



T.C

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANADOLU HAŞHAŞ/GELİNCİK SAP ARISI
PACHYCEPHUS SMYRNENSIS (STEİN 1876)
(HYMENOPTERA: CEPHİDAE) POPULASYONLARININ
COĞRAFİK GENETİĞİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Fatma Eda TUTAR

(201592021168)

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ

SİVAS

EYLÜL 2019

FATMA EDA TUTAR'ın hazırladığı “**Anadolu Haşhaş/Gelincik Sap Arısı**
Pachycephus smyrnensis (Stein 1876) (Hymenoptera : Cephidae)
Populasyonlarının Coğrafik Genetiği ” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI’ nda **YÜKSEK**
LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: **Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ**
Cumhuriyet Üniversitesi

Jüri Üyeleri: **Doç. Dr. Serkan GÜL**
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

Doç. Dr. Mahir BUDAK
Cumhuriyet Üniversitesi

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS**
TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özlem Pelin CAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



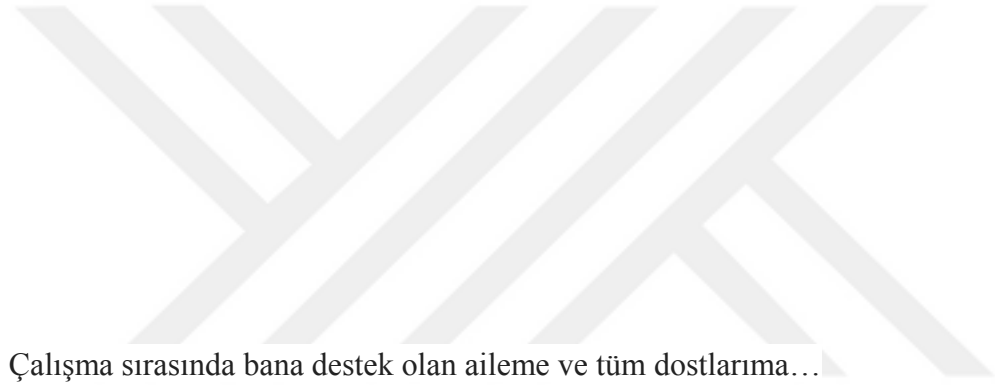
Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından **F-505** nolu proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Fatma Eda TUTAR, 2019



Çalışma sırasında bana destek olan aileme ve tüm dostlarıma...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ 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 yararlanması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

02/09/2019

Fatma Eda TUTAR

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatımın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren her türlü desteğini benden esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ'a teşekkür ederim

Tez çalışmam süresince benden desteklerini esirgemeyen çok sevgili hocalarım Arş. Gör. Özgül DOĞAN, Doç. Dr. Mahir Budak ve Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK'e çok teşekkür ederim.

Benden hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen her daim arkamda olup bana destek veren annem babam ve canım kardeşim Ali Uğurcan TUTAR'a çok teşekkür ederim.

Sivas'ta her daim yanımda olup bana destek olan Prof. Dr. Erdal ESER, Doç. Dr. Meryem ACARA ESER ve Alp Doğu ESER'e çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitim hayatımda tanıştığım her türlü zorlukta yanımda olan çok değerli dostlarım Gamze TAM, Burcu TEMEL ALTUN ve Arş. Gör. Ali DEMİRBAĞ'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışması boyunca bana destek olan çok sevgili dostlarım Sevda ÇETİN ve Ozan Sinan SAĞLAMER'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca benden tez çalışmam boyunca desteklerini hiç esirgemeyen Merve Nur AYDEMİR ve Melissa Şafak ÇELEBİ'ye çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Birimi (CÜBAP) tarafından F-505 numaralı projeyle desteklenmiştir.

ÖZET

ANADOLU HAŞHAŞ/GELİNCİK SAP ARISI *PACHYCEPHUS SMYRNENSIS* (STEİN 1876) (HYMENOPTERA CEPHİDAE) POPULASYONLARININ COĞRAFİK GENETİĞİ

Fatma Eda TUTAR

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ

2019, 93+xiv sayfa

Pachycephus smyrnensis (Stein 1876) sap arılarının bir üyesi olup ekonomik açıdan önemli bir zararlıdır. Gelincik ya da haşhaş bitkisini konak olarak tercih etmekte ve ülkemizin çoğu bölgesinde yayılış sergilemektedir. Fitofag böceklerde tür içi farklılaşma ve/veya yeni türlerin açığa çıkması doğrudan konak bitkilerinin gelişimsel evreleri ile ilişkilidir. Özellikle geniş yayılış sergileyen türlerin populasyonları arasında gözlenen genetik farklılaşma o türün ve/veya konak bitkisinin fenolojik evreleri ile bağlantılı olabilir. Bu proje kapsamında *P. smyrnensis* türü populasyonları arasında konak bitki türünün yayılışına paralel olarak genetik açıdan bir farklılaşma olup olmadığı coğrafik genetiksel yaklaşımlar altında araştırılmıştır. Bu kapsamda, ülkemizde hem enlemsel ve boylamsal hem de konak bitki yayılışı göz önünde bulundurularak 37 farklı lokaliteyi temsilen toplamda 93 birey kullanılmıştır. Örneklerin *COI* ve *28s rRNA* gen bölgelerine ait DNA dizileri çıkarılmıştır. Yapılan analizler sonucunda *28s rRNA* gen bölgesinin 4 farklı haplotip ve *COI* gen bölgesinin 11 farklı haplotip barındırdığı saptanmıştır. Her iki gen bölgesi içinde anlamlı bir genetik farklılaşma saptanamamıştır. Buna kaçak olarak ekilen haşhaş bitkisinin ve doğal olarak her yerde çoğalabilen gelincik bitkisinin sebep olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: haşhaş/gelincik sap arısı, genetik varyasyon, genetik farklılaşma, Cephidae, Anadolu

ABSTRACT

GEOGRAPHIC GENETICS OF ANATOLIAN POPPY / POPPIES STICK BEE *PACHYCEPHUS SMYRNENSIS* (STEIN 1876) (HYMENOPTERA: CEPHIDAE) POPULATIONS

Fatma Eda TUTAR

Master of Science Thesis

Department of Molecular Biology and Genetic

Supervisor: Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ

2019, 93+xiv pages

Pachycephus smyrnensis (Stein 1876), the member of the stem sawflies, is an economically important pest. Its larvae feed inside the stems of poppies and exhibit continuously distribution in Turkey. Intraspecific differentiation and/or emergence of new species in phytophagous insects are directly related to the life cycles of the host plants. In particular, the observed genetic differentiation among populations of the widely distributed species might be connected with the phenological states of that species and/or of the host plant. In this thesis, I investigate whether the populations of *P. smyrnensis* are genetically differentiated based on the distribution pattern of its host plant in Turkey, using landscape genetic approaches. For this aim, I use 93 individuals from 37 different localities, considering both the distribution pattern of the host plant and longitudinal and latitudinal distribution of the *P. smyrnensis*. The gene regions of *COI* and *28s rRNA* were sequenced. In the result of analyses, I found four haplotypes for *28s rRNA* and 11 haplotypes for *COI*. Both gene regions exhibited no significant genetic differentiation. The observation of low level of genetic differentiation among populations was most probably related with distribution pattern of host plant. Populations of wildy and continually distributed species display mostly similar genetic structuring based on their ongoing gene flows.

Key words: poppy-cephid, genetic variation, genetic differentiation, Cephidae, Anatolia

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Fitofag Böcekler.....	3
1.2. Hymenoptera ve Symphyta.....	5
1.3. <i>Pachycephus symrnensis</i> (Cephidae) ve Konak Bitkileri	6
2.MATERYAL VE METOD	10
2.1 Örneklem Seçimi ve Hazırlanması.....	10
2.2. DNA Uygulamaları ve Analizleri	11
2.2.1. DNA izolasyonu.....	11
2.2.2. Mitokondriyal ve çekirdek DNA içerisinde ilgili gen bölgelerinin PZR ile çoğaltılması.....	12
2.2.3. 28s <i>rRNA</i> ve <i>COI</i> gen bölgelerine PZR ürünlerinin dizilenmesi ve hizalanması	15
2.3. Veri Analizi.....	16
2.3.1. Veri setlerinin hazırlanması	16
2.3.2. Genetik Çeşitlilik ve Gen Karakterizasyonu.....	17
2.3.3. 28s <i>rRNA</i> ve <i>COXI</i> veri setlerinin analizi.....	18
3.BULGULAR	19
3.1. Arazi Çalışması ve Örneklem	19
3.2. Genetik Çeşitlilik	19
3.2.1. <i>COI</i> mitokondri DNA belirteci.....	19
3.2.2. 28s <i>rRNA</i> çekirdek DNA belirteci.....	20
3.3. Coğrafik Genetik Yapılanma.....	21
3.4.Filogeni ve Filocoğrafya	29
3.4.1. Maksimum olasılık analizleri	29

3.4.2. Şebeke analizleri.....	32
4.TARTIŞMA.....	35
KAYNAKÇA.....	38
EKLER	44



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Pachycephus smyrnensis (http://v3.boldsystems.org)	7
Şekil 2 Papaver rhoeas (Gelincik) bitkisi (www.bitkilerevreni.com)	8
Şekil 3 Papaver somniferum (Haşhaş) bitkisi (www.hashas.gen.tr)	9
Şekil 4 Seçilen popülasyonların Anadolu dağılımı	11
Şekil 5 COI gen bölgesi amplifikasyon ürünleri (100 bp uzunluğunda DNA markırı kullanılmıştır.)	15
Şekil 6 28s rRNA gen bölgesi amplifikasyon ürünleri (100 bp uzunluğunda DNA markırı kullanılmıştır.)	15
Şekil 7 COI gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (π)	20
Şekil 8 28s rRNA gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (π)	21
Şekil 9 28s rRNA için ikili Fst değerleri kullanarak çizilen PCoA analizi	26
Şekil 10 COI için ikili Fst değerleri kullanarak çizilen PCoA analizi	27
Şekil 11 28s rRNA DNA belirteci bazlı ikili FST değerine karşın coğrafik uzaklık	28
Şekil 12 COI mitokondri DNA belirteci bazlı ikili FST değerine karşın coğrafik uzaklık	28
Şekil 13 28s rRNA haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli parametresi kullanılarak inşa edilmiştir.)	29
Şekil 14 28s rRNA haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendogramı	30
Şekil 15 Mitokondri haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli kullanılarak inşa edilmiştir.)	31
Şekil 16 Mitokodri haplotipleri arasında komşu bağlama (NJ) dendogramı	32
Şekil 17 MJ şebeke yönteminden elde edilen P.symrnensis 28s rRNA haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Dal uzunlukları mutasyon sayısı ile orantılıdır.	33
Şekil 18 MJ şebeke yönteminden elde edilen P.symrnensis mitokondri haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Dal uzunlukları mutasyon sayısı ile orantılıdır.	34

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Örneklem için seçilen popülasyonların lokalite bilgileri ve adlandırmaları	10
Tablo 2 Primer Çiftleri	13
Tablo 3 28s <i>rRNA</i> PZR koşulları.....	13
Tablo 4 <i>COI</i> PZR koşulları.....	14
Tablo 5 Yasal haşhaş ekim alanlarına göre gruplandırma.....	16
Tablo 6 Populasyonlar arası genetik farklılaşma düzeylerini gösteren 28s <i>rRNA</i> bazlı ikili FST değerleri [$p = 0,000 (+)$].....	22
Tablo 7 Populasyonlar arası genetik farklılaşma düzeylerini gösteren <i>COI</i> bazlı ikili FST değerleri [$p = 0,000 (+)$].....	24



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	:	Adenin
BSA	:	Sığır Serum Albumin
Bp	:	Baz çifti
C	:	Sitozin
COI	:	Sitokrom oksidaz 1
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
ECCUS	:	Cumhuriyet Üniversitesi Entomoloji Koleksiyonu
EDTA	:	Etilen diamintetra asetik asit
EtOH	:	Etanol
G	:	Guanin
Genbank	:	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
KCl	:	Potasyum klorür
MgCl₂	:	Magnezyum klorür
ml	:	Mililitre
NaCl	:	Sodyum Klorür
ND5	:	NA Dehidrogenaz alt ünite 5
ND6	:	NA Dehidrogenaz alt ünite 6
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı
sn	:	Saniye
T	:	Timin
TA	:	Bağlanma Sıcaklığı
Taq	:	<i>Thermus aquaticus</i>
TE	:	Tris-EDTA
Tm	:	Erime Sıcaklığı
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
µg/ml	:	Mikrogram/mililitre
%	:	Yüzde
°C	:	Santigrat derece

1.GİRİŞ

Arthropoda şubesinin önemli bir sınıfı olan Böcekler yeryüzünde bulunan hayvan türlerinin yaklaşık dörtte üçünü temsil etmektedir. Bugüne kadar yaklaşık 1.1 milyon üzerinde türü tanımlanmış olmakla birlikte, bu listeye sürekli olarak yeni türler de eklenmektedir. Evrimsel tarihleri boyunca geliştirdikleri farklı yaşam stratejilerinin sunmuş olduğu avantajlar nedeniyle kutuplardan okyanuslara kadar hemen her ekosistemde bulunabilirler. Böcekler yaşadıkları ekosistemin fiziksel özelliklerine uyum sağlamak amacıyla farklılaşmışlardır. Yükseklik, sıcaklık gibi çevresel etmenlere karşı gösterilen uyumsal özellikler böceklerin geliştirdikleri stratejilerdendir. Zamansal ve mekânsal nedenlerle çevresel koşullarda gerçekleşen değişimler böceklerin beslenme, üreme ve büyüme gibi performanslarında oldukça farklı etkilere sebep olur.

Böcekler kendi yaşam döngüleri içerisinde uygun bir konak bulmak zorundadırlar. Birçok ergin holometabol böcek yumurtalarını uygun bitkiler üzerine bırakmaktadır (Özgen ve Karsavuran, 2006). Bir böceğin barınma, beslenme ya da yumurtlama yeri olarak bir bitkiyi nasıl seçtiğine dair bilgiler, bu böceğin muhtelif bitkilerden gelen çeşitli uyarıcıların etkisi altında, hangi davranışları gösterdiğinin incelenmesiyle elde edilir. (Oğurlu, 2001).

Böceklerin canlı kalmaları için en iyi konakçıyı bulmaları ve tanımları gerekmektedir. Bazı böcek türleri, konak bitkilerinin uzağında yumurtalarını bıraktıklarından bu böcek türlerinin larvalarının konak bitkilerini bulmaları için çaba sarf etmeleri gerekmektedir. Dişi böcekler uygun konak bitkiyi seçse de larvalar çoğunlukla besin miktarının azaldığı yerden yeni bitkilere hareket etmektedirler. Bu bireyler konak bitkilerinin içeriklerindeki niteliği farklı bölümleri tespit etmektedirler (Özgen ve Karsavuran, 2006).

Böcekler bir bitkiyi renk ve ışık şiddeti, örtü türleri, trikomlar, dokunun kalınlığı gibi bazı morfolojik özellikler ve bitkinin ihtiva ettiği fotokimyasal maddeler, konak seçiminde ve tercihte etkili olan önemli faktörlerdendir (Oğurlu, 2001). Konak bitki seçiminde kullandıkları ilk özellik konağın rengi olup konaklarını ayırt etmede etkili olan renk bileşenleri ise; ton, doygunluk ve parlaklık ve ayrıca görünen objenin boyutlarına ve objenin şekline bağlıdır (Uzun ve Demirözer, 2016, Oğurlu, 2001). Aldığı görsel uyarıcılar, kimyasal uyarıcılarla birlikte etki ederek, böceğin konak

bitkiye oryantasyonunu sağlar. Uzun mesafeli oryantasyonlarda, böcek, objenin şeklini tanımak için görme duyusunu, bitki tarafından ortama salınan çekici maddeleri algılamak için de koklama duyusunu kullanır (Oğurlu, 2001). Çiçeklerin taç yapraklarında, açık renk tonlarının koyu tonlara göre cezbediciliğinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (Chiu & Wu, 1993). Yapılan çeşitli çalışmalarla, bazı tarım bitkilerinde genetik müdahale yoluyla yaprakların renkleri değiştirilmiş ve böylece zararlılara karşı dayanıklılık sağlanabilmiştir (Oğurlu, 2001).

Trikomlar bitkide böceğin beslenmesi ve üremesini engelleyen morfolojik savunma mekanizmalarındandır. Konak bitkinin kabulü sırasında ilk etapta böceğin karşısına çıkan engel, bitkinin çeşitli organlarını örten yüzeysel tüyler ve trikomlardır. (Oğurlu, 2001). Bu trikomlar genellikle böceğin bitkiyi konak olarak seçmesini engeller.

Bazı bitkilerin yaprakları, kuruma, hastalık ve böcek zararlılarına karşı epikütikülün üzerindeki yüzeysel mum tabakası tarafından korunur. Bitkideki mumlar, kimyasal yapıları itibariyle uzun zincirli yağ asitleri, alifatik alkollerin bağlanması ile oluşmuş esterler, alkanlar, birincil ve ikincil alkoller ve keton bileşikleri ihtiva eder. (Oğurlu, 2001, Özgen ve Karsavuran, 2006). Bazen şekerin ve aminoasitlerin az bir miktarının bitki yapraklarındaki mum içerisinden dışarı süzüldüğü gözlenmektedir. Birçok böceğin mumun kimyasal kompozisyonuna cevap verdiği bilinmektedir (Özgen ve Karsavuran, 2006). Mum kimyasallarının yaprak bitlerinin, bitki pirelerinin, çekirgelerin ve kelebek larvalarının üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Böcek bitkiye dokunduğu zaman bitkinin yüzeyindeki yüzey kimyasalları hakkında bilgi toplamaktadır. Genellikle böcekler bitkiye dokunur dokunmaz hareket etmektedir. Özellikle yaprak bitlerinde konak bitki seçim kararı büyük ölçüde konak bitkinin yüzey renklerine bağlıdır ancak stiletin sokulmasıyla bitki yüzeyinde meydana gelen bitki kimyasallarının oldukça önemli olduğu belirlenmiştir (Powell, 1999).Yaprak yüzey kimyasalları çekirgelerin konak bitki yaprağını tanımasını açısından önemlidir (Gangwere, 1989).

Bazı bitkilerin doku kalınlığı, aynı zamanda dayanıklılığının derecesini de gösterir. Epidermal hücrelerin artması sayesinde kalın bir bitki gövdesine sahip olan şeker kamışı, buğday, pirinç gibi bazı kültürler, gövde zararlısı olan böceklerin gövdeye girişini kısıtlar ya da tamamen engeller (Oğurlu, 2001).Kimyasal maddeler, böceğin dayanıklı konak bitkiye koku vasıtasıyla seçmesi sırasında uzaklaştırıcı olarak veya böcek dirençli bitkiyi tattığı zaman caydırıcı rol oynamak suretiyle beslenmeyi önleyici

yönde inhibitörler olarak iş görebilecekleri gibi, beslenmeyi uyarıcı phagostimulant yani böceği cezbeden besin kaynağı olarakta iş görürler. (Oğurlu, 2001, Özgen ve Karsavuran, 2006). Genel olarak aynı şekerler farklı böcek türleri için beslenme uyarıcı etki gösterir (Özgen ve Karsavuran, 2006).

1.1. Fitofag Böcekler

Böcekler yaşam döngülerini devam ettirebilmek için uygun bir konak bulmak zorundadırlar. Pekçok ergin holometabol böcek yumurtalarını larva gelişimi için uygun bitkiler üzerine bırakır. Yumurtadan çıkan larvalar yaşamlarını devam ettirmek için uygun konak bitkilerini bulmak zorundadırlar (Özgen ve Karsavuran, 2006). Fitofag böcekler otlar, meyveler, çalılar ve ağaçlarda dahil olmak üzere çeşitli bitkilerin gövdelerinde veya dallarında delikler açarak beslenirler.

Fitofag türlerden bazıları sadece bir bitki türü ile beslendiği (monofag) halde, bazıları birbirine yakın birkaç tür ile beslenir (oligofag); bazıları ise çok sayıda bitki türü ile beslenme (polifag) yeteneğine sahiptir. Monofaglık, oligofaglık ve polifaglık, fitofag böceklerin dışındakiler için de söz konusudur (Kansu ve Has, 1987). Monofag böcekler konak bitkilerine kesin bağlılık gösterirler bu sebeple gruba girenler yakın akraba bir bitki türüne aktarıldıklarında dahi ya besin alamadıkları için ölürler ya da besin almalarına rağmen gelişmelerini tamamlayamazlar.

Böcekler seçtikleri konak bitkiye göre özelleşebilirler. Özelleşme kelimesi hem bir duruma hem de bir sürece işaret edebilir. Özelleşme süreci, konak bitki olarak kullanılan bitki sayısını azaltarak giderek daha özel bir hale getirecektir. İki bitki türünü konak olarak kullanan bir böcek, örneğin birini kullanan bir böcekten daha az özelleşmiş, ancak üçünü kullanan bir böcekten daha çok özelleşmiştir (Janz ve ark., 2006).

Konak bitki seçimi için genetik çeşitlilik son zamanlarda çeşitli böceklerde belgelenmiştir. Konak bitki çeşitliliğinin genetik bileşeni, birçok *Drosophila* türünde bulunmuştur. Örneğin, *D. tripunctata*'nın laboratuvar çalışmaları izosoy suşları meyve ve mantar yemlerinde yakalanma olasılıklarında tutarlı bir şekilde farklılık gösterir. Bu tür davranışlar için genetik çeşitlilik *D. melonagaster*'de de rapor edilmiştir: Belirli bir meyve türünde yakalanan sineklerin yavrularının, bu tür meyvelerde yakalanma olasılıklarının ortalamanın üzerinde olma olasılığı yüksektir. Konak bitki özgülükte

genetik temelli varyasyonun ifade edilme olasılığı daha yüksektir. Kaynakların doğal dağılımında, konak bitki tepkisi için genetik çeşitlilik, özellikle ev sahibi kabul eşiği çok düşükse, bireyler, genotiplerinden bağımsız olarak karşılaşılan çoğu konakçıda yumurtlama açısından etkili olabilirler (Bernays ve Graham, 1988).

Bitkilerden beslenen böceklerin çoğu, sadece bir veya birkaç cins veya tek bir bitki ailesi veya alt familyada beslenen nispeten spesifiktir. Faunanın kapsamlı bir şekilde incelendiği ve belirli verilerin bulunduğu yerlerde, tüm fitofag böceklerin %10'unun üçten fazla farklı bitki familyasındaki bitkiler üzerinde beslendiği görülmektedir (Bernays ve Graham, 1988). Otçul böceklerin çeşitliliğinin uzun zamandan beri özel bitki beslemesinin doğrudan bir sonucu olduğu düşünülse de, özelleşmenin çeşitliliği etkileyebileceği mekanizmalar hala çok fazla tartışmaya konu olmaktadır. Simpatrik türleşmenin savunucuları, böceklerin belirli konakbitki türlerine özelleşmesinin, sonuçta türlerin gelişmesine yol açabilecek bir süreç olan böcek popülasyonlarının izole edilmesine hizmet ettiğini göstermektedir (Kelley ve ark., 2000).

Alternatif olarak, bir allopatrik modelde, belirli konak bitki türleri, farklı dağılımları herbivor popülasyonunu etkili bir şekilde böler ve popülasyonlar arasında gen akışı olasılığını azaltırsa genetik çeşitliliği etkileyebilir (Barton ve Charlesworth, 1984). Genetik sürüklenme veya sürüklenme ile yerel seçim baskılarının bir kombinasyonu, daha sonra popülasyonlar arasında genetik farklılaşma yaratır (Kelley ve ark., 2000). Genetik sürüklenme ile lokal seçim baskısının bir kombinasyonu, popülasyonlar arasında genetik farklılaşma yaratır. Buna göre, daha sınırlı bir diyet genişliğine (yani özelleşmeye) sahip olan herbivor böcek türlerinin, daha geniş bir diyet genişliğine sahip böcek türlerine göre genetik farklılaşmaya daha yatkın olacağı söylenebilir (Kelley ve ark., 2000).

Düşük dereceli konakçıların kabulü için genetik çeşitlilik, böceklerin konak bitkiye ulaşma olasılığına göre değişmektedir. Eğer böceklerin bir kaynağa ulaşma olasılığı artarsa genetik çeşitlilik azalırken, olasılık düştükçe genetik çeşitlilik artar. Örneğin, *Drosophila buzzatii*, en çok tercih edilen mayalarda yumurtlama için çok az genetik çeşitlilik sergilerken, alt sıradaki mayaların kabulünde önemli ölçüde daha fazla çeşitlilik gösterir. Benzer şekilde, iki *Papilio* kelebek türünde, yumurtlama davranışındaki gerginlikler arasındaki farklılıklar, en düşük dereceli konakçı türler için orantılı olarak en büyüktür (Bernays ve ark., 1988).

Bitki-böcek birlikteliğinin evrimi, büyük ölçüde bazı böcek gruplarında, ancak hepsinde değil, bitki kimyası tarafından yönlendirilir. Örneğin, yakın akraba kelebek türleri, taksonomik olarak uzak olsalar bile, genellikle kimyasal olarak benzer bitkiler kullanır. Papilionid kelebeklerin ve Ophraella yaprak böceklerinin ve konak bitkilerinin kladistik analizleri, bu böceklerin ve konak bitkilerinin kladistik olarak uyumlu olmasa da, kimyasal olarak benzer bitkiler arasında konakçı kaymalarının en muhtemel olduğunu ortaya koymuştur. Ek olarak, eklenen bitkiler genellikle kimyasal olarak benzer bitkiler üzerinde beslenen böcekler tarafından kolonize edilir; yoksul faunası olanlar biyokimyasal ya da taksonomik olarak olağandışı. Son olarak, ana belirlenmiş bir mesafede olan, böcek otoburlar ikincil kimyaya göre bitkiler arasında kendilerini dağıtmak için tespit edilmiştir. Bu nedenle, bitki kimyası, bir böcek türünün kullanabileceği bitki çeşitlerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar.

1.2. Hymenoptera ve Symphyta

Hymenoptera takımı böcek takımları arasında yaşam şekli ve tür çeşitliliği açısından ilk sırada yer alan takımlardandır. Bu takım çok farklı yaşam stratejilerine sahip gruplar içermesi sebebiyle ekosistemde anahtar görev üstlenen türlerden oluşmaktadır. Çiçekli bitkilerin tozlaşmasında rol alan polinatör türlerin büyük çoğunluğu ile birlikte, biyolojik mücadelede çok önemli bir rol üstlenen parazitoit ve predatör türler de bu takım içerisinde yer almaktadır. Ayrıca fitofag olan bazı türler ekonomik öneme sahip bitkileri konak olarak tercih ederek bu bitkilerde ekonomik açıdan farklı düzeylerde zararlara yol açmaktadır.(Smith, 2006, Çalmaşur, 2007, Korkmaz ve ark., 2010, Demirözer ve Karaca, 2011). Symphyta alttakımından olan fitofag türler, 14 familya ve yaklaşık 8.600 tür ile temsil edilir (Rasnitsyn, 1969, Gauld ve Bolton, 1988). Birçok böcek grubu ile karşılaştırıldığında bu alttakım küresel açıdan tür zenginliği daha azdır ancak (Taeger ve Blank, 2010); evrimsel, ekolojik ve tarımsal araştırmalardagelecek vadeden bir gruptur (Kouki ve ark., 1994, Viitasaari, 2002, Price ve ark., 2005, Craig ve Itami, 2008, Nyman, 2010, Budak ve ark., 2011). Cephidae Symphyta alttakımının bir üyesi olarak yavaş uçucu ve genellikle siyah ya da koyu renkli olup üç alt familya ve 165 tanımlanmış türle görece küçük bir familyadır. (Taeger ve Blank, 2011). Üç tribus, 20 cins ve 159 tür ile üyelerinin büyük bir çoğunluğu Cephidae altfamilyasına aittir. Cephidae altfamilyasına ait türlerin büyük bir çoğunluğu aynı zamanda ekonomik açıdan önemli zararlılar arasında yer almaktadır. Cephidae otlar, meyveler, çalılar ve ağaçlarda dahil olmak üzere çeşitli bitkilerin gövdelerinde veya dallarında delik açan ve

beslenen nispeten küçük bir fitofag Hymenoptera ailesidir (Shanower ve Hoelmer 2004). Yaşamlarının belirli aşamasında (yumurta bırakma ve larval aşama) Papaveraceae üyelerini tercih edenlere gelincik/haşhaş sap arıları (*Pachycephini tribusu*), buğday gibi kültüre edilen Poaceae üyelerinin büyük bir çoğunluğunu tercih eden üyelerine buğday sap arıları (*Cephini tribusu*) ve Rosacea, Fagacea ve Saliacaceae gibi odunsu ya da çalimsı üyeleri tercih edenlere filiz sap arıları (*Hartigini tribusu*) adı verilmektedir (Benson, 1968; Middlekauff, 1969; Korkmaz ve ark., 2010). Türkiye’de tanımlanmış tüm türleri 28 tür Cephinae altfamilyasına aittir. (Benson, 1968; Korkmaz ve ark., 2010; Budak, 2011).

1.3. *Pachycephus symrnensis* (Cephidae) ve Konak Bitkileri

Pachycephus smyrnensis (Stein 1876) *Pachycephini tribusunun* bir üyesidir. Bu tür gelincik (*Papaver rhoe*) ve haşhaş konak bitki olarak tercih ettiği için gelincik/haşhaş sap arısı olarak da adlandırılmakta ve ekonomik açıdan zarara yol açan bir tür olarak kabul edilmektedir (Scheibelreiter, 1978; Hardie ve Casella, 2004). Bu familya; ince bir integümenti, genellikle siyah ya da koyu rengin hakim olduğu abdomen yaygın bir şekilde gözlenen dar ve sarı bantlanmalarla karakterizedir (Şekil 2).

Yetişkinlere bitki örtüsü veya çiçeklerde rastlanır. Güneydoğu Avrupa ve çevresinde devamlı bir yayılış alanına sahiptir. Özellikle Türkiye, İsrail, Suriye, Kıbrıs, Balkanlar ve Transkafkasya’da yayılış sergilediği rapor edilmektedir (Benson, 1968). Ülkemizde haşhaş bitkisine zarar verme oranları %20 ile %100 oranında farklılık göstermektedir. Erginlerin uçuş ve yumurta bırakma dönemi konak bitkilerinin çiçeklenme periyodu ile doğrudan ilişkili olup ülkemizin batı bölgelerinde nisan ayı Orta Anadolu kesiminde mayıs ayında doğu kısımlarında ise Haziran ayı boyunca yayılış sergilemektedir.

Ülkemizde çok geniş bir yayılış gösteren bu türün çok farklı iklimsel ve ekolojik koşullar, besin kaynakları ve patojen istilaları gibi faktörlerden dolayı lokal çevrelere uyum sağladıkları bilinmektedir. Bu sebepten bu tarz geniş yayılış sergileyen türlerde gözlenen popülasyona özgü seçilim ya da lokal adaptasyon örüntüsü günümüz iklimsel değişim örüntülerine paralel olarak açığa çıkan küresel ısınma, koruma biyolojisi ve koruma genetiği gibi güncel alanlara katkı sağlayabilme potansiyelinde olmasının yanı sıra son zamanlarda önemli bir kavram haline gelen biyoçeşitliliğin tanımlanması ve korunması açısından oldukça önemlidir.



Şekil 1 *Pachycephus smyrnensis* (<http://v3.boldsystems.org>)

Papaveraceae (Gelincikgiller) familyası 50 cins ve 800 kadar tür içerir ve çoğu Kuzey Yarımkürede yayılır. Türkiye’de ise 6 cins ve 72 türü bulunur. Sıcak yerlerde ve Güney Yarımkürede ise ender bulunur. Tek veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Bazen soğanlı, ender olarak sarılıcı (sülük yaprakları (*Fumaria sp.*)) veya ağaççık ya da ağaç (*Bocconia*) olabilirler (Akman ve ark., 2007). *Papaver rhoeas* L. (Papaveraceae), genellikle mısır haşhaşı olarak bilinir ve Avrupa, Kuzey Afrika, Batı Asya ve Hindistan Yarımadası'nın çeşitli bölgelerinde bulunur (Grin, 2004, Gubruz ve ark., 2003, Nicholson ve ark., 1960). *P. rhoeas* en fazla 90 cm boyunda dik gövdeli bir otsu bitkidir (Şekil 3). Yaprakları değişken çoğunlukla pinnatifit veya pinnatisekt, segmentler dentat, uç segment lanseolat ve yan segmentlerden çok uzundur. Çiçek durumu nadiren beyazdır ve tabanı lekeli veya lekesiz olabilir. Genel olarak Mart ve Ağustos ayları çiçeklenme zamanıdır. Genellikle tarla içleri ve kenarlarında, çalılık içleri ve yol kenarlarında yayılış göstermektedir (Kaynak vd. 2005). *P. rhoeas* Türkiye’de yaygın olarak bulunmaktadır ve halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde öksürük şurubu, uykusuzluk çayı, sakinleştirici ve ağrı kesici olarak kullanılmaktadır (Tuzlacı ve Eryaşar Aymaz, 2001; Koçyiğit ve Özhatay, 2004; Ecevit Genç, ve Özhatay 2006; Tuzlacı, 2006).



Şekil 2 *Papaver rhoeas* (Gelincik) bitkisi (www.bitkilerevreni.com)

Papaver somniferum (Haşhaş) yıllık bir bitkidir ve çoğunlukla Hindistan, İran, Türkiye, Yugoslavya ve Japonya’da yetiştirilmektedir (Furuya ve ark., 1972). Haşhaş bitkisinin boyu iklim ve bakım şartlarına bağlı olarak 30 ile 170 cm arasında değişmektedir. Normal şartlarda ana kapsülün yerden yüksekliği dikkate alındığında bitkinin boyu 1m civarındadır. Yeterli nem ve sıcaklık şartları bulunması halinde 7-12 günde çimlenebilmektedir. Gelişme döneminde grimsi yeşil, olgunlaşma döneminde kahverengimsi sarı sap ve dallara sahiptir. Ülkemizde yarı karasal iklim bölgelerinde yetiştirilmektedir. Orta derecede alüvyal, kumlu ve humuslu topraklara iyi uyum sağlamıştır (Kadioğlu., 2007). Çiçekleri beyaz veya mor renkte olup tohumları beyaz veya kahverengi renktedir (Seçmen ve ark., 1989, Akman ve ark., 2007). Kapsülleri 5-6 cm çapında küre şeklindedir (Seçmen ve ark., 1989) (Şekil 4). *album* varyetesinin yeşil kapsüllerinden elde edilen süt, afyon ve alkoloit elde edilmesinde kullanılır. Ayrıca *nigrum* varyetesinin tohumlarından karanfil yağı çıkarılır. Birçok tür süs bitkisi olarak kullanılır (Akman ve ark., 2007). Haşhaşın tarımı Anadolu’da M.Ö 3000 yılından bu yana yapılmaktadır ve anavatanı Ön Asya’dır.

Afyon, Burdur, Isparta, Karaman, Amasya, Çorum, Tokat, Uşak, Denizli ve Kütahya illerinin tamamında, Ankara, Balıkesir, Eskişehir, Konya ve Manisa illerinin bazı ilçelerinde haşhaş tarımı yapılmaktadır (Koç ve ark., 2006). Tıp ve eczacılıkta çok kullanılan ve afyon adı verilen çeşitli alkaloidlerden (morfin, kodein, papaverin gibi) oluşan bir drog içerir. Aynı zamanda bu drog keyif verici madde olarak da kullanılır. Afyon, henüz olgunlaşmamış kapsüllerin çizilmesiyle ya da olgunlaşmış kapsüllerin işlenmesiyle elde edilir (Seçmen ve ark., 1989). Zamanla haşhaş kapsülünden elde

edilen afyon sakızı büyük bir önem kazanmıştır. Afyon ve afyon sakızından elde edilen diğer alkaloidler tıpta yatıştırıcı, ağrıları giderici olarak çok fazla kullanım alanına sahiptir. Tohumlarında bulunan %40–60 arasındaki yağı haşhaş yetiştirilen alanlarda önemli bir kullanım alanı bulmaktadır. Tohumlarındaki yağ yemeklik olarak tüketildiği gibi yarı kuruyan yağlardan olduğu için boyacılıkta, sabun sanayinde ve endüstrinin diğer kollarında da kullanılır (Koç ve ark., 2006). Afyon'un işlenmesi amacıyla Afyon-Boldavin'de bir alkaloid fabrikası kurularak morfin elde edilmeye başlanmıştır (Arslan ve ark., 2000, Seçmen ve ark., 1989). Afyon, keyif verici olarak kullanıldığında zararlı etkiler doğurduğundan, ekimi devlet denetimi altındadır (Seçmen ve ark., 1989).



Şekil 3 *Papaver somniferum* (Haşhaş) bitkisi (www.hashas.gen.tr)

Bu proje kapsamında *P. smyrnensis* türü populasyonları arasında konak bitki türünün yayılışına paralel olarak genetik açıdan bir farklılaşma olup olmadığı coğrafik genetiksel yaklaşımlar altında araştırıldı. Bu kapsamda, ülkemizde hem enlemsel ve boylamsal hem de konak bitki yayılışı göz önünde bulundurularak 37 farklı lokaliteyi temsilen toplamda 141 birey kullanıldı. *P. smyrnensis* populasyonlarının coğrafik genetiği, genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma örüntüleri birim zamandaki mutasyon oranı daha yüksek ve doğrudan enerji metabolizması ile ilgili olan mitokondriyal genoma ait sitokrom oksidaz I (*COI*) ve birim zamandaki mutasyon oranı daha düşük olan çekirdek genoma ait 28S ribosomal DNA geninin (*28S rDNA*) dizi bilgileri açığa çıkarılarak yukarıda değinilen yaklaşımlar altında kapsamlı bir şekilde araştırıldı.

2.MATERYAL VE METOD

2.1 Örneklem Seçimi ve Hazırlanması

Proje kapsamında örnekler Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Entomoloji Koleksiyonu (ECCUS) bünyesinde % 99'luk etanol içerisinde -20 °C'de saklanan *P. smyrnensis* türüne ait bireyler seçilmiştir. Örneklem aşamasında 38 populasyon gruplandırılarak seçilmiştir (Tablo 1). Populasyonlar yükseklik değerleri ve Türkiye üzerinde dağılımına dikkat edilerek belirlenmiştir. Populasyon başına düşen birey sayısı değişkenlik göstermekle beraber ortalama birey sayısı 5 olarak belirlenmiştir.

Tablo 1 Örneklem için seçilen populasyonların lokalite bilgileri ve adlandırmaları

Lokalite	Top. Birey	Enlem	Boylam	Yükseklik (m)	ECCUS NO
Pop1	2	40.49100	30.34337	223	16
Pop 2	1	38.04141	30.09654	922	264
Pop3	5	37.87732	29.81823	852	259
Pop4	5	40.88376	35.63136	593	757
Pop5	5	40.15799	31.41467	679	762
Pop 6	5	39.57601	31.95960	692	770
Pop7	5	37.92744	27.76176	165	282
Pop8	1	40.10034	28.14104	22	24
Pop9	5	39.75180	27.53291	219	261
Pop10	5	39.58154	28.34424	513	272
Pop11	1	40.37569	40.35323	1457	61
Pop12	5	40.24379	30.13493	174	21
Pop13	1	40.74693	31.73625	256	761
Pop14	3	40.42699	31.98672	837	747
Pop15	5	39.67610	29.10681	608	281
Pop16	2	40.37221	26.44635	85	25
Pop17	5	38.04988	29.43739	772	277
Pop18	5	37.82863	29.58019	836	257
Pop19	5	39.85095	38.75491	1663	78
Pop20	5	39.52003	31.61076	888	781
Pop21	4	40.19974	39.66145	1560	59
Pop22	5	37.89446	30.40294	914	256
Pop23	3	38.09259	27.70900	111	266
Pop24	3	40.99252	32.59058	627	769
Pop25	5	41.36432	33.73647	1005	765
Pop26	5	41.00154	34.02910	813	756

Pop27	4	39.94215	33.89876	722	754
Pop28	5	38.51481	28.33976	205	258
Pop29	5	36.23121	33.73078	58	798
Pop30	5	41.32990	35.13909	225	774
Pop31	2	40.91375	35.63762	635	777
Pop32	3	40.04550	38.66737	1364	56
Pop33	1	39.88637	38.05752	1602	81
Pop34	1	39.86880	36.60100	1362	268
Pop35	5	39.70613	37.01628	1281	43
Pop36	3	40.34230	36.02627	568	746
Pop37	1	39.68486	35.63135	1239	782
Pop38	5	39.65716	34.53173	887	768



Şekil 4 Seçilen popülasyonların Anadolu dağılımı

2.2. DNA Uygulamaları ve Analizleri

2.2.1. DNA izolasyonu

Her bireyin sağ bacak seti kullanılarak tuzla çöktürme yöntemi (salting out) ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Alkolde saklanan örnekler her biri beşer dakika olmak

üzere iki kez distile sudan (dH₂O) geçirilerek bir gün kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlanan örnekler mikrosantrifüj tüplerine aktarılarak ezme işlemini kolaylaştırmak amacıyla bir gece -80°C’de bekletilmiştir. -80°C’den çıkarılan örnekler demir pesil yardımı ile ezilerek DNA izolasyonuna hazır hale getirilmiştir. Mekanik ezme işlemi sonrasında, örnek 400 µl TNE tamponu (0,4 M NaCl (Sodyum Klorür), 10 mM Tris-Cl (pH:8), ve 2 mM EDTA (pH:8.0)) eklenerek 10-15 saniye homojenize edilmiştir. Daha sonra 40 µl %20’lik SDS ve 8 µl 20 mg/ml proteinaz K eklenerek karıştırılır. Lizat 37°C’de belirli aralıklarla karıştırmak üzere gece boyu inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan çıkarılan lizat 10.000 g’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant yeni bir tüpe aktarılır ve üzerine 0,1 hacim sodyum asetat (pH:5,2) eklenerek 10-15 saniye vortekslenerek iyice karışması sağlanır. Tüpler -20°C’de 20 dakika bekletilir. -20°C’den çıkarılan örnekler 4°C’de 20 dk 16,0000 x g hızda santrifüj edilir. Süpernatant yeni bir tüpe alınarak üzerine iki hacim %98’lik soğuk etanol eklenir. Yavaşça alt üst edilerek tekrar -20°C’de 15 dakika bekletilir. 4°C’de 20 dk 16,0000 g hızda santrifüj edilir. Süpernatant dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır ve pelet üzerine %70’lik soğuk etanol eklenir. 16,0000 g hızda 4°C’de 6 dakika tekrar santrifüj edilir ve alkol uzaklaştırılır. Kısa çöktürme yapılarak kalan alkol mikropipet yardımıyla uzaklaştırılır ve örnekler oda sıcaklığında kurutulularak 50 µl 1X TE (10 mM Tris-HCl pH: 8,0; 1 mM EDTA pH: 8,0) tamponunda çözülmüştür. İzole edilen DNA örneklerinin kalitesi nanodrop cihazında ölçülmüştür. İzole edilen DNA örnekleri daha sonra PZR işleminde kullanılmak üzere -20 °C’ye kaldırılmıştır.

2.2.2. Mitokondriyal ve çekirdek DNA gen bölgelerinin PZR ile çoğaltılması

Total genomik DNA izolasyonu ve kalite tayini sonrasında her birey için mitokondriyal ve çekirdek genomuna ait gen bölgeleri amplifikasyon aşamaları için seçilmiştir. Çekirdek genomu amplifikasyonu için 700 baz çifti uzunluğunda 28s *rRNA*’nın D2 bölgesi ve mitokondriyal genom için *ND5* ve *ND6* gen bölgeleri seçilmiştir. Ancak uyumsuz primer çiftleri sebebiyle bu gen bölgeleri çoğaltılamamıştır. Mitokondriyal genom için *COI* gen bölgesi seçilmiştir.

28s *rRNA* ve *COI* gen bölgeleri amplifikasyonu için tablo 1de belirtilen D2-R2 ve RHOF1-LCO2193 primer çiftleri seçilmiştir. 28s *rRNA* gen bölgesi için primer çifti Schmidt (2005) makalesinden referans alınarak seçilmiştir. *COI* gen bölgesi için seçilen primer çifti BLAST taraması ile seçilmiştir.

ND5 ve *ND6* gen bölgeleri için *Genbank* veritabanında kayıtlı olan *P.smyrnensis* türünün mitokondri genomu kullanılarak Primer-BLAST programı ile tasarlanmıştır. Ancak *ND5* ve *ND6* gen bölgeleri için tasarlanan primerler çalıştırılmamıştır. Tasarlanan primer çifti Tablo 2de belirtilmiştir.

Tablo 2 Primer Çiftleri

Primer Adı	Baz Dizisi	Uzunluk (bp)	GC içeriği (%)
ND5F	AAT CAC CCC AAT ATC TTC AAT A	22	32
ND5R	AGG GTG GGA TGG ATT AGG T	19	53
ND6F	CAAAGTAGGAATTAAGCTAGCT	22	32
ND6R	CCT AGT AAT GAT CCA AAA TTT C	22	32
D2F	CGTGTTGCTTGATAGTGCAGC	21	61,2
D2R	TTGGTCCGTGTTTCAAGACGG	21	61,2
RHOF1	TTTATTATAATTTTYTTYATAGTWATACC	29	10-17
HCO21 98	CAGGAAACAGCTATGACTAAACTTCAGGGTG ACCAAAAATCA	43	40

Reaksiyon ortamı son hacim 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon hacminin içeriğine 0,5 U *Taq* DNA polimeraz, 5 µl 10X PZR tamponu (100 mM Tris-HCl pH 8,8; 500 mM KCl; % 0,8 Nonidet P-40), 2,5 mM dNTP, 2,5 mM MgCl₂, %1 Triton X, 4mg/ml BSA(Bovine Serum Albumine) ve 100 ng kalıp DNA eklenmiştir. PZR işlemi BIO-RAD T100 Thermo-Cycler cihazında Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterilen koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

Seçilen gen bölgelerinin *in vitro* çoğaltılması öncesinde primer çiftlerinin absorbans-sıcaklık eğrilerinin orta noktası olan erime sıcaklığı (*T_m*) değerleri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$T_m = 69,3 \text{ oC} + 0,41(\% G + C) - 650/\text{Primer Uzunluğu}$$

Hesaplama sonucunda primerlerin *T_m* değerleri şunlardır;

D2-R2; 59,83

Tablo 3 28s rRNA PCR koşulları

Reaksiyon Basamakları	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
-----------------------	----------	------	--------------

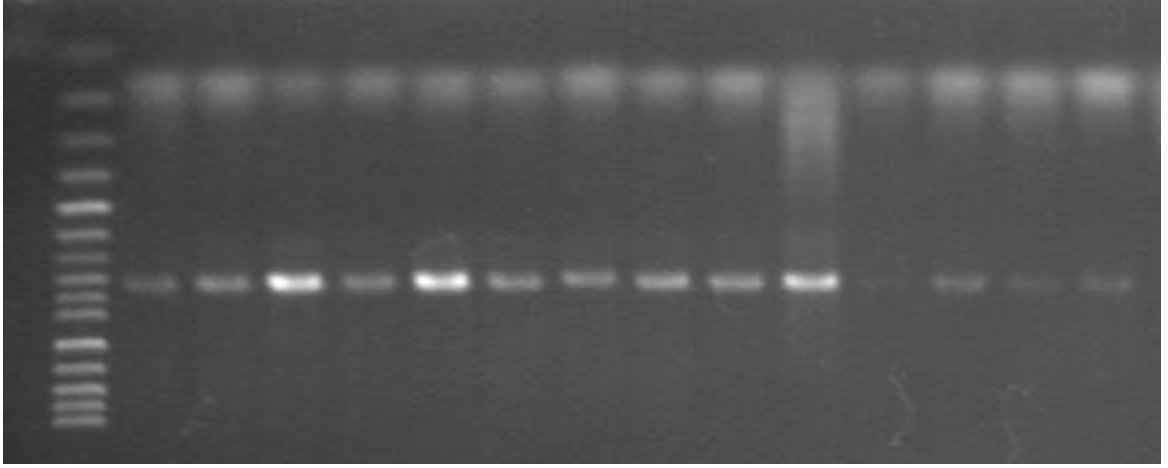
Başlangıç Denatürasyonu	95	5 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	35
Primer Bağlama	60	1 dk	
Uzama	72	1,30 dk	
Son Uzama	72	7 dk	1

RHOF1-HCO2198; 45

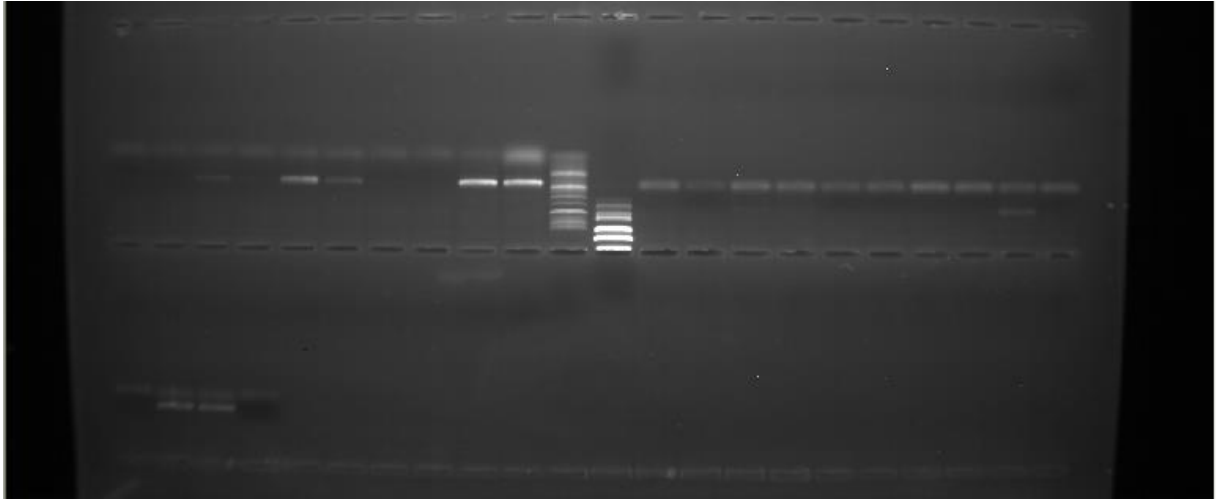
Tablo 4 *COI* PCR koşulları

Reaksiyon Basamakları	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	5 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	35
Primer Bağlama	45	30 sn	
Uzama	72	45 sn	
Son Uzama	72	10 dk	1

28s *rRNA* ve *COI* gen bölgelerinin PZR sonuçları %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek, amplifikasyon sonrası istenilen büyüklük ve saflıkta olup olmadığı kontrol edilmiştir (Şekil 5 ve 6).



Şekil 5 *COI* gen bölgesi amplifikasyon ürünleri (100 bp uzunluğunda DNA markırı kullanılmıştır.)



Şekil 6 *28s rRNA* gen bölgesi amplifikasyon ürünleri (100 bp uzunluğunda DNA markırı kullanılmıştır.)

2.2.3. *28s rRNA* ve *COI* gen bölgelerine PZR ürünlerinin dizilenmesi ve hizalanması

Amplifikasyon işlemi tamamlanan PZR ürünlerinin dizilenmesi işlemleri çift yönlü ve hizmet alımı yolu ile gerçekleştirilmiştir. Dizileme reaksiyonları sonrasında DNA fragmanlarının hizalama aşamaları, ileri ve geri yönlü nükleotid dizileri Codon Code Aligner 3.5.6 (Ewing ve ark., 1998) programı kullanılarak gözle kontrol edilerek gerçekleştirilmiştir.

Çakıştırılan ve gözle kontrol edilen DNA dizileri MEGA v 7,0 (Tamura ve ark., 2007) aktarılarak çoklu hizalamaları tamamlanmıştır.

2.3. Veri Analizi

2.3.1. Veri setlerinin hazırlanması

28s *rRNA* ve *COI* gen setlerine ait hizalama işlemleri tamamlandıktan sonra gen bölgesine ait nükleotid dizileri NEXUS ve PHYLIP dosya uzantılı formatlarda kaydedilerek analizlerde kullanılmak üzere bilgisayar ortamında saklanmıştır. DNAsP programı aracılığı ile veri setleri ARLEQUIN, NEXUS ve PHYLIP formatında kaydedilerek bilgisayar ortamında saklanmıştır. Anadolu’da yasal haşhaş ekim alanları Batı Anadolu yoğunluklu olmak üzere İç Anadolu’nun Batı Anadolu’ya yakın kısımlarında bulunmaktadır. Tablo 5’te batı doğu yönünde yasal haşhaş ekim alanlarına göre renklerle gruplandırılmış populasyonlar gösterilmiştir. Grup 1 haşhaşın yasal olarak ekiminin yapıldığı yerler, Grup 2 haşhaş ekiminin bazı bölgelerinde yasal olduğu yerler, Grup 3 ise haşhaş ekiminin yasal olmadığı bölgeleri göstermektedir.

Tablo 5 Yasal haşhaş ekim alanlarına göre gruplandırma

Populasyon Adı	Lokalite	Grup Adı
Pop2	Afyon	Grup 1
Pop3	Afyon	
Pop7	Aydın	
Pop8	Balıkesir	
Pop9	Balıkesir	
Pop10	Balıkesir	
Pop15	Bursa	
Pop16	Çanakkale	
Pop17	Denizli	
Pop18	Denizli	
Pop22	Isparta	
Pop23	İzmir	
Pop28	Manisa	
Pop 29	Manisa	
Pop1	Sakarya	Grup 2
Pop5	Ankara	
Pop6	Ankara	

Pop12	Bilecik	Grup2
Pop13	Bolu	
Pop14	Bolu	
Pop20	Eskişehir	
Pop24	Karabük	
Pop25	Kastamonu	
Pop26	Kastamonu	
Pop27	Kırıkkale	
Pop4	Amasya	Grup3
Pop11	Bayburt	
Pop19	Erzincan	
Pop21	Gümüşhane	
Pop30	Samsun	
Pop31	Samsun	
Pop32	Sivas	
Pop33	Sivas	
Pop34	Sivas	
Pop35	Sivas	
Pop36	Tokat	
Pop37	Tokat	
Pop38	Yozgat	

2.3.2. Genetik Çeşitlilik ve Gen Karakterizasyonu

Çalışma kapsamında Anadolu populasyonlarının genetik yapısının ve evrimsel hikayelerinin değerlendirilmesi amacıyla seçilen gen bölgelerinden çekirdek DNA'ya ait kodlama yapmayan *28s rRNA* gen bölgesi doğrudan populasyon genetiği, filogenetik ve filocoğrafik analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla analizlere dahil edilmiştir. Diğer taraftan bir diğer moleküler belirteç olarak seçilen mitokondri DNA'sına ait kodlama yapan *COI* gen bölgesi ise bu analizlere dahil edilmeden hemen önce populasyonlara ait dizilerin karakterizasyonu amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla *COI* dizisinin moleküler karakterizasyonu hem nükleotid hem de aminoasit düzeyinde gerçekleştirilmiştir. İlgili gen bölgesinin psödogen olup olmadığı, nükleotid kompozisyonu, nükleotid yerdeğişim

tipleri ve aminoasit kompozisyonları DnaSP v5.0 (Librado ve Rozans, 2009) ve MEGA v7.0 programları aracılığıyla analiz edilmiştir

2.3.3. 28s rRNA ve COI veri setlerinin analizi

DnaSP v.5 ve ARLEQUIN 3.11 programları kullanılarak populasyon içi ve populasyonlar arası nükleotid çeşitliliği (π), haplotip çeşitliliği (h), özgün haplotiplerin sayısı ve nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (k) hem 28s rRNA hem de COI gen bölgeleri için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Populasyonlar arasında genetik ilişkinin görsel gösterimini oluşturmak için Genalex 6.3. paket programında (Peakall ve Smouse, 2006) ikili θ_{ST} ve F_{ST} değerlerini kullanarak temel bileşen analizleri (PCA) uygulanmıştır. Populasyonları oluşturan bireylerin her iki DNA belirteciine ait nükleotid dizilerine dayandırılarak bireyler arası soy hattı ilişkisini araştırmak için ortanca-bağlama (medianing-joining MJ) şebeke yaklaşımı (Bandelt ve ark., 1995, 1999) Network v.5.0 (<http://www.fluxus-engineering.com>) programına başvurularak gerçekleştirilmiştir.

3.BULGULAR

3.1. Arazi Çalışması ve Örneklem

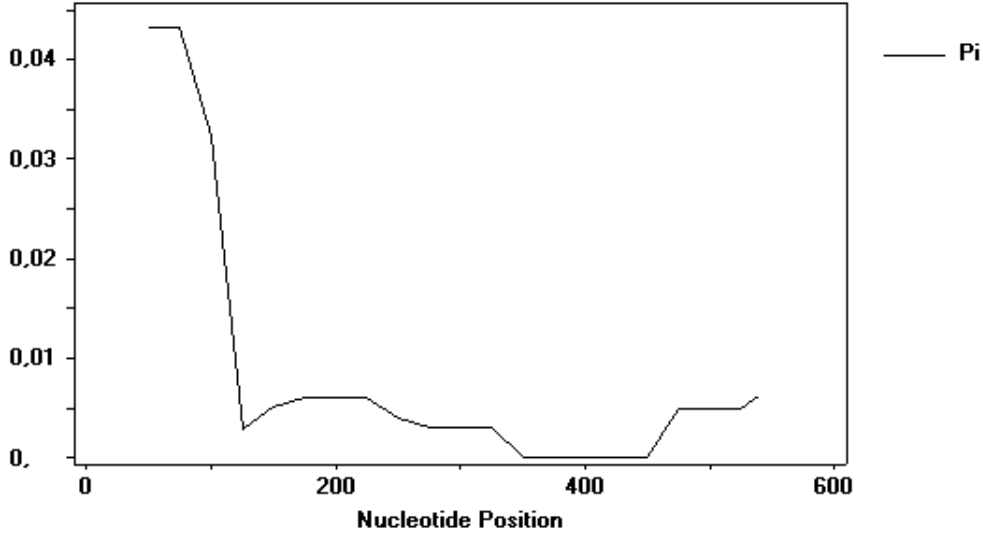
Daha önce yapılan arazi çalışmalarından uygun olan örnekler seçilerek örneklem oluşturulmuştur. Seçilen örneklerin etiketlenmesinde populasyon kod numarası ve o populasyona ait bireyi ifade eden alfabetik sıraya uygun harf sırası dikkate alınmıştır. (Örneğin; Pop 3b veya 5d gibi. Burada 1 ve 5 populasyonun kod numarası ve b veya d ilgili populasyonun 2. ve 4. bireyi anlamına gelmektedir.)

3.2. Genetik Çeşitlilik

3.2.1. *COI* mitokondri DNA belirteci

DNA izolasyonu, çoğaltım, dizileme ve hizalama uygulamaları sonucunda *COI* gen bölgesi açısından toplamda 37 populasyona ait 69 bireyde konsensus dizisi elde edilmiş ve analizler bu nükleotid dizileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen mitokondri DNA dizilerinin her kromotogramda tekli piklere sahip oldukları, insersiyon ve delesyon (in-del) bölgeleri içermedikleri, dizi içerisinde rastgele stop kodonlar bulundurmadıkları gözlenmiştir. Hizalama çalışmaları sonucunda 578 bp olduğu saptanmıştır. Tüm bu bulgular ışığında analiz edilen nükleotid dizisinin fonksiyonel bir mitokondri gen bölgesi olduğu söylenebilir.

Analiz edilen *COI* mitokondri gen bölgesinin haplotip çeşitliliği yüksek olup ($Hd = 0,874 \pm 0.018$) 11 farklı haplotip içermektedir. Bu aşamada haplotiplerin kodlanmasında "Hap_..." kodlaması tercih edilmiştir. Bu haplotipler Ek 1'de verilmiş ve haplotiplerin populasyonlarda dağılımları ise Ek 2'de gösterilmiştir. Sekanslar arasındaki nükleotid çeşitliliği $\theta_{TT} = 0,0099$ ve ikili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı $k = 5,72$ olarak belirlenmiştir. Baz başına nükleotid çeşitliliğini gösteren grafik incelendiği zaman nükleotid değişiminin en fazla 1-128. pozisyonlar arasında olduğu ve dizinin en korunmuş bölgesi ise 350.- 453. baz pozisyonları arasında yer almıştır (Şekil 7). Ortalama nükleotid yüzdesi toplamda sırasıyla A = 29,3, T = 39,2, G = 13,6, C = 17,8 bulunmuştur.

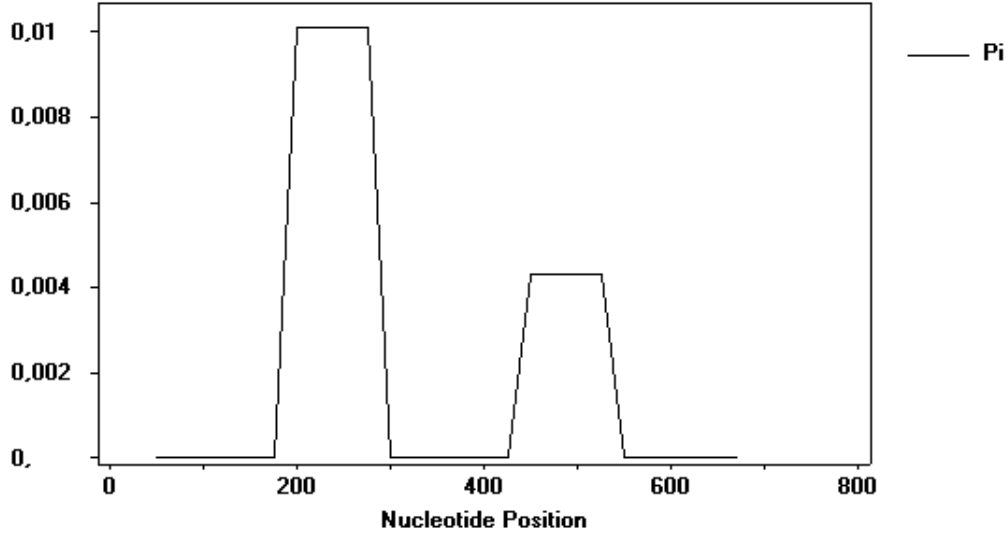


Şekil 7 COI gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (π)

3.2.2. 28s rRNA çekirdek DNA belirteci

DNA izolasyonu, çoğaltım, dizileme ve hizalama uygulamaları sonucunda 28s rRNA gen bölgesi açısından toplamda 38 popülasyona ait 76 bireyde konsensus dizisi elde edilmiş ve analizler bu nükleotid dizileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen çekirdek DNA dizilerinin her kromotogramda tekli piklere sahip oldukları, insersiyon ve delesyon (in-del) bölgeleri içermedikleri, dizi içerisinde rastgele stop kodonlar bulundurmadıkları gözlenmiştir. Dizi hizalama çalışmaları sonucunda 716 bp olduğu saptanmıştır. Tüm bu bulgular ışığında analiz edilen nükleotid dizisinin fonksiyonel bir çekirdek gen bölgesi olduğu söylenebilir.

Analiz edilen 28s rRNA bölgesinin haplotip çeşitliliği düşük olup ($Hd = 0,714 \pm 0.027$) 4 farklı haplotip içermektedir. Bu aşamada haplotiplerin kodlanmasında “Hap_...” kodlaması tercih edilmiştir. Bu haplotipler Ek 3’te verilmiş ve haplotiplerin popülasyonlarda dağılımları ise Ek 4’te gösterilmiştir. Sekanslar arasındaki nükleotid çeşitliliği $\theta_{TT} = 0,002$ ve ikili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı $k = 1,439$ olarak belirlenmiştir. Baz başına nükleotid çeşitliliğini gösteren grafik incelendiği zaman nükleotid değişiminin en fazla 186 – 300. ile 415- 520 .pozisyonlar arasında olduğu ve dizinin en korunmuş bölgesi ise 1-186., ile 300 – 415. ve 415-716. baz pozisyonları arasında yer almıştır (Şekil 8). Ortalama nükleotid yüzdesi toplamda sırasıyla A = 19,4, T = 19,5, G = 31,9, C = 29,1 bulunmuştur.



Şekil 8 28s rRNA gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (π).

3.3. Coğrafik Genetik Yapılanma

Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerinin belirlenebilmesi amacıyla ikili *FST* indekslerinden yararlanılmıştır. *28s rRNA* belirteci bazında ikili *FST* değerleri populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın bariz bir biçimde düşük olduğuna işaret eder (Tablo 6). *FST* değerleri 0.01 ile 0.04 arasında değişiklik göstermektedir. Değerlerin düşük olması sebebiyle çok büyük bir anlam ifade etmemektedir. *COI* mitokondri belirteci bazında ikili *FST* değerleri populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın bariz bir biçimde düşük olduğuna işaret eder. (Tablo 7). *FST* değerleri 0.000 ile 0.019 arasında değişiklik göstermektedir. Değerlerin düşük olması sebebiyle çok büyük bir anlam ifade etmemektedir.

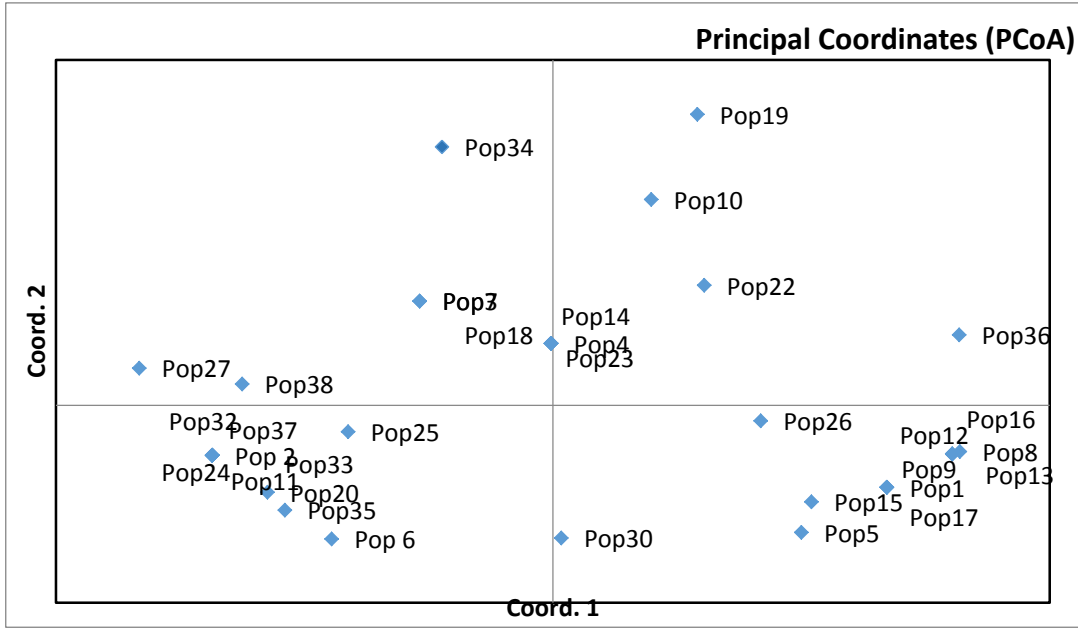
33	0,003	0,000	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,003	0,003	0,003	0,000	0,003	0,003	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004
34	0,004	0,001	0,001	0,002	0,003	0,002	0,001	0,004	0,004	0,002	0,001	0,004	0,004	0,002	0,003	0,004	0,004	0,002	0,003
35	0,003	0,000	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,003	0,003	0,003	0,000	0,003	0,003	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004
36	0,001	0,004	0,003	0,002	0,002	0,003	0,003	0,001	0,001	0,002	0,004	0,001	0,001	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002	0,001
37	0,003	0,000	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,003	0,003	0,003	0,000	0,003	0,003	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004
38	0,004	0,001	0,002	0,002	0,003	0,002	0,002	0,004	0,004	0,003	0,001	0,004	0,004	0,002	0,003	0,004	0,004	0,002	0,004

20	0,000														
22	0,003	0,000													
23	0,002	0,002	0,000												
24	0,000	0,003	0,002	0,000											
25	0,001	0,002	0,002	0,001	0,000										
26	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000									
27	0,001	0,003	0,002	0,001	0,002	0,003	0,000								
30	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,000							
32	0,000	0,003	0,002	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000						
33	0,000	0,003	0,002	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000					
34	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,003	0,001	0,003	0,001	0,001	0,000				
35	0,000	0,003	0,002	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000			
36	0,004	0,002	0,002	0,004	0,003	0,002	0,004	0,002	0,004	0,004	0,004	0,004	0,000		
37	0,000	0,003	0,002	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000	0,004	0,000	
38	0,001	0,003	0,002	0,001	0,002	0,003	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,004	0,001	0,000

30	0,012	0,010	0,007	0,010	0,009	0,007	0,008	0,010	0,010	0,011	0,007	0,007	0,010	0,010	0,010	0,011	0,011	0,009	0,010	0,010
31	0,005	0,018	0,012	0,007	0,011	0,012	0,010	0,007	0,015	0,003	0,012	0,012	0,007	0,007	0,007	0,003	0,009	0,011	0,014	0,018
32	0,004	0,016	0,014	0,002	0,005	0,014	0,008	0,002	0,017	0,005	0,014	0,014	0,002	0,001	0,006	0,005	0,011	0,012	0,011	0,016
33	0,015	0,005	0,000	0,016	0,012	0,000	0,008	0,016	0,003	0,012	0,000	0,000	0,016	0,015	0,011	0,012	0,008	0,006	0,008	0,005
34	0,015	0,005	0,000	0,016	0,012	0,000	0,008	0,016	0,003	0,012	0,000	0,000	0,016	0,015	0,011	0,012	0,008	0,006	0,008	0,005
35	0,010	0,012	0,007	0,012	0,012	0,007	0,010	0,012	0,010	0,009	0,007	0,007	0,012	0,011	0,009	0,009	0,009	0,009	0,012	0,012
36	0,005	0,018	0,014	0,005	0,009	0,014	0,010	0,005	0,017	0,005	0,014	0,014	0,005	0,005	0,007	0,005	0,011	0,012	0,013	0,018
37	0,004	0,018	0,016	0,000	0,005	0,016	0,008	0,000	0,019	0,003	0,016	0,016	0,000	0,002	0,007	0,003	0,011	0,012	0,012	0,018
38	0,016	0,006	0,003	0,015	0,010	0,003	0,009	0,015	0,006	0,016	0,003	0,003	0,015	0,014	0,012	0,016	0,011	0,009	0,009	0,006

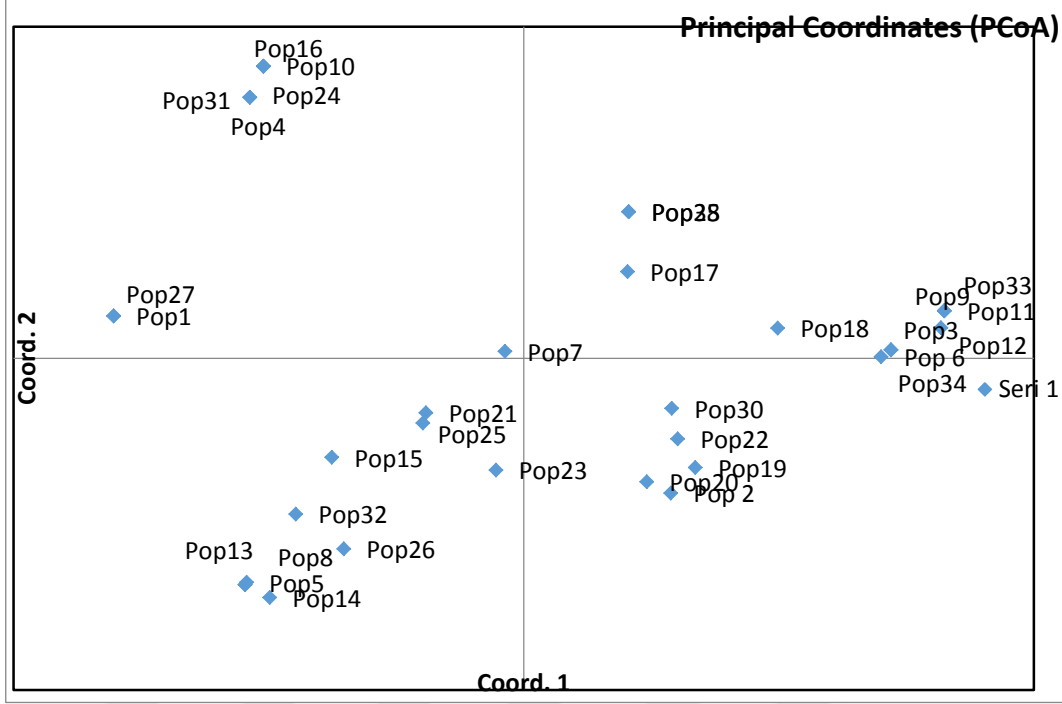
25	0,010	0,000																		
26	0,011	0,010	0,000																	
27	0,004	0,009	0,011	0,000																
28	0,009	0,011	0,013	0,010	0,000															
30	0,011	0,011	0,010	0,012	0,011	0,000														
31	0,003	0,010	0,013	0,005	0,008	0,012	0,000													
32	0,005	0,007	0,008	0,004	0,011	0,009	0,007	0,000												
33	0,012	0,012	0,011	0,015	0,007	0,007	0,012	0,014	0,000											
34	0,012	0,012	0,011	0,015	0,007	0,007	0,012	0,014	0,000	0,000										
35	0,009	0,011	0,013	0,010	0,007	0,011	0,008	0,011	0,007	0,007	0,000									
36	0,005	0,009	0,011	0,005	0,010	0,012	0,005	0,005	0,014	0,014	0,010	0,000								
37	0,003	0,009	0,008	0,004	0,012	0,010	0,007	0,002	0,016	0,016	0,012	0,005	0,000							
38	0,016	0,012	0,010	0,016	0,011	0,007	0,016	0,013	0,003	0,003	0,011	0,015	0,015	0,000						

28s *rRNA* belirtecine dayalı populasyonlarda gözlenen ikili F_{ST} ve farklılaşma düzeyleri temel bileşen analizlerinde PC1 oranı %52,18 PC2 oranı %21,10'dur. Temel bileşenlerin ilk iki eksenini toplam genetik varyasyonun %72,18'ini açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. Eksenlerin (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı %64,15, 2. ve 3. Eksenlerin (PC2 ve PC3) sergilediği toplam varyasyon oranı ise %33,07 olarak gözlenmiştir. Populasyon 2, 6, 11, 20, 25, 32, 33, 35, 37 ve populasyon 1, 5, 8, 9, 12, 13, 15, 16, 17,16 birlikte kümelenmiştir. Kalan populasyonlar homojen bir dağılım göstermektedir. (Şekil 9)



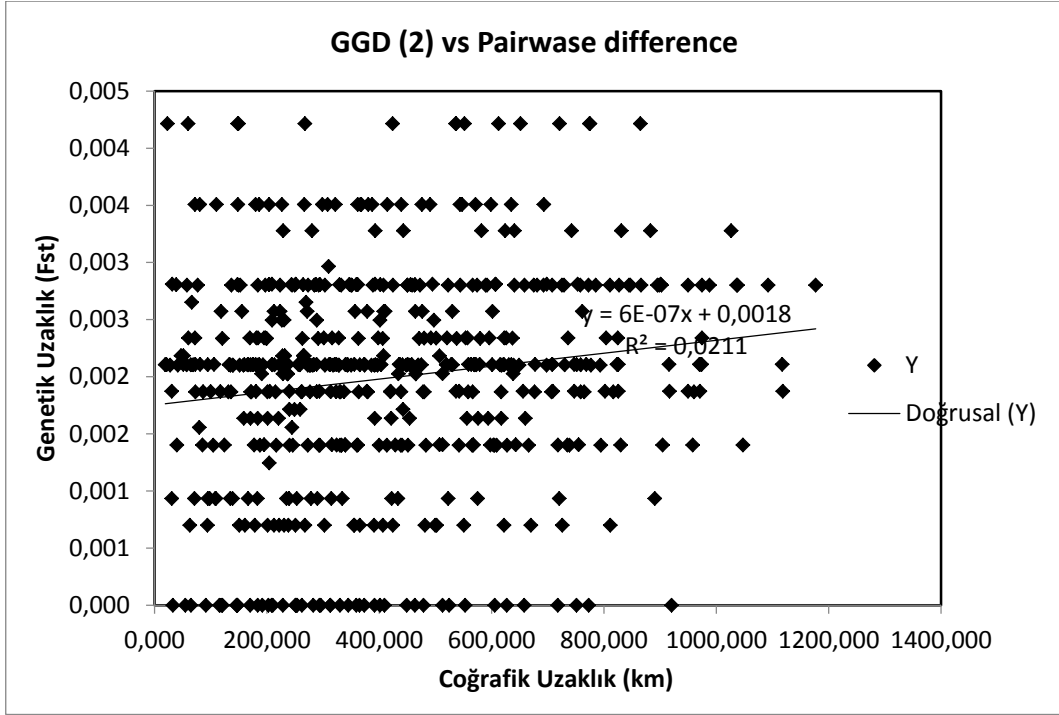
Şekil 9 28s *rRNA* için ikili F_{ST} değerleri kullanarak çizilen PCoA analizi

COI mitokondri belirtecine dayalı populasyonlarda gözlenen ikili F_{ST} ve farklılaşma düzeyleri temel bileşen analizlerinde PC1 oranı %42,23 PC2 oranı %15,64'tür. Temel bileşenlerin ilk iki eksenini toplam genetik varyasyonun %57,87'sini açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. eksenlerin (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı %57,87 2. ve 3. eksenlerin (PC2 ve PC3) sergilediği toplam varyasyon oranı ise %38,67 olarak gözlenmiştir. Populasyon 3, 6, 9, 11, 12, 33, 34 bir kümelenme eğilimi gösterirken kalan populasyonlar dağılım göstermektedir (Şekil 10).

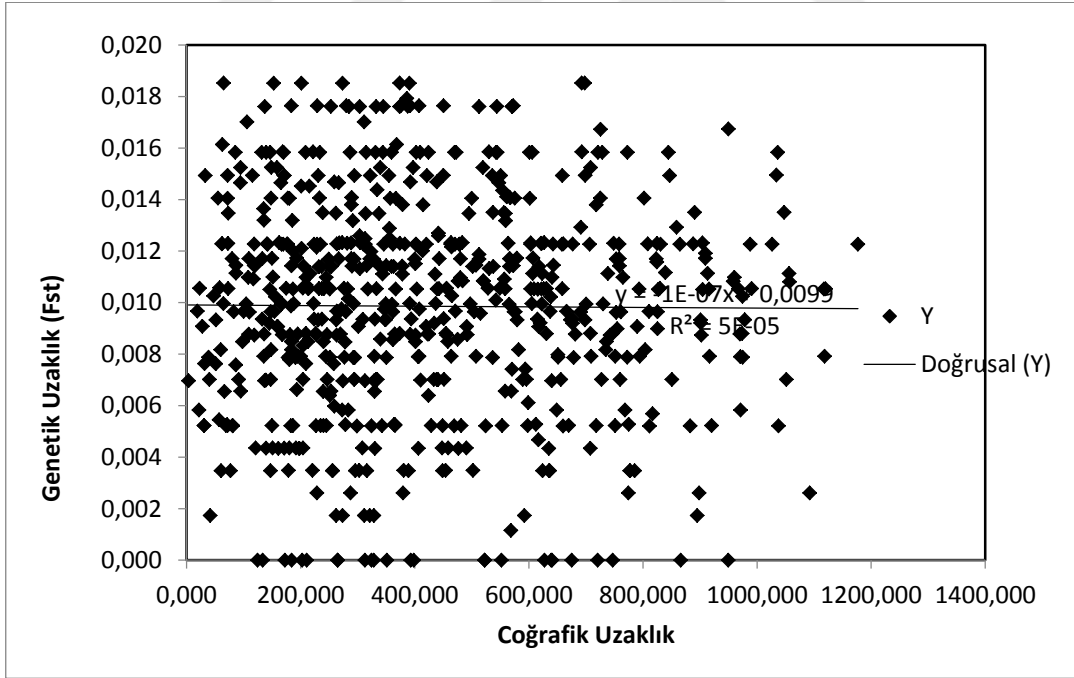


Şekil 10 COI için ikili Fst değerleri kullanarak çizilen PCoA analizi

P. symrnensis populasyonlarında genetik yapılanmanın oluşumunda gen akışı ve genetik sürüklenmenin genetik uzaklıklarına karşın coğrafik uzaklıklarının regresyonuyla test edilmiştir (Hutchison ve Templeton, 1999). Her iki gen bölgesi için Fst değerlerinin analiz edilmesi sonucunda, Mantel testi gerçekleştirilmiştir . 28s rRNA çekirdek belirteci ($R^2 = 5E-05$; $p = 0,020$) ve mitokondri DNA belirteci ($R^2 = 5E-05$; $p = 0,450$) için benzer sonuçlar vermiştir. (Şekil 11 ve 12) Populasyonların yayılış aralıklarında coğrafik uzaklıkla hem mitokondri DNA belirteci hemde 28s rRNA çekirdek gen bölgeleri için anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır.



Şekil 11 28s rRNA belirteci bazlı ikili FST değerine karşın coğrafik uzaklık



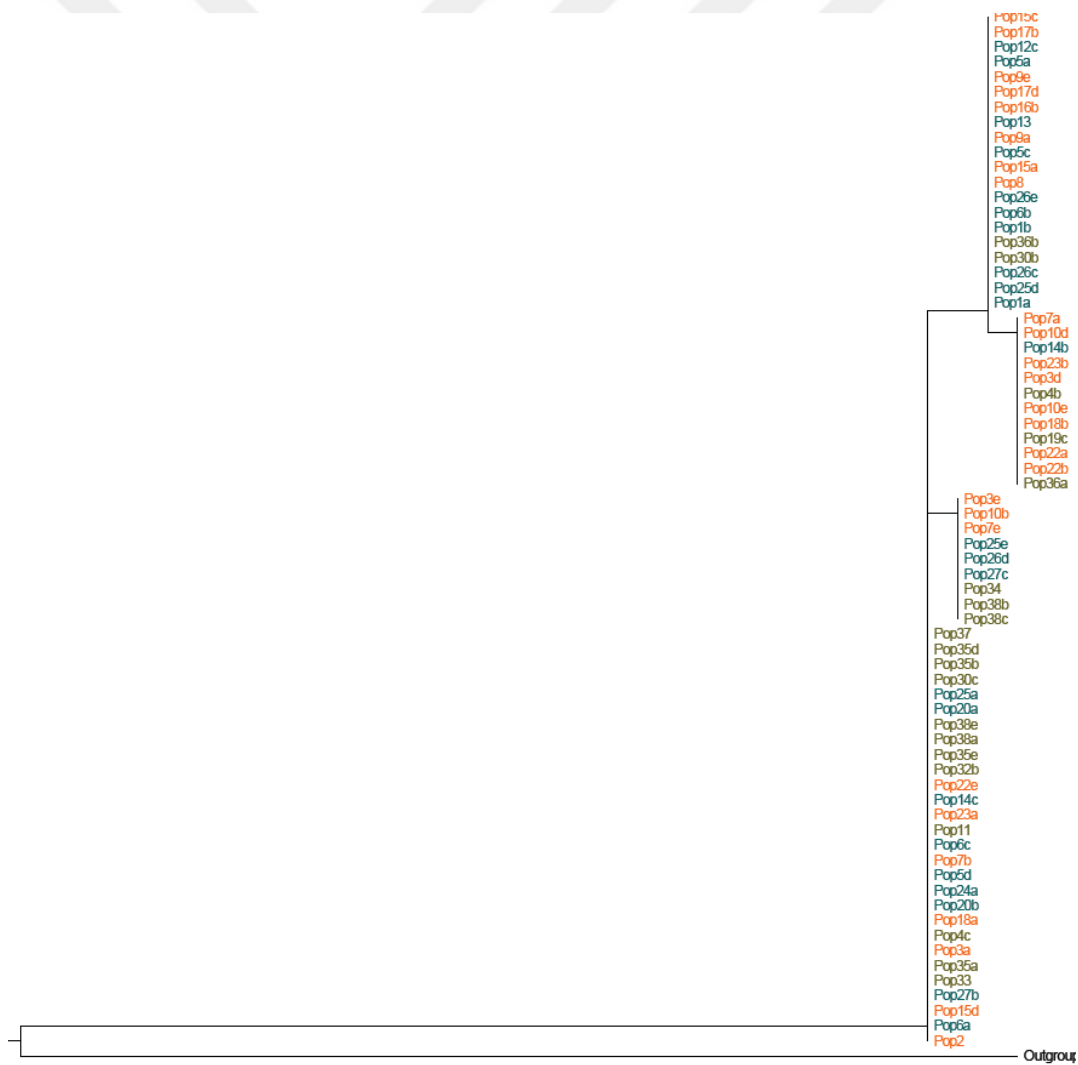
Şekil 12 COI mitokondri DNA belirteci bazlı ikili FST değerine karşın coğrafik uzaklık

3.4.Filogeni ve Filocoğrafya

3.4.1. Maksimum olasılık analizleri

Filogeni tahmini için Felsenstein (1973) ve Farris (1973) tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemin ön kabulüne göre evrimsel değişimler yani her bir karakterin diğer bir duruma değişmesinin ya da yeni bir karakterin açığa çıkmasının belirli bir olasılığı bulunmaktadır. Özellikle DNA dizi verisine dayalı filogeni programlarından olan RAxML kullanılarak inşa edilen ML ağacı ve NJ dendogramı mitokondri DNA verisi için incelendiğinde Anadolu populasyonları homojen bir dağılım sergilemektedir (Şekil 13 ve 14). 28s rRNA çekirdek verisi kullanılarak çizilen ML ağacı ve NJ dendogramında da herhangi bir doğu batı örüntülenmesi gözlenmemiştir (Şekil 15 ve 16).

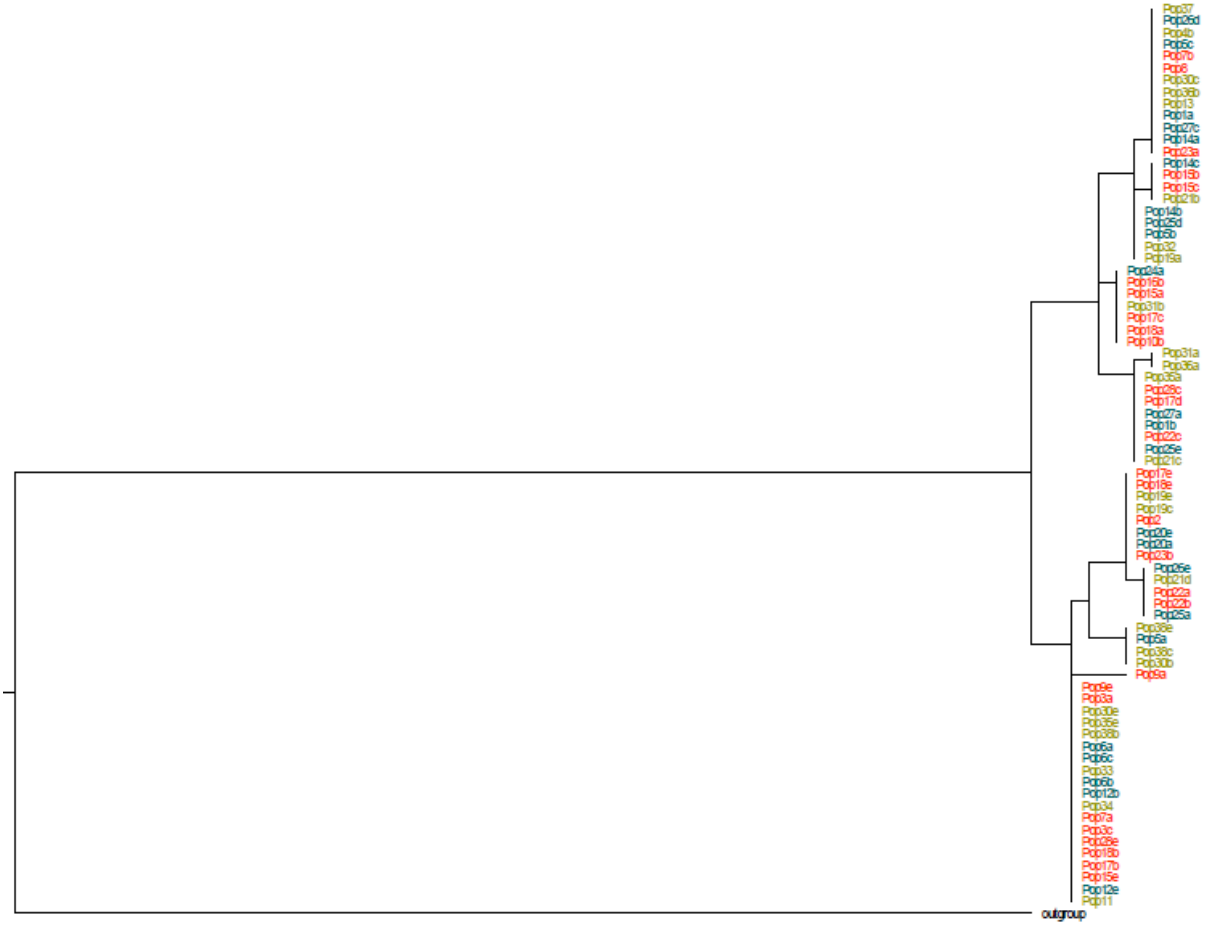
Grup1 turuncu, Grup 2 yeşil ve Grup 3 sarı ile gösterilmiştir.



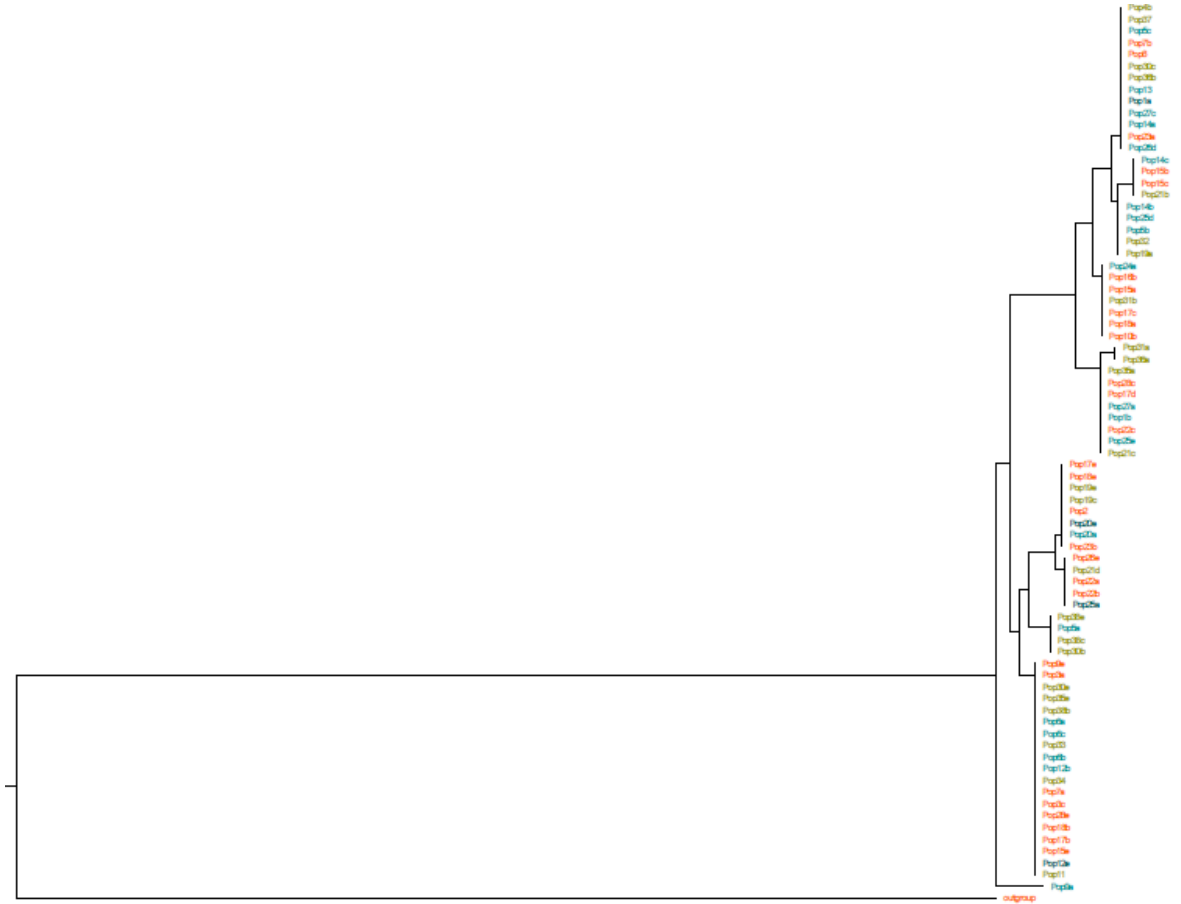
Şekil 13 28s rRNA haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli parametresi kullanılarak inşa edilmiştir.)



Şekil 14 28s rRNA haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendogramı



Şekil 15 Mitokondri haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli kullanılarak inşa edilmiştir.)



Şekil 16 Mitokodri haplotipleri arasında komşu bağlama (NJ) dendogramı

3.4.2. Şebeke analizleri

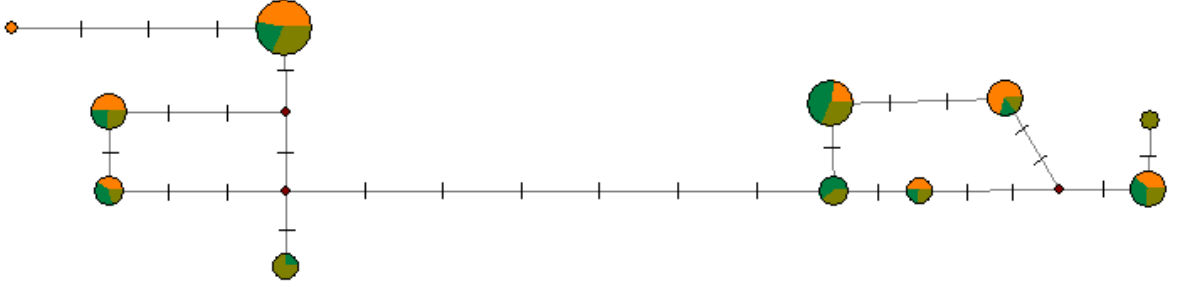
Mitokondri ve çekirdek DNA haplotipleri arasındaki soy hattı ilişkisi Şekil,,,'da gösterilen MJ şebekeleriyle tahmin edilmiştir. MJ yaklaşımı öncelikle tek bir şebeke içerisinde tüm minimum uzunluktaki ya da ölçüm aralığındaki ağaçları birleştirir ve sonrasında en son inşa edilen ağacın uzunluğunu azaltmak ve arada yer alan haplotipleri çıkarmak için parsimoni ölçütünü kullanır. Şebeke analizlerinde halkasal alanlar 5 farklı grubu temsil etmek üzere 5 farklı renkle gösterilmiştir. Her bir halkasal alan bireylerin o halka içerisinde bulunma sıklıklarına göre orantılanmıştır. Ana nodlar hangi haplotiplerle temsil edildiği yazılarak gösterilmiştir. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. 141 bireye ait 28s *rRNA* verisinin kullanılarak inşa edildiği MJ şebekesi mitokondri DNA verisinde gözlenen örüntüyle benzer şekilde populasyonlar arasında bir filocoğrafik yapılanma göstermiştir. Dikdörtgen benzeri bir örüntüye işaret eden bu şebekede hiçbir kayıp nod bulunmamaktadır (Şekil 17). Genetik yapılanmaya ek olarak bu analizde soy-hattı akrabalık ilişkisi için gözlenen en parsimonik açıklama, bu 5 farklı grubu oluşturan atasal formun elimizdeki örnekleme harici bir bölgede olduğudur Mitokondri DNA verisi

kullanılarak oluşturulan MJ şebekesi filocoğrafik yapılanmanın derin olmayan ya da sığ bir örüntüye sahip olduğunu vurgulamıştır (Şekil 18). Net bir genetik farklılaşma gözlenmediği öngörüsü bağlantı nodları arasındaki birkaç nükleotid değişiminin bulunmasıyla desteklenmektedir. Genetik yapılanmaya ek olarak bu analizde soy-hattı akrabalık ilişkisi için gözlenen en parsimonik açıklama, tüm haplotiplerin merkezi bir pozisyon sunması nedeniyle atasal bir form sunması en yüksek olasılığa sahip olan grup 5'ten evrimleştikleridir. Bu haplotip analize dahil edilen 38 populasyonun 18'i ve 75 bireyin 24'ünde bulunmaktadır.

Grup1 turuncu, Grup 2 yeşil ve Grup 3 sarı ile gösterilmiştir.



Şekil 17 MJ şebeke yönteminden elde edilen *P.symrnensis* 28s rRNA haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Dal uzunlukları mutasyon sayısı ile orantılıdır.



Şekil 18 MJ şebeke yönteminden elde edilen *P.symrnensis* mitokondri haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Dal uzunlukları mutasyon sayısı ile orantılıdır.



4.TARTIŞMA

Paleartik bölgede türlerin yayılış alanının en güneyinde yer alan Anadolu, buzul dönemleri boyunca birçok popülasyona ev sahipliği yapan ve buzullar arası dönemlerde ise Balkanlar ve Kafkaslar yoluyla kuzeye yayılışlarını sağlayan oldukça önemli bir sığınak alanıdır (Çıplak, 2004). Anadolu'nun jeolojik tarihi ile birlikte enlemsel konumu, kendine özgün yüksek bir plato görünümü ve değişken topografik yapı sergileyen özel bir türleşme merkezini oluşturmuştur. Bu merkezin alpin ya da subalpin kuşaklarda yayılış sergileyen taksonlar açısından yüksek çeşitlilik göstermesi ve bu taksonların geleceğinde de özel bir öneme sahip olacağı öngörüsü her geçen gün artan bir şekilde desteklenmektedir (Çıplak ve ark., 2002; Çıplak, 2008, 2010). Biyoçeşitliliğin artmasında önemli etken olan tüm bu faktörlerden dolayı birçok takson grubunda olduğu gibi Cephidae familyasına ait türler de Türkiye böcek faunası açısından zengindir (Korkmaz, 2011).

Haşhaş/Gelincik sap arısı (*Pachycephus symrnensis*) Türkiye'de yaygın bir yayılışa sahip çok zararlı bir türdür. Bu zararlı tür haşhaş ve yakın akrabası olan gelincik bitkisine yumurta bırakarak larvalarının beslenmesini sağlar. Bitkilerde zararın oluşmasına sebep olan aslında sap içerisine bırakılan yumurtalardan çıkan larvalardır. Larvaların beslenme sürecinde iletim dokuları tahrip olur. Bu nedenle bitkinin karbonhidrat ve su iletim sisteminde dengesizlikler görülür. Gelincik haşhaş sap arılarının bitkilerde beslenmesi sonucu haşhaş bitkisi kapsülü yeterli miktarda beslenemez ve gelişemez. Bitki zarar görür ve zayıflayarak ölür. Ayrıca larvalar tarafından kesilen sapsar, hasat öncesinde kırılarak düşmekte ve ürün kayıpları meydana gelmektedir. Sapsarın toprak altında kalması ve ergin çıkışlarının etkilenmesi amacı ile toprağın derin sürülmesi ve bazı parazitoidlerin kullanılması gibi mücadele yöntemleri önerilmesine rağmen etkili bir mücadele stratejisi geliştirilememiştir. *P. symrnensis* popülasyonlarının genetik örüntülerinin açığa çıkarılması bu zararlıyla mücadeleyi daha etkili kılacaktır.

Çalışma kapsamında *P. symrnensis* türüne ait toplam 141 bireyin 28s rRNA ve COX1 gen bölgelerinin dizi bilgileri elde edilmiştir. 28s rRNA gen bölgesi için yapılan analizler sonucu 4 farklı haplotip ile çok düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum mutasyon hızının düşüklüğünden kaynaklanmaktadır. 28s rRNA gen bölgesi lokalite bazında lokaliteler arası gen aktarımı çok fazla bulunmamaktadır

P. smyrnensis bireyleri arasında 716 bp uzunluğunda çoğaltılan 28s rRNA gen bölgesinin nükleotit kompozisyonu incelendiği zaman genel olarak korunmuştur. 245-248. pozisyonlar arasında TATT ile CATC, 478. pozisyonda G C transversiyonu gözlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda 28s rRNA gen bölgesi için herhangi bir doğu-batı örüntülenmesi gözlenmemiştir.

28s rRNA gen bölgesi için mutasyon hızı ve oranının çok düşük olmasının sebebi 28s rRNA gen bölgesinin öneminden kaynaklanmaktadır. 28s rRNA gen bölgesi ribozomun büyük alt ünitesini oluşturur. Woese ve Fox (1977)'un çalışmasından beri nükleer rRNA sistronu önemli bir filogenetik çalışma bölgesi haline gelmiştir. Ribozomu oluşturan küçük sistron (SSU) ve büyük sistron (LSU) oldukça korunmuş bölgelere sahiptir. Bu yüzden yüksek taksonomik seviyede filogenetik rekonstruksiyonlarda kullanılabilir (Hershkovitz ve Lewis, 1996). Buna karşılık türler arasında gösterdiği sekans farklılıkları oldukça anlamlıdır. Bu yüzden tür ve cins düzeyinde filogenilerin çıkarımları için daha uygundur.

Mitokondriyal DNA gen bölgesi belirtecinin karakterizasyonuna baktığımızda analiz edilen kısmın yalancı gen bölgesi olmadığı belirlenmiştir. Analiz edilen mitokondriyal DNA sekanslarının her kromotogramda tekli piklere sahip oldukları, insersiyon ve delesyon (in-del) bölgeleri içermedikleri ve dizi içerisinde rastgele stop kodonlar bulundurmadıkları gözlenmiştir. Tüm bu bulgular ışığında analiz edilen sekans dizisinin fonksiyonel bir mitokondriyal gen bölgesi olduğu söylenebilir. *COI* mitokondriyal DNA fragmanına baktığımızda gen bölgesinin 5' ucunun 3' ucundan daha bilgi verici olduğu anlaşılmıştır (Simon ve ark., 1994, Juan ve ark., 1996, Erpenbeck ve ark., 2005). Bu durum dejeneratif kodon pozisyonlarında sinonim değişimlerden kaynaklanmaktadır ve yakın akraba türer arasında olduğu kadar tür içi düzeyde akrabalık ilişkilerinin araştırılması açısından da yeterli varyasyon sağlamaktadır (Johnson ve ark., 2008, Korkmaz ve ark., 2011).

COI gen bölgesi için yapılan analizlerde 11 farklı haplotip ile düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan analizlerde mutasyon hızı düşüklüğü sebebiyle haplotip çeşitliliği ve genetik çeşitliliği düşüktür. Populasyon 9 Anadolu populasyonları arasında özgün haplotipe sahip tek populasyondur. Genetik çeşitliliğin düşük olması sebebiyle özgün haplotip sayısının düşük olduğu düşünülmektedir. Genetik çeşitliliğin düşük olduğunu destekleyen bir diğer analiz *Fst* analizlerinde bulunan değerler 0,05'ten daha küçüktür. *Fst* analizlerinde bulunan bu değer küçük olmasına rağmen ihmal edilemez.

Nükleotid kompozisyonuna ek olarak karakterize edilen aminoasit kompozisyonunda tespit edilen değişimlerin çoğunlukla hidrofobik aminoasitlerle hidrofilik aminoasitler arasında gerekleştigi gözlenmiştir. Bu değişimlerin beslenme dönemine bağlı olarak yumurtlama dönemi farklılıklarından kaynaklı bitki adaptasyonu ile ilişkilendirilebilir. Sonuç olarak çalışma kapsamında kullanılan mitokondriyal DNA fragmanında gözlenen varyasyon miktarının çalışma aralığında yer alan *P. smyrnensis* populasyonları arasındaki farklılıkları göstermek için yeteri kadar hızlı, son birkaç milyon yıldan fazla sürede yinelenen mutasyonlarla doğunluğa ulaşamayacak kadar da yavaş olduğu söylenebilir (Hewitt, 1996, 2001; Avise ve ark., 1998).

COI mitokondriyal gen bölgesi enerji metabolizması ile ilişkilidir. Beslenme farklılığı, yükseklik, nem, iklim gibi parametreler enerji metabolizması üzerinde büyük etkilere sahiptir. Yapılan analizlerde en çok dikkat çeken durum temel bileşenler analizine göre coğrafik uzaklık arttıkça genetik çeşitliliğin artmamasıdır. Bunun sebebinin uyuşturuu üretimi için kaçak olarak farklı bölgelere ekilen haşhaş bitkisi ve doğal ortamda çok fazla bulunan gelincik bitkisi olduğu düşünölmektedir.

Yapılan analizler sonucunda haşhaş ve gelincik ile beslenen böceklerde anlamlı bir farklılaşma bulunamamıştır. Meydana gelen farklılıkların doğal varyasyon sürecinin bir parçası olduğu söylenebilir. Haşhaş ölkemizde ve dünyada uyuşturuu üretiminde yoğun olarak kullanılır. Hem yurt içinde hem yurt dışında yasadışı olarak pek çok bölgede ekimi yapılmaktadır. Ancak dünyada Anadolu yasadışı haşhaş ekimi ve afyon üretiminde üst sıralarda gelmektedir. Bu durum Anadolu coğrafyasında *P. smyrnensis* türünün yumurtlama düzenine etki etmektedir. Gelincik genel olarak çok kolay yetişebilen ve her şarta uyum sağlayan bir iek olması sebebiyle tüm Anadolu'da yetişebilir. Gelincik haşhaş ekimi yapılan tarlaların yakınları ve hatta içerisinde dahi yetişebilir. Bu sebeplerle hem gelincik bitkisi hem de haşhaş Anadolu ve dünya coğrafyasında süreklilik sergiler. Populasyonlar izole değillerdir. Bütün populasyonlar benzer örüntü sergiler.

KAYNAKÇA

- Aaghali, Z., Hoshino, Y., Monfared, S. R., Moeini, A.,** (2019) Regulation of dedifferentiation and differentiation in different explants of *Papaver rhoeas* L. by one-step culture. *Scientia Horticulturae* 246,366-370.
- Akman, Y., Ketenöglu, O., Kurt, L., Hamzaöglu, E., Tuğ, N., Güney, K.,** (2007) Angospermae (Kapalı Tohumlular) *Palme Yayincılık*, 61s, 69s.
- Anderson, N.H., Cummins, K.W.** (1979). Influences of diet on the life histories of aquatic insects. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 36, 335-342.
- Avise, J.C., Walker, D., Johns, G.** (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 265, 1707–1712.
- Baghdikian, B., Mahiou-Leddet, V., Bory, S., Bun, S.S., Dumetre, A., Mabrouki, F., Hutter, S., Azas, N., Ollivier, E.,** (2013). New antiplasmodial alkaloids from *Stephania rotunda*. *J. Ethnopharmacol.* 145, 381–385.
- Barton, N. H., Charlesworth, B.** (1984). Genetic revolutions, founder effects, and speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 15, 133-164.
- Benson, R.B.** (1968). Hymenoptera from Turkey, Symphyta. *Bulletion of the British Museum (Natural History) Entomology*. 22 (4), 109-207.
- Bernays, E., Graham, M.** (1988). On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods. *Ecology*, 69(4), 886–892.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F.,** (1994). Host Plant Selection by Phytophagous Insects. *Chapman & Hall*, 311 pp (95-150)
- Budak, M., Korkmaz, E.M., Başbüyük, H.H.** (2011). A molecular phylogeny of the Cephinae (Hymenoptera, Cephidae) based on mtDNA COI gene: a test of traditional classification. *Zookeys*, 130, 363–378.

- Chiu, H. T., M. Y., Wu,** (1993). Attractiveness of color trap to *Thrips hawaiiensis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) in the field. *Chinese Journal of Entomology*, 13: 229-234.
- Craig, T.P., Itami, J.K.** (2008). Evolution of preference and performance relationships. In: Tilmon K (Ed) Specialization, Speciation, and Radiation: The Evolutionary Biology of Herbivorous Insects. *University of California Press*, Berkeley, 20–28.
- Çalmaşur, Ö.** (2007). Erzurum İlinde Kiraz Sülüğü *Caliroa cerasi* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Tenthredinidae)'nin Biyolojisi ve Zararı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 38(1), 59-63
- Çıplak, B.** (2004). Biogeography of Anatolia: the marker group Orthoptera. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, 82, 357–372.
- Çıplak, B.** (2008). The analogy between interglacial and global warming for the glacial relicts in a refugium, *Ed. Fattorini S., Insect Ecology and Conservation, Research Signpost*. pp 135–163.
- Çıplak, B., Kaya S., Gündüz, İ.** (2010). Phylogeography of *Anterastes serbicus* species group (Orthoptera, Tettigoniidae): phylogroups correlate with mountain belts, but not with the morphospecies. *Journal of Orthoptera Research*, 19, 29–40.
- Çoban, I., Toplan, G.G., Özbek, B., Gürer, C.U., Sarıyar, G.,** (2017). Variation of alkaloid contents and antimicrobial activities of *Papaver rhoeas* L. growing in Turkey and northern Cyprus. *Pharm. Biol.* 55, 1894–1898
- Demirözer, O., Karaca, İ.** (2011). Phytophagous Arthropod Species Associated with Oil Bearing Rose, *Rosa damascena* Miller, in Isparta Province with Distributional Remarks. *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 6 (1): 9-25.
- Eaves, D.J., Flores-Ortiz, C., Haque, T., Lin, Z., Teng, N., Franklin-Tong, V.E.,** (2014). Selfincompatibility in *Papaver*: advances in integrating the signalling network. *Biochem. Soc. Trans.* 42, 370–376.
- Ecevit Genc, G, Ozhatay N.** (2006). An ethnobotanical study in Çatalca (European part of Istanbul) II. *Turk J Pharm Sci.* 3:73–89

- El, S.N., Karakaya, S.** (2004). Radical scavenging and iron chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 55, 67–74.
- Erpenbeck, D., Hooper, J.N.A., Wörheide, G.** (2005). CO1 phylogenies in diploblasts and the ‘Barcoding of Life’ —are we sequencing a suboptimal partition? *Molecular Ecology Notes*, 6, 550–553.
- Franklin-Tong, V.E., Drobak, B.K., Allan, A.C., Watkins, P.A., Trewavas, A.J.**, (1996). Growth of pollen tubes of *Papaver rhoeas* is regulated by a slow-moving calcium wave propagated by inositol 1, 4, 5-trisphosphate. *Plant Cell* 8, 1305–1321
- Furuya, T., Ikuta, A., Syono, K.**, (1972) Alkaloids from callus tissue of *Papaver somniferum*. *Phytochemistry*, 11(10), 3041–3044.
- Gangwere, S.K., M.C., Muralirangan and M. Muralirangan**, (1989). Food Selection and Feeding in Acridoids: A Review. Vol (25), No:5, 27syf.
- Gauld, I.D., Bolton, B.** (1988). The Hymenoptera, British Museum (Natural History), *Oxford University Press*, 62p, New York.
- Ghizlane, H., Aziz, B.**, (2016). Pharmacological properties of some medicinal plants, its components and using fields. In: *Watson, R.R., Preedy, V.R. (Eds.), Fruits, Vegetables, and Herbs. Academic Press*, pp. 41–56.
- GRIN database. USDA, ARS, National Genetic Resources Program, Germplasm Resources Information Network (GRIN)**, (2004) National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Available on-line at: <http://www.ars-grin.gov/npgs/tax/>
- Gubruz I, Ustun O, Yesilada E, Sezik E and Kutsal O.** (2003) Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *J. Ethnopharmacol* 88: 93-97
- Hardie, D., Casella, F., Botha, J.** (2004). Sawflies: the wheat stem sawfly *Cephus cinctus* and relatives. *Government of Western Australia*, <http://www.agric.wa.gov.au/objtwr/imp...>

- Hajibabaei, M., Singer, G.A.C., Hebert, P. D. N., Hickey, D.A.** (2007) DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167–172.
- Hershovitz, M.A., Lewis, L.A.** (1996) Deep-level diagnostic value of the rDNA-ITS region *Mol. Biol. Evol.* 13; 1276-1295
- Hewitt, G.M., Butlin, R.K.** (1997). Causes and consequences of population structure, pp. 350–372, Eds. Krebs J.R. and Davies N.B., *Behavioural Ecology. An Evolutionary Approach*. Blackwell Science, Horn
- Janz, N., Nylin, S., Wahlberg, N.** (2006). Diversity begets diversity: host expansions and the diversification of plant-feeding insects. *BMC Evolutionary Biology*. 6:4
- Johnson, S.B., Waren, A., Vrijenhoek, R.C.** (2008). DNA barcoding of *Lepetodrilus limpets* reveals cryptic species. *Journal of Shellfish Research*, 27, 43–51.
- Juan, C., Oromi, P., Hewitt, G.M.** (1996). Phylogeny of the genus *Hegeter* (Tenebrionidae, Coleoptera) and its colonization of the Canary Islands deduced from cytochrome oxidase I mitochondrial DNA sequences. *Heredity*, 76, 392–403.
- Kadioğlu, Y.**(2007), Uşak'ta haşhaş tarımının coğrafi özellikleri. *Doğu Coğrafiya Dergisi* 12(18), 165-186
- Kansu İ. A., Has A.** (1987) Fitofag böceklerde konukçu seçimi. *Türk Entomoloji Dergisi* 11 (3)
- Kaynak, G., Daşkın, R., Yılmaz, Ö.** (2005) Bursa Bitkileri *Uludağ Üniversitesi Kent Tarihi ve Araştırmaları Merkezi Yayın* 2-85
- Keller, A., Schleicher, T., Schultz, J., Müller, T., Dandekar, T., Wolf, M.** (2009) 5.8-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation. *Gene* (430) 50-57s
- Kelley, S.T., Farrella, B.D., Mitton, J.B.** (2000) Effects of specialization on genetic differentiation in sister species of bark beetles. *Heredity*, 84(2), 218.
- Koç, H., Camcı, H., Kadiroğku, A., Gür, K.** (2006) Seçilmiş bazı haşhaş hatlarının morfin oranları yönünden değerlendirilmesi üzerine bir araştırma. *Bitkisel Araştırma Dergisi* 1:31-35s
- Korkmaz, E.M., Örgen, S.H., Gencer, L., Ülgentürk, S., Başbüyük, H.H.** (2010). Determination of some wheat pests and their parasitoids in wheat fields of Central Anatolia Region. *Türk. Entomol. Derg.* 34, 361–377.

- Matysik, G., Benesz, M.,** (1991). Thin-layer chromatography and densitometry of anthocyanins in the petals of red poppy during development of the flowers. *Chromatographia* 32, 19–22.
- Middlekauff, W.W.** (1969). The Cephid stem borers of California (Hymenoptera: Cephidae). *Bulletin of the California insect survey*, 11, 1-19.
- Nicholsan BE, Ary S and Gregory M.** (1960) *The Oxford Book of Wild Flowers*. Oxford University Press, London
- Nyman, T.** (2010). To speciate, or not to speciate? Resource heterogeneity, the subjectivity of similarity, and the macroevolutionary consequences of niche-width shifts in plant-feeding insects. *Biological Reviews*, 85, 393–411, doi:10.1111/j.1469-185X.2009.00109.x.
- Oğurlu, İ.** (2001) Böcek Ekolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları* No:9 Baskı 1,13s.
- Osanloo, N., Najafi-Abedi, A., Jafari, F., Javid, F., Pirpiran, M., Memar Jafari, M.R., Mousavi Khosravi, A., Rahimzadeh Behzadi, M., Ranjbaran, M., Sahraei, H.,** (2016). Papaver Rhoeas L. hydroalcoholic extract exacerbates forced swimming test-induced depression in mice. *Basic Clin. Neurosci.* 7, 195–202.
- Özgen İ., Karsavuran, Y.**(2006) Fitofag böceklerde Konukçu Bitki Kabul Davranışları *Alatarım* 5 (2): 43-48
- Powell, G.S., Maniar, P., Pickett, J.A., Hardie, J.,** (1999). Aphid Responses to Non Host Epicuticular Lipids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91:115-123.
- Price, P.W., Roininen, H. and Ohgushi, T.** (2005). Adaptive radiation into ecological niches with eruptive dynamics: a comparison of tenthredinid and diprionid sawflies. *Journal of Animal Ecology*, 74, 397–408,
- Rasnitsyn, A. P.** (1969). Origin and Evolution Of The Lower Hymenoptera. 1, 1-196.
- Scheibelreiter, V. G.** (1978). The poppy-cephid, *Pachycephus smyrnensis* Stein (Hymenoptera: Cephidae). *Zeitschrift Fuer Angewandte Entomologie*, 861, 19-25.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G., Bekat, L.,** (1989) Tohumlu Bitkiler Sistematığı *Ege Üniversitesi Yayınları* 174s

- Shanower, T.G., Hoelmer, K.A.,** (2004). Biological control of wheat stem sawflies: past and future. *J. Agr. Urban Entomol.* 21, 197e221
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., et al.** (1994). Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and compilation of concerted polymerase chain reaction primers. *Annual Entomological Society of America*, 87, 651–701.
- Smith, D. R.** (2006). Review of the cypress and junifer sawflies of the genus *Susana* Rohwer and Middleton (Hymenoptera: , Tenthredinidae. *Proceeding of the Entomological Society Of Washington*, 108, 62-75
- Taeger, A.; Blank, S. M.; Liston, A. D.** (2010): World Catalog of Symphyta (Hymenoptera), <http://www.sdei.de/ecatsym/>
- Taeger, A. & Blank, S. M.** (2011): ECatSym - Electronic World Catalog of Symphyta (Insecta, Hymenoptera). Program version 3.10, data version 38 (07.12.2011). - Digital Entomological Information, Müncheberg
- Tuzlacı E.** (2006). Şifa Niyetine Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları. Istanbul, Turkey: *Alfa Yayınları*.
- Tuzlacı E, Eryaşar Aymaz P.** (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gonen (Balıkesir). *Fitoterapia*. 72:323–343
- Uzun, A., Demirözer, O.** (2016) Fitofag thripslerin konukçe tercihinde etkili faktörler ve mücadele amaçlı kullanım olanakları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*. 6(4) 3327-338s
- Viitasaari, M.** (2002). The suborder Symphyta of the Hymenoptera. In: Viitasaari M (Ed) Sawflies I (Hymenoptera, Symphyta) A review of the suborder, the Western Palaearctic taxa of Xyeloidea and Pamphilioidea. Tremex Press, Helsinki, 11–174.
- Woose, C.R., Fox, G.E.,** (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain the primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 74, 5088-5090

EK-2 Çakıştırılan 28s *COI* gen bölgesinin MEGA v7.0 programı ile çoklu hizalanması



EK-3 Populasyonlarda 28s rRNA haplotiplerinin dağılımı. *N* birey sayısı, *H* toplam haplotip sayısı.

Populasyon Adı	N	H	Hap_1	Hap_2	Hap_3	Hap_4
1	2	1	2	-	-	-
2	1	1	-	1	-	-
3	3	3	-	1	1	1
4	2	2	-	1	1	-
5	2	2	-	1	1	-
6	2	1	-	2	-	-
7	3	3	-	1	1	1
8	1	1	1	-	-	-
9	2	1	2	-	-	-
10	3	2	-	-	2	1
11	1	1	-	1	-	-
12	1	1	1	-	-	-
13	1	1	1	-	-	-
14	2	2	-	1	1	-
15	3	2	2	1	-	-
16	1	1	1	-	-	-
17	2	1	2	-	-	-
18	2	2	-	1	1	-
19	1	1	-	-	1	-
20	2	1	-	2	-	-
22	3	2	-	1	2	-
23	2	2	-	1	1	-
24	1	1	-	1	-	-
25	3	3	1	1	-	1
26	3	2	2	-	-	1

27	2	2	-	1	-	1
30	2	2	1	1	-	-
32	1	1	-	1	-	-
33	1	1	-	1	-	-
34	1	1	-	-	-	1
35	4	1	-	4	-	-
36	2	2	1	-	1	-
37	1	1	-	1	-	-
38	4	2	-	2	-	2

EK-4 Populasyonlarda COI haplotiplerinin dağılımı. *N* birey sayısı, *H* toplam haplotip sayısı *H_u* Özgün haplotip sayısı. Gri renk özgün haplotiplere, renksiz kareler ise paylaşılan haplotiplere işaret etmektedir.

Populas yon Adı	N	H	H <i>u</i>	Hap _1	Hap _2	Hap _3	Hap _4	Hap _5	Hap _6	Hap _7	Hap _8	Hap _9	Hap_ 10	Hap_ 11
1	2	2	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
3	2	1	-	-	1	1	1				2			
4	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	3	3	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-
6	3	3	-	-	2	-	-	-	-	-	3	-	-	-
7	2	2	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
8	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
10	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
12	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
13	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	3	3	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
15	4	3	-	-	1	-	-	-	2	-	1	-	-	-
16	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	4	4	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	1

18	3	3	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	1
19	3	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
20	2	1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
21	3	3	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-
22	3	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-
23	2	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
24	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	3	3	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-
26	2	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
27	2	2	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
28	2	2	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-
30	3	3	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
31	2	2	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
32	1	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
33	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
34	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
35	2	2	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-
36	2	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
37	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	3	2		-	2	-	2	-	-	-	1	2	-	-



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Fatma Eda TUTAR
Doğum Yeri ve Tarihi	Alanya, 28.08.1993
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 58140 Sivas
E-posta Adresi	fatmaedatutar@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Alanya Anadolu Lisesi, 2007-2011
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü 2011-2015
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji A.B.D. 2015