştirilen SplitsTree analizinde de benzer sonuç elde edilmiştir (Şekil 4.21). *S. intermedium* haplogrubu oldukça uzak bir dal oluşturmuş, *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu Network analizinde olduğu gibi kendi içinde ikiye ayrılan büyük bir grup olarak şekillenmiştir.

Veri seti üzerine uygulanan tür sınırları belirleme testi sonuçlarına göre; ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery); iç grupta 2 farklı tür önermiştir. Bunlar *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu ve *S. intermedium* haplogrubuna karşılık gelmektedir.

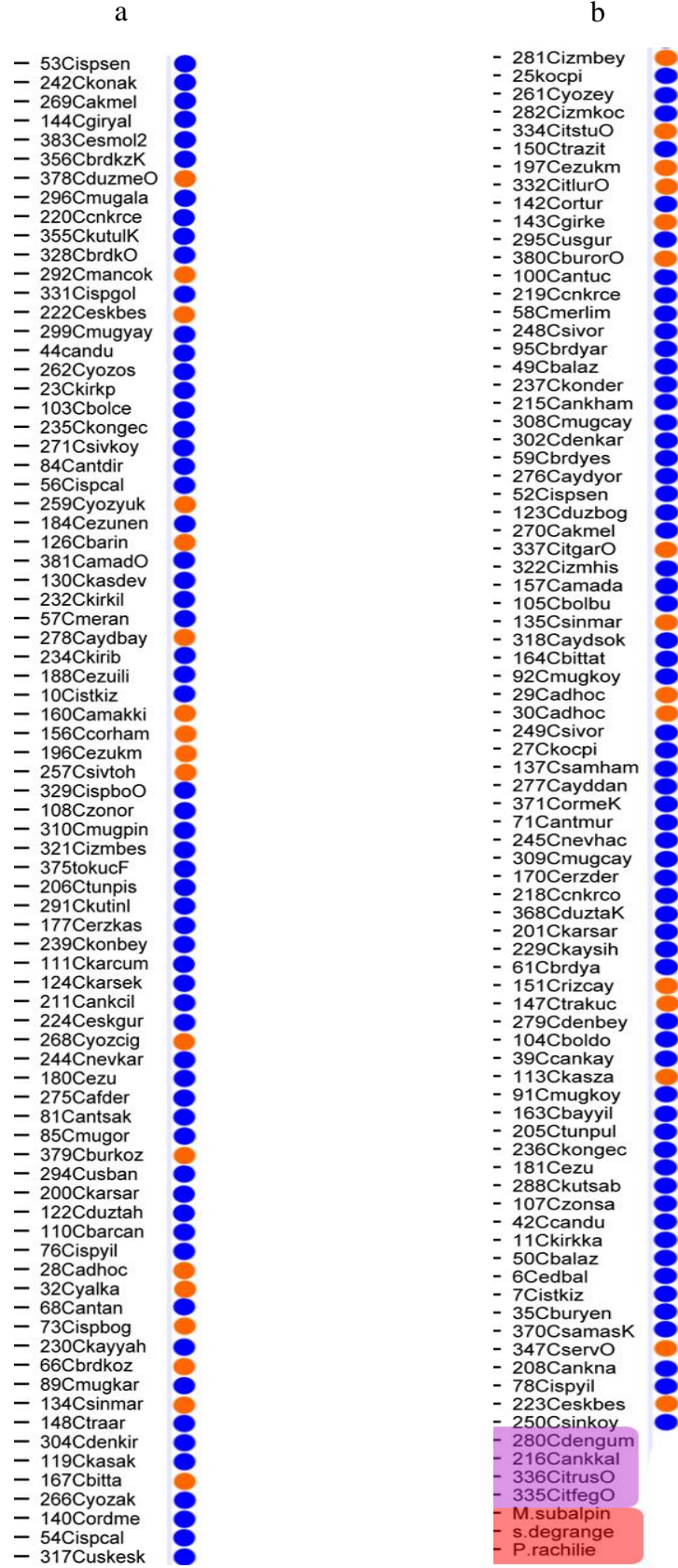
TCS (% 95) iç grupta 6 farklı tür önermektedir; 1. tür *S. intermedium* haplotipleri içinden 335itfeg haplotipi iken 2. tür geri kalan tüm *S. intermedium* haplotiplerinden (336itrus+280dengum+216ankkal) önerilmiştir. Analiz 3. tür olarak 142ortur +143girke haplotiplerini, 4. tür olarak 197erz+150trazit+332itlura haplotiplerini, 5. olarak 337itlura haplotipini önermektedir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubunun geri kalan tüm haplotipleri 6. tür olarak önerilmiştir.

TCS (% 90) iç grupta 3 tür önermektedir; 1. tür; *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu, 2. tür; 335itfeg haplotipi ve 3. tür ise geri kalan tüm *S. intermedium* haplotiplerini (336itrus+280dengum+216ankkal) içermektedir (Şekil 4.22).

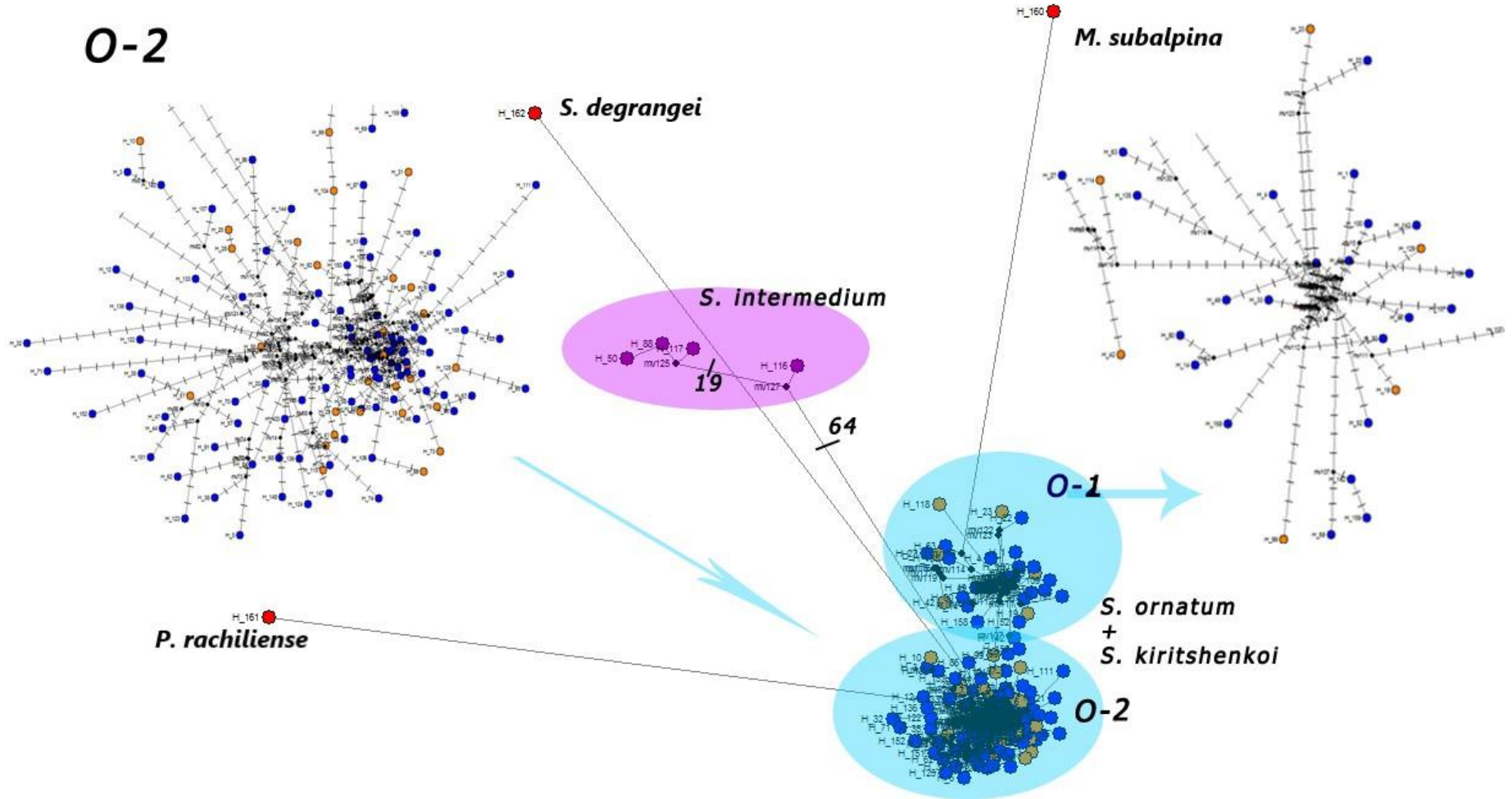
Moleküler saat analizi sonucunda *S. ornatum* tür grubunun dış grupta 4,3562 (HPD 2,9532-5,8155) myö ortak ataya sahip oldukları tespit edilmiştir. İç gruptaki *S. intermedium* ve *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* kompleksinin yaklaşık 2,56 (HPD 1,6043-3,5831) myö ortak ataya sahip oldukları belirlenmiştir. BEAST kronogramına göre *S. ornatum*+*S.kiritshenkoi* kompleksi 1,8229 (HPD 1,2294-2,3924) myö kendi içinde iki ayrı alt grup olarak ayrılmışlardır. Fakat alt gruplar arasında taksonomik ve coğrafik olarak ayrı tür/populasyon olduklarına dair bir veri bulunmamaktadır (Şekil 4. 23).



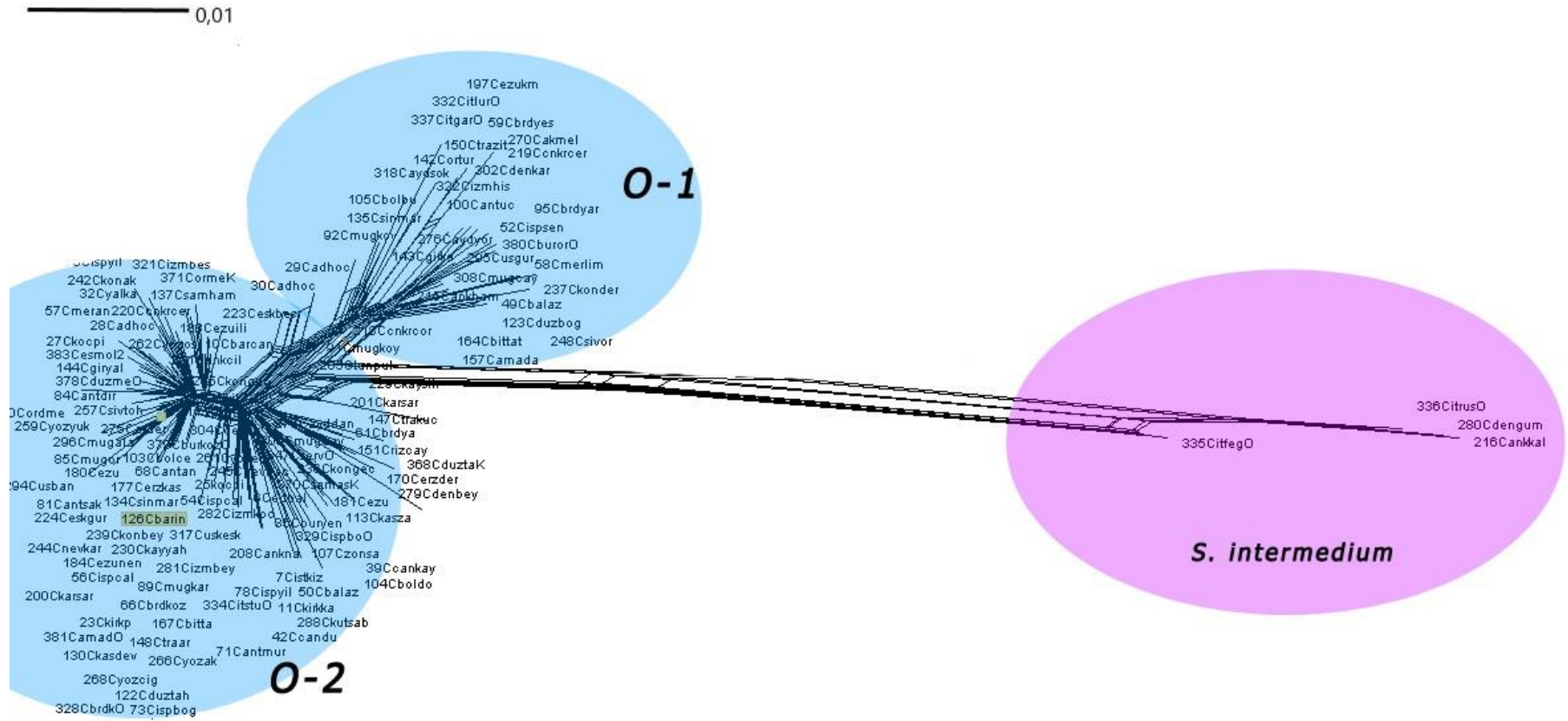
Şekil 4. 17. 162 haplotiple gerçekleştirilen MP analizleri sonucu elde edilen katı uyum ağacı. Dallar üzerindeki değerler 100 tekrarlı seç bağla analizi destek değerlerini göstermektedir. Siyah ile işaretlenen ana dal destek değerlerinden ilki SVDquartets ikincisi MO, üçüncüsü MP analizi değerini göstermektedir.



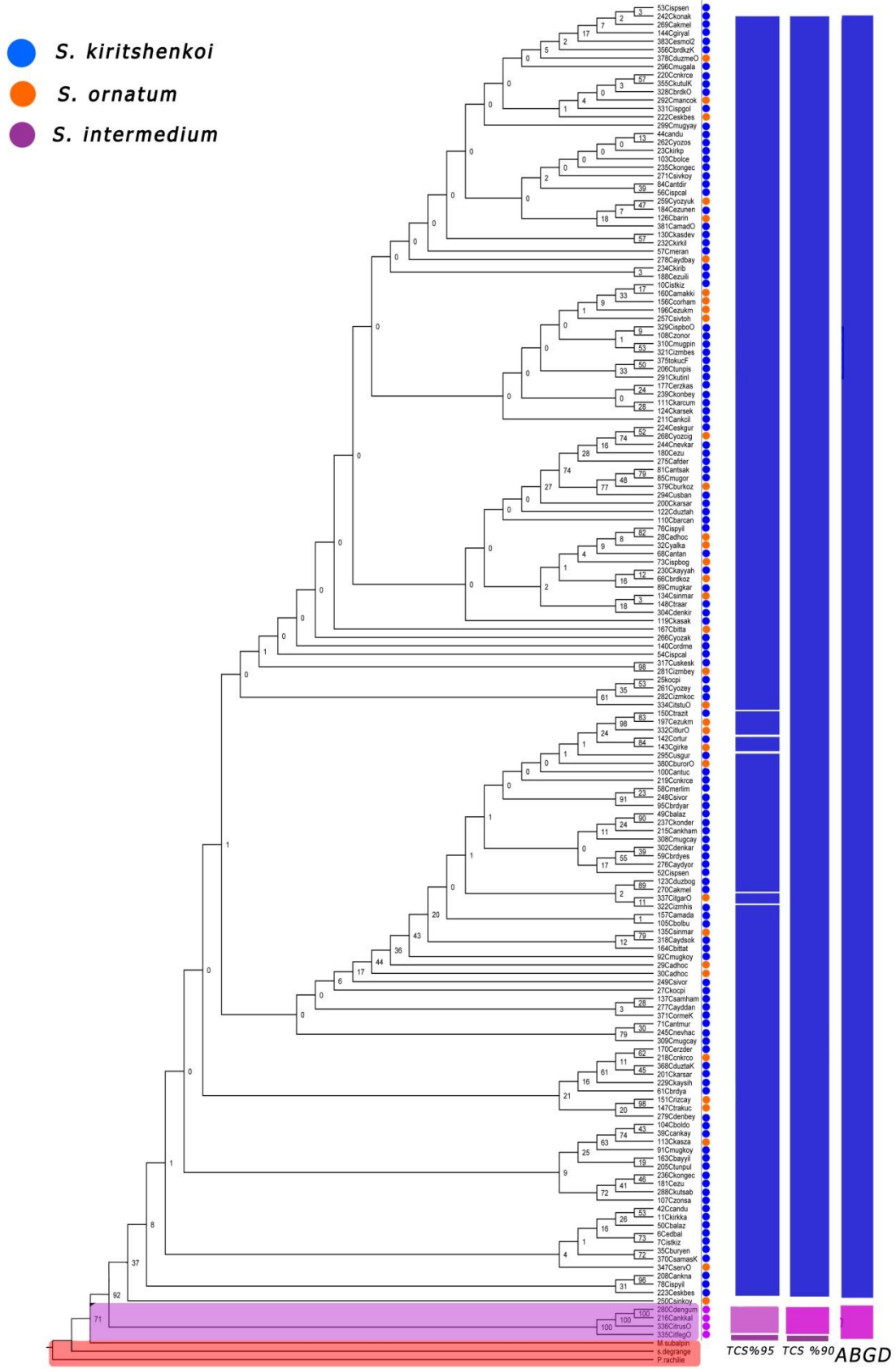
Şekil 4. 18. *S. ortanum* tür grubu COI gen bölgesi 162 haplotip ayrıntılı görünümü.



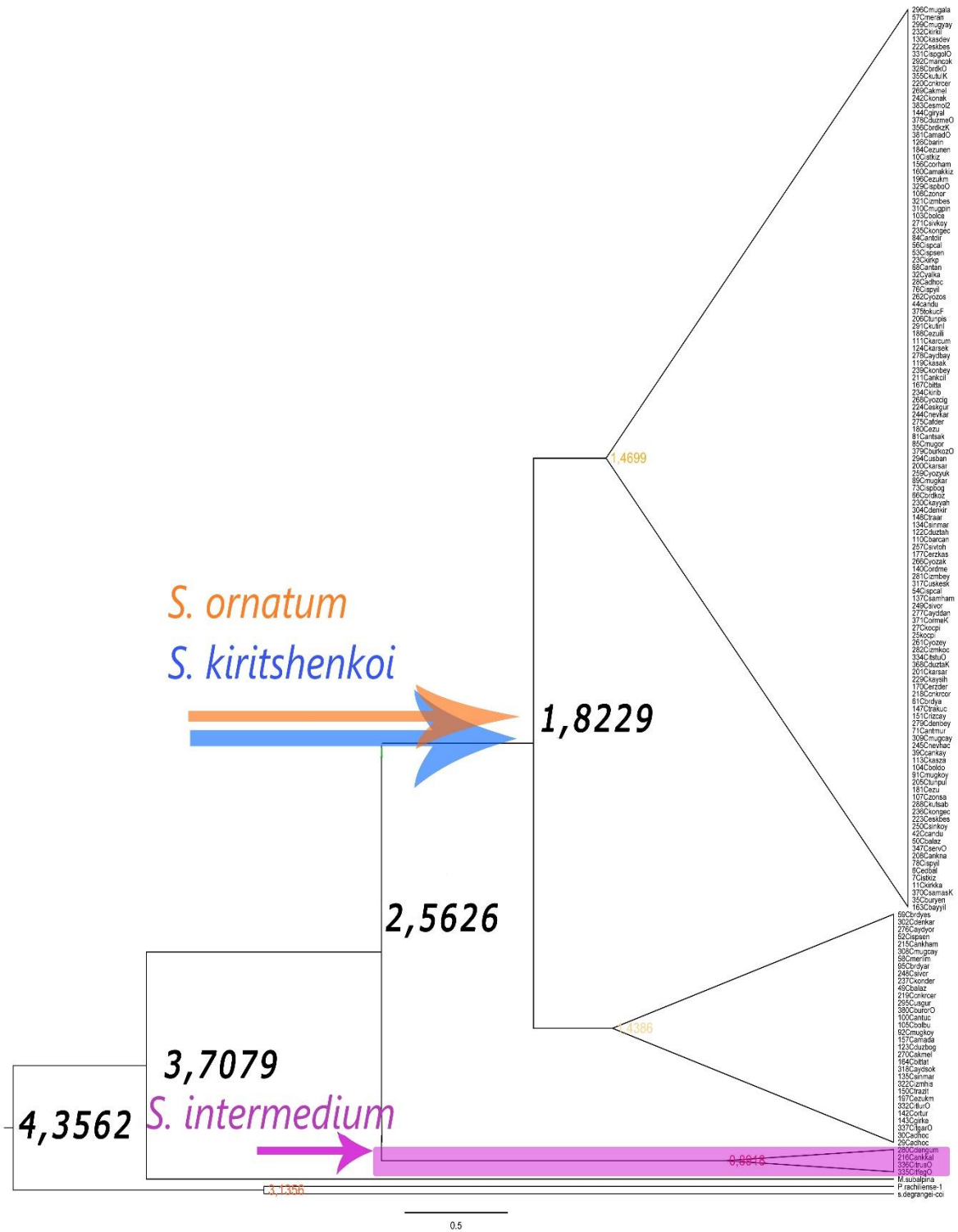
Şekil 4. 19. COI 162 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı)



Şekil 4. 20. COI 162 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı)



Şekil 4. 21. Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (COI-162 haplotip)



Pliyosen		Pleistosen			
Zanclean	Piacenzian	Gelasian	Calabrian	Middle	Upper
5.33-3.60	3.60-2.58	2.58-1.80	1.80-0.773	0.773-0.126	0.126-0.0117

Şekil 4. 22. *Simulium ornatum* tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (COI-162 haplotip)

İkinci olarak aynı analizler 277 haplotipli 1117 bp veri setine uygulanmıştır. Bu veri seti ile SVDquartets, BI ve MO analizleri gerçekleştirilmiştir. Veri setine uygulanan ilk analiz SVDquartets analizidir. 100 tekrarlı bootstrap döngüde çalıştırılan analizde toplamda 100000 rastgele örneklem yapılmış bunun % 78.02 uyumlu, % 21.98 ise uyumsuz sonuç vermiştir. Analiz sonucu oluşan ağaçta *S. intermedium* türü haplotipleri (% 98 lik iç-dal destek değeriyle) *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu politomik dallanmadan ayrılmıştır.

MO ve BI analizleri yapılmadan önce dizilere en uygun baz değişim modeli JModeltest programı kullanılarak saptanmıştır. Akaike Information Criterion (AIC)'ye göre en uygun model GTR+G+I (-lnL=7059.4190) olarak belirlenmiştir. Baz frekansları; freqA = 0.3235, freqC = 0.1830, freqG = 0.1191, freqT = 0.3743 olarak belirlenmiştir. Substitüsyon modelinin önerdiği baz değişim oranları R(a) [AC] = 4.5110, R(b) [AG] = 77.3422, R(c) [AT] = 4.8500, R(d) [CG] = 1.7328, R(e) [CT] = 23.3035, R(f) [GT] = 1.0000 değişken bölgelerin oranı (G)= 0.4870, değişmeyen bölgelerin oranı ise (I)= 0.6030 olarak hesaplanmıştır. Önerilen parametreler ve model doğrultusunda raxmlGUI1.5b2 programı kullanılarak MO analizi gerçekleştirilmiştir.

MO analizi sonucunda haplotipler arası ilişkinin iyi çözülemediği görülmektedir. Bu analizde *S. intermedium* olarak teşhis edilen örnekler (% 96 iç dal destek değeriyle) bir haplogrup oluşturmuştur. *S. kiritshenkoi* ve *S. ornatum* türlerinin içinde bulunduğu haplogrupta (% 46) dal destek değerleri çok düşüktür ve bu türler yüksek oranda politomi gösteren ikinci haplogrupta şekillenmiştir.

Veri setine aynı parametre ve model ile uygulanan BI ağacı (%50 çoğunluk uyum ağacı) posterior olasılık değerleriyle birlikte Şekil 4.24'de verilmiştir. BI ağacı şekilde görüleceği üzere SVDquartets ve MO ağaçlarının aksine 2 haplotipe de oldukça yüksek son olasılık değeri ile destek vermektedir. İç grupta *S. intermedium* haplotiplerinin şekillendiği dal (1) son olasılık değeri ile desteklenmektedir. Aynı şekilde *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu haplogrupta (1) son olasılık değeri ile desteklenmektedir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* grubu politomik bir haplogrup oluşturmuştur. Analiz, *S. intermedium*'u ayrı bir tür olarak önermektedir.

Tüm analizlerin sonucunda elde edilen rakamsal değerlerinin hepsi tek bir filogenetik ağaç üzerinde gösterilmiştir. A harfi ile dış grup ve iç grup ayrımı dal destek değeri verilirken B harfi ile de iç grubun dal destek değeri verilmiştir. Rakamlar sırasıyla SVDquartets, MO ve BI analizlerinin sonucunda elde edilen değerleri temsil etmektedir (Şekil 4. 24-Şekil 4.25). 277 hp COI gen bölgesi ile gerçekleştirilen SVDquartets ve MO filogenetik analizleri sonucunda, *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. intermedium* türlerinin ayrı türler olduğuna dair bir bulgu elde edilememiştir. Veri setindeki tüm haplotiplerin tek bir türe işaret ettiği görülmektedir. 162 hp COI gen bölgesinde olduğu gibi, *S. kiritshenkoi*+*S. ornatum* haplotiplerinin tümünün bir popülasyon, *S. intermedium* türüne ait haplotiplerin ise iç dalda aldığı yüksek dal destek değerleri ile farklılaşmakta olan 2. bir popülasyona işaret ettiği yorumu yapılabilir. Fakat BI analizinde bu iki popülasyon yüksek son olasılık değeri almıştır. Bu nedenle bu analiz *S.intermedium*'u ayrı bir tür olarak desteklediği sonucu çıkarılabilir.

Veri seti üzerine uygulanan tür sınırları belirleme testi sonuçlarına göre; ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery); iç grupta 2 farklı tür önermiştir. İlki *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu iken 2.'si *S. intermedium* türü haplotipleri ile oluşan haplogruba karşılık gelmektedir.

TCS (% 95) iç grupta 4 farklı tür önermektedir. 1. tür *S. intermedium* haplotipleri içinden 335itfeg haplotipi iken 2. tür geri kalan tüm *S. intermedium* haplotiplerinden (336itrus+280dengum+216ankkal) önerilmiştir. 3. tür olarak 337itlura haplotipini önermektedir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubunun tüm haplotipleri 4. tür olarak önerilmektedir.

TCS (% 90) iç grupta 3 tür önermektedir. 1. tür *S. intermedium* haplotipleri içinden 335itfeg haplotipi iken 2. tür geri kalan tüm *S. intermedium* haplotiplerinden (336itrus+280dengum+216ankkal) önerilmiştir. 3. tür olarak *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubunun tüm haplotipleri önerilmiştir (Şekil 4. 26).

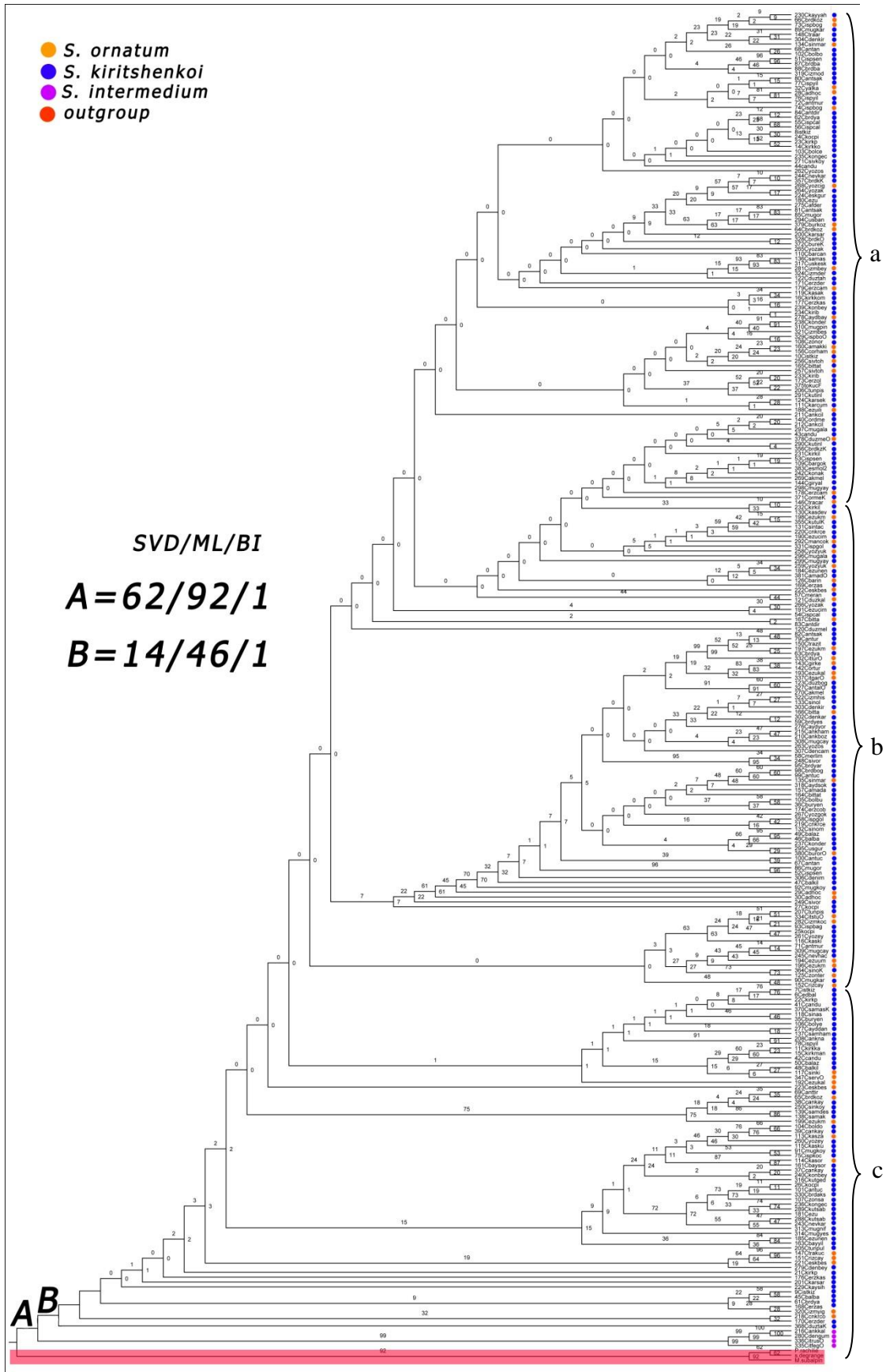
NETWORK analizi sonuçlarına göre; orta kısımda siyah renkle gösterilen haplotipler, çalışmadaki veri setinde bulunmayan fakat mevcut haplotip bağlantıları arasında bulunması gereken (Hipotetik) haplotipleri göstermektedir. Analiz sonucunda *S.*

intermedium türünün haplotiplerinin kendi içinde gruplandığı diğer türlerle haplotip paylaşımı yapmadığı ve belirgin biçimde ayrıldığı görülmektedir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu grup kendi içinde 2 küçük haplogruba ayrılmıştır (Şekil 4.27'de O1-O2 olarak isimlendirilmiştir).

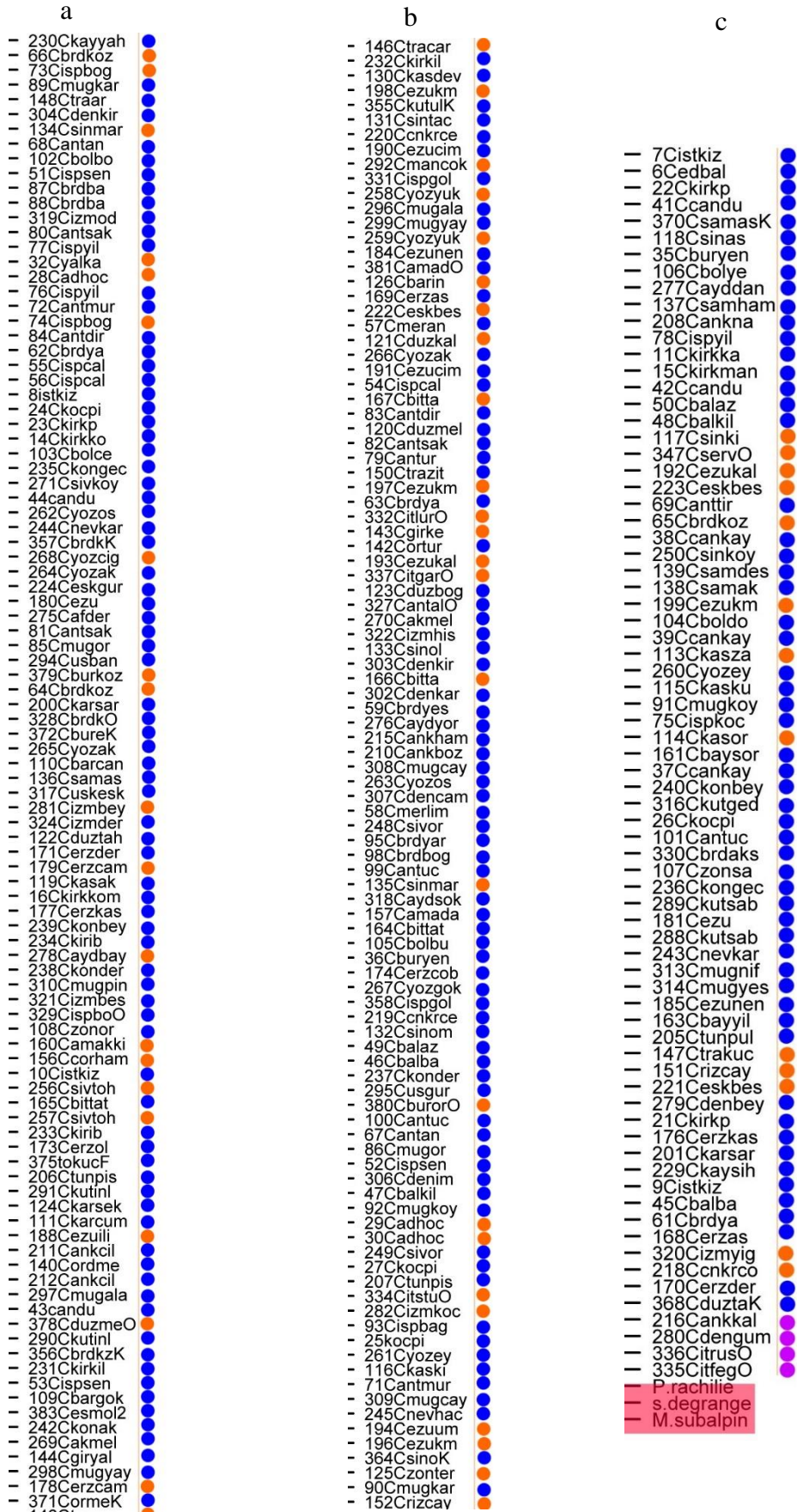
Farklı algoritmalarla gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda da bu haplogrup içerisinde ikiye ayrılmış fakat düşük dal destek değerleri nedeniyle politomik olarak değerlendirilmiştir. Tür grubuna ait bireyler ile arasına birçok hipotetik haplotip atanmıştır.

Network analizini desteklemek amacıyla uygulanan SPLITS TREE analizinde de benzer sonuç elde edilmiştir. *S. intermedium* haplogrubu oldukça uzak bir dal oluşturmuş, *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu NETWORK analizinde olduğu gibi kendi içinde ikiye ayrılan büyük bir grup olarak şekillenmiştir (Şekil 4.28).

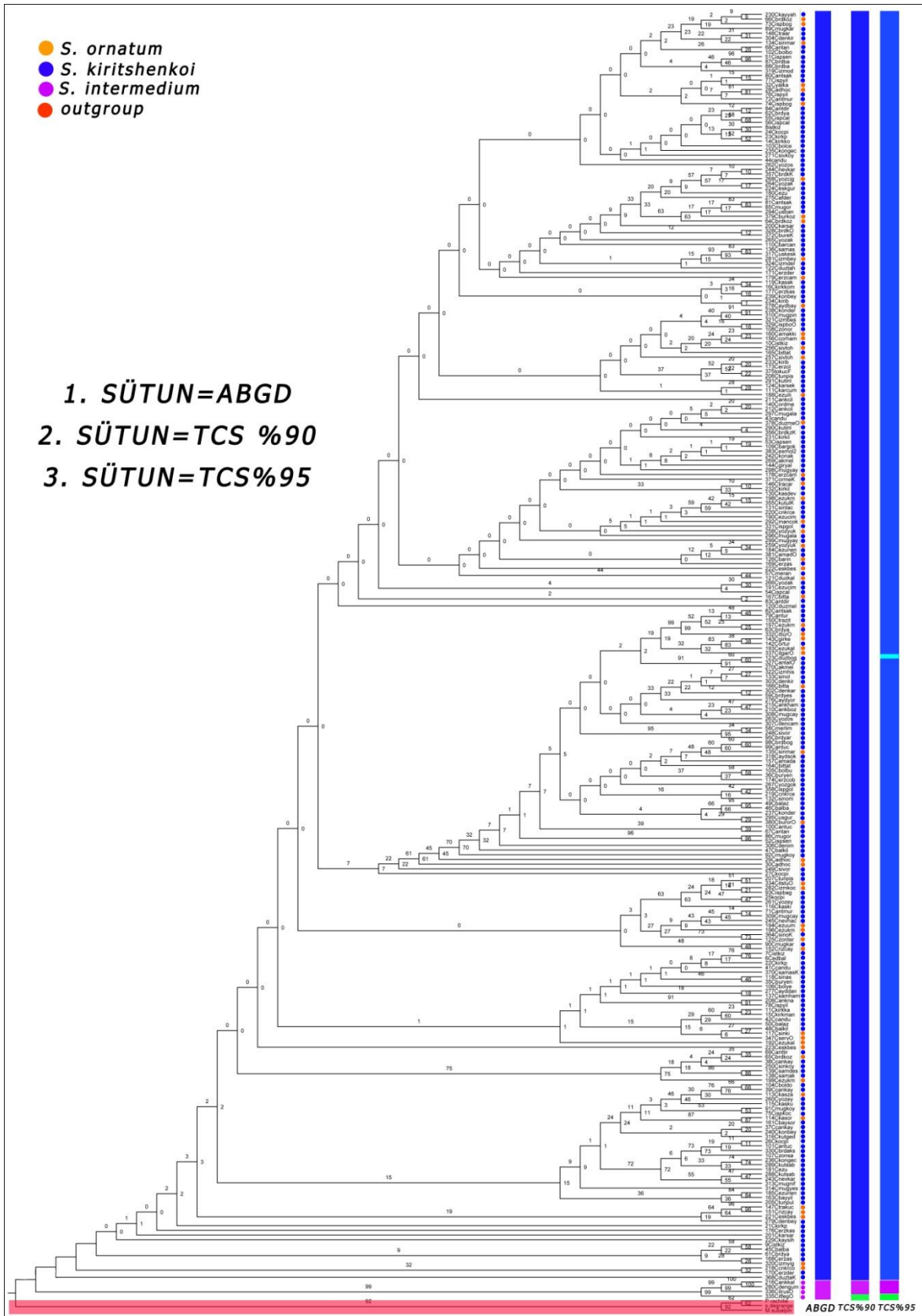
Moleküler saat analizi sonucunda; *S. ornatum* tür grubunun dış grupla 5,093 (HPD 3,5509-6,6894) myö ortak ataya sahip oldukları tespit edilmiştir. İç gruptaki *S. intermedium* ve *S. ornatum*+*S.kiritshenkoi* kompleksinin ise yaklaşık 3,05 (HPD 2,0657-4,1056) myö ortak ataya sahip oldukları belirlenmiştir. BEAST kronogramına göre *S. kiritshenkoi*+*S. ornatum* kompleksi 2,0656 (HPD 1,4424-2,5775) myö kendi içinde iki ayrı alt grup olarak ayrılmışlardır. Bu sonuç haplotip ağı analizlerinde O1 ve O2 olarak gösterilen alt gruplarla uyumludur (Şekil 4. 29).



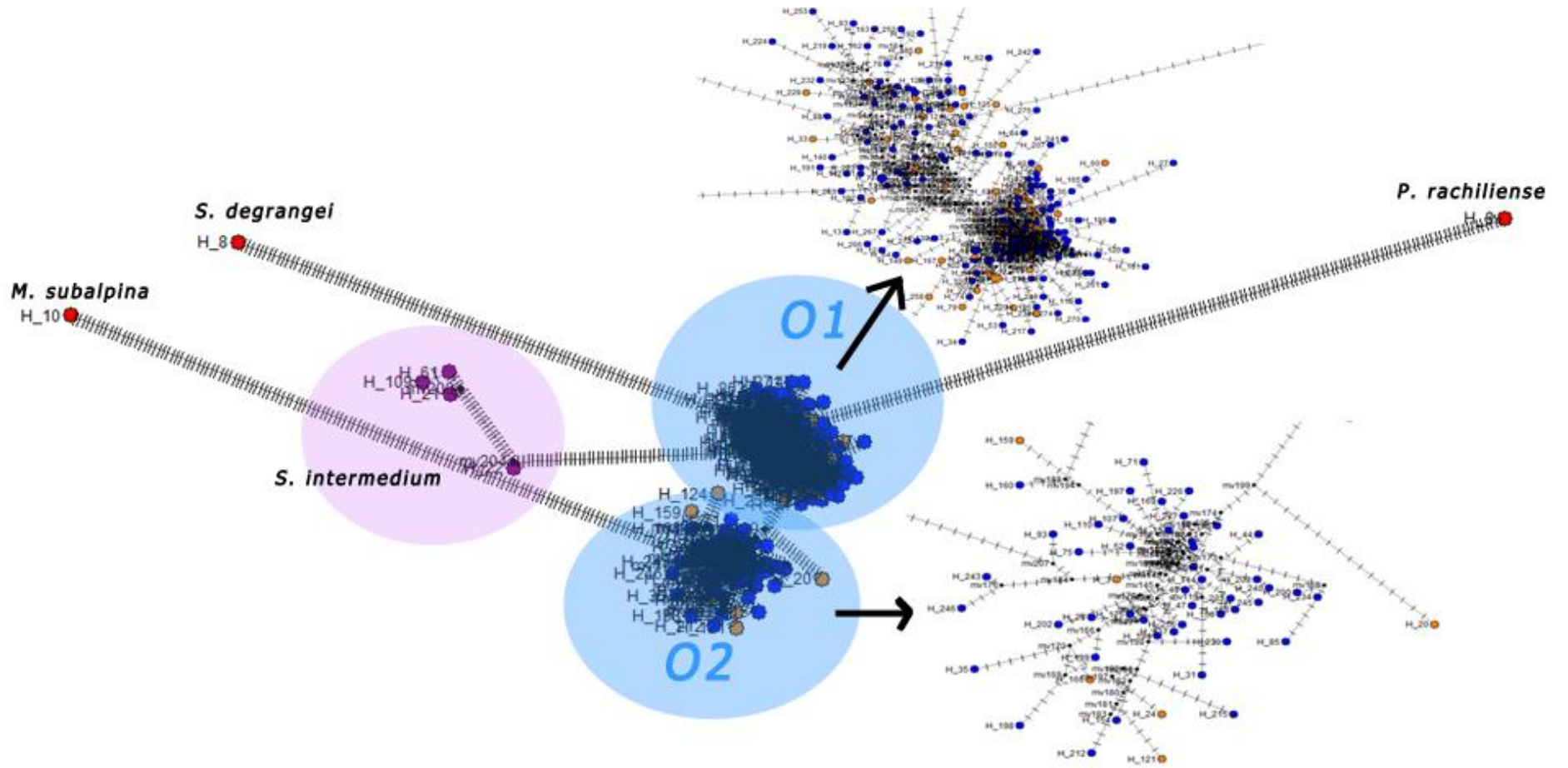
Şekil 4. 23. *S. ornatum* tür grubunun COI geni 277 haplotip veri seti ile oluşturulan MO ağacı. (SVDquartets, ve BI analizi değerleri ağaç üzerinde verilmiştir)



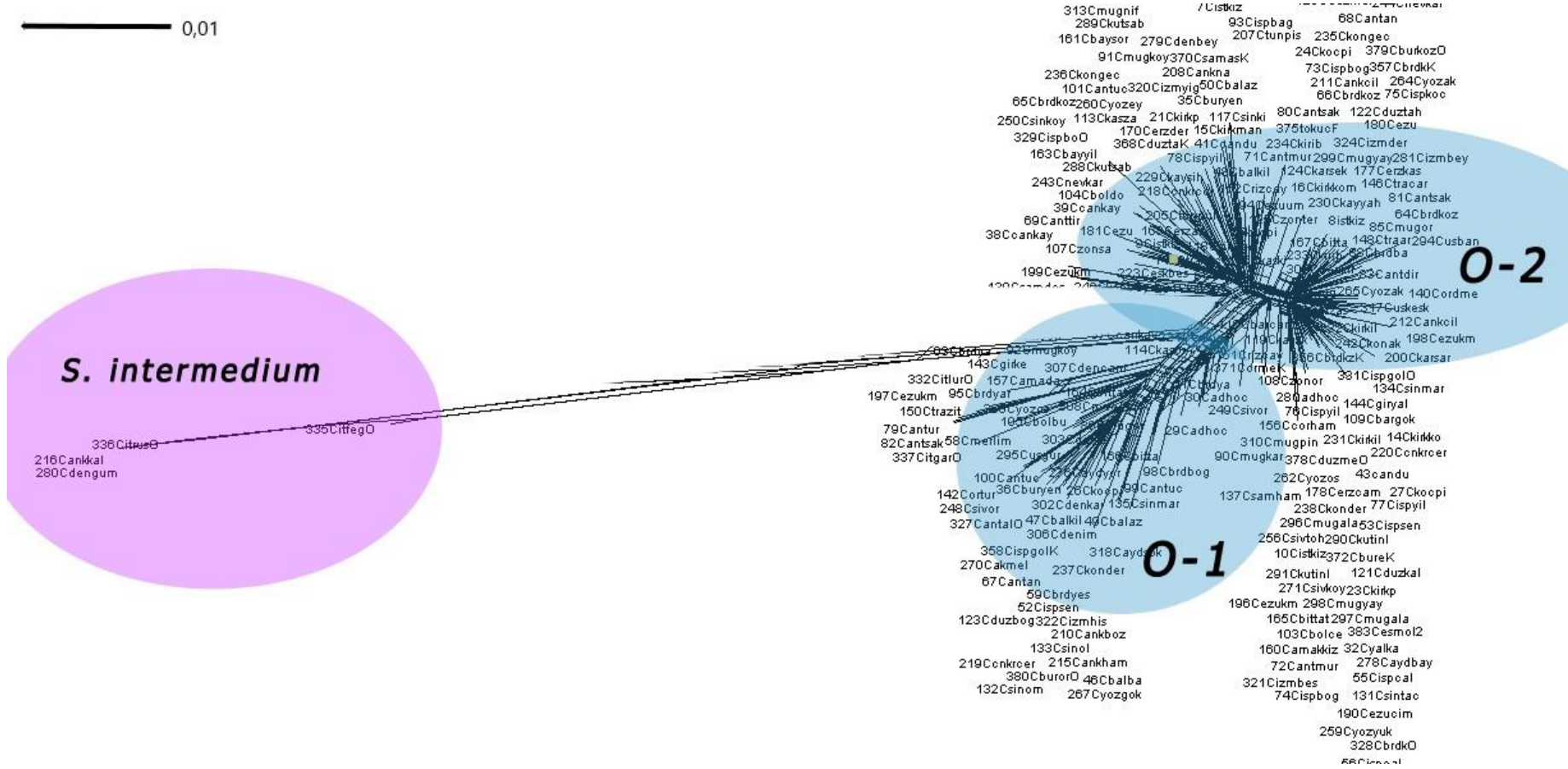
Şekil 4. 24. *S. ortanum* tür grubu COI gen bölgesi 277 haplotip ayrıntılı görünümü.



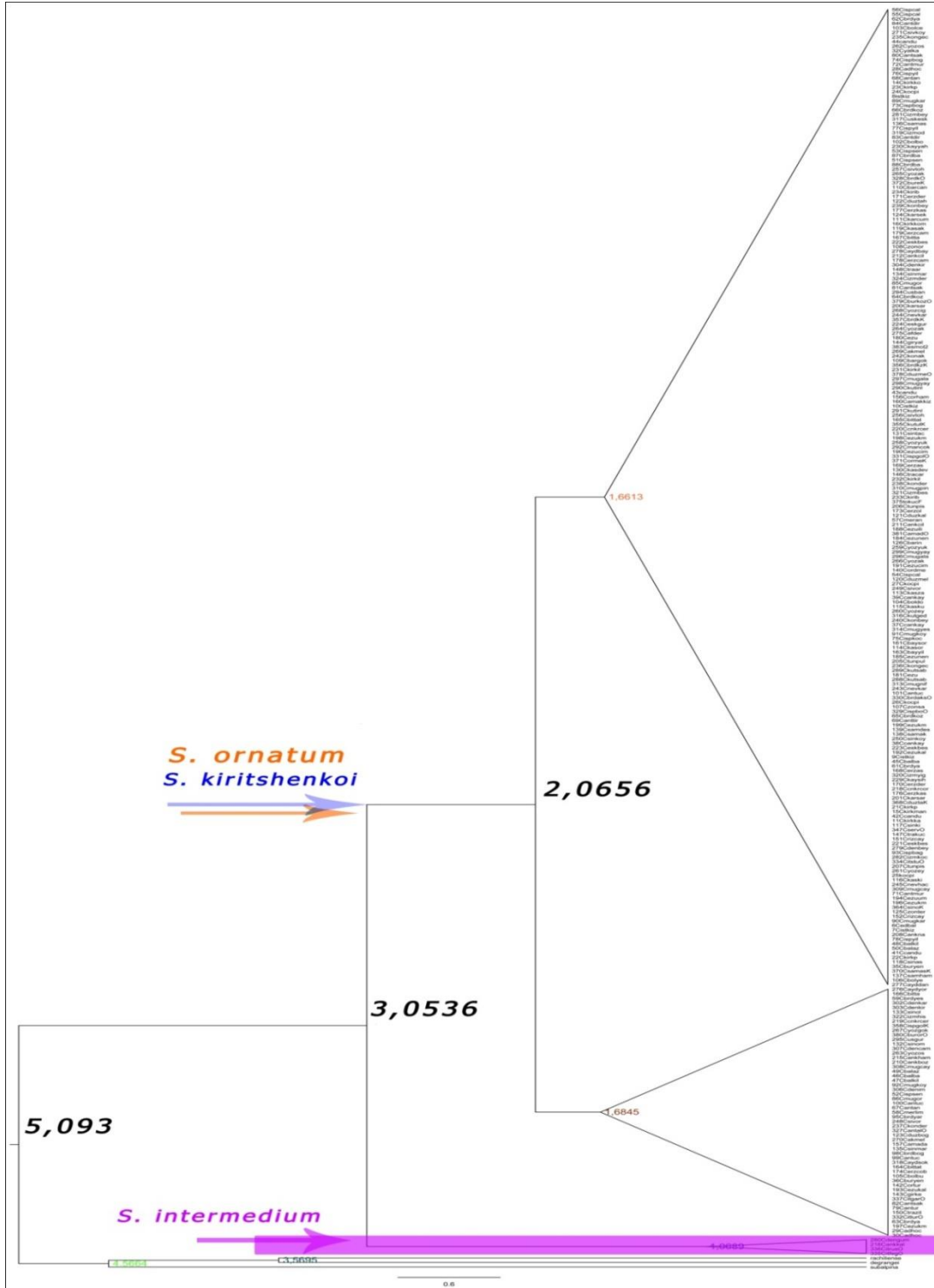
Şekil 4. 25. Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (COI-277 haplotip veri seti)



Şekil 4. 26. COI 277 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı)



Şekil 4. 27. COI 277 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı)



Şekil 4. 28. *Simulium ornatum* tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (COI-277 haplotip).

4.3.3. *S. ornatum* tür grubu NADH₂ gen bölgesi filogenetik bulguları

COI gen bölgesinde olduğu gibi NADH₂ gen bölgesinde de tüm bireylerde pozitif PZR sonucu alınamamıştır. Çalışmaya dâhil edilen tüm bireyler (384) arasından 292 örnekten başarılı bir şekilde NADH₂ gen bölgesinin dizileri elde edilmiştir.

Macrogen firması tarafından gönderilen .ab1 uzantılı dosyaların ikili hizalanmaları Sequencer v4.1.4 programında gerçekleştirilmiştir. Hizalanma sonrasında tüm dosyaların doğru gen bölgesine ait olduğu nükleotid BLAST programı ile kontrol edilmiştir. Dizilerin veri bloğu halinde düzenlenmeden önce 960-1120 bp arasında değiştiği görülmektedir. Diziler MEGA programı ile bir blok olarak hizalanmış, bütünlüğü bozan ve veri setine göre kısa kalan diziler çıkarılmıştır. Sonuçta 266 sekans ve 903 baz çifti uzunluğunda veri seti elde edilmiştir. Dosya, MEGA, DnaSP, Mesquite ve DAMBE programlarıyla filogenetik analizlerde kullanılmak üzere farklı formatlara çevrilmiştir.

İç gruba ait, toplamda 903 baz çifti uzunluğunda 232 farklı haplotip elde edilmiştir. Nükleotitlerin 516'sinin korunmuş, 387'sinin varyasyonel ve 246'sinin ise parsimonik bakımdan bilgi verici olduğu tespit edilmiştir.

Veri matrisi ile SVDquartets, MO ve BI analizleri gerçekleştirilmiştir. Veri setine uygulanan ilk analiz SVDquartets analizidir. 100 tekrarlı bootstrap döngüde çalıştırılan analizde toplamda 100000 rastgele örneklem yapılmış bunun % 82.839 uyumlu, % 17.161 ise uyumsuz sonuç vermiştir. Analiz sonucunda iç grupta düşük dal destek değerli bir ağaç elde edilmiştir. *S. ornatum sp.* ait 2 haplotip ilk haplogrup olarak önerilmiştir (% 25). Ağaçta *S. intermedium* türüne ait haplotipler ikinci haplogrup olarak şekillenmiştir (% 24), 3. haplogrup (% 23) *S. ornatum* +*S. kiritshenkoi* türlerinin haplotiplerini içermektedir. Analiz sonucunda veri setindeki tüm haplotiplerin politomik bir ağaç oluşturduğu ve tek bir türü işaret ettiği görülmektedir.

MO ve BI analizleri yapılmadan önce dizilere en uygun baz değişim modeli JModeltest programı kullanılarak saptanmıştır. Akaike Information Criterion (AIC)'ye göre en uygun model GTR+I+G (-lnL= 6993.3108) olarak belirlenmiştir. Baz frekansları; freqA = 0.3409, freqC = 0.1516, freqG = 0.0749, freqT = 0.4326 olarak belirlenmiştir.

Substitüsyon modelinin önerdiği baz değişim oranları $R(a) [AC] = 0.4866$, $R(b) [AG] = 16.5568$, $R(c) [AT] = 0.1506$, $R(d) [CG] = 0.8439$, $R(e) [CT] = 4.3978$, $R(f) [GT] = 1.0000$ değişken bölgelerin oranı $(G)=0.6490$, değişmeyen bölgelerin oranı ise $(I)=0.4570$ olarak hesaplanmıştır. Önerilen parametreler ve model doğrultusunda raxmlGUI1.5b2 programı kullanılarak MO analizi gerçekleştirilmiştir.

MO analizi sonucunda haplotipler arası ilişkinin iyi çözülemediği görülmektedir. *S. ornatum sp.* ait 2 haplotip ilk haplogrup olarak önerilmiştir (% 98). Ağaçta *S. intermedium* türüne ait haplotipler % 46 gibi düşük dal destek değeri ile *S. ornatum +S. kiritshenkoi* türlerinin haplotiplerinin oluşturduğu kardeş haplogruptan ayrılmaktadır. Fakat *S. intermedium* haplogrubuna verilen iç dal değeri (% 97) dir. *S. ornatum +S. kiritshenkoi* haplogrubunun iç dal değeri ise % 87 dir. MO analizi sonucunda oluşan ağacın trikotomi ile sonuçlandığını söylemek yanlış olmayacaktır. Bu üçlü haplogrupların ilk dalını *S. ornatum sp.* (% 98), ikinci dalını *S. intermedium* (% 97) ve üçüncü dalını *S. ornatum +S. kiritshenkoi* (% 87) oluşturmaktadır.

Veri setine aynı parametre ve model ile uygulanan BI ağacı % 50 çoğunluk uyum ağacı posterior olasılık değerleriyle birlikte verilmiştir. BI ağacı şekilde görüleceği üzere SVDquartets ağacının aksine 3 ana haplogruba da oldukça yüksek son olasılık değeri ile destek vermektedir. İç grupta *S. ornatum sp.* ait 2 haplotip (1) son olasılık değeriyle dış gruptan ayrılmaktadır. *S. intermedium* haplotiplerinin şekillendiği dal (0,92) son olasılık değeri ile *S. ornatum+S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu haplogruptan ayrılmaktadır. *S. ornatum+S. kiritshenkoi* grubu politomik bir haplogrup oluşturmuştur fakat iç dalın son olasılık değeri (1) olarak verilmiştir.

Analiz sonucu elde edilen rakamsal değerlerinin hepsi tek bir filogenetik ağaç üzerinde gösterilmiştir. A harfi ile dış grup ve iç grup ayrımı dal destek değeri verilirken B ve C harfleri ile de iç grubun dal destek değeri verilmiştir. Rakamlar sırasıyla SVDquartets, MO ve BI analizlerinin sonucunda elde edilen değerleri temsil etmektedir (Şekil 4.30-Şekil 4.31). NADH₂ gen belirteci ile yapılan filogenetik analizler sonucunda SVDquartets analizi haricinde MO ve BI analizlerinin *S. intermedium*, *S. ornatum sp.* ve *S. ornatum+S. kiritshenkoi* haplogruplarını tür olarak desteklediği görülmektedir.

Veri seti üzerine uygulanan tür sınırları belirleme testi sonuçlarına göre; ABGD iç grupta 3 farklı tür önermiştir. Bunlar *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubu, *S. intermedium* türü haplotipleri ile oluşan haplogrup ve *S. ornatum comp.*'e ait 2 haplotiptir. TCS (% 95) iç grupta 5 farklı tür önermektedir. Bunlardan ilki *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubudur, 2. önerilen tür *S. intermedium* türü haplotipleri arasından İtalya-Imera'dan elde edilen 342NitimeO kodlu bireydir 3. tür kalan *S. intermedium* türü haplotipleridir. Analizde 4. ve 5. türler *S. ornatum sp.*'e ait 2 haplotipin 2 farklı tür olarak analiz edilmesiyle elde edilmiştir. TCS (% 90) iç grupta 4 tür önermektedir. TCS (% 95) analizi sonuçlarıyla birebir aynı çıkan bu analizdeki tek fark *S. ornatum sp.*'e ait 2 haplotipin tek tür olarak önerilmesidir (Şekil 4.32).

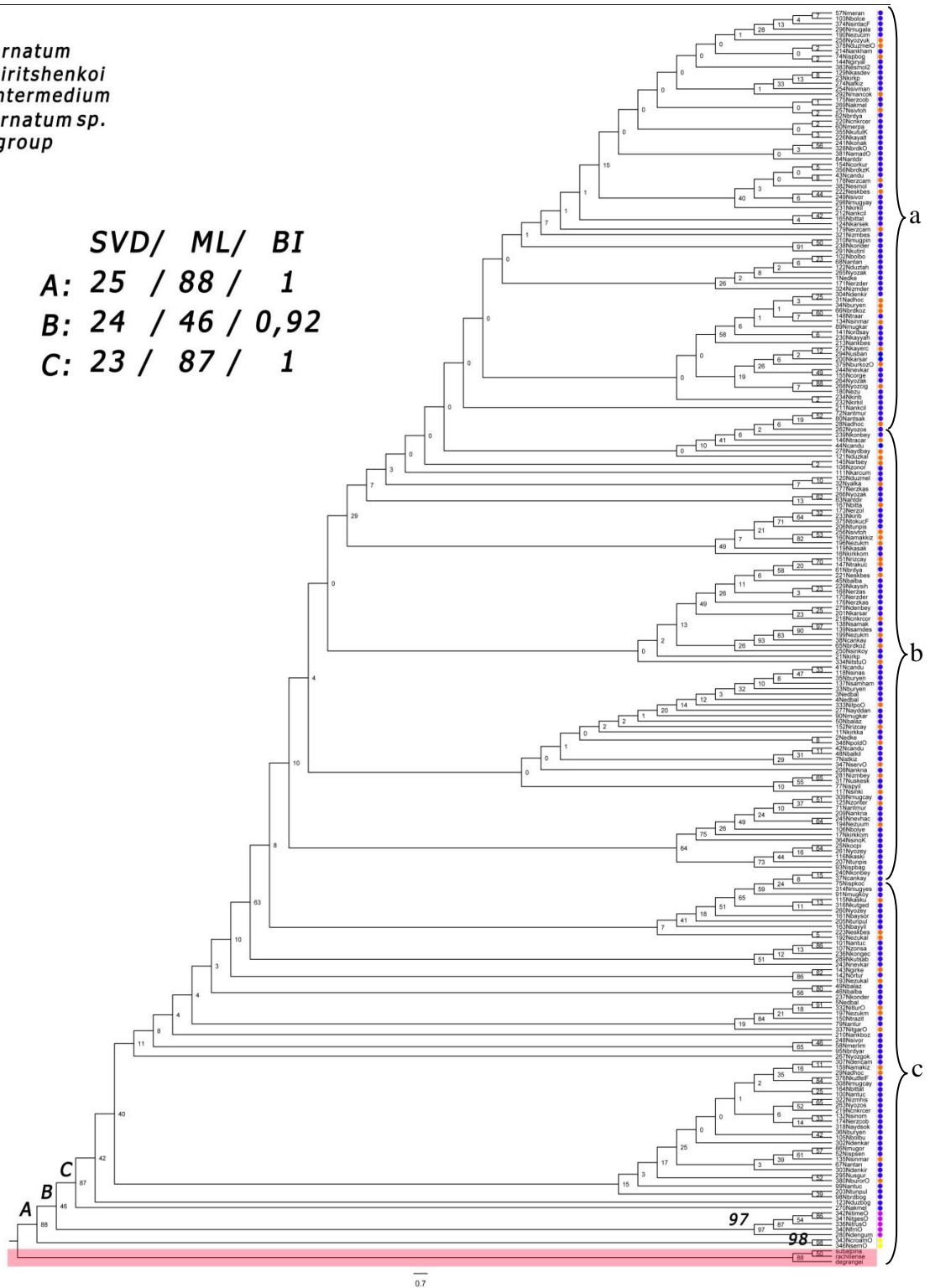
Network analizi sonuçlarına göre; orta kısımda siyah renkle gösterilen haplotipler, çalışmadaki veri setinde bulunmayan fakat mevcut haplotip bağlantıları arasında bulunması gereken (Hipotetik) haplotipleri göstermektedir. Analiz sonucunda *S. intermedium* türü haplotiplerinin kendi içinde gruplandığı diğer gruplarla haplotip paylaşımı yapmadığı ve belirgin biçimde ayrıldığı görülmektedir. Aynı şekilde *S. ornatum sp.*'e ait türler de belirgin biçimde ayrılmıştır. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu haplogrup COI gen bölgesinde olduğu kadar belirgin olmamasına rağmen kendi içinde 2 küçük haplogruba ayrılmıştır (O1-O2 olarak isimlendirilmiştir) (Şekil 4.33).

Network analizini desteklemek amacıyla uygulanan SplitsTree analizinde de benzer sonuç elde edilmiştir. *S. ornatum sp.*'e ait haplotiplerin ve *S. intermedium* haplotiplerinin oldukça uzak iki ayrı dal oluşturduğu, *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi* haplogrubunun Network analizinde olduğu gibi kendi içinde ikiye ayrılan büyük bir grup olarak şekillendiği görülmektedir (Şekil 4.34).

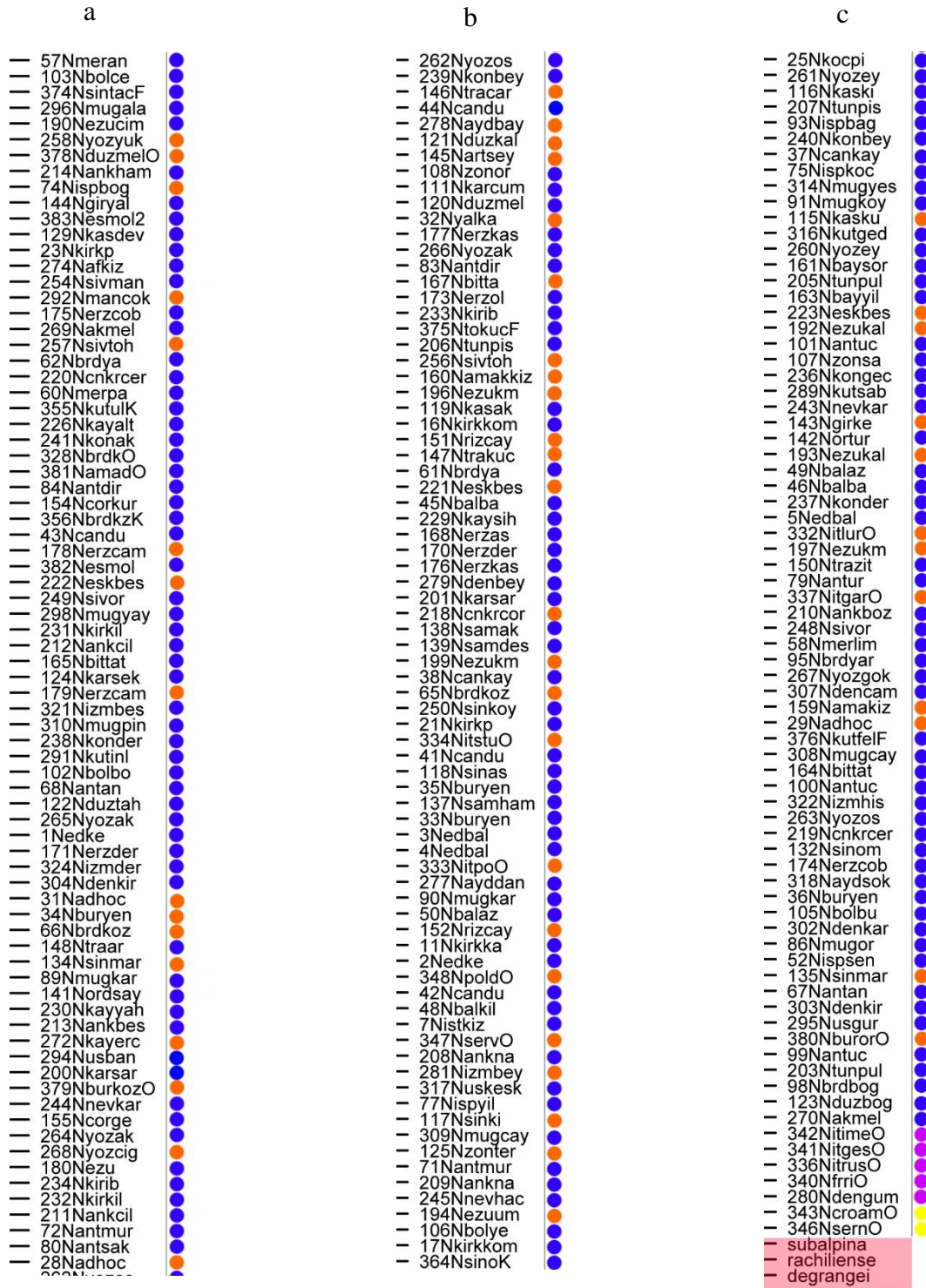
Moleküler saat analizi sonucunda; *S. ornatum* tür grubunun dış grupla 4,963 (HPD 1,2128-2,3298) myö ortak ataya sahip oldukları tespit edilmiştir. İç gruptaki *S. ornatum sp.* türüne ait haplotiplerin tür grubunun diğer haplotipleriyle 3,7321 (HPD 1,2126-2.3287) myö ortak ataya sahip olduğu belirlenmiştir. *S. intermedium* ve *S.ornatum*+*S.kiritshenkoi* kompleksinin ise yaklaşık 3,44 (HPD 1,4263-2.6345) myö ortak ataya sahip oldukları belirlenmiştir. BEAST kronogramına göre *S.kiritshenkoi*+*S.ornatum* kompleksi 2.20 (HPD 0,9003-1,6533) myö kendi içinde iki ayrı alt grup olarak ayrılmışlardır (Şekil 4.35).

- *S. ornatum*
- *S. kiritshenkoi*
- *S. intermedium*
- *S. ornatum* sp.
- Outgroup

SVD/ ML/ BI
 A: 25 / 88 / 1
 B: 24 / 46 / 0,92
 C: 23 / 87 / 1



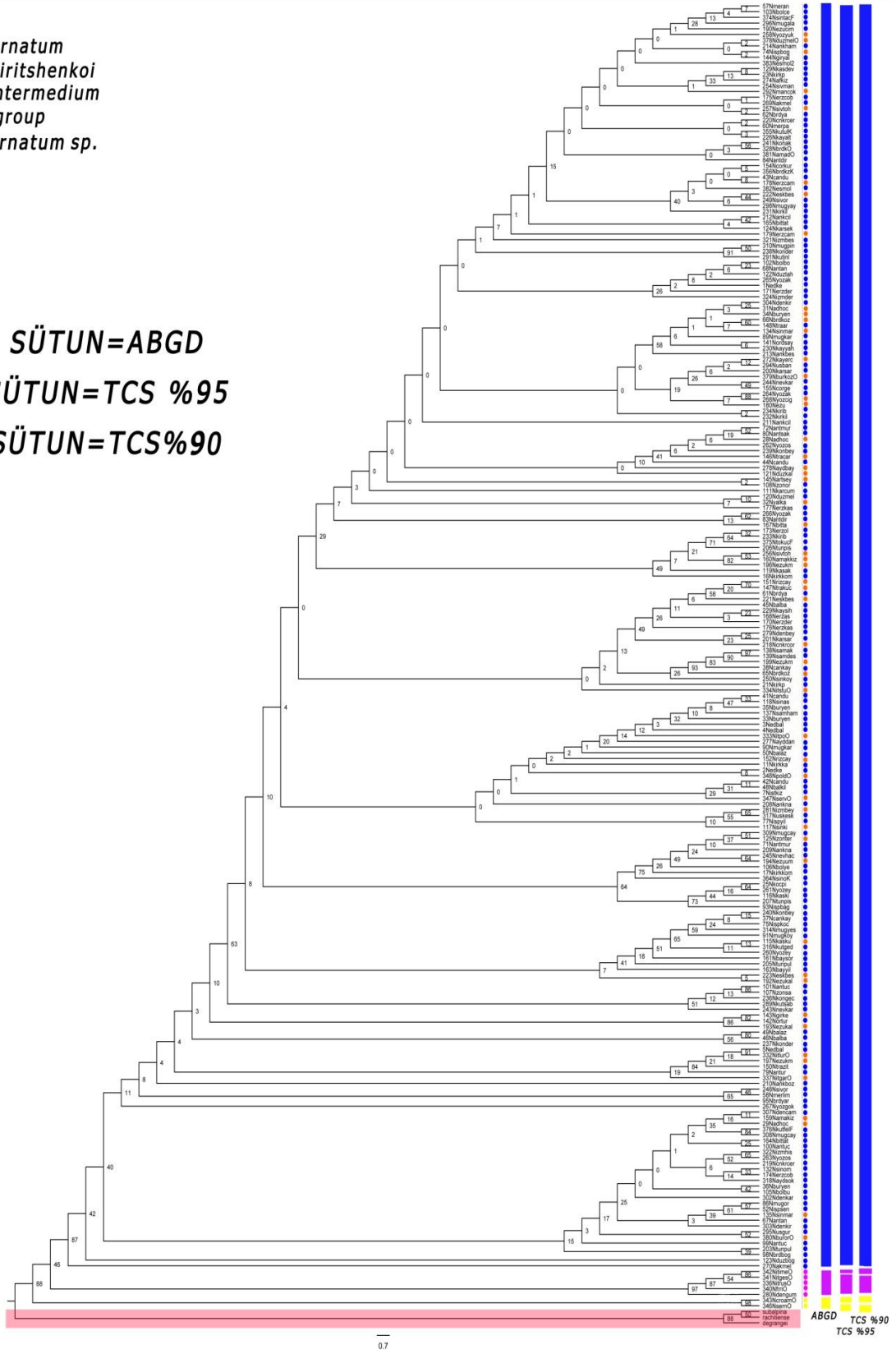
Şekil 4. 29. *S. ornatum* tür grubunun NADH₂ geni ile MO analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaç (SVDquartets ve BI analiz sonuçları eklenmiştir).



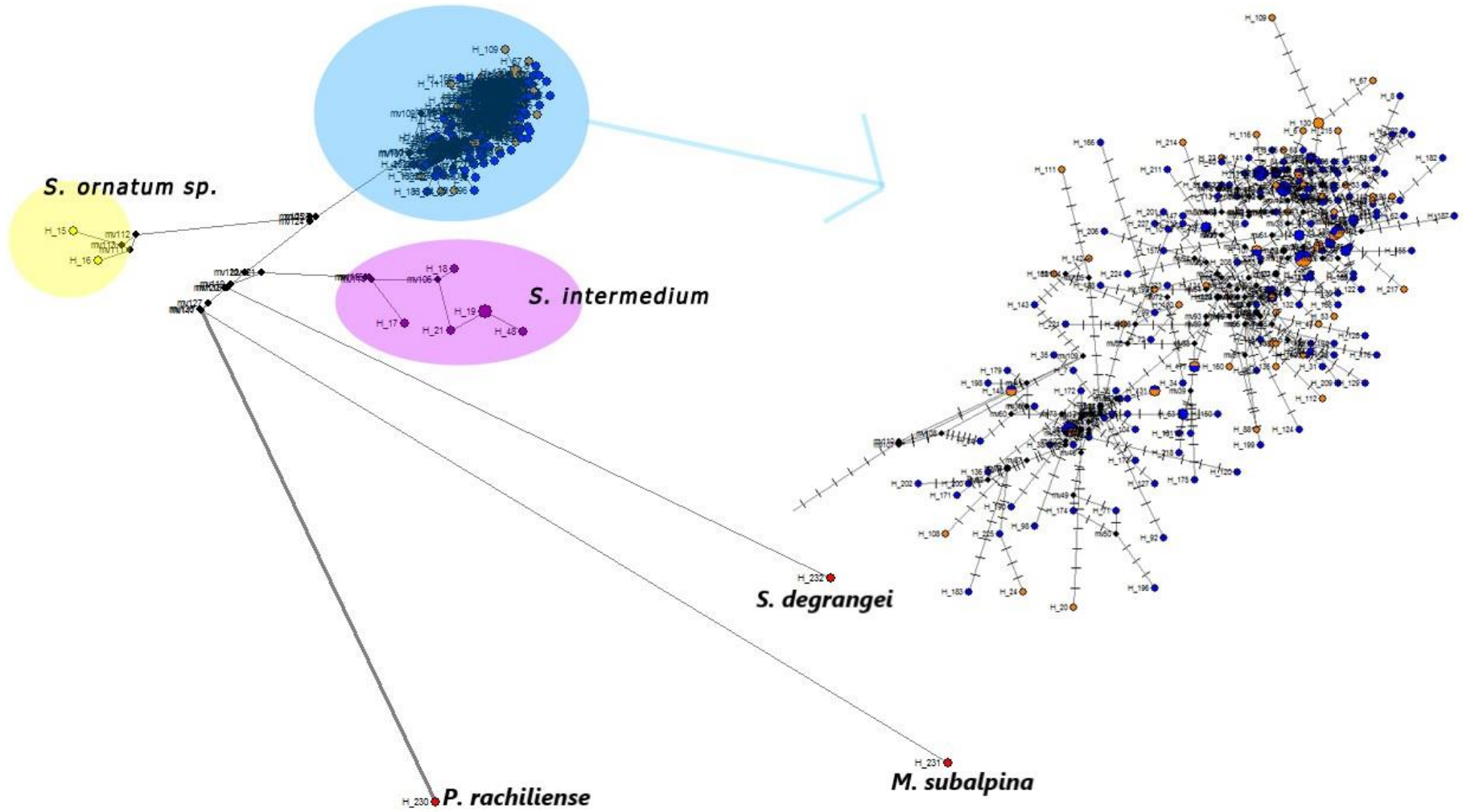
Şekil 4. 30. *S. ortanum* tür grubu NADH₂ gen bölgesi 232 haplotip ayrıntılı görünümü.

- *S. ornatum*
- *S. kiritshenkoi*
- *S. intermedium*
- outgroup
- *S. ornatum* sp.

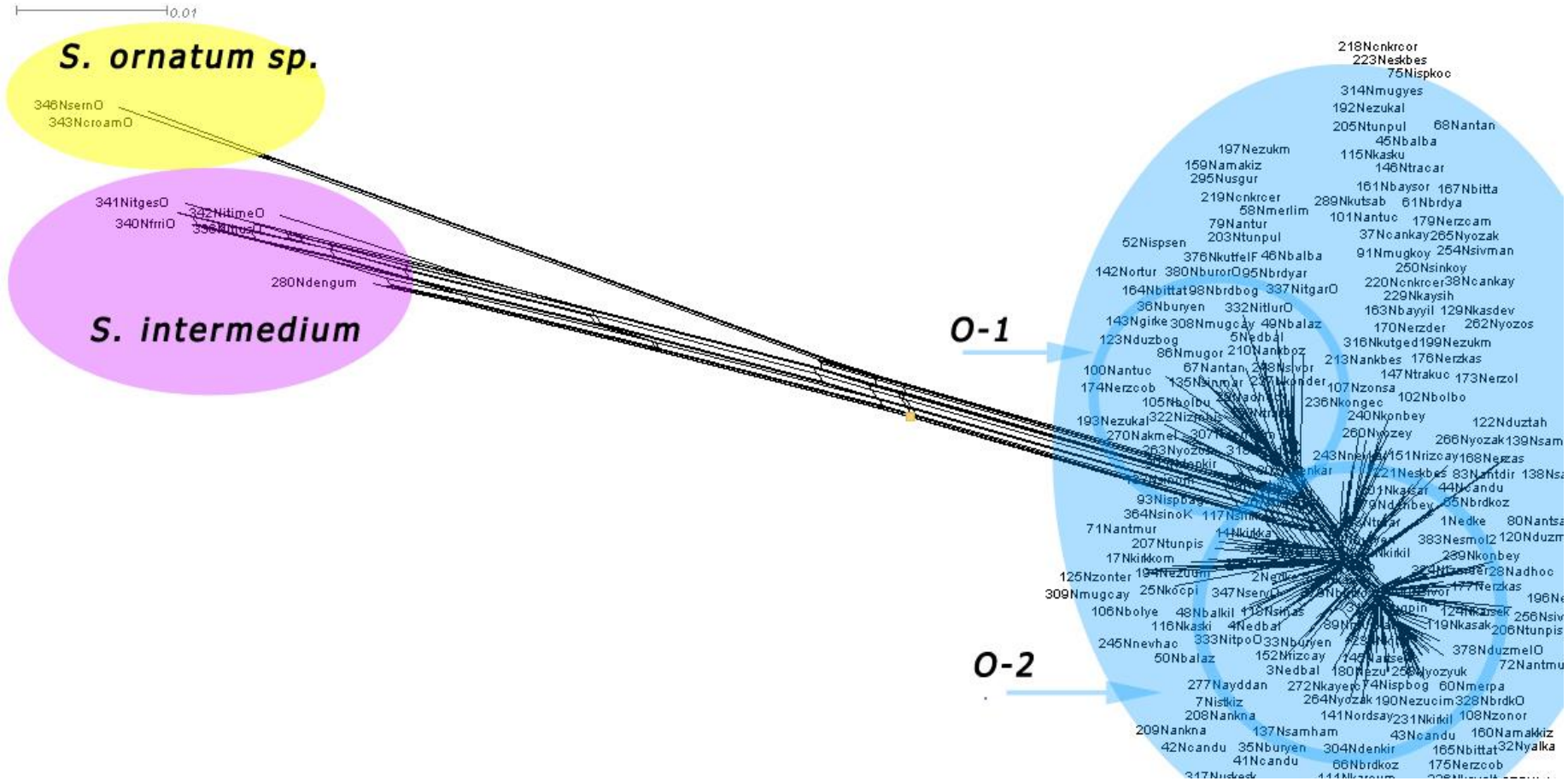
1. SÜTUN=ABGD
2. SÜTUN=TCS %95
3. SÜTUN=TCS%90



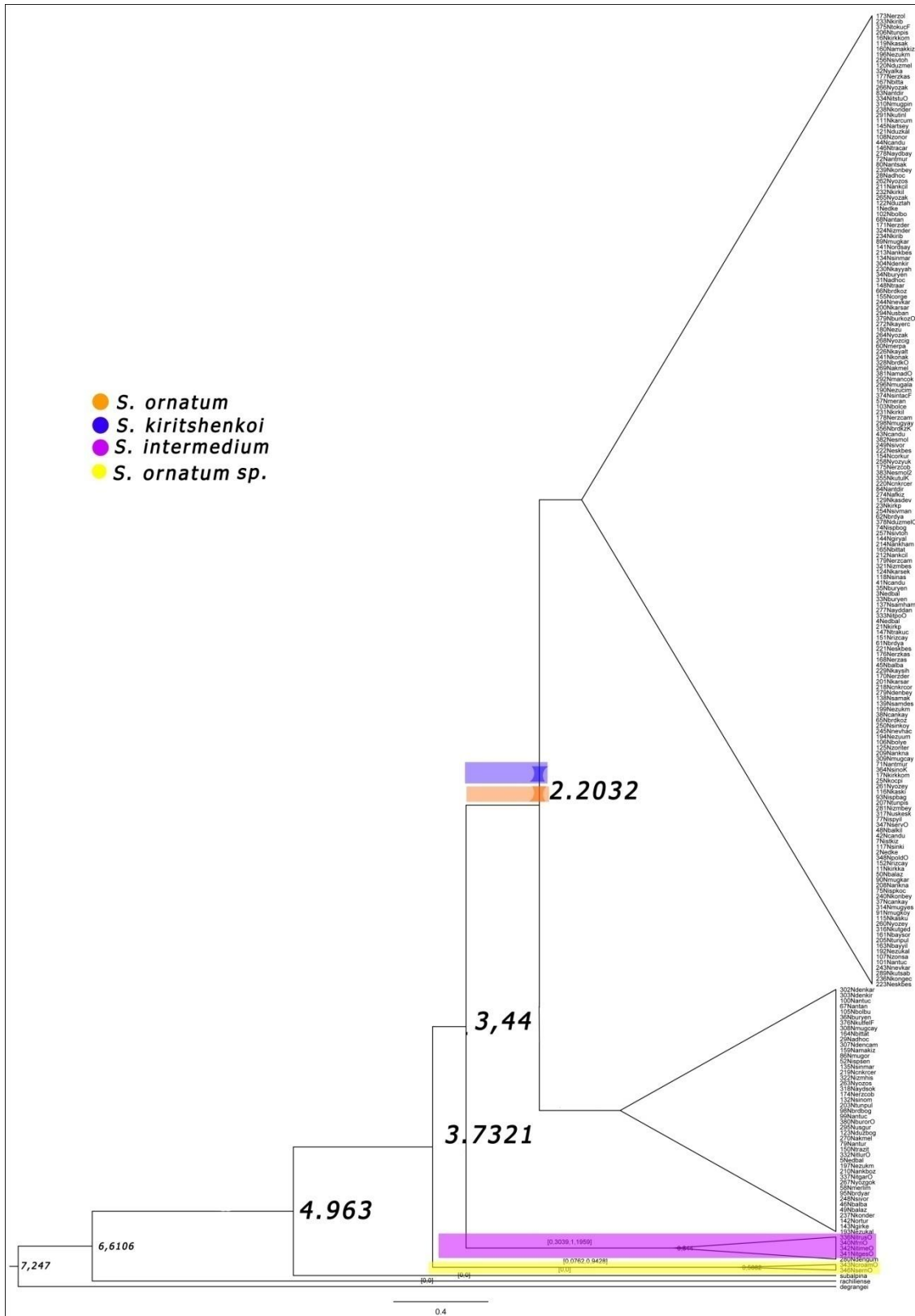
Şekil 4. 31. Tür sınırları belirleme testleri sonucunun MO ağacı üzerinde gösterimi (NADH₂-232 haplotip)



Şekil 4. 32. NADH₂ 232 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (Network programı)



Şekil 4. 33. NADH₂ 232 haplotipli veri seti ile oluşturulan haplotip ağı analizi (SplitsTree programı)



Pliyosen		Pleistosen		
Zanclean	Piacenzian	Gelasian	Calabrian	Middle Upper
5.33-3.60	3.60-2.58	2.58-1.80	1.80-0.773	0.773-0.0117

Şekil 4. 34. *Simulium ornatum* tür grubu haplotiplerinin BEAST kronogramı ve jeolojik devirler cetveli (NADH₂-232 haplotip).

4.3.4. *S. ornatum* tür grubu ITS 1-2 bölgesi filogenetik bulguları

Çalışmaya dâhil edilen tüm bireyler arasından 322 örnekten başarılı bir şekilde ITS1-2 bölgesinin dizileri elde edilmiştir.

Macrogen firması tarafından gönderilen .ab1 uzantılı dosyaların ikili hizalanmaları Sequencer v4.1.4 programında gerçekleştirilmiştir. Hizalanma sonrasında tüm dosyaların doğru bölgeye ait olup olmadığı nükleotid BLAST programı ile kontrol edilmiştir. Dizilerin veri bloğu halinde düzenlenmeden önce 603-730 bç arasında değiştiği görülmektedir. Diziler MEGA programı ile bir blok olarak hizalanmış, bütünlüğü bozan ve veri setine göre kısa kalan diziler çıkarılmıştır. Sonuçta 302 dizi ve 598 baz çifti uzunluğunda veri seti elde edilmiştir. Dosya, MEGA, DnaSP, Mesquite ve DAMBE programlarıyla filogenetik analizlerde kullanılmak üzere farklı formatlara çevrilmiştir.

İç gruba ait, toplamda 598 baz çifti uzunluğunda 168 farklı allel elde edilmiştir. Nükleotitlerin 372'sinin korunmuş, 198'inin varyasyonel ve 71'inin ise parsimonik bilgi verici olduğu tespit edilmiştir. Veri setine ait haplotip listesi Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4. 9. ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Haplotip no	Haplotip frekansı	Haplotipi paylaşan birey kodları	Haplotipi oluşturan türler
Hap_1	1	362IdenovK	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_2	5	334IitstuO	<i>S. ornatum</i>
		50IbalazK	<i>S. kiritshenkoi</i>
		49IbalazK	<i>S. kiritshenkoi</i>
		143Igirke-1	<i>S. ornatum</i>
		143IgirkeO	<i>S. ornatum</i>
Hap_3	1	144Igiryal-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_4	1	144Igiryal-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_5	1	143Igirke-2	<i>S. ornatum</i>
Hap_6	1	332IitlurO	<i>S. ornatum</i>
Hap_7	3	91Imugkoy	<i>S. kiritshenkoi</i>
		302Idenkar	<i>S. kiritshenkoi</i>
		299Imugyay	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_8	3	303Idenkir-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
		318Iaydsok	<i>S. kiritshenkoi</i>
		5Iedbal	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_9	1	303Idenkir-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_10	1	6Iedbal	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_11	1	147Itrakuc	<i>S. ornatum</i>

Çizelge 4.9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_12	11	361Iantyp 290Ikutinl 297Imugala 167Ibitta-2 92Imugkoy-2 162Ibaysor 259Iyozyuk 360Iantal 266Iyozak 310Imugpin 103Ibolce	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_13	6	265Iyozak 264Iyozak 263Iyozos 262Iyozos 168Ierzas 167Ibitta-1	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_14	1	233Ikirib	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_15	2	354Ikutav 248Isivor	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_16	2	331Iispgol 349Ikutsok	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_17	1	1Iedke	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_18	9	93Iispbag 164Ibittat-1 73Iispbog 72Iantmur-1 107Izonsa 159Iamakiz 267Iyozgok 289Ikutsab 254Isivman	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_19	37	328Ibrdk 22Ikirkp-1 21Ikirkp 85Imugor 309Imugcay 151Irizcay 330IbrdaksO 329IispboO 96Ibrdyar 77Iispyil 9Iistkiz 272Ikayerc 231Ikirkil-1 229Ikaysih 223Ieskbes 220Icnkrceer 169Ierzas 67Iantan-1 161Ibaysor-2 250Isinkoy 317Iuskesk-2 66Ibrdkoz-2 65Ibrdkoz 325IkutalO 258Iyozyuk	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>

Çizelge 4. 9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_19	37	66Ibrdkoz-1 317Iuskesk 78Iispyil 55Iispcal 206Itunpis-2 206Itunpis 200Ikarsar 298Imugyay 327Iantal 288Ikutsab 359Iispyu 102Ibolbo	<i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_20	12	72Iantmur-2 23Ikirkp-1 22Ikirkp-2 350Ikutka 140Iordme 139Isamdes 71Iantmur 156Icorham 205Itunpul 164Ibittat-2 137Isamham 136Isamas	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_21	1	157Iamada	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_22	1	160Iamakiz	<i>S. ornatum</i>
Hap_23	1	86Imugor-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_24	1	86Imugor-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_25	1	23Ikirkp-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_26	1	106Ibolye	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_27	8	95Ibrdya-2 231Ikirkil-2 56Iispcal 129Ikasdev 260Iyozey 190Iezucim 261Iyozey 222Ieskbes	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_28	1	10Iistkiz-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_29	1	232Ikirkil	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_30	1	8Iistkiz-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_31	2	174Ierzcob 171Ierzder	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_32	2	322Iizmhiss-2 322Iizmhiss-1	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_33	1	7Iistkiz-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_34	1	170Ierzder	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_35	1	10Iistkiz-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_36	1	16Ikirkkom-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_37	3	268Iyozcig-3 268Iyozcig-2 268Iyozcig	<i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_38	1	194Iezuuum	<i>S. ornatum</i>
Hap_39	1	193Iezukal	<i>S. ornatum</i>
Hap_40	1	192Iezukal	<i>S. ornatum</i>
Hap_41	1	8Iistkiz-2	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_42	2	188Iezuili 141Iordsay	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_43	3	131Isintac 126Ibarin 114Ikasor	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_44	1	142Iortur	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_45	1	346Isern	<i>S. ornatum</i>
Hap_46	1	150Itrazit	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_47	14	352Ikutaiz 343IcroamO-2 42Icandu 41Icandu 40Icankay 39Icankay 36Iburyen 35Iburyen 74Iispbog 135Isinmar 108Izonor 278Iaydbay 307Idencam 347IservO	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_48	2	37Icankay 118Isinas	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_49	1	125Izonter	<i>S. ornatum</i>
Hap_50	1	117Isinki	<i>S. ornatum</i>
Hap_51	2	32Iyalka 31Iadhoc	<i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_52	1	58Imerlim-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_53	1	58Imerlim-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_54	2	134Isinmar 132Isinom	<i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_55	1	133Isinol	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_56	4	104Iboldo 214Iankham 11Ikirkka-1 54Iispal	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_57	1	138Isamak	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_58	1	46Ibalba-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_59	1	210Iankboz	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_60	2	44Icandu 113Ikasza	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_61	1	47Ibalkil	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_62	3	98Ibrdbog 46Ibalba-1 146Itracar-1	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_63	1	146Itracar-2	<i>S. ornatum</i>
Hap_64	3	344Iserb 213Iankbes 122Iduztah	<i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_65	2	345Iserp 333Iitpo	<i>S. ornatum</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_66	1	257Isivtoh	<i>S. ornatum</i>
Hap_67	1	271Isivkoy-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_68	1	67Iantan-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_69	1	161Ibaysor-1	<i>S. kiritshenkoi</i>

Çizelge 4.9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_70	1	7Iistkiz-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_71	1	69Ianttir	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_72	1	211Iankcil	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_73	1	109Ibargok	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_74	1	92Imugkoy-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_75	1	271Isivkoy	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_76	2	202Itunpul 52Iispsen	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_77	1	269Iakmel-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_78	1	269Iakmel-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_79	1	145Iartsey	<i>S. ornatum</i>
Hap_80	1	11Iirkka-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_81	1	100Iantuc	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_82	1	321Iizmbes	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_83	5	343Icroam 48Ibalkil 99Iantuc 75Iispkoc 38Icankay	<i>S. ornatum</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_84	1	33Iburyen	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_85	1	30Iadhoc	<i>S. ornatum</i>
Hap_86	1	29Iadhoc	<i>S. ornatum</i>
Hap_87	1	62Ibrdya	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_88	2	61Ibrdya 89Imugkar	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_89	1	16Iirkkkom-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_90	1	185Iezunen-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_91	1	176Ierzkas	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_92	1	237Ikonder	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_93	1	236Ikongec	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_94	1	356Ibrdkz	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_95	1	296Imugala	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_96	1	60Imerpa	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_97	1	357Ibrdk	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_98	1	105Ibolbu	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_99	2	235Ikongec 2Iedke	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_100	1	149Itraay	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_101	1	59Ibrdyes	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_102	1	324Iizmder	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_103	1	292Imancok-2	<i>S. ornatum</i>
Hap_104	1	292Imancok-1	<i>S. ornatum</i>
Hap_105	1	57Imeran	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_106	1	337Iitgar	<i>S. ornatum</i>
Hap_107	3	314Imugyes 224Ieskgur 227Ikayerc	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. ornatum</i>
Hap_108	1	84Iantdir	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_109	1	353Ikutal	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_110	2	95Ibrdyar-1 95Ibrdyar	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_111	1	166Ibitta	<i>S. ornatum</i>
Hap_112	1	97Ibrdbog	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_113	1	51Iispsen	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_114	1	14Iirkkko-2	<i>S. kiritshenkoi</i>

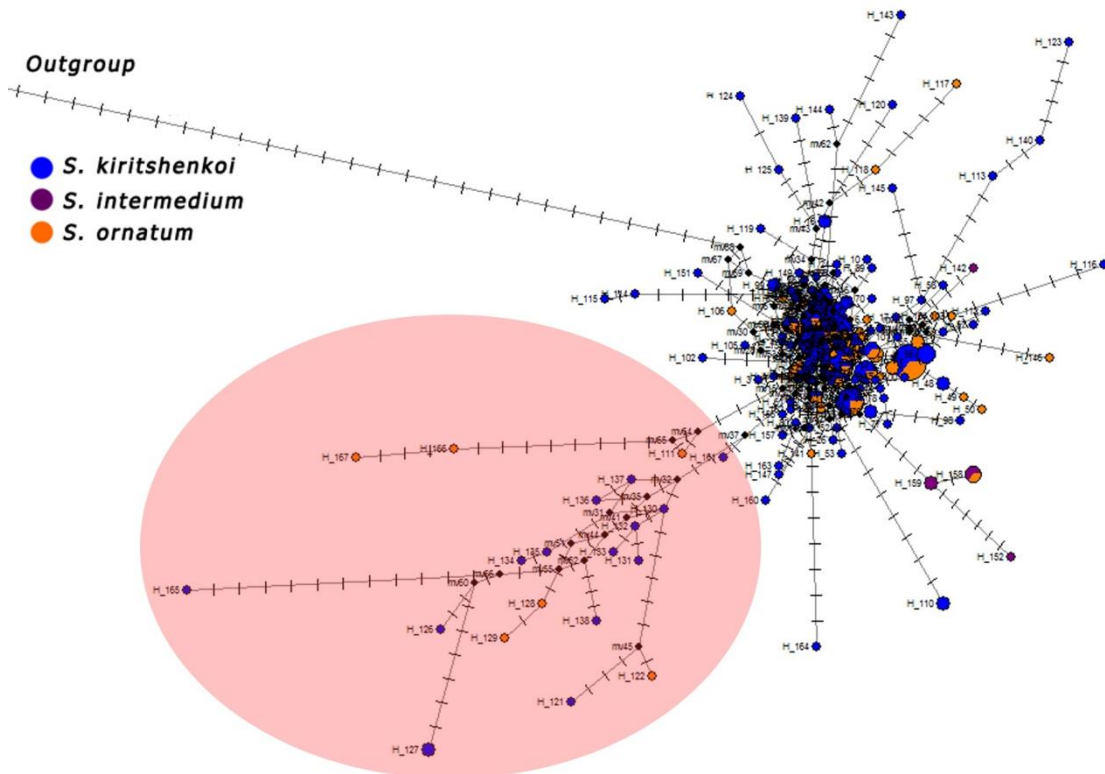
Çizelge 4.9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_115	1	14Ikkirko-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_116	1	3Iedbal	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_117	1	197Iezukm	<i>S. ornatum</i>
Hap_118	1	196Iezukm	<i>S. ornatum</i>
Hap_119	1	208Iankna	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_120	1	308Imugcay	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_121	1	155Icorge	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_122	1	221Ieskbes	<i>S. ornatum</i>
Hap_123	1	291Ikutinl	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_124	1	304Idenkir-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_125	1	1304Idenkir-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_126	1	185Iezunen-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_127	2	181Iezu 180Iezu	<i>S. kiritshenkoi</i> <i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_128	1	179Ierzcam-2	<i>S. ornatum</i>
Hap_129	1	179Ierzcam-1	<i>S. ornatum</i>
Hap_130	1	175Ierzcob	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_131	1	27Ikocpi	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_132	1	26Ikocpi-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_133	1	26Ikocpi-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_134	1	25Ikocpi-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_135	1	25Ikocpi-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_136	1	24Ikocpi-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_137	1	24Ikocpi-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_138	1	207Itunpis	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_139	1	116Ikaski	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_140	1	294Iusban	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_141	1	348IpoloO	<i>S. ornatum</i>
Hap_142	1	342IitimeO	<i>S. intermedium</i>
Hap_143	1	88Ibrdba	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_144	1	87Ibrdba	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_145	1	358Iispgol	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_146	1	64Ibrdkoz	<i>S. ornatum</i>
Hap_147	1	90Imugkar	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_148	1	79Iantur	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_149	1	101Iantuc	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_150	1	53Iispsen	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_151	1	286Ikutsob	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_152	1	282Iizmkoc	<i>S. intermedium</i>
Hap_153	1	243Inevkar	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_154	1	76Iispyil-2	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_155	1	76Iispyil-1	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_156	1	239Ikonbey	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_157	1	277Iayddan	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_158	3	340Ifri 339Iitame 335Iitfeg	<i>S. intermedium</i> <i>S. ornatum</i> <i>S. intermedium</i>
Hap_159	2	216Iankkal 280Idengum	<i>S. intermedium</i> <i>S. intermedium</i>
Hap_160	1	80Iantsak	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_161	1	81Iantsak	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_162	1	120Iduzmel	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_163	1	119Ikasak	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_164	1	238Ikonder	<i>S. kiritshenkoi</i>
Hap_165	1	203Itunpul	<i>S. kiritshenkoi</i>

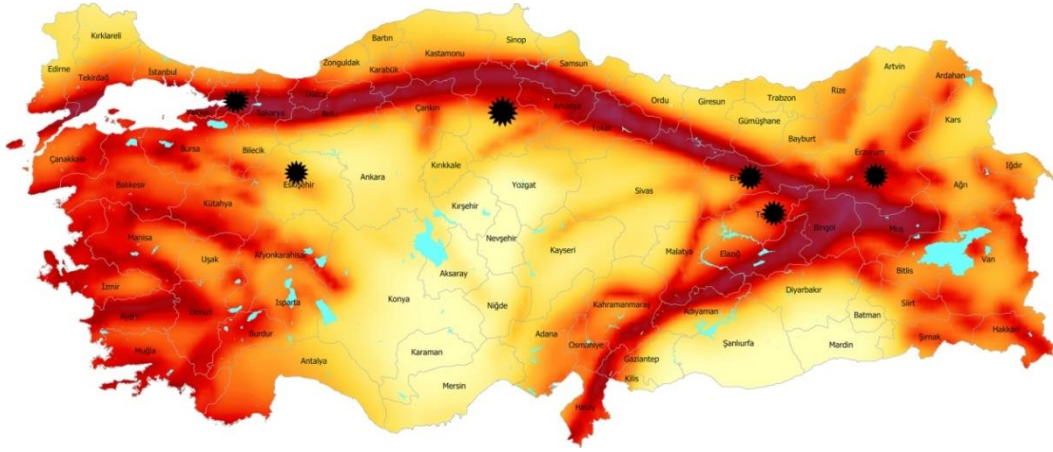
Çizelge 4.9. (devam) ITS 1-2 bölgesi allellerinin frekans ve isimleri

Hap_166	1	199Iezukm	<i>S. ornatum</i>
Hap_167	1	198Iezukm	<i>S. ornatum</i>
Hap_168	1	<i>M. subalpina</i> -ITS	

Allel listesinde de görülebileceği gibi türler arasında allel paylaşımının fazla olması nedeniyle, haplotipler arasındaki evrimsel ilişki Network v. 5.0.0.3 programı ile analiz edilmiştir. Haplotip paylaşımları pasta dilim şeklinde Şekil 4.36'de gösterilmiştir. Haplotipler arasında siyah renkle gösterilenler çalışmada olmayan fakat mevcut haplotip bağlantıları arasında bulunması gereken hipotetik haplotipleri göstermektedir. Şekil üzerinde kırmızı daire içine alınan bölge Erzurum-Erzincan-Tunceli-Çorum-Eskişehir-Kocaeli illerini içeren bir kolu çevrelemektedir. Kuzey Anadolu fay hattı üzerindeki bu lokalitelerin ana haplotip grubundan ayrılması dikkat çekicidir (Şekil 4.37).



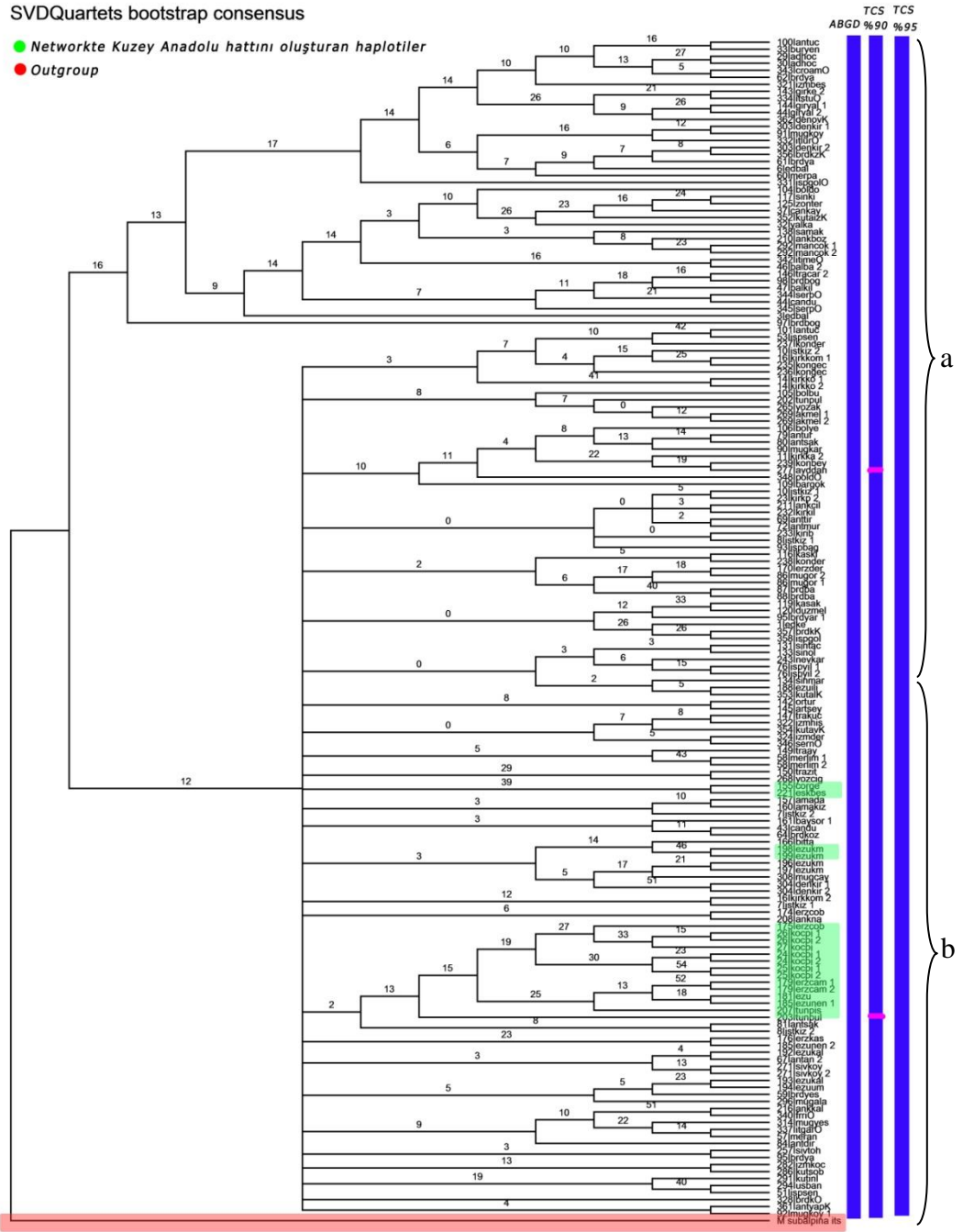
Şekil 4. 35. ITS1-2 168 allel veri seti ile oluşturulan allel ağı analizi (Network programı)



Şekil 4. 36. Network analizinde Kuzey Anadolu fay hattı üzerinde şekillenen haplogrup lokalitelerinin Türkiye Deprem tehlike haritası üzerinde gösterimi

Veri seti içerisinde çok fazla İn-Del olduğu tespit edilmiştir. İn-Del bölgeleri 5. karakterle doldurulup oluşan veri seti ile SVDquartets analizi gerçekleştirilmiştir. 100 tekrarlı bootstrap döngüde çalıştırılan analizde toplamda 100000 rastgele örneklem yapılmış bunun % 73.39'u uyumlu, % 26.61'i ise uyumsuz sonuç vermiştir. Analiz sonucunda iç grupta düşük dal destek değerli politomik bir ağaç elde edilmiştir. Mitokondriyal gen bölgeleri olan COI ve NADH₂ gen bölgelerinin aksine analiz sonucunda *S. intermedium*, *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* haplotipleri belirgin şekilde gruplanmamıştır. Analiz politomik bir ağaçla sonuçlanmıştır (Şekil 4.38-Şekil 4.39). Ayrıca Network analizinde Kuzey Anadolu hattı olarak nitelendirdiğimiz haplogrup bu analizde elde edilememiştir.

Tür sınırları belirleme testlerinde ABGD ve TCS (% 95) analizleri sonucunda veri setinin tamamının tek bir türü önerdiği görülmektedir. Bunun yanında, TCS (% 90) analizinde 3 tür önerilmiştir; 1. tür 277-aydın haplotipi, 2. tür 203-Tunceli haplotipi iken son tür veri setinin geri kalan tüm haplotiplerini kapsamaktadır (Şekil 4.38).



Şekil 4. 37. SVDquartets analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaç ve Tür sınırları belirleme testleri sonucu

a	b
91 mugkoy	76 ljsbyil 2
332 lifurO	134 sinmar
303 denkir 2	188 ezull
356 brdkzk	353 kutalk
61 brdya	142 ortur
6 ledbal	145 artsey
60 merpa	147 trakuc
331 ispgolO	322 izmhis
104 boldo	354 kutavk
117 sinki	324 izmder
125 zonter	346 sermO
37 lcankay	149 ltraay
352 kutaizK	58 merlim 1
32 lyalka	58 merlim 2
138 samak	150 trazit
210 ankboz	268 yozcig
292 mancok 1	155 corge
292 mancok 2	221 eskbes
342 litimeO	157 lamada
46 balba 2	160 lamakiz
146 ltracar 2	7 listkiz 2
98 brdbog	161 lbaysor 1
47 balkil	43 candu
344 iserpO	64 brdkoz
44 candu	166 bitta
345 iserpO	198 ezukm
3 ledbal	199 ezukm
97 brdbog	196 ezukm
101 lantuc	197 ezukm
53 lpsen	308 mugcay
237 lkonder	304 denkir 1
10 listkiz 2	304 denkir 2
161 kirkkom 1	161 kirkkom 2
235 kongec	7 listkiz 1
236 kongec	174 lerzcob
141 kirkko 1	208 ankna
141 kirkko 2	175 lerzcob
105 bolbu	261 kocpi 1
202 tunpul	261 kocpi 2
265 yozak	271 kocpi 1
269 akmel 1	241 kocpi 1
269 akmel 2	241 kocpi 2
106 bolye	251 kocpi 1
79 lantur	251 kocpi 2
80 lantsak	179 lerzcam 1
90 mugkar	179 lerzcam 2
111 kirkka 2	181 ezu
239 konbey	185 ezunen 1
277 layddan	207 tunpis
348 poldO	203 tunpul
109 bargok	81 lantsak
10 listkiz 1	8 listkiz 2
231 kirkp 2	176 lerzcas
211 ankciil	185 ezunen 2
232 kirkil	192 ezukal
69 lanttir	67 lantan 2
72 lantmur	271 sivkoy
233 kirib	271 sivkoy 2
8 listkiz 1	193 ezukal
93 ispbag	194 lezuum
116 kaskl	59 brdyes
238 konder	296 mugala
170 lerzder	216 ankkal
86 mugor 2	340 frriO
86 mugor 1	314 mugyes
87 brdba	337 litgarO
88 brdba	57 meran
119 kasak	84 lantdir
120 duzmel	257 lsvtoh
95 brdyar 1	95 brdya
1 ledke	282 izmkoc
357 brdkK	286 kutsob
358 ispgol	291 kutinl
131 sihtac	294 lusban
133 sinol	51 lpsen
243 inevkar	328 brdkO
76 ljspyil 1	361 lant yapK
76 ljspyil 2	92 mugkoy 1
	M subalpina its

Şekil 4. 38. SVDquartets analizi 168 allelin ayrıntılı görünümü

4.4. Genetik Çeşitlilik Analizleri

4.4.1. COI gen bölgesi için elde edilen genetik çeşitlilik bulguları

Populasyon genetiği analizleri ARLEQUIN programı aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler çeşitlilik indeksi sonuçlarına göre, her bir populasyon için COI gen bölgesine ait dizi sayısı (n), sekans sayısı, polimorfik baz sayısı (S), haplotip çeşitliliği (h), haplotip sayısı (K), ve nükleotid çeşitliliği (π) değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Populasyonlar bazında haplotip çeşitliliği sonuçları değerlendirilecek olursa; 14 populasyonda haplotip çeşitliliği 1 olarak izlenmiştir ve hatta diğer populasyonlarda da bu değer oldukça yüksek gözlenmektedir. En yüksek nükleotid çeşitliliği populasyon bazında sırasıyla Çoruh (0.018800), Sakarya (0.017962) ve Susurluk-Kuzey ege (0.017502) populasyonlarında gözlenirken, en düşük nükleotid çeşitliliği Yeşilirmak (0.012211) populasyonunda gözlenmiştir.

S. ornatum tür grubuna ait 277 haplotipin populasyon bazında dağılımı incelendiğinde, en yüksek haplotip sayısının 25 haplotiple Fırat-Dicle ve Batı Akdeniz populasyonlarında saptandığı, bu populasyonları 22 haplotiple Sakarya ve Yeşilirmak populasyonlarının izlediği görülmektedir. En az haplotip sayısı ise 2 haplotip ile Seyhan-Ceyhan ve Çoruh populasyonlarında görülmektedir. Bu populasyonlardaki birey sayısı 2'dir ve her bir birey bir haplotip oluşturmuştur.

Çalışmadaki tüm populasyonlar arasında haplotip paylaşımı incelendiğinde büyük çoğunlukta haplotiplerin özgün olduğu görülmüştür. Yalnızca 7 haplotip populasyonlar arasında paylaşılmaktadır. Ortak haplotipi olan populasyonlar Çizelge 4.11'de verilmiştir. Diğer haplotipler tespit edildiği populasyona özgüdür.

S. ornatum tür grubu populasyonları arasında ikili F_{st} değerleri, J Model test programı tarafından veri seti için önerilen GTR+I+G modeli ve Gamma Parametresi (0.4870) kullanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.12). Elde edilen 171 sayısal değerın 92'si negatif olarak belirlenmiştir. Populasyonlar arası hibritleşmenin yüksek olduğu

görülmektedir. Test, tür grubu içerisinde genetik olarak birbirine en uzak populasyonların Marmara-Meriç Ergene - Van (0.18762), en yakın populasyonların Van - Çoruh (-0.46780) ve Burdur - Çoruh (-0.26076) olduğunu göstermektedir.

F_{st} değerleri ile Populasyonlar değerlendirilecek olursa; Tajima'nın D 'si anlamlı ve negatif bir değer çıkan Sakarya populasyonunda, yakın zamanda bir genişleme olduğu ve istatistiki olarak bu durumun desteklendiği görülmektedir. F_{st} parametresi değerlendirildiğinde Sakarya populasyonunda anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmektedir. Sakarya populasyonunun yakın populasyonları Konya (-0.03068) ve Batı Karadeniz 1 (-0.01453) populasyonlarının F_{st} değerleri bu populasyonların birbirine çok yakın olduğunu ve Exponential growth dediğimiz çeşitlenme örüntüsünü desteklediği görülmektedir. Populasyonlar arasındaki ikili farklılaşma oldukça düşüktür.

Tajima'nın D 'si anlamlı ve negatif bir değer çıkan Fırat-Dicle populasyonunda ise Sakarya populasyonunda olduğu gibi yakın zamanda bir genişleme olduğu ve istatistiki olarak bu durumun desteklendiği görülmektedir. F_{st} parametresi değerlendirildiğinde Fırat-Dicle populasyonunda anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmektedir. Bu populasyonunun yakın populasyonları Kızılırmak (-0.01846) ve Seyhan-Ceyhan (-0.09465) populasyonlarının F_{st} değerleri bu populasyonların birbirine çok yakın olduğunu ve Exponential growth dediğimiz çeşitlenme örüntüsünü desteklediği görülmektedir. Bu populasyonlar arasındaki ikili farklılaşma oldukça düşüktür.

Veri setine uygulanan nötralite ve mismatch analizleri sonucunda Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarında Tajima'nın D 'si genişleme yönünde nötraliteden sapmaya işaret etmektedir (Çizelge 4.13). Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarından elde edilen sonuçlarda populasyonun yakın geçmişte bir genişlemeye uğradığı gözlemlenmiştir, bu değer P değerleri ile desteklenmektedir. Analizde Tajima'nın D 'si verileri değerlendirilirken P değeri 0.05 altındaki değerler dikkate alınmıştır. $P < 0.05$ değeri üstünde çıkan P değerleri istatistiki olarak anlamlı değildir. Fu's F_s testinde P değeri açısından anlamlı çıkan fakat Tajima'nın D 'si bakımından anlamsız çıkan sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır. 2 farklı metodolojinde desteklediği sonuçlar tez kapsamında değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. 10. *S. ornatum* tür grubuna ait 19 popülasyon için genetik çeşitlilik indeksleri (COI) (tanımlayıcı istatistikler)

Popülasyon	Örnek sayısı (<i>n</i>)	Polimorfik baz sayısı (<i>S</i>)	Haplotip sayısı (<i>K</i>)	Haplotip çeşitliliği (<i>h</i>)	Nükleotid çeşitliliği π	Ortalama ikili fark sayısı
Popülasyon-1 Marmara-Meriç Ergene	17	61/1117	17	1.0000 +/- 0.0202	0.012428 +/- 0.006570	13.882353 +/- 6.557607
Popülasyon-2 Susurluk-Kuzey Ege	19	83/1117	19	1.0000 +/- 0.0171	0.017502 +/- 0.009057	19.549708 +/- 9.053044
Popülasyon-3 Gediz-Büyük Küçük Menderes	18	67/1117	18	1.0000 +/- 0.0185	0.015295 +/- 0.007982	17.084967 +/- 7.973124
Popülasyon-4-Batı Akdeniz	26	78/1117	25	0.9969 +/- 0.0117	0.015117 +/- 0.007743	16.886154 +/- 7.763842
Popülasyon-5-Antalya	20	77/1117	20	1.0000 +/- 0.0158	0.015587 +/- 0.008077	17.410526 +/- 8.078120
Popülasyon-6-Burdur	16	69/1117	16	1.0000 +/- 0.0221	0.017241 +/- 0.009029	19.258333 +/- 9.003908
Popülasyon-7-Doğu Akdeniz	8	50/1117	8	1.0000 +/- 0.0625	0.016658 +/- 0.009433	18.607143 +/- 9.249598
Popülasyon-8-Konya	10	50/1117	9	0.9778 +/- 0.0540	0.013926 +/- 0.007694	15.555556 +/- 7.598755
Popülasyon-9-Sakarya	23	128/1117	22	0.9960 +/- 0.0142	0.017962 +/- 0.009192	20.063241 +/- 9.206102
Popülasyon-10 Batı Karadeniz-1	19	73/1117	19	1.0000 +/- 0.0171	0.012811 +/- 0.006715	14.309942 +/- 6.711898
Popülasyon-11 Batı Karadeniz-2	13	60/1117	13	1.0000 +/- 0.0302	0.015414 +/- 0.008245	17.217949 +/- 8.193350
Popülasyon-12-Yeşilırmak	24	78/1117	22	0.9928 +/- 0.0144	0.014353 +/- 0.007394	16.032609 +/- 7.408380
Popülasyon-13-Kızılırmak	19	76/1117	18	0.9942 +/- 0.0193	0.013633 +/- 0.007126	15.228070 +/- 7.122222
Popülasyon-14 Seyhan-Ceyhan	2	19/1117	2	1.0000 +/- 0.5000	0.017010 +/- 0.017452	19.000000 +/- 13.784049
Popülasyon-15 Doğu Karadeniz	12	64/1117	12	1.0000 +/- 0.0340	0.016861 +/- 0.009058	18.833333 +/- 8.986002
Popülasyon-16-Van	4	30/1117	4	1.0000 +/- 0.1768	0.016264 +/- 0.010989	18.166667 +/- 10.278991
Popülasyon-17-Çoruh	2	21/1117	2	1.0000 +/- 0.5000	0.018800 +/- 0.019243	21.000000 +/- 15.198684
Popülasyon-18 Fırat-Dicle	25	83/1117	25	1.0000 +/- 0.0113	0.012211 +/- 0.006325	13.640000 +/- 6.340319
Popülasyon-19-Aras	7	47/1117	7	1.0000 +/- 0.0764	0.014665 +/- 0.008542	16.380952 +/- 8.329843

Çizelge 4. 11. *S.ornatum* tür grubuna ait popülasyonların haplotip dağılımı (COI)

LOKALİTE HAPLOTİP	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6	P-7	P-8	P-9	P-10	P-11	P-12	P-13	P-14	P-15	P-16	P-17	P-18	P-19	TOP
6Cedbal	1																			1
7Cistkiz	1																			1
8istkiz	1																			1
9Cistkiz	1																			1
10Cistkiz	1																			1
11Cirkka	1																			1
14Cirkko	1																			1
15Cirkman	1																			1
16Cirkkom	1																			1
21Cirkp	1																			1
22Cirkp	1																			1
23Cirkp	1																			1
24Ckocpi	1																			1
25kocpi	1																			1
26Ckocpi	1																			1
27Ckocpi	1																			1
28Cadhoc									1								-			1
29Cadhoc									1											1
30Cadhoc									1											1
32Cyalka	1																			1
35Cburyen		1																		1
36Cburyen		1																		1
37Ccankay		1																		1
38Ccankay		1																		1
39Ccankay		1																		1
41Ccandu		1																		1
42Ccandu		1																		1
43candu		1																		1
44candu		1																		1
45Cbalba		1																		1
46Cbalba		1																		1
47Cbalkil		1																		1
48Cbalkil		1																		1
49Cbalaz		1																		1
50Cbalaz		1																		1
51Cispsen					1															1

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

52Cispsen					1															1	
53Cispsen					1																1
54Cispcal					1																1
55Cispcal					1																1
56Cispcal					1																1
57Cmeran									1												1
58Cmerlim									1												1
59Cbrdyes								1													1
61Cbrdya								1													1
62Cbrdya								1													1
63Cbrdya								1													1
64Cbrdkoz								1													1
65Cbrdkoz								1													1
66Cbrdkoz								1													1
67Cantan									1												1
68Cantan									1												1
69Canttir									1												1
71Cantmur									1												1
72Cantmur									1												1
73Cispbog*					1					1											2
74Cispbog					1																1
75Cispkoc					1																1
76Cispyil					1																1
77Cispyil					1																1
78Cispyil					1																1
79Cantur					1																1
80Cantsak					1																1
81Cantsak					1																1
82Cantsak					1																1
83Cantdir					1																1
84Cantdir					1																1
85Cmugor					1																1
86Cmugor					1																1
87Cbrdba					1																1
88Cbrdba					1																1
89Cmugkar *		1			1																2

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

0Cmugkar				1																1
91Cmugkoy				1																1
92Cmugkoy				1																1
93Cispbag					1															1
95Cbrdyar						1														1
98Cbrdbog						1														1
99Cantuc					1															1
100Cantuc					1															1
101Cantuc					1															1
102Cbolbo									1											1
103Cbolce									1											1
104Cboldo									1											1
105Cbolbu									1											1
106Cbolye									1											1
107Czonsa									1											1
108Czonor									1											1
109Cbargok									1											1
110Cbarcan									1											1
111Ckarcum									1											1
113Ckasza										1										1
114Ckasor										1										1
115Ckasku																			1	1
116Ckaski																			1	1
117Csinki										1										1
118Csinas										1										1
119Ckasak										1										1
120Cduzmel										1										1
121Cduzkal										1										1
122Cdutztah										1										1
123Cduzbog										1										1
124Ckarsek										1										1
125Czonter										1										1
126Cbarin										1										1
130Ckasdev											1									1
131Csintac											1									1

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

132Csinom											1									1	
133Csinol											1										1
134Csinmar											1										1
135Csinmar											1										1
136Csamas												1									1
137Csamham												1									1
138Csamak												1									1
139Csamdes												1									1
140Cordme																1					1
142Cortur																1					1
143Cgirke																1					1
144Cgiryal																1					1
146Ctracar																1					1
147Ctrakuc																1					1
148Ctraar																1					1
150Ctrazit																1					1
151Crizcay																1					1
152Crizcay																1					1
156Ccorham												1									1
157Camada												1									1
160Camakkiz												1									1
161Cbaysor												1									1
163Cbayyil																			1		1
164Cbittat																1					1
165Cbittat																1					1
166Cbitta																1					1
167Cbitta																1					1
168Cerzas																				1	1
169Cerzas																				1	1
170Cerzder																				1	1
171Cerzder																				1	1
173Cerzol												1									1
174Cercob												1									1
176Cerkas*												1								1	2
177Cerkas																				1	1
178Cercam																				1	1

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

179Cercam																		1		1
180Cezu																		1		1
181Cezu																		1		1
184Cezunen																		1		1
185Cezunen																		1		1
188Cezuili																			1	1
190Cezucim																			1	1
191Cezucim																			1	1
192Cezukal																			1	1
193Cezukal																			1	1
194Cezuuum																		1		1
196Cezukm																		1		1
197Cezukm																		1		1
198Cezukm																		1		1
199Cezukm																		1		1
200Ckarsar																			1	1
201Ckarsar																			1	1
205Ctunpul																		1		1
206Ctunpis																		1		1
207Ctunpis																		1		1
208Cankna									1											1
210Cankboz									1											1
211Cankcil*					1				1									1		3
212Cankcil									1											1
215Cankham									1											1
216Cankkal									1											1
218Ccnkracor																1				1
219Ccnkracer																1				1
220Ccnkracer																1				1
221Ceskbes									1											1
222Ceskbes									1											1
223Ceskbes									1											1
224Ceskgur									1											1
229Ckaysih																1				1
230Ckayyah																1				1
231Ckirkil																1				1

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

279Cdenbey			1																1
280Cdengum			1																1
281Cizmbey			1																1
282Cizmkoc			1																1
288Ckutsab							1												1
289Ckutsab							1												1
290Ckutinl							1												1
291Ckutinl							1												1
292Cmancok			1																1
294Cusban			1																1
295Cuşgur			1																1
296Cmugala				1															1
297Cmugala				1															1
298Cmugyay				1															1
299Cmugyay*				1			1	3	1	2	2						1		13
302Cdenkar				1															1
303Cdenkir				1															1
304Cdenkir*				1												1			2
306Cdenim							1												1
307Cdencam							1												1
308Cmugcay				1															1
309Cmugcay				1															1
310Cmugpin				1															1
313Cmugnif				1															1
314Cmugyes				1															1
316Ckutged				1															1
317Cuskesk				1															1
318Caydsok				1															1
319Cizmod				1															1
320Cizmyig				1															1
321Cizmbes				1															1
322Cizmhis				1															1
324Cizmder				1															1
327CantalO							1												1
328CbrdkO								1											1
329CispboO							1												1

Çizelge 4. 11. (devam) *S.ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (COI)

330CbrdaksO						1															1
331CispgolO					1																1
355CkutulK									1												1
356CbrdkzK						1															1
357CbrdkK						1															1
358CispgolK					1																1
364CsinoK											1										1
368CduztaK									1												1
370CsamasK															1						1
371CormeK															1						1
372CbureK		1																			1
375tokucF												1									1
378CduzmeO									1												1
379CburkozO		1																			1
380CburorO		1																			1
381CamadO												1									1
383Cesmol2									1												1
TOPLAM	17	19	18	26	20	16	8	10	23	19	13	24	19	2	12	4	2	25	7	284	

Paylaşılan haplotipler * ile işaretlenmiştir.

Çizelge 4. 12. *S. ornatum* tür grubuna ait 19 popülasyonun Pairwise F_{st} değerleri (COI)

P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	-																	
2	0.06928	-																
3	0.10630	0.01231	-															
4	0.08957	0.02026	0.00158	-														
5	0.08885	0.01429	0.01467	-0.01756	-													
6	0.12348	0.01018	-0.00042	-0.01148	-0.00555	-												
7	0.08191	0.00600	0.00868	-0.02551	-0.03690	-0.02571	-											
8	0.08877	0.00528	-0.00676	-0.01930	-0.00515	-0.01121	-0.00541	-										
9	0.06295	0.03437	0.00965	0.00009	0.01455	0.01397	-0.00554	-0.03068	-									
10	0.07706	0.04221	0.00740	0.01144	0.03041	0.03568	0.02678	-0.02207	-0.01453	-								
11	0.09599	-0.00219	-0.02823	-0.00938	0.00565	-0.01589	0.00203	-0.01078	-0.00444	-0.00623	-							
12	0.10311	0.03250	-0.01311	0.00872	0.03073	0.01561	0.01719	-0.01436	-0.00571	-0.01420	-0.01472	-						
13	0.07809	0.03172	-0.00778	0.00073	0.01343	0.00524	-0.00992	-0.03147	-0.02037	-0.02021	-0.01824	-0.01743	-					
14	0.05320	-0.14398	-0.10609	-0.07913	-0.07895	-0.07330	-0.09755	-0.07578	-0.11789	-0.09269	-0.09005	-0.08504	-0.09854	-				
15	0.10186	0.02501	0.00396	0.00886	0.03468	-0.00073	0.00847	-0.01500	-0.00198	0.00762	-0.01159	0.00441	-0.00798	-0.12176	-			
16	0.18762	-0.00416	-0.02232	-0.01675	-0.00629	-0.08295	-0.03203	0.00160	0.00636	0.07243	-0.04436	0.03196	0.03182	0.00254	-0.01225	-		
17	0.11393	-0.13632	-0.15904	-0.16080	-0.15286	0.26076	-0.19698	-0.13620	-0.14653	-0.05898	-0.18612	-0.11415	-0.10419	-0.17647	-0.17591	0.46780	-	
18	0.08041	0.06392	0.02238	0.03263	0.05728	0.05914	0.05015	0.00878	0.00144	-0.01660	0.01565	0.00151	-0.01846	-0.09465	0.00967	0.11121	-0.00574	-
19	0.05886	-0.00008	-0.02671	-0.00934	0.00482	-0.00799	-0.00599	-0.03776	-0.03997	-0.04173	-0.04149	-0.02643	-0.04708	-0.15902	-0.04319	-0.00145	-0.13550	-0.02745

Çizelge 4. 13. *S. ornatum* tür grubuna ait popülasyonların tarihsel demografik analizleri (COI)

Popülasyon	Mismatch dağılımı testi					Test of goodness-of-fit:		Nötralite testleri	
	Mismatch observed mean	Mismatch observed variance	Tau	Theta0	Theta1	Sum of Squared deviation:	Harpending's Raggedness index:	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i> test
Popülasyon-1 Marmara-Meriç Ergene	13.882	12.282	8.000	12.700	3414.978	0.02608205 (P=0.00000000)	0.00735294 (P=0.99000000)	-0.96905 (P=0.17400)	-7.28872 (P=0.00300)
Popülasyon-2 Susurluk-Kuzey Ege	19.550	51.661	12.000	18.000	6834.957	0.01030403 (P=0.03000000)	0.01395301 (P=0.79000000)	-0.73085 (P=0.27300)	-6.83212 (P= 0.00200)
Popülasyon-3Gediz-Büyük- Küçük Menderes	17.085	53.894	8.000	18.000	6834.957	0.00861213 (P=0.26000000)	0.00674954 (P=0.99000000)	-0.51125 (P=0.32800)	-6.88291/ (P= 0.00600)
Popülasyon-4 Batı Akdeniz	16.886	80.860	6.000	14.400	6934.970	0.00719251 (P=0.61000000)	0.00478107 (P=0.94000000)	-0.67576 (P=0.26200)	-10.49522/ (P= 0.00100)
Popülasyon-5 Antalya	17.411	63.566	8.000	19.900	3414.978	0.01579591 (P=0.01000000)	0.00991690 (P=0.83000000)	-0.80762 (P=0.23600)	-8.22919 (P=0.00400)
Popülasyon-6 Burdur	19.258	61.000	18.590	6.940	61.483	0.00910615 (P=0.68000000)	0.01430556 (P=0.74000000)	-0.31600 (P=0.38500)	-5.01178/ (P=0.01600)
Popülasyon-7 Doğu Akdeniz	18.607	80.544	29.375	0.000	41.115	0.03505729 (P=0.60000000)	0.06887755 (P=0.70000000)	-0.18877 (P=0.45700)	-1.03024/ (P= 0.19300)
Popülasyon-8 Konya	15.556	105.071	30.422	0.004	29.100	0.02714690 (P=0.67000000)	0.03407407 (P=0.91000000)	-0.58588 (P=0.30300)	-0.66095/ (P= 0.30700)
Popülasyon-9 Sakarya	20.063	521.996	8.180	8.123	64.043	0.00483512 (P=0.85000000)	0.00535862 (P=0.94000000)	-1.69381 (P=0.03300)	-6.89493/ (P= 0.01200)
Popülasyon-10 Batı Karadeniz-1	14.310	52.803	4.000	14.400	6877.570	0.02002328 (P=0.14000000)	0.04001231 (P=0.08000000)	-1.29746 (P=0.08500)	-8.71768/ (P= 0.00100)
Popülasyon-11 Batı Karadeniz-2	17.218	56.666	10.785	9.563	187.965	0.01975515 (P=0.15000000)	0.01906640 (P=0.83000000)	-0.49304 (P=0.32100)	-3.68909/ (P= 0.03300)
Popülasyon-12 Yeşilirmak	16.033	55.384	7.414	13.809	250.154	0.00879089 (P=0.28000000)	0.00821781 (P=0.78000000)	-0.91630 (P=0.20300)	-7.10869/ (P=0.01200)
Popülasyon-13 Kızılırmak	15.228	66.718	10.453	7.402	56.154	0.00507742 (P=0.90000000)	0.00666872 (P=0.97000000)	-1.23628 (P=0.08700)	-5.80668/ (P= 0.01200)
Popülasyon-14 Seyhan-Ceyhan	19.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00000000 (P=0.00000000)	0.00000000 (P=0.00000000)	0.00000 (P=1.00000)	2.94444/ (P= 0.59100)
Popülasyon-15 Doğu Karadeniz	18.833	73.310	8.000	18.000	6834.957	0.01925322 (P=0.12000000)	0.02754821 (P=0.88000000)	-0.51443 (P=0.29500)	-2.89797/ (P= 0.07700)
Popülasyon-16 Van	18.167	68.967	24.000	0.000	6854.957	0.26062090 (P=0.00000000)	0.61111111 (P=0.00000000)	1.13906 (P=0.84800)	1.00894/ (P= 0.42100)
Popülasyon-17 Çoruh	21.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00000000 (P=0.00000000)	0.00000000 (P=0.00000000)	0.00000 (P=1.00000)	3.04452/ (P= 0.61000)
Popülasyon-18 Fırat-Dicle	13.640	46.893	12.488	1.636	47.235	0.01033967 (P=0.24000000)	0.01786667 (P=0.24000000)	-1.48762 (P=0.04900)	-14.71046/ (P= 0.00000)
Popülasyon-19 Aras	16.381	63.548	6.000	14.400	4054.982	0.04347672 (P=0.31000000)	0.07709751 (P=0.76000000)	-0.84357 (P=0.26400)	-0.75398/ (P= 0.20200)

4.4.2. NADH₂ gen bölgesi için elde edilen genetik çeşitlilik bulguları

Analizler COI gen belirtecinde olduğu gibi ARLEQUIN programı aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler çeşitlilik indeksi sonuçlarına göre, her bir populasyon için NADH₂ gen bölgesine ait dizi sayısı (n), sekans sayısı, polimorfik baz sayısı (S), haplotip çeşitliliği (h), haplotip sayısı (K), ve nükleotid çeşitliliği (π) değerleri Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Populasyonlar bazında haplotip çeşitliliği sonuçları değerlendirilecek olursa; 15 populasyonda haplotip çeşitliliği 1 olarak izlenmiştir ve hatta diğer populasyonlarda da bu değer oldukça yüksek gözlenmektedir. En yüksek nükleotid çeşitliliği populasyon bazında sırasıyla Gediz-Büyük-Küçük Menderes (0.020137), Doğu Akdeniz (0.018628) ve Batı Akdeniz (0.016564) populasyonlarında gözlenirken, en düşük nükleotid çeşitliliği Seyhan-Ceyhan (0.009967) populasyonunda gözlenmiştir.

S. ornatum tür grubuna ait 232 haplotipin populasyon bazında dağılımı incelendiğinde, en yüksek haplotip sayısının 22 haplotiple Sakarya, Fırat-Dicle ve Yeşilırmak populasyonlarında saptandığı görülmektedir. En az haplotip sayısı ise 2 haplotip ile Seyhan-Ceyhan ve Çoruh populasyonlarında görülmektedir. Bu populasyonlardaki birey sayısı 2'dir ve her bir birey bir haplotip oluşturmuştur.

Çalışmadaki tüm populasyonlar arasında haplotip paylaşımı incelendiğinde populasyonlar arasında 21 haplotipte paylaşım olduğu görülmektedir. Ortak haplotipi olan populasyonlar Çizelge 4.15'de verilmiştir. Diğer haplotipler tespit edildiği populasyona özgüdür.

S. ornatum tür grubu populasyonları arasında ikili F_{st} değerleri, J Model test programı tarafından veri seti için önerilen GTR+I+G modeli ve Gamma Parametresi (0.6490) kullanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.16). Elde edilen 171 sayısal değer 119 'u negatif olarak belirlenmiştir. Populasyonlar arası hibritleşmenin yüksek olduğu görülmektedir. Test, tür grubu içerisinde genetik olarak birbirine en uzak populasyonların Marmara-Meriç Ergene - Van (0.14247), en yakın populasyonların Seyhan-Ceyhan -

Gediz-Büyük-Küçük Menderes (-0.12415) ve Seyhan-Ceyhan - Fırat-Dicle (-0.11716) populusyonları olduğunu göstermektedir.

Tajima'nın D 'si anlamlı ve negatif bir değer çıkan Sakarya populusyonunda, yakın zamanda bir genişleme olduğu ve istatistiki olarak bu durumun desteklendiği görülmektedir. F_{st} parametresi değerlendirildiğinde Sakarya populusyonunda anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmektedir. Sakarya populusyonunun yakın populusyonları Konya (-0.03070) ve Batı Karadeniz 1 (-0.01219) populusyonlarının F_{st} değerleri bu populusyonların birbirine çok yakın olduğunu ve Exponential growth dediğimiz çeşitlenme örüntüsünü desteklediği görülmektedir. Populusyonlar arasındaki ikili farklılaşma oldukça düşüktür.

Veri setine uygulanan nötralite ve mismatch analizleri sonucunda Sakarya ve Fırat Dicle populusyonlarında Tajima'nın D 'si genişleme yönünde nötraliteden sapmaya işaret etmektedir (Çizelge 4.17). Sakarya ve Fırat-Dicle populusyonlarından elde edilen sonuçlarda populusyonun yakın geçmişte bir genişlemeye uğradığı gözlemlenmiştir, bu değer P değerleri ile desteklenmektedir. Analizde Tajima'nın D 'si verileri değerlendirilirken P değeri 0.05 altındaki değerler dikkate alınmıştır. $P < 0.05$ değeri üstünde çıkan P değerleri istatistiki olarak anlamlı değildir. F_u 's F_s testinde P değeri açısından anlamlı çıkan fakat Tajima'nın D 'si bakımından anlamsız çıkan sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır. 2 farklı metodolojinde desteklediği sonuçlar tez kapsamında değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. 14. *S. ornatum* tür grubuna ait 19 populasyon için genetik çeşitlilik indeksleri (NADH₂) (tanımlayıcı istatistikler)

Populasyon	Örnek sayısı (n)	Polimorfik baz sayısı (S)	Haplotip sayısı (K)	Haplotip çeşitliliği (h)	Nükleotid çeşitliliği π	Ortalama ikili fark sayısı
Region-1 Marmara-Meriç Ergene	16	51/903	16	1.0000 +/- 0.0221	0.011877 +/- 0.006394	10.725000 +/- 5.155003
Region-2-Susurluk-Kuzey Ege	18	66/903	18	1.0000 +/- 0.0185	0.015576 +/- 0.008198	14.065359 +/- 6.620121
Region-3-Gediz-Büyük-Küçük Menderes	16	90/903	16	1.0000 +/- 0.0221	0.020137 +/- 0.010567	18.183333 +/- 8.519266
Region-4 Batı Akdeniz	21	77/903	20	0.9952 +/- 0.0165	0.016564 +/- 0.008616	14.957143 +/- 6.969552
Region-5-Antalya	11	46/903	11	1.0000 +/- 0.0388	0.014900 +/- 0.008194	13.454545 +/- 6.558933
Region-6-Burdur	11	46/903	11	1.0000 +/- 0.0388	0.014537 +/- 0.008005	13.127273 +/- 6.407227
Region-7-Doğu Akdeniz	8	51/903	8	1.0000 +/- 0.0625	0.018628 +/- 0.010589	16.821429 +/- 8.393741
Region-8-Konya	8	39/903	8	1.0000 +/- 0.0625	0.015029 +/- 0.008623	13.571429 +/- 6.835662
Region-9-Sakarya	23	64/903	22	0.9960 +/- 0.0142	0.012090 +/- 0.006363	10.916996 +/- 5.152499
Region-10-Batı Karadeniz-1	17	59/903	17	1.0000 +/- 0.0202	0.013688 +/- 0.007279	12.360294 +/- 5.873277
Region-11-Batı Karadeniz-2	10	40/903	10	1.0000 +/- 0.0447	0.014962 +/- 0.008320	13.511111 +/- 6.642774
Region-12-Yeşilirmak	24	70/903	22	0.9928 +/- 0.0144	0.015496 +/- 0.008032	13.992754 +/- 6.505814
Region-13-Kızılırmak	19	54/903	19	1.0000 +/- 0.0171	0.011735 +/- 0.006252	10.596491 +/- 5.051524
Region-14-Seyhan-Ceyhan	2	9/903	2	1.0000 +/- 0.5000	0.009967 +/- 0.010506	9.000000 +/- 6.708204
Region-15-Doğu Karadeniz	10	39/903	10	1.0000 +/- 0.0447	0.014839 +/- 0.008254	13.400000 +/- 6.590809
Region-16-Van	4	20/903	4	1.0000 +/- 0.1768	0.013474 +/- 0.009253	12.166667 +/- 6.996881
Region-17-Çoruh	2	13/903	2	1.0000 +/- 0.5000	0.014396 +/- 0.014940	13.000000 +/- 9.539392
Region-18-Fırat-Dicle	23	71/903	22	0.9960 +/- 0.0142	0.013342 +/- 0.006983	12.047431 +/- 5.653867
Region-19-Aras	7	35/903	7	1.0000 +/- 0.0764	0.013184 +/- 0.007794	11.904762 +/- 6.143997

Çizelge 4. 15. *S. ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

LOKALİTE HAPLOTİP	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6	P-7	P-8	P-9	P-10	P-11	P-12	P-13	P-14	P-15	P-16	P-17	P-18	P-19	TOP
1Nedke	1																			1
2Nedke	1																			1
3Nedbal	1																			1
4Nedbal	1																			1
5Nedbal	1																			1
7Nistkiz	1																			1
8Nistkiz*	1											1								2
11Nkirkka	1																			1
16Nkirkkom	1																			1
17Nkirkkom	1																			1
21Nkirkp	1																			1
22Nkirkp*	1	1																		2
23Nkirkp	1																			1
24Nkocpi*	1								1									2		4
25Nkocpi	1																			1
32Nyalka	1																			1
33Nburyen		1																		1
34Nburyen		1																		1
35Nburyen		1																		1
36Nburyen		1																		1
37Ncankay		1																		1
38Ncankay		1																		1
40Ncankay*		1		1																2
42Ncandu		1																		1
43Ncandu		1																		1
44Ncandu		1																		1
45Nbalba		1																		1
46Nbalba		1																		1
48Nbalkil		1																		1
49Nbalaz		1																		1
50Nbalaz		1																		1
379NburkozO*		1		2		1			1											5

Çizelge 4. 15. (devam) *S. ornatum* tür grubuna ait popülasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

380NburorO		1																1
274Nafkiz*			1									1						2
276Naydyor*			1	1					1						1			4
277Nayddan			1															1
278Naydbay*			1														1	2
279Ndenbey			1															1
280Ndengum			1															1
281Nizmbey			1															1
292Nmancok			1															1
294Nusban			1															1
295Nusgur			1															1
316Nkutged			1															1
317Nuskesk			1															1
318Naydsok			1															1
321Nizmbes			1															1
322Nizmhis			1															1
324Nizmdr*			1						1									2
79Nantur				1														1
80Nantsak				1														1
83Nantdir				1														1
84Nantdir				1														1
86Nmugor				1														1
90Nmugkar*				1					1									2
91Nmugkoy				1														1
92Nmugkoy*				1						1								2
314Nmugyes				1														1
310Nmugpin				1														1
309Nmugcay				1														1
308Nmugcay				1														1
304Ndenkir				1														1
303Ndenkir				1														1
298Nmugyay				1														1
296Nmugala				1														1
297Nmugala*				1	1				2									4

Çizelge 4. 15. (devam) *S. ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

51Nispsen*					1												1		2
52Nispsen					1														1
93Nispbag					1														1
77Nispyil					1														1
75Nispkoc					1														1
74Nispbog					1														1
101Nantuc					1														1
100Nantuc					1														1
99Nantuc					1														1
97Nbrdbog*					1	1							1						3
61Nbrdya						1													1
62Nbrdya						1													1
65Nbrdkoz						1													1
66Nbrdkoz						1													1
95Nbrdyar						1													1
98Nbrdbog						1													1
356NbrdkzK						1													1
328NbrdkO						1													1
307Ndencam						1													1
58Nmerlim							1												1
57Nmeran							1												1
60Nmerpa							1												1
67Nantan							1												1
68Nantan							1												1
71Nantmur							1												1
72Nantmur							1												1
69Nanttir*							1											1	2
270Nakmel								1											1
269Nakmel								1											1
241Nkonak								1											1
240Nkonbey								1											1
239Nkonbey								1											1

Çizelge 4. 15. (devam) *S. ornatum* tür grubuna ait popülasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

238Nkonder								1											1
237Nkonder								1											1
236Nkongec								1											1
355NkutulK									1										1
291Nkutinl									1										1
376NkutfelF									1										1
289Nkutsab*									1							1			2
224Neskgur*									1		1								2
223Neskbes									1										1
222Neskbes									1										1
221Neskbes									1										1
212Nankcil									1										1
211Nankcil									1										1
210Nankboz									1										1
208Nankna									1										1
31Nadhoc									1										1
29Nadhoc									1										1
28Nadhoc									1										1
214Nankham									1										1
213Nankbes									1										1
209Nankna									1										1
126Nbarin*										1							1		2
378NduzmelO										1									1
374NsintacF*										1	1								2
125Nzonter										1									1
123Nduzbog										1									1
124Nkarsek										1									1
122Ndutztah										1									1
121Nduzkal										1									1
120Nduzmel										1									1
111Nkarcum										1									1
108Nzonor										1									1

Çizelge 4. 15. (devam) *S. ornatum* tür grubuna ait populasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

107Nzonsa										1										1	
106Nbolye										1											1
105Nbolbu										1											1
103Nbolce										1											1
102Nbolbo										1											1
134Nsinmar											1										1
132Nsinom											1										1
129Nkasdev											1										1
119Nkasak											1										1
118Nsinas											1										1
117Nsinki											1										1
364NsinoK											1										1
155Ncorge												1									1
154Ncorkur												1									1
174Nerzcob												1									1
175Nerzcob												1									1
173Nerzol												1									1
381NamadO												1									1
375NtokucF												1									1
267Nyozgok												1									1
266Nyozak*												1							1		2
264Nyozak												1									1
263Nyozos												1									1
262Nyozos												1									1
261Nyozey*												1						1			2
260Nyozey												1									1
161Nbaysor												1									1
160Namakkiz												2									2
159Namakiz												2									2
139Nsamdes												1									1
138Nsamak												1									1
137Nsamham												1									1

Çizelge 4. 15. (devam) *S. ornatum* tür grubuna ait popülasyonların haplotip dağılımı (NADH₂)

163Nbayyil																	1			1
145Nartsey																	1			1
168Nerzas																		1		1
171Nerzder																		1		1
170Nerzder																		1		1
179Nerzcam																		1		1
178Nerzcam																		1		1
177Nerzkas																		1		1
176Nerzkas																		1		1
197Nezukm																		1		1
196Nezukm																		1		1
194Nezuum																		1		1
207Ntunpis																		1		1
206Ntunpis																		1		1
205Ntunpul																		1		1
256Nsivtoh																		1		1
254Nsivman																		1		1
203Ntunpul																		1		1
190Nezucim																			1	1
193Nezukul																			1	1
192Nezukul																			1	1
201Nkarsar																			1	1
200Nkarsar																			1	1
TOPLAM	16	18	16	21	11	11	8	8	23	17	10	24	19	2	10	4	2	23	7	263

Paylaşılan haplotipler * ile işaretlenmiştir.

Çizelge 4. 16. *S. ornatum* tür grubuna ait 19 popülasyonun Pairwise F_{st} değerleri (NADH₂)

P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	-																		
2	0.00463	-																	
3	0.03033	-0.01132	-																
4	0.03486	-0.00634	-0.02469	-															
5	0.04819	-0.01998	-0.04270	-0.04681	-														
6	0.05826	-0.00834	-0.02099	-0.02734	-0.02433	-													
7	0.02497	-0.01493	-0.03320	-0.02767	-0.02576	-0.05128	-												
8	0.01582	-0.03267	-0.04728	-0.04729	-0.05783	-0.04463	-0.05714	-											
9	0.02522	0.01352	0.01232	-0.00837	0.00226	-0.01273	-0.00492	-0.03070	-										
10	0.02314	0.02900	0.01316	-0.00010	0.01065	0.00139	-0.01990	-0.02710	-0.01219	-									
11	0.01610	-0.02934	-0.03633	-0.04758	-0.06239	-0.02514	-0.03888	-0.04966	-0.00555	-0.00179	-								
12	0.02397	-0.01090	-0.00849	-0.01491	-0.02287	-0.01873	-0.02731	-0.03357	0.00524	0.00751	-0.02558	-							
13	0.01139	0.01515	0.01230	-0.00262	0.00553	-0.00529	-0.00383	-0.03438	-0.02825	-0.01505	-0.00074	0.00279	-						
14	0.02180	-0.10205	0.12415	-0.08521	-0.07034	-0.08787	-0.10926	-0.08333	-0.06655	-0.03197	-0.06508	-0.05760	-0.05721	-					
15	0.06589	-0.00918	-0.00522	-0.00276	-0.00342	-0.02665	-0.01466	-0.01955	0.01225	0.03441	-0.01018	0.00617	0.02162	-0.14772	-				
16	0.14247	0.01263	-0.04396	-0.03021	-0.04801	-0.02729	-0.02716	-0.00694	0.08739	0.06549	-0.06234	-0.00350	0.10291	0.11111	0.03440	-			
17	0.04744	-0.07499	-0.11618	-0.08816	-0.06585	-0.03973	-0.09860	-0.08816	-0.00251	-0.00249	-0.03205	-0.07583	0.01013	-0.15789	-0.06268	0.07800	-		
18	0.00845	0.00628	0.01430	0.00206	0.00117	0.00162	-0.00826	-0.03027	-0.01948	-0.00332	-0.00929	0.00207	-0.02378	0.11716	0.00716	0.08669	-0.05233	-	
19	0.02540	-0.01583	-0.02372	-0.02472	-0.00981	-0.02343	-0.03162	-0.03798	-0.02692	-0.02474	-0.01251	-0.01413	-0.02336	-0.13902	-0.05171	0.07808	-0.07791	-0.02944	-

Çizelge 4. 17. *S. ornatum* Tür grubuna ait populasyonların tarihsel demografik analizleri (NADH₂)

Populasyon	Mismatch distributions:					Test of goodness-of-fit:		Nötralite testi (NADH ₂)	
	Mismatch observed mean	Mismatch observed variance	Tau	Theta0	Theta1	Sum of Squared deviation:	Harpending's Raggedness index:	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i> test
Region-1 Marmara-Meriç Ergene	10.725	21.176	8.498	3.226	77.694	0.02062157 (P=0.17000000)	0.06958333 (P=0.02000000)	-1.28083 (P=0.08500)	-7.93900 (P=0.00100)
Region-2-Susurluk-Kuzey Ege	14.065	23.259	8.000	12.700	3414.978	0.01153404 (P=0.03000000)	0.00811654 (P=0.93000000)	-1.11002 (P=0.11800)	-8.00813 (P=0.00200)
Region-3-Gediz-Büyük-Küçük Menderes	18.183	362.101	12.764	1.445	32.887	0.02026839 (P=0.34000000)	0.03138889 (P=0.36000000)	-1.41899 (P=0.06300)	-5.25467 (P=0.01200)
Region-4 Batı Akdeniz	14.957	44.941	19.758	0.004	39.851	0.00752093 (P=0.81000000)	0.00895692 (P=0.91000000)	-1.21740 (P=0.09500)	-7.38624 (P=0.00500)
Region-5-Antalya	13.455	32.512	10.266	6.187	79.530	0.01929531 (P=0.47000000)	0.04694215 (P=0.55000000)	-0.67508 (P=0.24500)	-3.27284 (P=0.04500)
Region-6-Burdur	13.127	30.891	4.000	14.400	3494.985	0.04114677 (P=0.03000000)	0.11107438 (P=0.13000000)	-0.77324 (P=0.23500)	-3.34315 (P=0.04300)
Region-7-Doğu Akdeniz	16.821	35.115	8.000	19.900	3414.978	0.04161818 (P=0.04000000)	0.08418367 (P=0.81000000)	-0.77936 (P=0.26200)	-1.19670 (P=0.15300)
Region-8-Konya	13.571	24.847	8.000	12.700	3414.978	0.03331132 (P=0.19000000)	0.06122449 (P=0.85000000)	-0.52245 (P=0.32800)	-1.57396 (P=0.11800)
Region-9-Sakarya	10.917	26.822	8.195	4.797	57.148	0.00589014 (P=0.59000000)	0.00842069 (P=0.86000000)	-1.46279 (P=0.04800)	-11.69085 (P=0.00000)
Region-10-Batı Karadeniz-1	12.360	39.136	3.000	19.900	3414.978	0.02390190 (P=0.01000000)	0.01805796 (P=0.66000000)	-1.22465 (P=0.09300)	-7.96435 (P=0.00200)
Region-11-Batı Karadeniz-2	13.511	28.665	11.795	5.664	68.005	0.01422991 (P=0.58000000)	0.02765432 (P=0.90000000)	-0.21573 (P=0.46300)	-2.67820 (P=0.05700)
Region-12-Yeşilırmak	13.993	27.076	8.000	12.700	3414.978	0.00851871 (P=0.06000000)	0.00530351 (P=0.91000000)	-0.99617 (P=0.16300)	-8.12665 (P=0.00400)
Region-13-Kızılırmak	10.596	27.324	4.000	8.988	7002.581	0.00553647 (P=0.90000000)	0.00519818 (P=1.00000000)	-1.28204 (P=0.08000)	-10.88090 (P=0.00000)
Region-14-Seyhan-Ceyhan	9.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 (P=0.000)	0.000 (P=0.000)	0.00000 (P=1.00000)	2.19722 (P=0.55900)
Region-15-Doğu Karadeniz	13.400	28.200	16.524	0.638	43.057	0.01285950 (P=0.89000000)	0.01580247 (P=0.99000000)	-0.13579 (P=0.47400)	-2.69853 (P=0.05300)
Region-16-Van	12.167	29.767	16.734	0.004	84.510	0.15373826 (P=0.28000000)	0.44444444 (P=0.43000000)	1.18178 (P=0.84100)	0.56073 (P=0.39400)
Region-17-Çoruh	13.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 (P=0.000)	0.000 (P=0.000)	0.00000 (P=1.00000)	2.56495 (P=0.58000)
Region-18-Fırat-Dicle	12.047	21.061	8.000	5.500	3414.978	0.01112967 (P=0.11000000)	0.00860816 (P=0.65000000)	-1.48088 (P=0.05600)	-10.79589 (P=0.00000)
Region-19-Aras	11.905	34.490	5.500	8.325	3624.999	0.03881712 (P=0.39000000)	0.11337868 (P=0.45000000)	-0.95536 (P=0.19500)	-1.25929 (P=0.13700)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Anadolu, çok sayıda biyotik ve abiyotik faktör tarafından kontrol edilen, Dünya'da eşine çok rastlanamayacak değerde bir biyoçeşitliliğe sahiptir. 36 küresel sıcak noktanın 3'ünün bu topraklarda kesişmesi dolayısıyla birçok coğrafik iklimin zamansal olarak iç içe yaşanıyor oluşu, jeomorfolojik çeşitlilik, iç suların, körfezlerin ve limanların yapılarındaki çeşitlilik ve tüm bu faktörlerin farklı vejetasyon tipleri ile desteklenmesi canlılık açısından yüksek endemizm oranına sahip bir kara parçası olmasına yol açmaktadır. Örneğin; Anadolu üzerindeki önemli sıradağlardan Anadolu Diyagonali; oluşumundan bu yana Orta ve Doğu Anadolu floraları ve faunası arasında bir biyocoğrafik sınır olarak tanınmaktadır. Bu gibi önemli coğrafik bariyerler de Anadolu içindeki biyolojik çeşitliliğin ve endemizmin artmasına ve korunmasına neden olmuştur (Korkmaz vd., 2014; Gür, 2017). Sürekli değişen ve dönüşen Dünya'da yaşanan iklimsel darboğazlarda ve buzul devirlerinde bir çok kez sığınak rolü üstlenmiş, bu nedenle günümüzde bitki ve hayvan türlerinin birçoğunun yeniden köken alıp Dünya üzerine yayılmasına aracılık etmiştir (Ambarlı vd., 2016; Gür, 2017; Noroozi vd., 2019).

Anadolu Diyagonali vb. büyük coğrafik bariyerler ya da üreme bariyerleri ile birbirinden ayrılan popülasyonlar yeni türler oluşturmaktadır. Fakat bu popülasyonlar birçok kez tekrar bir araya gelip morfolojik ve genetik olarak kafa karıştırıcı hibrit zonlar meydana getirmektedir. Özellikle morfolojik karakterlerde (örn. böceklerde aedeagus yapısı gibi) kesin farklılık gösteren türlerin genetik olarak farklılaşmamış olması ya da zıt şekilde morfolojik olarak birebir benzer olmasına rağmen üreme birliği oluşturmayan ve genetik farklılık tespit edilen popülasyonlar taksonomik tanım yapılırken bilim insanlarını zor durumda bırakmaktadır.

Bu çalışmada Anadolu'da yayılış gösteren *Simulium ornatum* tür grubuna ait türlerden çekirdek ve mitokondri genomuna ait 3 farklı gen bölgesi (NADH₂, COI, ITS1-2) çalışılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen veriler tür grubu açısından oldukça önemli sonuçlar ortaya koymuştur. Bu veriler özetlenecek olursa;

Tür grubunun Anadolu'da yayılış gösterdiği bilinen 5 türü bulunmaktadır. Yapılan kapsamlı arazi çalışmaları ve taksonomik karakterlerle gerçekleştirilen teşhis işlemleri sonucunda yalnızca 3 tür belirlenebilmiştir. Bunlar; *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve Türkiye için yeni kayıt olan *S. intermedium* dur.

Simulium kiritshenkoi Rubtsov (1940) Kuzey İran'dan tanımlanmıştır. Crosskey (2002) türün *Simulium caucasicum* (Rubtsov, 1940) türü ile sinonim olması gerektiğini önermiştir. Her iki tür de Avrupa'da geniş yayılış gösteren *ornatum* grubu türlerine çok benzer morfolojik özelliklere sahiptir. Terterian (1968) Ermenistan faunası üzerine yaptığı çalışmasında her iki türü *ornatum* 'un Transkafkasya'daki alttürleri olarak değerlendirmiştir (Crosskey, 2002). Bununla birlikte Rubtsov farklı çalışmalarında *kiritshenkoi* ve *caucasicum* 'u iki ayrı tür olarak ele almıştır. Rubtsov (1956)'un eski Sovyetler Birliği ülkeleri ve yakın komşularının Simuliidae faunası üzerine yayınlamış olduğu kitapta *caucasicum* türünün 4 alttürü ile Transkafkasya'da varlığı görülmektedir. Ancak yine de bu iki türün Transkafkasya ve komşu bölgelerdeki temsilcilerinin *ornatum* tür grubunun diğer bazı nominal türlerinden belirgin şekilde farklı olduğu şüphelidir (Crosskey, 2002). Kachvoryan vd. (2000) *caucasicum* türü ile *kiritshenkoi* türünün politen kromozom yapılarında hiçbir farklılık bulunmadığını ifade etmişlerdir. Adler (2019) tarafından güncellenen "Dünya Simuliidae Kataloğu"nda *caucasicum* Crosskey (2002)'nin önerdiği şekilde *kiritshenkoi* türünün sinonimi olarak kabul edilmektedir.

Ülkemizde ise bu türün varlığı ile ilgili ilk bulgu Jedlicka (1975)'e aittir. Araştırmacı türü *Odagmia ornata caucasica* olarak rapor etmiştir. Zwick (1978) türü Türkiye'den *Odagmia caucasica* olarak bildirmiştir. Kazancı ve Clergue-Gazeau (1990) türü *S. (O.) caucasicum* olarak ülkemizin farklı akarsularından bildirmişlerdir. Şirin (2001) ise bu türü yine *S. (O.) caucasicum* olarak Sakarya havzasından kaydetmiştir. Sonraki yıllarda tür *kiritshenkoi* olarak farklı çalışmalarda [Crosskey ve Zwick (2007), Kazancı ve Ertunç (2008a, 2008b, 2010), Ertunç vd. (2008), Ertunç (2009), Başören (Ertunç) ve Kazancı (2011, 2012), Başören ve Kazancı (2012, 2013), Başören, vd. (2013), Şirin vd. (2014, 2015), Şirin vd. (2017, 2019 yayımlanmamış proje raporları)] pek çok akarsu sisteminden rapor edilmiştir.

Çalışmamızda *S. kiritshenkoi* olarak teşhis edilen örnekler, Rubtsov (1956), Terterian (1968), Crosskey (2002, 2007) tarafından verilen tayin anahtarı ve deskripsiyonlar değerlendirilerek teşhis edilmiştir.

Simulium ornatum türü grubun tüm Palearktikte yayılış gösteren tip türüdür. Çalışmamızda *S. ornatum* olduğu tespit edilen bireylerin teşhisi Rubtsov (1956), Knoz, (1964), Bass, (1998) ve Jedlicka vd. (2004)'e göre larva ve pupa evresindeki bireylerin sıralanan karakterleri ile yapılmıştır.

Simulium intermedium türü ülkemizden ilk kez kaydedilmesine karşın, *ornatum* tür grubunun tüm Avrupa ile birlikte Akdeniz ülkelerinde yayılış gösteren türlerinden bir tanesidir. Çalışmamızda *S. intermedium* olduğu tespit edilen bireylerin teşhisi Knoz (1964), Bass (1998), Belqat ve Dakki (2004) ve Jedlicka vd. (2004)'te yer alan teşhis anahtarları ve deskripsiyonlara göre yapılmıştır.

Çalışmada *ornatum* tür grubu için örnekleme yapılan 222 lokalite içerisinde, ülkemizden daha önce rapor edilmiş *S. baracorne*, *S. trifasciatum* ve *S. fontanum* türlerinin tespit edildiği akarsular ve havzalar da bulunmaktadır.

Bu türlerden *S. fontanum* ülkemizden ilk kez Şirin ve Şahin (2005) tarafından bizim çalışmamızda da örnekleme yapılan iki lokaliteden (175. ve 177. istasyonlar) bildirilmiştir. Türün morfolojik olarak *S. caucasicum* (*kiritshenkoi*'nin sinonimi) ile çok benzer olduğu bilinmektedir (Rubtsov, 1956). Şirin ve Şahin (2005) türü Crosskey (2002)'ye göre erkek bireyin ventral plağının yapısına göre *fontanum* olarak tayin etmişlerdir. Ancak, bu çalışmada yapılan yeni örnekleme ile elde edilen larva ve pupaların temel özelliklerinin yanı sıra bir adet erkek farat pupanın ventral plağı *S. kiritshenkoi* ile uyumludur. Diğer yandan Kachvoryan vd. (2000) Ermenistan'da *ornatum* tür gurubu türleri üzerine yaptıkları sitotaksonomik araştırmada *fontanum* türü ile *caucasicum* türünün politen kromozom yapılarında hiçbir farklılık bulunmadığını ve ikisinin sinonim olabileceğini ifade etmişlerdir. Dolayısı ile *fontanum* ve *caucasicum* (*kiritshenkoi*) için kesin tür ayrımı, doğrulanması gereken bir problem olarak görülmektedir.

S. trifasciatum türünün ülkemizden kaydı verilen çalışmalarda (Kazancı ve Ertunç, 2008a) teşhislerin sadece pupa evresindeki bireyler ile yapılmış olması ve herhangi bir deskripsiyon bilgisinin olmaması nedeniyle türün ülkemizdeki varlığının şüpheli olduğu düşünülmektedir.

S. baracorne türü ise ülkemizden Sakarya ve Büyük Menderes havzalarındaki akarsulardan bildirilmiştir. Ancak çalışma süresince bu havzalarda yapılan örneklemelerde türe rastlanmamıştır.

Bu türler üzerinde 3 belirteç kullanılarak çok sayıda analiz gerçekleştirilmiştir. Yapılan filogenetik analizlerin hepsinde *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* türleri 2 farklı tür yerine tek tür olarak şekillenmiştir. *S. intermedium* türünün ise NADH₂ 233 hp veri setine uygulanan BI analizinde olduğu gibi ayrı tür olarak desteklendiği COI 277 hp veri setine uygulanan MO analizinde ise *S. ornatum* + *S. kiritshenkoi* grubunun farklı bir popülasyonu gibi desteklendiği görülmektedir. Bu nedenle sonuçların değerlendirilmesi yapılırken *S. ornatum*'a klad-a, *S. kiritshenkoi*'ye klad-b ve *S. intermedium*'a klad-c isimleri verilecektir. Analizler ayrıntılarıyla aşağıda değerlendirilmiştir.

5.1. *Simulium ornatum* Tür Grubu'nun Cins İçindeki Yeri Analizlerinin Değerlendirilmesi

Tür grubunun monofiletik bir yapıya sahip olup olmadığını değerlendirmek için gen bankasından *Simulium* cinsine ait 21 tür 81 bireyin COI gen bölgesi indirilmiş ve tez çalışmasını homojen olarak temsil edecek 34 örnekle birlikte 351 baz çifti 84 haplotipli bir veri seti oluşturulmuştur.

Uygulanan filogenetik analizlerde (MO ve SVDquartets) *S. ornatum*+ *S. kiritshenkoi*+*S. trifasciatum* kladı, *S. intermedium* kladı ve *S. decorum-noelleri-morsitans* kladı yakın ve iç grupta politomik dallanma göstermişlerdir. Morfolojik olarak farklı olan bu türlerin veri setinin düşük baz çiftine sahip olması nedeni ile bu denli yakın çıktığı düşünülmektedir. BI analizi sonucu Klad a+b+c; *S. decorum-noelleri-morsitans* kladı ile trikotomik bir dallanma göstermiştir. Analiz *S. intermedium* türüne (1) son olasılık değeri

vermiş ve ayrı bir tür olduğunu desteklemiştir. Fakat *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. trifasciatum* türlerinin ayrı tür statüsünü desteklememiştir.

Aynı veri setine uygulanan Network analizinde haplotipler filogenetik ağaçlarla uyumlu şekilde sonuç vermiştir. *S. ornatum*+*S. kiritshenkoi*+*S. trifasciatum* haplotipleri iç içe bulunurken *S. intermedium* türünün haplotipleri bu kladdan uzakta şekillenmişlerdir.

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen geniş örnekleme çalışmaları sırasında *S. trifasciatum* türüne ait örnekleme yapılamamıştır. Ülkemizden varlığı Başören ve Kazancı (2016) tarafından, Çoruh havzası, Doğu Karadeniz Bölgesi, Sakarya havzası Yedigöller (Bolu), Yeşilirmak havzası, Yuvarlakçay nehrinde bulunduğu bildirilmiştir. NCBI'a İngiltere'den yüklenmiş *S. trifasciatum*'a ait COI gen bölgesi dizileri indirilmiş ve bu analize dâhil edilmiştir. Analiz sonucunda türe ait haplotiplerin *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* türlerinin haplotipleriyle birlikte düşük dal destekli politomik dallanma gösterdiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar *S. trifasciatum* türünün ülkemizdeki varlığının ve taksonomik teşhislerinin kontrol edilmesi gerekliliğini doğurmaktadır.

5.2. *S. ornatum* Tür Grubu COI Gen Bölgesi Filogenetik Bulguları Değerlendirilmesi

Tez kapsamında analizleri gerçekleştirilen ilk belirteç COI gen bölgesi olmuştur. Oluşturulan veri seti yüksek sayıda tekli haplotip önermiştir. Bu haplotip sayısının analizlerin doğruluğunu etkileyip etkilemediğini görmek için COI haplotipleri homojen bir şekilde elenerek 277'den 162 haplotipe düşürülmüştür ve her iki veri seti ile aynı analizler gerçekleştirilerek, yüksek sayıda haplotipin analiz doğruluğunu etkileyip etkilemediği test edilmiştir.

162 haplotipli veri seti analizleri yorumlanacak olursa; SVDquartetes, MP ve MO analizleri düşük dal destek değeri nedeniyle tüm kladları "tek bir türün farklı popülasyonları" gibi önermiştir. Bu analiz sonucunda, *S. intermedium* türü yeni türleşmeye başlayan bir popülasyon olarak yorumlanabilir. Yapılan tüm analizlerde *S. intermedium*'un iç dalda destek değeri % 100 dür. Klad a+b ise birlikte bir popülasyon oluşturmaktadırlar. Kladın haplotipleri arasında anlamlı bir coğrafik örüntü bulunmamaktadır. Aynı şekilde morfolojik teşhis ile de ilişkilendirilememiştir.

Aynı veri setinin haplotip ağı analizlerinde de durum farklı görünmemektedir. Hem Network hem de SplitsTree analizinde *S. intermedium* türü farklı bir populasyon/tür olarak şekillenirken *S. ornatum*+ *S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu klad a+b yine iç içe şekillenmiştir.

Tür sınırları belirleme testlerinden;

-ABGD Klad a+b'yi ve Klad c'yi iki ayrı tür olarak belirlemiştir.

-TCS analizi % 90 parametre ile gerçekleştirildiğinde Klad a+b yi tek tür olarak belirlerken, Klad c'den bir haplotipi (335itfeg-İtalya-Fegana) ayrı bir tür olarak önermekte ve toplamda 3 tür belirlemektedir.

-TCS analizi % 95 parametre ile gerçekleştirildiğinde 6 farklı tür önermektedir. Klad a+b içinden 150,197 ve 332 kodlu haplotipleri ayrı tür, 142 ve 143 kodlu haplotipleri ayrı tür, 337 kodlu haplotip ayrı tür ve geri kalan haplotipler bir tür olmak üzere 4 farklı tür önerirken, Klad c'yi yine aynı haplotiplerle 2 türe ayırmaktadır.

Gerçekleştirilen BEAST analizi sonucu Klad a+b ile Klad c en son 3,70 myö ortak atayı paylaşmışlardır. Bu devir Pliyosen-Pleistosen arası biyoçeşitliliğin yoğun olarak arttığı döneme tekabül etmektedir.

277 haplotipli veri seti analizleri yorumlanacak olursa; Bu veri setine MP analizi uygulanamazken BI analizi uygulanabilmiştir. 162 hp veri setinde olduğu gibi MO ve SVDquartets analizleri klad a+b'yi ve klad c'yi 2 farklı populasyon olarak önerirken, BI analizi (1) son olasılık değeri ile klad c'yi ayrı bir tür olarak önermektedir. Aynı veri setinin haplotip ağı analizlerinde 162 hp veri seti ile bire bir aynı sonucu vermektedir.

Tür sınırları belirleme testlerinden;

-ABGD; Klad a+b'yi ve Klad c'yi iki ayrı tür olarak belirlemiştir.

-TCS analizi % 90 parametre ile gerçekleştirildiğinde Klad a+b yi tek tür olarak belirlerken, Klad c'den bir haplotipi (335itfeg-İtalya-Fegana) ayrı bir tür olarak önermekte ve toplamda 3 tür belirlemektedir.

-TCS analizi % 95 parametre ile gerçekleştirildiğinde 4 farklı tür önermektedir. Klad a+b içinden 337 kodlu haplotip bir tür ve geri kalan haplotipler bir tür olmak üzere 2 farklı tür önerirken, Klad c'yi yine aynı haplotiplerle 2 türe ayırmaktadır.

Gerçekleştirilen BEAST analizi sonucu Klad a+b ile Klad c en son 3,05 myö ortak atayı paylaşmışlardır. Bu devir Pliyosen-Pleistosen arası biyoçeşitliliğin yoğun olarak arttığı döneme tekabül etmektedir.

COI de gerçekleştirilen haplotip eleme yöntemi iki veri setinin analiz sonuçlarında yüksek oranda benzerlik görülmesi ile sonuçlanmıştır. Bu nedenle diğer gen bölgelerinde eleme ile haplotip sayısı azaltılmamıştır.

5.3. *S. ornatum* Tür Grubu NADH₂ Gen Bölgesi Filogenetik Bulguları Değerlendirilmesi

Tez kapsamında analizleri gerçekleştirilen ikinci belirteç NADH₂ gen bölgesidir. 232 haplotipli bu veri setinde COI analizlerinde değerlendirilme şansı olmayan 2 haplotip farklı tür olarak önerilmektedir (343-Hırvatistan, 346-Sırbistan). Morfolojik olarak *S. ornatum* türünden her hangi bir farklılık göstermeyen bu bireyler genetik olarak analizlerde farklılık göstermiştir. Bu nedenle her iki haplotipe de *S. ornatum* sp. (klad d) ismi verilmiştir.

MO, BI ve SVDquartets analizleri klad a+b, klad c ve klad d'yi trikotomik dallanma ile 3 farklı populasyon/tür olarak önermektedir. MO analizinde iç dalda her bir klad sırasıyla 87, 97 ve 98 gibi yüksek dal destek değerleriyle desteklenirken, benzer şekilde BI analizinde de kladlar sırasıyla 1, 0.92 ve 1 son olasılık değerleri almışlardır.

Aynı veri setinin haplotip ağı analizlerinde ise durum aynıdır. Hem Network hem de SplitsTree analizinde *S. intermedium* ve *S. ornatum* sp. türleri farklı populasyon/tür olarak şekillenirken *S. ornatum*+ *S. kiritshenkoi* türlerinin oluşturduğu klad a+b yine iç içe şekillenmiştir.

Tür sınırları belirleme testlerinden;

-ABGD; Klad a+b, Kladc ve Klad'yi 3 ayrı tür olarak belirlemiştir.

-TCS analizi % 95 parametre ile gerçekleştirildiğinde; iç grupta 5 farklı tür önermektedir. Bunlardan ilki Klad a +b dir, 2. önerilen tür Klad c haplotipleri arasından İtalya-İmera'dan elde edilen 342NitimeO kodlu bireydir 3. tür kalan Klad c türü haplotipleridir. Analizde 4. ve 5. türler *S. ornatum sp.* ait 2 haplotipin 2 farklı tür olarak analiz edilmesiyle elde edilmiştir.

-TCS % 90 parametre ile gerçekleştirildiğinde; iç grupta 4 tür önermektedir. TCS (% 95) analizi sonuçlarıyla birebir aynı çıkan bu analizdeki tek fark *S. ornatum sp.*'e ait 2 haplotipin tek tür olarak önerilmesidir.

Gerçekleştirilen BEAST analizi sonucu Klad a+b, Klad c ve Klad d en 3,44 myö ortak atayı paylaşmışlardır. Bu devir Pleistosen- Pliyosen ara devrine tekabül etmektedir.

5.4. *S. ornatum* Tür Grubu ITS 1-2 Bölgesi Filogenetik Bulgularının Değerlendirilmesi

Haplotip paylaşımının diğer belirteçlere oranla daha yoğun olarak görüldüğü bu nükleer bölgede 168 allelli bir veri seti ile Network analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda mitokondriyal genlerden farklı bir sonuç ortaya çıkmıştır. Analiz tüm veri setini tek tür olarak yorumlayabileceğimiz bir örüntüyle sonuçlandırmıştır. Bunun yanı sıra; Erzurum-Erzincan-Tunceli-Çorum-Eskişehir-Kocaeli illerini içeren bir kol ana yumaktan ayrılmaktadır. Kuzey Anadolu fay hattı üzerindeki bu lokalitelerin ana grubuptan ayrılması dikkat çekicidir.

ITS1-2 veri seti içindeki indel bölgeleri 5 karakter ile doldurularak filogenetik analizlerden SVDquartets analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz düşük dal destek değerli politomik bir ağaçla sonuçlanmış, herhangi bir populasyon ya da tür örüntüsüne işaret etmemiştir.

5.5. Geometrik Morfometri Bulgularının Değerlendirilmesi

Simuliidae taksonomisinde pupa solunum filamentlerinin yapısı (ipliksi, tüpsü vb gibi), filamentlerin sayısı ve dallanma şekli cins ve türlerin ayırımında kullanılan en temel karakterlerden bir tanesidir. Bununla birlikte özellikle *ornatum* tür grubu gibi morfolojik benzerliklerin fazla olduğu türlerin ayırımında bu yapıların kullanılması her zaman yeterli olmamakta ve doğru sonuç vermemektedir. Gruba ait türlerin ayırımında tayin anahtarlarında sık kullanılan filament ortak saplarının, açısı, boy ve kalınlığı gibi kriterlerin varyasyonel olduğu, aynı türün mevsimsel olarak farklı jenerasyonlarında dahi varyasyonların görülebildiği belirtilmektedir (Jedlicka vd., 2004).

Geometrik morfometri analizlerinde, tür teşhisinde kullanılan ana taksonomik karakterlerden filament karakterinin kartezyen analizleri sonucu işlevsiz olduğu ve tür grubu türlerinin ayırımı için yeterli bir karakter olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Filogenetik analizler ile birlikte değerlendirildiğinde bu karakterin çok varyasyonel olması sebebiyle birden fazla yapay takson türetmiş olabileceğine ve morfolojik tayinin genetik çeşitlilik ve filogenetik analizlerle doğrulanmaya ihtiyacı olacağına kanaat getirilmiştir.

5.6. Genetik Çeşitlilik Bulgularının Değerlendirilmesi

S. ornatum tür grubunun populasyon genetiği parametreleri, populasyonlar arası farklılaşma derecelerinin zayıf olduğunu göstermektedir. COI gen bölgesi ile yapılan analizlerde; tür grubu içerisinde genetik olarak birbirine en uzak populasyonların Marmara-Meriç Ergene ve Van (0.18762) populasyonları olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Anadolu coğrafyası göz önüne alındığında bu sonucu elde etmek şaşırtıcı değildir. En yakın populasyonlar ise Van - Çoruh (-0.46780) ve Burdur - Çoruh (-0.26076) olarak analiz edilmiştir. Burdur ve Çoruh populasyonlarının yakın olarak çıkmasının nedeni Çoruh populasyonunun analize 2 bireyle katılması olarak yorumlanmaktadır. NADH₂ gen bölgesi ile yapılan analizlerde; tür grubu içerisinde genetik olarak birbirine en uzak populasyonların yine Marmara-Meriç Ergene ve Van (0.14247), en yakın populasyonların Seyhan-Ceyhan - Gediz-Büyük-Küçük Menderes (- 0.12415) ve Seyhan-Ceyhan - Fırat-Dicle (-0.11716) populasyonları olduğunu göstermektedir.

Elde edilen F_{st} değerleri ile populasyonlar incelenecek olursa; her iki gen bölgesi içinde Tajima'nın D 'si Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarında anlamlı ve negatif değerli çıkmıştır. Bu populasyonlar kendilerine sınır komşusu olan populasyonlarla değerlendirildiğinde, her iki populasyonda da yakın zamanda genişleme olduğu ve istatistiki olarak bu durumun desteklendiği görölmektedir. Populasyonlar arasındaki ikili farklılaşma değerleri oldukça düşüktür.

COI ve NADH₂ gen bölgelerine ait veri setlerine uygulanan nötralite ve mismatch analizleri sonucunda Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarında Tajima'nın D 'si genişleme yönünde nötraliteden sapmaya işaret etmektedir. Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarından elde edilen sonuçlarda populasyonun yakın geçmişte bir genişlemeye uğradığı gözlemlenmiştir, bu değer P değerleri ile desteklenmektedir. Analizde Tajima'nın D 'si verileri değerlendirilirken P değeri 0.05 altındaki değerler dikkate alınmıştır. $P < 0.05$ değeri üstünde çıkan P değerleri istatistiki olarak anlamlı değildir. Fu's F_s testinde P değeri açısından anlamlı çıkan fakat Tajima'nın D 'si bakımından anlamsız çıkan sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır. 2 farklı metodolojinin de desteklediği sonuçlar tez kapsamında değerlendirilmiştir.

Grubun türleri farklı yükseklik ve habitatlarda saptanmıştır. Ayrıca populasyonlar arası farklılıkları düşük çıkmıştır. Bu nedenle analizler sonucunda tür grubunun rakım, sıcaklık ve habitatlara özgül tercihinin geniş olduğu görölmektedir. Grubun erginleri aktif olarak uğma yeteneğine sahiptir. Uğma mesafelerinin 15 km ile 40 km arasında değiştiiği, bu durumun Afrika'da rüzgâr akımları yardımıyla 400 km'ye kadar çıkabildiği bilinmektedir (Cecilia ve Arias, 2007). Türlerin hareket yetenekleri ile dağılma (dispersal) kapasiteleri arasında bir ilişki beklenir (Boztepe, 2012). Tür grubunun hareket kabiliyeti göz önüne alındığında, dispersal yeteneğinin oldukça kuvvetli olduğu görölmektedir.

Her iki mitokondriyal belirteçte yapılan analizlerde yüksek oranda benzer sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlara göre;

S. ornatum Meigen, 1818 ve *S.kiritshenkoi* Rubtsov, 1940 diye ayrı türler bulunmamaktadır. Taksonomik açıdan karar verilmesi zor olan bu türler genetik olarak da tek bir türe işaret etmektedir. Bu nedenle *S.kiritshenkoi* nominal türünün ciddi bir

revizyona ihtiyacı vardır. *S. intermedium*'un *ornatum* ve *kiritshenkoi*'den ayrı bir tür olarak değerlendirilmesi birçok soru işareti ile birlikte mümkündür. Bu türün haplotiplerini oluşturan bireylerin elde edildiği lokaliteler [Denizli- Ankara- İtalya (Fegana- Rustica- Gesso- Imera) -Fransa (Corsica)] bir coğrafik örüntü oluşturmamaktadır. Tüm analizlerle değerlendirildiğinde yaklaşık % 70 gibi bir oranda ayrı bir tür olduğu desteklenmektedir. Bu türü *S. ornatum*+ *S. kiritshenkoi* türü ile birlikte "fenotipik ve genetik açıdan oldukça varyasyonel ve farklılaşması tamamlanmamış veya tamamlanmakta olan kardeş türler" olarak yorumlamak daha doğru olacaktır.

Moleküler saat analizi sonuçlarında görülebileceği üzere bu türlerin Pleistosen-Pliyosen geçişinde, Pliyosenin son döneminde ayrıldığı öngörülmektedir (3,05-3.44 myö). Bu dönemde oldukça soğuk ve kurak iklim şartları hüküm sürmüştür. Anadolu ve Trakya arasındaki bölge, Pliyosende yaşanan soğuk ve kurak iklim ile Pleistosen buzul dönemleri süresince kapanıp açılmıştır. Böylece bu kara parçaları arasında kara köprüleri oluşmuştur (Selvi, 2019). Çalışma sonuçları bu yolların Avrupa kökenli olduğu düşünülen *S. intermedium* ve *S. ornatum* türlerinin ve Kafkasya kökenli *S. kiritshenkoi* türünün, Anadolu - Avrupa arasında geçiş yapıp geri dönmeleri için uygun zemini oluşturduğunu düşündürmektedir.

Geç Pliyosen - Erken Pleistosen döneminde yaşanan iklim değişiklikleri *S. ornatum* türünün Anadolu'da konaklayıp Kafkas kökenli *S. kiritshenkoi* türü ile hibritleşmesini sağlarken, *S. intermedium* türü popülasyonları için tersi bir durum yaratıp tür sınırlarını korumasını sağlamış olabilir. Tez çalışmasında *S. intermedium* türünün Doğu Anadolu'da görülmemesinin sebebi de bu olarak düşünülmektedir. Tür, ara ılıman dönemde Orta Anadolu'ya kadar gelmiş, diğer türlerle herhangi bir temasta bulunmadan, burada yayılış alanı sınırlanmış olabilir. Buradan hareketle çalışmada tespit ettiğimiz kardeş türlerin simpatrik türleşmeye güzel bir örnek teşkil ettiği düşünülmektedir.

Buradaki temel soru şu olmalıdır. Moleküler analizler ışığında tek tür olarak bahsedebileceğimiz *S. ornatum*+ *S. kiritshenkoi* grubu Avrupa'dan Anadolu'ya ve oradan Kafkaslara mı yayıldı? Yoksa Kafkaslardan mı Avrupa'ya doğru yayıldı? Bu sorunun cevabı ancak Kafkas ve İran popülasyonlarının ve Orta-Kuzey Avrupa popülasyonlarının

kapsayan çalışmalar ile verilebilecektir. Türler için verilecek kesin taksonomik karar için geniş kapsamlı bu tür çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Yaptığımız çalışmada Pliyosen-Pleistosen devirlerinde yaşanan tektonik, jeolojik ve iklimsel değişimlerin tür grubunun yayılışı ve türleşmesi üzerinde etkisi olduğu ortaya konulmuştur.

Yapılan morfotaksonomik, filogenetik, morfometrik ve genetik çeşitlilik analizleri ışığında aşağıdaki sonuçlara varılmıştır;

i) Tür grubunun ülkemizdeki populasyonlarının sahip olduğu genetik çeşitlilik miktarının yüksek olmadığı bununla birlikte Sakarya ve Fırat-Dicle populasyonlarında nispeten anlamlı bir genişleme görüldüğü,

ii) Morfotaksonomik özellikleriyle *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* olarak teşhis ettiğimiz iki türün genetik olarak tek bir tür olduğu,

iii) Ülkemizden ilk kez kaydedilen *S. intermedium* türünün, filogenetik analizler sonucunda, *ornatum+kiritshenkoi* kladıyla yeterince farklılaşmamış/tamamlanmamış soy hattına sahip olarak değerlendirilebileceği, bununla birlikte BEAST analizi sonucunda bu türün, *S. kiritshenkoi+S. ornatum* kladı ile 3,02-3,77 (Pleistosen-Pliyosen geçişi) myö son ortak atayı paylaştığı,

iv) *S. ornatum* türü Avrupa bireyleri ve Anadolu'dan *S. ornatum* ve *S. kiritshenkoi* olarak teşhis edilmiş bireyler arasında genetik olarak fark olmadığı,

v) Familya türlerinin morfolojik ayrımlarında temel karakter olarak sık kullanılan pupa solunum filamentlerinin, *ornatum* tür grubu türlerinin birbirlerinden ayrımı için güvenilir bir taksonomik karakter olmadığı,

sonuçlarına ulaşılmıştır.

Bununla birlikte çalışma sonucunda *S. ornatum*, *S. kiritshenkoi* ve *S. intermedium* türleri için NADH₂ gen bölgesi verileri NCBI gen bankasına ilk kez kaydedilecektir. Diğer yandan ülkemizden kaydı bilinen *S. trifasciatum* türü için NCBI'dan elde edilen COI gen dizileri ile çalışmada elde edilen *ornatum + kiritshenkoi* kladı dizileri arasında belirgin bir farkının olmaması da dikkat çekmiştir.

Öneriler;

1- Çalışmada elde edilen sonuçlara göre genetik olarak *S. ornatum* Meigen, 1818 türü ile aynı olan *S. kiritshenkoi* Rubtsov, 1940 türünün taksonomik statüsü belirlenmelidir. Bu amaçla Anadolu ve Avrupa populasyonlarının yanı sıra türün yayılış gösterdiği Kafkasya ve İran populasyonlarını da kapsayacak şekilde kapsamlı filogenetik ve filocoğrafik analizler yapılmalıdır.

2- Çalışma sonuçları *ornatum* tür grubu içerisinde tanımlanmış çok sayıdaki morfotaksonomik tür tanımının yeniden gözden geçirilmesine ve genetik olarak tür sınırlarının belirlenmesi gerektiğine işaret etmektedir. Benzer şekilde, *ornatum* grubu türlerinin tümü için DNA tabanlı kapsamlı filogenetik ve filocoğrafik araştırmalar planlanmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adams, D. C., Rohlf, F.J., Slice, D.E.. 2004, Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’, *Italian Journal of Zoology*, 71, p. 5-16.
- Adams, D. C., Rohlf, F.J., Slice, D.E. 2013, A field comes of age: geometric morphometrics in the 21th century, *Italian Journal of Mammalogy*, 24 (1): p.7-14.
- Adler, P.H., Currie, D.C., Wood, D.M., 2004, *The black flies (Simuliidae) of North America*, Ithaca, NY: Cornell University Press, p.941.
- Adler, P. H., Cheke, R.A., Post, R.J. 2010, Evolution, epidemiology, and population genetics of black flies (Diptera: Simuliidae), *Infection, Genetics and Evolution*, 10, (7):846-65. 846–865. doi:10.1016/j.meegid.2010.07.003.
- Adler, P.H., Inci, A., Yildirim, A., Seitz, G., Duzlu, O., 2012, Chromosomal insights into the pest status of the subgenus *Wilhelmia* in Turkey, 5th International Simuliid Symposium, 3–7 September 2012, Comenius University, Bratislava, Slovakia, p. 9.
- Adler, P.H., Şirin, Ü.D., 2014, Cytotaxonomy of the *Prosimulium* (Diptera: Simuliidae) of western Asia, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 171, p. 753-768.
- Adler, P.H., Şirin, Ü.D., 2015, A new species of black fly in the *Prosimulium hirtipes* (Fries) group (Diptera: Simuliidae) from Western Turkey, *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 117(2), p.85-94.
- Adler, P.H. 2019, *World blackflies (Diptera: Simuliidae): a comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory*, South Carolina: USA.
- Adrianov, B.V., Goryacheva, I.I., Vlasov, S.V., Gorelova, T.V., Harutyunova, M.V., Harutyunova, K.V., Mayilyan, K.R. ve Zakharov, I.A., 2015, Identification of potentially invasive species of black flies [Diptera: Simuliidae] from Armenia based on an analysis of variability in the mtDNA barcode of the cox1 gene and chromosomal polymorphism, *Russian Journal of Genetics*, 51(3), p.289-299.
- Aguilera-Muñoz, F., Valenzuela-Muñoz, V., Gallardo-Escárate, C. 2008, Authentication of commercial chilean mollusks using Ribosomal internal transcribed spacer (its) as Specie-specific dna marker, *Gayana*, 72(2), 178-187.
- Akın, M., Akın, G., 2007, Suyun önemi, Türkiye’de su potansiyeli, su havzaları ve su kirliliği, *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 47, 2 s.105-118.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ambarlı, D., Zeydanlı, U. S., Balkız, Ö., Aslan S. Karaçetin, E., Sözen, M., Ilgaz, Ç., Ergen, A. G., Lise, Y., Çağlayan, S. D., Welch, H. J., Welch, G., Turak, A.S., Bilgin C.C., Özkil, A. ve Vural, M., 2016, An overview of biodiversity and conservation status of steppes of the Anatolian biogeographical region, *Biodiversity Conservation*, 25:2491–2519. Doi. 10.1007/s10531-016-1172-0.
- Anonim, 2019a, <http://www.fluxux-engineering.com>, Erişim tarihi: 19.12.2019.
- Anonim, 2019b, <http://www.cem.gov.tr/erozyon/anasayfa/havzaplantlama/genelbilgiler>, erişim tarihi: 19.12.2019
- Anonim, 2019c, www.ncbi.nlm.nih.gov/blast, erişim tarihi: 19.12.2019
- Anonim, 2019d, <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/>, erişim tarihi: 19.12.2019
- Anonim, 2019e, <https://www.geneious.com>, erişim tarihi: 23.12.2019
- Austen, E. E., 1925, A contribution to the knowledge of the bloodsucking Diptera of the Dardanelles, *Bulletin of Entomological Research*, 16,1: 1-13.
- Avise, J.C., 2004, *Molecular markers, natural history, and evolution*, Maryland, Sinauer-Sunderland. Springer, 398 pp.
- Aytekin, S., Aytekin, A.M., Alten, B., 2009, Effect of different larval rearing temperatures on the productivity (Ro) and morphology of the malaria vector *Anopheles superpictus* Grassi (Diptera: Culicidae) using geometric morphometrics, *Journal of Vector Ecology*, 34 (1), p.32-42.
- Balık, S., Ustaoglu, M. R., Özbek, M., Taşdemir A., Topkara, ET., 2002, Yelköprü mağarası (Dikili, İzmir) ve yakın çevresinin sucul faunası hakkında bir ön araştırma, [A preliminary study on the aquatic fauna of Yelköprü Cave (Dikili, İzmir) and its vicinity], *E. U. Su Ürünleri Dergisi [E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences]*, 19(2), s.210 – 225.
- Bass, J., 1998, Last-instar larvae and pupae of the Simuliidae of Britain and Ireland, *Freshwater Biological Association*, 55, Cumbria U.K., p.102.
- Başbüyük, H. H., Yılmaz, A. ve Kılınç, S. 2013, *Biyçeşitlilik, biyolojik devinimler ve koruma*. Palme yayınevi-Akademik kitaplar. Ankara. 259 s.
- Başören (Ertunç) Ö., Kazancı, N., 2012, Clustering of Simuliidae (Insecta, Diptera) species and sampling sites according to their similarities by using the UPGMA method, *Review of Hydrobiology*, 5,1: 19-33.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Başören, Ö., Kazancı, N., 2012, Contribution to the knowledge of Simuliidae (Diptera, Insecta) fauna of Turkey: Eastern Black Sea Region, Review of Hydrobiology, 5,2: 121–130.
- Başören, Ö., Kazancı, N., Girgin, S., 2013, The distribution of Simuliidae (Insecta, Diptera) species in Ankara stream (Turkey), Review of Hidrobiology, 6(2), p.157-167.
- Başören, Ö., 2015, Doğu Karadeniz bölgesi Simuliidae (Insecta, Diptera) faunasinin ve türlerin habitat kalitelerinin Avrupa Birliği su çerçeve direktifi'ne göre belirlenmesi üzerine bir araştırma, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 171s.
- Başören, Ö., Kazancı, N., 2015, The species key to the Simuliidae larvae (Insecta, Diptera) in running waters of eastern Black Sea region (Turkey), Review of Hydrobiology, 8,2: 105-118.
- Başören, Ö., Kazancı, N., 2015, The distributional data of Simuliidae (Insecta, Diptera) species in Yeşilirmak river (Turkey), Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research, 17(1), 29-38.
- Başören, Ö., Kazancı, N., 2016, A checklist of Simuliidae (Insecta, Diptera) species of Turkey. Review of Hydrobiology, 9,2: 153-164.
- Belqat, B., Dakki, M., 2004, Clés analytiques des Simulies (Diptera) du Maroc [Identification keys of the black-flies (Diptera: Simuliidae) of Morocco], Zoologica Baetica, 15. p.77-137.
- Bernotien, R., 2010, On the biology of *Simulium ornatum* group (Diptera: Simuliidae), New and Rare for Lithuania Insect Species, 22, p.11-16.
- Bilgin, R., 2011, Back to the suture: the distribution of intraspecific genetic diversity in and around Anatolia, International Journal of Molecular Science, 12, p.4080-4103.
- Boore, J. L., 1999, Animal mitochondrial genomes, Nucleic Acids Research, 27,8, p.1767–1780.
- Boztepe, Z., 2012, *Poecilimon luschani* tür grubu (Orthoptera, Tettigoniidae): taksonomisi, filogenisi ve filocoğrafyası, Yüksek lisans tezi, Akdeniz üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü, 75 s.
- Bukacinski, D., Bukacinska, M., 2000, The impact of mass outbreaks of black flies (Simuliidae) on the parental behaviour and breeding output of colonial gulls (*Larus canus*), Annales Zoologici Fennici, 37: 43-49.
- Cecilia, S. C., Arias, C. C., 2007, Aquatic biodiversity in latin America Vol 3. Neotropical Simuliidae (Diptera: Insecta), Pensoft. Sofia-Moscow, 685 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Clement, M., Posada, D., Crandall, K. A., 2000, TCS: a computer program to estimate gene genealogies, *Molecular Ecology*, 9 (10): 1657-1660.
- Cox, C. B., Moore, P. D., 2005, *Biogeography: an ecological and evolutionary approach*, 7th edition, Blackwell Publishing, Oxford. 428s.
- Crosskey, R. W., 1990, *The natural history of Blackflies*, Wiley and Sons, Chichester. 711 s.
- Crosskey, R.W., Crosskey, M.E., 2000, An investigation of the blackfly fauna of Andalusia, southern Spain (Diptera:Simuliidae), *Journal of Natural History*, 34, p.895 – 951.
- Crosskey, R.W., Zwick, H., 2007, New faunal records, with taxonomic annotations, for the blackflies of Turkey (Diptera, Simuliidae), *Aquatic Insects*, 29, p.21-48.
- Crosskey, R.W., 1991, The blackfly fauna of Majorca and other Balearic islands (Diptera: Simuliidae), *Journal of Natural History*, 25, p.671–690.
- Crosskey, R.W., 1998, Records of Blackflies from mainland Greece (Diptera: Simuliidae), *Entomologist's Gazette*, 49, p.277-283.
- Crosskey, R.W., 2002, A taxonomic account of the blackfly fauna of Iraq and Iran, including keys for species identification (Diptera: Simuliidae), *Journal of Natural History*, 36, p.1841 – 1886.
- Crosskey, R.W., 2004, A new taxonomic and geographical inventory of World blackflies (Diptera: Simuliidae), *Nat. Hist. Museum, London*.
- Crosskey, R.W., Malicky, H., 2001, A first account of the black flies (Diptera, Simuliidae) of the Greek islands, *Studia Dipterologica*, 8, p.111–141.
- Çağlar, S.S., İpekdal, K., 2009, A biogeographical evaluation of the Turkish Simuliidae fauna, *Acta Zoologica Lituanica*, 19, p.148-151.
- Çıplak, B., 2003, Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bush-crickets in Turkey: the importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implication for conservation, *Biodiversity and Conservation*, 12, p.47–64.
- Çıplak, B., 2004, Systematics, phylogeny and biogeography of *Anterastes* (Orthoptera, Tettigoniidae, Tettigoniinae): evolution within a refugium, *Zoologica Scripta*, 33, p.19–44.
- Çıplak, B., 2008, The analogy between interglacial and global warming for the glacial relicts in a refugium, Ed. Fattorini S., *Insect Ecology and Conservation*, Research Signpost, p.135–163.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Day, J.C., Goodalls, T.I., 2008, Intragenomic rDNA ITS1 & ITS2 variation in the British *Simulium* (*Simulium*) *ornatum* group (Diptera: Simuliidae), The Centre for Ecology and Hydrology,
- Day, J.C., Goodalls, T.I., Post, R.J., 2008, Confirmation of the species status of the blackfly *Simulium galeratum* in Britain using molecular taxonomy, Medical and Veterinary Entomology, 22, p.55–61.
- Demircioğlu, A., 2014, Erciyes dağı akarsularında simulium türlerinin araştırılması ve moleküler klasifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, , 82 s.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007, Beast: bayesian evolutionary analyses by sampling trees, BMC Evolutionary Biology, 7, p.214-221.
- Duknik, J., Jovanovic, M.V., Popovic, N. Zivic, I. Rakovic, M., Cerba, D., Paunovic, M. 2019, Phylogeography of *Simulium* subgenus *Wilhelmia* (Diptera: Simuliidae) insights from Balkan populations, Journal of Medical Entomology, 56(4), 967–978. doi: 10.1093/jme/tjz034.
- Ertunç, Ö., Türkmen, G., Kazancı, N., 2008, Research on Simuliidae (Insecta, Diptera) fauna of Yedigöller National park (Bolu, Turkey), Review of Hydrobiology, 2, p.81-92.
- Ertunç, Ö., 2009, Türkiye'nin batısındaki bazı akarsuların Simuliidae (Insecta, Diptera) faunası üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. s.103.
- Ertunç, Ö., Kazancı, N., 2009, Key of blackflies (insecta, Diptera, Simuliidae) larvae in some running waters of western Turkey, Review of Hydrobiology., 1, p.23-43.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S., 2005, Arlequin v.3.0: an integrated software package for population genetics data analysis, Evolutionary Bioinformatics Online 1: p.47–50.
- Felsenstein, J., 1985, Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, Evolution, 39: 783-791.
- Francuski, L., Vujic, A., Kovacevic, A., Ludoski, J., Milankov, V. 1996, Identification of the species of the *Cheilosia variabilis* group (Diptera, Syrphidae) from the Balkan peninsula using wing geometric morphometrics, with the revision of status of *C. melanopa redi* Vujic, Contributions to Zoology, 78,3, p.129-140.
- Fu, Y. X., 1997, Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection, Genetics, 147, 915-925.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gazyağcı, A., 2011, Kırıkkale ve Ankara yöresi Kızılırmak nehri'nde *Simulium* türlerinin yayılışı, Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s. 106.
- Gür, H., 2017, Anadolu diyagonalı: bir biyocoğrafi sınırın anatomisi, *Kebikec: İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmalı Dergisi*, 43,177-188.
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., deWaard, J. R., 2003, Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 270, 96–99, Doi, 10.1098/rsbl.2003.0025
- Hellgren, O., Bensch, S., Malmqvist, B., 2008, Bird hosts, blood parasites and their vectors-associations uncovered by molecular analyses of blackfly blood meals, *Molecular Ecology*, 17,6, p.1605-1613.
- Hill, E., Hall, J., Letourneau, I. D., Donkers, K., Shirude, S., Pigott, D. M., Hay S. I., Cromwe, E. A., 2019, A database of geopositioned onchocerciasis prevalence data, *Scientific data*, 6(67), 1-6.
- Huson, D., Bryant, D., 2006, Application of phylogenetic networks in evolutionary studies, *Molecular Biology and Evolution*, 23(2),254-321.
- İnci, A., Yıldırım, A., Duzlu, Ö., Onder, Z. Çiloğlu, A., Seitz, G., Adler, P.H. 2017, Genetic diversity and identification of Palearctic Black Flies in the subgenus *Wilhelmia* (Diptera: Simuliidae), *Journal of Medical Entomology*, 54(4), 888–894. doi: 10.1093/jme/tjw246.
- Jedlicka, L., 1975, *Odagmia ornata caucasica* Rubtsov, 1940 (Diptera, Simuliidae) in Turkey, *Acta Rerum Naturalium Musei Nationalis Slovaciae*, Bratislava, 21, p.255 – 258.
- Jedlicka, L., Stloukalova, V., 1997, part of Nematocera and Lower Brachycera Family: Simuliidae, contributions to a manual of Palearctic Diptera, Budapest, 2, p.331-347.
- Jedlicka, L., Kudela, M., Stloukalova, V., 2004, Key to the identification of blackfly pupae (Diptera: Simuliidae) of central Europe, *Biologia*, Bratislava, 15, p.157–178.
- Jedlicka, L., Kudela, M., Szemes, T., Celec, P., 2012, Population genetic structure of *Simulium degrangei* (Diptera: Simuliidae) from western Carpathians, *Biologia*, 67,4, p.777-787.
- Jensen, F., 1997, Diptera: Simuliidae, blackflies, aquatic insects of North Europe-a taxonomic handbook, 2, p.209–241.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jirakanjanakit, N., Dujardin, J., 2005, Discrimination of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) laboratory lines based on wing geometry, Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health, 36,4, p.858–861.
- Kachvoryan, E. A., Harutyunova M. V., Adler, P. H. 2000, Variability of morphological and kariological features of *Simulium caucasicum* (Diptera: Simuliidae) associated with anthropogenic factors in Armenia, The future of Ecological Science in Armenia, Proceedings of Republican Youth Scientific Conference.77-80.
- Kalafat, A., 2008, Afyon ve çevresi Simuliidae (Diptera) faunası üzerine çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi FenBilimleri Enstitüsü, 96 s.
- Kalafat, A., Şirin, U., 2011, A new record for Turkish blackfly fauna: *Simulium (EuSimulium) petricolum* (Rivosecchi, 1963) (Diptera, Simuliidae), Journal of Entomology Research Society, 13,1, p.49-52.
- Kaya S., Chobanov, D., Çiplak, B., 2014, Review of *Psorodonotus specularis* group (Orthoptera, Tettigoniidae, Tettigoniinae): two new species from North-east Anatolia, Zootaxa, 3895, p.367-400.
- Kazancı, N., 2006, Ordination of Simuliidae and climate change impact, Acta Entomologica Serbica, Supplement, p.69-76.
- Kazancı, N., Clergue-Gazeau, M., 1990, Simuliidae de Turquie. I. premie'eres donne'esfaunistiques et bioge'ographiques (Diptera, Simuliidae), Annales de Limnologie, 26, p.45–50.
- Kazancı, N., Clergue-Gazeau, M., 1992, Simuliidae (Insecta:Diptera) of Turkey II. an ecological approach of species collected from various running water ecosystems, Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering, 13, 17-32.
- Kazancı, N., Ertunç, Ö., 2008a, On the Simuliidae (Insecta, Diptera) fauna of Turkey, Review of Hydrobiology, 1,1, p.27-36.
- Kazancı, N., Ertunç, Ö., 2008b, Checklist of the Simuliidae (Insecta, Diptera) of Turkey, Review of Hydrobiology, 1,2, p.129-144.
- Kazancı, N., Ertunç, Ö., 2010, Use of Simuliidae (Insecta, Diptera) species as indicators of aquatic habitat quality of Yeşilırmak River Basin (Turkey), Review of Hydrobiology, 3:1, 27-36.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A. 2012, Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data, *Bioinformatics*, 28 (12), 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.
- Korkmaz, M., Lunt, D. H., Çıplak, B., Değerli, N., Başbüyük, H. H. 2014, The contribution of Anatolia to European phylogeography: the centre of origin of the meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*, *Journal of Biogeography*, 41, 1793-1805.
- Knoz, J., 1965, To identification of Czechoslovakian black-flies (Diptera, Simuliidae), *Folia Pírodovdecké Fakulty University J. E. Purkyn*, 6,5, p.1-142.
- Knowles, L. L. 2009, Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40:593-612.
- Kudela, M., Bruderova, T., Jedlicka, L., Bernotiene, R., Celec, P., Szemes, T., 2014, The identity and genetic characterization of *Simulium reptans* (Diptera: Simuliidae) from central and northern Europe, *Zootaxa*, 3802,3, p.301-317.
- Küçükçetim, M., 2018, Batı Anadolu bölgesi *Wilhelmia* (Simuliidae: Diptera) altcinsi türlerinin populasyon genetikleri üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü..103 s.
- LaRue, B., Gaudreau, C., Bagre, HO., Charpentier, G., 2009, Generalized structure and evolution of ITS1 and ITS2 rDNA in black flies (Diptera:Simuliidae), *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 53, p.749-57.
- Li, H., Liu, H., Cao, L., Shi, A., Yang, H., Cai, W., 2012, The complete mitochondrial genome of the damselfly bug *Alloeorhynchus bakeri* (Hemiptera: Nabidae), *International Journal of Biological Sciences*, 8,1, p.93-107.
- Librado, P., Rozas J., 2009, DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics*, 25,11, p.1451-1452.
- Low, V.L., Adler, P.H., Takaoka, H., Ya'cob, Z., Lim, P.E., Tan, T.K., Lim, Y.A.L., Chen, C. D., Norma-Rashid, Y., Sofian-Azirun, M., 2014, Mitochondrial DNA markers reveal high genetic diversity but low genetic differentiation in the blackfly *Simulium tani* Takaoka and Davies along an elevational gradient in Malaysia, *PLoS ONE*, 9,6, e100512. doi:10.1371/journal.pone.0100512.
- Low, V.L, Takaoka, H., Pramual, P., Adler, P.H., Ya'cob, Z., Huang, Y., Pham, X.D., Ramli, R., Chen, C.D., Wannaket, A., Sofian-Azirun, M., 2015, Delineating taxonomic boundaries in the largest species complex of black flies (Simuliidae) in the Oriental Region, *Scientific Reports*, 6:20346, Doi: 10.1038/srep20346.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Low, W. L. Takaoka, H., Adler, P. H., Tan, T. K., Cheng-Hsuan Weng, F., Chen, C., Lim, Y. A. L., Ya'cob1 Z., Chen, C.D., Sofian-Azirun, M., Wang, D. 2018, A novel molecular and chromosomal lineage of the anthropophilic *Simulium* (*Simulium*) *rufibasis* subgroup (Diptera: Simuliidae) in Taiwan, *Parasitology Research*, 117:3137–3143. doi.org/10.1007/s00436-018-6011-7.
- Malmqvist, B., Adler, P.H., Kuusela, K., Merritt, R.W., Wotton, R.S., 2004, Black flies in the borealbiome, key organisms in both terrestrial and aquatic environments: a review, *Écoscience*, 11, p.187-200.
- Medmedev, S.G., Khalin A.V., Aibulatov S.V. 2017, The origin of the northern palaeartic fauna of bloodsucking insects, by the example of fleas (Siphonaptera), Mosquitoes (Diptera: Culicidae), and Blackflies (Diptera: Simuliidae), *Entomological Review*, 97 (9), 1307-1320.
- Moulton, J.K., 2000, Molecular sequence data resolves basal divergences within Simuliidae (Diptera), *Systematic Entomology*, 25, p.95-113.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, K., 2000, Biodiversity hotspots for conservation priorities, *Nature*, 403, p.853–858.
- Noroozi, J., Zare, G., Sherafati, M., Mahmoodi, M., Moser, D., Asgarpour, Z., Schneeweiss, G. M., 2019, Patterns of endemism in Turkey, the meeting point of three global biodiversity hotspots, based on three diverse families of vascular plants, *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7:159. doi: 10.3389/fevo.2019.00159.
- Otsuka, Y., Takaoka, H., Aoki, C., Choochote, W., 2003, Phylogenetic analysis of the subgenus *Himalayum* within the genus *Simulium* s.l. (Diptera: Simuliidae) using mitochondrial 16S rRNA gene sequences, *Medical Entomological Zoology*, 54,1, p.113-120.
- Önder, Z., Yildirim, A., Duzlu, O., Arslan, M. O., Sari, B., Ciloglu, A., Parmaksizoglu Aydin, N., Inci, A., Adler, P. H. 2019, Molecular characterization of black flies (Diptera: Simuliidae) in areas with pest outbreaks and simuliotoxicosis in Northeast Anatolia Region, Turkey, *Acta Tropica*, 199, 105-149.
- Ördek, M. N., 2015, Neodiprion sertifer (Hymenoptera: Diprionidae) türünün total mitokondri genomu üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, s.136.
- 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], *Entomological Society of Turkey*, 19, s.37-42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özel, B., 2019, Isparta deresi'nin su kalitesinin fizikokimyasal parametrelere ve Simuliidae faunasına göre belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 72 s.
- Özenirler, Ç., 2010, Türkiye *Bombus* (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille) türleri sistematğinde geometrik morfometrik yöntemlerin kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, s.72.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I., Vogler, A. P. 2010, Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-aegean trench calibration, *Molecular Biology Evolution*, 27(7):1659–1672. doi:10.1093/molbev/msq051.
- Pepinelli, M., Spironello, M., Currie, D.C., 2013, Geometric morphometrics as a tool for interpreting evolutionary transitions in the black fly wing (Diptera: Simuliidae), *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169, p.377-388.
- Petrić, D., Zgomba M., Ignjatović-Ćupina1, A., Konjević, A., Marinković, D., Marković, I., 2006, Impact of biolarviciding on *Simulium ornatum* Meigen 1818 (Complex) populations and related biting risk, *Acta Entomologica Serbica*, p.141-154.
- Pfenninger, M., Schwenk, K., 2007, Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions, *BMC Evolutionary Biology*, 7:p. p.121.
- Phayahasena, S., Colgan, D.J., Kuvangkadilok, C., Pramual, P., Baimai, V., 2010, Phylogenetic relationships among the blackfly species (Diptera: Simuliidae) of Thailand based on multiple gene sequences, *Genetica*, 138, p.633-648.
- Posada, D., 2008, jModelTest: phylogenetic model averaging, *Molecular Biology and Evolution*, 25, p.1253-1256.
- Pramual, P., Wongpakam, K., Adler, P., 2011, Cryptic biodiversity and phylogenetic relationships revealed by DNA barcoding of oriental blackflies in the subgenus *Gomphostilbia* (Diptera: Simuliidae), *Genome*, 54, p.1-9.
- Pramual, P., Kuvangkadilok, C., Jitklang, S., Tangkawanit, U., Adler, P., 2012, Geographical versus ecological isolation of closely related black flies (Diptera: Simuliidae) inferred from phylogeny, geography, and ecology, *Organisms Diversity and Evolution*, 12, p.183-195.
- Pramual, P., Kuvangkadilok, C., 2012, Integrated cytogenetic, ecological and DNA barcode study reveals cryptic diversity in *Simulium* (*Gomphostilbia*) *angulistylum* (Diptera: Simuliidae), *Genome*, 55, p.447-458.
- Pramual, P., Adler, P., 2014, DNA barcoding of tropical black flies (Diptera: Simuliidae) of Thailand, *Molecular Ecology Resources*, 14, p.262-271.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pramual, P., Wongpakam, K., 2013, Population genetics of the high elevation black fly *Simulium* (*Nevermannia*) *feuerborni* Edwards in Thailand, *Entomological Science*, 16, p.298-308.
- Pramual, P., Wongpakam, K., 2014, Association of black fly (Diptera: Simuliidae) life stages using DNA barcode, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17, p.549-554.
- Pramual, P., Thaijarern, J., Sofian-Azirun, M., Ya'cob Z., Hadi, U. K., Takaoka, H., 2015, Cytogenetic and molecular evidence of additional cryptic diversity in high elevation blackfly *Simulium feuerborni* (Diptera: Simuliidae) populations in southeast Asia, *Journal of Medical Entomology*, 52,5, p.829-836.
- Rambout, A., Drummond, A.J., 2003, Tracer v1.5, Available from: <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/>
- Rambout, A., 2008, FigTree v1.3.1, Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree>.
- Riva, J, Pont, F., Ali, V., Matias, A., Molineo, S., Dujardin, J.P., 2001, Wing geometry as a tool for studying the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) complex, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96,8, p.1089-1094.
- Riviera, J., Currie, D., 2009, Identification of Nearctic black flies using DNA barcodes (Diptera: Simuliidae), *Molecular Ecology Resources*, 9,1, p.224–236.
- Rivosecchi L., 1978, Simuliidae Diptera Nematocera. Fauna d'Italia, vol. XIII. Calderini, Bologna, 533 pp.
- Rohlf, F.J., 2000, NTSYS-Pc Version 2.10., Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J., 2003, TpsSMALL1.20. Department of ecology and evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J., 2004, TpsSUPER1.14. Department of ecology and evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J., 2007a, TpsDIG2.10, Department of ecology and evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J., 2007b, TpsUTIL1.44, Department of ecology and evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J., 2007c, TpsRELW1.45, Department of ecology and evolution, State University of New York at Stony Brook.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ronquist, F., Huelsenbeck J.P., 2003, MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models, *Bioinformatics*, 19, 12, p.1572–1574. DOI: 10.1093/bioinformatics/btg180.
- Rothfels, K.H., 1956, Black flies: siblings, sex, and species grouping, *Journal of Heredity*, 47, p.113-122.
- Rothfels, K.H., 1989, Speciation in black flies, *Genome*, 32, p.500-509.
- Rubtsov, I.A., 1956, Blackflies (fam. Simuliidae) [Moshki (sem. Simuliidae)], *Fauna of the USSR, New Series No. 64, insects, Diptera [Fauna SSSR Novaya seriya No. 64, Nasekomye dvukrylye] 6 (6), Moscow & Leningrad. Akademii Nauk SSSR.*
- Rubtsov, I. A., 1990, *Blackflies (Simuliidae), fauna of the USSR Diptera, Volume 6, Part 6.* Brill Academic Publisher, Leiden, 1042 s.
- Ruiz-Arrondo, I. Hernández-Triana, L. M., Ignjatović-Ćupina, A., Nikolova, N., Garza-Hernández, J. A., Rodríguez-Pérez, M. A., Oteo, J. A. Fooks, A. R., Curdi, J. L. 2018, DNA barcoding of blackflies (Diptera:Simuliidae) as a tool for species identification and detection of hidden diversity in the eastern regions of Spain, *Parasites and Vectors*, 11:463. doi.org/10.1186/s13071-018-3046-7.
- Selvi, E., 2019, Kuzey Anadolu ve Trakya'daki Apodemus Kaup, 1829 (Mammalia: Rodentia) cinsine ait türlerin mitokondriyal Dna (sitokrom B ve kontrol bölgesi) analizi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 199 s.
- Senatore, G.L., Alexander, E.A., Adler, P.H., Moulton, J.K., 2014, Molecular systematics of the *Simulium jenningsi* species group (Diptera: Simuliidae), with three new fast evolving nuclear genes for phylogenetic inference, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 75, p.138-148.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P., 1994, Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers, *Entomological Society of America*, 87,6, p.651-701.
- Shields, G. F., Procnier, W. S. 2019, Sympatric speciation in the *Simulium arcticum* s. I. complex (Diptera:Simuliidae): The Rothfels model updated, *Ecology and Evolution*, 9:8265–8278. DOI: 10.1002/ece3.5402.
- Shields, G.F., Hokit, D. G., 2019, Do cytotypes of black flies of the *Simulium arcticum* complex (Diptera: Simuliidae) arise from sibling species? *Western North American Naturalist*, 79(2).148–158.
- Slice, D.E., 2007, *Morpheus. Software for morphometric Research* Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Spanos, L., Koutroumbas, G., Kotsyfakis, M., Louis, C., 2000, The mitochondrial genome of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, *Insect Molecular Biology*, 9,2, p.139–144.
- Sriphirom, P., Sopaladawan, P.N., Wongpakam, K., Pramual, P., 2014, Molecular phylogeny of black flies in the *Simulium tuberosum* (Diptera: Simuliidae) species group in Thailand, *Genome*, 57:45-55.
- Srisuka, W., Takaoka, H., Otsuka, Y., Fukuda, M., Thongsahuan, S., Taai, K., Saeung, A., 2017, Biodiversity, seasonal abundance, and distribution of blackflies (Diptera: Simuliidae) in six different regions of Thailand, *Parasites and Vectors*, 10:574.
- Stamatakis, A., 2006, RAxML-VI-HPC: maximum Likelihoodbased phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.
- Swofford, D.L., 2002, PAUP*: Pylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) 4.0 beta. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Şahin, Y., Şirin, Ü., Çalışkan, H., 2004, “Kuzey Marmara bölgesi Simuliidae ve Asilidae faunasının tespiti”, TÜBİTAK, Proje No: TBAG-2050.
- Şekercioğlu, H. Ç., Anderrson, S., Akçay, E., Bilgin, R., Can, Ö. E., Semiz, G., Tavşanoğlu, Ç., Yokeş, M. B., Soyumert, A., İpekdal, K., Sağlam, İ.K., Yücel, M., Dalfes, H. S., 2011, Turkey's globally important biodiversity in crisis, *Biological Conservation*, 12, p.2752-2769.
- Şengör, A.M.C., Büyükaşıkoglu, S., Canitez. N., 1983, Neotectonics of the Pontides: implications for the "incompatible" structures along the North Anatolian fault, *Journal of Structural Geology*, 5, p.211-216.
- Şirin, Ü., 2001, Yukarı Sakarya nehir sistemi Simulidae (Diptera) faunasının tespiti, Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s.136.
- Sirin, U., Sahin, Y., 2005, New records of black flies (Diptera, Simuliidae) for the Turkish fauna, *Zoology in the Middle East*, 36, p.87-98.
- Şirin,Ü, Fidan, E.C., Çalışkan, H., Şahin, Y., 2014, Blackflies (Diptera:Simuliidae) records from east Marmara region, *Munis Entomology and Zoology*, 9, 2, p.882- 831.
- Şirin, Ü, Çalışkan, H., Şahin, Y., 2015, Black flies (Diptera: Simuliidae) of Turkish Thrace, with a new record for Turkey, *Biodiversity Data Journal*, 3: e4834. doi: 10.3897/BDJ.3.e4834.
- Şirin, Ü., Adler, P. 2015, Chromosomal and morphological taxonomy of a new species of blackfly in the genus *Metacnephia* (Diptera: Simuliidae) from Western Anatolia, Turkey, *Zootaxa*, 4048,2, p.269-280.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Takaoka, H. Srisuka, W. Low, V.L., Maleewong, W. Saeung, A. 2017, Two new species of *Simulium* (Gomphostilbia) (Diptera: Simuliidae) from Myanmar, and their phylogenetic relationships with related species in the *S. asakoae* species-group, *Acta Tropica*, 176: 39–50.
- Takaoka, H. Low, V.L., Tan, T.K., Ya'cob, Z., Sofian-Azirun, M., Chen, C. D., Lau, K. W., Pham, X.D. 2018a, A New Black Fly Species of the *Simulium* (Gomphostilbia) *duolongum* subgroup (Diptera: Simuliidae) from Vietnam, and molecular comparisons with related species using the COI barcoding gene, *Journal of Medical Entomology*, 56(2),432–440.
- Takaoka, H., Srisuka, W., Low, V. L., Saeung, A. 2018b, A new species and a new record of the *Simulium* (Gomphostilbia) *gombakense* species-group (Diptera: Simuliidae) from Thailand, *Acta Tropica*, 185, 156-166.
- Takaoka, H., Low, V. L., Tan, T.K., Sofian-Azirun, M., Chen, C.D., Lau, K.W., Pham, X. D., 2019a, A new black fly species of *Simulium* (*Nevermannia*) (Diptera: Simuliidae) from Vietnam, *Acta Tropica*, 190. 320–328.
- Takaoka, H., Srisuka, W., Low, V. L., Saeung, A., 2019b, A New Species of the *Simulium* (*Simulium*) *multistriatum* species-group (Diptera: Simuliidae) from Thailand and its phylogenetic relationships with related species, *Journal of Medical Entomology*, 56(1), 2019, 86–94 doi: 10.1093/jme/tjy178.
- Tajima, F., 1989, Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism, *Genetics*, 123, 585-595.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011, MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods, *Molecular Biology and Evolution*, 28, 10, p.2731–2739. DOI: 10.1093/molbev/msr121.
- Terteryan, A.E., 1968, Blackflies (Simuliidae) fauna of the Armenian SSR, *Diptera* [Moshki (Simuliidae) fauna Armyanskoi SSR, Nasekomye dvukrylye]. Yerevan, Izdatel'stvo Akademii Nauk Armyanskoi SSR, p.272.
- Thanwisai, A., Kuvangkadilok, C., Baimai, V., 2006, Molecular phylogeny of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand, Using ITS2 rDNA, *Genetica*, 128, p.177-204.
- Tuzla, A., 2008, Bazı Simuliidae (Diptera) türlerinin sitotaksonomik özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s.58.
- Ulusal havza yönetim stratejisi, 2014-2023, T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2014, erişim tarihi: 02.02.2016-www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/07/20140704-23-1.doc.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Villaverde, T., Pokorný, L., Olsson, S., Rincón-Barrado, M., Johnson, M. G., Gardner, E. M., Wickett, N. J., Molero, J., Riina, R., and Sanmartín, I., 2018, Bridging the micro- and macroevolutionary levels in phylogenomics: Hyb-Seq solves relationships from populations to species and above, *New Phytologist*, 220: 636–650. doi: 10.1111/nph.15312
- Wiens, J.J., Donoghue, M. J., 2004, Historical biogeography, ecology and species richness, *Trends in Ecology and Evolution*, Vol.19 No.12. 639-644. doi:10.1016/j.tree.2004.09.011.
- Woodford, L., Bianco, G., Ivanova, Y., Dale, M., Elmer, K., Rae, F., Larcombe, S. D., Helm, B., Ferguson, H. M., Baldini F. 2018, Vector species-specific association between natural *Wolbachia* infections and avian malaria in black fly populations, 8:4188 | DOI:10.1038/s41598-018-22550-z.
- Yankovsky, A.V., 2003, A key for the identification of blackflies (Diptera: Simuliidae) of Russia and adjacent countries (former USSR) [Opredelitel' moshek (Diptera: Simuliidae) Rossii i opredel'nykh territoriy (byvshego SSSR)], Saint Petersburg, Zoological Institute RAN, p.570.
- Yeşilöz, H., 2011, Orta Kızılırmak havzasının Nevşehir bölümünde sorun oluşturan karasinek (Diptera: Simuliidae) türlerinin moleküler klasifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s.83.
- Yeşilöz, H., Yıldırım, A., 2015, The molecular classification of blackfly (Diptera: Simuliidae) species which pose a problem in Nevşehir part of central Kızılırmak basin, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 39, 1, p.33-40.
- Yılmaz, A., İnci, A., Tunçbilek, AS, Yeşilöz, H., Koçak, Şirin, Ü., İça, A., Yıldırım, A. Demircioğlu, A., Düzlü, Ö., 2007, Orta kızılırmak havzasında karasinek (*Simulium* (*Wilhelmia*) *lineatum*) (Diptera: Simuliidae) istilası, *Journal of Faculty Veterinary Medical University of Erciyes*, 4,2, p.91-95.
- Zwick, H., 1978, Simuliidae. In: Illies J, editor, *limnofauna Europaea: eine zusammenstellung aller die europaischen binnengewässer bewohnenden mehrzelligen tierarten mit angaben über ihre verbreitung und ökologie*, 2nd ed., Stuttgart & New York: Fischer and Amsterdam: Swets and Zeitlinger, p.396-403.
- Zwick, H., 1995, Contribution to the European Blackfly taxa (Diptera: Simuliidae) named by Enderlein, *Aquatic Insects*, 17, 129-173.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Ebru Ceren FİDAN

Doğum yeri ve tarihi: Ankara/Altındağ, 24.12.1987

Medeni hali: Evli

E-posta:cerenkayki@gmail.com

Eğitim bilgileri

Lisans: (2005-2009) Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta.

Yüksek lisans: (2011-2013) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, Eskişehir.

Doktora: (2013-2020) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, Eskişehir.

Yabancı dil: İngilizce (ileri düzey)

İş Tecrübesi

2010 - 2011: Araştırma görevlisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta.

2011 - ...: Araştırma görevlisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.