

**ENLEMSEL KLİNLERİN *Drosophila melanogaster*'de *Dca*
GENOTİPİ VE KANAT BÜYÜKLÜĞÜ BAKIMINDAN
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF LATITUDINAL CLINES FOR *Dca*
GENOTYPE AND WING SIZE IN *Drosophila melanogaster***

CANSU FİDAN AKSOY

YRD. DOÇ. DR. BANU ŞEBNEM ÖNDER
Tez Danışmanı

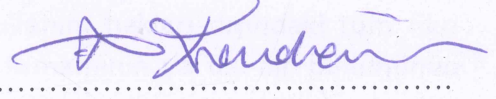
Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2018

CANSU FİDAN AKSOY'un hazırladığı “ENLEMSEL KLİNLERİN *Drosophila melanogaster*'de *Dca* GENOTİPİ VE KANAT BÜYÜKLÜĞÜ BAKIMINDAN ARAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

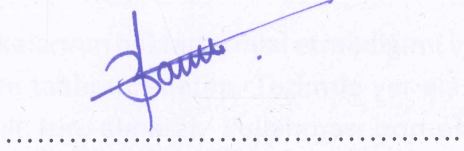
Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Başkan.



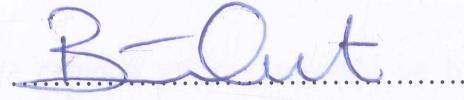
Yrd. Doç. Dr. Banu Şebnem ÖNDER

Danışman



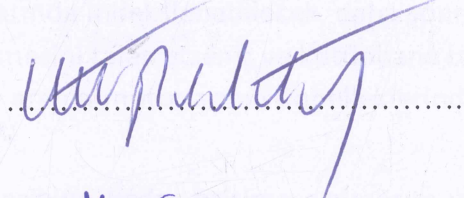
Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN

Üye



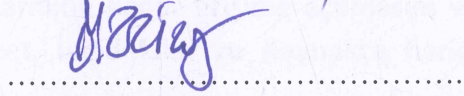
Doç. Dr. Utku PERKTAŞ

Üye



Doç. Dr. Özge ERİŞÖZ KASAP

Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/~~raporumun~~ tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- ☐ **Tezimin/~~Raporumun~~ tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- ☒ **Tezimin/~~Raporumun~~ 09/01/2021 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- ☐ **Tezimin/~~Raporumun~~ 09/01/2021 tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- ☐ **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

09 / 01 / 2018



(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

02/01/2018



CANSU FİDAN AKSOY

ÖZET

ENLEMSEL KLİNLERİN *Drosophila melanogaster*'de *Dca* GENOTİPİ VE KANAT BÜYÜKLÜĞÜ BAKIMINDAN ARAŞTIRILMASI

Cansu Fidan AKSOY

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Banu Şebnem ÖNDER

Ocak 2018, 68 sayfa

Drosophila melanogaster, ılıman bölgelere yayılmış kozmopolit bir türdür. Geniş bir coğrafi dağılım alanı olan, genetik ve çevresel heterojenite ile ilişkili evrimsel dinamikleri incelemek için yaygın olarak kullanılan bir model türdür. *D. melanogaster*'de birçok karakterin enlemsel klin gösterdiği bilinmektedir. Bu klinler, yaygın bir şekilde mekansal olarak değişen seçilimin adaptif bir sonucu olarak yorumlanmaktadır. Vücut büyüklüğü de güçlü enlemsel klin gösterdiği bilinen bir karakterdir. Vücut büyüklüğü için belirleyici bir parametre olan kanat büyüklüğü, lokal adaptasyon ve klinal varyasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında, kanat büyüklüğünün enlemsel klin gösterdiğine dair hipotezi sınamak amacıyla, Türkiye, Ukrayna ve Rusya olmak üzere üç farklı enlemden toplanan *D. melanogaster* doğal populasyonlarında kanat büyüklüğü varyasyonu araştırılmıştır. Kanat büyüklüğünün, enlemsel varyasyonunun yanı sıra mevsimsel varyasyonu da incelenmiş ve kanat büyüklüğüyle ilişkili bir aday gen olduğu düşünülen *Dca* geni ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, kanat büyüklüğünün ve kanat biçimlerinin enlemsel ve mevsimsel varyasyonlarını belirlemek amacıyla, 20 kuşak boyunca

full-sib eşleşme ile kendileştirilmiş Türkiye'den 116, Rusya'dan 75, Ukrayna'dan 31 soy hattı kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlar, kanat büyüklüğünün güçlü bir enlemsel klin gösterdiği, populasyonların değişen enlemle birlikte sıcaklığa adaptasyonun bir sonucu olarak farklılık gösterdiği yönündedir. Ayrıca, kanat büyüklüğü populasyonların toplandığı mevsimlere göre de anlamlı değişiklikler göstermektedir. Bunun yanı sıra, *Dca*'nın enlemsel klin gösteren bir gen olduğu bulunmuştur. Ancak kanat büyüklüğünde görülen varyasyonlarla *Dca* alel polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar kelimeler: kanat büyüklüğü, kanat biçimi, enlemsel klin, mevsimsellik, *Dca*, lokal adaptasyon.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF LATITUDINAL CLINES FOR *Dca* GENOTYPE AND WING SIZE IN *Drosophila melanogaster*

Cansu Fidan AKSOY

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Banu Şebnem ÖNDER

January 2018, 68 pages

Drosophila melanogaster is a cosmopolitan species that spread over temperate regions. It is a widely used model organism to study the evolutionary dynamics associated with genetic and environmental heterogeneity in a broad geographical distribution area. Many characters are known that exhibit a latitudinal cline in *D. melanogaster*. These clines are widely interpreted as an adaptive result of spatially varying selection. Also body size is a known character for strong latitudinal cline. Wing size that a decisive parameter for body size are frequently used in the study of local adaptation and the clinal variations. In this study, in order to test the hypothesis that the wing size shows a latitudinal cline, variation of wing size were investigated in natural populations of *D. melanogaster* which were collected from three different latitudes, Turkey, Ukraine and Russia. The latitudinal variation of wing size and also seasonal variation has been investigated and the relationship has been investigated with the *Dca* gene, which is thought to be a candidate gene related to wing size.

In this study, 116 lines collected from Turkey, 51 lines collected from Russia and 31 lines collected from Ukraine, which were subjected to 20 generations of full-sib mating for

inbreeding, were used for determination of latitudinal and seasonal variations of the wing size and shape.

The results show that wing size show a strong latitudinal cline, and that populations differ as a result of adapting to temperature with varying latitudes. Besides, the wing size also varies according to the season in which the populations are collected. In addition, it has been found that *Dca* gene shows also a latitudinal cline. However, significant relationship was not found between the variations of the wing size and the *Dca* allele polymorphisms.

Keywords: wing size, wing shape, latitudinal cline, seasonality, *Dca*, local adaptation.

TEŞEKKÜR

Destegini hiç esirgemeyen, hep daha iyi olmam için beni teşvik eden, bütün birikimlerini benimle paylaşan ve tez süresince yaptığı tüm katkılardan dolayı değerli tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Banu Şebnem ÖNDER'e tüm emekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmaya katkılarından ve önerilerinden dolayı değerli jüri üyeleri Prof. Dr. İrfan KANDEMİR, Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN, Doç. Dr. Utku PERKTAŞ ve Doç. Dr. Özge ERİŞÖZ KASAP'a çok teşekkür ederim.

Aynı ekipte çalışma imkanı bulduğum canım arkadaşım Bengisu Sezen SUBAŞI'na tüm fikirleri, yardımları ve paylaşımları için teşekkür ederim. Sevgili ekip arkadaşlarım Alper ORHAN, Fatma TURHALLI, Ufuk ÜNAL, Seda COŞKUN, Ekin DEMİR ve Selin YAĞLI'ya ve çalışmalarda bize yardımcı olan özel çalışma öğrencileri Sezay ONBAŞI, Dilara ULUSAL, Okan KARAHAN, İlay SAKA, Özgecan TAŞKIRAN, Seda DEMİREL, Buse KUZU'ya çok teşekkür ederim. Tavsiyeleri ve güler yüzleriyle bana destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Hacer ÜNLÜ ve Dr. Güzen EMECEN'e çok teşekkür ederim.

Sevgili arkadaşlarım Damla AYGÜN, Gizem OĞUZ, Ayda YILMAZ, Burcu DAŞER'e yardımlarından, desteklerinden, katkılarından dolayı sonsuz teşekkür ederim. Hayatımın her anında hep yanımda olan ve tez çalışması sırasında desteğini, pozitif enerjisini esirgemeyen, beni daima motive eden ve benimle birlikte her türlü sıkıntıya katlanan dostlarım Aybüke ÇELEBİ, Selvi DUGAN, Seray GÜRSOY ve Cansu KÜÇÜKYILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim. Bu çalışmada kullanılan soyların toplanması sırasında bize yardımcı olan ve bahçesini açan Mustafa Bey'e, konaklamamız ve arazi çalışması sırasında bize yardımcı olan Yeşilöz Köyü Muhtarı Osman ODABAŞI'na teşekkür ederim. Rusya ve Ukrayna soylarını bizimle paylaşan Prof. Dr. Elena PASYUKOVA ve Prof. Dr. Irina KOZERETSKA'ya içtenlikle teşekkür ederim. Rus ekip çalışanlarına soyların hazırlık sürecindeki yardımları için teşekkür ederim.

Bana her türlü desteği veren, asla pes etmemem gerektiğini öğreten ve daima beni motive eden, tüm sıkıntılara ortak olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 214Z238 no'lu proje ile destekleyen TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	viii
ŞEKİLLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Doğal Populasyonlarda Lokal Adaptasyon ve Klinler	4
2.2. <i>Drosophila</i> 'da Zamansal ve Mekansal Değişkenlere Adaptasyon	5
2.2.1. Mekansal Değişkenler	5
2.2.2. Zamansal Değişkenler	6
2.3. Vücut Büyüklüğü	7
2.3.1. Kanat Büyüklüğü ve Biçimi	9
2.4. Vücut Büyüklüğünü Etkileyen Çevresel ve Genetik Faktörler.....	10
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Çalışma Alanları	16
3.2. Soyların Toplanması ve Çoğaltılması.....	18
3.2.1. Laboratuvar Çalışmaları	18
3.2.2. Kendileşmiş Soy Hatlarının Oluşturulması.....	19
3.3. Kanat Büyüklüğü Deneyleri.....	21
3.3.1. Soy Hatlarına ait Kanat Ölçümleri İçin Örneklem Grubunun Oluşturulması.....	21
3.3.2. Kanat Büyüklüğü ve Kanat Biçim Analizi için Preparatlarının Hazırlanması	24
3.4. Moleküler Çalışmalar	32
3.4.1. DNA İzolasyonu	32
3.4.2. Soylarda Bulunan <i>Wolbachia</i> Enfeksiyonlarının Tespiti	33
3.3.3. Kanat Lineer Ölçümlerinin Yapılması	24
3.3.4. Kanat Biçim Analizlerinin Yapılması	25
3.4. Moleküler Analizlerin Yapılması	26
3.4.1. DNA İzolasyonu	26

3.4.2. <i>Dca</i> Gen Bölgesinin Amplifikasyonu ve Sekanslanması	27
3.5. İstatistiksel Analizler	31
4. BULGULAR	32
4.1. Kanat Uzunluk Ölçümlerine ait Sonuçlar	32
4.1.1. Yeşilöz Populasyonu ile Mevsimsellik Analizi	39
4.2. Kanat Biçimine ait Geometrik Morfometri Sonuçları	42
4.3. <i>Dca</i> Gen Polimorfizmi ve Sonuçları	45
4.3.1. Yeşilöz Populasyonu ile <i>Dca</i> Alelleri Mevsimsellik Analizi	48
5. TARTIŞMA	50
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	67



ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 3.1. Populasyonların toplandığı bölgelere ait iklimsel ve coğrafi parametreler...	17
Çizelge 3.2. Yeşilöz populasyonunun toplandığı yıl ve aylara ait sıcaklık ve nem değerleri	18
Çizelge 3.3. Kullanılan standart <i>Drosophila</i> besiyeri içeriği ve bileşenleri.....	19
Çizelge 3.4. Lokasyonlara göre kullanılan populasyonlara ait örneklem yılları ve deneylere alınan soy hatlarına ait sayılar.	22
Çizelge 3.5. DNA izolasyon çalışmalarının ardından <i>Dca</i> geni için Rako ve ark., 2007 tarafından dizayn edilen primerler.	28
Çizelge 3.6. <i>Dca</i> gen bölgesi dizi analizi gerçekleştirilen soy hatları sayıları.....	29
Çizelge 4.1. Populasyonların lineer kanat ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistikler.....	32
Çizelge 4.2. Kanat uzunluğunun çok yönlü varyans analizi ANOVA sonuçları.....	33
Çizelge 4.3. Populasyonlar arası ikili karşılaştırmaların post-hoc test istatistiği sonuçları (Bonferroni düzeltmesi ile).....	34
Çizelge 4.4. Valday populasyonuna ait lineer kanat ölçümlerinin çok yönlü varyans analizi	37
Çizelge 4.5. Pearson Korelasyon analizi sonucu elde edilen korelasyon katsayısı (r) değerleri	38
Çizelge 4.6. Yeşilöz populasyonuna ait kanat lineer ölçümleri. Dişi ve erkek bireylere ait aylık ve yıllık ortalama kanat uzunlukları, standart sapmaları ve örneklem sayıları (N).	39
Çizelge 4.7. Yeşilöz populasyonuna ait lineer kanat ölçümlerinin çok yönlü varyans analizi	40
Çizelge 4.8. PCA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.....	43
Çizelge 4.9. CVA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.	44
Çizelge 4.10. Lokasyonlara ait <i>Dca</i> alel frekansları ve ki kare analizi sonucu (sd: Serbestlik Derecesi)	46
Çizelge 4.11. <i>Dca</i> Alel sayı ve yüzdelerinin Populasyon içi yüzdelerinin ve tüm örneklerdeki yüzdelerinin gösterimi	47

Çizelge 4.12. Tüm populasyonlar için *Dca* alel ve polimorfizmleri ile kanat uzunluğu ve enlem arasındaki Pearson korelasyon katsayıları (r)48

Çizelge 4.13. *Dca* alellerinin aylık değişimlerini gösteren ki kare analizi (sd: Serbestlik Derecesi).49



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Kanat büyüklüğü, vücut büyüklüğü için belirleyici olan önemli bir karakterdir 10	
Şekil 2.2. <i>Dca</i> geninin genom üzerindeki görünümü.....	13
Şekil 2.3. <i>Dca</i> alelleri arasında sekans varyasyonları (promotor bölge haplotipleri). (a) Yaygın aleller arası varyasyonlar. (b) Avustralya’da bulunan haplotipler arası farklılıklar	14
Şekil 3.1. Populasyonların toplanma alanlarının harita üzerinde gösterimi.....	16
Şekil 3.2. Kendileştirme için kullanılan tek bir dişi kullanılarak bir sonraki kuşağın kurulması prensibine dayalı “Full-sib” yönteminin şematik gösterimi	21
Şekil 3.3. Morfolojik ölçümler için kullanılacak ergin bireylerin elde edilmesi için bireylerin şişelerde çoğaltılarak replikaların yapılması.	22
Şekil 3.4. Yumurta toplamak için kullanılan kaplar ve koyulan maya.....	23
Şekil 3.5. Preparatlar hazırlanırken mikroskop altında ince uçlu pens ile kanatların koparılması.	24
Şekil 3.6. Kanat görüntüleri üzerinde ön çapraz damar (anterior crossvein) ile üçüncü uzunlamasına damar (longitudinal vein) arasındaki iki nokta arasında gerçekleştirilen lineer ölçümler.	25
Şekil 3.7. Dijital ortama aktarılmış olan kanat görüntüleri üzerinde biçim analizi yapılmak üzere konulan 11 adet landmark.....	26
Şekil 3.8. PZR işlemi için kullanılan protokolün Thermo marka thermocycler üzerindeki görüntüsü.	28
Şekil 3.9. Jelde yürütme işlemi sonucunda 338 bp’de parlak bant veren örneklerin görüntüsü.	29
Şekil 3.10. Sanger sekans sonrası gelen DNA dizileri hizalanırken kullanılan referans dizi.	30
Şekil 3.11. Sanger sekans sonrası gelen DNA dizileri MEGA7 programı kullanılarak hizalanırken kullanılan kromatogramlar.	30
Şekil 4.1. Populasyonlara ait ortalama kanat uzunluklarının eşey ayrı olarak lokasyonlar ve enlemlere göre karşılaştırılması (%95 güven aralığında)..	35
Şekil 4.2. Populasyonlara ait ortalama kanat uzunluklarının eşey ayrı ve yıl ayrı olarak karşılaştırılması (%95 güven aralığında).	36

Şekil 4.3. Valday popülasyonuna ait dişi ve erkek bireylerin ortalama kanat uzunluklarının yıldan yıla değişimi.....	37
Şekil 4.4. Ortalama dişi (mavi) ve erkek (kırmızı) kanat uzunluklarının enlemsel olarak artışı ve bu ilişkinin belirleme katsayıları.	38
Şekil 4.5. Yeşilöz popülasyonunun 2014-2015 yılları Mayıs ile Ekim ayları arasına ait dişi ve erkek bireylerinin ortalama kanat uzunlukları.....	41
Şekil 4.6. Procrustes rotasyonu ile standardize edilen landmarkları ifade etmektedir.	42
Şekil 4.7. Temel bileşen analizine göre popülasyonlara ait kanat morfolojisinde tespit edilen biçimsel farklılıklar.	43
Şekil 4.8. Lokasyonlara göre alel frekanslarının dağılımı.....	45
Şekil 4.9. Popülasyonların sahip oldukları <i>Dca</i> alel frekanslarının gösterimi.	48



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	Gram
ml	Mililitre
m	Metre
µl	Mikrolitre
mM	Milimolar
C°	Santigrat derece

Kısaltmalar

<i>Dca</i>	<i>Drosophila</i> soğuk adaptasyon geni
<i>smp-30</i>	Yaşlanma işaretleyici protein-30
<i>Nf1</i>	Nörofibromin 1
<i>InR</i>	İnsülin benzeri reseptör
INDEL	İnsersiyon/delesyon polimorfizmi
DNA	Deoksiribonükleik asit
TOR	Rapamisin
Hippo	Salvador-Warts-Hippo
IIs/Pi3K	İnsülin/fosfatidilinositol 3-kinaz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
RNA	Ribonükleik asit
mRNA	Mesajcı RNA
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
QTL	Kantitatif karakter lokusu
PCA	Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis)
CVA	Kanonik Varyans Analizi (Canonical Variate Analysis)
PCR-PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
bç	Baz çifti
rpm	Dakikadaki devir sayısı
ANOVA	Varyans Analizi

1. GİRİŞ

Coğrafi varyasyonlar enlemler ve rakımlar boyunca farklı taksonlardaki hayvan ve bitkilerde meydana gelmektedir [1]. Uyum bileşenleri ile ilişkili karakterlerde klin örüntülerini araştırmak adaptif evrim çalışmalarında anahtar bir unsurdur [2]. Enlemsel klinler gibi iklimin şiddetli bir şekilde değiştiği coğrafi gradientler boyunca iklimsel adaptasyonu çalışmak önemlidir. *D. melanogaster* populasyonlarında enlemsel klinler morfolojik, stres toleransı ve yaşam öyküsü karakterlerinde bulunmuştur. Kromozom inversiyonu frekansı ve alel frekansı enlemsel klinler oluşturur. Farklı coğrafi bölgelerdeki paralel klinler ise bölgesel adaptasyonlar için önemli birer bilgi kaynağıdır [3].

Doğal populasyonlarının adaptif değişimlerinin genetik temelini çözümlmek evrimsel biyolojinin en temel amaçlarından biridir [4], [5], [6], [7], [8], [9]. Örneğin, heterojen ortamları işgal eden birçok türün dağılım aralığında mekansal olarak değişen farklı seçilime bağlı olarak gen akışı ve genetik sürüklenmeye rağmen genetik farklılaşma ve bölgesel adaptasyon meydana gelmektedir [10], [11].

Sonuç olarak, birçok çalışma heterojen mekanlara adaptasyon ve bunların kantitatif varyasyon sonuçlarına neden olan polimorfizmleri belirlemeye odaklanmıştır [11], [12], [13], [14], [15]. Polimorfizmlerinin aydınlatılması için ortak bir yaklaşım coğrafi olarak farklı populasyonlar arasında son derece güçlü farklılaşma gösteren alelleri aramaktır [16], [17], [18], [19]. Klinler, yani sürekli bir çevresel gardiyan boyunca fenotip ve / veya alel frekansları bakımından meydana gelen değişiklikler, bu açıdan oldukça önemlidir.

Klinler fenotipik ve genetik değişim düzeyinde farklı populasyon ve türlerde genellikle farklı coğrafi bölgelerde tekrarlanabilir ve bu nedenle değişen mekansal seçilimi yansıttığı düşünülmektedir [4], [10], [20]. Bu şekilde farklı coğrafi bölgelerde tekrarlanan benzer klinler “paralel klin” olarak adlandırılmaktadır.

Seçilimin neden olduğu klinal varyasyonlar için yapılan en kapsamlı çalışmalar meyve sineği *D. melanogaster*’de gözlenen enlemsel klinlerdir [21], [22]. *D. melanogaster* Sahra altı Afrika’dan köken almış ve buradan son birkaç yüzyıl içerisinde kuzey Amerika’dan Avustralya’ya kadar kolonize olmuş bir türdür [23], [24], ve ılıman bölgelerde türemiş populasyonların bir dizi iklimsel adaptasyonların bir sonucu olduğu düşünülmektedir [22], [25], [26], [27], [28], [29]. Fenotipik olarak klin varyasyonları birkaç önemli yaşam öyküsü karakteri için belirlenmiştir. Bunlar gelişim süresi, vücut büyüklüğü, ovariyol sayısı, yumurta verimi, stres direnci, ömür uzunluğu, üreme dormansisi ve diyapozdur [28], [30],

[31], [32]. Benzer şekilde enlemsel klinler genetik düzeyde de belirlenmiştir. Örneğin hem kuzey Amerika hem de Avustralya populasyonlarında allozim, DNA ve kromozom inversiyon polimorfizminde klinal varyasyonlar gözlenmiştir [22], [27], [32], [33], [34], [35], [36], [37].

Özellikle *Drosophila* gibi değişen çevre koşullarına adaptasyon yeteneği yüksek organizmalarda fenotipik değişimler sıkça gözlenmektedir [38]. Kavramsal olarak fenotipik ekspresyonları ayarlayan mekanizmalar iki sınıfa ayrılır: genetik adaptasyon (örneğin alel frekanslarında değişiklik ile) ve fenotipik esneklik (plastisite) [39], [40]. Fenotipik esneklik doğrudan çevresel etkileri fenotipte gösterir. Bu durum kısa süreli çevresel varyasyonlara karşı adaptif bir strateji olarak görülebilir ya da adaptif olmayan ve organizmanın bulunduğu çevre ile kurduğu biyokimyasal veya fizyolojik bir etkileşim sonucu ortaya çıkabilir [39], [40]. Uzun süreli ve / veya kısa süreli sıcaklık varyasyonları canlı üzerinde uzun dönemde evrimsel (genetik) adaptasyona neden olabilmektedir. Bir coğrafi gradiyent boyunca uyumla ilişkili özelliklerde genetik olarak saptanan varyasyonlar bu şekilde meydana gelen adaptif evrimin bir sonucudur [41], [42], [43]. Sıcaklık ve coğrafi klinler arasındaki güçlü kovaryans nedeniyle adaptif evrim çalışmalarında klinal varyasyonlar bir anahtar olarak önem kazanmıştır [44], [45], [46].

Adaptif evrim çalışmalarında klinal varyasyonların genom ve transkriptome düzeyinde çalışmak ne kadar önemliyse, yaşam öyküsü karakterleri ve morfolojik karakterlerinde de klinal varyasyonları ortaya koymak oldukça önemlidir. Kıtalar arası enlemsel orjinlerine bağlı olarak *D. melanogaster* populasyonlarında fenotipik düzeyde rastgele olmayan varyasyonlara önemli kanıtlar vardır. Örneğin vücut büyüklüğü [33], [47], yumurta büyüklüğü ve ovariyol sayısı [48], soğuk direnci [41], sıcak direnci [41], alkol toleransı [49], ve susuzluk direnci [50], enlemsel klinler sergilemektedir. Bunun gibi ya da bunlarla bağlantılı veriler genellikle iklimsel varyasyonlara adaptasyonun kanıtı olarak yorumlanmaktadır.

Bu çalışmada, 2014 ve 2015 yılları arasında üç farklı enlemsel gradiyent (Türkiye, Ukrayna ve Rusya) üzerinden toplanan *Drosophila melanogaster* populasyonlarının vücut büyüklüğü bakımından enlemsel klin gösterip göstermediğini test etmek, vücut büyüklüğü varyasyonlarını kanat uzunluğu ve biçimini kullanarak belirlemek ve vücut büyüklüğü için aday gösterilen *Dca* geni ile vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi belirlemek amaçlanmıştır. Populasyonların toplandıkları bölgelere ve yıllara göre karşılaştırılmalar yapılmış, vücut büyüklüğü varyasyonlarını belirlemek için her populasyona ait bireylerin lineer kanat

ölçümleri yapılmış ve geometrik morfometri yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen fenotipik varyasyonların genetik temeline ilişkin bulgu edinebilmek için bir aday gen olan *Dca* geni ile fenotipik varyasyonlar karşılaştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Doğal Populasyonlarda Lokal Adaptasyon ve Klinler

Adaptif değişimin genetik temellerini anlamak evrimsel biyolojinin en temel ve büyük ölçüde çözülmemiş problemlerinden biridir [37]. Ayrıca populasyonların çevresel değişikliklere nasıl adapte olduklarını anlamak da evrimsel biyolojinin temel ilgi alanıdır. Temelde lokal adaptasyon, coğrafi olarak değişen seçim baskılarına verilen cevaptır. Bu süreç türleşmeye, türlerin çeşitliliğinin şekillenmesine ve türlerin yayılmasına olanak sağlayabilir. Son yıllarda yaygınlaşan ‘lokal adaptasyon’ çalışmaları, bu mekanizmanın temelini anlayabilmek için populasyonlara ait genetik analizlerde ağırlıklı olarak enlemsel ve rakımsal klinler kullanılmıştır [51], [52], [53], [54], [55], [56].

Klin kavramı, ilk olarak Huxley [57] tarafından ölçülebilir karakterlerdeki bir derecelendirmeyi tanımlamak için kullanılmıştır ve bu kavram Endler [10] tarafından fenotipte, gende veya genotip frekansında sürekli ve kademeli olan coğrafi varyasyon kavramını içerecek şekilde genişletilmiştir. Klinler, bir coğrafi alan üzerinde, genellikle çevresel heterojenlik sonucu, bir karakterde veya özellikte (fenotip) kademeli değişiklikleri ifade etmektedir. Bir klin, rastgele genetik sürüklenmeden ve göçten [58] ya da doğal seçim veya bu mekanizmaların her ikisinden de [59] kaynaklanabilmektedir. Çevresel gradientler boyunca, fenotipte ve genotip frekanslarındaki klinler, genellikle, mekansal olarak değişen seçilimin bir kanıtını oluşturmuştur [56].

Meyve sinekleri (*Drosophila*) ile uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalar bu organizmayı klinal adaptasyonu incelemek için mükemmel bir model haline getirmiştir [22], [32]. Bununla ilgili klasik örnekler, genellikle birçok kıtada paralel olarak ortaya çıkan *Drosophila*'nın çeşitli türlerindeki enlemsel klinleri içermektedir [56]. Vücut büyüklüğünde görülen enlemsel klinler, *Drosophila* türleri de dahil olmak üzere birçok ektoterm canlıda görülmektedir. Örneğin, enlemsel klinler, uyum başarısına bağlı fenotiplerin [28], [31], [60], [61] yanı sıra genomdaki alel frekansları için de yaygın olarak görülmektedir [35], [37], [55].

Klinal fenotipik varyasyonun çarpıcı bir örneği peçeli baykuşlarda (*Tyto alba*) bulunmuştur [62]. Bu tür, ağırlıklı olarak genetik olarak belirlenmiş feomelanik (pheomelanik, kırmızı ya da sarı tüye sahip olma) renkte coğrafi çeşitlilik göstermektedir [63], [64]. Bu türdeki renk klini, belirgin olarak Avrupa kıtasında yer alır ve burada bulunan bireylerdeki gövdenin alt kısmındaki renklenme, güneybatıdaki beyazdan kuzeydoğudaki kırmızımsı-kahverengiye kadar değişiklik göstermektedir [64]. Antoniazza ve arkadaşları [65] peçeli baykuşlardaki

klinal renk değişiminin Avrupa kıtasında seçilimle gerçekleşip gerçekleşmediğini test etmek için, 18 popülasyonda renklenme ve nötral genetik varyasyon farklılığını karşılaştırmıştır. Yapılan karşılaştırmalar, klinal renklemenin genetik sürüklenme sonucu olmadığını, lokal adaptasyonun bir sonucu olduğunu göstermiştir.

Başka bir örnek, ektotermelerde klinal değişimi gösteren vücut büyüklüğü ile ilişkili bir özellik olan gelişim zamanıdır. Gelişim zamanının enlem ile negatif olarak ilişkilendirildiği klinler, çekirge *Caledia captiva*'da [66], *Myrmeleon immaculatus*'da [67], su böceği *Aquarius remigis*'de [68], hemipter *Panstrongylus megistus*'da [69] ve *Rana climatans* ve *R. sylvatica*'da [70], [71] bulunmuştur.

2.2. *Drosophila*'da Zamansal ve Mekansal Değişkenlere Adaptasyon

D. melanogaster, model organizmalar arasında en çok çalışılan ve insanlar da dahil olmak üzere yüksek ökaryotlarla ortak birçok gelişimsel ve hücresel sürecin incelenmesi için bir model sistem olarak görev alan canlı gruplarından birisidir [72]. *D. melanogaster*, ılıman bölgelere yayılmış ve kozmopolit dağılım gösteren, atasal olarak tropik bir böcek türüdür [37]. Çeşitli yaşam alanlarını kapsayan geniş bir coğrafi dağılım alanı olan genetik ve çevresel heterojenite ile ilişkili evrimsel dinamikleri incelemek için mükemmel bir model türdür.

Organizmalar genellikle zaman ve mekan boyunca önemli ölçüde çevresel değişimle baş etmek zorundadır [73] ve çevresel heterojenlik temelde ikiye ayrılır; mekanda ve zamanda değişim.

2.2.1. Mekansal Değişkenler

D. melanogaster'deki enlemsel klinler yaygın olarak mekansal olarak değişen seçilimin adaptif bir sonucu olarak yorumlanmaktadır [27], [61], [74]. *D. melanogaster*'de enlem ile değişen karakterler arasında, gelişim oranı [31], [54], larval büyüme verimi [76], vücut büyüklüğü [31], [30], [75], [77], ovariol sayısı [77], yumurta büyüklüğü [78], açlık, soğuk ve sıcak direnci [60], [79], [80], etanol toleransı [81], metabolizma hızı [82] ve diyapoz görölme sıklığı [28], [83] yer almaktadır. Bunun yanı sıra *Drosophila*'daki enlemsel klinler, örneğin, allozim, DNA ve inversiyon polimorfizmleri olmak üzere genetik düzeyde de çalışılmıştır [22], [33], [37], [83], [84], [85].

D. melanogaster'de birçok enlemsel klin bulunmaktadır ve klinal varyasyon gösteren bu karakterlerin yıl içinde sıcaklık ile değiştii bilinmektedir [86]. Sıcaklık tüm bu varyasyonlara yol açan temel faktörlerden biridir [47]. Yapılan alışmalar canlıların değişen

sıcaklıklara uyum sağlayabilmek için varyasyona uğradığını göstermiştir [87], [88]. Örneğin, Partridge ve arkadaşlarının [89] yaptığı bir çalışma, *Drosophila*'da vücut büyüklüğünde görülen enlemsel klinler üzerinde sıcaklığın seçici ajan olarak görev aldığını desteklemiştir. Vücut büyüklüğü gibi ömür uzunluğu da sıcaklıktan etkilenmektedir. Örneğin, düşük sıcaklıkta tutulan sineklerin yaşam süresinin uzadığı görülmüştür [90].

D. melanogaster'de farklı kıtalardaki enlemsel klinlerin tekrarlanabilirliği, bu klinlerin genetik sürüklenmeden değil, doğal seçilimden meydana geldiğini düşündürmektedir. Örneğin *D. melanogaster*'in Hollanda'dan toplanan doğal populasyonlarıyla yapılan bir deneyde, aynı popülasyona ait bireyler farklı sıcaklıklara maruz bırakılmış ve on nesil sonra kontrol edilmiştir. Bu kontrolün ardından daha yüksek sıcaklıklarda daha küçük vücutlu bireylerin seçildiği, daha düşük sıcaklıklarda ise daha hızlı ve daha verimli gelişim dönemi gerçekleştiği ve buna bağlı olarak da daha büyük vücutlu bireylerin seçildiği ortaya konmuştur [91].

2.2.2. Zamansal Değişkenler

D. melanogaster'deki mevsimlere bağlı olarak görülen fenotipik/genotipik varyasyonlar yaygın olarak zamansal olarak değişen seçilimin adaptif bir sonucu olarak yorumlanmaktadır.

Doğadaki birçok tür mevsimsel olarak değişen çevresel koşullar altında yaşamaktadır. Bu koşulların neden olduğu varyasyonlar, yaşam öyküsü karakterlerinin genetik yapısını değiştirerek evrimi şekillendirmede rol oynayabilir [92]. Birçok organizmanın, iklim değişikliğine tepki olarak vücut büyüklüğünün zamanla değiştiği ortaya konmuştur ve bu durumun, evrensel ısınmaya tepki olarak ortaya çıktığı öne sürülmüştür [93]. Böceklerde vücut büyüklüğü, türlerin çevreyle nasıl etkileşimde olduğunu yansıtan bir karakter olduğu için önemlidir. Bir türün vücut büyüklüğü ile iklim, fenoloji ve mevsimsellik arasında önemli bir ilişki vardır [94]. Vücut sıcaklığı çevresel sıcaklıklarla büyük oranda ilişkilidir. Birçok ektoterm yaşam öyküsü karakterleri termal çevre tarafından şekillendirilir ve bu populasyonların vücut büyüklüğü değişen termal çevreye yanıt olarak değişir [95]. Sıcaklığa ek olarak fotoperiyod, doğal böcek populasyonlarında yaşam öyküsü karakterlerinde görülen varyasyonlar için önemli bir mevsimsel ipucu olarak görev yapabilir [92]. Kısa jenerasyon süresine sahip türlerde mevsimsel iklim döngüsü, iklim ile ilişkili özellikler üzerinde sürekli tekrarlanan mevsimsel değişikliklere neden olabilir [96]. Bradshaw ve Holzapfel [97] türler üzerinde, büyüme mevsimi süresindeki değişimin, sıcaklığın doğrudan etkilerinden daha önemli olabileceğini öne sürmüştür. Bu durum özellikle yüksek enlemlerde daha belirgin

görülen mevsimsel değişimle ilişkili olabilir. Populasyonların çevresel parametrelerdeki mevsimsel değişimlere, ekolojik ve evrimsel olarak nasıl yanıt verdiğine ilişkin çalışmalar sınırlıdır [54]. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, *D. melanogaster*'de bir yaşam öyküsü karakteri olan reproduktif diyapozun görülme sıklığı incelenmiş ve hem fenotipte [83], [98] hem de alel frekanslarında [99] mevsimselliğe rastlanmıştır. Başka bir çalışmada mevsimsellik ile arasındaki ilişkiyi açıklamak için *Drosophila* türlerinin üreme verimliliği, gelişim zamanı ve stres toleransı gibi yaşam öyküsü karakterleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ilkbahardan sonbahara kadar mevsimsel değişimle bir fenotipik varyasyon gözlenmiştir [54].

Günümüzün en önemli 'zamansal değişkeni' ise küresel ısınmadır. Endotermelerde olduğu gibi ektotermelerde de küresel ısınmanın bir etkisi olan sıcaklık artışının negatif etkilerini görmek mümkündür. Bu durumda organizmalarda vücut büyüklüğü ve çevresel heterojenite (örn. iklim ve beslenme) arasındaki mekanik bağlantıları anlamak, bir türün iklim değişikliğine tepki verme potansiyeli ve günümüzde çoğu tür için eksik olan termal toleranslar hakkında bilgi vermektedir. Konuyla ilgili yapılan kanat büyüklüğü ve biçim analizleri ile ilgili çalışmaların sonucu iklim değişikliğine tepki olarak birçok organizmanın ortalama vücut büyüklüğünde düşüş gösterdiğini ortaya koymuştur [100].

2.3. Vücut Büyüklüğü

Hayvanlardaki vücut büyüklüğünde, farklı çevrelere cevap olarak ortaya çıkan farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıklar türler arasında, bir türe ait populasyonlar arasında ve bir populasyondaki bireyler arasında görülebilmektedir [32]. Evrimde vücut büyüklüğünün değişimi ile ilgili örüntüler hakkında çok şey bilinmesine rağmen, ilgili türler arasında meydana gelen büyüklük farklarına neden olan genetik ve gelişimsel farklılıklar hakkında bilinenler azdır [101].

Vücut büyüklüğü, genellikle doğal seçilimin doğrudan bir hedefidir veya seçilen özellikler ile önemli ilişki göstermektedir [102]. Vücut büyüklüğü ile uyum başarısı arasındaki ilişki, hem doğada yapılan çalışmalarla hem de laboratuvarlarda yapılan [73], [103] gösterilmiştir. Bir organizmanın uyum başarısı gibi önemli etkenlerden dolayı, vücut büyüklüğünün genetik yapısını ve çevreyle olan etkileşiminin doğasını anlamak, tür içi ve türler arasında görülen vücut büyüklüğündeki varyasyonu şekillendiren mekanizmalara ışık tutmak için çok önemlidir.

Vücut büyüklüğü bir hayvanın biyolojisi, anatomisi, fizyolojisi, davranışı ve ekolojisine kadar birçok yönünü etkilemektedir. Aynı zamanda üreme başarısı ve uyum başarısı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [104]. Pek çok türde evrimsel olarak önemli varyasyona sahip klasik ve kantitatif bir özelliktir. Yapılan çalışmalarla bu varyasyonlardan sorumlu alellerin bulunması, özellikle vücut büyüklüğündeki çeşitliliğin ve genel olarak kantitatif özelliklerin korunmasının anlaşılmasına yardımcı olmaktadır [105].

Vücut büyüklüğü, ektotermelerde fenotipik esneklik göstermektedir ve termal çevreye cevap olarak gelişmektedir. Sıcaklık, fenotipik esnekliğin gelişimiyle ilgili tahminlerin test edilmesi için iyi bir çevresel faktördür, çünkü birçok özellik sıcaklık koşullarının değişimine karşı oldukça duyarlıdır. Özellikle ektotermelerde bu faktör, çok sayıda morfolojik özelliği ve uyum başarısı ile ilişkili karakterleri etkilemektedir [106].

Birçok böcek türünde, ergin vücut büyüklüğü (genellikle kanat büyüklüğü), Bergman kuralına uygun olarak enlemsel klin gösterir [30], [31], [107], [108]. Genellikle endotermik canlılar için geçerli olan bu kuralın, birçok ektoterm gruplarına da uygulanabileceği gösterilmiştir, ancak bu canlı gruplarındaki mekanizmalar farklı olabilmektedir [108]. Bergman başlangıçta bu kuralı, türler arası eğilimleri (trend) tanımlamak için kullanmıştır ancak daha sonra, tür içi varyasyonları açıklamak için yeniden tanımlamıştır [109]. Bergman kuralına göre vücut büyüklüğü sıcaklığın etkisiyle artan enlemle artış gösterir. Bu kural, daha yüksek rakımlarda veya enlemlerde bulunan bireylerin, düşük rakımlarda veya enlemlerde bulunanlara göre daha büyük vücuda sahip olacağını belirtmektedir [110]. Ters Bergman kuralına göre ise vücut büyüklüğü mevsimlerin süresinin etkisiyle artan enlemle azalır [108]. Ters Bergman kuralında, daha kısa mevsim uzunluğunun ekolojik kısıtlamaları ve daha soğuk olan yüksek enlemlerde, daha düşük besin bulunması gibi koşulların etkisi söz konusudur. Bu örüntüler, daha uzun gelişim süresine sahip olması nedeniyle özellikle büyük böceklerde [111], genellikle bir yılda tek kuşak veren ve mevsimselliğin yüksek olduğu bölgelerde yaşayan ektotermik canlılarda görülmektedir. Yüksek enlemlere doğru kısalan mevsimler yiyecek bulma, büyüme ve gelişme zamanını sınırlandırır ve vücut büyüklüğünün kutuplara doğru azalmasına neden olur [108]. Ektoterm dışı yapılan bir çalışmada da vücut büyüklüğünün bir ispinoz türü olan *Fringilla coelebs*'in Ters Bergman kuralına uyduğu ve kuzey enlemlerde vücut büyüklüğünün azaldığı görülmüştür [112].

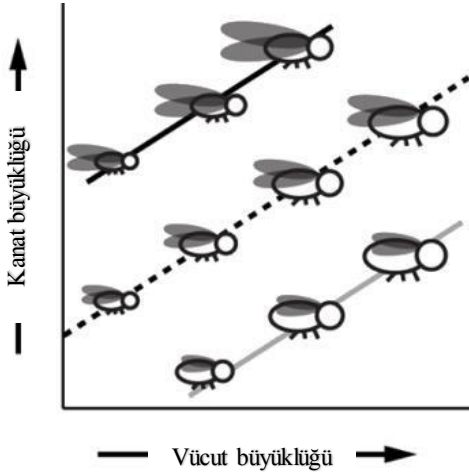
Drosophila ve diğer ektoterm canlıların, vücut büyüklüğünde Bergman kuralı ile bağlantılı olarak, coğrafi varyasyona bağlı farklılık gösterdiği bilinmektedir. *D. melanogaster* ve diğer

birkaç böcek türünde yumurta büyüklüğünde de Bergman klinleri deneysel olarak gözlenmiş ve bu türlerin daha yüksek sıcaklıklarda daha küçük yumurta (ve hücre) büyüklüğüne sahip oldukları bulunmuştur [113], [114], [115].

D. melanogaster'de ergin vücut büyüklüğündeki ilk klinin, Afrika ile Avrupa arasında olduğu bilinmektedir [116]. Aynı sıcaklıkta yetiştirilen, iki farklı iklime adapte olan iki farklı *D. melanogaster* popülasyonlarında yapılan araştırmalar sonucu, ılıman popülasyonun ergin bireylerinin, tropikal popülasyonun ergin bireylerine göre daha büyük olduğu ortaya koyulmuştur. Ergin vücut büyüklüğünde görülen bu klin, çoğu kıtada bulunmuştur ve buna benzer örnekleri birçok çalışmada görmek mümkündür. Enlem ile pozitif ilişkili vücut büyüklüğü klinleri; arıda (*Apis mellifera*) [117], karasinekte (*Musca domestica*) [118], karınca aslanında (*Myrmeleon immaculatus*) [119], kopepodlarda (*Scottolana canadensis* ve *Attheyella nakaii*) [120] ve *Drosophila serrata* [121] ve *Zaprionus indianus* [122] gibi bazı drosophilidlerde de gözlenmiştir.

2.3.1. Kanat Büyüklüğü ve Biçimi

Vücut büyüklüğü yaş ağırlık, kanat uzunluğu, kanat alanı veya toraks uzunluğu ile ölçülebilmektedir. Kanat büyüklüğü, vücut büyüklüğü için belirleyici olan önemli bir karakterdir [123], [124] (Şekil 2.1). Gelişim ve evrimsel çalışmalar için model olan kanat büyüklüğü, morfolojik varyasyonların temelinde yer alan mekanizmaları araştırmak için de uygun yapı göstermektedir. Ayrıca kanat biçiminde gözlenen varyasyonlara neden olan birçok genetik faktör bulunmaktadır. Buna ek olarak Kantitatif Karakter Lokus (QTL) analizi ile kanat biçimini etkileyen çok sayıda lokus tespit edilmiştir [125], [126], [127]. *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada tek bir P-elementi insersiyonunun etkisine bakılmış ve kullanılan 191 soy hattının yarısından fazlasında (%63) bu transpozon insersiyonunun kanat biçiminde görülen varyasyonla ilişkili olduğu tespit edilmiştir [128].



Şekil 2.1. Kanat büyüklüğü, vücut büyüklüğü için belirleyici olan önemli bir karakterdir.

Kanat biçimi varyasyonları, damarların birleşim yerlerine koyulan nokta (landmark)'lar yardımıyla tespit edilebilmektedir. *Drosophila* kanat gelişimi iyi bilinen bir konudur ve landmarklar kullanılarak yapılan geometrik morfometri çalışmalarıyla hem sinek kanatlarının morfolojisini hem de gelişimsel aşamalarını incelemek mümkündür [129], [130], [131]. Gilchrist ve Partridge'in [132] yaptığı bir çalışmada Avustralya'nın doğusundaki *D. melanogaster* popülasyonlarıyla yaptığı biyometrik analizler sonucunda bu popülasyonların kanat büyüklüğünde ve şeklinde görülen farklılıkların önemli epistatik varyans içerdiğini göstermiştir. Birçok araştırmacı kanat biçimindeki doğal varyasyonu belirlemiş olsa da, türler içindeki kanat biçiminin evrimsel genetiği hakkında çok az şey bilinmektedir [132].

2.4. Vücut Büyüklüğünü Etkileyen Çevresel ve Genetik Faktörler

Birçok yaşam öyküsü karakteri vücut büyüklüğüyle genetik olarak ilişkili olduğundan, vücut büyüklüğündeki klinal varyasyonlar diğer yaşam öyküsü karakterlerinde görülen varyasyonlarla uyumlu olabilmektedir [133]. Örneğin *Drosophila*'nın birçok türünde vücut büyüklüğü, gelişim süresi, sıcak ve soğuk direnci gibi kantitatif özellikler enlemsel klin gösterir. Yapılan çalışmalar bu durumun iklimsel koşulların yarattığı bir seçilimin etkisiyle gerçekleştiğini göstermiştir [22], [92]. Bu tür klinal varyasyon çalışmaları sadece kantitatif özelliklerde iklimsel koşulların yarattığı seçimle ilgili fikir vermekle kalmaz, aynı zamanda bu özellikler meydana gelen genetik varyasyonlarla belirli genler arasında bağlantı kurmayı sağlar [134].

Vücut büyüklüğü önemli bir yaşam öyküsü karakteridir. Metabolik hız, enerji gereksinimleri ve üreme başarısı üzerindeki etkisi nedeniyle yaşam öyküsü üzerinde de etkisi

bulunmaktadır [135]. Bu nedenle, vücut büyüklüğünün yaşam öyküsünün hemen hemen tüm yönlerinde yaygın bir etkiye sahip olduğu ve her bireyin yaşam öyküsünde önemli bir parametre oluşturduğu açıktır. *D. melanogaster*'de vücut büyüklüğü, genellikle üreme potansiyeli, gelişim süresi ve larval hayatta kalma başarısı ile olan ilişkisiyle belirlenen optimum bir ara değere sahiptir [136]. Vücut büyüklüğünde görülen değişiklikler, endotermilerin ve ektotermilerin termal biyolojisi ve enerjileri için önemli etkilere sahiptir. Bunun nedeni, vücut büyüklüğünün termoregülasyon için gerekli olan enerji ve su gereksinimlerini [137], enerji ve kütle alımı, kullanım oranlarını ve yaşam öyküsü karakterlerini [106] doğrudan etkilemesidir [138].

Vücut büyüklüğü üzerinde temel etken olan gelişim süresi birçok gen tarafından kontrol edilmektedir ve karmaşık bir yapı göstermektedir. Gelişim süresinin vücut büyüklüğü üzerindeki etkisi sadece hangi genlerin etki ettiğiyle ilgili değil, çevresel etmenlere karşı genlerin ifadelerinde meydana gelen değişikliklerle de ilgilidir. [139]. Vücut büyüklüğü karakterlerinin kalıtsallığının, gelişim için önemli bir aşama olan larval büyüme sırasında çevresel koşullara bağlı olduğu yapılan çalışmalarla da kabul edilmiştir [140], [141]. Holometabol canlılar için büyüme ve gelişme dönemi önemlidir. Bu canlılarda larval dönemde ergine ait özellikler şekillenmektedir. Bu nedenle gelişim süresi ergin vücut büyüklüğünü belirlemektedir. Örneğin, birçok çevresel koşulla (besin, sıcaklık, fotoperiyod gibi) etkilenen büyüme ve gelişme süresinin uzaması vücut büyüklüğünün artmasına neden olmaktadır [142]. Bunun yanı sıra *Drosophila*'da ergin dişi ve erkek bireylerde vücut büyüklüğünün eşeyssel seçilim başarısını etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [143], [144]. Bu durum üreme başarısının artmasına veya azalmasına neden olmaktadır. Yumurta verimi de bu durumdan doğrudan etkilenmektedir [145]. Büyük vücuda sahip erkekler çok sayıda dişi ile çiftleşerek toplam üreme başarısını arttırmaktadır. Ancak dişilere aktarılan sperm sayısı azalacağından dişilerin potansiyel üreme başarısı azalmaktadır. Küçük vücutlu erkekler ise daha az dişi ile çiftleşir ancak bu bireyler uzun kopulasyon süresine sahiptir ve bu sürede aktarılan sperm sayısı artacağından dişilerin verimliliğini de artmaktadır [145].

Drosophila'daki vücut büyüklüğü enlem ile artmanın yanı sıra, hem rakımla [146], [147] hem de yılın soğuk dönemlerinde artış gösterir [146], [148]. Mekansal olarak değişen çevrede birçok ekolojik değişiklik meydana gelir ve bu durum birçok seçici ajanın oluşmasına neden olmaktadır [65]. Canlıların yaşadığı çevredeki değişim, esneklik gösteren bir fenotipik özelliğin ya da genlerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir [149]. Fenotip,

hem genler hem de çevre tarafından etkilendiği için, aynı genotipteki farklı bireylerin uyum başarısı, eşit olmak zorunda olmayıp bireylerin yaşadıkları ortama bağlıdır.

Ektotermelerde vücut büyüklüğünü etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biri sıcaklıktır. Sıcaklık, çok sayıda morfolojik özelliği ve uyum başarısı ile ilişkili karakterleri etkilemektedir [106]. Vücut büyüklüğünde meydana gelen evrimsel değişiklikler ve termal duyarlılık, evrimsel adaptasyonun ve organizmaların çeşitlenmesinin temel özelliğidir. Örneğin, ılıman populasyonlarda görülen vücut büyüklüğündeki artışın, sıcaklığa adaptasyonun evrimsel olarak kabul edilen bir kanıtı olduğu ortaya konmuştur [32]. Anderson [150], *Drosophila pseudoobscura* populasyonlarını altı yıl boyunca 16°, 25° ve 27°C'de tutarak sıcaklığın vücut büyüklüğü üzerindeki etkisini incelemiştir. Populasyonlar bu üç farklı sıcaklıkta bir buçuk yıl kaldıktan sonra kanat uzunlukları ölçülerek kontrol edildiğinde vücut büyüklüğünde meydana gelen bir farklılık olmadığı görülmüştür. Ancak altı yıl sonra ölçümler tekrarlandığında 16°C'de tutulan populasyonun, 25°C ve 27°C'de tutulan populasyonlara göre daha büyük boyuta sahip olduğu belirlenmiştir [151].

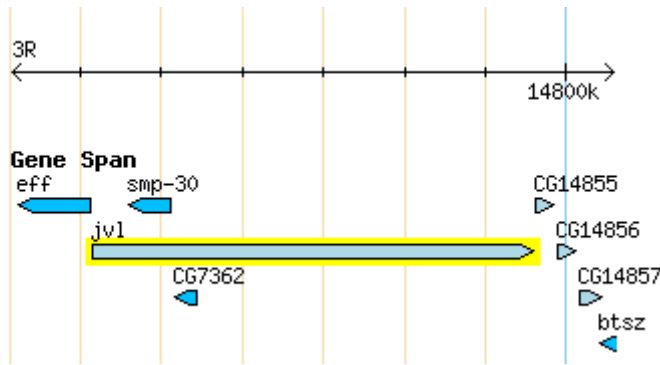
Kanat büyüklüğü ve biçim varyasyonlarının genetik temeli poligenik olmaktadır ve genlerin tek başına incelenmesiyle varyasyonların nedenini anlamak güçtür [152]. Örneğin *D. melanogaster* ile ilgili geçmişten günümüze gen düzeyinde yapılan çalışmalar sayesinde 2401 adet gen vücut büyüklüğü ile, 2449 gen kanat büyüklüğü ile ve 799 gen ise kanat biçimi ile ilişkilendirilmiştir (flybase.org'dan alınan verilere göre).

Kanat morfolojisi için aday genlerin tanımlanmasını amaçlayan çalışmalar, *D. melanogaster*'de kanat büyüklüğünde görülen varyasyonun genetik temelini, küçük ek etkilere neden olan sayısız genetik faktörden oluştuğunu ortaya koymuştur [149], [153], [154]. Son yıllarda da *D. melanogaster*'in kanat morfolojisinin genetik temelini incelemek için çalışmalar yapılmıştır [128], [152]. Bu çalışmalarla elde edilen sonuçlar, kanat büyüklüğünün genetik yapısının, cinsiyete göre dimorfik bir şekilde, karakterlere katkıda bulunan birçok farklı gen ile karmaşık bir yapı oluşturduğu fikrini desteklemektedir. Genellikle kanat büyüklüğü ile ilgili genlerden nispeten bağımsız olan poligenik temel, gelişme ve/veya metabolik fonksiyonlarla, özellikle hareketlilik (mobility), adezyon, iletişim ve sinyal iletimi gibi farklı hücresel süreçlerin düzenlenmesiyle ilgili genlerden oluşmaktadır [155].

Adaptasyonun genetiği ile ilgili birçok genel soru vardır ve adaptif fenotiplerin temelinde yer alan genleri belirleyerek bu sorular cevaplanabilmektedir. Karakterlerle ilişkili aday

genlerin yardımıyla birçok özelliğin genetik temeli anlaşılabilmekte ve sahip oldukları polimorfizmler ortaya çıkarılabilmektedir. Örneğin, vücut büyüklüğü üzerinde önemli etkiye sahip olan aday genlerden biri, Neurofibromin 1 (*Nf1*)'dir [156]. Yapılan mutant analizleri ile larval dönemde *Nf1* geninin ifadesinin ergin vücut büyüklüğünü etkilediği ortaya konmuştur [157]. Doğada iki farklı *Nf1* haplotipi tespit edilmiş ve bunların kanat büyüklüğü ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir [158]. Bu çalışmada iki haplotipten biri olan *Nf1-insersiyon-A*, daha küçük kanat büyüklüğü ile ilişkilendirilmiştir ve ılıman iklimlerde yaygın olduğu bulunmuştur [158].

Vücut büyüklüğü ile ilgili bir başka aday gen olan *Dca* (Şekil 2.2), kanat büyüklüğü üzerinde *Nf1* genine benzer bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur [153], [158]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla *Dca*'nın, 5' düzenleyici bölgesinde görülen bir insersiyon/delesyon (INDEL) polimorfiziminin transkripsiyon düzenlenmesinin yönlerini değiştirerek, adaptif kanat büyüklüğü varyasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. *Dca*'nın transgenik ifadesinin artmasının, kanat büyüklüğünü etkilediği bilinmektedir [137]. *smp-30* (senescence marker protein 30) olarak da bilinen *Dca* (*Drosophila* cold acclimation gene), 3. kromozomun sağ kolunun 88D2 sitolojik konumunda bulunmaktadır. Bu gen, ilk olarak soğuk uygulamasından sonra up-regüle olan genler araştırılırken bulunmuştur (Goto 2000). Bilgisayar destekli homoloji analizleri, *Dca*'nın sıçan, fare ve insanda nükleik asit ve amino asit dizileri arasında klonlanmış olan yaşlanma işaretleyici protein-30 (SMP30) ile benzer olduğunu ortaya çıkarmıştır [159]. Genin memeli homologu (SMP30 veya regucalcin [RGN]) başlıca yaşlanma ve yaşlanmayla ilişkili bir kalsiyum bağlayıcı protein olarak karakterize edilmiştir [159]. *Dca*, memeli homologuna benzer şekilde, *Drosophila*'da da kalsiyum homeostazının düzenlenmesinde, hücre proliferasyonunun ve doku büyüklüğünü olumsuz etkilenmesinde rol oynamaktadır [158].



Şekil 2.2. *Dca* geninin genom üzerindeki görünümü (<http://flybase.org/>)

Flybase'de (<http://flybase.org/>) ve ModECode'de (<http://www.modencode.org/>) bulunan en yeni RNA-Seq verilerine göre, *Dca*'nın zamansal ifadesinin gelişimsel olarak kontrol edildiği ortaya konmuştur [158]. Lee ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışma ile, *Dca*'nın ifadesinin embriyonik gelişimin ilk 18 saatinde düşük olduğu ancak embriyonik evrenin son 6 saatinde hızla arttığı ortaya konmuştur. Genin ifadesi üç larval dönem boyunca artmaya devam etmiş ve üçüncü larval dönemde ifadesinde yaklaşık 50 kat artış göstererek en yüksek seviyeye ulaşmıştır. *Dca* gen ifadesinin üç günlük pupa evresine kadar hızlı bir şekilde düşüş göstererek sabitlendiği görülmüştür. Erkeklerde ve dişilerde farklılıklar görülmesine rağmen, *Dca* geninin ifadesi bir günlük ergin bireylerde ikinci bir maksimum noktasına ulaşmıştır.

McKechie ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı çalışmalarıyla ilişkili olarak, *Dca*'nın transgenik ifadesinin aşırı artması sonucunda sineklerin kanat büyüklüklerinde belirgin bir küçülme meydana geldiğini ortaya koymuştur [158]. Bu çalışmada, Avustralya popülasyonları ile çalışılmıştır ve yaygın görülen *Dca*-237 ve *Dca*-247 alellerinin birbirleriyle ilişkili olarak enlemsel klin gösterdiği ortaya konmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen bilgilere göre, *Dca*-237 alelinin tropiklere doğru frekansının arttığı ve buna bağlı olarak da kanat büyüklüğünün küçüldüğü görülmüştür [138] (Şekil 2.3).

(a) Yaygın aleller arası varyasyon

	Nükleotit pozisyonu									
	4	4	4					3	3	3
	5	4	3					9	8	7
Allele	4	5 (GATA)	6 (Dfd)				(indel)	2 (GATA)	2	3
<i>Dca</i> -247 ⁹	AAATGTGTG	TGAGATTGCGAATGGTATTATTTTCATGGAGCCACAACATTTTCATTAAACACAAC	TGAGATATTT	GAGAATGT						
<i>Dca</i> -237-1	AAATGTGTG	TGAGATTGCAATGGTTATATTTTCATGGAGCCTGA	-----	GCCTGAAC	TGAGATATTT	GAGAATGT				
<i>Dca</i> -237-2	AAATGTGTG	TGAGATTGCAATGGTTATATTTTCATGGAGCCTGA	-----	T AACACAAC	TGAGATATTT	GAGAATGT				

Varyasyon içermeyen bölgeler (*)

(b) Haplotip varyasyonu

Nükleotit pozisyonu													
		55555	5-5	5555	5-5	444	4-4	44444	4-4	44444444	4-4	433333	
		75532	2-1	1100	0-0	888	7-7	76654	4-4	33222111	0-0	099998	
Allele	Cluster ²	36324	0-5	4074	2-1	532	8-7	46588	4-3	86987921	9-1	098658	
<i>Dca</i> -247 ⁹	1	AAAGC	[A(06)]	GAAC	[- - -]	AAA	[- - - - -]	CAGTG	[- - -]	GGATT	AC	ACATTTTCAT	TAAACG (247 b.p.)
<i>Dca</i> -238-1	2		[A(06)]		[- - -]		[- - - - -]		[- - -]	. ATA .	TG	[- - - - -]	 (238 b.p.)
<i>Dca</i> -237-2	2		[A(05)]		[- - -]		[- - - - -]		[- - -]	. ATA .	TG	[- - - - -]	 (237 b.p.)
<i>Dca</i> -237-1	2	. T .	A	[A(06)]		[- - -]		. G . C .	[- - -]	. ATA .	TG	[- - - - -]	-GCTG. (237 b.p.)
<i>Dca</i> -241-1	2		[A(06)]		[CCT]		[- - - - -]		[- - -]	. ATA .	TG	[- - - - -]	 (241 b.p.)
<i>Dca</i> -241-2	2		[A(06)]		[CCT]		[- - - - -]		[- - -]	. AA .	TG	[- - - - -]	 (241 b.p.)
<i>Dca</i> -238-2	3		[A(06)]		[- - -]	. G .	[- - - - -]	T	[- - -]	. AA .	TG	[- - - - -]	 (238 b.p.)
<i>Dca</i> -248	3		[A(16)]		[- - -]	. G .	[- - - - -]	T	[- - -]	. AA .	TG	[- - - - -]	 (248 b.p.)
<i>Dca</i> -249	3		[A(17)]		[- - -]	. G .	[- - - - -]	T	[- - -]	. AA .	TG	[- - - - -]	 (249 b.p.)
<i>Dca</i> -250	3		[A(18)]	. C .	[- - -]	. G .	[- - - - -]	T	[- - -]	. AA .	TG	[- - - - -]	 (250 b.p.)
<i>D. simulans</i> -240		C.GT	[A(00)]	T.TT	[- - -]	T.C	[GGGCC]	T . TAA	[GGG]		AATG	[- - - - -]	T T (240 b.p.)

Şekil 2.3. *Dca* alelleri arasında sekans varyasyonları (promotor bölge haplotipleri). **(a)** Yaygın aleller arası varyasyonlar. **(b)** Avustralya'da bulunan haplotipler arası farklılıklar (McKechie ve ark., 2010'dan alınmıştır).

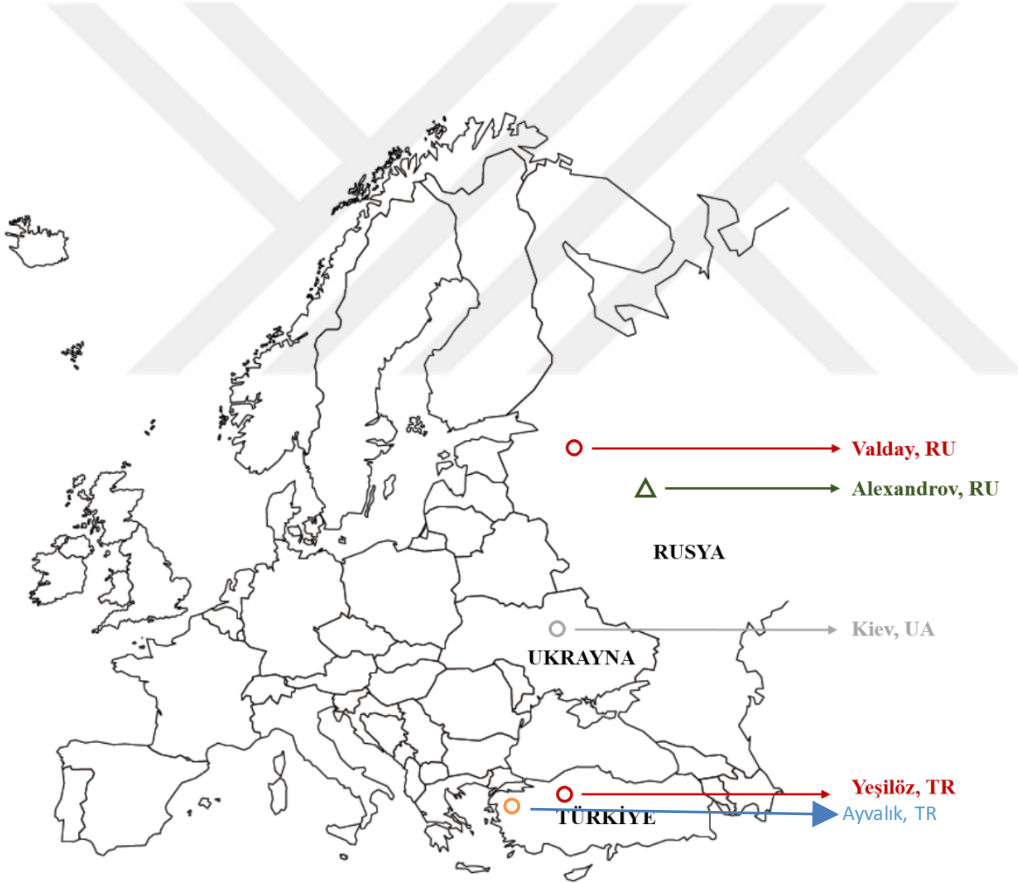
Kromozomların yeniden düzenlendiği inversiyonlar da vücut büyüklüğü üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Kozmopolit bir inversiyon olan *In(3R)Payne*, enlemsel klin göstermektedir [84], [160]. Üçüncü kromozomda yer alan bu inversiyonun frekansının artış göstermesinin kanat büyüklüğünde azalmaya yol açtığı bulunmuştur [161]. Bu inversiyonun vücut büyüklüğünün yanı sıra gelişim süresi, stres direnci, yaşayabilirlik gibi karakterleri etkilediği de ortaya konmuştur [30], [61], [87]. Bir başka çalışmada, polimorfizm gösteren ikinci kromozom inversiyonlarının *Drosophila buzzatii*'de vücut büyüklüğünü ve biçimini etkilediği ve inversiyon polimorfizmleri tarafından açıklanabilen bir genetik temele sahip olabileceği gösterilmiştir [162].



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Çalışma Alanları

D. melanogaster doğal populasyonları Türkiye, Ukrayna ve Rusya'da 2014 ve 2015 yıllarında yapılan arazi çalışmaları ile toplanmıştır. Türkiye'den toplanan populasyonun örneklem alanı olarak Ankara'ya yaklaşık 100 km uzaklıktaki Gündül ilçesine bağlı Yeşilöz (40.30°N, 32.34°E) kasabasında bulunan bir meyve bahçesi seçilmiştir. Arazi çalışmaları 2014 ve 2015'de her yıl Mayıs ayından Ekim ayına kadar, her ay bir kez olmak üzere gerçekleştirilmiştir. Rusya populasyonu Moskova'nın 400 km kuzeybatısında bulunan Valday'den (57.58°N, 33.14°E) 2014 ve 2015 yılının Ekim ayında, Ukrayna populasyonu ise Kiev'de (50.27°N, 30.31°E) bulunan meyve bahçelerinden 2014 ve 2015 yılının Ekim ayında toplanmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Populasyonların toplanma alanlarının harita üzerinde gösterimi (RU: Rusya, UA: Ukrayna, TR: Türkiye).

Populasyonlar arasındaki farklılıkların enlemsel varyasyon kaynaklı mı, yoksa populasyonlar arasındaki varyasyonlardan kaynaklı mı olduğunu anlayabilmek için yukarıda belirtilen alanlara ek olarak aynı enlemlerde bulunan ve 'replika' populasyonlar olarak adlandırılan populasyonlar kullanılmıştır. Bu populasyonlar, Türkiye'de Balıkesir, Ayvalık

(39.19°N, 26.41°E) ile Rusya'da Moskova yakınlarındaki Aleksandrov'dan (56.24°N, 38.44°E) toplanmıştır. Populasyonlara ait iklimsel ve coğrafi bilgiler Çizelge 3.1'de gösterilmektedir. Yıllık ortalama, minimum ve maksimum sıcaklık ile yıllık ortalama nem verileri <https://www.worldweatheronline.com/> sitesinden alınmıştır.

Yeşilöz populasyonunun doğadan toplandığı yıl ve aylara ait sıcaklık ve nem oranları Çizelge 3.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.1. Populasyonların toplandığı bölgelere ait iklimsel ve coğrafi parametreler.

Coğrafi Konum	Enlem (Kuzey)	Boylam (Doğu)	Rakım (m)	Yıl	Yıllık Ort. Sıcaklık (C°)	Yıllık Min. Sıcaklık (C°)	Yıllık Maks. Sıcaklık (C°)	Yıllık Ort.Nem (%)
Ayvalık, Türkiye	39° 19'	26° 41'	79	2016	20.6	18.0	23.1	64
Yeşilöz, Türkiye	40°30'	32°34'	682	2014	15.6	12.2	19.0	58
				2015	13.1	9.7	16.6	56
Kiev, Ukrayna	50°27'	30°31'	179	2014	13.2	10.4	15.3	70
				2015	13.3	10.6	15.5	74
Alexandrov, Rusya	56°24'	38°44'	190	2014	6.9	1.9	9.9	77
				2015	7.0	3.3	9.3	83
Valday, Rusya	57°58'	33°14'	218	2014	4.6	2.2	9.8	79
				2015	5.3	2.8	9.3	87

Çizelge 3.2. Yeşilöz populasyonunun toplandığı yıl ve aylara ait sıcaklık ve nem değerleri.

Yıl	Aylar	En Düşük Sıcaklık (°C)	En Yüksek Sıcaklık (°C)	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Nem (%)
2014	Haziran	22	29	26	51
	Temmuz	27	34	31	39
	Ağustos	27	34	32	38
	Eylül	21	27	25	46
	Ekim	15	21	19	56
2015	Mayıs	20	26	24	48
	Haziran	21	28	25	59
	Temmuz	26	34	31	38
	Ağustos	27	34	31	39
	Eylül	25	30	32	38
	Ekim	16	23	20	55

3.2. Soyların Toplanması ve Çoğaltılması

Yapılan arazi çalışmalarında, örnekleme için standart *Drosophila* tuzakları kullanılmıştır. Bu tuzaklar yarım litre pet şişelere fermente olmuş muz ve maya karışımı konularak hazırlanmıştır. Besin tuzakları başka böceklerin gelmesini ve diğer hayvanların erişimini engelleyebilmek için bir tel yardımı ile boy hizasında ağaçlara asılmıştır. Öğle saatlerinde bırakılan tuzaklardan, bir kez akşamüstü güneş batmadan bir kez de sabah erken saatlerde olmak üzere tuzak içerisine giren sinekler toplanmıştır. Yeterli sayıda birey olmaması durumunda tuzaklardan ergin toplama işlemi sürdürülmüştür. Tuzaklardan alınan canlı sinekler standart *Drosophila* besiyeri içeren tüplere alınarak Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Genetik laboratuvarına getirilmiştir.

3.2.1. Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvara getirilen ergin *Drosophila*'lar için tür teşhisi yapılmıştır. Teşhis sonucu *D. melanogaster*'e ait dişi bireyler her tüpte bir birey olacak şekilde standart *Drosophila* besiyeri içeren tüplere transfer edilerek izosoy hatları (isofemale lines - tek dişiden meydana gelen soy hatları) oluşturulmuştur. Oluşturulan bu soy hatları laboratuvarımızda kullanılan standart *Drosophila* besiyeri içeren tüplerde, 25°C sıcaklık, %55-60 nem ve 12:12 saat aydınlık/karanlık ışık periyodunda NÜVE marka iklim dolabında tutularak çoğaltılmıştır. Her bir dişiden gelen izosoy hatları 20 kuşak boyunca tam kardeş eşleşmesi (full sibling mating) yapılarak kendileştirilmiştir. Bu tez kapsamında yapılan deneylerde, kendileştirme sürecini tamamlamış olan kendileşmiş (inbred) soy hatları kullanılmıştır. Aşağıda bu süreçle ait protokol ayrıntılı olarak verilmiştir.

Kendileşmesini tamamlayan soy hatları standart *Drosophila* besiyeri ortamında kültüre edilmiştir. Besiyeri hazırlanırken mısır unu, şeker, maya ve agar Çizelge 3.3’de verilen miktarlarda tartılıp hazırlanmıştır. Besiyeri hazırlandıktan sonra tüp veya şişelere dökülerek ve kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Kullanılan standart *Drosophila* besiyeri içeriği ve miktarları.

<u>Standart Besiyeri</u>	
Su	1000 ml
Mısır Unu (Karbonhidrat, vitamin, mineral kaynağı)	50 g
Şeker (Karbonhidrat kaynağı)	50 g
Maya (Protein kaynağı)	35 g
Agar (Katılaştırıcı)	10 g
Propiyonik Asit (Koruyucu)	5 ml
Metil Paraben/Ethanol (Koruyucu)	1,4 g/7 ml

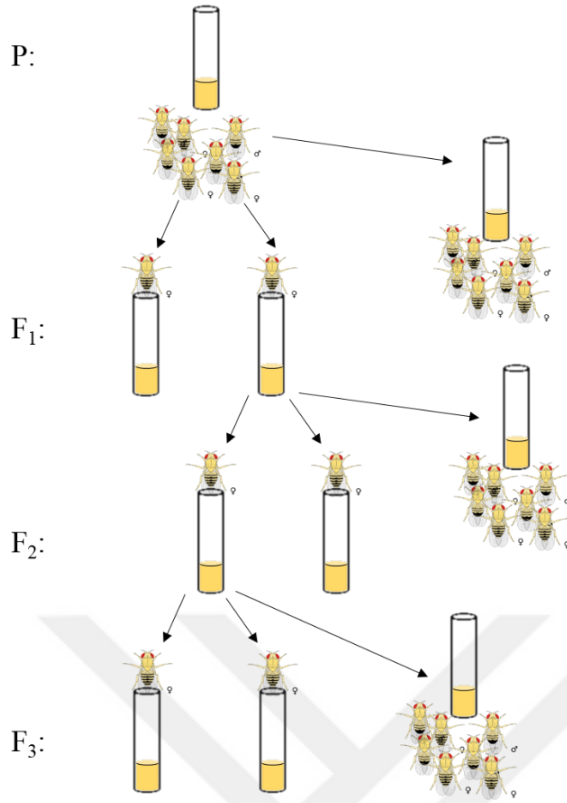
D. melanogaster’in yaşam döngüsü standart koşullar altında toplamda 10 günde tamamlanmaktadır. Bu 10 günlük döngü; 1 gün yumurta, 1 gün birinci larval evre (L1), 1 gün ikinci larval evre (L2), 2 gün üçüncü larval evre (L3) ve 5 gün pupal evre sonrası ergin birey oluşumu şeklindedir. Bu nedenle stok şeklinde tutulan soy hatları 14 günde bir yeni besiyeri ortamına alınmıştır. Aşırı yumurta bırakmaları sonucu oluşacak larval rekabeti önlemek ve bir sonraki kuşağın bir önceki kuşakla karışmasını önlemek amacıyla ergin bireylerin en az 3 gün yumurta bırakmaları sağlandıktan sonra tüplerden uzaklaştırılmıştır.

3.2.2. Kendileşmiş Soyların (Inbred Line) Oluşturulması

Laboratuvara getirilen doğal popülasyonlardan ilk olarak tüpe alınarak oluşturulan ve bir dişiye ait olan izosoy hatlarının, tam kardeş eşleşmesi yöntemi ile kendileştirilmesi sağlanmıştır. Bu yöntem ile, soyların taşıdıkları tüm aleller bakımından homozigot olması sağlanmış ve her bir soy hattının o popülasyondaki bir genotipi temsil ettiği kabul edilerek deneyler tasarlanmıştır. Kendileşmiş soy hatları ile tasarlanan çalışmalar *Drosophila*’da sıkça kullanılmaktadır [163].

Kendileştirme işlemi “Full-sib” yöntemi ile Türkiye, Rusya ve Ukrayna’dan toplanan tüm soy hatları için gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.2’de şematize edilen kendileştirme sürecinde tek dişiden oluşturulan soy hatlarının her birinden, üreme durumu iyi görünen ve ergin bireylerin çiftleştiği kabul edilen tüpteki bireylerden iki dişi seçilmiş, ayrı ayrı tüplere alınmış ve geri kalan bireyler “mass” (kitle) populasyon yani ana stok olarak saklanmıştır. Her bir kuşak oluşturulurken, ayrı ayrı tüplere alınmış olan iki dişi bireyin oluşturduğu yavru döllere üreme olan veya üreme durumu daha iyi olan bir tüpteki dişiler kullanılmıştır. Her defasında bu yol izlenerek iki dişi birey seçilmiş ve kuşaklar oluşturulmuştur. Böylece yeni kuşaklar tek bir soy hattından devam etmiş ve kendileşme süreci hızlanmıştır. Her kuşakta alınan dişilere ek olarak o kuşağa ait “mass” populasyon saklanmış ve bir önceki kuşağa ait “mass” populasyon iptal edilmiştir. Yeni kuşakta oluşturulan iki tüpte üreme olmaması durumunda “mass” popülasyondan birer dişi alınarak bir önceki kuşaktan yeni kuşak tekrar oluşturulmaya çalışılmıştır. Mass popülasyonların avantajı, üreme olmaması ve yavru döl oluşmaması durumunda tüm soyu kaybetmek yerine yalnızca bir kuşak kaybetmiş olmaktır. Bu şekilde en az 20 kuşak gerçekleştirilen tam kardeş eşleşmesi sonucunda, kendileşme katsayısı F' ’in 1’e yakın olduğu yani bireylerin tüm aleller için homozigot olduğu kabul edilmiştir [163]. Kendileşme süreci her bir soy hattı için en az bir yıl sürmektedir. Özellikle bir fenotiple ilişkisi araştırılacak gen veya genlerle yapılan çalışmalarda popülasyondaki bireylerin heterozigot olması elde edilen sonuçların anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Ancak, tüm genom bakımından homozigot olan soylarda bir fenotipin bir gen, gen grubu ya da genomla ilişkilendirilmesi mümkündür. Bu nedenle özellikle kantitatif özelliklerin ölçülmesinde inbred soy hatları kullanılmaktadır. Böyle soy hatları ile farklı laboratuvarlarda çalışmak ve elde edilen bulguları birleştirmek mümkündür. Kullanılan soy hat sayıları artırılarak popülasyonu en iyi temsil eden “genotip” sayısına ulaşılabilir [164].



Şekil 3.2. Kendileştirmede tek bir dişi kullanılarak bir sonraki kuşağın kurulması prensibine dayalı “Full-sib” yönteminin şematik gösterimi.

3.3. Kanat Büyüklüğü Deneyleri:

3.3.1. Soy Hatlarına ait Kanat Ölçümleri İçin Örneklem Grubunun Oluşturulması

Bu çalışmada populasyonlar arası vücut büyüklüğünde meydana gelen farklılıklarını saptayabilmek için *Drosophila*'da vücut büyüklüğünü belirlemede iyi bir parametre olan kanat büyüklüğü ile ilgili ölçümler ve analizler yapılmıştır. Ayrıca, populasyonlar arası morfolojik biçim farklılıkları kanat biçim analizleri ile ölçülmüştür. Soylar arası vücut büyüklüğünün ve kanat biçimlerinin enlemsel ve mevsimsel varyasyonlarını belirlemek amacıyla, Yeşilöz'den 2014 ve 2015 yılları Mayıs ve Ekim ayları arasında her ay bir kez toplanan ve laboratuvar ortamında 20 kuşak boyunca kendileşmesi sağlanan soylardan 106 soy hattı, Valday'den 2014 - 2015 yılları Ağustos ve Ekim aylarından toplam 51 soy hattı, Alexandrov'dan 2014 - 2015 yıllarında Ağustos ve Ekim aylarından toplam 24 soy hattı ile Kiev'den 2014 - 2015 yılının Ekim ayından 31, 2016'da Temmuz ayında Ayvalık'tan toplanan 10 soy hattı kullanılmıştır. Toplam 222 kendileşmiş soy hattı deneye alınmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Lokasyonlara göre kullanılan popülasyonlara ait örneklem yılları ve deneylere alınan soy hatlarına ait sayılar.

Örneklem Lokasyonu	Örneklem Yılı	Deneylere Soy Sayısı	Alınan
Ayvalık	2016	10	
Yeşilöz	2014	46	
	2015	60	
Kiev	2014	18	
	2015	13	
Alexandrov	2014	12	
	2015	12	
Valday	2014	33	
	2015	18	

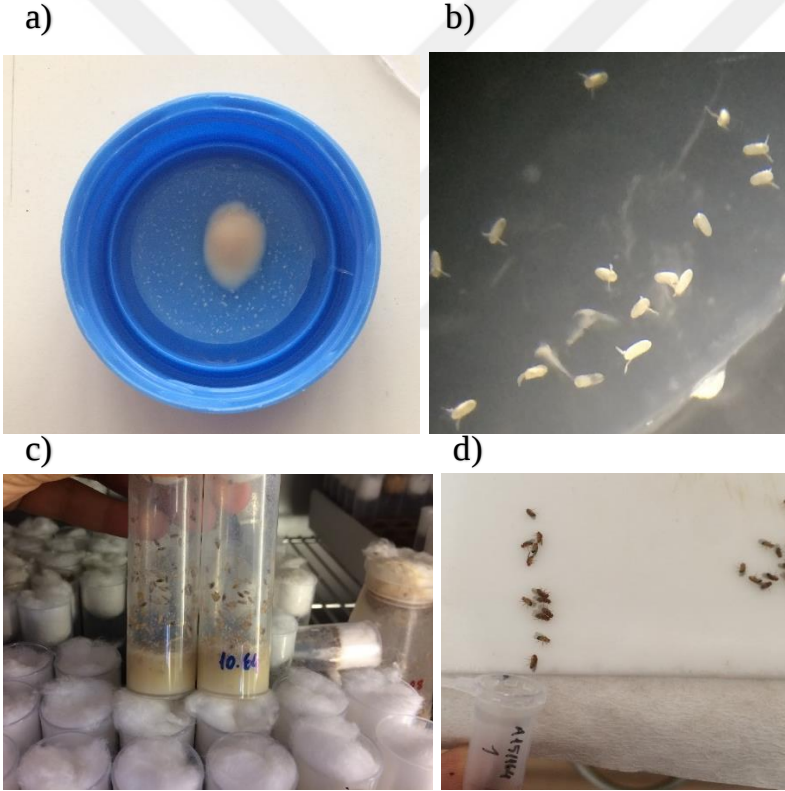
Morfolojik ölçümler için kullanılacak ergin bireylerin elde edilmesinden önce her soya ait ergin bireyler şişelere alınmış ve birden fazla replika olacak şekilde arttırılmıştır (Şekil 3.3). Böylece deneyde kullanılacak ergin bireylerin örneklem grubunu oluşturacak olan atasal bireyler sayıca çoğaltılmıştır.



Şekil 3.3. Morfolojik ölçümler için kullanılacak ergin bireylerin elde edilmesi için bireylerin şişelerde çoğaltılarak replikaların yapılması.

Çoğaltılan bireylerden yumurta toplamak amacıyla her soy için o soya ait en az 25 ergin birey, yumurta toplama kaplarına alınmıştır. Yumurta toplamak için petrilere 1 litre suyun içerisine 6 gram agar konularak kaynatılan şeffaf agar dökülmüştür. Petrilere dökülen bu agar uygun büyüklükte kesilerek yumurta toplama kaplarına yerleştirilmiştir (Şekil 3.4 a). Agar üzerine bırakılan yumurtalar rahatlıkla görülebildiği için toplanırken kolaylık sağlamaktadır. Kaplara yerleştirilen agarın yanı sıra yumurtlamayı arttırmak ve bireylerin aç kalmasını önlemek amacıyla su ile macun kıvamına getirilen maya konulmuştur (Şekil 3.4

a). Bir soy hattına ait şişelerde çoğaltılan dişi ve erkek bireyler yumurta toplama kaplarına transfer edilerek yaklaşık olarak 16-18 saat tutulmuştur. Sürenin sonunda mikroskop altında agar üzerine bırakılan yumurtalardan (Şekil 3.4 b), her bir soya ait bireylerin bıraktığı 50 adet yumurta toplanarak 7 ml standart besiyeri bulunan tüplere belirlenen replika sayısı kadar yumurta ekimi gerçekleştirilmiştir. Deneyin bu aşamasında her bir tüpe eşit sayıda yumurta ekilmesi ve 7 ml standart besiyeri kullanılmasıdaki temel amaç, larva beslenmesi başta olmak üzere çevresel değişkenlerden etkilendiği bilinen vücut büyüklüğünde çevreden kaynaklanacak farklılıkları en aza indirmek olmuştur. Standart sıcaklık, nem, ışık, besin ve larval yoğunluk ortamında gelişen ve pupa çıkışlarını (Şekil 3.4 c) takip eden en az 3. günde toplanan ergin bireyler %98'lik etil alkol bulunan tüpler içerisine alınarak öldürülmüştür (Şekil 3.4 d).

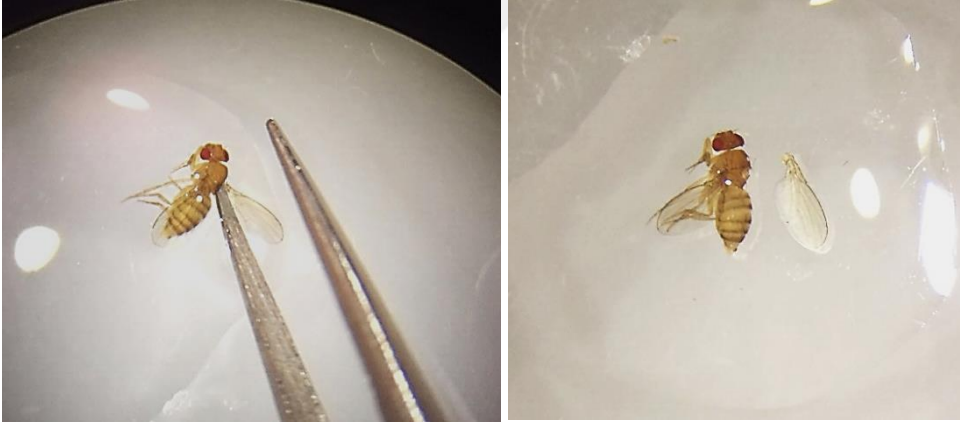


Şekil 3.4. Yumurta toplamak için kullanılan kaplar ve koyulan maya (a), agar üzerine bırakılan yumurtalar (b), yumurtaların ekildiği standart 7 ml besiyeri ve yumurtadan çıkan ergin bireyler (c), ergin bireylerin kanat ölçümleri için tüplere alınması (d).

3.3.2. Kanat Büyüklüğü ve Kanat Biçim Analizi için Preparatlarının Hazırlanması:

Her bir tüpten gelen erginler ayrı ayrı, içinde %95'lik alkol bulunan eppendorf tüplere alınmıştır. Her bir tüp bir tekrar grubunu oluşturmuştur. Kanat preperatları hazırlanmak üzere her bir tüpten 5 dişi ve 5 erkek birey alınmıştır. Analiz edilen her soy hattı için en az 3 replikadan gelen en az 30 ergin birey kullanılmıştır.

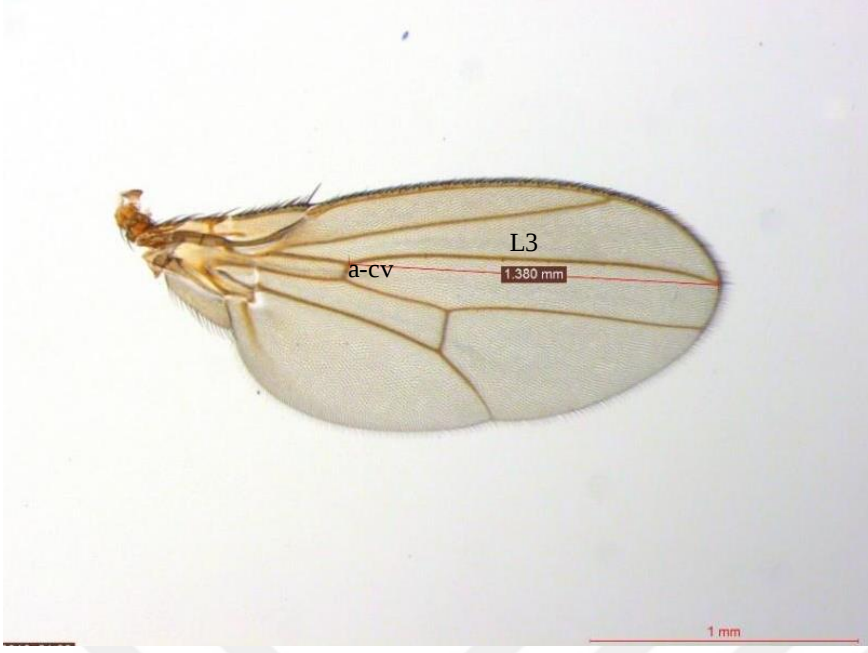
Preparatları hazırlamadan önce soylara ait bireyler alkol içerisinde alınmış ve su içerisinde alkolden arındırılmıştır. Her bireyin sol kanadı toraksa bağlandığı yerden ince uçlu pens yardımıyla mikroskop altında disekte edilmiştir (Şekil 3.5). Her soya ait dişi, erkek ve replika sayısının yazılı olduğu lam üzerine Entellan (Merck Millipore) damlatılmıştır. Koparılan sol kanatlar entellan üzerine bırakılmıştır ve hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatılmıştır. Kanat preparatları aynı yöntem kullanılarak tüm soy hatları ve eşeyler için yapılmıştır. Toplamda 222 adet soy hattına ait 8235 adet kanat preparatı yapılmıştır. Kanat preparatlarının fotoğrafları, Leica M205C araştırma mikroskobuna bağlı görüntüleme sistemi aracılığıyla çekilerek dijital ortama aktarılmıştır.



Şekil 3.5. Preparatlar hazırlanırken mikroskop altında ince uçlu pens ile kanatların disekte edilmesi.

3.3.3. Kanat Lineer Ölçümlerinin Yapılması:

Leica M205C araştırma mikroskobuna bağlı görüntüleme sistemi aracılığıyla çekilerek dijital ortama aktarılan kanat görüntüleri üzerinde ön çapraz damar (anterior crossvein) ile üçüncü uzunlamasına damar (longitudinal vein) arasındaki iki nokta arasında lineer ölçümler gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Bu ölçümler sırasında Leica LAS (Leica Application Suite 4.9) programı kullanılmıştır. Elde edilen uzunluk ölçümleri daha sonra analizleri yapmak üzere Excel tablosuna girilmiştir.

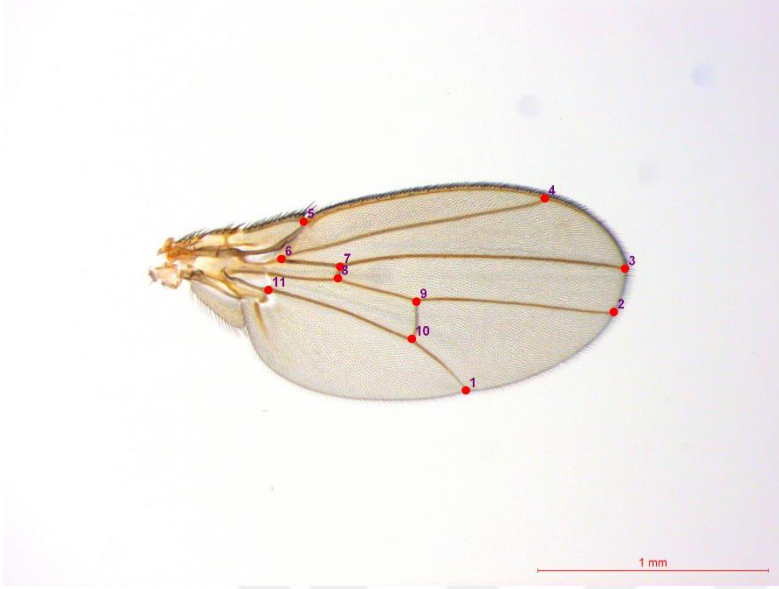


Şekil 3.6. Kanat görüntüleri üzerinde ön çapraz damar (anterior crossvein) ile üçüncü uzunlamasına damar (longitudinal vein) arasındaki iki nokta arasında gerçekleştirilen lineer ölçümler.

3.3.4. Kanat Biçim Analizlerinin Yapılması:

Populasyonlarda meydana gelen morfometrik farklılıkları gözlemleyebilmek amacıyla kanat biçim analizleri yapılmıştır. Kanat biçim analizleri için Klingenberg'in 2014 çalışması referans alınarak 11 adet nokta (landmark) belirlenmiştir (Şekil 3.7). Leica M205C araştırma mikroskobuna bağlı görüntüleme sistemi aracılığıyla dijital ortama aktarılmış olan kanat görüntüleri biçim analizi yapılmak üzere öncelikle TpsUtil32 programı ile 'tps' formatına çevrilmiştir. Bu tps dosyaları TpsDig 2.32 programı [165] kullanılarak, analiz için belirlenen 11 adet landmark fotoğraflar üzerine konulmuştur (Şekil 3.7). TpsDig 2.32 programı aracılığı ile görüntüler üzerine konulan landmarklara ait tps uzantılı dosyalar oluşturulmuştur. Yapılacak analizlere uygun şekilde populasyonlara ait tps dosyaları tek bir dosya haline getirilmiştir. Tüm dosyaların bulunduğu tps formatındaki WordPad dosyası MorphoJ [166] programına aktararak kanat biçim analizleri gerçekleştirilmiştir. Program üzerinde analizler gerçekleştirilmeden önce örnekler sadece biçim değişkenleriyle analizlere devam edebilmek için procrustes rotasyonu ile standardize edilerek kovaryans matrisine çevrilmiştir. Daha sonra bu örnekler Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis - PCA) ve Kanonik Varyans Analizi (Canonical Variate Analysis - CVA) uygulanmıştır. Temel Bileşen Analizi, deneyde kullanılan populasyonlara ait bireylerin kanat morfolojilerindeki varyasyonun anlaşılması ve tüm bireylere ait biçim değişiminin incelenmesi amacıyla yapılmıştır. Kanonik Varyans Analizi ise deneyde kullanılan farklı

lokasyonlara ait populasyonlar arasındaki biçimsel farklılıkların incelenmesi için yapılmıştır.



Şekil 3.7. Dijital ortama aktarılmış olan kanat görüntüleri üzerinde biçim analizi yapılmak üzere konulan 11 adet landmark.

3.4. Moleküler Analizlerin Yapılması

3.4.1. DNA İzolasyonu:

Kendileşmesini tamamlayan ve deneye alınan 2014 ve 2015 yılına ait tüm soy hatlarından 10 adet erkek birey DNA izolasyonu yapılmak üzere %98'lik alkol bulunan eppendorf tüplere alınmış ve -20°C 'de izolasyon işlemi gerçekleştirilene kadar bekletilmiştir. DNA izolasyonu için "PureLink Geneomic DNA isolation kit – (Invitrogene)" DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. İzolasyonun ilk aşamasında, -20°C 'de tüplerde tutulan erkek bireylerle 180 μl tampon (PureLink Genomic Digestion Buffer) kullanılarak ezme işlemi gerçekleştirilmiş ve örnekler homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler üzerine 20 μl Proteinaz K eklenmiştir. Hücrelerin lizize uğraması için gerekli olan bu aşamadan sonra enzimin aktifleşmesi için örnekler bir gece 55°C 'de etüvde bekletilmiştir. Bir gece etüvde bekleyen örneklerden süpernatant kısmı mikropipet yardımı ile alınarak yeni ve steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örnekler 20 μl RNaz A eklenmiş ve ortamda bulunan RNA ve protein karakterindeki molekülleri uzaklaştırmak amaçlanmıştır. Bu işlemin ardından vorteks yardımıyla örnekler karıştırılmış ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekletilen örnekler 200 μl liziz/bağlama tamponu (PureLink Genomic

Lysis/Binding Buffer) eklenerek vorteks işlemi tekrarlanmıştır. Vorteks işleminin ardından %96-100'lük etanol eklenip 5 saniye süresince vorteklenerek alkolün iyice karışması sağlanmıştır. Pürifikasyon aşaması için örneklerden ~640 µl örnek, kitin içerisinde bulunan spin-kolum tüplerine aktararak $10,000 \times G$ 'de 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra toplama tüpleri uzaklaştırılmış, spin-kolum tüpleri yeni toplama tüplerine aktarılmıştır. Aktarılan spin-kolum tüpleri üzerine 450 µl yıkama tamponu 1 (Wash Buffer 1) eklenmiş ve $10,000 \times G$ 'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden işleminden sonra toplama tüpleri tekrar atılmış ve spin-kolum tüpleri yeni toplama tüplerine aktarılmıştır. Spin-kolum tüpleri üzerine 450 µl yıkama tamponu 2 (Wash Buffer 2) eklenerek 3 dakika $14,000 \text{ rpm}$ 'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemin ardından toplama tüpleri uzaklaştırıldıktan sonra spin-kolum tüpleri 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır. Daha sonra DNA yıkama işlemi için spin-kolum tüpleri üzerine 100 µl elüsyon tamponu (PureLink Genomic Elution Buffer) eklenmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son işlem olarak oda sıcaklığında bekleyen örnekler, $14,000 \text{ rpm}$ 'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve bu işlemin sonucunda DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA'lar için nanospektrofotometrede (BioSpec-nano, Shizmadzu) ölçümler yapılmıştır. Böylece elde edilen DNA'nın konsantrasyonu ve saflığı ölçülmüştür. Konsantrasyon ve saflık kontrolü gerçekleştirilen örnekler moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır. Böylece Yeşilöz'den toplanan ve bu çalışmada kullanılan 2014 yılına ait 46 kendileşmiş soy hattı ve 2015 yılına ait 60 kendileşmiş soy hattı, Rusya Valday'den 2014 yılında toplanan 33 kendileşmiş soy hattı, 2015 yılında toplanan 27 soy hattı ve Rusya Alexandrov'dan 2014 yılında toplanan 34, 2015'de toplanan 19 kendileşmiş soy hattının ve Kiev'den 2014 yılında toplanan 37, 2015 yılında toplanan 28 soy hattının DNA izolasyonları yapılmıştır.

3.4.2. Dca Gen Bölgesinin Amplifikasyonu ve Sekanslanması:

DNA izolasyon çalışmalarının ardından *Dca* gen bölgesi için Rako ve arkadaşları [153] tarafından dizayn edilen primerler kullanılarak (Çizelge 3.5) insersiyon ve delesyonlar (indel) belirlenmiştir. Bu polimorfizmlerin belirlenmesi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR – PCR) yöntemi kullanılmış ve 338 bp'lik bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PZR amplifikasyonu 50 µl son hacimde gerçekleştirilmiştir. Çözelti hazırlanırken; 35,75 µl distile su, 10X 5 µl reaksiyon buffer (tampon), 2 µl dNTP (2,5mM), 3 µl MgCl₂ (25mM), 1 µl ileri (5') primer, 1 µl geri (3') primer, 0,25 µl Taq Polimeraz ve 2 µl DNA kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. DNA izolasyon çalışmalarının ardından *Dca* geni için Rako ve ark., 2007 tarafından dizayn edilen primerler.

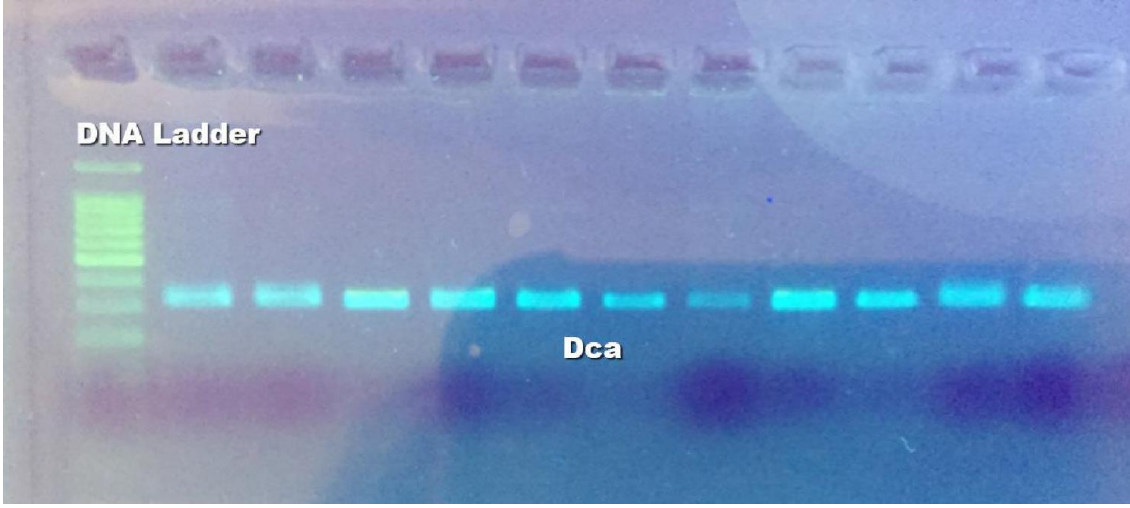
<i>Dca</i> gen bölgesi için primer dizileri	
forward (ileri)	5'- AAT TGA TAA GAC AAA TCG TAT GGT T -3'
reverse (geri)	5'- TTA AAA GGT ATA AAA CAA TCA ACA CTG -3'

Amplifikasyon işlemi yapılan ön denemeler sonucu oluşturulan protokole göre; 10 dakika 95°C'de denatürasyon, 10 saniye 95°C, 15 saniye 55°C ve 15 saniye 72°C'de toplam 50 siklus annealing-birleşme ve en son aşamada 10 dakika 72°C'de PZR işlemi Thermo marka thermocycler ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. PZR işlemi için kullanılan protokolün Thermo marka thermocycler üzerindeki görüntüsü.

PZR işlemi sonucu elde edilen amplifikasyon ürünlerinden 6 µl ile 1 µl yükleme boyası karıştırılarak 100 bç DNA markörü kullanılarak %2'lik jelde yürütülmüştür. Jelde yürütme işlemi sonucunda 338 bç'de parlak bant veren örneklerin (Şekil 3.9) amplifikasyonlarının başarılı olduğu kabul edilmiştir. Bant vermeyen örnekler için PZR işlemi ve jelde yürütme işlemi tekrarlanmıştır. Bu aşamalar sonucu parlak bant veren tüm örnekler, sekans işlemi gerçekleştirilmek üzere BM Laboratuvar Sistemleri firması aracılığı ile MacroGen'e gönderilmiştir.



Şekil 3.9. Jelde yürütme işlemi sonucunda 338 bp’de parlak bant veren örneklerin görüntüsü.

Sanger sekans sonrası gelen DNA dizileri MEGA7 programı kullanılarak hizalanmıştır. Fly Base (flybase.com)’den alınan referans dizi (Şekil 3.10) ile ve kromatogramlar izlenerek (Şekil 3.11) tüm soylara ait sekanslar hizalanmıştır. İlgili gen bölgesinde bulunan polimorfizmler tespit edilmiştir.

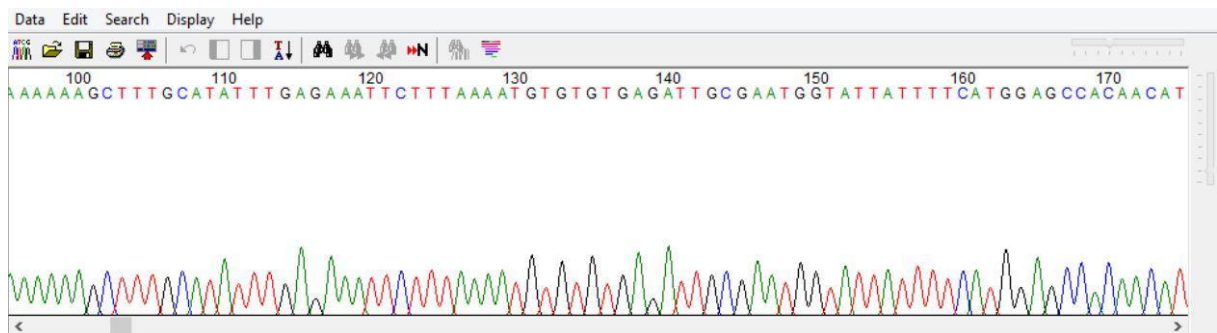
Dizi analizi sonucu toplam 189 örneğin *Dca* gen bölgesi genotiplenmiştir. Populasyon ve yıla göre genotiplenen kendileşmiş soy hatları Çizelge 3.6’da verilmektedir.

Çizelge 3.6. *Dca* gen bölgesi dizi analizi gerçekleştirilen soy hatları sayıları.

	2014	2015	Toplam
Yeşilöz	32	45	77
Kiev	19	19	38
Alexandrov	18	16	34
Valday	23	17	40

TTAAATCATACTTCTAAGAAAAGTAAATCTACATAACATCTTTCGAATATTTTATTGTAGATTTA
TCTGCTTAAATTATAATTATAAATTATATATCTGCACGATTATAGTATACCCCACTAACTACGAA
CACCGGGTATAACCACTGAGCAACTCATTAGTTTTTATTATGGTTGTTGCCATTGGTGTGAT
GTTGCCGAGCCATATGAAGGAGAGAAAAAGCCGCCATGGACAAGTACAGCTAAAGACCAAAG
CGGAGAGCCAACGCTCGAGTGACCCACTGTCCAAGTGGACGGCCTTTCTTATCTGTCTCCAC
CTCCCTGCTTAATTACACGCCAAGGAGTCGGGTCAGAGGCACAGTTGGCAAATAATATCATA
CCATGCATGTACGTAGTAGAAGAGACTCCAATCCACTCCACTCCACTCCACTCCACTTCATTG
GGGTGCTAGTGGGACACATGAAGGGCATAACACACCAAGACCAAGTTGCCATGGAACCACTG
CGAAAGGTTTAATCAATGACCCGCTCGCTTGCTCGCGCTCTCAAGAGAAAAACAATTGAGTT
TGAGTTGGTTATTTATGGAAATTGATAAGACAAATCGTATGGTTTTACGACCTTTAATTTCCAT
ACACTTTAAGTACCTTGCCATGGCTACCAATAGGAAATATCAAAAAAAGCAAACCAATCC
TTAATTATGTGAAAGGAAAAAGCTTTGCATATTTGAGAAATCTTTAAAATGTGTGTGAGAT
TGCGAATGGTATTATTTTCATGGAGCCACAACATTTCAATTAACACAAGTATTTGAGAA
TGTCCATCGTGTAACATAAATGATTTTCAGCTTTTATATTCAAAGAAAATTATTCTAATATTTAA
AATCAGAACAATAATCAGTGTTGATTGTTTATACCTTTTAATATTTATGAATAAATAATGTTG
TTGTCGATTTGTCTCTATCTCTCTGGCTTATTCGAGTGTTGCTGAAAATGTGCACCATCATAGA
TTAAAGTTTCTACCTTAATAATTAATGTAGCTGGTGTGTTTGTGTGTTGGTGTGATAAGTTGATA
ACAGTTGTGTACAACTTGAATTATTGCTTATCAATTTGCTATGTGTAGGTGTGAGAATGTCTAT
AAAAACATCTAACTAACCGGATTCAATTCAGTTTGCAAACGTTAGCTGACCGAGAAGTATTCA
ACGTTTCTTTAAGGTGATAAAAAAAGAGAGAGTGTTACATGTTCAATTAATTTATATATGGA
AACTTAATTACTATATAATACGTTGCGATCATTGTTCAATTAATCGCAAATTTTAAGTGTAAGAA
AAAACCGTAATAACAATGTTCCCATTTTCAGATGTCATACAAGGTTGAAGCTGTTCCCGATTCC
TACGCCGCCCTGGGCGAGGGACCCCACTGGGATGTTGATCGCCAGAGTCTGTACTACGTGG
ACCTCGAATCCGCCGGCATTAAATCGTTATGATTTCAAGCAGAACAAAGTGACAGGGGCTAAAA
TCGAGGGCGAGA

Şekil 3.10. Sanger sekans sonrası gelen DNA dizileri hizalanırken kullanılan referans dizi (flybase.org'dan alınmıştır).



Şekil 3.11. Sanger sekans sonrası gelen DNA dizileri MEGA7 programı kullanılarak hizalanırken kullanılan kromatogramlar.

3.5. İstatistiksel Analizler:

Deneyler sonucu elde edilen verilerin analizleri Excel ve SPSS 20.0 programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kanat uzunluğu verilerinin normal dağılım sorgulaması Kolmogorov-Smirnov Testi ile varyans homojenitesi sorgulaması ise Levene's Testi ile yapılmıştır. Veriler normal dağılım ve varyans homojenitesi gösterdiği için populasyonlar arası farkların hangi gruplar arasından kaynaklandığını hesaplanmak için Bonferroni düzeltmesi kullanılarak post hoc analizi gerçekleştirilmiştir. Kanat uzunluğu üzerinde etki eden değişkenleri, iklimsel parametreler, populasyon, yıl, ay ve eşey olarak test etmek için çok yönlü varyans analizi yapılmıştır. Çok yönlü varyans analizi ANOVA ile test edilmiştir. Yeşilöz populasyonları ile yapılan ayrı analizde yine ay, yıl ve eşeyin etkisi için çok yönlü varyans analizi seçilmiştir.

Kanat uzunluğu ile iklimsel ve coğrafi değişkenler arasındaki korelasyon analizi için Pearson korelasyon analizi yapılmıştır. Kanat büyüklüğüne ait gözlenen enlemsel klin regresyon analizi ile test edilmiş ve belirlilik katsayıları (R^2) hesaplanmıştır.

Morfometrik analizler için Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis - PCA) ve Kanonik Varyans Analizi (Canonical Variate Analysis - CVA) yapılmıştır.

Dca gen bölgesine ait diziler MEGA7 programı üzerinde Clustal W ile hizalanmıştır. *Dca* alel frekansları ile lokasyon ve aydan aya değişim örüntüleri arasındaki farklılıkların belirlenmesi için Ki-Kare Testi kullanılmıştır.

Kanat uzunluğu ile enlem ve *Dca* gen bölgesindeki polimorfizmlerin ilişkisini sorgularken Pearson korelasyon analizi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kanat Uzunluk Ölçümlerine ait Sonuçlar

Lineer ölçümler için Ayvalık'dan 10 soy hattı, Yeşilöz'den 106 soy hattı (46 adet – 2014, 60 adet – 2015), Kiev'den 31 soy hattı (18 adet – 2014, 13 adet – 2015), Alexandrov'dan 24 soy hattı (12 adet – 2014, 12 adet – 2015) ve Valday'den 51 soy hattı (33 adet – 2014, 18 adet – 2015) olmak üzere toplamda 222 soy hattına ait 8235 adet preparat hazırlanmış ve ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümler doğrultusunda populasyonlara ait yapılan tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Populasyonların lineer kanat ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve örneklem sayısı (N).

Populasyon	Eşey	Ortalama	Standart Sapma	N
Ayvalık	Dişi	1.47112	.058282	185
	Erkek	1.29235	.058653	188
	Eşey karışık	1.38102	.106866	373
Yeşilöz	Dişi	1.49719	.063951	1685
	Erkek	1.31670	.053819	1674
	Eşey karışık	1.40724	.107891	3359
Kiev	Dişi	1.50689	.053658	574
	Erkek	1.32585	.050139	578
	Eşey karışık	1.41605	.104377	1152
Alexandrov	Dişi	1.54700	.070939	414
	Erkek	1.36756	.062365	424
	Eşey karışık	1.45621	.111833	838
Valday	Dişi	1.53587	.067575	866
	Erkek	1.35258	.056129	853
	Eşey karışık	1.44492	.110748	1719

Çok yönlü varyans analizi ANOVA sonuçları Çizelge 4.2'de verilmektedir. Çok yönlü varyans analizi sonuçlarına göre kanat büyüklüklerinde gözlenen varyasyon üzerinde populasyon, yıl ve eşeyin etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.0001$) (Çizelge 4.2). Populasyon*yıl ve yıl*eşeyin etkisi de gözlenen varyasyon üzerinde anlamlıdır.

Çizelge 4.2. Kanat uzunluğunun çok yönlü varyans analizi ANOVA sonuçları.

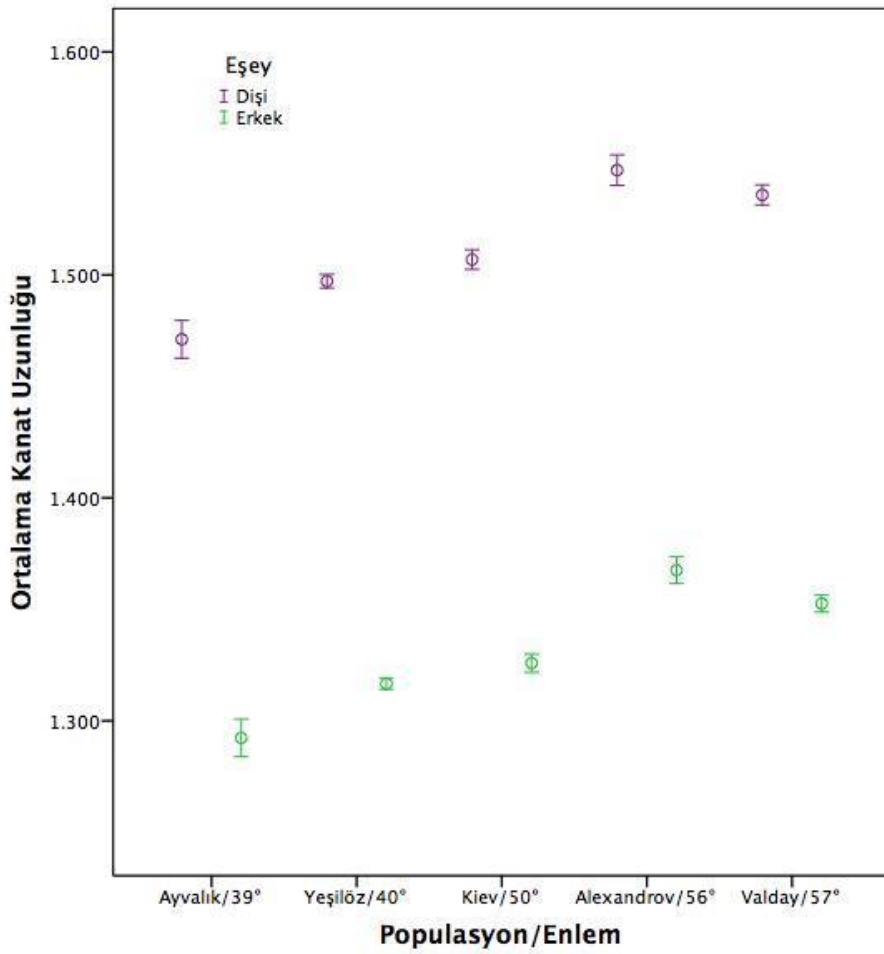
Varyasyon Kaynağı	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Populasyon	2.343	3	0.781	239.692	< 0.0001
Yıl	0.529	1	0.529	162.337	< 0.0001
Eşey	32.687	1	32.687	10030.677	< 0.0001
Populasyon * Yıl	1.175	3	0.392	120.203	< 0.0001
Populasyon * Eşey	0.001	3	0.000	0.064	0.979
Yıl * Eşey	0.027	1	0.027	8.168	0.004
Populasyon * Yıl * Eşey	0.020	3	0.007	2.009	0.110
Hata	24.189	7423	0.003		

Post-hoc test sonucuna göre yapılan ikili karşılaştırmalarda Yeşilöz - Kiev, Alexandrov - Yeşilöz, Valday - Yeşilöz, Ayvalık - Yeşilöz ve Valday - Alexandrov arasında görülen tüm farklılıkların anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Populasyonlar arası ikili karşılaştırmaların post-hoc test istatistiği sonuçları (Bonferroni düzeltmesi ile).

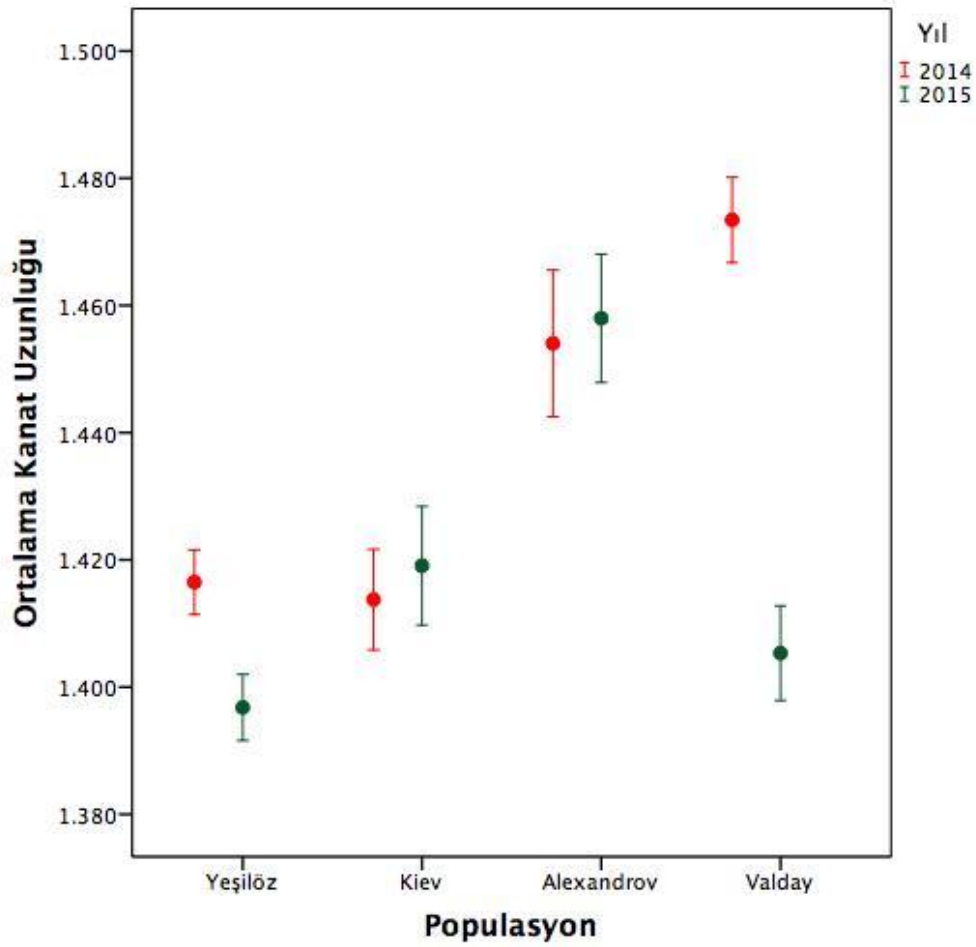
(I) Populasyon	(II) Populasyon	Ortalamalar arası fark	Standart hata	p
Ayvalık	Yeşilöz	-0.02622	0.003257	< 0.0001
	Kiev	-0.03503	0.003555	< 0.0001
	Alexandrov	-0.07519	0.003714	< 0.0001
	Valday	-0.06390	0.003408	< 0.0001
Yeşilöz	Kiev	-0.00882	0.002037	< 0.0001
	Alexandrov	-0.04897	0.002304	< 0.0001
	Valday	-0.03768	0.001770	< 0.0001
	Alexandrov	-0.04016	0.002709	< 0.0001
Kiev	Valday	-0.02887	0.002272	< 0.0001
Alexandrov	Valday	0.01129	0.002514	< 0.0001

Kanat uzunluğunun populasyonların toplandığı lokasyonlar ve enlemlere göre farklılıkları Şekil 4.1’de verilen grafikte özetlenmiştir. Burada populasyonların toplanmış olduğu Ayvalık, Yeşilöz, Kiev, Alexandrov ve Valday’e ait ortalama kanat uzunlukları %95 güven aralığında verilmiştir. Şekil 4.1’deki grafik incelendiğinde, populasyon kanat büyüklüğünün enlemin artmasıyla artış gösterdiği görülmektedir. Alexandrov populasyonunun dişi ve erkekleri diğer populasyonlara göre daha büyük kanatlara sahiptir. Valday populasyonu Alexandrov populasyonuna göre görece daha küçük olmasına rağmen enlem ve kanat büyüklüğü arasında pozitif ve güçlü bir ilişki vardır.



Şekil 4.1. Populasyonlara ait ortalama kanat uzunluklarının eşey ayrı olarak lokasyonlar ve enlemlere göre karşılaştırılması (%95 güven aralığında). Mor renk dişi, yeşil renk erkekleri temsil etmektedir.

Şekil 4.2'deki grafikler incelendiğinde ve tüm populasyonlar karşılaştırıldığında, vücut büyüklüğünün 2015 yılında 2014 yılına göre daha küçük olduğu şeklinde genel bir örüntü görülmektedir. Vücut büyüklüğündeki küçülmenin en yüksek olduğu populasyon Valday populasyonudur. Valday'e ait dişi bireylerin ortalama kanat uzunluğu 2014 yılında 1.56780 ± 0.054 mm'den, 2015 yılında 1.49121 ± 0.058 mm'ye düşmüştür. Erkek bireylerde ise 2014'de 1.37699 ± 0.047 mm'den 2015'de 1.31898 ± 0.049 mm'ye düşüş görülmüştür. Yıllar arasında görülen farka Valday populasyonunun neden olduğu, ortalama kanat uzunluklarına bakıldığında (Şekil 4.2) ve verilen grafikler incelendiğinde görülmektedir. Ayrıca Şekil 4.2'deki grafiklerle de bağlantılı olarak, 2014 yılında artan enlemle kanat büyüklüğünün arttığı, 2015 yılında ise bu artışın Alexandrov (56°)'a kadar devam ettiği ancak bu artışın Valday (57°)'de bozulduğu görülmektedir.

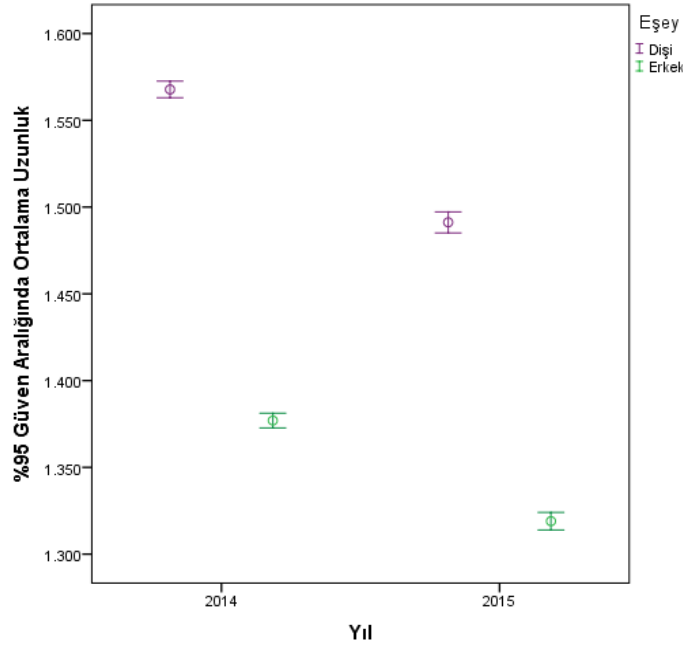


Şekil 4.2. Populasyonlara ait ortalama kanat uzunluklarının yıllara göre karşılaştırılması (%95 güven aralığında).

2016 yılına ait sadece Ayvalık populasyonunun olması nedeniyle karşılaştırmalar yapılırken bu yıla ait ortalama kanat uzunlukları ve yıldan yıla değişimler dikkate alınmamıştır.

Şekil 4.3 Valday populasyonu 2014 ve 2015 yılları arası fark gösterilmektedir. Burada da görüleceği üzere hem dişi hem erkek bireylerde 2015 yılında vücut büyüklüğünde düşüş gerçekleşmiştir. Çizelge 4.4'te Valday populasyonu kanat uzunluklarında görülen farklılığın yıllara ve eşeye göre anlamlı olduğu görülmektedir.

Yıllar arası farkın anlamlılığını test etmek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre 2014 ve 2015 yıllar arası fark Yeşilöz ve Valday'de istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$), Kiev ($p = 0.218$) ve Alexandrov ($p = 0.489$) istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.



Şekil 4.3. Valday popülasyonuna ait dişi ve erkek bireylerin ortalama kanat uzunluklarında yıllar arasında gözlenen farklılık. Mor renk dişi, yeşil renk erkek bireyleri ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. Valday popülasyonuna ait lineer kanat ölçümlerinin çok yönlü varyans analizi.

Varyasyonun Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Yıl	1.895	1	1.895	691.440	< 0.0001
Eşey	13.786	1	13.786	5030.547	< 0.0001
Yıl * Eşey	0.036	1	0.036	13.169	< 0.0001
Hata	4.700	1715	0.003		

Bu sonuç çok yönlü varyans analizinde anlamlı bir etkisi olduğu bulunan yılın Valday ve Yeşilöz'den kaynaklandığını göstermektedir. Meydana gelen farkın hangi iklimsel parametrelerden kaynaklandığını test etmek üzere popülasyonlara ait iklimsel değişkenler ile kanat uzunluğu arasındaki ilişki test edilmiştir.

Vücut büyüklüğü ile popülasyonların köken aldıkları bölgelerin coğrafi değişkenleri ile yıllık iklimsel değişkenleri arasındaki ilişkiyi açıklamak için Pearson Korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 4.4). Elde edilen sonuçlara göre farklı coğrafi ve iklimsel özelliklere sahip bölgelerden köken alan soy hatlarına ait ortalama dişi kanat uzunlukları ve ortalama erkek kanat uzunlukları nem dışında analizde kullanılan tüm coğrafi ve iklimsel değişkenlerle istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermiştir. Çizelge 4.4.

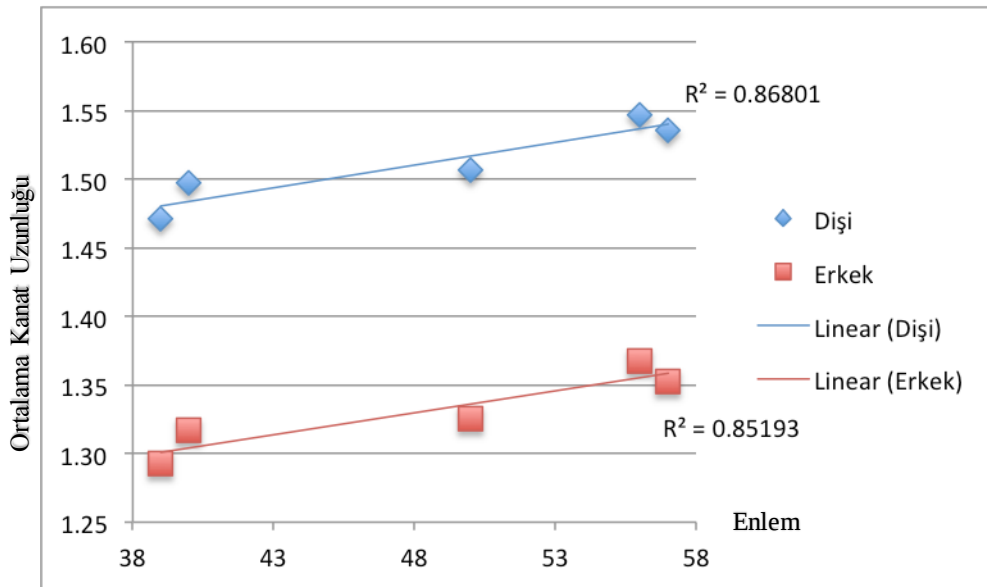
incelendiğinde rakım kanat büyüklüğü ile negatif bir korelasyon gösterirken, enlem ve boylam arttıkça kanat büyüklüğünün arttığı, pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur. Diğer taraftan tüm sıcaklık değişkenlerinin (ortalama, minimum ve maksimum sıcaklık) kanat büyüklüğü ile negatif bir korelasyon içerisinde olduğu görülmektedir. Yani sıcaklık arttıkça kanat büyüklüğü küçülmektedir.

Çizelge 4.5. Pearson Korelasyon analizi sonucu elde edilen korelasyon katsayısı (r) değerleri.

	Rakım	Enlem	Boylam	Ortalama Sıcaklık	Minimum Sıcaklık	Maksimum Sıcaklık	%Nem
Dişi Kanat Uzunluğu	- 0.237**	0.367**	0.269**	- 0.364**	- 0.352**	- 0.337**	0.055
Erkek Kanat Uzunluğu	- 0.253**	0.395**	0.310**	- 0.392**	- 0.384**	- 0.374**	0.098

**p<0.01

Elde edilen sonuçlar vücut büyüklüğünün sıcaklık parametresine bağlı olarak güçlü bir enlemsel klin gösterdiği görülmektedir. Enlem arttıkça ortalama vücut büyüklüğü artmakta ve bu artış istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Ortalama dişi (mavi) ve erkek (kırmızı) kanat uzunluklarının enlemsel olarak artışı ve bu ilişkinin belirleme katsayıları (R^2).

4.1.1. Yeşilöz Populasyonu ile Mevsimsellik Analizi

Populasyonların toplandığı ayların vücut büyüklüğü üzerine etkisini incelemek için yapılan analizler, aylık veriler sadece Yeşilöz populasyonunda olduğu için analizler Yeşilöz populasyonu ile sınırlandırılmıştır. Yeşilöz populasyonunun lineer kanat ölçümlerine ait aylık ortalamalarına ait tanımlayıcı istatistikleri dişi ve erkekler için Çizelge 4.5’de verilmektedir.

Çizelge 4.6. Yeşilöz populasyonuna ait kanat lineer ölçümleri. Dişi ve erkek bireylere ait aylık ve yıllık ortalama kanat uzunlukları, standart sapmaları ve örneklem sayıları (N).

Yıl	Ay	Dişi			Erkek		
		Ortalama Kanat Uzunluğu	Standart Sapma	N	Ortalama Kanat Uzunluğu	Standart Sapma	N
2014	Haziran	1.53125	0.05631	197	1.34348	0.05551	196
	Temmuz	1.52484	0.04703	106	1.33819	0.03104	105
	Ağustos	1.49222	0.06828	205	1.30804	0.05242	196
	Eylül	1.48652	0.05462	191	1.30810	0.04248	191
	Ekim	1.51280	0.06743	196	1.32826	0.06422	197
	Ortalama	1.50797	0.06291	895	1.32398	0.05408	885
2015	Mayıs	1.45874	0.05184	159	1.29098	0.04901	159
	Haziran	1.49753	0.06295	121	1.31891	0.05235	119
	Temmuz	1.51496	0.05631	120	1.34334	0.04058	120
	Ağustos	1.48985	0.08172	100	1.31224	0.06526	101
	Eylül	1.46256	0.04758	131	1.28752	0.04144	135
	Ekim	1.49439	0.06033	159	1.30746	0.04684	155
	Ortalama	1.48497	0.06295	790	1.30852	0.05237	789

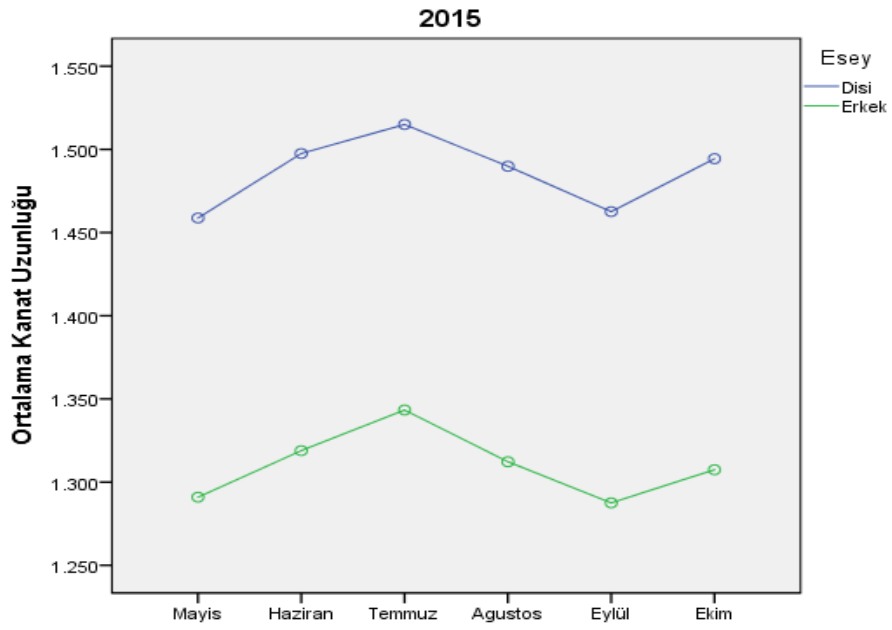
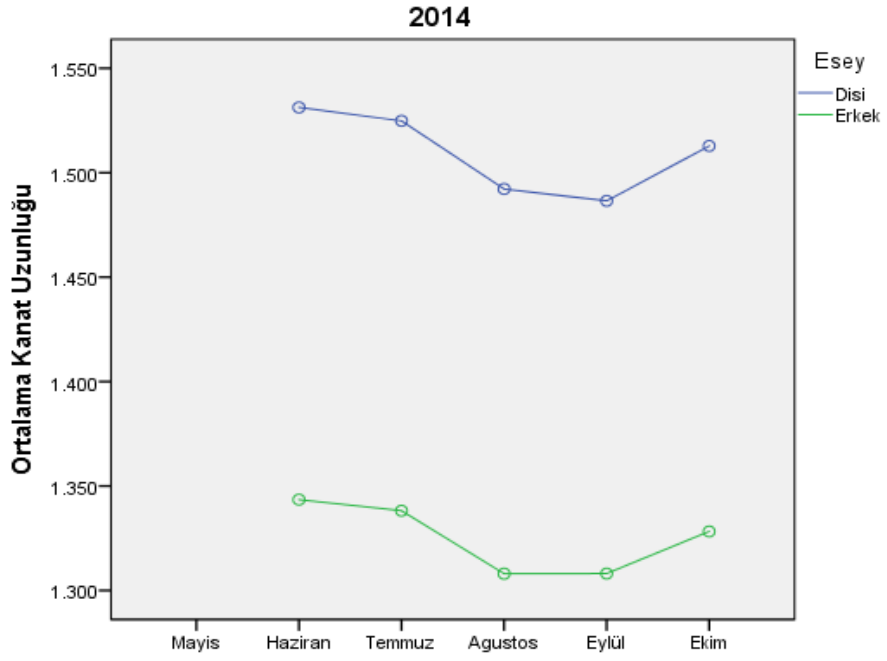
Çizelge 4.5 incelendiğinde 2014 yılı ile 2015 yılı ortalama kanat uzunlukları arasında belirgin farklar olduğu görülmektedir. Yıllar arası gözlenen bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.0001$) (Çizelge 4.6). Lineer kanat ölçümleri aylar arası farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.6). Çok yönlü varyans analizi sonuçlarına

bakıldığında da Yeşilöz popülasyonunda kanat büyüklüğü üzerinde ay*yılın etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$).

Çizelge 4.7. Yeşilöz popülasyonuna ait lineer kanat ölçümlerinin çok yönlü varyans analizi.

Varyasyonun Kaynağı	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Ay	0.882	5	0.176	56.893	< 0.0001
Yıl	0.149	1	0.149	48.132	< 0.0001
Eşey	25.827	1	25.827	8329.742	< 0.0001
Ay * Yıl	0.093	4	0.023	7.518	< 0.0001
Ay * Eşey	0.015	5	0.003	0.947	0.449
Yıl * Eşey	0.007	1	0.007	2.311	0.129
Ay * Yıl * Eşey	0.006	4	0.001	0.482	0.749
Hata	10.347	3337	0.003		

Yeşilöz popülasyonunun 2014-2015 yılları Mayıs ile Ekim aylarına ait dişi ve erkek bireylerinin ortalama kanat uzunlukları bakımından aydan aya bir örüntü gösterdiği Şekil 4.5’de görülmektedir. Şekil 4.5’deki grafiklerde hem dişilerin hem de erkeklerin kanat büyüklüğünün, Mayıs ayından Temmuz ayına doğru bir artış gösterdiği, Ağustos ayı ve Eylül ayında küçüldüğü ve Ekim ayına doğru tekrar artış gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.5. Yeşilöz populasyonunun 2014-2015 yılları Mayıs ile Ekim ayları arasında ait dişi ve erkek bireylerinin ortalama kanat uzunlukları.

4.2. Kanat Biçimine ait Geometrik Morfometri Sonuçları

Kanat biçim analizleri gerçekleştirilmeden önce örnekler, sadece biçim değişkenleriyle analizlere devam edebilmek için procrustes rotasyonu ile standardize edilmiştir. Standardize edilen landmarklar Şekil 4.6’da gösterilmektedir.

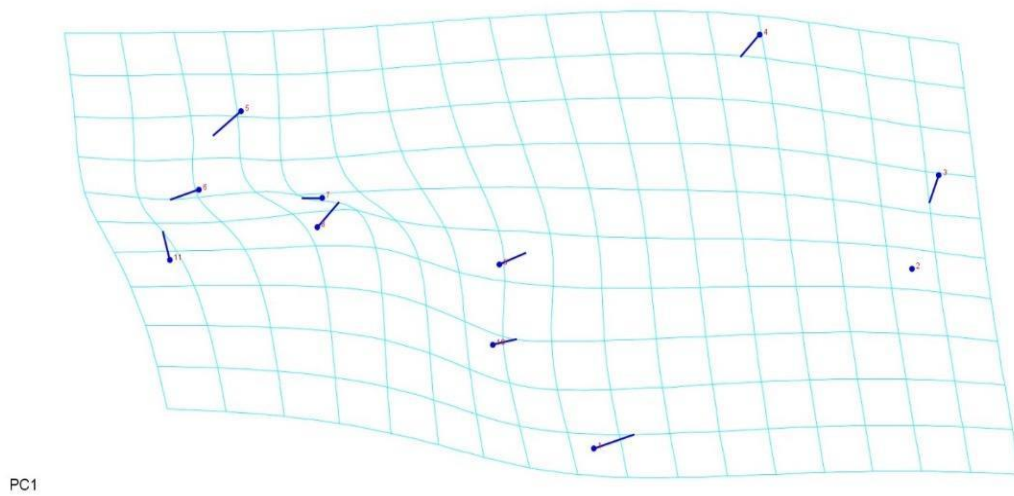


Şekil 4.6. Procrustes rotasyonu ile standardize edilen landmarkları ifade etmektedir.

Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, kanat biçim varyasyonu 18 eksenle açıklanmıştır (Çizelge 4.7). Buna göre, 1. temel bileşen varyasyonun %65’ini açıkladığı ve temel belirleyici özellikte olduğu görülmüştür. 2. temel bileşenin ise varyasyonun %8’ini açıkladığı görülmektedir. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonun %80’i açıkladığı görülmüştür. PCA değerlerine ait toplam varyans 0.00235’dir.

Çizelge 4.8. PCA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.

	Özdeğerler (Eigenvalues)	% Varyans	% Kümülatif Varyans
1.	0.00152623	65.545	65.545
2.	0.00019902	8.547	74.092
3.	0.00015457	6.638	80.730
4.	0.00012308	5.286	86.016
5.	0.00008363	3.592	89.608
6.	0.00005743	2.466	92.074
7.	0.00004069	1.748	93.821
8.	0.00003432	1.474	95.295
9.	0.00002495	1.072	96.367
10.	0.00002229	0.957	97.324
11.	0.00001657	0.712	98.036
12.	0.00001118	0.480	98.516
13.	0.00001058	0.454	98.971
14.	0.00000807	0.347	99.317
15.	0.00000578	0.248	99.565
16.	0.00000397	0.171	99.736
17.	0.00000349	0.150	99.886
18.	0.00000266	0.114	100.000



Şekil 4.7. Temel bileşen analizine göre populasyonlara ait kanat morfolojisinde tespit edilen biçimsel farklılıklar.

Temel bileşen analizi sonucu biçimsel farklılıklar incelendiğinde, 1. landmark noktasında diğer landmarklara göre daha büyük bir varyasyon olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, gruplar arası varyasyonla ilgili olarak 1. kanonik varyansın varyasyonun %55'ini açıkladığı ve temel belirleyici özellikte olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8). 2. kanonik varyansın ise varyasyonun %17'sini açıkladığı görülmektedir. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonunun %89'u açıklanmaktadır.

Çizelge 4.9. CVA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.

	Özdeğerler (Eigenvalues)	% Varyans	% Kümülatif Varyans
1.	0.72094592	55.392	55.392
2.	0.22665025	17.414	72.806
3.	0.21556972	16.563	89.369
4.	0.13836723	10.631	100.000

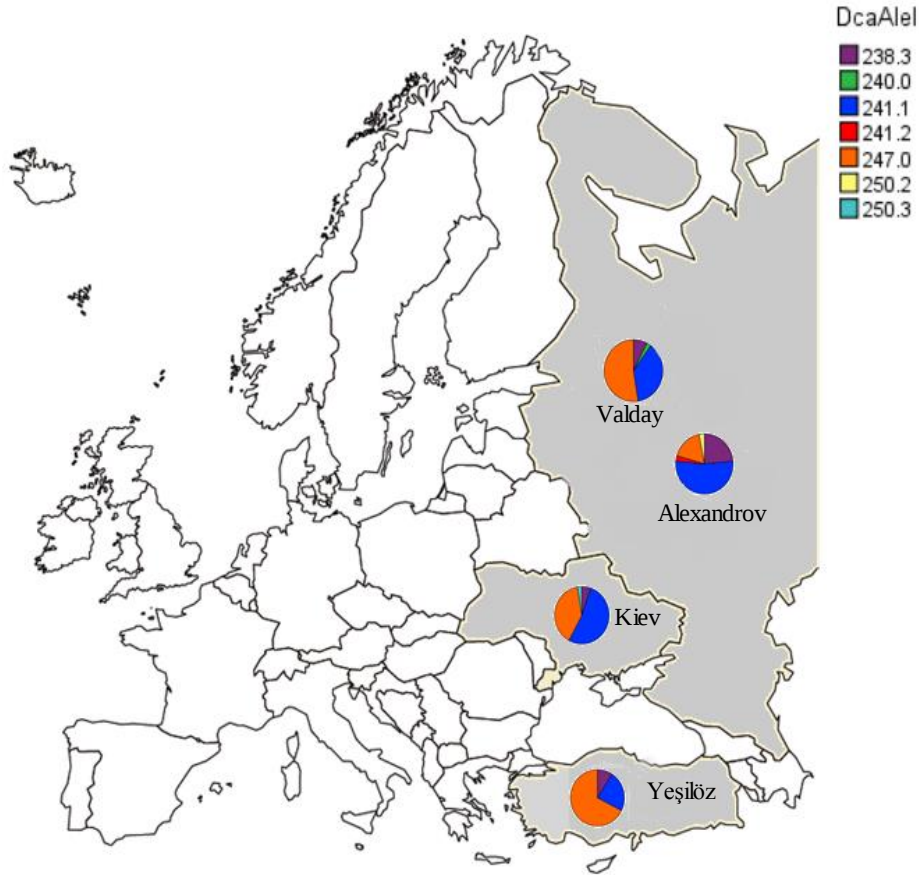
Populasyonlar arasındaki biçimsel farklılıkları analiz etmek için MorphoJ programı kullanılarak diskriminant analizi yapılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu populasyonların biçimsel olarak farklı olduğu görülmektedir. Populasyonlar arası gerçekleştirilen tüm ikili karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) bulunmuştur.

Populasyonların toplandığı aylarla ilgili karşılaştırmak yapmak için sadece Yeşilöz popülasyonu kullanılmıştır. 2014 yılı ile 2015 yılı arasında değişen aylara bağlı olarak kanat morfolojilerinde farklılıklar olduğu yapılan Temel Bileşenler Analizi ve Kanonik Varyans Analizi sonucunda ortaya konmuştur. Populasyonların toplandıkları aya göre gösterdiği biçimsel farklılıklara bakmak için MorphoJ programı kullanılarak diskriminant analizi yapılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu populasyonların aydan aya biçimsel olarak farklı olduğu görülmektedir. Toplandıkları aya göre oluşturulan tüm gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$).

Kanat biçimiyle ilgili yapılan morfometrik analizlerin sonuçları ele alındığında, temel bileşenler analiziyle bireyler arasındaki varyasyon incelenmiş ve populasyonların ayrıştığı ve kanat biçimleri arasındaki farklılıklar görülmüştür. Kanonik varyans analizi sonuçlarına göre ise populasyonlar incelenmiş ve populasyonların toplandıkları lokasyonlara göre gruplar arasında belirgin olarak farklılıklar görülmüştür. Ayrıca yapılan analizler sonucu tüm bu biçimsel farklılıklara bakıldığında populasyonların birbirinden ayrıştığı ve bu ayrışmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu bulunmuştur.

4.3. Dca Geni Promotör Bölgesi Polimorfizmi ve Sonuçları

Dca geni promotör bölgesinin PZR ile çoğaltıldıktan sonra yapılan dizi analizlerine göre Dca geni promotör bölgesine ait alel frekanslarının populasyonlara göre dağılımı Şekil 4.12’de görülmektedir. Sekanslama sürecine kadar Ayvalık populasyonunun kendileşme sürecini tamamlamamış olması nedeniyle karşılaştırmalar yapılırken bu yıla ait sekans sonuçları ve polimorfizmler bulgulara yer almamaktadır.



Şekil 4.8. Lokasyonlara göre alel frekanslarının dağılımı.

Populasyonların toplandığı lokasyonlara göre *Dca* geni promotör bölgesine ait alel frekanslarının dağılımına bakıldığında yaklaşık %50 oranında 247 ve yaklaşık %38 oranında da 241-1 alelleri yaygın olarak rastlanmıştır. Yaklaşık %11 oranında da 238-3 aleline rastlanmıştır. Diğer aleller nadir olarak bulunmuştur. Çizelge 4.9’da verilen alel frekansları ve ki kare sonuçlarına göre alel frekansları populasyonlara bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmuştur. Alellerin yıldan yıla dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.

Çizelge 4.10. Lokasyonlara ait *Dca* alel frekansları ve ki kare analizi sonucu (sd: Serbestlik Derecesi).

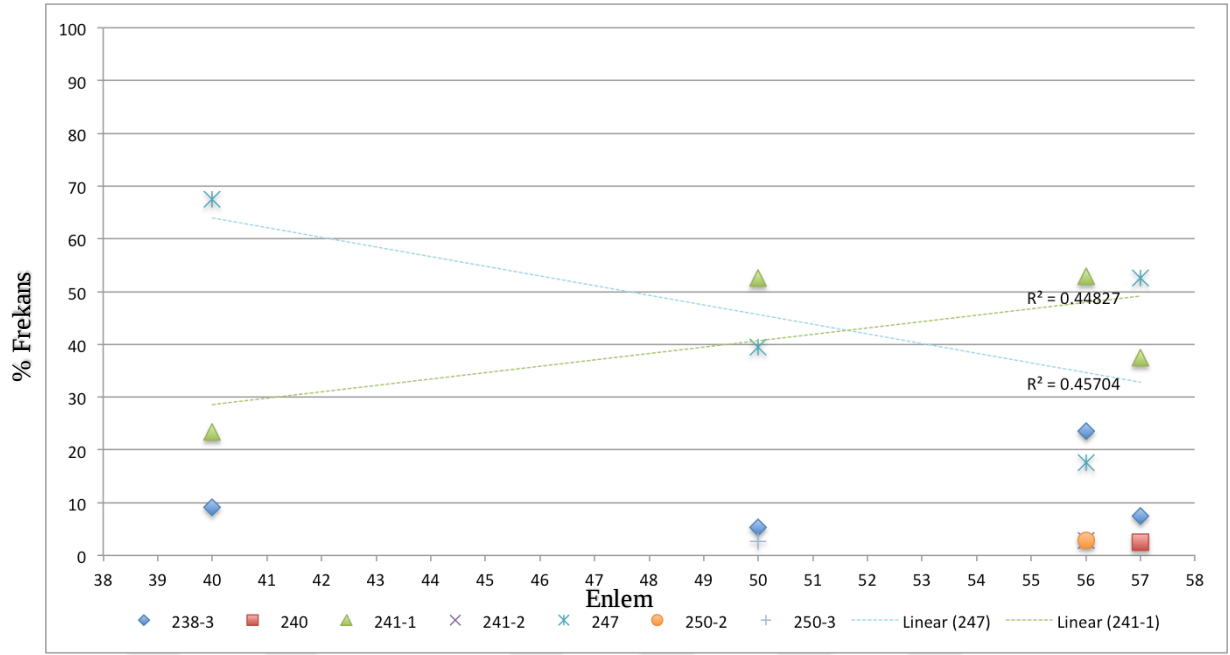
	Dca Alel										
Lokasyon	238-3	240	241-1	241-2	247	250-2	250-3	Toplam	sd	Ki Kare	p
Yeşilöz	7	0	18	0	52	0	0	77	18	45.110	0.0004
Kiev	2	0	20	0	15	0	1	38			
Alexandrov	8	0	18	1	6	1	0	34			
Valday	3	1	15	0	21	0	0	40			
Toplam	20	1	71	1	94	1	1	189			

En yaygın alel % 49.7 ile 247 aleli olmuştur. Çizelge 4.10 incelendiğinde *Dca*247 alel frekansının Alexandrov’a kadar artan enlem ile birlikte düştüğü ancak en kuzey populasyon Valday’de tekrar arttığı görülmektedir. Diğer aleller için benzer bir ilişki görülmemektedir.

Çizelge 4.11. *Dca* Alel sayı ve yüzdelерinin Populasyon içi yüzdelерinin ve tüm örneklerdeki yüzdelерinin gösterimi.

Populasyon		Dca Alel							Toplam
		238-3	240	241-1	241-2	247	250-2	250-3	
Yeşilöz	Toplam	7	0	18	0	52	0	0	77
	Populasyon içi %	9.1	0	23.4	0	67.5	0	0	100.0
	DcaAlel içi %	35.0	0	25.4	0	55.3	0	0	40.7
Kiev	Toplam	2	0	20	0	15	0	1	38
	Populasyon içi %	5.3	0	52.6	0	39.5	0	2.6	100.0
	DcaAlel içi %	10.0	0	28.2	0	16.0	0	100.0	20.1
Alexandrov	Toplam	8	0	18	1	6	1	0	34
	Populasyon içi %	23.5	0	52.9	2.9	17.6	2.9	0	100.0
	DcaAlel içi %	40.0	0	25.4	100.0	6.4	100.0	0	18.0
Valday	Toplam	3	1	15	0	21	0	0	40
	Populasyon içi %	7.5	2.5	37.5	0	52.5	0	0	100.0
	DcaAlel içi %	15.0	100.0	21.1	0	22.3	0	0	21.2
	Toplam	20	1	71	1	94	1	1	189
	%	10.6	0.5	37.6	0.5	49.7	0.5	0.5	100.0

Dca alelleri ile enlem arasındaki ilişkiyi ölçmek için yapılan regresyon analizi sonucu Şekil 4.13'deki grafikte özetlenmektedir. Grafik incelendiğinde *Dca247* alelinin enlem ile negatif ilişki içerisinde olduğu ve kurulan regresyon modeline ait belirlilik katsayısı $R^2=0.457$ olduğu, *Dca241-1* alelinin ise enlem ile pozitif ilişki içerisinde olduğu ve belirlilik katsayısı $R^2= 0.448$ olduğu görülmektedir. Enlem ve *Dca* alelleri arasında hesaplanan bu ilişkiler istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 4.9. Populasyonların sahip oldukları *Dca* alel frekanslarının gösterimi.

Dca alelleri ve *Dca* geni promotör bölgesi içerisinde bulunan bir insersiyon (CCT) ve iki adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) bulunmuştur. Bu polimorfizmler ve vücut büyüklüğü arasındaki ilişkiyi test etmek için Pearson Korelasyon testi yapılmıştır. Analizler sonucunda insersiyonların ve polimorfizmlerin, vücut büyüklüğüyle anlamlı bir ilişkisi olmadığı görülmüştür, ancak polimorfizmler ile enlem arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Tüm populasyonlar için *Dca* alel ve polimorfizmleri ile kanat uzunluğu ve enlem arasındaki Pearson korelasyon katsayıları (r).

	<i>Dca</i> Alel	CCT insersiyon	A/T polimorfizm	G/A polimorfizm
Dişi Kanat Uzunluğu	- 0.057	0.016	0.099	0.042
Erkek Kanat Uzunluğu	- 0.097	0.061	0.142	0.089
Enlem	- 0.187*	0.184*	0.169*	0.214*

*p<0.05

4.3.1. Yeşilöz Populasyonu ile *Dca* Alelleri Mevsimsellik Analizi:

Yaygın alel frekanslarının aylara göre nasıl değiştiğini görmek amacıyla yapılan ki kare analizi sonucunda, aylara göre alel frekansları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.13. *Dca* alellerinin aylık değişimlerini gösteren ki kare analizi (sd: Serbestlik Derecesi).

Aylar										
<i>Dca</i> Alel	May	Haz	Tem	Ağu	Eyl	Eki	Top lam	sd	Ki Kare	p
238-3	2	0	2	0	1	2	7	10	8.370	0.593
241-1	1	3	2	3	4	3	16			
247	4	12	8	11	7	10	52			
Top lam	7	15	12	14	12	15	75			

Alel frekansları arasında en sık rastlanan *Dca*247 aleli, bazı aylarda lineer kanat uzunluğuyla ilişkili gibi görünse de aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsızdır. Bu durumda *Dca* geni promotör bölgesinin alel frekansları ile mevsimsel olarak değişen kanat büyüklüğü arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

5. TARTIŞMA

Populasyonların bulundukları çevrelerde farklı seçim baskısı altında olması, karakterlerde farklılıkların meydana gelmesine neden olur. Bu durum populasyonların hayatta kalma ve üreme başarısını etkiler [167]. Doğal çevrelerin fenotipik varyasyonları nasıl şekillendirdiğini anlamak [73] ve adaptasyonun genetik temelini ortaya çıkarmak evrimsel genetik çalışmalarının temel amaçlarından biridir [168]. Çevresel gradientler boyunca mekansal olarak değişen seçim, genellikle fenotiplerde ve genotip frekanslarında sistematik ve kademeli değişikliklere yani klinlere neden olmaktadır (Huxley 1938). *Drosophila*'da enlemsel klinler, genetik çeşitliliğin korunmasında mekansal olarak değişen seçimin rolünü araştırmak için önemlidir [168]. *Drosophila* cinsinin birçok türü de dâhil olmak üzere ektotermilerin büyük bir kısmında ve çok sayıda karakterde çalışılmıştır. *D. melanogaster*'de enlem ile değişen karakterler arasında vücut büyüklüğü de [30], [31], [75], [116] yer almaktadır. Çeşitli araştırmalar, farklı coğrafi bölgelerden örneklenen *D. melanogaster* doğal populasyonlarında, morfolojik karakterlerde görülen varyasyonların genetik temelini ortaya koymuştur [33], [127], [128]. Bu nedenle vücut büyüklüğü, evrim ve ekolojide merkezi öneme sahiptir [132]. *Drosophila*'da kanat büyüklüğü, vücut büyüklüğü için belirleyici olan önemli bir karakterdir [38], [123]. Gelişim ve evrimsel çalışmaları için bir model olan kanat büyüklüğü, morfolojik varyasyonların temelinde yer alan mekanizmaları araştırmak için de uygun yapı göstermektedir. Bu alanda yapılan çalışmalar populasyonların sahip oldukları adaptasyon mekanizmaları hakkında bilinmeyenleri ortaya çıkarmak açısından önemlidir.

Bu tez kapsamında bir enlemsel gradient boyunca toplanılan *D. melanogaster* populasyonlarında vücut büyüklüğü varyasyonları incelenmiştir. Vücut büyüklüğünde meydana gelen varyasyonları belirlemek için kanat büyüklüğü ve biçim analizleri gerçekleştirilmiştir. Populasyonlar arasındaki vücut büyüklüğü varyasyonu tek bir eşyle ya da her iki eşyle birden açıklanabilir. Tez kapsamında elde edilen sonuçlara göre vücut büyüklüğü bakımından eşeyler arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. *Drosophila*'da vücut büyüklüğü eşeyssel dimorfizm gösteren bir karakter olduğundan eşeyler arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olması beklenen bir sonuçtur.

Populasyonlar arası vücut büyüklüğü karşılaştırmaları yapıldığında görülen fark anlamlıdır. Farkın olması seçilen karakterin adaptif bir karakter olduğuna işaret etmektedir. Örneklem grubu kendileşmiş soy hatlarından meydana geldiği ve deneysel süreçte tüm çevresel koşullar tüm soy hatları için sabit olduğundan populasyonlar arası anlamlı farklılıklar

populasyonların köken aldıkları coğrafi ve iklimsel parametrelere karşı kazandıkları genetik bir adaptasyonun sonucu olarak görülebilir. Soy hatlarının toplandıkları yıla bağlı olarak da anlamlı farklılık göstermesi ise kanat büyüklüğü üzerinde sadece mekansal değil zamansal bir seçim baskısının da olduğunu göstermektedir. Valday populasyonunda 2015 yılında görülen düşüş, populasyonun toplandığı alanın iklimsel koşullarından kaynaklanıyor olabilir. Sadece Valday'e ait elde edilen bulgular analiz edildiğinde görülen farklılıkların anlamlı olduğu ortaya koyulmuştur. Bu farkın 2015 yılına ait dişi bireylerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Deneyde kullanılan soy hatlarının homozigot olması ve deneylerin %95 güven aralığında gerçekleşmiş olması nedeniyle beklenmeyen bir durum söz konusudur. Deney aşamasında yaşanmış herhangi bir karışıklık bu duruma neden olmuş olabilir. Bu nedenle Valday'e ait bireyler tekrar incelenecek, ölçümler ve analizler tekrar edilecektir.

Lineer kanat uzunluğu ölçümleri ile yapılan analizler, kanat biçim analizleri ve istatistiksel analizler sonucunda kanat büyüklüğü üzerinde populasyonların toplandığı lokasyonlar bakımından anlamlı ve güçlü bir ilişki bulunmuştur. İki farklı yıla ait veriler karşılaştırıldığında, kanat uzunluğunun güneyden kuzeye doğru bir artış gösterdiği ve bu artışın, artan enlemle ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 4.4). Bu durumda çalışılan bu coğrafi kesitte *Drosophila*'da vücut büyüklüğünün enlemsel klin gösterdiği söylenebilir ve bu bulgu literatürde yer alan diğer çalışmaları desteklemektedir [32], [87], [169]. Ayrıca, elde edilen bu sonuç Amerika ve Avustralya populasyonları ile paralel klin oluşturmuştur [87], [158]. Vücut büyüklüğünün paralel klin göstermesi, mekansal olarak değişen seçimden etkilendikleri düşüncesini oluşturmaktadır. Bu durum, vücut büyüklüğünde görülen klinlerin paralellik göstermesinin, vücut büyüklüğünün mekansal olarak değişen seçilime paralel adaptasyon gösterdiğini ve benzer seçim baskısına yanıt verdiğini ortaya koymaktadır. Enlem ile artış gösteren vücut büyüklüğünün Bergman kuralına uygunluk gösterdiği söylenebilir. Bu artışın, vücut büyüklüğünün enlemle birlikte değişen sıcaklığa adaptasyonun bir sonucu olduğu söylenebilir. Bu durumda düşük sıcaklıklarda daha büyük vücuda sahip olmak daha avantajlı bir durum yaratır. Vücut büyüklüğü ile iklimsel parametreler arasındaki ilişkiyi açıklamak için yapılan analizler de bu sonucu desteklemektedir (Çizelge 4.4). Böylece büyük vücutlu bireylerin hayatta kalma ve üreme başarıları artar ve uyumsal açıdan daha başarılı olurlar.

Populasyonlara ait ortalama kanat uzunlukları ve biçimsel analizler sonucu elde edilen bulgular, populasyonlardaki bireylerin morfolojik olarak benzerlik gösterebileceği, ancak populasyonlar arası karşılaştırma yapıldığında populasyonların birbirinden ayrıştığı

görülmüştür. Morfometrik analizler sonucu populasyonlara ait bireyler arasında görülen bazı benzerliklere rağmen populasyonların belirgin şekilde farklılık göstermesi, sahip oldukları coğrafi bölgelere karşı gösterilen lokal adaptasyonun bir sonucu olabilir. Bunun yanı sıra görülen farklılıklar populasyonların bulundukları çevrede karşılaştıkları iklimsel farklılıkların neden olduğu bir seçim baskısı sonucu ortaya çıkmış olabilir. Kanat biçimi hem erginlerin eşleşme başarısını [170] hem de uçuş başarısını [22] etkileyen önemli bir karakterdir. Populasyonlar arası görülen biçimsel farklılıklar, karakter üzerindeki güçlü seçilimin bir sonucudur.

Vücut büyüklüğünün mevsimselliği ile ilgili literatürde sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Stalker ve Carson'ın [146] *Drosophila robusta* ile yaptığı bir çalışmada vücut büyüklüğünün aylar arası bir dalgalanma gösterdiği bulunmuştur. Kari ve Huey'in [148] *Drosophila subobscura* ile yaptığı bir çalışmada, yılın farklı zamanlarına ait örneklem grupları oluşturulmuş ve kanat uzunlukları ölçülmüştür. Bu çalışma sonucu elde edilen bilgiler, kanat uzunluğunun mevsimsel olarak değiştiğini göstermiştir. Bu değişimin populasyonların toplandıkları aydan, bir önceki ayın ortalama günlük sıcaklığına göre oluştuğunu ve vücut büyüklüğünün çevresel sıcaklıklara oranla ters bir örüntü gösterdiğini ortaya koymuşlardır [148]. *Phlebotomus tobbi* ile yapılan bir başka çalışmada ise kanat uzunluğunun populasyonların toplandığı aylara göre varyasyon gösterdiği görülmüştür. Kanat uzunluğu Mayıs ayından Temmuz ayına doğru bir artış göstermiş, Ağustos ayından Ekim ayına kadar küçülmüştür. Görülen bu örüntü kanat uzunluğunun mevsimsellik gösterdiğini ortaya koymuştur [171].

Kanat uzunluğunda mevsimselliği belirlemek için kullanılan Yeşilöz populasyonuna ait veriler karşılaştırıldığında, kanat uzunluğunun Mayıs ayından Temmuz ayına doğru bir artış gösterdiği, Ağustos ayı ve Eylül ayında küçüldüğü ve Ekim ayına doğru tekrar artış gösterdiği görülmüştür. Ekim ayına doğru düşen sıcaklıkla bağlantılı olarak artan kanat büyüklüğü arasındaki ilişki, gelişim süresinin uzamasından kaynaklanıyor olabilir. Kanat büyüklüğünde görülen aylar arasındaki farklılık hem 2014 hem de 2015 yılında gözlenmektedir. Bu örüntü, populasyonlar üzerinde toplandıkları ayların dolayısıyla sıcaklığın ve diğer iklimsel faktörlerin önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum değişen mevsimlere bağlı olarak görülen sıcaklık farklılıklarına adaptasyonun bir sonucu olarak düşünülebilir ve vücut büyüklüğünün mevsimsellik gösterdiği söylenebilir. Yapılan kanat biçim analizleri de, lineer kanat uzunluk ölçümleri sonucu mevsimsellik ile ilgili elde edilen bilgileri desteklemektedir. Benzer bir çalışma 2016 yılında *D. melanogaster*

ve *Drosophila simulans* için yapılmıştır. Bu çalışmada örneklem grubu 2011 yılının Haziran, Temmuz, Eylül ve Kasım aylarından seçilmiştir ve üreme verimliliği, gelişim zamanı ve stres toleransı gibi yaşam öyküsü karakterleri karşılaştırılmıştır [54]. Çalışma sonucunda ilkbahardan yaza doğru stres direncinde bir azalma görülmüştür. Bu durum kışın gösterilen yüksek stres direncinin, yaz aylarına doğru azalmasıyla ilişkili bir seçim olabilir. Ayrıca gelişim süresi Haziran ayından Temmuz ayına doğru artmış, Temmuz'dan Eylül'e doğru azalmış ve Kasım'da tekrar artmaya başlamıştır. Ayrıca üreme verimliliğinde de sonbahar aylarına doğru bir düşüş görülmüştür [54]. Bu varyasyonlar ele alındığında, yaşam öyküsü karakterlerinin mevsimsellik gösterdiği söylenebilir. Tez kapsamında vücut büyüklüğünde görülen değişim ve Behrman ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonucu elde edilen gelişim sürelerindeki ve üreme verimliliğinde görülen değişim arasında bir ilişki bulunmaktadır. Gelişim süresinin artış göstermesiyle vücut büyüklüğünün artması beklenen bir durumdur. Büyüme süresinin artması, vücut büyüklüğünde artışa neden olurken ve bireylerin üreme başarısını da artırır. Ancak çok sayıda üreme şansı elde eden bireylerde yumurta verimi azalır. Büyük vücutlu bireylerin yumurta verimliliği ilk başlarda yüksek olurken daha sonra artan çiftleşme başarısına bağlı olarak azalmaya başlar. Küçük vücutlu bireylerde ise üreme verimliliği artış gösterse de çiftleşme şansının azalması nedeniyle elde edilen yumurta verimliliği azalır. Bu durum yaşam öyküsü karakterleri arasındaki bedel-uzlaş (trade-off) ile açıklanabilir.

Belirli bir çevrede yüksek uyum başarısı ile ilişkili karakterler için doğal seçim, popülasyonda bu karakterler için sabit kalıtsal genetik varyasyon bulunuyorsa hızlı bir adaptif yanıtı neden olabilir [54]. *D. melanogaster*'de mevsimsel olarak diyapoz görülme sıklığının değişiminin [98] *couch potato* genindeki allel frekanslarında mevsimsel değişikliğe neden olması örnek olarak gösterilebilir [99]. Bu açıdan bakıldığında, daha önce bu çalışmada kullanılan popülasyonlar ile yapılmış başka bir araştırmada, bir adaptif yaşam öyküsü karakteri olan diyapoz fenotipinde de mevsimsellikle ilgili benzer bir örüntü elde edilmiştir [83]. Sıcaklıkların düşmesiyle birlikte kışlamaya geçen *Drosophila*'da kış dönemi ergin safhada geçirilir. Dişiler reproduktif diyapoza girerek kış boyunca yumurta üretmez ve enerji kazanımı sağlar. Kışlama sırasında vücut büyüklüğü ve yağ oranında ki fazlalık canlıya hayatta kalma açısından büyük bir avantaj sağlamaktadır. Bu nedenlerle Ekim ayında vücut büyüklüğündeki artış açıklanabilir. Buna bağlı olarak da Mayıs ve Haziran ayında toplanan ilk kuşak kışlamaya giren büyük ebeveynlerin yavru dölünden oluşur. Görece düşük olan sıcaklık gelişim süresinin yavaşlamasına ve larval gelişim süresini uzatarak daha

büyük bireylerin meydana gelmesine neden olur. Diğer taraftan besin önemli bir parametredir. Olgunlaşmış, dalından düşmüş ve fermente olmuş meyveler *Drosophila* için birincil besin kaynağını oluşturmaktadır. Yeşilöz'de olgunlaşmış ve fermente olmuş meyvelerin en çok bulunduğu zaman Ağustos sonu ve Eylül ayıdır. Bu aylarda yumurtalarını besince zengin meyvelere bırakan erginlerin larvaları hem düşen sıcaklıktan dolayı gelişim süresini uzatacak hem de zengin besin ortamından dolayı daha iyi beslenecektir. Bunların sonucunda daha büyük ergin bireyler meydana gelecektir.

Vücut büyüklüğü ile ilişkili olduğu yönünde aday gösterilmiş olan *Dca* genindeki polimorfizmler çalışılmış ve bu polimorfizmler ile kanat büyüklüklerinde görülen fenotipik değişiklikler ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. Yapılan dizi analizi sonuçlarına bakıldığında, *Dca* geni promotör bölgesi polimorfizmlerinin kanat büyüklüğünde gözlenen varyasyonla ilişkili olmadığı bulunmuştur. Ayrıca vücut büyüklüğü bakımından gözlenen farklılıklarla belirlenen polimorfizmler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Daha önce *Dca* (*smp-30* - senescence marker protein-30) geninin *D. melanogaster*'de soğuğa maruz kalma sonucunda ifadesinin arttığı gözlenmiştir [159]. Reis ve arkadaşlarının yaptığı [172] çalışmayla da *D. melanogaster*'de, *Dca*'nın soğuk şokuyla birlikte up-regüle edildiği ortaya konmuştur. *Dca* geniyle ilgili McKechnie ve arkadaşlarının [137] yaptığı bir başka çalışmada, Avustralya popülasyonları ile çalışılmıştır. Bu çalışmada genin ifadesinin artmasıyla kanat büyüklüğünde küçülme meydana geldiği görülmüştür ve yaygın görülen *Dca-237* ve *Dca-247* alellerinin birbirleriyle ilişkili olarak enlemsel klin gösterdiği ortaya konmuştur. Bu çalışma sonucunda elde edilen bilgilere göre, *Dca-237* alelinin tropiklere doğru frekansının arttığı ve buna bağlı olarak da kanat büyüklüğünün küçüldüğü, *Dca247* alelinin ise bunun tam tersi yönde artış gösterdiği bulunmuştur [137]. Tez kapsamında kullanılan popülasyonlarda, *Dca-237* aleline rastlanmamıştır. Ancak *Dca-247* aleli yaygın olarak görülmüştür. Çizelge 4.10 ve Şekil 4.14 incelendiğinde, 247 alelinin enlem ile negatif ilişki gösterdiği, 241-1 alelinin ise enlem ile pozitif ilişki gösterdiği görülmektedir. Enlem ve *Dca* alelleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durum *Dca* alellerinin enlemsel klin gösterdiğini ortaya koymaktadır. McKechnie ve arkadaşlarının [137] yaptığı çalışmayla ortak olarak elde edilen *Dca247* alel frekansının enlemsel klin gösterdiği bulunmuştur. Lee ve arkadaşları, 2011 yılında yaptığı çalışmada *D. melanogaster*'in üçüncü larva evresinde, *Dca* geninin ifadesine bakarak yaygın görülen üç *Dca* alelini belirlemişler ve *Dca247* alelinin güçlü enlemsel klin gösterdiğini ortaya

koymuşlardır. Tez kapsamında elde edilen bilgiler literatürdeki çalışmaları, *Dca247* alelinin enlemsel klin gösterdiği yönünde desteklemektedir.

Sonuç ve Öneriler

Tez kapsamında yapılan çalışmaların temelinde, enlemsel klinlerin vücut büyüklüğü için iyi bir parametre olan kanat büyüklüğü bakımından araştırılması, bir aday gen olan *Dca* ile arasındaki ilişkinin araştırılması ve vücut büyüklüğüyle ilişkisini sorgulamak amaçlanmıştı. Elde edilen tüm sonuçlar ele alındığında, kanat büyüklüğünün çalışılan enlemsel gradient boyunca enlem ile güçlü bir ilişki gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Yeşilöz popülasyonunda vücut büyüklüğünde mevsimsellik görülmüştür. Bu sonuç mevsimsellikle yapılan çalışmalar arasında yeni bir bulgudur.

Kuzey Amerika ile Avustralya kıtasında uzun yıllardır *D. melanogaster* ile lokal adaptasyon, enlemsel ve rakımsal varyasyonlar, iklim değişikliği gibi konularda oldukça fazla çalışma yapılmış ve literatüre değerli bilgiler kazandırılmıştır. Ancak, Avrupa kıtasında bu konudaki çalışmalar yetersiz kalmıştır. Bu nedenle çalışmadan elde edilen bulguların tamamı çalışılan lokasyonlar açısından yenidir. Çalışma kapsamında iki farklı yıla ait kendileşmiş soy hatları kullanılmıştır. Üçüncü yıla ait Yeşilöz popülasyonlarının kendileşme süreci devam etmektedir. Yapılan tüm fenotipik çalışmalar 3. yıla ait soy hatları ile devam edilecek ve mevsimselliğe ait bulgular güçlendirilecektir. Böylece gözlenen yıllık ve aylık veriler üç tekrar halinde tekrar analiz edilebilecektir. Bunun yanı sıra *Dca* geni promotör bölgesi ve vücut büyüklüğü ile ilişkisine yönelik anlamlı sonuçlar elde edilmese de, *Dca* geni promotör bölgesindeki polimorfizmlerde gözlenen güçlü enlemsel klin başka fenotipik karakterler ile ilişkilendirilerek açıklanmaya çalışılacaktır. Bunun yanı sıra enlemsel klinlerle ilgili daha net bilgiler elde etmek adına, iklimsel parametrelerin ve farklı mikroklimaların yol açtığı soru işaretlerini gidermek için, çalışılan popülasyon sayısı arttırılarak çalışma sürdürülebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Futuyma, D. J., *Evolutionary Biology*, 3. Basım, Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, **1998**.
- [2] Sambucetti, P., Loeschcke, V., Norry, F. M., Developmental time and size-related traits in *Drosophila buzzattii* along an altitudinal gradient from Argentina, *Hereditas*, 143, 77–83, **2006**.
- [3] Chen, J., Tsuda, Y., Stocks, M., Källman, T., Xu, N., Kärkkäinen, K., Huotari, T., Semerikov, V. L., Vendramin, G. G., Lascoux, M., Clinal variation at phenology-related genes in spruce: parallel evolution in FTL2 and Gigantea?, *Genetics*, 197 (3), 1025–1038, **2014**.
- [4] Dobzhansky, T., *Genetics of the Evolutionary Process*, New York: Columbia University Press, **1970**.
- [5] Nielsen, R., Molecular signatures of natural selection, *Annual Review of Genetics*, 39, 197–218, **2005**.
- [6] Stinchcombe, J. R., Hoekstra, H. E., Combining population genomics and quantitative genetics: finding the genes underlying ecologically important traits, *Heredity*, 100 (2), 158–170, **2007**.
- [7] Stapley, J., Reger, J., Feulner, P. G. D., Slate, J., Adaptation genomics: the next generation, *Trends in Ecology and Evolution*, 25 (12), 705–712, **2010**.
- [8] Barrett, R. D. H., Hoekstra, H. E., Molecular spandrels: tests of adaptation at the genetic level, *Genetics*, 12 (11), 767–780, **2011**.
- [9] Rockman, M. V., The QTN program and the alleles that matter for evolution: all that's gold does not glitter, *Evolution*, 66 (1), 1–17, **2012**.
- [10] Endler, J. A., *Geographic Variation, Speciation, and Clines*, Princeton, New Jersey: Princeton University Press, **1977**.
- [11] Hedrick, P. W., Genetic polymorphism in heterogeneous environments: the age of genomics, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 67–93, **2006**.
- [12] Latta, R. G., Differentiation of allelic frequencies at quantitative trait loci affecting locally adaptive traits, *The American Naturalist*, 151 (3), 283–292, **1998**.
- [13] Le Corre, V., Kremer, A., Genetic variability at neutral markers, quantitative trait loci and trait in a subdivided population under selection, *Genetics*, 164 (3), 1205–1219, **2003**.
- [14] Beaumont, M. A., Balding, D. J., Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans, *Molecular Ecology*, 13 (4), 969–980, **2004**.
- [15] Whitlock, M. C., Evolutionary inference from QST, *Molecular Ecology*, 17 (8), 1885–1896, **2008**.
- [16] Black IV, W. C., Baer, C. F., Antolin, M. F., DuTeau, N. M., Population genomics: genome-wide sampling of insect populations, *Annual Review of Entomology*, 46 (1), 441–469, **2001**.
- [17] Luikart, G., England, P., Tallmon, D., Jordan, S., Taberlet, P., The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing, *Genetics*, 4 (12), 981–994, **2003**.
- [18] Beaumont, M. A., Adaptation and speciation: what can FST tell us?, *Trends in Ecology and Evolution*, 20 (8), 435–440, **2005**.
- [19] Akey, J. M., Ruhe, A. L., Akey, D. T., Wong, A. K., Connelly, C. F., Madeoy, J., Nicholas, T. J., Neff, M. W., Tracking footprints of artificial selection in the dog genome, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (3), 1160–1165, **2010**.

- [20] Barton, N. H., Clines in polygenic traits, *Genetical Research*, 74 (3), 223–236, **1999**.
- [21] Hale, L. R., Singh, R. S., A comprehensive study of genic variation in natural populations of *Drosophila melanogaster* IV. Mitochondrial DNA variation and the role of history vs. selection in the genetic structure of geographic populations, *Genetics*, 129 (1), 103–117, **1991**.
- [22] Hoffmann, A. A., Weeks, A. R., Climatic selection on genes and traits after a 100 year-old invasion: a critical look at the temperate-tropical clines in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia, *Genetica*, 129 (2), 133–147, **2007**.
- [23] David, J. R., Capy, P., Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations, *Trends in Genetics*, 4 (4), 106–111, **1988**.
- [24] Lachaise, D., Silvain, J. F., How two Afrotropical endemics made two cosmopolitan human commensals from Africa: the *Drosophila melanogaster*–*D. simulans* palaeogeographic riddle, *Genetica*, 120, 17–39, **2004**.
- [25] Bouletreau-Merle, J., Fouillet, P., Varaldi, J., Divergent strategies in low temperature environment for the sibling species *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: overwintering in extension border areas of France and comparison with African populations, *Evolutionary Ecology*, 17 (5), 523–548, **2003**.
- [26] Hoffmann, A. A., Scott, M., Partridge, L., Hallas, R., Overwintering in *Drosophila melanogaster*: outdoor field cage experiments on clinal and laboratory selected populations help to elucidate traits under selection, *Journal of Evolutionary Biology*, 16 (4), 614–623, **2003**.
- [27] Sezgin, E., Duvernell, D.D., Matzkin, L.M., Duan, Y., Zhu, C.T., Verrelli, B.C., Eanes, W.F., Single-locus latitudinal clines and their relationship to temperate adaptation in metabolic genes and derived alleles in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 168(2), 923–931, **2004**.
- [28] Schmidt, P.S., Paaby, A.B., Heschel, M.S., Genetic variance for diapause expression and associated life histories in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 59(12), 2616–2625, **2005**.
- [29] Paaby, A. B., Schmidt, P. S., Dissecting the genetics of longevity in *Drosophila melanogaster*, *Fly*, 3 (1), 29–38, **2009**.
- [30] Coyne, J. A., Beecham, E., Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 117(4), 727–737, **1987**.
- [31] James, A. C., Partridge, L., Thermal evolution of rate of larval development in *Drosophila melanogaster* in laboratory and field populations, *Journal of Evolutionary Biology*, 8(3), 315–330, **1995**.
- [32] de Jong, G., Bochdanovits, Z., Latitudinal clines in *Drosophila melanogaster*: body size, allozyme frequencies, inversion frequencies, and the insulin-signalling pathway, *Journal of Genetics*, 82 (3), 207–223, **2003**.
- [33] Gockel, J., Kennington, W. J., Hoffmann, A. A., Goldstein, D. B., Partridge, L., Nonclinality of molecular variation implicates selection in maintaining a morphological cline of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 158 (1), 319–323, **2001**.
- [34] Anderson, A. R., Hoffmann, A. A., McKechnie, S. W., Umina, P. A., Weeks, A. R., The latitudinal cline in the In (3R) Payne inversion polymorphism has shifted in the last 20 years in Australian *Drosophila melanogaster* populations, *Molecular Ecology*, 14 (3), 851–858, **2005**.

- [35] Kolaczowski, B., Kern, A. D., Holloway, A. K., Begun, D. J., Genomic differentiation between temperate and tropical Australian populations of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 187 (1), 245-260, **2011**.
- [36] Paaby, A.B., Blacket, M.J., Hoffmann, A.A., Schmidt, P.S., Identification of a candidate adaptive polymorphism for *Drosophila* life history by parallel independent clines on two continents, *Molecular Ecology*, 19:760–74, **2010**.
- [37] Fabian, D. K., Kapun, M., Nolte, V., Kofler, R., Schmidt, P. S., Schlötterer, C., Flatt, T., Genome-wide patterns of latitudinal differentiation among populations of *Drosophila melanogaster* from North America, *Molecular Ecology*, 21 (19), 4748-4769, **2012**.
- [38] Gilchrist G.W., Huey R.B., Balanyà J., Pascual M., Serra L., A time series of evolution in action: a latitudinal cline in wing size in South American *Drosophila subobscura*, *Evolution*, 58(4), 768-780, **2004**.
- [39] Bradshaw, A. D., Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants, *Advances in Genetics*, 13, 115–155, **1965**.
- [40] Pigliucci, M., *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Baltimore, MD: Johns Hopkins University Press, **2001**.
- [41] Hoffmann, A.A., Anderson, A., Hallas, R., Opposing clines for high and low temperature resistance in *Drosophila melanogaster*, *Ecology Letters*, 5(5), 614-618, **2002**.
- [42] Collinge, J.E., Hoffmann, A.A., McKechnie, S.W., Altitudinal patterns for latitudinally varying traits and polymorphic markers in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia, *Journal of Evolutionary Biology*, 19(2):473–482, **2006**.
- [43] Fischer, K., Karl, I., Exploring plastic and genetic responses to temperature variation using Copper butterflies, *Climate Research*, 43 (1/2), 17-30, **2010**.
- [44] Bublly, O. A., Loeschcke, V., Variation of life-history and morphometrical traits in *Drosophila buzzatii* and *Drosophila simulans* collected along an altitudinal gradient from a Canary island, *Biological Journal of the Linnean Society*, 84 (1), 119–136, **2005**.
- [45] Sambucetti, P., Loeschcke, V., Norry, F. M., Developmental time and size-related traits in *Drosophila buzzatii* along an altitudinal gradient from Argentina, *Hereditas*, 143, 77–83, **2006**.
- [46] de Jong, M. A., Kesbeke, F. M. N. H., Brakefield, P. M., Zwaan, B. J., Coping with climate: geographic variation in thermal plasticity of life history and wing pattern in *Bicyclus anynana*, *Climate Research*, 43 (1/2), 91-102, **2010**.
- [47] James, A.C., Azevedo, R.B.R., Partridge, L., Genetic and environmental responses to temperature of *Drosophila melanogaster* from a latitudinal cline. *Genetics*, 146:881-890, **1997**.
- [48] Azevedo, R.B.R., French, V., Partridge, L., Thermal Evolution of Egg Size in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 50(6), 2338–2345, **1996**.
- [49] Cohan, F.M., Graf, J.D., Latitudinal cline in *Drosophila melanogaster* for knockdown resistance to ethanol fumes and for rates of response to selection for further resistance, *Evolution*, 278-293, **1985**.
- [50] Hoffmann, A.A., Parsons, P.A., An integrated approach to environmental stress tolerance and life-history variation: desiccation tolerance in *Drosophila*, *Biological Journal of the Linnean Society*, 37(1-2), 117-136, **1989**.

- [51] Barker, J S F, Frydenberg, J, Sarup, P, Loeschcke, V., Altitudinal and seasonal variation in microsatellite allele frequencies of *Drosophila buzzatii*, *Journal Of Evolutionary Biology*, 24, 430–439, **2011**.
- [52] Klepsatel, P., Gálíková, M., Huber, C.D., Flatt, T., Similarities and differences in altitudinal versus latitudinal variation for morphological traits in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 68(5), 1385-1398, **2014**.
- [53] Tiffin, P., Ross-ibarra, J., Advances and limits of using population genetics to understand local adaptation, *Trends in Ecology & Evolution*, 29 (12), 673-680, **2014**.
- [54] Behrman, E. L., Watson, S. S., O'brien, K. R., Heschel, M. S., & Schmidt, P. S., Seasonal variation in life history traits in two *Drosophila* species, *Journal of Evolutionary Biology*, 28(9), 1691–1704, **2015**.
- [55] Bergland, A. O., Tobler, R., Gonzalez, J., Schmidt, P., Petrov, D., Secondary contact and local adaptation contribute to genome-wide patterns of clinal variation in *Drosophila melanogaster*, *Molecular Ecology*, 25 (5), 1157-1174, **2015**.
- [56] Flatt, T., Genomics of clinal variation in *Drosophila*: disentangling the interactions of selection and demography, *Molecular Ecology*, 25, 1023–1026, **2016**.
- [57] Huxley, J., Clines: an Auxiliary Taxonomic Principle, *Nature* 142, 219–220, **1938**.
- [58] Berry, A., and M. Kreitman, Molecular analysis of an allozyme cline: alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster* on the east coast of North America. *Genetics*, 134: 869–893, **1993**.
- [59] Lenormand, T., and M. Raymond, Analysis of clines with variable selection and migration, *The American Naturalist*, 155, 70–82, **2000**.
- [60] Hoffmann, A.A., Opposing clines for high and low temperature resistance in *Drosophila melanogaster*, *Ecology Letters*, 5, 614–618, **2002**.
- [61] Schmidt, P.S., Paaby, A.B., Reproductive diapause and life-history clines in north American populations of *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 62(5), 1204-1215, **2008**.
- [62] Roulin, A., Wink, M., Salamin, N., Selection on a eumelanic ornament is stronger in the tropics than in temperate zones in the World wide distributed barn owl, *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 345–354, **2009**.
- [63] Roulin, A., Richner, H., Ducrest, A. L., Genetic, environmental, and condition-dependent effects on female and male ornamentation in the barn owl *Tyto alba*, *Evolution* 52, 1451–1460, **1998**.
- [64] Roulin, A., Dijkstra, C., Genetic and environmental components of variation in eumelanin and phaeomelanin sex-traits in the barn owl, *Heredity*, 90, 359–364, **2003**.
- [65] Antoniazza, S., Burri, R., Fumagalli, L., Goudet, J., Roulin, A., Local Adaptation Maintains Clinal Variation In Melanin-Based Coloration Of European Barn Owls (*Tyto Alba*), *Evolution*, 64(7), 1944–1954, **2010**.
- [66] Groeters, F. R., Shaw, D. D., Evidence for association of chromosomal form and development time from complex clines and geographic races in the grasshopper *Caledia captiva* (Orthoptera: Acrididae), *Biological Journal of the Linnean Society*, 59, 243–259, **1996**.

- [67] Arnett, A. E., Gotelli, N. J., Geographic variation in lifehistory traits of the ant lion, *Myrmeleon immaculatus*: evolutionary implications of Bergmann's rule, *Evolution*, 53, 1180–1188, 1999.
- [68] Blanckenhorn, W. U., Fairbairn, D. J., Life history adaptation along a latitudinal cline in the water strider *Aquarius remigis* (Heteroptera: Gerridae). *Journal of Evolutionary Biology*, 8, 21–41, 1995.
- [69] Barbosa, S. E., Rodrigo P.P., Hertton H.R., Diotaiuti, L., Experimental evidence for a demographic cline in *Panstrongylus megistus* populations, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(6), 773-775, 2001.
- [70] Berven, K. A., Gill, D. E., Smith-Gill, S. J., Countergradient selection in the green tree frog, *Rana clamitans*, *Evolution*, 33, 609-623, 1979.
- [71] Riha, V. F., Berven, K. A., An analysis of latitudinal variation in the larval development of the wood frog (*Rana sylvatica*) Copeia 1991: 209-221, 1991.
- [72] Adams, M. D., Celniker, S.E., Holt, R.A., The genome sequence of *Drosophila melanogaster*, *Science*, 287, 2185–2195, 2000.
- [73] Klepsatel, P., Galikova, M., De Maio, N., Huber, C. D., Schlotterer, C., Flatt, T., Variation in thermal performance and reaction norms among populations of *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 67, 3573–3587, 2013.
- [74] Ayhan, N., Güler, P., Onder, B.S., Altitudinal variation in lifespan of *Drosophila melanogaster* populations from the Firtina Valley, northeastern Turkey, *Journal of Thermal Biology*, 61, 91-97, 2016.
- [75] Van't Land, J. P., Van Putten, B., Zwaan, A., Kamping, Van Delden W., Latitudinal variation in wild populations of *Drosophila melanogaster*: heritabilities and reaction norms, *Journal of Evolutionary Biology*, 12, 222-232, 1999.
- [76] Robinson, S. J. W., Partridge, L., Temperature and clinal variation in larval growth efficiency in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Evolutionary Biology*, 14, 14–21, 2001.
- [77] David, J. R., Bocquet, C., Evolution in a cosmopolitan species: genetic latitudinal clines in *Drosophila melanogaster* wild populations, *Experientia*, 31, 164–166, 1975.
- [78] Azevedo, R. B. R., French, V., Partridge, L., Thermal evolution of egg size in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 50, 2338–2345, 1996.
- [79] DaLage, J. L., Capy, P., David, J. R., Starvation and desiccation tolerance in *Drosophila melanogaster*: differences between European, North African and Afrotropical populations, *Genetics Selection Evolution*, 22, 381–391, 1990.
- [80] Frydenberg, J., Hoffmann A. A., Loeschcke, V., DNA sequence variation and latitudinal associations in hsp23, hsp26 and hsp27 from natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Molecular Ecology*, 12, 2025–2032, 2003.
- [81] Cohan, F. M., Graf, J. D., Latitudinal cline in *Drosophila melanogaster* for knockdown resistance to ethanol fumes and for rates of response to selection for further resistance, *Evolution*, 39, 278–293, 1985.
- [82] Berrigan, D., Partridge, L., Influence of temperature and activity on the metabolic rate of adult *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 118, 1301–1307, 1997.
- [83] Subaşı, B.S., *Drosophila melanogaster*'de Coğrafi ve Mevsimsel Diapoz Değişimi ve İnsülin-Benzeri Reseptör (InR) Polimorfizmi ile İlişkinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2017.
- [84] Knibb, W. R., Chromosome inversion polymorphisms in *Drosophila melanogaster*, II. Geographic clines and climatic associations in Australasia, North America and Asia, *Genetica*, 58, 213–222, 1982.

- [85] Kapun, M., Schalkwyk, H., McAllister, B., Flatt, T., Schlötterer C., Inference of chromosomal inversion dynamics from Pool-Seq data in natural and laboratory populations of *Drosophila melanogaster*, *Molecular Ecology*, 23(7), 1813-1827, **2014**.
- [86] Kamping, A., van Delden, W., A long-term study on interactions between the Adh and alpha Gpdh allozyme polymorphisms and the chromosomal inversion In(2L)t in a seminatural population of *D. melanogaster*, *Journal of Evolutionary Biology*, 12, 809–821, **1999**.
- [87] Schmidt, P. S., Paaby, A. B., Heschel, M. S., Genetic variance for diapause expression and associated life histories in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 59(12), 2616-2625, **2005**.
- [88] Hut, R.A., Paolucci, S., Dor, R., Kyriacou, C.P., Daan, S., Latitudinal clines: an evolutionary view on biological rhythms, *Proceedings of the Royal Society B*, 280, 20130433, **2013**.
- [89] Partridge, L., Barrie, B., Fowler, K., French, V., Evolution and development of body size and cell size in *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution*, 48, 1269–1276, **1994**.
- [90] Loeb, J., Northrop, J.H., On The Influence Of Food And Temperature Upon The Duration Of Life, *The Journal of Biological Chemistry*, 32, 103-121, **1917**.
- [91] Bochdanovits, Z., de Jong, G., Experimental evolution in *Drosophila melanogaster*: interaction of temperature and food quality selection regimes. *Evolution*, 57, 1829–1836, **2003**.
- [92] Hoffmann, A. A., Sgro, C. M., Climate change and evolutionary adaptation, *Nature*, 470, 479–485, **2011**.
- [93] Root, T. L., Price, J. T., Hall, K. R., Schneider, S. H., Rosenzweig, C., Pounds, J. A., Fingerprints of global warming on wild animals and plants, *Nature*, 421, 57–60, **2003**.
- [94] Gillespie, M. A. K., Birkemoe, T., Sverdrup-Thygeson, A., Interactions between body size, abundance, seasonality, and phenology in forest beetles, *Ecology and Evolution*, 7, 1091–1100, **2017**.
- [95] Angilletta, M. J., Steury, T. D. & Sears, M. W., Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: Fitting pieces of a life-history puzzle, *Integrative and Comparative Biology*, 44, 498-509, **2004**.
- [96] Rezende, E. L., Balanyà, J., Rodríguez-Trelles, F., Rego, C., Fragata, I., Matos, M., Serra, L., Santos, M., Climate change and chromosomal inversions in *Drosophila subobscura*, *Climate Research*, 43(1/2), 103-114, **2010**.
- [97] Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M., Genetic response to rapid climate change: it's seasonal timing that matters, *Molecular Ecology*, 17, 157–166, **2008**.
- [98] Schmidt, P.S., Conde, D.R., Environmental heterogeneity and the maintenance of genetic variation for reproductive diapause in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 60(8), 1602-1611, **2006**.
- [99] Cogni, R., Kuczynski, C., Koury, S., Lavington, E., Behrman, E.L., O'Brien, K.R., Eanes, W.F., The intensity of selection acting on the couch potato gene-spatial-temporal variation in a diapause cline, *Evolution*, 68(2), 538-548, **2014**.
- [100] Ohlberger, J., Climate warming and ectotherm body size—from individual physiology to community ecology, *Functional Ecology*, 27, 991–1001, **2013**.
- [101] Conlon, I., Raff, M., Size control in animal development, *Cell* 96, 235–244, **1999**.

- [102] Reeve, M. W., Fowler, K., Partridge L., Increased body size confers greater fitness at lower experimental temperature in male *Drosophila melanogaster*, *Journal of Evolutionary Biology*, 13, 836–844, **2000**.
- [103] Norry, F.M., Loeschcke, V., Temperature-induced shifts in associations of longevity with body size in *Drosophila melanogaster*, *Evolution* 56: 299–306, **2002**.
- [104] Gokhale, R. H. and Shingleton, A. W., Size control: the developmental physiology of body and organ size regulation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 4, 335–356, **2015**.
- [105] Turner T. L., Levine M. T., Eckert M. L. and Begun D. J., Genomic analysis of adaptive differentiation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 179, 455–473, **2008**.
- [106] Roff D. A., *Life history evolution*. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts, **2002**.
- [107] Huey, R. B., G. W. Gilchrist, M. L. Carlson, D. Berrigan, and L. Serra., Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science*, 287:308–309, **2000**.
- [108] Blanckenhorn, W. U., and M. Demont., Bergmann and converse Bergmann latitudinal clines in arthropods: two ends of a continuum? *Integrative and Comparative Biology*, 44:413–424, **2004**.
- [109] Mayr, E., Geographical character gradients and climatic adaptation. *Evolution*, 10:105–108, **1956**.
- [110] Shelomi, M., Where Are We Now? Bergmann's Rule Sensu Lato in Insects., *The American Naturalist*, 180 (4), 511–519, **2012**.
- [111] Scriven, J.J., Whitehorn, P.R., Goulson, D., Tinsley, M.C., Bergmann's Body Size Rule Operates in Facultatively Endothermic Insects: Evidence from a Complex of Cryptic Bumblebee Species. *PLoS ONE*, 11(10), e0163307, **2016**.
- [112] Perktas, U., Ecogeographical variation of body size in Chaffinches *Fringilla coelebs*, *Bird Study*, 58(3), 264–277, **2011**.
- [113] Blanckenhorn, W. U., The evolution of body size: What keeps organisms small? *The Quarterly Review of Biology*, 75, 385–407, **2000**.
- [114] Fischer, K. and K. Fiedler., Reaction norms for age and size at maturity in response to temperature: A test of the compound interest hypothesis. *Evolutionary Ecology*, 16:333–349, **2002**.
- [115] Fox, C. W. and M. E. Czesak., Evolutionary ecology of progeny size in arthropods, *Annual Review of Entomology*, 45:341–369, **2000**.
- [116] David J, Cohet Y, Fouillet P., Physiologie de l'inanition et utilisation des réserves chez les adultes de *Drosophila melanogaster*, *Archives de zoologie expérimentale et générale*, 116, 579–590, **1975**.
- [117] Alpatov, W. W., Growth and variation of the larvae of *Drosophila melanogaster*, *Journal of Experimental Zoology*, 52:407–437, **1929**.
- [118] Bryant, E. H., Morphometric adaptation of the housefly, *Musca domestica* L., in the United States. *Evolution* 31:580–596, **1977**.
- [119] Arnett, A. E., and N. J. Gotelli., Geographic variation in life-history traits of the ant lion, *Myrmeleon immaculatus*: evolutionary implications of Bergmann's rule. *Evolution* 53:1180–1188, **1999**.
- [120] Lonsdale, D. J. and J. S. Levinton., Energy budgets of latitudinally separated *Scottolana canadensis* (Copepoda: Harpacticoida). *Limnology and Oceanography*, 34, 324–331, **1989**.

- [121] Hallas, R., Schiffer, M. & Hoffmann, A.A. 2002. Clinal variation in *Drosophila serrata* for stress resistance and body size. *Genetics Research*, 79, 141–148, **2002**.
- [122] Karan, D., S. Dubey, B. Moreteau, and R. Parkash., Geographical clines for quantitative traits in natural populations of a tropical drosophilid: *Zaprionus indianus*, *Genetica* 108:91–100, **2000**.
- [123] David, J. R., B. Moreteau, J. P. Gauthier, G. Petavy, A. Stockel and A. G. Imasheva., Reaction norms of *siLe* characters in relation to growth temperature in *Drosophila melanogaster*: an isofemale lines analysis, *Genetics Selection Evolution*, 20: 229–251, **1994**.
- [124] Gilchrist, G.W., Huey, R.B., Plastic and genetic variation in wing loading as a function of temperature within and among parallel clines in *Drosophila subobscura*, *Integrative and Comparative Biology*, 44: 461–470, **2004**.
- [125] Weber, K. E., R. Eisman, L. Morey, A. Patty, J. Sparks et al., An analysis of polygenes affecting wing shape on chromosome 3 in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 153: 773–786, **1999**.
- [126] Weber, K. E., R. Eisman, S. Higgins, L. Morey, A. Patty et al., An analysis of polygenes affecting wing shape on chromosome 2 in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 159: 1045–1057, **2001**.
- [127] Zimmerman, E., A. Palsson and G. Gibson., Quantitative trait loci affecting components of wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 155: 671–683, **2000**.
- [128] Carreira, V.P., Mensch, J., Hasson, E., Fanara J.J., Natural Genetic Variation and Candidate Genes for Morphological Traits in *Drosophila melanogaster*. *PlosOne*, 11(7): e0160069, **2016**.
- [129] Waddington, C. H., The genetic control of wing development in *Drosophila*. *Journal of Genetics*, 41:75–139, **1940**.
- [130] Garcia-Bellido, A., and J. F. de Celis. 1992. Developmental genetics of the venation pattern of *Drosophila*. *Annual Review of Genetics*. 26: 277–304, **1992**.
- [131] Stark, J., J. Bonacum, J. Remsen, and R. DeSalle., The evolution and development of dipteran wing veins: a systematic approach. *Annual Review of Entomology*. 44:97–129, **1999**.
- [132] Gilchrist, G.W., Partridge, L., Contrasting genetic architecture of wing size and shape. *Heredity* 86:144–152, **2001**.
- [133] Loeschcke, V., Bundgaard, J. & Barker, J.S.F., Variation in body size and life history traits in *Drosophila aldrichi* and *D. buzzatii* from a latitudinal cline in eastern Australia. *Heredity*, 85, 423–433, **2000**.
- [134] Weeks, A. R., S. W. McKechnie, and A. A. Hoffmann. 2002. Dissecting adaptive clinal variation: markers, inversions and size/stress associations in *Drosophila melanogaster* from a central field population. *Ecology Letters*, 5:756–763, **2002**.
- [135] Schmidt-Nielsen, K., Scaling. Why is animal size so important? *Cambridge University Press*, Cambridge, UK, **1984**.
- [136] Roff, D., On being the right size. *American Naturalist*, 118:405–422, **1981**.
- [137] McKechnie, A.E. and Wolf, B.O., Climate change increases the likelihood of catastrophic avian mortality events during extreme heat waves. *Biology Letters*, 6, 253–256, **2010**.
- [138] Gardner, Janet L, Peters, Anne, Kearney, Michael R, Joseph, Leo, Heinsohn, Robert, Declining body size : a third universal

- response to warming ?, *Trends in Ecology and Evolution*, 26 (6), 285–291, **2011**.
- [139] Flatt, T., Heyland, A., *Mechanisms of Life History Evolution: The Genetics and Physiology of Life History Traits and Trade-offs*, (eds: Flatt, T., Heyland, A.), Oxford University Press, Oxford, **2011**.
 - [140] de Moed, G.H., de Jong, G. Scharloo. W., The phenotypic plasticity of wing size in *Drosophila melanogaster*: The cellular basis of its genetic variation. *Heredity*, 79:260–267, **1997**.
 - [141] Güler, P., Ayhan, N., Koşukçu, C., Önder, B.Ş., The effects of larval diet restriction on developmental time, preadult survival, and wing length in *Drosophila melanogaster*, *Turkish Journal of Zoology*, 39(3), 395–403, **2015**.
 - [142] Robinson, S. J. W., Partridge, L., Temperature and clinal variation in larval growth efficiency in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Evolutionary Biology*, 14, 14–21, **2001**.
 - [143] Carreira, V. P., Mensch, J., Fanara, J. J. Body size in *Drosophila*: genetic architecture, allometries and sexual dimorphism, *Heredity*, 201, 246–256, **2009**.
 - [144] Gidaszewski, N. A., Baylac, M. & Klingenberg, C. P., Evolution of sexual dimorphism of wing shape in the *Drosophila melanogaster* subgroup, *BMC Evolutionary Biology*, 9, 1–11, **2009**.
 - [145] Sharp, N. P., Agrawal, A. F., Evidence for elevated mutation rates in low-quality genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 109, 6142–6146, **2012**.
 - [146] Stalker, H.D., Carson, H.L., An altitudinal transect of *Drosophila robusta* Sturtevant, *Evolution*, 295–305, **1948**.
 - [147] Pitchers, W., J. E. Pool, and I. Dworkin., Altitudinal clinal variation in wing size and shape in African *Drosophila melanogaster*: one cline or many?, *Evolution* 67:438–452, **2013**.
 - [148] Kari, J. & Huey, R.B., Size and seasonal temperature in free-ranging *Drosophila subobscura*. *Journal of Thermal Biology*, 25, 267–272, **2000**.
 - [149] Carreira, V.P., Imberti, M.A., Mensch, J., Fanara, J.J., Gene-by-Temperature Interactions and Candidate Plasticity Genes for Morphological Traits in *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE* 8(7): e70851, **2013**.
 - [150] Anderson, W. W., Genetic divergence in M. Vetukhiv's experimental populations of *Drosophila pseudoobscura*, *Genetics Research*, 7:255–266, **1966**.
 - [151] Anderson, W. W., Genetic divergence in body size among experimental populations of *Drosophila pseudoobscura* kept at different temperatures. *Evolution* 27:278–284, **1973**.
 - [152] Matamoro-Vidal, A., Salazar-Ciudad, I. and Houle, D., Making quantitative morphological variation from basic developmental processes: Where are we? The case of the *Drosophila* wing. *Developmental Dynamics*, 244: 1058–1073, **2015**.
 - [153] Rako, L., Blacket, M. J., McKechnie, S. W., Hoffmann, A. A., Candidate genes and thermal phenotypes: identifying ecologically important genetic variation for thermotolerance in the Australian *Drosophila melanogaster* cline. *Molecular Ecology*, 16:2948–2957, **2007**.
 - [154] Adrion, J.R., Hahn, M.W., Cooper, B.S., Revisiting classic clines in *Drosophila melanogaster* in the age of genomics, *Trends in Genetics*, 31(8), 434–444, **2015**.

- [155] Carreira, Genetic basis of wing morphogenesis in *Drosophila*: sexual dimorphism and non-allometric effects of shape variation. *BMC Developmental Biology*, 11:32, **2011**.
- [156] Lee, S.F., Eyre-Walker, Y.C., Rane, R.V., Reuter, C., Vinti, G., Rako, L., Partridge, L., Hoffmann, A.A., Polymorphism in the neurofibromin gene, Nf1, is associated with antagonistic selection on wing size and development time in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Ecology*, 22(10), 2716–2725, **2013**.
- [157] Guo, H.F, Tong, J, Hannan, F, Luo, L, Zhong, Y., A neurofibromatosis-1-regulated pathway is required for learning in *Drosophila*. *Nature*, 403, 895–898, **2000**.
- [158] Lee, S.F., Sgro, C.M., Shirriffs, J., Wee, C.W., Rako, L., van Heerwaarden, B., Hoffmann, A.A., Polymorphism in the couch potato gene clines in eastern Australia but is not associated with ovarian dormancy in *Drosophila melanogaster*, *Molecular ecology*, 20(14), 2973-2984, **2011**.
- [159] Goto, S. G., Expression of *Drosophila* homologue of senescence marker protein-30 during cold acclimation, *Journal of Insect Physiology*, 46 (7), 1111-1120, **2000**.
- [160] Stalker, H.D., Chromosome Studies in Wild Populations of *Drosophila melanogaster* II Relationship of Inversion Frequencies to Latitude, Season, Wing-Loading and Flight Activity. *Genetics*, 95, 211–223, **1980**.
- [161] Kapun, M., Fabian, D.K., Goudet, J., Flatt, T., Genomic evidence for adaptive inversion clines in *Drosophila melanogaster*, *Molecular biology and evolution*, 33(5), 1317-1336, **2016**
- [162] Fernández-Iriarte, P. J., Norry, F. M., Hasson, E. R., Chromosomal inversions effect body size and shape in different breeding resources in *Drosophila buzzatii*, *Heredity*, 91, 51–59, **2003**.
- [163] Falconer, D.S., Mackay, T.F., *Introduction to Quantitative Genetics*, 4th edition., Longman, New York, **1996**.
- [164] Morgan, T.J., Mackay, T.F.C., Quantitative trait loci for thermotolerance phenotypes in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 96:232–42, **2006**.
- [165] Rohlf, F.J., Comparative methods for the analysis of continuous variables: Geometric interpretations. *Evolution*, 55(11), 2143–2160, **2001**.
- [166] Klingenberg, C.P., MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11, 353–357, **2011**.
- [167] Schluter, D., Ecological character displacement in adaptive radiation. *American Naturalist*, 156:S4–S16, **2000**.
- [168] Schrider, D. R., Hahn, M. W., Begun, D. J., Parallel Evolution of Copy-Number Variation across Continents in *Drosophila melanogaster*, *Molecular Biology and Evolution*. 33: 1308–1316, **2016**.
- [169] Kennington, W.J., Hoffmann, A.A. The genetic architecture of wing size divergence at varying spatial scales along a body size cline in *Drosophila melanogaster*, *Evolution* , 64, 1935-1943, **2010**.
- [170] Menezes, B.F., Vigoder, F.M., Peixoto, A.A., Varaldi, J. & Bitner-Mathe, B.C. The influence of male wing shape on mating success in *Drosophila melanogaster*, *Animal Behaviour*, 85, 1217–1223, **2013**.
- [171] Oguz, G., Kasap, O. E., Alten, B., Wing Morphology Variations in a Natural Population of *Phlebotomus tobbi* Adler and Theodor 1930, *Journal of Vector Ecology*, 42(2), 223-232, **2017**.

- [172] Reis, M., Vieira C. P., Morales-Hojas, R., Aguiar, B., Rocha, H., Schlötterer C., Vieira J. A comparative study of the short term cold resistance response in distantly related *Drosophila* species: The role of regucalcin and Frost. *PLoS ONE*, 6(10), e25520, **2011**.



ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Cansu Fidan AKSOY
Doğum Yeri : Yenimahalle / ANKARA
Medeni Hali : Bekar
E-posta : cansuaksoy05@gmail.com
Adresi : Mamak / ANKARA

Eğitim

Lise : Tuzluçayır Anadolu Lisesi – Mamak, Ankara
Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2010-2015)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Biyoloji ABD (2015-2018)
Doktora :

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce (İyi) – Fransızca (Orta)

İş Deneyimi

Deneyim Alanları

Genetik, Populasyon Genetiği, Ekoloji, Evrim

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

1. TÜBİTAK, - RFBR İkili İşbirliği Projesi, Proje No: 214Z238, Banu Şebnem Önder & Elena G. Pasyukova (Yürütücü), Latitudinal, seasonal, and year-to-year changes in genome, transcriptome, and life history traits variation in *Drosophila melanogaster* populations.

Bütçesi: 344.00.-

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

1. **Aksoy, C.F.**, Orhan, A., Subaşı, B.S., Turhallı, F., Ünal, U., Önder, B.Ş., *D. melanogaster* popülasyonlarında kanat büyüklüğünde enlemsel varyasyon, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, 5-9 Eylül **2016**.
2. Subaşı, B.S., **Aksoy, C.F.**, Orhan, A., Ünal, U., Turhallı, F., Pasyukova, E., Önder, B.Ş., Latitudinal variation of wing size, stress tolerance and climatic adaptation in *Drosophila melanogaster*, 3. Ecology and Evolutionary Biology Symposium, Ankara - Turkey, 31 August - 1 September **2016**.





HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 16/01/2018

Tez Başlığı / Konusu: **Enlemsel Klinlerin *Drosophila melanogaster*'de Dca Genotipi Ve Kanat Büyüklüğü Bakımından Araştırılması**

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 84 sayfalık kısmına ilişkin, 16/01/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5 'tir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Adı Soyadı: Cansu Fidan AKSOY
Öğrenci No: N16129772
Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Genel Biyoloji
Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

Tarih ve İmza

16.01.2018

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Yrd. Doç. Dr. Banu Şebnem ÖNDER

(Unvan, Ad Soyad, İmza)