

T.C.
HAKKARİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SAGA (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE, SAGINAE) CİNSİ *EPHIPPIGERA* TÜR
GRUBUNUN 16S rDNA FİLOGENİSİ VE MORFOLOJİK TÜR HİPOTEZLERİNİN
MOLEKÜLER VERİLERLE SINANMASI

Burcu BİNİCİ

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Mehmet Sait TAYLAN

HAKKARİ

2020

T.C.
HAKKARİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
HAKKARİ

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Burcu BİNİCİ tarafından hazırlanan “*Saga* (Orthoptera, Tettigoniidae, Saginae) Cinsi *Ephippigera* Tür Grubunun 16S rDNA Filogenisi ve Morfolojik Tür Hipotezlerinin Moleküler Verilerle Sınanması” başlıklı bu tez, 21.12.2020 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan: Doç. Dr. Deniz ŞİRİN	Namık Kemal Üniversitesi	

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Erkan AZİZOĞLU Hakkari Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Mehmet Sait TAYLAN Hakkari Üniversitesi
(Danışman)

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Can YILMAZ

Enstitüsü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

21/12/2020

İmza

Burcu BİNİCİ

ÖZET

SAGA (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE, SAGINAE) CİNSİ *EPHIPPIGERA* TÜR GRUBUNUN 16S rDNA FİLOGENİSİ VE MORFOLOJİK TÜR HİPOTEZLERİNİN MOLEKÜLER VERİLERLE SINANMASI

Burcu BİNİCİ

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Sait TAYLAN
2020, 49 sayfa

Palearktik bölgedeki en büyük predatör böceklerden olan, uzun antenli büyük çekirgelerden *Saga* cinsi, Anadolu’da 9 (dokuz) tür ile temsil edilmektedir. Bu cinse ait *Ephippigera* tür grubunun morfolojik ve biyoakustik değerlendirmeleri sonucunda; *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* olmak üzere 3 (üç) türden oluştuğu bilinmektedir. Ancak günümüze kadar bu tür grubuna ait moleküler genetik bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada 16S rDNA geni dizileri kullanılarak, tür grubunun moleküler filogenisi ortaya çıkarılmış ve morfolojik tür hipotezleri test edilmiştir. Çalışmada 2018-2020 yılları arasında, *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerine ait 5’er birey, atrap yardımıyla yakalanmış, DNA izolasyonu, PCR (Polymerase Chain Reaction), saflaştırma ve çift taraflı dizilime işlemleri yapılarak 16S rDNA geni dizileri elde edilmiştir. Dizilere sırasıyla, hizalama (alignment), filogenetik analizler (Maximum Likelihood ve Bayesian) ve kladogenetik olayların tarihlendirilmesi işlemleri yapılarak filogenetik ve filocoğrafik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular neticesinde her 3 türün monofilisi ve tür hipotezleri, moleküler verilerle desteklenmiştir. Çalışma sonucunda *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun köken soy hattında, *S. ephippigera* türünün yer aldığı, tür grubunun soy hatlarının yaklaşık 0.4 milyon yıl önce farklılaştığı ve tür grubunun evrimleşmesinde Orta Pleistosen (Mid-Pleistocene) periyodunda yer alan buzul ve buzullar arası devirlerdeki iklimsel değişimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Anadolu, Orthoptera, *Saga*, *Ephippigera* tür grubu, 16S rDNA, Moleküler Filogeni

ABSTRACT

16S rDNA PHYLOGENY AND TESTING THE MORPHOSPECIES HYPOTHESIS WITH MOLECULAR DATA IN THE *EPHIPPIGERA* SPECIES GROUP OF GENUS *SAGA* (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE, SAGINAE)

Burcu BİNİCİ

Master Thesis, Biology Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Sait TAYLAN

2020, 49 pages

The genus *Saga*, one of the long-antenna large bush crickets, which is the largest predatory insects in the Palearctic region, is represented by 9 nine species in Anatolia. According to morphological and bioacoustics evaluations of the *Ephippigera* species group belonging to *Saga* genus, it is known that it consists of 3 (three) species, *S. ephippigera*, *S. syriaca* and *S. hakkarica*. However, to date, there is no molecular genetic study belonging to this species group. In this study, by using the 16S rDNA gene sequences, the molecular phylogeny of the species group was revealed and the morphological species hypotheses were tested. In the study, 5 individuals belonging to *S. ephippigera*, *S. syriaca* and *S. hakkarica* species were collected between the years of 2018-2020 with sweep netting and DNA isolation, PCR (Polymerase Chain Reaction), purification and double-stranded sequencing were performed to obtain 16S rDNA gene sequences. Sequences were evaluated phylogenetically by performing alignment, phylogenetic analysis (Maximum Likelihood and Bayesian Inference) and dating of cladogenetic events, respectively. As a result of the findings, the monophyletic and species hypotheses of all 3 species have been supported by molecular data. It was determined that, the *S. ephippigera* species is origin lineages of the *Ephippigera* species group which diverged approximately 0.4 million years ago and it has been revealed that the climatic changes in the glacial and inter-glacial periods in the Middle Pleistocene period were effective in the evolution of the species group.

Key Words: Anatolia, Orthoptera, *Saga*, *Ephippigera* species group, 16S rDNA, Molecular Phylogeny

ÖNSÖZ

Tür kavramı, biyoloji biliminde dinamik ve tartışmalı kavramlardan biri olarak yer almaktadır. Morfolojiye dayalı değerlendirmeler her ne kadar taksonomide temel teşkil etse de, son yıllarda integratif taksonominin gelişmesiyle genetik, ekolojik ve evrimsel değerlendirmeler, tür kavramının gelişmesine önemli katkılar sunmuştur. Özellikle moleküler genetik alanının ilerlemesi ile filogenetik çalışmalar önem kazanmış ve kladogenetik olayların tarihlendirilmesi, taksonların paleocoğrafi, filocoğrafi ve tarihi arka planlarına ilişkin farklı yaklaşımlar ve değerlendirmelerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu bağlamda, bu tez çalışmasında *Saga* cinsine dâhil *Ephippigera* tür grubunun morfolojik tür hipotezleri 16S rDNA gen dizileri ile moleküler verilerle test edilmiş, filogenetik analizler ve moleküler saat uygulamasıyla tür grubunun Anadolu'daki evrimsel geçmişi incelenmiş ve böylelikle ülkemizde filogenetik ve sistematik alanında yapılacak çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın planlanmasından, sonlandırılmasına kadar her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Mehmet Sait TAYLAN'a (Hakkari Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı), arazi çalışmaları ve filogenetik analizlerdeki katkılarından dolayı Sn. Doç. Dr. Deniz ŞİRİN'e (Namık Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü), çalışma boyunca maddi ve manevi desteğini gördüğüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Hakkari Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (**Proje Numarası: FM20LTP1**).

Burcu BİNİCİ

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	9
3.1. Çalışma Materyali ve Arazi Çalışmaları	9
3.2. Moleküler Çalışmalar ve Filogenetik Analizler.....	17
3.2.1. Total DNA İzolasyonu	17
3.2.2. 16S rDNA Geni Amplifikasyonu (PCR).....	18
3.2.3. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizi Analizi	20
3.2.4. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizilerinin Hizalanması (Alignmentları)	21
3.2.5. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizilerinin Filogenetik Analizleri	22
3.2.6. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesi (Moleküler Saat Uygulaması).....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Dizi Varyasyonu ve Genetik Veri Analizlerine Ait Bulgular	24
4.2. Filogenetik Analizlere Ait Bulgular.....	29
4.3. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesine (Moleküler Saat Uygulaması) Ait Bulgular.....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	35

5.1. Sistematik Değerlendirme	35
5.2. Genetik Veri Analizlerinin Değerlendirilmesi	37
5.3. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesi ve Filocoğrafya	39
5.4. Sonuç ve neriler.....	40
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	49



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

♂:	Erkek Birey
♀:	Dişi Birey
°C:	Santigrat derece
bç:	Baz çifti (bp-base pair)
E:	Doğu
m:	Metre
N:	Kuzey
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA:	Ribozomal DNA
Vd:	Ve diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Saga</i> cinsine ait türlerin dünya üzerindeki yayılış haritası	4
Şekil 3.1. Tez çalışmasında yer alan <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait bireylerin toplandığı lokalitelerin Türkiye haritası üzerindeki gösterimi..	11
Şekil 3.2. <i>Saga hakkarica</i> Şirin&Taylan, 2019 (A: Erkek birey, B: Dişi Birey).....	13
Şekil 3.3. <i>Saga ephippigera</i> Fischer von Waldheim, 1846 (A: Erkek birey, B: Dişi Birey).....	14
Şekil 3.4. <i>Saga syriaca</i> Lucas, 1864, 2019 (A: Erkek birey, B: Dişi Birey)	15
Şekil 3.5. <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait bireylerin toplandığı habitat alanları (A: <i>Saga hakkarica</i> ; Hakkari, Merkez, Bayköy, B: <i>Saga ephippigera</i> ; Erzincan, Kemaliye, Ocak köyü, C: <i>Saga syriaca</i> ; Urfa Bozova, Gülbiten Mezrası).....	16
Şekil 3.6. Çalışma kapsamındaki <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait 15 bireyden izole elde edilen Genomik DNA'ların UV ışığı altındaki jel görüntüsü (%1'lik agaroz jel).....	19
Şekil 3.7. Çalışma kapsamındaki <i>Ephippigera</i> tür grubundaki 15 bireyden izole edilen genomik DNA'ların 16S rDNA geni amplifikasyonu sonucu elde edilen PCR ürünlerinin UV ışığı altındaki jel görüntüsü.....	19
Şekil 3.8. 16S rDNA geni dizilerinin BLAST işlemi ve kontaminasyon kontrolü....	20
Şekil 3.9. Tez çalışması kapsamında elde edilen 16S rDNA geni dizilerinin Clustal W Multiple Aligment programı ile yapılan çoklu hizalama (multiple alignment) işlemi	21
Şekil 4.1. <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan ve Bayesiyan analizi sonucu ortaya çıkan filogenetik akrabalıkları.....	30
Şekil 4.2. <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan ve Maksimum Likelihood analizi sonucu ortaya çıkan filogenetik akrabalıkları	31
Şekil 4.3. BEAST analizi sonucu elde edilen, ESS (Effective Sample Size), tahmini posterior dağılım (estimated posterior distribution) parametreleri ve özet istatistik verileri	33

Şekil 4.4. BEAST analizi sonucu elde edilen, TRACE (iz) uygulaması ile tahmini posterior dağılım (estimated posterior distribution) parametreleri.....33

Şekil 4.5. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan, BEAST programı ile elde edilen moleküler saat uygulamasıyla, farklılaşma zamanlarını gösteren dendrogram (0,09 = 0.09 milyon yıl).....34



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>Ephippigera</i> tür grubun güncel sistematığı	10
Çizelge 3.2. Tez çalışmasında incelenen <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubu ve dış grubun; populasyon, lokalite, haplotip kodları ve GenBank katılım (Accessions numbers) numaralarına ait bilgiler	12
Çizelge 3.3. PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlere ait bilgiler	18
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizilerinin haplotip dağılımı ve çeşitliliğine ait veriler	25
Çizelge 4.2. <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizileri ve varyasyonel diziler	26
Çizelge 4.3. Çalışma kapsamında <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizilerine ait korunan bölgeler (C= Conserved regions)	27
Çizelge 4.4. Tez çalışmasında yer alan <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubunda, populasyon içi ortalama (average) HKY genetik uzaklık (distance) değerleri	28
Çizelge 4.5. Tez çalışmasında yer alan <i>Saga</i> cinsi <i>Ephippigera</i> tür grubunda, populasyonlar arası ortalama (average) HKY genetik uzaklık (distance) değerleri	28
Çizelge 4.6. ModelTEST uygulama verileri (Akaike Information Criterion)	29

1. GİRİŞ

Anadolu topoğrafyası, iklim ve ekosistem çeşitliliği, birden çok fitocoğrafik ve zoocoğrafik bölge ve elementleri içeren coğrafi konumu ve Anadolu diyagonalı gibi fiziksel bariyerler nedeni ile biyolojik açıdan oldukça zengin bir bölgedir. Bu nedenle Anadolu dar alanlarda dahi birçok mikro/makro habitat içermektedir. Bu özelliklerinden dolayı Anadolu'nun zengin bir biyolojik çeşitliliğe sahip olduğu bilinmektedir (Davis, 1971; Demirsoy, 1977; Ekim ve Güner, 1986; Çıplak vd., 1993; Çıplak, 2004; Atalay, 2006; Çıplak, 2008; Ansell vd., 2011; Şekercioğlu vd., 2011). Anadolu'daki zengin faunal oluşumun yukarıda belirtilenler gibi birçok nedeni olsa da, iki ana neden oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenler; (i) Anadolu'nun, Palearktik bölgenin paleocoğrafik olarak en aktif alanlarından birisi olması (Steininger ve Rögl, 1984) ve (ii) Anadolu'nun Kuaterner buzul dönemlerinin önemli sığınaklarından biri olması ve kademeli olarak daha kuzeydeki formların Anadolu'ya geçiş yapmasıdır. Buzul dönemlerinde, Anadolu'nun özellikle 2000 m ve üzerindeki zirvelerinin buzullarla kaplandığı rapor edilmiştir (Atalay, 2006). Dolayısıyla Anadolu'nun, kuzeyinden güneye doğru yayılım gösteren canlılara sığınak görev gördüğü düşünülmektedir (De Lattin, 1967; Hewitt, 1996; Demirsoy, 1999; Çıplak, 2004, 2008; Şirin vd., 2011; Gür, 2013, 2016).

Anadolu'daki biyolojik çeşitliliğinin önemli faunal elemanlarından, Insecta (böcekler) içerisinde, nispeten iyi çalışılmış gruplardan biri de Orthoptera (çekirgeler) takımıdır. Orthoptera takımı, Dünya'da iki alttakıma ait (Caelifera (kısa antenli çekirgeler) ve Ensifera (uzun antenli çekirgeler) yaklaşık 29000 tür ile temsil edilmektedir (Cigliano vd., 2020). Ülkemizde ise bu iki alttakıma ait yaklaşık 740 tür mevcuttur (Ünal, 2011). Bu alttakımlardan, Ensifera alttakımı uzun antenli çekirgeler olup, ülkemizde 6 familya içermektedir. Bu familyalar, tez çalışmada yer alan tür grubunun da yer aldığı ve ülkemizde yaklaşık 380 tür içeren Tettigoniidae familyası ve diğer 5 familya; Gryllidae, Gryllotalpidae, Rhaphidophoridae, Mogoplistidae ve Schizodactylidae familyalarıdır (Ünal, 2011; Taylan ve Şirin, 2016; Cigliano vd., 2020). Tettigoniidae Krauss, 1902, familyası ile yapılan çalışmalar, türlerin % 60'ının Anadolu'ya endemik olduğunu göstermiştir (Karabağ, 1958; Çıplak ve Demirsoy, 1995; Taylan vd., 2019).

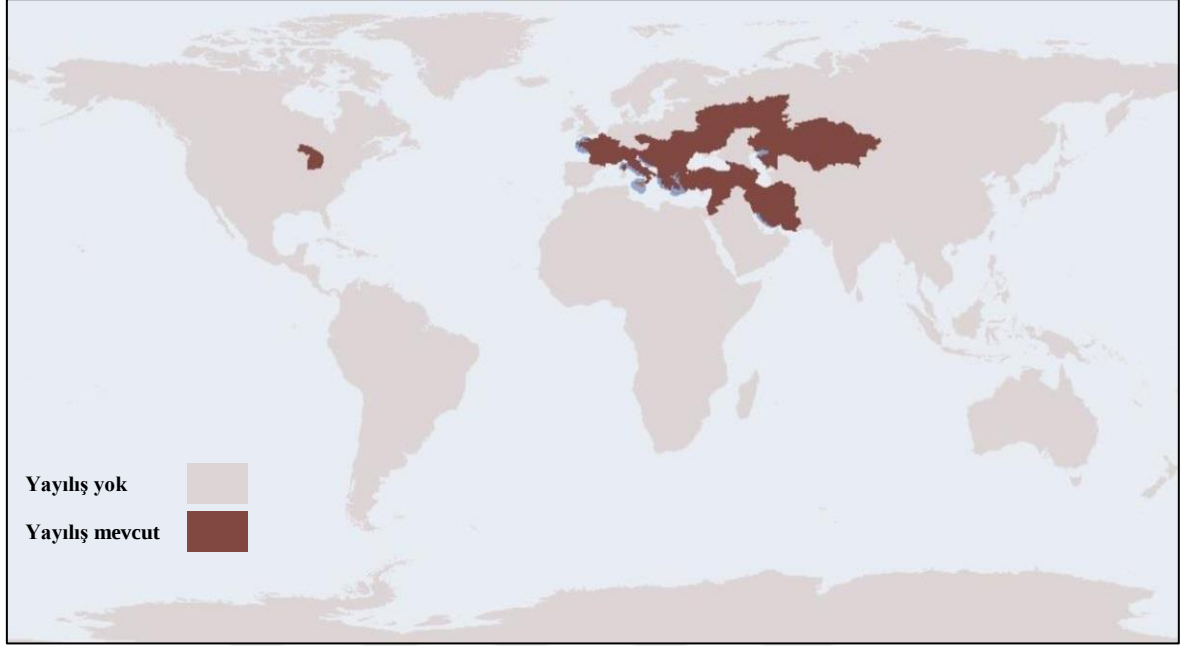
Avrupa'daki en büyük böcek türlerini içeren *Saga* Charpentier, 1825, cinsi (dev çalı çekirgeleri), Tettigoniidae familyasına dâhil olup, dünya üzerinde 17 tür ile temsil edilmektedir. Cinsin dünya üzerindeki yayılışı ele alındığında (Şekil. 1.1.), ağırlıklı olarak Anadolu'da ve ikincil olarak tür çeşitliliği bakımından Yunanistan ve Balkanlar'da yayılış gösterdiği anlaşılmaktadır (Kaltenbach, 1970; Şirin vd., 2019; Cigliano vd., 2020). *Saga* cinsinin, Anadolu'dan dokuz tür (*S. natoliae* Serville, 1839; *S. ephippigera* Fischer von Waldheim, 1846; *S. syriaca* Lucas, 1864; *S. longicaudata* Krauss, 1879; *S. puella* Werner, 1901; *S. cappadocica* Werner, 1903; *S. rhodiensis* Salfi, 1929; *S. beieri* Kaltenbach, 1967 ve *S. hakkarica* Şirin ve Taylan 2019) ve Trakya'dan ise 1 (bir) tür (*S. campbelli* Uvarov, 1921) olmak üzere toplam 10 türün ülkemizde yayılış gösterdiği literatür kayıtlarında bildirilmiştir (Karabağ, 1958; Kaltenbach, 1967; Şirin vd., 2019). Cinsin tür çeşitliliği bakımından yayılış gösterdiği ikinci zengin alan ise 5 (beş) türün (*S. natoliae* Serville, 1839; *S. campbelli* Uvarov, 1921; *S. rhodiensis* Salfi, 1929; *S. gracilis* Kis, 1962; *S. rammei* Kaltenbach, 1965 ve *S. helenica* Kaltenbach, 1967) bulunduğu, Yunanistan ve Balkanlardır (Kaltenbach, 1970; Lemonnier-Darcemont, 2009; Kolics vd., 2012). Bu türlerin haricinde, *Saga pedo* (Pallas, 1771) türünün Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar (Kolics vd., 2008), *S. ledereri* Saussure, 1888 türünün Lübnan ve Suriye ağırlıklı, *S. ornata* Burmeister, 1838 türünün ise Filistin ağırlıklı olmak üzere, İsrail'den de kayıtları olduğu bilinmektedir (Kaltenbach, 1967). Cinsin, Palearktik bölgede yayılış gösteren 16 türü haricinde, Nearktik bölgede (Şili) *S. quadrisignata* Philippi, 1863, türünün yayılış gösterdiği belirtilmiş (Şekil 1.1.) ancak Kaltenbach (1964) bu türün *Saga* haricinde başka bir cinse ait olması gerektiğini vurgulamıştır. Diğer taraftan Elgueta (1999), Şili'de yaptığı faunistik çalışmada *S. quadrisignata* türünün Şili sınırlarında yer almadığını belirtilmiştir.

Saga cinsine ait günümüze kadar yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, çalışmaların çoğunlukla klasik taksonomi ve morfoloji yönünden olduğu ve az sayıda biyoakustik değerlendirilmeler yapıldığı görülmektedir (Chopard, 1922; Ramme, 1951; Kaltenbach, 1964, 1967, 1970, 1974; Harz, 1969; Heller, 1988; Kolicks vd., 2008; Lemonnier-Darcemont vd., 2009; Giannoulis vd., 2011; Massa vd., 2012; Şirin vd., 2014; Kolics vd., 2012; Heller vd., 2016; Şirin vd., 2019).

Saga cinsinin Anadolu'da yayılış gösteren türlerine ait birçok faunistik çalışma olsa da (Karabağ, 1949, 1958; Karabağ vd., 1971, 1974, 1980; Güneş, 1984; Çıplak ve Demirsoy, 1991; Sevgili ve Çıplak, 2000; Satar ve Özbay, 2003), morfolojik detaylar içeren tek kapsamlı ve genel çalışma Kaltenbach (1967) tarafından yapılmış ve cinsin orijini olarak Anadolu gösterilmiştir. Ülkemizdeki *Saga* türlerini içeren etolojik (davranışsal) kapsamlı ve erkek çağrı seslerinin biyoakustik yönden incelenmesi içeren ilk çalışma Şirin vd. (2019) tarafından yapılmıştır. Şirin vd. (2019) tarafından yapılan biyoakustik analiz temelli çalışmada, *S. beieri* Kaltenbach, 1967, *S. cappadocica* Werner, 1903, *S. ephippigera* Fischer von Waldheim, 1846, *S. hakkarica* Şirin & Taylan, 2019, *S. longicaudata* Krauss, 1879, *S. natoliae* Serville, 1838, *S. puella* Werner, 1901 ve *S. syriaca* Lucas, 1864, türü olmak üzere sekiz türü incelemiştir. Bu türlerden *S. beieri*, *S. cappadocica*, *S. hakkarica*, *S. longicaudata* ve *S. puella* türleri Anadolu endemiği olup, *S. ephippigera* türünün de en geniş yayılışının Anadolu'da olduğu bildirilmiştir. Şirin vd. (2019) yaptıkları çalışmada bioakustik veri ve karakterlere dayanarak, 3 tür grubu tanımlamışlardır. Bu tür grupları; (i) *Ephippigera* tür grubu (*S. syriaca* + (*S. ephippigera* + *Saga hakkarica*), (ii) *Natoliae* tür grubu (*S. natoliae* + (*S. beieri* + (*S. longicaudata* + *S. puella*)) ve (iii) *S. cappadocica* tür grubudur. Yine aynı çalışmada alttür seviyesindeki iki takson, biyoakustik farklılıklardan dolayı, tür düzeyinde (*S. ephippigera ephippigera* alt türü, *S. ephippigera* türü ve *S. ephippigera syriaca* alttürü ise *S. syriaca* türü olarak) değerlendirilmiştir. Ancak biyoakustik temelli tür gruplarının ve türlerin moleküler verilerle de desteklenmesi gerekmektedir.

Saga cinsine ilişkin moleküler belirteçlerden (marker) olan mitokondriyal veya nüklear genlere dayalı değerlendirmeler oldukça sınırlı olup, bu alanda yalnızca iki çalışma mevcuttur (Giannoulis vd., 2011; Kolics vd., 2012). Giannoulis vd. (2011) COI geni dizisini kullanarak, Avrupa'da yayılış gösteren 6 türü (*S. campbelli*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. pedo*, *S. rammei* ve *S. rhodiensis*) filogenetik açıdan değerlendirmişlerdir. Diğer çalışma ise daha kapsamlı bir çalışma olup, bu çalışmada 3 mitokondriyal gen (COI, Cytb, ve 16S rRNA) ve çekirdek DNA'sına ait bir gen (ITS2) kullanılarak 9 türün (*S. c. campbelli*, *S. c. gracilis*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. ornata*, *S. pedo*, *S. rammei*, *S. cappadocica* ve *S. ephippigera*) filogenetik analizi yapılmıştır (Kolics vd., 2012). Ancak bu

Çalışmada, Anadolu'dan kullanılan iki türün bulunduğu kladlarda, tam bir çözümlemenin olmadığı görülmektedir.



şekil 1.1. *Saga* cinsine ait türlerin dünya üzerindeki yayılış haritası (Orthoptera Species Files (version 5.0/5.0)).

Çalışmamızda yer alan ve uzun antenli bir ekirge cinsi olan *Saga* cinsi avcı/predatör ekirge türleri içermektedir. Bu nedenle bu çekirgeler bulundukları ekosistemler için dengeleyici bir özelliğe sahiptir. *Saga* cinsine ait türlerin, tarım ürünlerine zarar veren böceklerle beslenmesi nedeniyle, biyolojik mücadelede önemli rol oynamaktadırlar. Bu nedenle cinse ait türlerinin belirlenmesi, tür ve türleşme süreçlerinin incelenmesi ve ülkemizdeki yayılışlarının saptanması önem arz etmektedir. Morfolojiye dayalı değerlendirmeler her ne kadar taksonomide temel teşkil etse de, son yıllarda integratif taksonominin gelişmesiyle genetik, ekolojik ve evrimsel değerlendirmeler, tür kavramının gelişmesine önemli katkılar sunmuştur (De Queiroz, 1998; Harrison, 1998; Templeton, 1998; Hey, 2001).

Özellikle moleküler genetik alanının ilerlemesi ile filogenetik çalışmalar önem kazanmış ve kladogenetik olayların tarihlendirilmesi, taksonların paleocoğrafı, filocoğrafı ve tarihi arka planlarına ilişkin farklı yaklaşım ve değerlendirmelerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu bağlamda, bu tez çalışmasında *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun (şirin vd., 2019), moleküler bir belirteç gen olan mitokondriyal 16S rDNA kullanılarak, filogenisinin ortaya çıkarılması, morfolojik tür hipotezlerinin moleküler verilerle sınanması, grupta

yer alan taksonların taksonomik durumlarının netleştirilmesi ve tür kavramı konusundaki tartışmalara katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Anadolu'nun zengin bir biyolojik çeşitliliğe sahip olduğu (Davis, 1971; Demirsoy, 1977; Ekim ve Güner, 1986; Çıplak vd., 1993; Çıplak, 2004; Atalay, 2006; Çıplak, 2008; Ansell vd., 2011; Şekercioğlu vd., 2011) ve bu zenginliğin Anadolu'nun, Paleartik bölgenin paleocoğrafik olarak en aktif alanlarından birisi olması (Steininger ve Rögl, 1984) ve Kuaterner buzul dönemlerinin önemli sığınaklarından biri olması nedeniyle olduğu değerlendirilmektedir. Buzul dönemlerinde, Anadolu'nun özellikle 2000 m ve üzerindeki yükseltilerinin buzullarla kaplandığı (Atalay, 2006) ve dolayısıyla kuzey hattındaki canlılar için sığınak görevi gördüğü düşünülmektedir (De Lattin, 1967; Hewitt, 1996; Demirsoy, 1999; Çıplak, 2004, 2008; Şirin vd., 2011; Gür, 2013, 2016).

Orthoptera takımı ülkemizdeki böcek çeşitliliğinin önemli unsurlarındandır ve yaklaşık 740 tür içermektedir (Ünal, 2011). Orthoptera takımına ait 6 familyadan, en kalabalığı ülkemizde, yaklaşık 380 tür içeren Tettigoniidae familyasıdır ve takıma ait ülkemizde buluna diğer 5 familya; Gryllidae, Gryllotalpidae, Rhaphidophoridae, Mogoplistidae ve Schizodactylidae familyalarıdır (Ünal, 2011; Taylan ve Şirin, 2016; Cigliano vd., 2020). Yapılan literatür çalışmalarında Tettigonid türlerinin % 60'ının Anadolu'ya endemik olduğunu gösterilmiştir (Karabağ, 1958; Çıplak ve Demirsoy, 1995; Taylan vd., 2019). Tettigoniidae familyasında olan *Saga* Charpentier, 1825, cinsi (dev çalı çekirgeleri), dünyada 17 tür ile temsil edilmektedir (Cigliano vd., 2020). Cinsine ait türlerin, ağırlıklı olarak Anadolu'da, Yunanistan ve Balkanlar'da yayılım gösterdiği bilinmektedir (Kaltenbach 1970; Şirin vd., 2019; Cigliano vd., 2020). *Saga* cinsinin ülkemizde 10 tür ile temsil edilmektedir Bu türlerin 9'u Anadolu'da: *S. natoliae* Serville, 1839; *S. ephippigera* Fischer von Waldheim, 1846; *S. syriaca* Lucas, 1864; *S. longicaudata* Krauss, 1879; *S. puella* Werner, 1901; *S. cappadocica* Werner, 1903; *S. rhodiensis* Salfi, 1929; *S. beieri* Kaltenbach, 1967 ve *S. hakkarica* Şirin ve Taylan, 2019 ve 1 tür ise Trakya'da: *S. campbelli* Uvarov, 1921 yayılım göstermektedir (Karabağ, 1958; Kaltenbach, 1967; Şirin vd., 2019). *Saga* cinsi Yunanistan ve Balkanlar ise 5 tür ile temsil edilmektedir. Bu türler: *S. natoliae* Serville, 1839; *S. campbelli* Uvarov, 1921; *S. rhodiensis* Salfi, 1929; *S. gracilis* Kis, 1962; *S. rammei* Kaltenbach, 1965 ve *S. helenica* Kaltenbach, 1967 türleridir (Kaltenbach, 1970; Lemonnier-Darcemont

vd., 2009; Kolics vd., 2012). Bu türlerin haricinde, *Saga pedo* (Pallas, 1771)'nın Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar *S. ledereri* Saussure, 1888, türünün Lübnan ve Suriye ağırlıklı, *S. ornata* Burmeister, 1838, türünün ise Filistin ve İsrail'den de kayıtları olduğu bilinmektedir (Kaltenbach, 1967; Kolics vd., 2008). Diğer taraftan *Saga* cinsinin, Palearktık bölgede yayılış gösteren 16 türü haricinde, Nearktık bölgede (Şili) *S. quadrisignata* Philippi, 1863, türünün yayılış gösterdiği literatürde kayıt edilmiştir. Ancak Kaltenbach (1964) bu türün *Saga* haricinde başka bir cinse ait olması gerektiğini vurgulamış ve Elgueta (1999), Şili'de yaptığı faunistik çalışmada *S. quadrisignata* Philippi, 1863 türünün Şili sınırlarında yer almadığını belirtmiştir.

Saga cinsine ait günümüze kadar yapılan çalışmalara ilişkin literatürler değerlendirildiğinde, çalışmaların çoğunlukla klasik taksonomi ve morfoloji yönünden olduğu ve az sayıda biyoakustik değerlendirilmeler yapıldığı görülmektedir (Chopard, 1922; Ramme, 1951; Kaltenbach, 1964, 1970, 1974; Harz 1969; Heller, 1988; Kolicks vd., 2008; Lemonnier-Darcemont, vd., 2009; Giannoulis vd., 2011; Massa vd., 2012; Şirin vd., 2014; Kolics vd., 2012; Heller vd., 2016; Şirin vd., 2019). *Saga* cinsinin Anadolu'da yayılış gösteren türlerine ait faunistik çalışmalar (Karabağ, 1949, 1958; Karabağ vd., 1971, 1974, 1980; Güneş, 1984; Çıplak ve Demirsoy, 1991; Sevgili ve Çıplak, 2000; Satar ve Özbay, 2003) tür kaydı ve listesi vb. çalışmalar olup, morfolojik detaylar içeren kapsamlı ve genel çalışma Kaltenbach (1967) tarafından yapılmış olup, bu çalışmada cinsin Anadolu'dan köken aldığı değerlendirilmiştir. *Saga* türlerini içeren etolojik (davranışsal) biyoakustik ilk kapsamlı çalışma Şirin vd. (2019) tarafından yapılmıştır. Şirin vd. (2019) biyoakustik değerlendirmelerinde 3 tür grubu tanımlamışlardır. Bunlar; (i) *Ephippigera* tür grubu (*S. syriaca* + (*S. ephippigera* + *S. hakkarica*), (ii) *Natoliae* tür grubu (*S. natoliae* + (*S. beieri* + (*S. longicaudata* + *S. puella*)) ve (iii) *S. cappadocica* tür gruplarıdır. Ayrıca bu çalışmada alttür seviyesindeki iki takson, biyoakustik farklılıklardan dolayı, tür düzeyinde (*S. ephippigera ephippigera* alt türü, *S. ephippigera* türü ve *S. ephippigera syriaca* alttürü ise *S. syriaca* türü olarak) değerlendirilmiştir. Ancak tür gruplarının ve türlerin moleküler verilerle de desteklenmesi gerektiği belirtilmiştir.

Saga cinsine ilişkin moleküler çalışmalar ele alındığında, karışımıza iki çalışma çıkmaktadır. Bu çalışmalardan ilkinde Giannoulis vd. (2011) mtDNA

COI geni kullanarak, Avrupa'daki 6 türün (*S. campbelli*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. pedo*, *S. rammei* ve *S. rhodiensis*) filogenetik analizini yapmışlardır. İkinci çalışmada ise mtDNA COI, Cytb, 16S rRNA ve nuDNA ITS2 genleri kullanılarak 9 türün (*S. c. campbelli*, *S. c. gracilis*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. ornata*, *S. pedo*, *S. rammei*, *S. cappadocica* ve *S. ephippigera*) filogenetik analizi yapılmıştır (Kolics vd., 2012).

Bu çalışmada yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubu Şirin vd. (2019) tarafından morfoloji ve biyoakustik verilere dayanılarak önerilmiştir. Morfolojiye dayalı değerlendirmeler temel düzeyde önemli olsa da, genetik, ekolojik ve evrimsel değerlendirmeler, tür kavramının gelişmesine katkı sağlamış ve 20.yy sonlarından itibaren çok sayıda tür kavramının oluşmasını beraberinde getirmiştir (De Queiroz, 1998; Harrison, 1998; Templeton, 1998; Hey, 2001). Bu bağlamda, bu tez çalışmasında *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun (Şirin vd., 2019), moleküler bir belirteç gen olan mitokondriyal 16S rDNA kullanılarak, filogenisinin ortaya çıkarılması, tür hipotezlerinin moleküler belirteçler kullanılarak sınanması, tür grubundaki taksonların taksonomik durumlarının netleştirilmesinin, bu alandaki tartışmalara ve bilgi birikimine katkı sunacağı öngörülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmanın materyal ve yöntem bölümü, (i) Çalışma Materyali ve Arazi Çalışmaları ve (ii) Moleküler Çalışmalar ve Analizler, olmak üzere 2 alt başlık altında ele alınmıştır.

3.1. Çalışma Materyali ve Arazi Çalışmaları

Çalışma materyalini, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait bireyler oluşturmaktadır. Şirin vd. (2019) biyoakustik değerlendirmelerinde ülkemizde yayılış gösteren *Saga* cinsine ait türleri, biyoakustik veriler temelinde 3 tür grubuna ayırmışlardır. Bu tür gruplarından biri olan *Ephippigera* tür grubu, *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerinden oluşmakta olup (Şekil 3.2., Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.) güncel sistematiikleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çalışma kapsamında 2020 yılı Haziran ve Temmuz aylarında *Ephippigera* tür grubunda yer alan 3 türe ait 5'er birey, cinse uygun habitat alanlarında (Şekil 3.5.), gündüz saatlerinde, atrap yardımıyla toplanmış ve moleküler çalışmalar yapmak üzere %96'lık etil alkol içeren falkon tüpler içerisine konarak, Hakkari Üniversitesi, Biyoçeşitlilik Araştırma Merkezi, Zooloji Müzesi (HAKBİYOM-ZM) ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Entomoloji Müzesi'nde (NKUEM) -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Toplanan örneklerin teşhisi, Leica DFC295 marka stereo mikroskop kullanılarak, ilgili literatürler yardımıyla yapılmıştır (Kaltenbach, 1964, 1967; Harz, 1969; Kaltenbach, 1970, 1974; Şirin vd., 2019).

Çizelge 3.1. *Ephippigera* tür grubun güncel sistematığı (Cigliano vd., 2020)

Regnum	Animalia
Phylum	Arthropoda
Superclassis	Hexapoda
Classis	Insecta
Subclassis	Pterygota
Infraclassis	Neoptera
Cohort	Polyneoptera
Superordo	Orthopterida
Ordo	Orthoptera
Subordo	Ensifera
Infraorder	Tettigoniidea
Superfamily	Tettigonioidea Krauss, 1902
Family	Tettigoniidae Krauss, 1902
Subfamily	Saginae Brunner von Wattenwyl, 1878
Tribe	Sagini Brunner von Wattenwyl, 1878
Genus	<i>Saga</i> Charpentier, 1825
Species group	<i>Ephippigera</i> (Şirin vd., 2019)
Species	<i>Saga ephippigera</i> Fischer von Waldheim, 1846
Species	<i>S. syriaca</i> Lucas, 1864
Species	<i>S. hakkarica</i> Şirin & Taylan, 2019

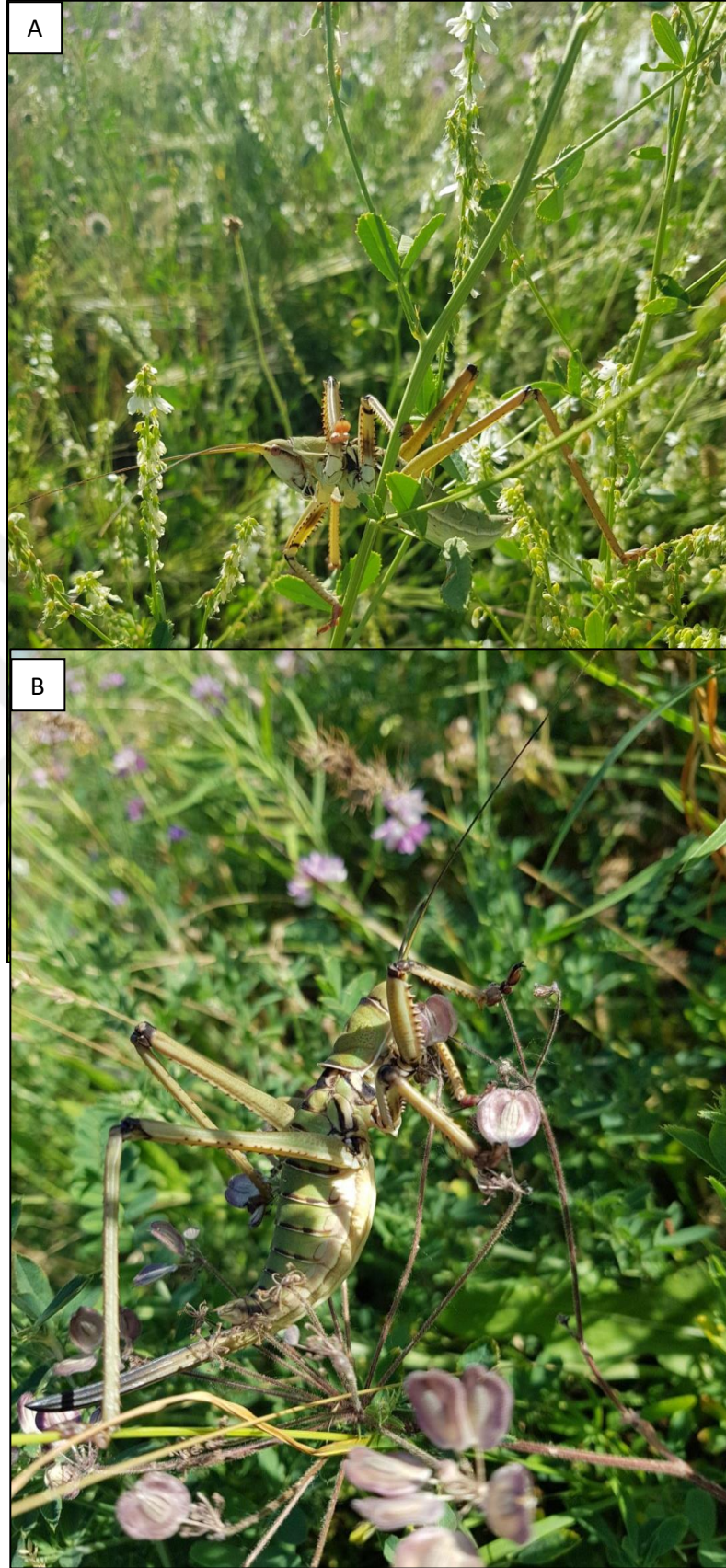


Şekil 3.1. Tez çalışmasında yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait bireylerin toplandığı lokalitelerin Türkiye haritası üzerindeki gösterimi (Kaynak: Google Earth Pro, Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO, 2020 Basarsoft, Image Landsat /Copernicus (Daire: *Saga hakkarica*, Üçgen: *Saga ephippigera*, Eşkenar dörtgen: *Saga syriaca*).

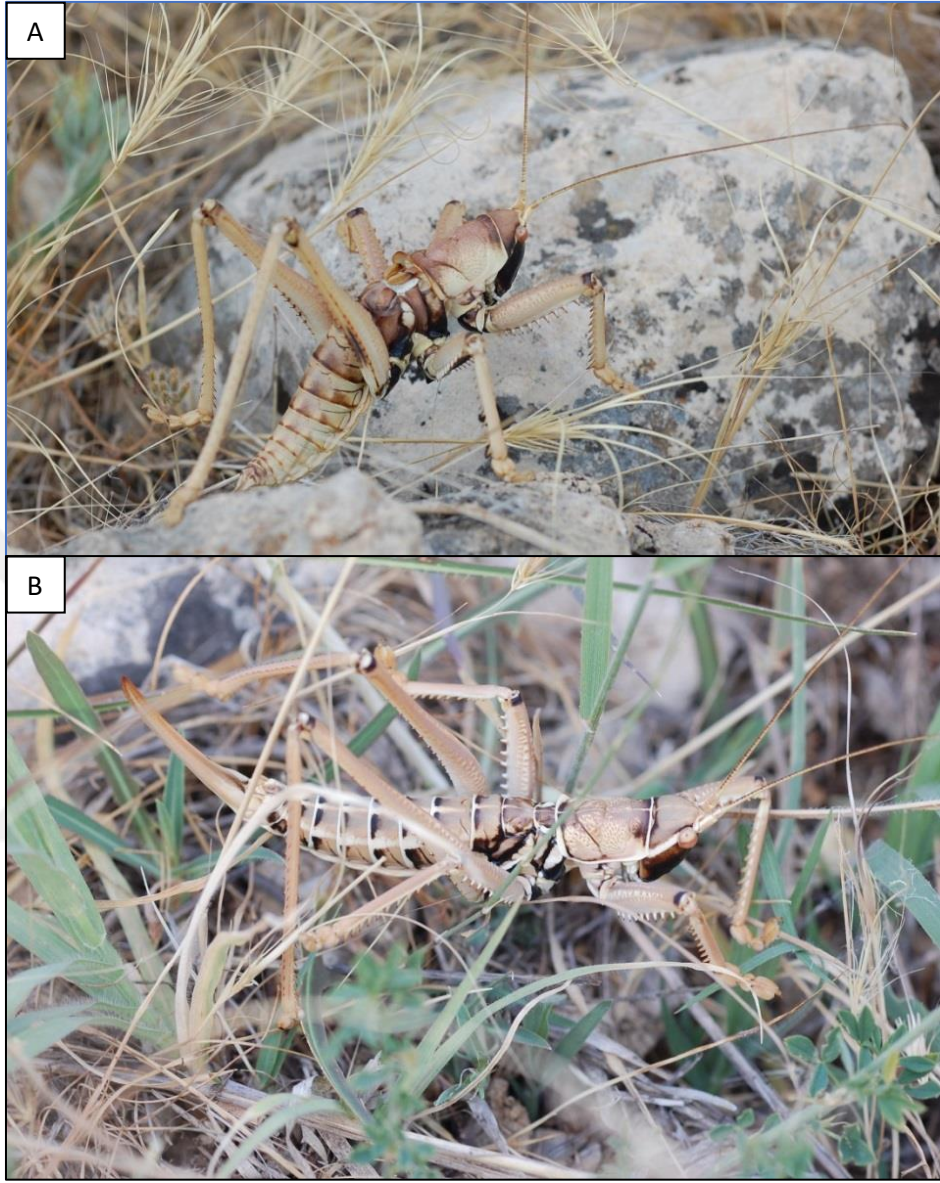
Çizelge 3.2. Tez çalışmasında incelenen *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubu ve dış grubun; populasyon, lokalite, haplotip kodları ve GenBank katılım (Accessions numbers) numaralarına ait bilgiler

Tür	Populasyon	Lokalite	Haplotip kodu	GenBank katılım numarası
Dış grup (Outgroup)				
<i>*Kawanaphila nartee</i>			<i>Hap_1</i>	AF514497*
İç grup (Ingroup)				
<i>Saga ephippigera</i>	Erzincan, Kemaliye	Türkiye, Erzincan, Kemaliye, Ocak Köyü, N 39°08.732, E 38°35.296, 1485 m., 11.VII.2020, 2♂, 2♀, leg.: D. Şirin & M.S. Taylan	<i>Hap_7,Hap_8, Hap_9,Hap_10</i>	MW134714- MW134718
<i>Saga hakkarica</i>	Hakkari, Bayköy	Türkiye, Hakkari, Bayköy, Batı yamacı, 2035 m, N: 37°32.89 E: 43°42.70, 13.VII.2018, 2♂, 3♀, leg.: M.S. Taylan	<i>Hap_2,Hap_3, Hap_4,</i>	MW134709- MW134713
<i>Saga syriaca</i>	Şanlıurfa Bozova	Türkiye, Şanlıurfa, Bozova, Gülbiten Mezrası, N: 37° 23' 163, E: 38° 31' 779, 649 m, 06.VI.2020, 3♂, 2♀, leg.: D. Şirin & M.S. Taylan	<i>Hap_5,Hap_6,</i>	MW134704- MW134708

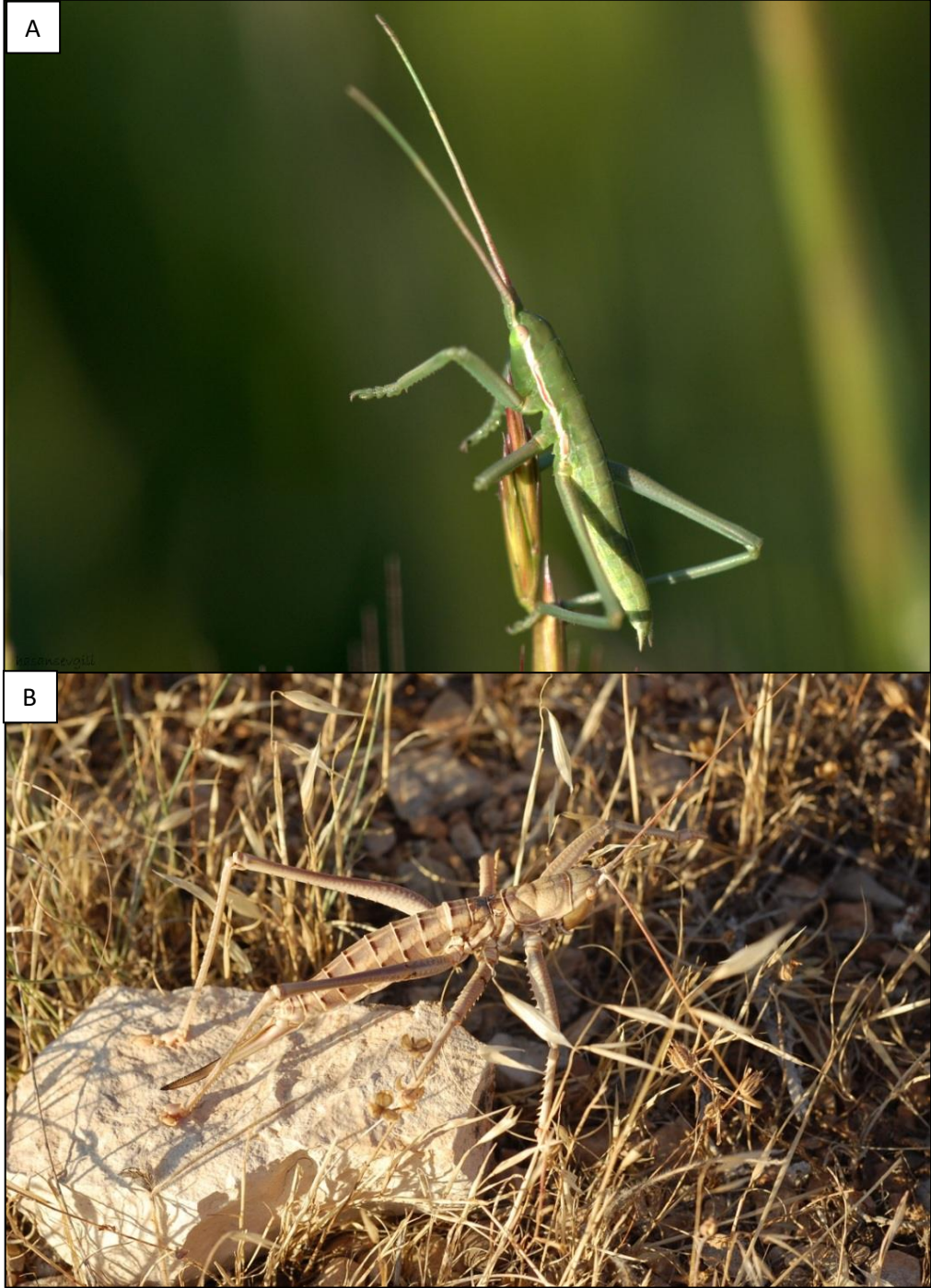
*Data Genbank'tan alınmıştır.



Şekil 3.2. *Saga hakkarica* Şirin&Taylan, 2019 (A: Erkek birey, B: Dişi birey)



Şekil 3.3. *Saga ephippigera* Fischer von Waldheim, 1846 (A: Erkek birey, B: Dişi birey)



Şekil 3.4. *Saga syriaca* Lucas, 1864 (A: Erkek birey, B: Dişi birey)



Şekil 3.5. *Saga* cinsi *Ehippiger*a tür grubuna ait bireylerin toplandığı habitat alanları (**A:** *Saga hakkarica*; Hakkari, Merkez, Bayköy, **B:** *Saga ehippiger*a; Erzincan, Kemaliye, Ocak köyü, **C:** *Saga syriaca*; Urfa Bozova, Gülbiten Mezrası)

3.2. Moleküler Çalışmalar ve Filogenetik Analizler

Tez çalışması kapsamında yürütülen moleküler çalışmalar ve filogenetik analizler 6 aşamada gerçekleştirildi. Bu aşamalardan (i) DNA izolasyonu, (ii) 16S rDNA geni amplifikasyonu (PCR) ve (iii) mitokondriyal 16S rDNA geni dizi analizi hizmet alım yoluyla yapıldı (NABİLTEM-Namık Kemal Üniversitesi). Daha sonra (iv) mitokondriyal 16S rDNA geni dizilerinin hizalanması (alignmentları), (v) mitokondriyal 16S rDNA geni dizilerinin filogenetik analizleri ve (vi) kladogenetik olayların tarihlenmesi (moleküler saat uygulaması) yapılarak moleküler çalışmalar ve filogenetik analizler gerçekleştirildi.

3.2.1. Total DNA İzolasyonu

Araziden toplanan (Şekil 3.4.) ve % 96'lık etil alkol içerisinde -20 °C'de muhafaza edilen, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait bireylerin arka femurlarından, total DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Total DNA izolasyonu tuz-ekstraksiyon yöntemi izlenerek yapıldı (Aljanabi ve Martinez, 1997). Total DNA izolasyonu tuz-ekstraksiyon yönteminde ilk olarak, lam üzerinde bistüri yardımıyla arka femurun kitin tabaka içerisindeki bir miktar kas kütlesi parçalanarak homojenize hale getirildi. Sonrasında homojenat 2 ml'lik ependorf tüpüne konularak üzerine 560 µl ayrıştırma tamponu (10 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, % 10'luk SDS 17 µl ve proteinaz K 42 µl, RNAaz 25 µl) konuldu ve 1-1,5 saat 65 °C'deki sıcak su banyosunda bekletildi. Daha sonra su banyosundan çıkarılan tüpe 180 µl doymuş NaCl eklenerek oda sıcaklığında 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonunda süpernatant başka bir tüpe aktarılıp DNA'yı çöktürmek amacıyla, üzerine 730 µl izopropanol ilave edildi. Sonra, -20 °C'de 1 gece bekletilen tüp, 13 000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatantı uzaklaştırıldı. Devamında çöktürülen DNA, 300 µl %70 etanol ile yıkanıp 4 °C'de 12 000 rpm'de santrifüj yapıldıktan sonra, pelet şeklinde çöktürüldü ve sonrasında süpernatanttan uzaklaştırılan DNA kurumaya bırakıldı. Elde edilen genomik DNA, 40 µl steril dH₂O ile çözülerek, sonraki aşamalarda kullanılma üzere, 4 °C'de muhafaza edildi. DNA'nın miktar ve saflık tayini spektrofotometre aracılığıyla belirlenerek, %1'lik agaroz jelde DNA'nın bütünlüğünü koruyup korumadığı kontrol edildi (Şekil 3. 6).

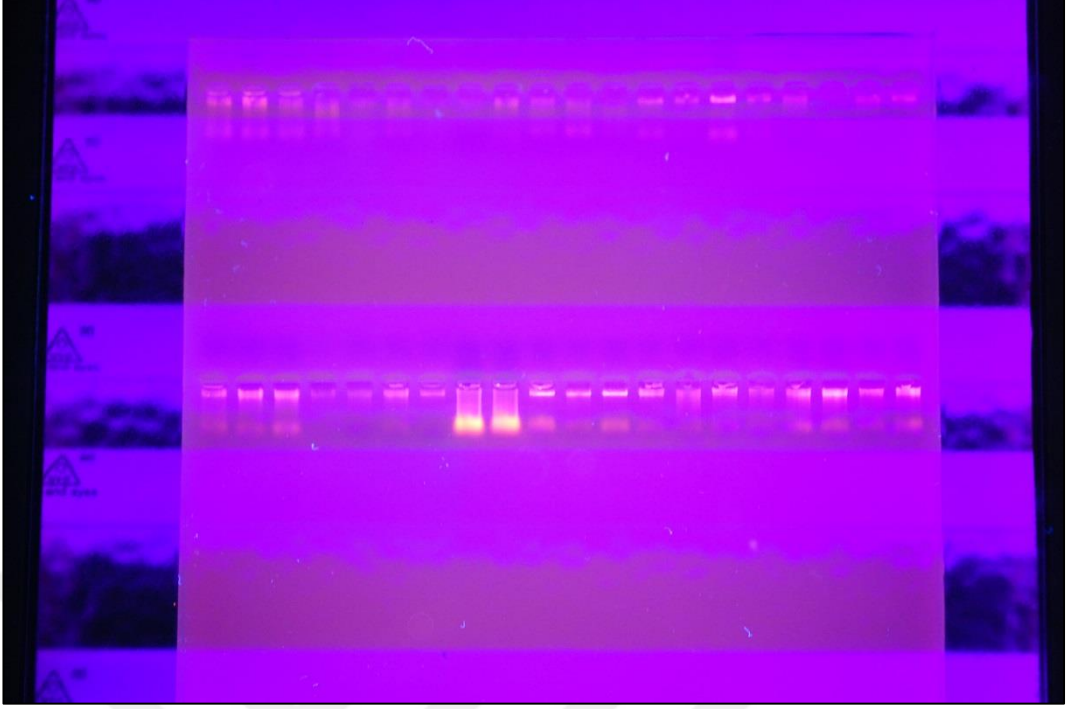
3.2.2. 16S rDNA Geni Amplifikasyonu (PCR)

Mitokondriyal 16S rDNA geni amplifikasyonu için, 16Sa ve 16Sb (Çizelge 3.3.) spesifik primerleri (Palumbi vd., 1996) kullanıldı. PCR reaksiyonu için, 25 µl toplam hacimde, 0.5–1 µl genomik DNA (50-70 ng), 2.5 µl 10X buffer, 0.75 µl 50 mM MgCl₂, her bir primerden 1 µl (10 pmol/µl), 0.5 µl 10 mM dNTP mix, 0.2 µl Taq polimeraz ve geri kalan hacim 25 µl olacak şekilde dH₂O kullanıldı. PCR reaksiyonlarında 37 döngülük bir protokol kullanıldı. 16S rDNA geni amplifikasyonunda; başlangıç (initial) 95 °C’de 5 dakika, ayrılma (denaturation) 94 °C’de 30 saniye, birleşme (annealing) 50 °C’de 45 saniye, uzama (elongation) 72 °C’de 150 saniye ve son uzama (final extension) 72 °C’de 5 dakika protokolü izlendi.

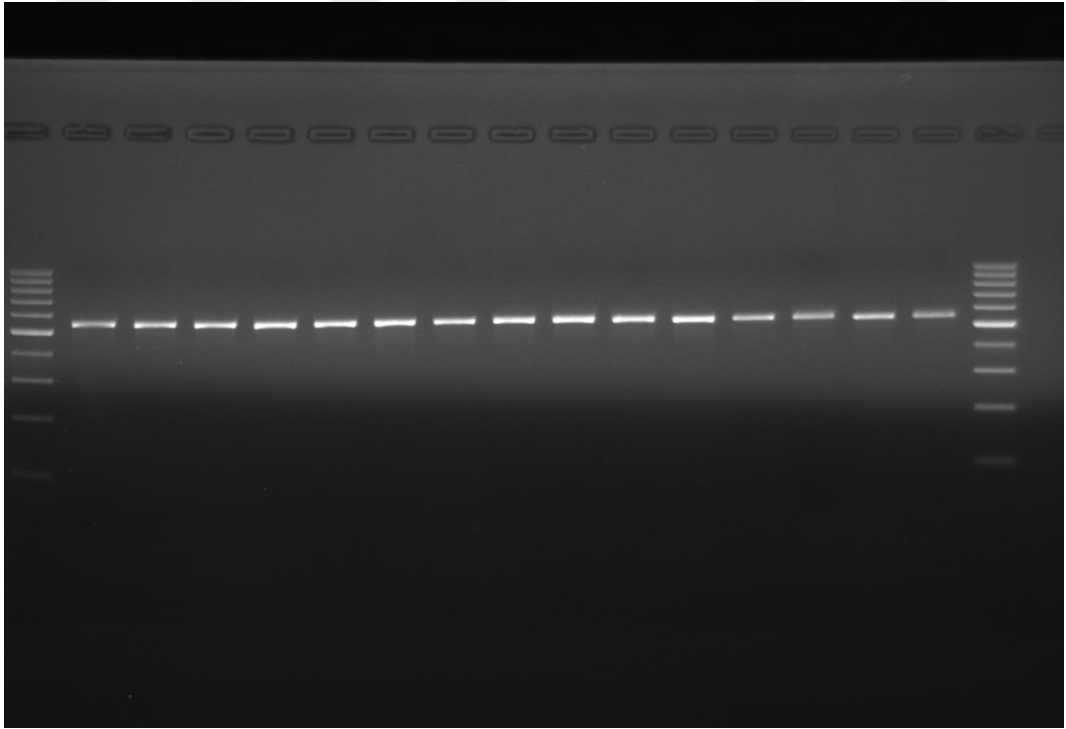
Elde edilen PCR ürünleri belirteç (marker) DNA kullanılarak jel (%2’lik agaroz jel) elektoroforezinde yürütülerek, varlıkları UV transillüminatörde kontrol edildi (Şekil 3.7.) ve jel ekstraksiyon kiti kullanılarak jelden izole edildi.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlere ait bilgiler

Gen	Primer	Dizi 5'-3'	Referans
16S rDNA	16Sa	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi vd. (1996)
16S rDNA	16Sb	CTCCGGTTTGAAGTCAGATCA	Palumbi vd. (1996)



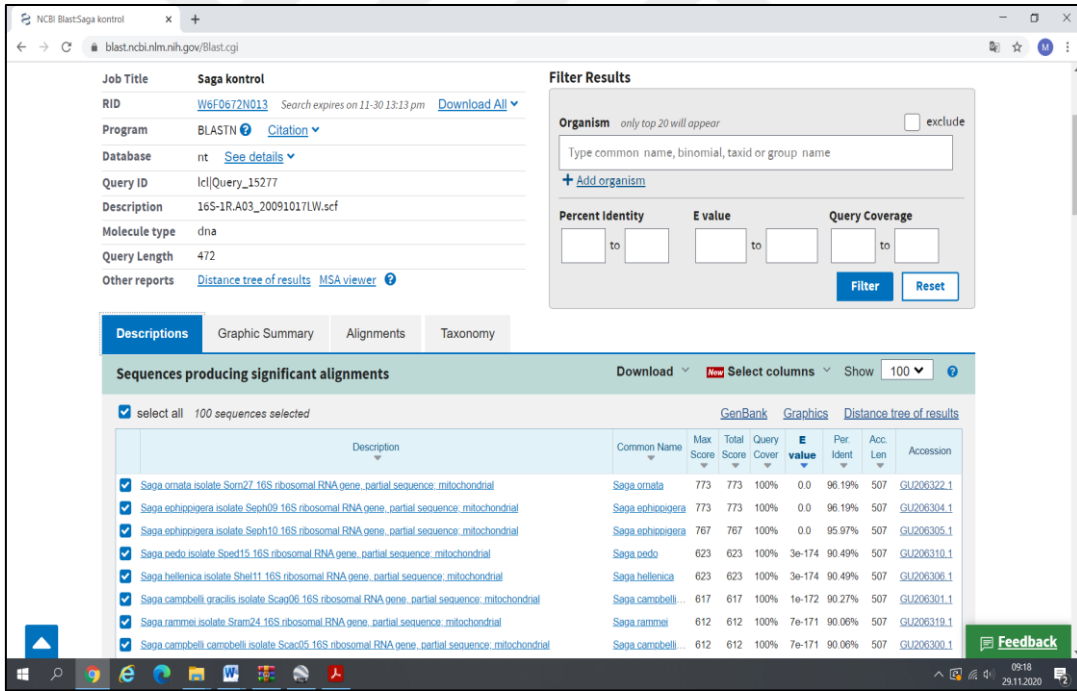
Şekil 3.6. Çalışma kapsamındaki *Ephippigera* tür grubuna ait 15 bireyden izole edilen Genomik DNA'ların UV ışığı altındaki jel görüntüsü (%1'lik agaroz jel)



Şekil 3.7. Çalışma kapsamındaki *Ephippigera* tür grubundaki 15 bireyden izole edilen genomik DNA'ların 16S rDNA geni amplifikasyonu sonucu elde edilen PCR ürünlerinin UV ışığı altındaki jel görüntüsü

3.2.3. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizi Analizi

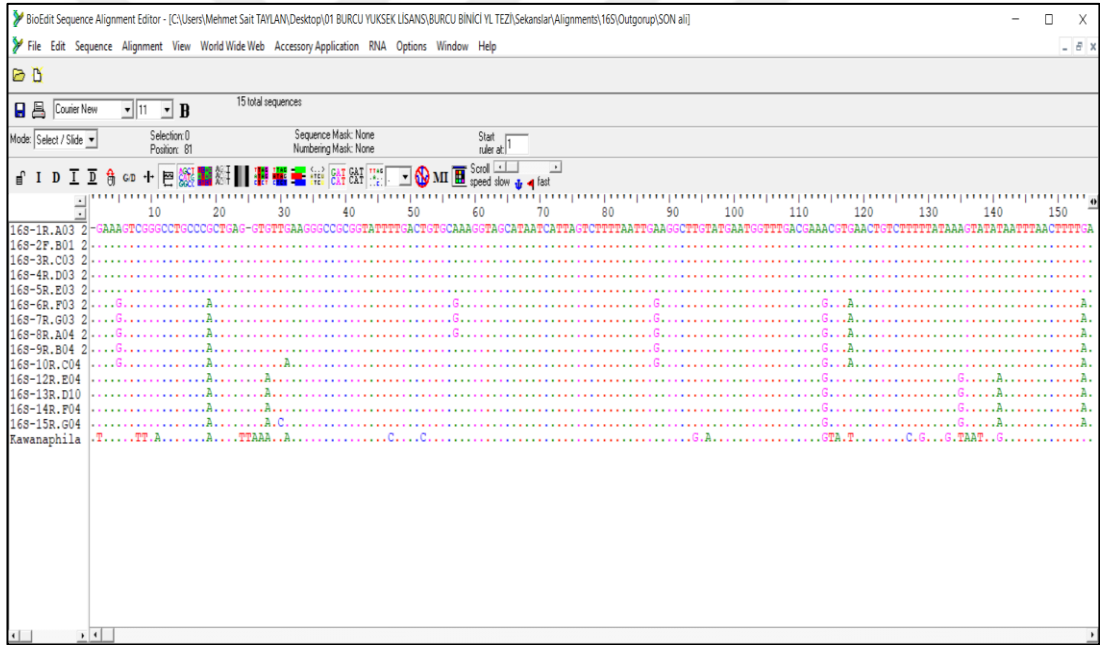
Elde edilen PZR ürünleri %2'lik agoroz jelde yürütülüp varlıkları UV transillüminatörde kontrol edildikten sonra, DNA dizileme reaksiyonu NABİLTEM tarafından yapıldı. Dizi ürünleri dizi cihazında yürütülerek her bir örnek için mitokondriyal 16S rDNA geni iki yönde okutuldu. 16S rDNA geni dizi dizilerinin numt (çekirdekte bulunabilen mitokondriye ait gen kopyalarına verilen ad) olup olmadığı DNAsp v5 programı ile test edildi. Daha sonra, GenomeLab GeXP Genetic Analysis System Version 10.2 DNA dizi analizi programı ile dizilerin ön değerlendirmesi yapıldı. Dizilerin her biri Gen Bankası'ndan veri tabanına (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) aktarılarak “nucleotide blast” uygulanıp, elde edilen dizilerin *Saga* cinsine ve mitokondriyal 16S rDNA genine ait olup olmadığı ve herhangi bir kontaminasyon olup olmadığı kontrol edildi (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. 16S rDNA geni dizilerinin BLAST işlemi ve kontaminasyon kontrolü (GenBank- <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

3.2.4. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizilerinin Hizalanması (Alignmentları)

Çift taraflı okutulan her bir gen dizisi, Geneious 9.1.5 ve BioEdit (Biological Sequence Alignment Editor) (v5.0.9) programı ile eşleştirilerek, her bir örnek için tekli dizi haline dönüştürüldü (dizileme) ve FASTA formatında kaydedildi. Mitokondriyal 16S rDNA geni dizilerinin hizalama işlemi için, tüm diziler eşit boyda olacak şekilde kesildikten sonra BioEdit Sequence Alignment Editor (v5.0.9) adlı programa aktarıldı ve çoklu hizalama (multiple-çoklu alignment) BioEdit programındaki bir alt program olan Clustal W Multiple Alignment programı kullanılarak elde edildi (Şekil 3.9.). Alignment işlemi “başlangıç aralığı (opening gap)=10 ve uzama aralığı (extending gap)=0.10” parametreleri kullanılarak yapıldı.



Şekil 3.9. Tez çalışması kapsamında elde edilen 16S rDNA geni dizilerinin BioEdit, Clustal W Multiple Alignment programı ile yapılan çoklu hizalama (multiple alignment) işlemi

3.2.5. Mitokondriyal 16S rDNA Geni Dizilerinin Filogenetik Analizleri

Tez çalışması kapsamında, filogenetik analizler için Maximum Likelihood (ML) En Yüksek İhtimal Metodu ve Bayes Metodu kullanıldı. Belirtilen bu metodlar MEGAX (Kumar vd., 2018), PAUP* sürüm 4.0b10 (Swofford, 2003) ve MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001; Ronquist ve Huelsenbeck, 2003) programları kullanılarak uygulandı. Maksimum Likelihood (ML) En Yüksek İhtimal Analizi, heuristic araştırma algoritması kullanılarak yapıldı. Programda bootstrap değeri heuristic araştırma algoritması kullanılarak, 1000 bootstrap tekrarı ve 10 rastgele tekrarla oluşturuldu. Bootstrap değeri Branch-swapping algoritması, tree-bisection-reconnection (TBR) araştırma algoritması kullanılarak 10 rastgele tekrar ve 1000 bootstrap tekrarı ile hesaplandı.

Bayesiyan Tabanlı Analizler olarak, Bayesiyan çıkarsamalı ve Markov Chain Monte Carlo (MCMC) temelli filogenetik analizler gerçekleştirildi. Analizler 16S rDNA geni için, haplotiplerin nükleotid dizileri, populasyonlarda bulunup bulunmaması (alan analizi) ve son olarak da alan analizi açısından her iki verinin birleştirildiği total analiz olmak üzere toplamda beş farklı analiz uygulanarak gerçekleştirildi. Dizi verilerine dayalı analizlerde ML analizinde model olarak kullanılan baz değişim modeli kullanıldı. Bayesiyan posterior olasılıkları, son 750 örneklenen ağaç arasından (Örneklemlerin %25 yani 250 örneklem ön deneme (burn-in) olarak uzaklaştırıldı) Çoğunluk- Kuralı Konsensüs Ağacı (Majority-Rule Consensus Tree) oluşturularak tahmin edildi. Analizler sonucunda elde edilen ağaçlar FigTree v1.3.1 (Rambaut, 2009) programı kullanılarak çizildi.

Tez çalışmasında elde edilen 16S rDNA geni dizileri özelinde, filogenetik analizlerde kullanılacak, uygun model parametrelerinin belirlenmesinde, Geneious 9.1.5 programında oluşturulan indel (insersiyon ve delesyon) bölgeleri çıkarıldı DNA veri matrisi önce dış grup dâhil edilmeden sonra da dâhil edilerek Jmodeltest sürüm, 2.1.4. (Darriba vd., 2012) ve MEGAX (Kumar vd., 2018) adlı programlarda analiz edildi. Veriler, Matris Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1974) ve Bayesiyan Information Criterion (BIC) parametreleri ile test

edildi ve en yüksek bootstrap ve posterior probability değerlerini öneren model seçim taslağı baz değişim modeli olarak belirlendi.

Filogenetik analizlerde kullanılmak üzere dış grup olarak, Mugleston vd. (2018)'nin Tettigoniidae familyası filogenisi üzerine yaptıkları detaylı çalışmada, Saginae alt familyasına en yakın alt familya olan Zaprochilinae alt familyasında yer alan *Kawanaphila nartee* türü kullanıldı (Mugleston vd., 2018).

3.2.6. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesi (Moleküler Saat Uygulaması)

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait populasyonlarda genetik çeşitlenme ve farklılaşma zamanlarını tahmin etmek ve tarihsel süreçlerle ilişkilendirmek amacıyla, Bayesiyan çıkarsamalı ve MCMC yaklaşımı BEAST version 1.6.1 (Drummond ve Rambaut, 2007) programı kullanıldı. Farklılaşma zamanları relaxed moleküler saat uygulaması ve devamında “uncorrelated relaxed lognormal saat” uygulamaları ile BEAST (v.1.6.1, Drummond ve Rambaut, 2007) programı kullanılarak bulundu. Durağanlık yakınsaması ve ESS model parametreleri TRACER 1.5 (Rambaut ve Drummond, 2007) program kullanılarak hesaplandı.

Kladogenetik analizlerde farklılaşma hızı olarak, yakın zamanda böceklerde mitokondri genomundan elde edilen veri setleri için belirlenen, 16S rDNA geni dizisi için milyon yılda, soy başına % 0,7 farklılaşma hızı kalibrasyonu kullanıldı (Brower, 1994).

4. BULGULAR

Tez çalışması kapsamında elde edilen bulgular (i) Dizi varyasyonu ve genetik veri analizlerine ait bulgular, (ii) Filogenetik analizlere ait bulgular ve (iii) Kladogenetik olayların tarihlendirilmesine (moleküler saat uygulaması) ait bulgular olmak üzere 3 kısımda sunulmuştur.

4.1. Dizi Varyasyonu ve Genetik Veri Analizlerine Ait Bulgular

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 16S rDNA geni dizilerinin tümü, GenBank veri tabanına birer birer aktararak “nucleotide blast” uygulandı. Yapılan incelemede, elde edilen dizilerin tümünün *Saga* cinsine ve mitokondriyal 16S rDNA genine ait olduğu ve dolayısıyla herhangi bir kontaminasyon olmadığı tespit edildi. Ayrıca DNASp V5 programı ile yapılan kontrol neticesinde de elde edilen dizilerin numt (nükleusta bulunabilen kopya genler) içermediği tespit edildi.

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait *Saga ephippigera*, *S. hakkarica* ve *S. syriaca* türlerinden birer populasyon olmak üzere, toplamda 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizileri düzenlenerek dizileme işleminden sonra, gaplar ve eksik (missing) bazlar çıkarıldığında, 470 bç’lik kısım filogenetik analizlerde kullanıldı (Şekil 3.10.). Yapılan haplotip dağılımı analizinde toplamda 15 iç grup (in-group) ve 1 dış grup (out-group) dizisine ait, 10 farklı haplotip (h:10) olduğu tespit edildi (Çizelge 4.1.). *S. ephippigera* türüne ait 4, *S. hakkarica* türüne ait 3 ve *S. syriaca* türüne ait ise 2 farklı haplotip olduğu görüldü (Çizelge 3.2, Çizelge 4.1.). Haplotip çeşitliliği değeri (hd) 0.9167 olarak bulundu. Yapılan genetik veri analizlerinde, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 16S rDNA geni baz frekansları $\text{freqT(U)}=0.3582$, $\text{freqC}=0.1049$, $\text{freqA}=0.3113$, $\text{freqG}=0.2256$ ve $A+T=0.6695$ iken $G+C=0.3305$ olarak saptanmıştır. Diğer taraftan nükleotid kompozisyonları; özdeş baz çiftleri (identical pairs=ii) = 451, transisyonel baz çiftleri (transitional pairs=si) = 16, transversiyonel baz çiftleri (transversional pairs=sv) = 3 ve R (si/sv) değeri= 5,4 olarak bulunmuştur. Ayrıca elde edilen dizilere ait genetik veri analizlerinde, değişken bölge (variable sites= V)= 42, korunan bölge (conserved sites)= 428, parsimonik informatif bölge (PIS) = 37 ve parsimonik uninformatif bölge (PUS)=5 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.). Genetik veri analizleri çalışmada elde edilen 16S rDNA geni dizilerinde 3

korunan bölge olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.3.). Bu bölgeler, dizilerin (i) 172-202, (ii) 335-384 ve (iii) 409-439 numaralı bazlar arasında yer almaktadır.

Tez çalışmasında yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 3 popülasyonun, popülasyon içi ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık değerleri sırasıyla; *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova popülasyonu) % 0.09, *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy popülasyonu) % 0.21 ve *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye popülasyonu) %0.57 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4.). Diğer taraftan, tez çalışması kapsamında yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 3 türün popülasyonlar arası ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık değerleri ise, *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova popülasyonu) ile *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy popülasyonu) arasında % 5.67; *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova popülasyonu) ile *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye popülasyonu) arasında %6.53 ve *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy popülasyonu) ile *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye popülasyonu) arasında % 5.31 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5.5).

Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizilerinin haplotip dağılımı ve çeşitliliğine ait veriler

Haplotip sayısı, h: 10
Haplotip çeşitliliği, Hd: 0,9167
Hap_1: 1 [<i>Kawanaphila nartee</i>]
Hap_2: 1 [<i>S. hakkarica</i> 5]
Hap_3: 1 [<i>S. hakkarica</i> 4]
Hap_4: 3 [<i>S. hakkarica</i> 1, <i>S. hakkarica</i> 2, <i>S. hakkarica</i> 3]
Hap_5: 4 [<i>S. syriaca</i> 2, <i>S. syriaca</i> 3, <i>S. syriaca</i> 4, <i>S. syriaca</i> 5]
Hap_6: 1 [<i>S. syriaca</i> 1]
Hap_7: 2 [<i>S. ephippigera</i> 1, <i>S. ephippigera</i> 5]
Hap_8: 1 [<i>S. ephippigera</i> 4]
Hap_9: 1 [<i>S. ephippigera</i> 3]
Hap_10: 1 [<i>S. ephippigera</i> 2]

Çizelge 4.2. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizileri ve varyasyonel diziler

Figure 1 displays the alignment of the 10S rRNA gene (16S rRNA) for various species, including *Sagitta yuzumae* (1-5), *Sagitta hokkaidensis* (1-5), *Sagitta setchuanensis* (1-5), and *Homosagitta raitana*. The alignment is presented in a grid format, with columns representing nucleotide positions (1-475) and rows representing individual sequences. The sequences are color-coded: *S. yuzumae* (blue), *S. hokkaidensis* (green), *S. setchuanensis* (red), and *H. raitana* (black). The alignment shows high sequence similarity between the species, with some variations in the 3' region (positions 400-475).

Çizelge 4.3. Çalışma kapsamında *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 15 bireyden elde edilen 16S rDNA geni dizilerine ait korunan bölgeler (C= Conserved regions)

Korunan bölgeler (Conserved Regions)			
[Bölge: Başlama-Bitiş	Koruma	Homozigotluk derecesi	P-değeri]
Bölge_1: 172-202	1,000	1,000	0,0500
ATGTAGAGGACGAGAAGACCCTATAGAGCTT			
Bölge_2: 335-384	1,000	1,000	0,0071
TATTGATTATTAGATGAAGTTACCTTAGGGATAACAGCGTAATTTTTTTT			
Bölge_3: 404-439	1,000	1,000	0,0369
AAAGGATTGCGACCTCGAATGTTGGATTAAGATAAT			

Çizelge 4.4. Tez çalışmasında yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunda, populasyon içi ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık (distance) değerleri

Tür	<i>Saga syriaca</i>	<i>S. hakkarica</i>	<i>S. ephippigera</i>
Populasyon	Şanlıurfa (Bozova)	Hakkari (Bayköy)	Erzincan (Kemaliye)
HKY genetik uzaklık	0.0009	0.0021	0.0057

Çizelge 4.5. Tez çalışmasında yer alan *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunda, populasyonlar arası ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık (distance) değerleri

Tür	<i>Saga syriaca</i>	<i>S. hakkarica</i>	<i>S. ephippigera</i>
Populasyon	Şanlıurfa (Bozova)	Hakkari (Bayköy)	Erzincan (Kemaliye)
Şanlıurfa (Bozova)	0	0.0567	0.0653
Hakkari (Bayköy)	0.0567	0	0.0531
Erzincan (Kemaliye)	0.0653	0.0531	0

4.2. Filogenetik Analizlere Ait Bulgular

Filogenetik analizlerde daha doğru sonuca ulaşabilmek için dizi veri setlerine uygun modeli bulmak üzere, Akaike Information Criterion (AIC) baz alınarak Jmodeltest uygulaması yapılmıştır. Yapılan analiz neticesinde, çalışma kapsamında elde edilen 16S rDNA geni dizileri için en uygun model olarak TIM3+I modeli belirlenmiştir (Çizelge 4.6.)

Çizelge 4.6. Jmodeltest uygulama verileri (Akaike Information Criterion)

AKAIKE INFORMATION CRITERION (AIC)	
Model selected:	Model = TIM3+I
partition = 012032	
-lnL = 1130.1415	
K = 37	
freqA = 0.3113	
freqC = 0.1049	
freqG = 0.2256	
freqT = 0.3582	
R(a) [AC] = 0.0005	
R(b) [AG] = 11.8083	
R(c) [AT] = 1.0000	
R(d) [CG] = 0.0005	
R(e) [CT] = 2.1300	
R(f) [GT] = 1.0000	
p-inv = 0.6390	

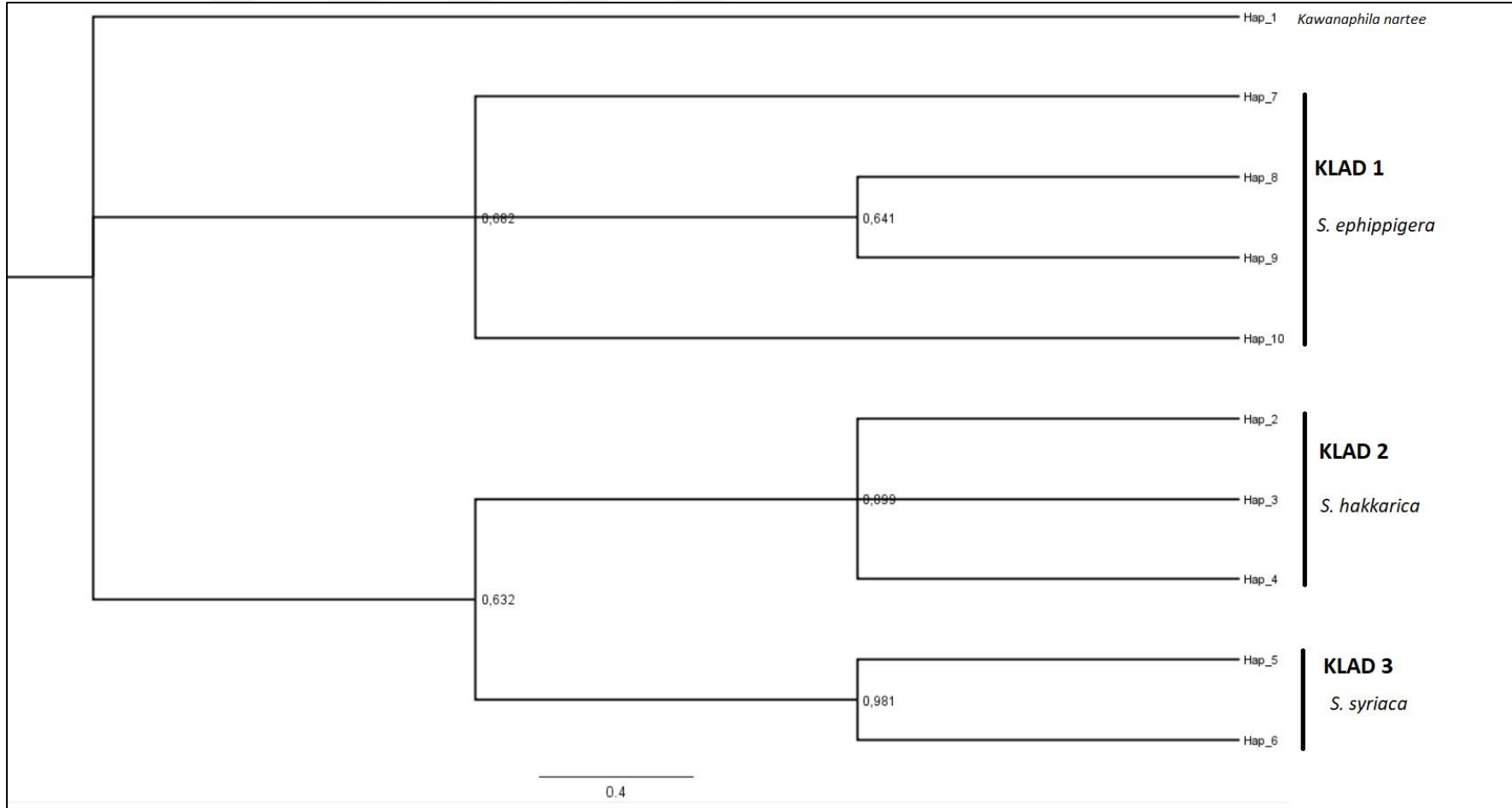
Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 3 tür ve 15 bireyin moleküler filogenisinin ortaya çıkarılması için, mitokondriyal 16S rDNA geni dizileri kullanılarak Bayesiyan (Şekil 4.1.) ve Maksimum Likelihood (Şekil 4.2.) analizleri yapılmıştır. Her iki analizde de 3 farklı klad belirlenmiş (Şekil 4.1., Şekil 4.2.) ve *Ephippigera* tür grubuna ait 3 türün de (*S. syriaca*, *S. hakkarica* ve *S. ephippigera*) monofilisi desteklenmiştir. Ancak türlerin kendi aralarındaki filogenetik ilişkiler baz alındığında, Bayesiyan ve Maksimum Likelihood analizlerinin farklı topolojiler gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1., Şekil 4.2.).

Filogenetik analizlerin her ikisinde de yüksek oranda destelenen; Klad 1, *S. ephippigera* türünü, Klad 2, *S. hakkarica* türünü ve Klad 3, *S. syriaca* türünü içermektedir.

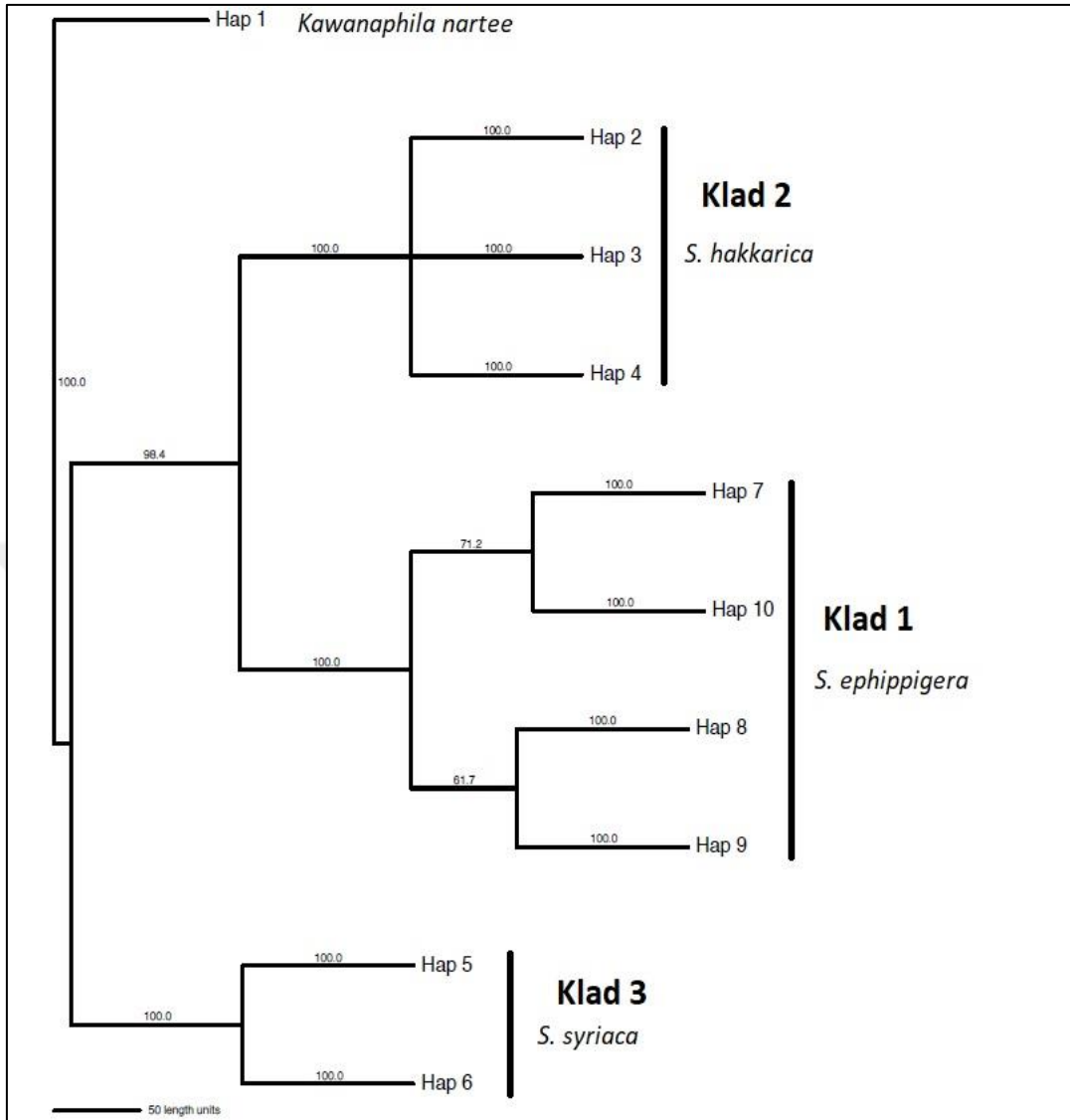
Filogenetik analizlerden elde edilen bulgulara göre türler arasındaki ilişkiler aşağıdaki gibidir:

Bayesiyan analizi: (*Kawanaphila nartee* + (*S. ephippigera*) + (*S. hakkarica* + *S. syriaca*)).

Maksimum Likelihood Analizi: (*Kawanaphila nartee* + (*S. syriaca* + (*S. ephippigera* + (*S. hakkarica*)))).



Şekil 4.1. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan ve Bayesiyan analizi sonucu ortaya çıkan filogenetik akrabalıkları (Skala, her bir bölgedeki substusyon sayısını (number of substitution per site), düğümlerdeki (node) değerler ise majority-rule bootstrap değerlerini göstermektedir).

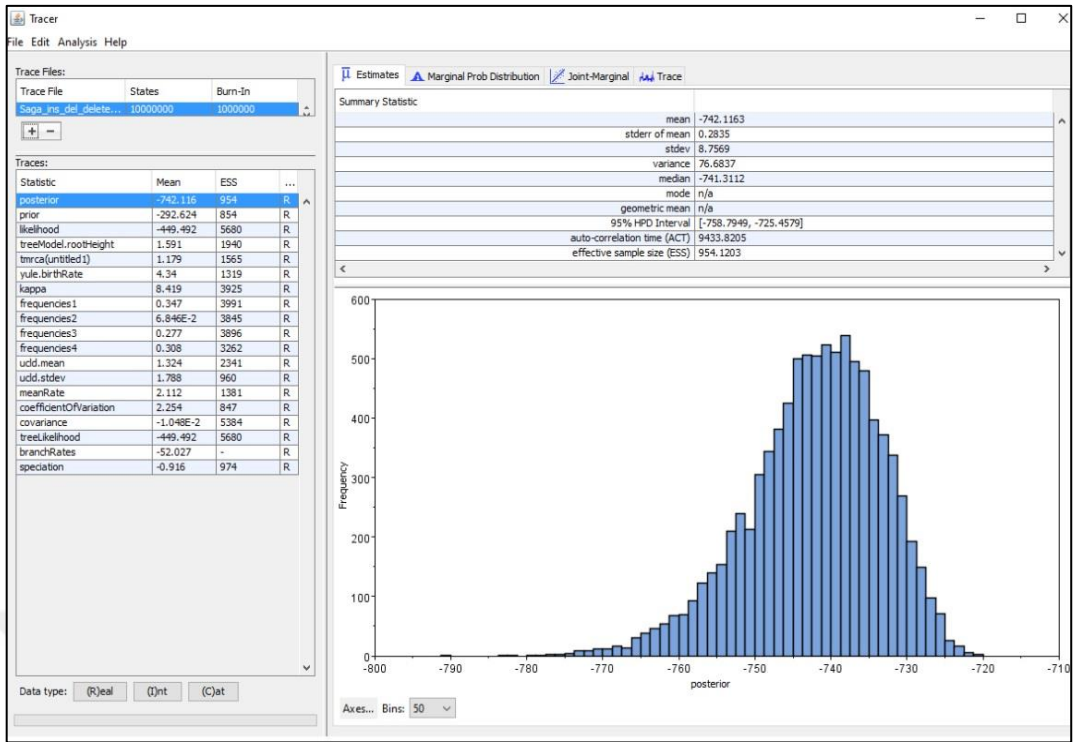


Şekil 4.2. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan ve Maksimum Likelihood analizi sonucu ortaya çıkan filogenetik akrabalıkları (Skala, her bir bölgedeki substusyon sayısını (number of substitution per site), dallanmalardaki değerler ise TIM3+I modeli ile yapılan 1000 tekrarlı bootstrap değerlerini ifade etmektedir).

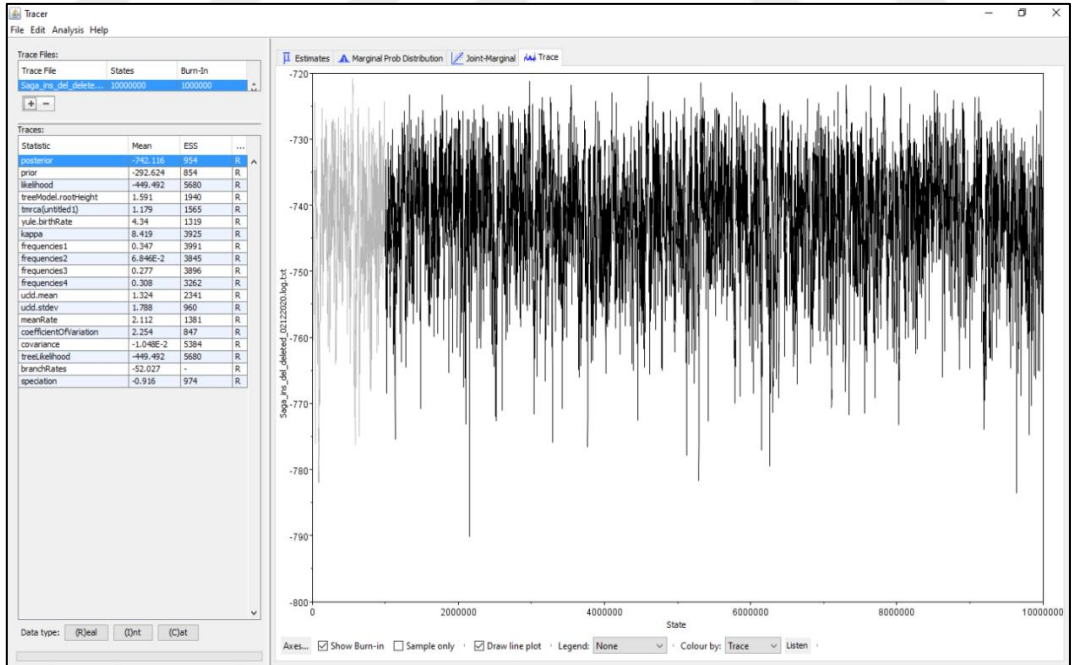
4.3. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesine (Moleküler Saat Uygulaması) Ait Bulgular

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA dizileri kullanılarak, kladogenetik olayların tarihlerinin tahmini için yapılan ESS (Effective Sample Size), TRACE ve moleküler saat uygulanması sonucunda, tür grubuna ait soy hatlarının yaklaşık 0.4 milyon yıl önce evrimleşme sürecine girdiği ve farklılaşmaya başladığı belirlenmiştir (Şekil 4.3., 4.4. ve 4.5.).

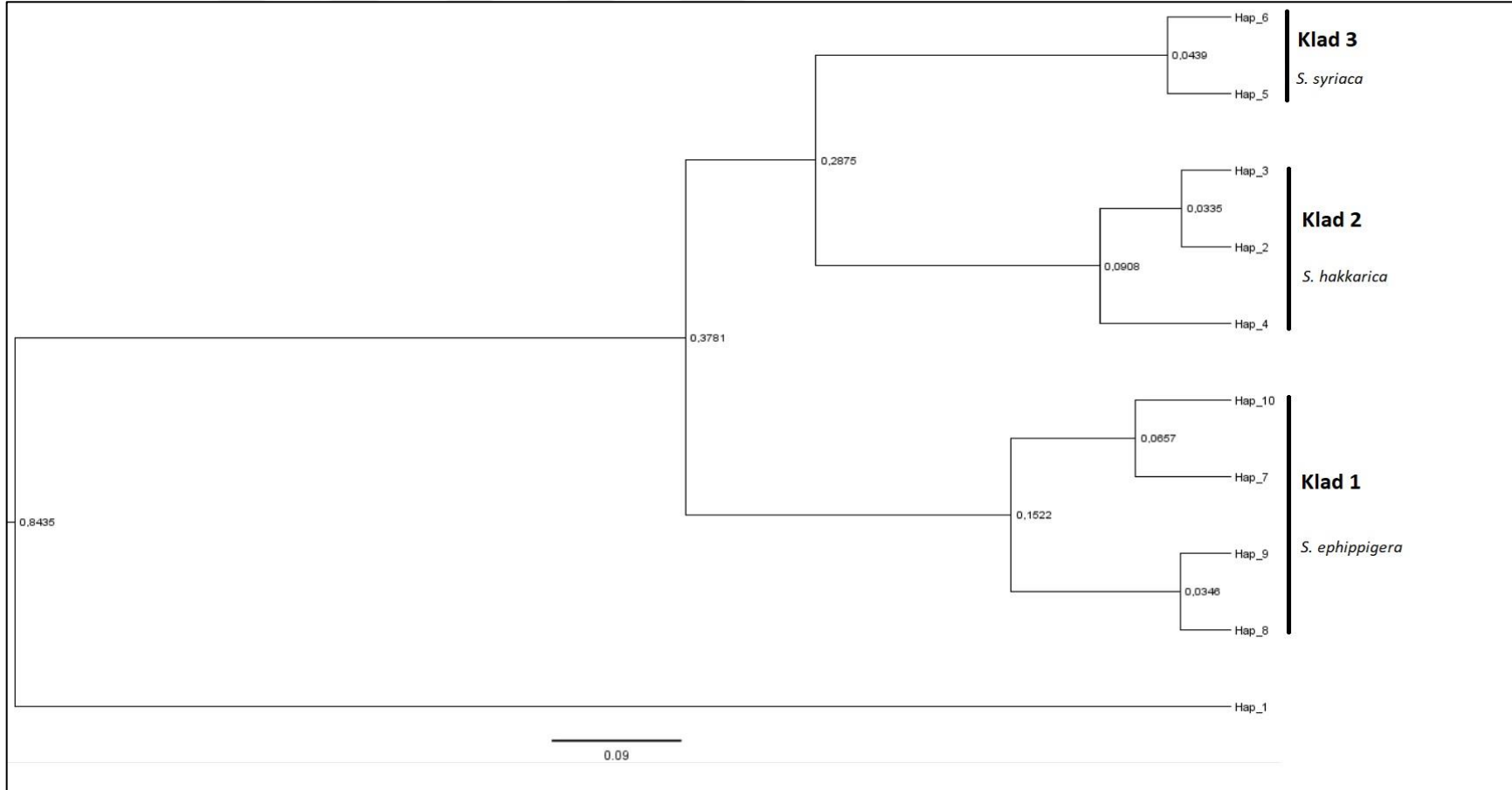
Kladogenetik olaylarının tarihlendirmesine yönelik yapılan analizler neticesinde, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun dış grup olan *Kawanaphila nartee* türünden 0.84 milyon yıl önce ayrıldığı bulunmuştur. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna dâhil türlerin farklılaşma seyirleri ele alındığında, *Saga ephippigera* türünün yaklaşık 0.38 milyon yıl önce, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* ortak kladından ayrıldığı görülmektedir. Diğer taraftan moleküler saat uygulaması sonucu elde edilen filodendrogram incelendiğinde *S. syriaca*'nın, *S. hakkarica* soy hattından, 0.29 milyon yıl farklılaşmaya başladığı bulunmuştur.



Şekil 4.3. BEAST analizi sonucu elde edilen, ESS (Effective Sample Size), tahmini posterior dağılım (estimated posterior distribution) parametreleri ve özet istatistik verileri



Şekil 4.4. BEAST analizi sonucu elde edilen, TRACE (iz) uygulaması ile tahmini posterior dağılım (estimated posterior distribution) parametreleri



Şekil 4.5. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerinin 16S rDNA geni dizileri kullanılarak yapılan, BEAST programı ile elde edilen moleküler saat uygulamasıyla, farklılaşma zamanlarını gösteren dendrogram (0,09 = 0.09 milyon yıl).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Saga (Orthoptera, Tettigoniidae, Saginae) cinsi *Ephippigera* tür grubunun 16S rDNA filogenisi ve morfolojik tür hipotezlerinin moleküler verilerle sınanmasını içeren bu tez çalışması, 2018-2020 yılları arasında gerçekleştirilmiştir.

5.1. Sistematik Değerlendirme

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubu, Şirin vd. (2019) tarafından bioakustik veri ve karakterlere dayanılarak belirlenmiştir. Şirin vd. (2019) yaptıkları çalışmada 3 tür grubu tanımlamışlardır. Bu tür grupları: (i) *Ephippigera* tür grubu; *S. syriaca*, *S. ephippigera* ve *S. hakkarica*, (ii) *Natoliae* tür grubu; *S. natoliae*, *S. beieri*, *S. longicaudata*, *S. puella* ve (iii) *S. cappadocica* türüdür. Aynı çalışmada *S. hakkarica* türü tanımlanmış ve *S. ephippigera syriaca* ve *S. ephippigera ephippigera* alttürleri, tür düzeyinde *S. syriaca* ve *S. ephippigera* olarak değerlendirilmiştir (Şirin vd., 2019).

S. ephippigera türünün, dünya üzerinde, Anadolu, İsrail, Ürdün, Azerbeycan, Ermenistan, Kafkasya, Suriye ve İran olmak üzere geniş bir yayılışa sahip yayılışı olduğu (Kirby, 1906; Kaltenbach, 1964, 1967; Ramme, 1951; Bader ve Massa, 2001; Şirin vd., 2019), Anadolu'da ise özellikle Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış gösterdiği görülmektedir (Karabağ, 1958; Kaltenbach, 1967; Karabağ vd., 1971, 1980; Demirsoy, 1975; Salman, 1978; Sevgili ve Çıplak, 2000; Sevgili vd., 2012; Mol vd., 2016; Şirin vd., 2019). *Ephippigera* tür grubunun ikinci türü olan *S. syriaca* Lucas, 1864 türünün, dünya üzerinde, Anadolu, Suriye ve Irak'ta yayılış gösterdiği (Kirby, 1906; Kaltenbach, 1964, 1967; Mol vd., 2016; Şirin vd., 2019) ve Anadolu kayıtlarının özellikle Güneydoğu Anadolu'da olduğu bilinmektedir (Kaltenbach, 1967; Mol vd., 2016, Şirin vd., 2019). Görüldüğü üzere, *S. ephippigera* ve *S. syriaca* türlerinin Suriye ve Güneydoğu Anadolu'da çakışan kayıtları mevcuttur ve özellikle alttür düzeyinde verilmiş eski lokalite kayıtlarının tekrar kontrol edilmesi ve örneklerin detaylı incelenmesi gerekmektedir. *Ephippigera* tür grubunun üçüncü türü olan *Saga hakkarica* türünün ise yalnızca Hakkari'de yayılış gösterdiği bildirilmiştir (Şirin vd., 2019). Tez çalışması kapsamında, Yapılan arazi çalışmaları sonucunda

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait; *Saga ephippigera* türü Erzincan, Kemaliye, Ocak Köyü'nden, *Saga syriaca* türü, Urfa, Bozova, Gülbite mezrasından ve *Saga hakkarica* türü ise Hakkari, Bayköy lokalitesinden toplanmıştır. Toplanan örnekler morfolojik ve biyoakustik yönden incelenmiş, tür teşhisleri ilgili literatürler yardımıyla yapılmıştır (Kirby, 1906; Kaltenbach, 1964, 1967; Şirin vd., 2019).

Tez çalışması kapsamında önceki bölümlerde, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerin morfolojik hipotezlerinin moleküler olarak test edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ancak *Saga* cinsine ilişkin moleküler verilere dayalı değerlendirmelerin oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Bu kapsamda yalnızca iki çalışma mevcuttur (Giannoulis vd., 2011; Kolics vd., 2012). Giannoulis vd. (2011) 397 baz çiftlik COI geni dizilerini kullanarak, Avrupa'da yayılış gösteren 6 türü (*S. campbelli*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. pedo*, *S. rammei* ve *S. rhodiensis*) filogenetik açıdan değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada Anadolu'dan örnekleme yapılmadığı görülmektedir. Kolics vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada ise 3 mitokondriyal gen (COI, Cytb ve 16S rRNA) ve çekirdek DNA'sına ait bir gen (ITS2) kullanılarak 9 türün (*S. c. campbelli*, *S. c. gracilis*, *S. hellenica*, *S. natoliae*, *S. ornata*, *S. pedo*, *S. rammei*, *S. cappadocica* ve *S. ephippigera*) filogenetik analizi yapılmıştır. Kolics vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada Anadolu'dan birer lokaliteden aldıkları, *S. cappadocica* ve *S. ephippigera* türlerini dâhil etmişlerdir. Kolics vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *S. ephippigera* ve *S. ornata* soy hatlarının Avrupa *Saga* türlerinin bazal kladında yer aldığı ve köken teşkil ettiği belirtilmiştir.

Ancak çalışma sonucunda elde ettikleri filogenetik ağaçlar göz önüne alındığında, özellikle Anadolu'dan dâhil edilen türlerin bulunduğu kollarda tam bir çözümleme yapılmadığı ve *S. ephippigera* türünün *S. ornata* türü ile aynı kladda bulunduğu görülmektedir (Kolics vd., 2012). Bu durumun, Anadolu'dan yapılan örneklemenin yetersiz olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

5.2. Genetik Veri Analizlerinin Değerlendirilmesi

Tez çalışması kapsamında yapılan genetik veri analizleri sonucunda, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait *Saga ephippigera*, *S. hakkarica* ve *S. syriaca* türlerinden birer populasyon olmak üzere, yapılan DNA izolasyonu, PCR ve dizileme işlemlerinden sonra, mitokondriyal 16S rDNA genine ait 470 bp'lik dizi filogenetik analizlerde kullanılmıştır. Diğer taraftan *Saga* cinsinin moleküler filogenisi üzerine yapılmış az sayıda çalışmadan, Kolicks vd. (2012) 16S rDNA genine ait 507-508 bp'lik dizi üzerinden analiz yapmışlardır. Bu farklılığın kullanılan primerlerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tez çalışması kapsamında, yapılan genetik veri analizleri sonucunda, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 16S rDNA geni baz frekansları; $\text{freqT(U)}=0.3582$, $\text{freqC}=0.1049$, $\text{freqA}=0.3113$, $\text{freqG}=0.2256$ ve $A+T=0.6695$ iken $G+C=0.3305$ olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan nükleotid kompozisyonları; özdeş baz çiftleri= 451, transisyonel baz çiftleri = 16, transversiyonel baz çiftleri = 3 olarak bulunmuştur. Ayrıca elde edilen dizilere ait genetik veri analizlerinde, değişken bölge = 42, korunan bölge = 428, parsimonik informatif bölge = 37 ve parsimonik uninformatif bölge =5 olarak bulunmuştur. Ancak bu değerler, *Saga* cinsine ait türlerin moleküler filogenisini içeren ve 16S rDNA geni kullanılarak yapılan tek çalışma olan Kolics vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada belirtilmediği için, herhangi bir karşılaştırma yapılamamaktadır. Diğer taraftan Giannoulis vd. (2011)'nin mtDNA COI geninin 397 bp'lik kısmını kullanarak yaptıkları çalışmada, 103 değişken ve 64 parsimonik informatif bölge buldukları bilinmektedir. Bu durumda *Saga* cinsine ait türler bazında mtDNA COI geninin, 16S rDNA genine göre daha hızlı evrimleştiği söylenebilir.

Saga cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait 3 türün, populasyon içi ve populasyonlar arası, ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık değerleri ele alındığında, 16S rDNA geni bakımından populasyon içi (her türe ait tek populasyon olduğu için tür içi de kabul edilebilir) genetik farklılık değerleri, *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova populasyonu) % 0.09, *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy populasyonu) % 0.21 ve *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye populasyonu) %0.57 olarak bulunmuştur. Bu bağlamda, 16S rDNA geni bakımından en fazla genetik farklılığın *S. ephippigera* populasyonunda, en az farklılığın ise *S. syriaca* olduğu

görülmektedir. Bu durumun örnek sayısından kaynaklanabileceği gibi, *Saga ephippigera* soy hattının daha önce evrimleşmesiyle de ilgili olabilir. Kolics vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *S. ephippigera* türünün köken soy hattı olması da bu durumu desteklemektedir.

Tez çalışması kapsamında, populasyonlar arası (her türe ait tek populasyon olduğu için, türler arası da kabul edilebilir) 16S rDNA geni bakımından, ortalama (average) TIM3+I genetik uzaklık değerleri ele alındığında, *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova populasyonu) ile *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy populasyonu) arasında % 5.67; *S. syriaca* (Şanlıurfa, Bozova populasyonu) ile *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye populasyonu) arasında %6.53 ve *S. hakkarica* (Hakkari, Bayköy populasyonu) ile *S. ephippigera* (Erzincan, Kemaliye populasyonu) arasında % 5.31 değerleri bulunmuştur. Bu sonuç 16S rDNA geni bakımından *S. hakkarica* ve *S. ephippigera* türünün daha yakın akraba olduğunu göstermektedir.

Çalışmadan elde edilen genetik uzaklık verileri, Kolics vd. (2012) çalışması ile karşılaştırıldığında, çalışmada mtDNA COI, Cytb ve 16S rDNA genlerinin genetik farklılık değerlerinin birlikte verildiği, *S. ephippigera* türüne ait bir değerlendirilme yapılmadığı, ancak *S. pedo*, *S. c. campbelli* ve *S. c. gracilis* taksonlarının genetik farklılığının %1.42 ile % 2.75 arasında değiştiği görülmektedir. Bu değerler tez çalışması kapsamında incelenen *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerinin 16S rDNA geni bakımından genetik farklılıklarından düşük değerler olup, bu durumun bu tür grubunun evrimleşmesinin, Avrupa türlerine göre daha eski olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çıkarsama, Kolics vd. (2012)'nin yaptıkları filogenetik çalışma ile de desteklenmektedir.

Tez çalışmasında, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerin mitokondriyal 16S rDNA geni dizi verileri kullanılarak yapılan filogenetik değerlendirmeler için Bayesiyen ve Maksimum Likelihood analizleri kullanılmıştır. Her iki analiz sonucunda da *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerinin monofilisi yüksek değerlerle desteklenmiştir. Sonuç olarak, bu 3 türün morfolojik tür hipotezleri, moleküler verilerle sınanmış geçerlilikleri desteklenmiştir. Diğer taraftan Şirin vd. (2019)'nin yaptıkları çalışmada *S. e. ephippigera* ve *S. e. syriaca* alttürlerini tür düzeyinde değerlendirmeleri de

moleküler olarak desteklenmiştir. Ancak 16S rDNA geninin tek başına türler arasındaki filogenetik ilişkiyi ortaya koymak için yeterli olmadığı görülmüştür. Çalışmada yer alan populasyonlar bazında, Bayesian ve Maksimum Likelihood analizleri sonucunda, *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubuna ait türlerin filogenetik akrabalık ilişkilerinin farklı iki senaryo ile sonuçlanmış olduğu görülmüştür. Bayesian analizinde, köken soyhattı politomik durumdan dolayı net ortaya çıkmazken, *S. hakkarica* türü, *S. syriaca* türüne filogenetik olarak daha yakın akraba çıkmıştır. Maksimum Likelihood analizinde ise *S. syriaca* türü *Ephippigera* tür grubunun köken soy hattı olarak ayrı bir kladda yer alırken, *S. hakkarica* ve *S. ephipigera* türü ile aynı kladda yer almıştır. Tez çalışması kapsamında elde edilen 16S rDNA genetik uzaklık verileri de bu Maksimum Likelihood analizi sonucunu desteklemektedir. Diğer taraftan, filogenetik analizlerin iki farklı sonuç göstermesi, örnek sayılarının ve moleküler belirteçlerin (marker) sayısının artırılması gerektiğine işaret etmektedir.

5.3. Kladogenetik Olayların Tarihlendirilmesi ve Filocoğrafya

Moleküler saat uygulaması sonucunda elde edilen filodendrogram incelendiğinde, *S. ephippigera* türü, *Ephippigera* tür grubunun köken soy hattı oluşturturduğu ve yaklaşık olarak 0.38 milyon yıl önce, tür grubunun diğer soy hatlarından ayrıldığını görülmektedir. Diğer taraftan moleküler saat verileri, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerinin de 0.29 milyon yıl önce ayrı iki soy hattına ayrıldığı görülmektedir. Bu tarihler paleocoğrafik olarak değerlendirildiğinde Kuaterner dönemi, Pleistosen periyodu, Orta Pleistosen (Mid-Pleistocene) alt döneminin, Ionian evresine denk gelmektedir (Lisiecki ve Raymo, 2007). Bu dönemde Günz-Mindel buzullar arası dönemi, Mindel Buzul dönemi ve Mindel-Riss buzullar arası dönemi yer almaktadır. Bu bağlamda *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun türleşmesinde, Orta Pleistosen dönemi buzul ve buzullar arası devirlerindeki iklimsel değişimlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. *Saga* cinsine ait türlere ilişkin şu ana kadar yapılmış moleküler saat uygulaması olmadığından, elde edilen veriler, literatür verileri ile karşılaştırılamamıştır. Ancak Chobanov vd. (2016)'nin *Isophya* (Orthoptera, Tettigoniidae) cinsinin Anadolu ve Balkan türlerinin moleküler filogenisini içeren çalışmalarında,

filocoğrafik tarihlendirme açısından tez çalışması sonucunu desteler nitelikte bulgular mevcuttur.

5.4. Sonuç ve Öneriler

Tez çalışmasında sonucunda, *S. ephippigera*, *S. syriaca* ve *S. hakkarica* türlerinin morfolojik tür hipotezleri, belirteç bir gen olan 16S rDNA geni dizi verileri ile moleküler açıdan test edilmiş ve tür hipotezleri desteklenmiştir. Bu bağlamda Şirin vd. (2019)'nin çalışmalarında tür düzeyine çıkarılan *S. ephippigera* ve *S. syriaca* türleri ve yine aynı çalışmada tanımlanan *S. hakkarica* türünün güncel taksomik statüleri korunmuş ve desteklenmiştir. *Saga* cinsi *Ephippigera* tür grubunun, köken soy hattında *S. ephippigera* türünün yer aldığı, tür grubunun soy hatlarının yaklaşık 0.4 milyon yıl önce farklılaştığı ve tür grubunun evrimleşmesinde Orta Pleistosen periyodunda yer alan buzul ve buzullar arası devirlerdeki iklimsel değişimlerin etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır.

16S rDNA geninin *Saga* cinsine ait türlerin filogenisinin ortaya çıkarılmasında yararlı bir gen olduğu ortaya çıkmıştır. Ancak bu genin tek başına filogenetik akrabalıkların ortaya çıkarılmasında yeterli olmadığı görülmüştür. Tür başına popülasyon sayısı ve örnek sayısının artırılmasıyla, cinsin diğer türlerinin de dâhil edildiği ve belirteç genler olarak, 16S rDNA geni yanında, diğer mitokondriyal genlerin (COI, Ctyb vb.) ve nüklear genlerin (ITS genleri vb) de analiz edildiği filogenetik bir çalışmanın oldukça yararlı olacağı öngörülmekte ve önerilmektedir.

Diğer taraftan, *Saga* cinsi avcı/predatör çekirgeler içermektedir. Bu nedenle ekosistem için oldukça önemli ve dengeleyici bir özelliğe sahiptir. Cinse ait türlerin, tarıma zararlı böceklerle de beslenmesi nedeniyle, biyolojik mücadelede önemli rol oynayabileceği değerlendirilmektedir. Tür grubu bazında veya cinsin tüm elemanlarını, Anadolu'daki dağılımının detaylıca incelenmesi oldukça önemlidir. Anadolu'da geçmişte olduğu gibi son yıllarda da çekirge istilalarından sıklıkla söz edilmiştir. Bu bağlamda ekosistemde avcı ve dengeleyici rol oynayan *Saga* cinsine ait türlerin, istilaya neden olan çekirgeler başta olmak üzere, tarım zararlısı diğer böcekler üzerinde baskılama oluşturmaktadır. Bu nedenle *Saga* cinsine ait türlerin bulunduğu alanların korunması, tarım zararlılarıyla mücadele açısından oldukça önemlidir. Sonuç olarak, *Saga* cinsi

üzerine gelecekte yapılacak; filogenetik, filocoğrafik, koruma biyolojisi, üreme biyolojisi ve yayılış tespiti çalışmalarının, ülkemizin tarım ve zirai stratejilerini yakından ilgilendiren değerli çalışmalar olacağı değerlendirilmiştir.



KAYNAKLAR

- Akaike, H. 1974. New look at statistical-model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control Ac**, 19: 716-723.
- Aljanabi, S. M., Martinez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research**, 25(22): 4692-4693.
- Ansell, S. W., Stenøien, H. K., Grundmann, M., Russell, S. J., Koch, M. A., Schneider, H., Vogel, J. C. 2011. The importance of Anatolian mountains as the cradle of global diversity in *Arabis alpina*, a key arctic-alpine species. **Annals of Botany**, 108: 241-252.
- Atalay, I. 2006. The effects of mountainous areas on biodiversity: A case study from the Northern Anatolian Mountains and the Taurus Mountains. **Grazer Schriften der Geographie und Raumforschung**, 41: 17-26.
- Brower, A.V.Z. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius* hereto inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 91: 6491-6495.
- Chobanov, D. P., Kaya, S., Grzywacz, B., Warchałowska-Śliwa, E., Çıplak, B. 2016. The Anatolio-Balkan phylogeographic fault: a snapshot from the genus *Isophya* (Orthoptera, Tettigoniidae). **Zoologica Scripta**, 46: 165-179.
- Chopard, L. 1922. Orthoptères et dermaptères. Faune de France, **Fédération Française des Sociétés de Sciences Naturelles, Paris**, 3: 76.
- Cigliano, M.M., Braun, H., Eades, D.C., Otte, D. 2020. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. [<http://Orthoptera.SpeciesFile.org>], Erişim Tarihi: 08.11.2020.
- Çıplak, B. 2004. Systematics, phylogeny and biogeography of *Anterastes* (Orthoptera, Tettigoniidae, Tettigoniinae): evolution within a refugium. **Zoological Scripta**, 33: 19-44.
- Çıplak, B. 2008. The analogy between interglacial and global warming for the glacial relicts in a refugium: a biogeographic perspective for conservation of Anatolian Orthoptera. In: Fattorini S (ed) *Insect Ecology and Conservation, Research Signpost, Kerala, India*, 135-163.

- Çıplak, B., Demirsoy, A. 1991. Arguvan (Malatya) ve çevresinde Orthoptera (Insecta) faunasının incelenmesi. **Turkish Journal of Zoology**, 15: 98-114.
- Çıplak, B., Demirsoy, A. 1995. Türkiye'de Ensifera (Orthoptera, Insecta) alttakımının endemizm açısından değerlendirilmesi. **Turkish Journal of Zoology**, 19: 213-220.
- Çıplak, B., Demirsoy, A., Bozcuk, A. N. 1993. Distribution of Orthoptera in relation to the Anatolian Diagonal in Turkey. **Articulata**, 8: 1-20.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, 9(8): 772.
- Davis, P.H. 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. In: Davis PH, Harper PC, Hedge IC (eds.) Plant Life of South-West Asia. Botanical Society of Edinburgh, Edinburgh, pp. 15-28.
- De Lattin, G. 1967. Grundriss der Zoogeographie. Jena, Gustav Fischer Verlag, pp.602.
- De Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria and the processes of speciation: a conceptual unification and terminological recommendation. In: Howard DJ, Berlocher SH (eds), Endless forms: species and speciation. Oxford University Press, Oxford. 57-79 pp.
- Demirsoy, A. 1977. Türkiye Caelifera (Insecta, Orthoptera) faunasının tespiti ve taksonomik olarak incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 252 s.
- Demirsoy, A. 1999. Genel ve Türkiye Zoocoğrafyası (Hayvan Coğrafyası) II. Baskı, Meteksan, Ankara, 965 s.
- Drummond, A.J., Rambaut, A. 2007. BEAST v1.4.7. Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees. Computer program. [<http://beast.bio.ed.ac.uk/>.], Erişim tarihi: 08.11.2020.
- Ekim, T., Güner, A. 1986. The Anatolian Diagonal: fact or fiction?. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. **Biological Sciences**, 89: 69-77.

- Elgueta, M., Camousseight, A., Carbonell, C. S. 1999. Catálogo de Orthoptera (Insecta) de Chile, **Publicación ocasional - Museo Nacional de Historia Natural (Chile)** 54: 38.
- Giannoulis, T., Dutrillaux, A.M., Lemonnier-Darcemont, M., Darcemont, C., Myrthianou, E., Stamatis, C., Dutrillaux, B., Mamuris, Z. 2011. Molecular phylogeny of European *Saga*: comparison with chromosomal data. **Bulletin of Insectology**, 64: 263–267.
- Güneş, H. V. 1984. Doğu Akdeniz Bölgesi Orthoptera (Insecta) faunası üzerine taksonomik çalışmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Doktora tezi, 202 s., Ankara,
- Gür, H. 2013. The effects of the Late Quaternary glacial–interglacial cycles on Anatolian ground squirrels: range expansion during the glacial periods?. **Biological Journal of the Linnean Society**, 109: 19-32.
- Gür, H. 2016. The Anatolian diagonal revisited: testing the ecological basis of a biogeographic boundary. **Zoology in the Middle East**, 62: 189-199.
- Harrison, R.G. 1998. Linking evolutionary pattern and process: the relevance of species concepts for the study of speciation. In: Howard DJ, Berlocher SH (eds), *Endless forms: species and speciation*. Oxford University Press, Oxford, 19-31 pp.
- Harz, K. 1969. Die Orthopteren Europas I.. Series Entomologica. Editor: Dr. Junk B.V., **The Hague**, 5: 480-483.
- Heller, K. G. 1988. Bioakustik der Europa " ischen Laubheuschrecken. Ö kologie in Forschung und Anwendung, Verlag Josef Margraf, Weikersheim, 358pp.
- Heller, K. G. 2006. Song evolution and speciation in bush-crickets, In: Drosopoulos S, Claridge MF (eds), *Inst sounds and communication: physiology, behavior, ecology and evolution*. ISBN 0-8493-2060-7. 151-165.
- Hewitt, G.M. 1996. Some genetic consequence of ice ages, and their role in diverging and speciation. **Biological Journal of Linnaean Society**, 58, 247-276.
- Hey, J. 2001. The mind of the species problem. **Trends in Ecology and Evolution**, 16: 326-329.

- Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics**, 17: 754–755.
- Kaltenbach, A. 1964. Zur Systematik und Verbreitung der Raubheuschrecken (Tettigoniidae -Saginae), insbesondere der europäischen Arten der Gattung *Saga* Charpentier. **Zeitschrift der Arbeitsgemeinschaft Österreichischer Entomologen**, 16: 68–82.
- Kaltenbach, A. 1967. Unterlagen für eine Monographie der Saginae I. Superrevision der Gattung *Saga* Charpentier (Saltatoria: Tettigoniidae). **Beiträge zur Entomologie**, 17: 3–107.
- Kaltenbach, A. 1970. Unterlagen für eine Monographie der Saginae II. Beiträge zur Autoökologie der Gattung *Saga* Charpentier (Saltatoria: Tettigoniidae). **Zoologische Beiträge**, 16: 155–245.
- Kaltenbach, A. 1974. Decticinae aus Israel (Saginae und Decticinae aus Israel II). **Annalen des Naturhistorischen Museum in Wien**, 78: 291-302.
- Karabağ, T. 1949. Ankara vilayeti dahilinde mevcut çekirgelerin ekolojik, coğrafi ve sistematik durumları üzerinde araştırmalar. No: 4, Ankara Üniversitesi yayınları. 121 s., Ankara.
- Karabağ, T. 1958. Türkiye'nin Orthoptera faunası. Şirketi Murettebiye Basımevi, 192 s., İstanbul.
- Karabağ, T., Balamir, S., Gümüşsuyu, İ., Tutkun, E. 1971. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Araştırmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, 11 (2): 73-100.
- Karabağ, T., Balamir, S., Gümüşsuyu, İ., Tutkun, E. 1974. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Araştırmalar (II). **Bitki Koruma Bülteni**, 14 (1): 3-18.
- Karabağ, T., Gümüşsuyu, İ., Tutkun, E. 1980. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Araştırmalar (III). **Bitki Koruma Bülteni**, 20 (1-4): 1-25.
- Kirby, W.F. 1906. Orthoptera Saltatoria. Part I. (Achetidae et Phasgonuridae). A Synonymic Catalogue of Orthoptera (Orthoptera Saltatoria, Locustidae vel Acridiidae). British Museum (Natural History), London, 562 pp.
- Kolics, B., Orci, K.M., Chobanov, D., Baska, F., Kondorosy, E., Müller, T. 2008. Description of the song of the bush-cricket *Saga rammei* Kaltenbach, 1965 (Orthoptera: Tettigoniidae). **Biologia (Section Zoology)**, 63 (2): 254-260.

- Kolics, B., Ács, Z., Chobanov, D. P., Orci, K. M., Qiang, L. S., Kovács, B., Kondorosy, E., Decsi, K., Taller, J., Specziár, A., Orbán, L., Müller, T. 2012. Re-visiting phylogenetic and taxonomic relationships in the genus *Saga* (Insecta: Orthoptera). **Plos One**, 7 (8) Article number e42229 DOI: 10.1371/journal.pone.0042229.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Molecular Biology and Evolution**, 35(6): 1547-1549.
- Lemonnier-Darcemont, M., Bernier, C., Darcemont, C. 2009. Field and breeding data on the European species of the genus *Saga* (Orthoptera: Tettigoniidae). **Articulata**, 24: 1-14.
- Lisiecki, L. E., Raymo, M. E. 2007. Plio–Pleistocene climate evolution: trends and transitions in glacial cycle dynamics. **Quaternary Science Reviews**, 26: 56–69.
- Massa, B., Fontana, P., Buzzetti, F. M., Kleukers, R., Odé, B. 2012. Fauna d'Italia. XLVIII. Orthoptera. Bologna: Calderini.
- Mol, A., Taylan, M. S., Demir, E., Şirin, D. 2016 Contribution to the knowledge of Ensifera (Insecta: Orthoptera) fauna of Turkey. **Journal of Entomological Research Society**, 18 (1): 75–98.
- Mugleston, J. D., Naegle, M., Song, H., Whiting M. F. 2018. A Comprehensive Phylogeny of Tettigoniidae (Orthoptera: Ensifera) Reveals Extensive Ecomorph Convergence and Widespread Taxonomic Incongruence. **Insect Systematics and Diversity**, 2(4):1–27 doi: 10.1093/isd/ixy010
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. Molecular systematics. (eds), Hillis, D. M., Moritz, C., Mable B. K. Sunderland, M. A.: Sinauer Associates.
- Rambaut, A. 2009. FigTree v1.3.1. Computer program. [<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>]. Erişim tarihi: 07.11.2020.
- Rambaut, A., Drummond, A.J. 2007. TRACER, version 1.5. [<http://evolve.zoo.ox.ac.uk/Evolve/Software.html>]. Erişim Tarihi: 11.11.2020.
- Ramme, W. 1951. Zur Systematic, faunistik und Biologie der Orthoptera von Sütost-Europa und Vorderasien, **Mitteilungen aus dem Zoology Museum Berlin**, 27: 1-421.

- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, 19: 1572-1574.
- Salman, S. 1978. Ağrı, Kars ve Artvin illerinin Orthoptera (Insecta) Faunası Üzerine Taksonomik Araştırmalar. Yayın 490. Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları 82, 184 pp., Erzurum.
- Satar, A., Özbay, C. 2003. On the Orthoptera (Insecta) Fauna of the Karacadağ Mountains and the Tigris (Diyarbakır, Turkey), **Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa**, 32: 115-120.
- Sevgili H., Çıplak, B. 2000. The Orthoptera of iganlıurfa province from the Mesopotomian part of the Turkey. **Italian Journal of Zoology**, 67: 229-240.
- Sevgili, H., Demirsoy, A., Durmuş, Y. 2012. Orthoptera fauna of Kemaliye (Erzincan). **Hacettepe Journal of Biology and Chemistry**, 40 (4): 317–335.
- Steininger, F.F., Rögl, F. 1984. Paleogeography and palinspastic reconstruction of the Neogene of the Mediterranean and Paratethys, The Geological Evolution of Eastern Mediterranean, (eds): Dixon, J.E. ve Robertson, A.H.F., Oxford, The Geological Society, Blackwell Scientific, pp: 659-668.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP* Pylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods). v. 4.0 beta. Sunderland, M. A: Sinauer Associates.
- Şekercioğlu, Ç.H., Anderson, S., Akçay, E., Bilgin, R., Can, Ö.E., Semiz, G., Tavşanoğlu, Ç., Yokeş, M. B., Soyumert, A., İpekdal, K., Sağlam, İ. K., Yücel, M., Dalfes, H. N. 2011. Turkey's globally important biodiversity in crisis. **Biological Conservation**, 144: 2752-2769.
- Şirin, D., Mol, A., Çıplak, B. 2011. *Myrmeleotettix* Bolivar (Orthoptera, Gomphocerinae) in Anatolia on the basis of morphological and behavioural characters: data suggest a new species from southern end of the Anatolian refugium. **Zootaxa**, 2917: 29–47.
- Şirin, D., Taylan, M. S., Mol, A. 2014. First song descriptions of some Anatolian species of Tettigoniidae Krauss, 1902 (Orthoptera, Ensifera). **ZooKeys**, 369: 1-24.

- Şirin, D., Taylan, M. S., Sevgili, H, Mol, A. 2019. Bioacoustics review of Anatolian species of the predatory bush-cricket genus *Saga* (Orthoptera: Tettigoniidae: Saginae) with the description of a new species. **Zootaxa**, 4664 (1): 083–102.
- Taylan M. S., Şirin, D. 2016. Phaselis Antik Kenti Orthoptera (Insecta) Faunası I. **Phaselis**, II. 49-56. DOI: 10.18367/Pha.16004.
- Templeton, A. R. 1998. Species and speciation: geography, population structure, ecology and gene trees. In: Howard DJ, Berlocher SH (eds), *Endless forms: species and speciation*. Oxford University Press, Oxford, 32-43 pp.
- Ünal, M. 2011. Check list of the Turkish Orthoptera. [<http://www.orthoptera-tr.org/>]. Erişim tarihi: 10.10.2020.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Burcu BİNİCİ

Doğum Yeri ve Tarihi : Kahramanmaraş, 08.09.1991

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Fırat Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Öğretmenliği

Yabancı Diller : İngilizce

İLETİŞİM

E-Posta Adresi : coskunburcu@hotmail.com.tr

Tarih : 21/12/2020