



**T. C.**

**ORDU ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISOPHYA RECTİPENNİS TÜR GRUBUNA AİT BAZI  
TÜRLERDE (ORTHOPTERA: PHANEROPTERINAE)  
KÜTİKÜLAR HİDROKARBON PROFİLLERİNİN  
TAKSONOMİK KARAKTER OLARAK  
KULLANILABİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**ELİF AÇIKEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ORDU 2021**

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**Elif AÇIKEL**

**Bu tez, 117Z068 numaralı TUBİTAK projesi ile desteklenmiştir.**

## ÖZET

### ISOPHYA RECTIPENNIS TÜR GRUBUNA AİT BAZI TÜRLERDE (ORTHOPTERA: PHANEROPTERINAE) KÜTİKÜLAR HİDROKARBON PROFİLLERİNİN TAKSONOMİK KARAKTER OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ELİF AÇIKEL

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 53 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HASAN SEVGİLİ)

Evrimsel biyolojinin temelini tür kavramı ve türleşmenin nasıl meydana geldiğinin anlaşılması oluşturmaktadır. Organizmaların çevreye adaptasyonunun araştırılması biyolojik çeşitliliği oluşturan mekanizmaların anlaşılmasından geçmektedir. Genetik sürüklenme ve adaptasyon ise bu süreci oluşturan ana biyolojik olgulardır. Tür kavramını anlamak ve organizmaları sınıflandırabilmek adına bu çalışmada biyokimyasal bir araç olarak kütikular hidrokarbonların taksonomide kullanımı araştırılmıştır. Model organizma olarak seçilen *Isophya rectipennis* tür grubuna ait genelde allopatrik yayılış gösteren fakat simpatrik olarak da iki türün olduğu beş farklı tür çalışılmıştır. *I. rectipennis* türü hariç *I. obenbergeri*, *I. ilkazi*, *I. stenocauda* ve *I. nervosa* Anadolu'ya endemik türlerdir. Çalışmada simpatrik yayılış gösteren *I. ilkazi* ve *I. obenbergeri*'nin KHK profilinin birbirinden oldukça farklı bir kompozisyona sahip olması ve pik sayısı bakımından da farklılıklar göstermeleri bu iki türün eşeylerini tanımada KHK'ları kullanarak çiftleşmek için izolasyonu sağlamaya yardımcı olduğunu düşündürmektedir. Fakat bu sonuca varabilmek bu çalışmanın kapsamı dışında kalan deneysel süreçleri içerdiği için daha detaylı çalışmalar gerektirmektedir. Aynı zamanda şimdiye dek birbirine yakın türler olarak sınıflandırılmış *I. stenocauda* ve *I. obenbergeri*'nin KHK profillerinden elde edilen analizler sonucu birbirlerinden oldukça farklı konumlandığı bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar bazında KHK'ların yardımcı taksonomik karakter olarak özellikle birbirine yakın türleri ayırt ederken kullanılabilirliği test edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Isophya rectipennis*, Kütikular Hidrokarbonlar, Taksonomi

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE CUTICULAR HYDROCARBON PROFILES AS A TAXONOMIC TOOL IN SPECIES OF THE *ISOPHYA RECTIPENNIS* SPECIES-GROUP (ORTHOPTERA: PHANEROPTERINAE)

ELIF ACIKEL

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED  
SCIENCES

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC

MASTER THESIS, 53 PAGES

(SUPERVISOR: PROF. DR. HASAN SEVGILI)

The basis of evolutionary biology is the concept of species and an understanding of how speciation occurs. Investigating the adaptation of organisms to the environment depends on understanding the mechanisms that make up biological diversity. Genetic drift and adaptation are the main biological phenomena that make up this process. In this study, the use of cuticular hydrocarbons as a biochemical tool in taxonomy was investigated in order to understand the concept of species and to classify organisms. Five different species belonging to the *Isophya rectipennis* species group selected as the model organism, which generally show allopatric distribution but also have two sympatric species, were studied. Except for *I. rectipennis*, *I. obenbergeri*, *I. İlkazi*, *I. stenocauda* and *I.nervosa* are endemic to Anatolia. The fact that the CHC profiles of *I. İlkazi* and *I. obenbergeri*, which spread sympatrically in the study, have a very different composition from each other and show differences in terms of the number of peaks, suggest that these two species help to provide isolation for mating by using CHCs in recognizing their sexes. However, reaching this conclusion requires more detailed studies as it includes experimental processes that are beyond the scope of this study. At the same time, it was found that *I. stenocauda* and *I. obenbergeri*, which were classified as closely related species, were located quite differently from each other as a result of the analyzes obtained from the CHC profiles. Based on these results, the usability of the CHCs as auxiliary taxonomic characters, especially when distinguishing closely related species, was tested.

**Keywords:** Cuticular Hydrocarbons, *Isophya rectipennis*, Taxonomy

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, gerekli çalıŐmaların yürütölmesi ve tezimin yazım aŐamasında baŐta danıŐman hocam Prof. Dr. Sayın Hasan SEVGİLİ'ye ve tez yazım esnasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eŐim Samet Burak AÇIKEL'e her türlü yardımlarından dolayı kardeŐlerim Nisanur KAYGI ve Sudenur KAYGI'ya, her türlü desteğiyle yanımda olan arkadaŐım Hülya ÖZDEMİR'e, Kütikülar Hydrocarbon analizi ile ilgili çalıŐmalarımda bilgi ve birikimini esirgemeyen Prof. Dr. Sayın Emine BAĖDATLI hocama ve bu tezin arazi ve laboratuvar çalıŐmalarına katkı sağlayan 117Z068 nolu TUBİTAK projesi kapsamında yürütücüsü Prof. Dr. Sayın Hasan SEVGİLİ'ye katkılarından dolayı teŐekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	I
<b>ÖZET</b> .....	III
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	V
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	VI
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	VIII
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	IX
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. <i>Isophya</i> Cinsine Genel Bir Bakış.....	2
1.2. Kütikular Hidrokarbonlar.....	3
1.3. Taksonomik Bir Karakter Olarak KHK.....	7
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	11
2.1. <i>Isophya Rectipennis</i> Tür Grubuna Genel Bakış.....	11
2.1.1. <i>Isophya rectipennis</i> .....	12
2.1.2. <i>Isophya ilkazi</i> .....	12
2.1.3. <i>Isophya obenbergeri</i> .....	13
2.1.4. <i>Isophya nervosa</i> .....	14
2.1.5. <i>Isophya stenocauda</i> .....	15
2.2. Arazi Çalışmaları.....	16
2.3. Kütikular Hidrokarbon Çalışmaları.....	22
2.4. İstatistiksel Yöntemler.....	23
<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	24
3.1. <i>Rectipennis</i> Tür Grubunda Erkek ve Dişilere Ait KHK Verilerinin Karşılaştırılması.....	30
3.2. KHK Verilerinin Türler Bazında Değerlendirilmesi.....	32
3.3. KHK Verilerinin Çiftleşme Durumları Bazında Değerlendirilmesi.....	33
3.4. <i>Rectipennis</i> Tür Grubunda Dişilere Ait KHK Verilerinin Türler Bazında Karşılaştırılması.....	36
3.5. <i>Rectipennis</i> Tür Grubunda Erkeklerle Ait KHK Verilerinin Türler Bazında Karşılaştırılması.....	37
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	38
4.1. Tartışma.....	38
4.2. Sonuç ve Öneriler.....	42
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	45
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1 KHK Biyosentezi, Böcek Türlerine ve Gelişim Aşamasına Bağlı Olarak Esas Olarak Epidermiste Kümeler Halinde Gömülü Olan veya Yağ Gövdesi İçinde Dağılan Özel KHK'lar, Yüksek Yoğunlu.....	4
Şekil 2.1 <i>I. ilkazi</i> Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	13
Şekil 2.2 <i>I. obenbergeri</i> Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	14
Şekil 2.3 <i>I. nervosa</i> Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	15
Şekil 2.4 Çalışılan <i>Isophya</i> Türlerine İlişkin Yapılan Arazi Çalışmalarında Örneklem Yapılan Noktaları Gösteren Harita (Harita QGIS 3.8 programı kullanılarak üretilmiştir). .....	15
Şekil 2.5 <i>I. ilkazi</i> 'nin bulunduğu habitatlara ait görüntüler/Kastamonu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	18
Şekil 2.6 <i>I. nervosa</i> 'nın Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Kırıkkale (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	19
Şekil 2.7 <i>I. stenocauda</i> 'nın Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Çorum (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	20
Şekil 2.8 <i>I. obenbergeri</i> 'nin Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Kastamonu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	21
Şekil 2.9 <i>I. rectipennis</i> 'in Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Kastamonu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ). .....	22
Şekil 3.1 <i>I. rectipennis</i> Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri .....	25
Şekil 3.2 <i>I. ilkazi</i> Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri .....	25
Şekil 3.3 <i>I. nervosa</i> Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri .....	26
Şekil 3.4 <i>I. obenbergeri</i> Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri .....	26
Şekil 3.5 <i>I. stenocauda</i> Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri.....	27
Şekil 3.6 Dişi ve Erkek Bireylerde Beş Tür KHK Yapısının Yüzdesele Oranları. ....	27
Şekil 3.7 Türlerle Ait Dişi ve Erkek Bireylerin Beş Tür KHK Yapısının Yüzdesele Oranları.....	29
Şekil 3.8 Türlerle Ait Dişi ve Erkek Bireylerin PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Karşılaştırılması .....	31
Şekil 3.9 Türlerle Ait Dişi ve Erkek Bireylerin PC1 (%24.74) Komponenti Bazında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği .....	31
Şekil 3.10 PC1 ve PC2 komponentleri Bazında Türlerin Karşılaştırılması.....	32
Şekil 3.11 PC1 komponenti Bazında Türlerin Birbirlerine Göre Durumunun Kutu Grafiği .....	33
Şekil 3.12 Türlerle Ait Virgin ve Nonvirgin Bireylerin PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Karşılaştırılması .....	35
Şekil 3.13 Türlerle Ait Virgin ve Nonvirgin Bireylerin PC1 (%24.74) Komponenti Bazında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği .....	35

<b>Şekil 3.14</b>	PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Türlerin Dişiler Arasında Karşılaştırılması .....	36
<b>Şekil 3.15</b>	PC1(%24.74) KmpONENTİ Bazında Türlerin Dişiler Arasında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği .....	37
<b>Şekil 3.16</b>	PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Türlerin Erkekler Arasında Karşılaştırılması .....	37
<b>Şekil 3.17</b>	PC1(%24.74) KmpONENTİ Bazında Türlerin Erkekler Arasında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği .....	38



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

- Çizelge 2.1** 117Z068 Numaralı "İki *Isophya* Brunner Von Wattenwyl, 1878 (Orthoptera: Phaneropterinae) Tür Grubunda Spermatofor Özelliklerinin ve Kütiküler Hidrokarbon Profillerinin Karşılaştırılması" Başlıklı Proje Kapsamında Yapılan Arazi Çalışması Takvimi. .... 16
- Çizelge 3.1** Çalışma kapsamında kullanılan türlere ait birey sayılarını gösteren tablo (A: türlere ait tüm dişi ve erkek bireylerin sayısı, B: virgin ve nonvirgin bireylerin sayısı). .... 24
- Çizelge 3.2** *I. Rectipennis* Tür Grubuna Ait Beş Türün KHK Verilerinin TBA Analizinden Elde Edilen Komponentleri ..... 30
- Çizelge 3.3** Genelleştirilmiş Mixed Linear Model İle Gerçekleştirilmiş İlk Beş Komponentin Tür, Eşey ve Çiftleşme Durumlarına Göre Farklılığını Gösteren Çizelge. Anlamlı Sonuçlar Kalın Olarak Gösterilmiştir. .... 30
- Çizelge 3.4** Multivariate MANOVA İle Bağımlı Değişkenler PC1-PC5'in Türler Üzerinden Farklılığı Kalın Olarak Gösterilmiştir. .... 33
- Çizelge 3.5** MANOVA Posthoc Analizi (Benferroni) İle Türlerin Birbirleri İle Karşılaştırılması. Anlamlı Farklılıklara Sahip Türler Kalın Olarak Gösterilmiştir. .... 34

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

---

<b>GS-MS</b>	:	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
<b>KHK</b>	:	Kütüküler Hidrokarbon
<b>MANOVA</b>	:	Çok Değişkenli Varyans Analizi
<b>TBA</b>	:	Temel Bileşenler Analizi

---

## 1. GİRİŞ

Farklı çevre şartlarına fizyolojik adaptasyon özellikle allopatrik popülasyonların ekolojik olarak farklı nişlerde genetik açıdan farklılaşmasının hızlanmasını sağlar (Arnegard, ve ark., 2014). Biyolojik çeşitliliğin oluşmasındaki en önemli faktör bu süreçtir. Türleşme sürecinde popülasyonların etkili üreme izolasyonunun anlaşılmasında hangi karakterlerin ayrıştığı, ne şekilde farklılaştığı ve lokal popülasyonların hangi karakterlerinin değişimi sonucu oluştuğu soruları büyük önem taşımaktadır (Schluter, 2001; Schluter ve Conte, 2009). Üreme izolasyonu gerçekleştiğinde mekanik uyumun ve türleşmenin nasıl olduğuna dair birçok soru ise hala cevap beklemektedir. Moleküler taksonomi yaparken özellikle yakın akraba türler için genetik yakınlık ve varyasyonların detaylı çalışılması gerekmektedir. Bununla beraber türleri ayırt etme ve sınırlarını belirleme sürecinde yalnızca geniş ölçekli DNA sekansı verileri yetersiz kalıp morfoloji, biyocoğrafya ve diğer taksonomik karakterler de çalışmada değerlendirilmelidir (Ahrens ve ark., 2007). Örneğin böceklerde mitokondrial DNA sekansları farklı seçimlerin de etkisi altında olması bakımından türleri sınırlandırmada yetersiz kalacakken, eşeylerin birbirini tanımada iş gören kimyasal bileşiklerin (örneğin Kütiküler Hidrokarbonlar-KHK) güçlü seçim altında türe özgü profiller gösterdiği bilinmektedir (Hefetz, 1993; Martin, ve ark., 2009). Buradan da anlaşılacağı üzere kimyasal taksonomik karakterler de taksonomik olarak problemlili grupların anlaşılmasında önemli ipuçları sağlayabilecek potansiyeldedir (Martin, ve ark., 2009).

Orthoptera türleri Anadolu'nun heterojen topoğrafik yapısı nedeniyle özellikle allopatrik türleşme modellerinin anlaşılması açısından geniş bir model organizma grubuna sahiptir. Morfoloji, davranış ve moleküler veriler dışında biyokimyasal karakterlerin özellikle böcek gruplarında taksonomik araç olarak kullanılabilirliği yeterince sınırlanmamıştır. Palearktik bölgede özellikle Anadolu ve Balkanlarda çok sayıda türe sahip olan çalçekirgesi cinsi *Isophya* türlerinin taksonomisi oldukça güç ve karmaşık olup morfolojik olarak ayırt edilmeleri zordur (Sevgili, 2004). Farklı tür grupları altında çok sayıda dar yayılışlı türleri olan bu

cinsin KHK profillerinin aynı tür grubu içerisinde ve türün eşeyleri arasında farklılaşmaya uğrayıp uğramadığı test edilebilir.

### 1.1. *Isophya* Cinsine Genel Bir Bakış

*Isophya* Brunner von Wattenwyl, 1878 cinsine ait çekirgeler yalnızca Palearktrik zoocoğrafik bölgede yayılış gösteren ve bu bölgede *Poecilimon* cinsinden sonra en fazla türe sahip cinslerden biridir. (Sevgili ve ark. 2006; Cigliano ve ark. 2020). Türlerin önemli bir kısmı Anadolu ve Balkanlarda yayılış göstermektedir (Heller ve ark. 2004; Sevgili ve Heller, 2003; Sevgili ve ark. 2006; Sevgili ve ark. 2012; Ünal, 2003, 2010). Tüm Palearktık bölgede yaklaşık 100 civarında tür tespit edilmiştir (Cigliano ve ark. 2020). Türkiye’de yayılış gösteren 45 tür / alttürden 38’i endemiktir. Batı Akdeniz ve Güney Ege Bölgesi hariç hemen hemen tüm illerimizde temsil edilen türlere sahip olsa da türlerin önemli bir kısmı Karadeniz, Marmara ve İç Anadolu bölgesinde yoğunlaşmıştır. *I. rectipennis* Brunner von Wattenwyl, 1878 gibi birkaç türün yayılışı oldukça geniş iken türlerin önemli bir kısmı lokal endemik olup ya bir dağ silsilesi ya da step gibi özgün habitatlarda sıkışıp kalmışlardır. *I. mavromoustakisi* Uvarov, 1936 gibi sadece bir adada (Kıbrıs) yayılış gösteren ilginç türler de vardır (Sevgili ve ark. 2006)

Türlerin biyolojisine ışık tutacak en kapsamlı çalışma Can (1959) tarafından yapılmış olsa da birçok türün biyolojisi hala bilinmemektedir. Bireylerin yumurtadan çıkıp erginleşmeleri ortalama 1,5 aydır ancak sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir (Can, 1959). Ergin dönemleri 4-7 haftayı bulmaktadır (Hasan Sevgili, *I. speciosa*, yayımlanmamış veri). Çiftleşme ise ergin dönemin ilk 5-6 günü içerisinde başlar ve her birey (dişi ve erkek) genellikle her seferinde farklı bir birey seçecek şekilde birden fazla kez çiftleşir (Uma ve Sevgili, 2015). Yapılan gözlemlerde birden fazla kez çiftleşen dişi III. haftadan itibaren yumurta bırakmaya başlar ve yumurtalar kışı toprakta geçirir, baharın gelmesi ve havaların ısınmasıyla birlikte ise bölgenin yükseltisine bağlı olarak nimfler çıkmaya başlar. Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *I. sikorai* Ramme, 1951 Şubat sonlarından itibaren yumurtadan çıkmaya başlarken, kuzeyde Ilgaz dağlarında yayılış gösteren *Isophya* türleri (*I. ilkazi*, *I. obenbergeri*, *I. staneki*) Nisan sonu Mayıs aylarından itibaren nimfleri arazide görünmeye başlar (Hasan Sevgili, yayımlanmamış veriler).

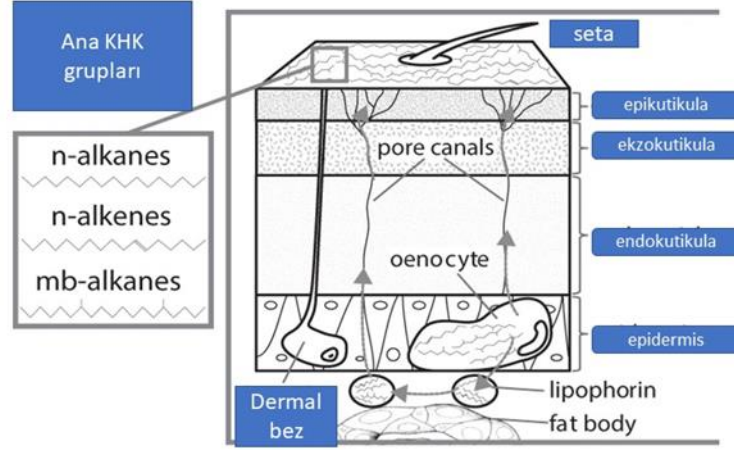
Çalışma kapsamında hedeflenen *I. rectipennis* tür grubu monofiletik bir tür grubu olup kendi içinde farklı sayıda tür içermektedir (Sevgili, 2004). *I. rectipennis* Brunner von Wattenwyl, 1878 tür grubu *pavelii* ve *rectipennis* tür gruplarından oluşmaktadır (Eades ve ark., 2015). *I. rectipennis* grubu ise farklı alt tür gruplarından oluşmaktadır. Bu çalışmada arazi çalışmalarını kolay yürütebilmek için arazide yaygın olarak bulunabilecek *rectipennis* grubuna ait *ilkazi* alt grubundan *I. ilkazi* Ramme, 1951, *I. nervosa* Ramme, 1931, *I. stenocauda stenocauda* Ramme, 1951 ve *I. stenocauda obenbergeri* Maran, 1958 populasyonları ile *I. rectipennis* (Anadolu popülasyonu) çalışılmıştır. *I. rectipennis* Bulgaristan ve Romanya'ya kadar uzanan geniş yayılış alanlarına sahip olmasına rağmen çalışmada Avrupa popülasyonu değil Orta Anadolu, Batı Karadeniz ve Marmara Bölgesinde yayılış gösteren Anadolu popülasyonlarından birisine odaklanılmıştır.

*Isophya* türlerinin birçoğunda morfolojik olarak ayırım özellikle dişilerde oldukça güçtür (Sevgili, 2004). O nedenle tür ayırımında daha çok erkeklere ait morfolojik karakterler (fastigium ve pronotumun yapısı, kanat, ses organı, serkus ve subgenital plaka) kullanılmaktadır. Türler morfolojik olarak birbirlerine yakınlık göstermesi nedeniyle erkeklerin çiftleşme öncesinde oluşturdukları “çağrı sesleri” türe özgü özellikler taşımakta olduğu için türlerin ayırt edilmesinde çok kullanışlı bir davranışsal karakterdir (Sevgili, 2004; Sevgili ve ark. 2006; Sevgili, 2020). Ancak bütün bu karakterlere ek olarak moleküler karakterler de bazı grupların filogenetik ilişkilerinin anlaşılmasında önemli işleve sahiptir (Chobanov ve ark. 2017). Bütün bu girişimlere rağmen *Isophya* cinsi içerisindeki filogenetik ilişkiler tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada taksonomik bir karakter olarak da kullanılan kütiküler hidrokarbon profillerinin ayırım gücü *Isophya* türleri için de araştırılmıştır. Özellikle erkek ve dişilerde belirgin bir farklılığın olacağı, türler arasında iç içe geçmeler olsa da türler bazında bazı pikler açısından belirgin farklılıkların ortaya çıkabileceği tahmin edilmiştir.

## 1.2. Kütiküler Hidrokarbonlar

Böceklerdeki kitin yapısı, büyük oranda eklembacaklılarda, vücudun patojen, darbe ve yaralardan korunması, su kaybının önlenmesi ile beraber birçok biyolojik fayda sağlayan kimyasal bileşikler içerirler (Kaya ve ark., 2015).

Birçok çalışmada böceklerdeki kütiküler hidrokarbon (KHK) biyosentezinin büyük oranda epidermal tabakada yer alan özelleşmiş önosit (oenocytes) hücrelerinde gerçekleştiğini göstermektedir (Blomquist ve Bagnères, 2010) (Şekil 1.1).



**Şekil 1.1** KHK Biyosentezi, Böcek Türlerine ve Gelişim Aşamasına Bağlı Olarak Esas Olarak Epidermiste Kümeler Halinde Gömülü Olan veya Yağ Gövdesi İçinde Dağılmış Özel Salgı Hücreleri Olan Önositlerde Gerçekleşir. Ardından KHK'lar Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Lipoforin Tarafından Homolenf Boyunca Taşınarak Kütiküler Tabakaya Nüfuz Eden Özel Gözenek Kanalları Yoluyla Epikutiküler Yüzeyle Taşınır (Holze ve ark., 2020).

Birincil görevleri su kaybını önlemek olsa da kimyasal iletişimde de oldukça önemli işlev görürler (Singer, 1998; Blomquist ve Bagnères, 2010). KHK'lar kimyasal iletişimde feromonal aktivite bakımından önemli rol oynarlar (Charline, ve ark., 2005; Chung ve Carroll, 2015). Bu sayede sosyal böceklerde iş bölümünün düzenlenmesi (Kather ve Martin, 2015), yakın türler arasında davranışı şekillendirerek çiftleşmenin engellenmesi (Fan ve ark., 2013) koloni içerisinde kast sisteminin devamının sağlanması gibi durumları düzenlerken sosyal olmayan böcekler de ise kendi türlerine ait böcekleri tanımak ve doğru cinsiyet seçimini yapmak için KHK'lar kullanılır (Bartelt ve ark., 2002; Böröczky ve ark., 2009; Steiner ve ark., 2006). Bu durum sosyal böceklerde kütiküler hidrokarbonların soliter (bireysel) böceklere kıyasla daha karmaşık ve yüksek çeşitlilikte olduğunu var sayımıza neden olmuştur. Fakat KHK çeşitliliğinin böceklerdeki sosyallikle ilişkili olarak artacağına dair varsayım Martin ve Kather (2015) tarafından yapılan bir

çalışma sonucunda reddedilmiştir. Çalışmanın sonucu göstermiştir ki sosyal böceklerin sahip olduğu KHK çeşitliliği sosyalliğin evriminden önce de vardır fakat çeşitli KHK üretme yeteneği bağımsız olarak evrimleşmek yerine doğal seçilime (Walsh ve ark., 2020) maruz kalarak bu varyasyonları oluşturur. Örneğin birçok parazit türde kimyasal iletişim, böceklerin karmaşık kur yapma davranışları altındaki öncül araçtır (Sullivan, 2002). Potansiyel eşlerin bulunması, tanınması, değerlendirilmesi hatta konak için rekabet veya konakçı içerisindeki rekabeti azaltabilmek için konakçıyı işaretlemek (Van Alphen ve Visser 1990) gibi durumlar karmaşık KHK profili seçimine neden olmuş olabilir. Bilinen en ilkel karınca türü olan *Nothomyrmecia macrops*, %65 oranında metilalken ve metilalkadien üreterek bu bileşikler üretebilmek için gereken karmaşık biyokimyasal yolağın bu türlerin evrimsel sürecinin en başından beri var olduğunu göstermiştir. Bu durum KHK çeşitliliğinin filogeniyle bağlantısı olmadığını göstermektedir. Yakın akraba türlerin dahi benzer KHK içeriği göstermediği durumlar gözlenebilmektedir (Martin ve Drijfhout, 2009). Böylece KHK çeşitlerini üreten biyokimyasal yolların *Hymenoptera*'nın evrimsel sürecinin başlarından beri zaten mevcut olduğunu anlamış durumdayız (Martin ve ark., 2015).

KHK tür çeşitliliğinin en zengin olduğu böcek takımlarından birisi olan *Hymenoptera*'da daha çok çalışılmıştır (Wilson, 1971). Arılarda tanımlanmış binlerce KHK çeşidi vardır. Bu çeşitlilik 21 ila 40 karbon atomundan oluşan zincir üzerinde farklı pozisyonlarda bulunabilen bir veya birden fazla çift bağ (alken) veya metil grubunun (metilalkan) varlığından kaynaklanır. Bazı nadir durumlarda böceklerde 50 karbon atomundan oluşan bileşikler de bildirilmiştir (Ginzel and Blomquist, 2016). Kiraliteye sahip bu karbon zincirleri oluşturdukları R ve Z-konfigürasyonları sayesinde çeşitliliği daha da arttırmış olurlar (Bello ve ark., 2015). Böcekler aynı zincir uzunluğuna sahip bu hidrokarbonların kiralitesini, çift bağın veya metil grubunun varlığı ve yokluğu gibi küçük farklılıkları algılayabilirler (Dani ve ark., 2005). Aynı zincir uzunluğuna sahip fakat çift bağ veya metil grubunun farklı konumlandığı bileşikler kolayca ayırabilirken homolog yapıdaki (aynı yapıda fakat farklı zincir uzunluğundaki bileşikler) bileşikler ayırt edemedikleri görülmüştür (Van Wilgenburg ve ark., 2010). Böceklerin bu sinyalleri nasıl algıladığı

konusundaki moleküler mekanizma ise daha çok çalışılmaya muhtaçtır (Ozaki ve ark., 2005).

Kütiküler hidrokarbonları üç ana grupta toplamak mümkündür: 1. *n*-alkanlar 2. bir veya birden fazla çift bağa sahip alkenler 3. bir veya birden daha fazla metil grubu bulunan metilalkanlar (Howard ve Blomquist 2005; Morgan 2010). Bu sınıflara ek olarak doymamış metil dallı bileşenleri içeren yapılar bulunsa da bunlar yaygın değildir ve genellikle küçük miktarlarda bulunurlar. Fletcher ve ark. (2001, 2008) ve McGrath ve ark. tarafından (2003), çift bağların bitişik karbonlar üzerinde olduğu allenik yapıda bir hidrokarbon grubu varlığı da bildirilmiştir.

Genellikle türler metilalkan ve alkenleri aynı anda üretmezler. Monometil alkanlar ve *n*-alkanlar ise istisnalar dışında yaygın olarak var olan kütiküler bileşiklerdir. *N*-alkanlar oluşturduğu hidrofobik yapısı nedeniyle aynı zamanda karasal iklimde yaşayan bitkilerin kütikülündeki evrensel bileşiklerdir. 18 karbon atomundan fazla karbon atomu içeren *n*-alkanlar oda sıcaklığında katı formdadır fakat bileşiğe eklenen bir çift bağ veya metil grubu erime noktasını 50 °C'ye kadar düşürebilir. Bu bileşiklerin birlikte bulunmasının kütikül yapısına kazandırdığı katı-sıvı form, esnek bir su geçirmez tabaka sağlamış olur. Monometil alkanlar kimyasal iletişimde de rol oynayabilir ancak genel olarak ifade ediliyor olmaları bireyler için genel göstergeler olduğuna işaret ediyor olabilir. Bir diğer varsayım monometil alkanlar dimetil alkanların üretimi için öncül bileşikler olabilir (Martin ve Drijfhout, 2009).

Hemen hemen tüm eklembacaklıların kitin yapısında bulunan mumsu tabakanın tek bir bileşeni veya hidrokarbon bileşenlerinin bir karışımı, şu gibi soruları yanıtlamak için birincil kimyasal sinyal görevi görür: “Türümün bir üyesi misin? Benimle aynı cinsiyetten misin?” alt sosyal böcekler için “Ailemin, veya grubun bir üyesi misin?” sosyal böcekler için “Kolonimin bir üyesi misin? Yuvamın bir üyesi misin? Hangi kasta aitsin? Kraliçe misin yoksa üreme için misin? Bana belirli bir görevi tamamlamanın gerekliliğini iletmeye çalışan bir işçi misin? Yakın akraba mısınız?” (Ginzel and Blomquist, 2016). Koloniler halinde yaşayan organizmalar için yuva arkadaşını tanıyabilmek önemlidir. Koloni dışından bireylere veya parazit türlere karşı koloni kaynaklarının korunmasına yardımcı olur (Chaline



ve ark., 2005). Sosyal böceklerde bu iletişime kimyasal bileşikler aracılık eder (Breed, 1998). Yuva arkadaşını tanımada kilit role sahip olan KHK'lar koloniler arasındaki saldırganlığa da aracılık etmektedir. Yuva arkadaşı tanıma veya eş seçimi gibi olayları düzenleyebilecek genetik temelli tanıma ipuçları için yeterli varyasyonun popülasyonlar arasında ne boyutta korunabildiği büyük oranda belirsiz bir konu iken (Rousset ve Roze, 2007) *Monomorium pharaonis* (Firavun karınca)'ta yapılan bir çalışmada KHK'ları oluşturan birçok bileşiğin genetik temelli tanıma için bilgilendirici genetik varyasyona sahip olduğu belirtilmiştir (Walsh ve ark., 2020). Aynı türün bireyleri ise sahip oldukları ortak KHK profilini çevresel faktörlerin etkisinden çok aynı ortak atadan geldikleri için kalıtsal olarak paylaşırlar. *Crematogaster levior* (Bahçe karıncası) türünde alkenlerin ve alkadienlerin varlığı veya yokluğunun yüksek oranda korunduğu görülmüş ve bu durum cins düzeyinde de biyosentetik yolların korunduğu sonucunu çıkarmaya uygun bulunmuştur (Menzel ve ark., 2017). Karıncalarda yapılan bir başka çalışma KHK'ların görev grupları arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini, koloniler arasında ayırt edici farklılıklar gözlemlendiğini fakat koloniden koloniye görev gruplarının birbirleriyle tutarlı KHK profiline sahip olduğunu bulmuştur. Bu durum görev gruplarını belirleyen KHK mekanizmasının da aynı olduğunu düşündürmektedir (Wagner ve ark., 1998). Bununla birlikte tür içi varyasyonların ise çevresel koşullara ve beslenmeye bağlı olarak şekillendiğini söyleyebiliriz (Walsh ve ark., 2020; Kather ve Martin, 2012). Böceklerde KHK'lar cinsel olgunluğa ulaşma (Nelson ve ark., 1981) gibi gelişimsel dönemlerle veya sıcaklık nem gibi abiyotik koşullara bağlı olarak (Wagner ve ark., 2001) da değişebilir. Örneğin, karınca kolonilerinde yuva dışında daha uzun süreler vakit geçiren gruplarda n-alkan seviyesi yuva bakımından sorumlu daha az dış ortama maruz kalan bireylerden daha fazladır. Muhtemelen bu durum yuvadan ayrılan bireylerin KHK kombinasyonlarını karşılayabileceği ortam koşullarına uygun olarak düzenlediğini göstermektedir (Wagner ve ark., 2001).

### **1.3. Taksonomik Bir Karakter Olarak KHK**

Böceklerdeki KHK'lar türleri sınırlandırmak için türe özgü bileşikler üretirler. Bilimsel literatür sayesinde de biliyoruz ki bu bileşikler (hidrokarbonlar) cinsiyet feromonları, kairomonlar, türler ve cinsiyet tanıma, yuva arkadaşı tanıma, baskınlık ve doğurganlık, kimyasal taklit, primer feromonlar, göreve özel ipuçları ve

hatta yavruların anne bakımı için gerekli sinyalleri üretmede kritik rollere hizmet eder (Blomquist ve Bagneres 2010). Kimyasal iletişimde KHK'ların oynadıkları rollerin sayısı ve çeşitliliğinin farkına varıldıktan sonra, böcek hidrokarbonlarının önemi daha iyi anlaşılmıştır (Ginzler and Blomquist, 2016).

Bazı türlerin belli KHK'ları seks feromonları olarak kullanıyor olması türler arasında bir üreme izolasyonu oluşturarak türleşmeyi destekleyebilir. Örneğin bir bileşiğin varlığı veya yokluğu üreme izolasyonunun açık bir göstergesidir buna dayanarak KHK miktarlarındaki farklılıkların tür sınırlamasındaki etkileri için daha fazla çalışma gerekmektedir (Kather ve Martin, 2012). Bakıldığında *n*-alkanların bireyler arasındaki iletişimden çok vücuttan su kaybını önlemek üzere kurak iklimle ilişkilendirildiği görülür (Gibbs ve ark., 1995,1998; Santos ve Nascimento, 2015). Metil dallı alkanlar kemotaksanomic karakter olarak kullanılabilir (Santos ve Nascimento, 2015). Örneğin *Euglossa* türüne ait iki kardeş türün KHK profilinde bu kriptik türü ayırt edebilecek varyasyonların mevcut olduğu görülmüştür (Pokorny ve ark., 2014). Tür farklılaşmasında cins düzeyinde tanımlama önemlidir. *Euglossini* cinsine ait on yedi türde yapılan çalışmada cinsler tanımlandığında türlerin farklılaşması KHK'lar üzerinden net bir şekilde görülmüştür. Türler arasındaki KHK çeşitliliği türlerin yaşadıkları ortamla, beslenme ve yaşam tarzlarıyla kısmen ilişkilidir. KHK'lar türler arasında benzer içerikte olmasına rağmen her tür kendine özgü karakteristik bir kimyasal profil ortaya koyarak taksonomic açıdan kullanışlı özelliktedirler (Santos ve Nascimento, 2015). Tür sınırlarının daha bilimsel ve hipoteze dayalı bir şekilde belirlenmesi için birbirinin güçlü ve zayıf yönlerini tamamlayan birkaç farklı taksonomic aracın birlikte kullanılması doğru bir yaklaşım olacaktır (Yeates ve ark., 2010). KHK'ların kurumayı önleyici ve iletişim sinyali oluşturma işlevleri antagonistik seçim baskısına maruz kalabilir. Örneğin aynı habitatta yaşayan iki popülasyon kimyasal karakter değişimi için bir seçim baskısına maruz kalabilir ancak kurumayı önleyici yapıları için benzer seçim baskısı yaşayacaklardır. Bu nedenle değişebilen bu kimyasal profilin hangi seçim baskısına ne tür yanıt verdiği ve bu yanıtı hangi genetik mekanizmanın yönettiğine dair araştırmalar yapmak KHK'ların evrimini anlamamızı sağlayacaktır (Menzel ve ark., 2017). Karıncalarda yapılan bir çalışmada (Menzel ve ark., 2017) KHK'ların zincir uzunluğu, göreceli bolluğu (nicel) gibi özelliklerinin filogenetik olarak hiçbir

sınırlama yaşamadığını göstermiştir. Bu nedenle KHK profillerinin şifreli türleri keşfetmek, türleri sınırlandırmak için yararlı bir araç olduğunu söyleyebiliriz (Kather ve Martin, 2012 ; Pokorny ve ark., 2013; Menzel ve ark., 2017).

KHK'ların sahip olduğu avantajlar göz önüne alındığında daha önceden güvenilirliği kanıtlanmış olan genetik ve morfolojik yöntemleri tamamlamak için iyi bir araçtır. Uzun zincirli KHK'ların detaylı tanımlanması ise bireylerde KHK'lara çevresel ve biyolojik etkinin anlaşılmasının yanında taksonomik karakter sayısını arttırmak için de önemlidir (Kather ve Martin, 2012). Orkide arılarında (Kabile: Euglossini) yapılan bir çalışma KHK'ların taksonomide morfolojik ve genetik karakterler yanında kullanışlı bir araç olduğunu 17 türde yapılan analizler sonucunda 108 farklı bileşik tanımlayarak bu bileşiklerin taksonomik sınıflandırmaya izin verdiğini göstermiştir (Santos ve Nascimento, 2015).

Filogeni dışında KHK'ların türleri tanımlamada uygulanabilir olduğunu gördüğümüz ve kullanımı açısından birçok avantaja sahip olan farklı bir alan da adli entomoloji olabilir. Örneğin; Sarcophagidae (Et sinekleri) (dört farklı koloni) üzerinde yapılan bir çalışmada (Braga ve ark, 2013) adli entomolojide öneme sahip bu türün analizinde kütiküler hidrokarbonların kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çıkan sonuçlar kütikular hidrokarbonların türe özgü içeriğe sahip olması bakımından taksonomide kullanılabilmesi yönünde olup birçok farklı avantaja da sahiptir. Bunlar; kütiküler hidrokarbonların kararlı bir yapıya sahip olması bakımından zamanla oluşabilecek bozulmalara karşı daha dirençli olması (DNA veya proteinler üzerinden analizlerde deformasyonlar analizi zorlaştırabilir), örneğin az olması durumunda dahi analizinin DNA analizlerine kıyasla analizinin daha mümkün olması, analiz yönteminin basit ve maliyetinin az olmasıdır. Pupa evresindeki örnekler adli entomolojide oldukça önemlidir. Bununla birlikte pupa evresinde iken normal taksonomik veriler ile tür tayini çok zordur ve DNA, enzimler, proteinler gibi moleküller üzerinden moleküler teknikler yetersiz kalabilmektedir. Bu noktada da erkenden türü tayin etmede KHK'lar çok yararlı bir taksonomik araç olmaktadır (Chen ve ark., 2014).

Çekirgeler eşeyler arasındaki haberleşmede sesle (biyoakustik iletişim) haberleşme ve salgılanan salgıların tatlarının alınını etkin olarak kullanırlar. Erkelerin oluşturduğu akustik titreşimlere dişiler tepki verir (Heller, ve ark., 1997). Literatürde ise erkek-erkek rekabeti ve eş seçimi konusunda birçok çalışma ses sinyallerinin rolüne odaklanırken (Tregenza ve Wedell, 1997) kütükler feromonların ek bir iletişim biçimi olduğu artık kanıtlanmıştır. Birçok böcek türünde olduğu gibi birçok çekirgede de eşeyler ve bireylere özgü yağ asitlerinin ve KHK'ların varlığı bildirilmiştir (Thomas ve Simmons, 2008). KHK'ların türe özgüllüğü üzerine yapılmış ilk kemotaksonomik çalışma Jackson ve Baker (1970) tarafından yapılmıştır. Bununla beraber aynı türe ait dişilerin erkeğe özgü kimyasal profile özelleşmiş olduğu ve bu bilgilerin genetik olarak da benzerlik gösterdiğine dair çalışmalar da yapılmıştır (Thomas ve Simmons, 2009). Bu nedenle dişilerin erkek eşeyi seçerken hem ses sinyallerini hem de bu kimyasal sinyalleri birlikte değerlendirdiği düşünülmektedir. KHK profillerinin vücut ölçüleri ve erkeğin ses parametreleriyle olan ilişkisinin incelendiği bazı çalışmalar da yapılmıştır (Thomas ve Simmons, 2009; Steiger, ve ark., 2013). Bilindiği üzere türler arasındaki taksonomik sınırı belirlemek için morfoloji, genetik ve biyokimyasal veriler gibi birçok alanda edinilen bilgilerin kullanıldığı yaklaşımlar mevcuttur. KHK'lar da bu çalışmalarda türleri ayırt ederken başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Jenkins, ve ark., 2000; Heethoff, ve ark., 2011; Seppä, ve ark., 2011).

Buradan hareketle lokal ve dar yayılışlı endemik popülasyonlarda KHK'ların hem türler arasında hem de tür grupları içerisinde eşeyssel seçilimin bir yolu olarak farklılaşmış olabileceğini ifade etmek gerekir. Hem *Isophya* hem de yakın akraba türlerde eşey seçiliminde biyoakustik sinyallerin önemli farklılıklar gösterdiği birçok çalışmada ortaya konulmuşken (Sevgili, 2004; Heller, ve ark., 2006; Sevgili, ve ark., 2006) biyokimyasal taksonomik değeri yüksek KHK profillerinin eşey seçimi üzerine etkisinin çalışılmamış olması önemli bir eksiklik olarak görülmektedir. Bu bağlamda endemizm oranları yüksek, kısa mesafelerde sıkışık lokal popülasyonlar halinde yayılış gösteren bu türlerin KHK verilerinin ortaya koyulması ve eşeyssel seçimleri hakkında fikir vermesinin amaçlanması önemli sonuçlar ortaya çıkarabilir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. *Isophya Rectipennis* Tür Grubuna Genel Bakış

*Isophya* cinsine ait bireylerin yumurtadan çıkıp erginleşmeleri ortalama 1,5 aydır ancak sıcaklığa bağlı olarak değişebilir (Can, 1959). Ergin dönemleri 4-7 haftayı bulur (Hasan Sevgili, *I. speciosa*, yayımlanmamış veri). Çiftleşme ise ergin dönemin ilk 5-6 günü içerisinde başlar ve her birey (dişi ve erkek) genellikle her seferinde farklı bir birey seçecek şekilde birden fazla kez çiftleşir (Uma ve Sevgili, 2015). Yapılan gözlemlerde birden fazla kez çiftleşen dişi 3. haftadan itibaren yumurta bırakmaya başlar ve yumurtalar kışı toprakta geçirirler, baharın gelmesiyle birlikte ise bölgenin yükseltisine bağlı olarak nimfler çıkmaya başlar. Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *I. sikorai* Ramme, 1951 Şubat sonlarından itibaren yumurtadan çıkmaya başlarken, kuzeyde Ilgaz dağlarında yayılış gösteren *Isophya* türleri (*I. ilkazi*, *I. obenbergeri*, *I. staneki*) Nisan sonu ve Mayıs aylarından itibaren nimfleri arazide görünmeye başlar (Hasan Sevgili, yayımlanmamış veriler).

*Isophya* türlerinde erkekler daha küçük ve vücut ağırlıkları daha azdır. Bu durum birçok böcek ve çekirge türlerinde gözlemlenir (Sevgili, 2004). Bunun nedeni büyük ölçüde dişi vücut büyüklüğü ile üreme başarısı arasındaki pozitif ilişki ile açıklanabilir (Gwynne, ve ark., 1984; Fedorka, ve ark., 2007). Erkeklerin küçük vücuda sahip olmaları; avlanma risklerini azaltma, besin ihtiyacının daha az olması, hareket yeteneğinin dişiye oranla daha yüksek olması ve daha erken erginleşme dönemine girebilmesi gibi avantajlar sağlar (Whitman, 2008).

Çalışma kapsamında hedeflenen tamamı herbivor *I. rectipennis* tür grubu monofiletik bir tür grubu olup kendi içinde farklı sayıda tür içermektedir. *I. rectipennis* Brunner von Wattenwyl, 1878 tür grubu *pavelii* ve *rectipennis* tür gruplarından oluşmaktadır (Eades, ve ark., 2015). *Rectipennis* grubu ise farklı alt tür gruplarından oluşmaktadır. Bu çalışmada arazi çalışmalarını kolay yürütebilmek için arazide yaygın olarak bulabileceğimiz *rectipennis* grubuna ait *ilkazi* alt grubundan *I. ilkazi*, *I. nervosa*, *I. stenocauda stenocauda* ve *I. stenocauda obenbergeri* popülasyonları ile *I. rectipennis* (Anadolu popülasyonu) çalışılacaktır (Şekil 2.4). *I. rectipennis* Bulgaristan ve Romanya'ya kadar uzanan geniş yayılış alanlarına sahip

olmasına rağmen çalışmada Avrupa popülasyonu değil Orta Anadolu, Batı Karadeniz ve Marmara Bölgesinde yayılış gösteren Anadolu popülasyonlarından birisi yer alacaktır.

*Isophya* türlerinin birçoğunda morfolojik olarak ayırım özellikle dişilerde oldukça güçtür (Sevgili, 2004). O nedenle tür ayırımında daha çok erkeklere ait morfolojik karakterler (fastigium ve pronotumun yapısı, kanat, ses organı, serkus ve subgenital plaka) kullanılmaktadır. Türler morfolojik olarak birbirlerine yakınlık gösterdiği için erkeklerin çiftleşme öncesinde oluşturdukları “çağrı sesleri” türe özgü özellikler taşımakta olduğu için türlerin ayırt edilmesinde çok kullanışlı bir davranışsal karakterdir (Sevgili, 2004; Sevgili ve ark. 2006). Ancak bütün bu karakterlere rağmen moleküler ve diğer karakterler de bazı grupların filogenetik ilişkilerinin anlaşılmasında önemli işleve sahiptir (Chobanov ve ark. 2017). Bütün bu girişimlere rağmen *Isophya* cinsi içerisindeki filogenetik ilişkiler tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada taksonomik bir karakter olarak da kullanılan Kütiküler hidrokarbon profillerinin ayırdım gücü *Isophya* türleri için de araştırılacaktır. Özellikle erkek ve dişilerde belirgin bir farklılığın olacağı, türler arasında iç içe geçmeler olsa da türler bazında bazı pikler açısından belirgin farklılıkların ortaya çıkabileceği tahmin edilmektedir.

### **2.1.1. *Isophya rectipennis***

Romanya'nın güneyi, Bulgaristan ve Türkiye'de; Trakya, Marmara, Batı Karadeniz ve İç Anadolu'nun kuzeyinde yayılış gösteren *I. rectipennis* lokal popülasyonları arasında hem morfolojik özellikleri hem de erkek çağrı sesleri bakımından birçok varyasyon gösterir. Genel habitatı ise açıklık alanlar, işlenmiş veya işlenmemiş tarıma açık yeşil ve otsu bitkilerinin bol bulunduğu alanlarda hatta çalı formundaki *juniperus sp.* üzerinde rastlanabilir. Buldukları lokalitelerin rakımlarına bağlı olarak yaklaşık 400 m ila 1800 m arasında Mayıs-Ağustos ayları içerisinde rastlamak mümkündür (Sevgili, 2004).

### **2.1.2. *Isophya ilkazi***

Endemik bir tür olan *I. ilkazi* (Şekil 2.1) Kuzeybatı Anadolu'da Ilgaz Dağları'nın 1500-2000 m yüksekliğinde yayılış gösterir. Ilgaz Dağı, nem ihtiyacının

kısmen daha az olduğu öksin floraya ait bitkilerin bulunduğu her dem yeşil suböksinik vejetasyonda yer alır. Zengin bitki örtüsüne sahip Ilgaz Dağı, *I. ilkazi* ile birlikte simpatrik olarak *I. obenbergeri* ve *I. staneki* türlerine ev sahipliğı yapar (Sevgili, 2004).



**Şekil 2.1** *I. ilkazi* Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).

### 2.1.3. *Isophya obenbergeri*

Ilgaz Dağı (1300-2000 m) ve Kırıkkale’de yayılış gösteren *I. obenbergeri* (Şekil 2.2) orman içlerinde bulunan açıklıklardaki çayırlarda, çalılık formundaki ardıç (*juniperus sp.*) üzerinden toplanabilir (Sevgili,2004).



**Şekil 2.2** *I. obenbergeri* Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).

#### **2.1.4. *Isophya nervosa***

*Isophya nervosa*, cinsine ait birçok türe göre oldukça geniş bir yayılış gösterir. Anadolu'ya endemik bir türdür ve yayılış alanları; Ankara, Çankırı, Çorum, Kayseri, Yozgat, Nevşehir, Konya, Malatya ve Erzincan'dır. Asıl tercihi olan Orta Anadolu stebini oluşturan *Artemisia fragans* (kokulu pelin) ile birlikte yoğun olarak bulunduğu alanlar; İç Anadolu'ya ait ova ve alçak dağ stepleri ve akarsu kenarlarındaki otsu bitkilerdir. Aynı zamanda yayılış gösterdiği sınırlar ele alındığında Mediterranean tip yüksek dağ stebi ve meşelikler ile birlikte Orta Anadolu'yu kapsayan vejetasyon elemanlarından Orta Anadolu'nun kuzeydoğusundaki step ormanlarına da yer yer girinti yapmıştır. Morfolojik olarak oldukça benzerlik gösterdiği *I. ilkazi*, *I. stenocauda* ve *I. paveli* ile serkusundaki dişin yapısı bakımından kolayca ayrılırken aynı morfolojik özelliklere sahip olduğu *I. obtusidens* ile erkeğin sahip olduğu çağrı sesi sayesinde ayırt edilebilir (Sevgili, 2004).

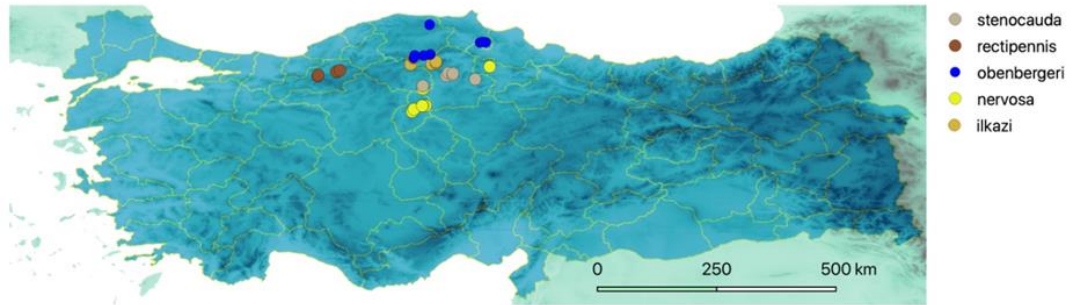




**Şekil 2.3** *I. nervosa* Türüne Ait Erkek ve Dişi Bireyler (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).

#### 2.1.5. *Isophya stenocauda*

Karadeniz'in suböksinik vejetasyonunun Orta Anadolu steplerine geçiş yaptığı bölgeye denk gelen yayılış alanına sahiptir. Stepte yer alan yüksek otsu bitkiler, ekili alanların etrafındaki otluk ve çalılıklardan, yeşil otsu bitkilerin üzerinden, yol kenarlarındaki yüksek otsulardan toplanabilirler (Sevgili,2004)



**Şekil 2.4** Çalışılan *Isophya* Türlerine İlişkin Yapılan Arazi Çalışmalarında Örneklem Yapılan Noktaları Gösteren Harita (Harita QGIS 3.8 programı kullanılarak üretilmiştir).

## 2.2. Arazi Çalışmaları

**Çizelge 2.1** 117Z068 Numaralı "İki *Isophya* Brunner Von Wattenwyl, 1878 (Orthoptera: Phaneropterinae) Tür Grubunda Spermatofor Özelliklerinin ve Kütiküler Hidrokarbon Profillerinin Karşılaştırılması" Başlıklı Proje Kapsamında Yapılan Arazi Çalışması Takvimi.

Tarih	Ziyaret Edilen Lokalite	Tür	Enlem	Boylam	Yükseklik(m)
24.05.19	Bolu	<i>I. rectipennis</i>	40.68063700	31.63505200	824
24.05.19	Bolu (Kıbrıscık yolu)	<i>I. rectipennis</i>	40.65709900	31.62444100	1164
24.05.19	Bolu (Kıbrıscık yolu)	<i>I. rectipennis</i>	40.68031100	31.63574100	830
24.05.19	Bolu (Kıbrıscık yolu)	<i>I. rectipennis</i>	40.67910254	31.63593985	853
24.05.19	Bolu (Dörtdivan yolu)	<i>I. rectipennis</i>	40.75001700	32.04287700	1187
24.05.19	Bolu (Yeniçağa-Dörtdivan arası)	<i>I. rectipennis</i>	40.76434800	32.03416900	1081
23.05.19	Bolu (Yeniçağa)	<i>I. rectipennis</i>	40.78800500	32.11301200	1167
24.05.19	Bolu (Yeniçağa)	<i>I. rectipennis</i>	40.78827077	32.11258080	1159
18.05.19	Çankırı-Çorum yolu	<i>I. stenocauda</i>	40.44983500	33.91742600	656
18.05.19	Çorum, İskilip, Eskiköy	<i>I. stenocauda</i>	40.66970900	34.42747500	740
18.05.19	Çorum, İskilip	<i>I. stenocauda</i>	40.72339400	34.47983800	721
18.05.19	Çorum, İskilip, Kılıçdere civarları	<i>I. stenocauda</i>	40.68553600	34.57327400	842
18.05.19	Çorum, İskilip, Başmakçı civarları	<i>I. stenocauda</i>	40.71995000	34.57670800	1118
16.05.19	Çorum, Meçhulasker geçidi	<i>I. stenocauda</i>	40.59412900	35.06000700	1177
17.05.19	Kırıkkale, Ballışeyh	<i>I. nervosa</i>	39.89343	33.685044	900
17.05.19	Kırıkkale, Ballışeyh	<i>I. nervosa</i>	39.94351	33.722532	938
16.05.19	Kırıkkale, Delice-Büyükafşar yolu	<i>I. nervosa</i>	40.021711	33.97556	1120
16.05.19	Kırıkkale, Delice, Elmalı	<i>I. nervosa</i>	40.020522	33.914866	1190
16.05.19	Kırıkkale, Delice, Elmalı	<i>I. nervosa</i>	40.017764	33.906841	1158
17.05.19	Çankırı, Kızılırmak, Yukarıalagöz	<i>I. nervosa</i>	40.38889	33.918555	584
14.06.19	Amasya, Merzifon	<i>I. nervosa</i>	40.865444	35.376481	744
26.07.19	Tosya-Kastamonu yolu	<i>I. obenbergeri</i>	41.12398	34.069601	1631
26.07.19	Tosya-Kastamonu yolu	<i>I. obenbergeri</i>	41.129273	34.080971	1790
26.07.19	Tosya-Kastamonu yolu	<i>I. obenbergeri</i>	41.1299	34.08156	1806
27.07.19	Kastamonu, Tosya, Aşağıberçin	<i>I. obenbergeri</i>	41.10572	33.934629	1857
27.07.19	Kastamonu, Ilgaz Dağı	<i>I. obenbergeri</i>	41.050686	33.714852	2039
15.06.19	Kastamonu, Ilgaz Dağı	<i>I. obenbergeri</i>	41.069712	33.729798	1901
16.06.19	Kastamonu, Ilgaz Dağı	<i>I. obenbergeri</i>	41.109892	33.739534	1386
13.07.19	Kastamonu-Sinop, Yarılgöz	<i>I. obenbergeri</i>	41.770166	34.063115	1428
13.07.19	Kastamonu-Sinop, Yarılgöz	<i>I. obenbergeri</i>	41.769342	34.055544	1478
16.06.19	Sinop, Durağan, Başağaç	<i>I. obenbergeri</i>	41.387654	35.163725	263
16.06.19	Sinop, Durağan, Başağaç	<i>I. obenbergeri</i>	41.400258	35.212179	668
16.06.19	Sinop, Durağan, Sarıyar üstleri	<i>I. obenbergeri</i>	41.393152	35.288593	1174
12.07.19	Kastamonu, Tosya, Yağcılar	<i>I. ilkazi</i>	40.92107	34.111293	912
12.07.19	Kastamonu, Tosya-İskilip yolu	<i>I. ilkazi</i>	40.938899	34.207735	1588
12.07.19	Kastamonu, Tosya-İskilip yolu	<i>I. ilkazi</i>	40.964295	34.210809	1427
12.07.19	Kastamonu, Tosya-İskilip yolu	<i>I. ilkazi</i>	40.973192	34.204784	1390
14.06.19	Çankırı, Ilgaz	<i>I. ilkazi</i>	40.916347	33.649272	880
14.06.19	Kastamonu, Ilgaz Dağı Milli Parkı	<i>I. ilkazi</i>	41.050696	33.71461	2039

Arazi çalışmaları 117Z068 numaralı "İki *Isophya* Brunner Von Wattenwyl, 1878 (Orthoptera: Phaneropterinae) Tür Grubunda Spermatofor Özelliklerinin ve Kütiküler Hidrokarbon Profillerinin Karşılaştırılması" başlıklı projenin arazi

çalışmaları sırasında yapılmıştır. Çalışmalar Mayıs-Temmuz aylarını kapsayacak şekilde düzenlenmiş ve türlere ait son devre nimfler ve genç ergin bireyler toplanmıştır (Çizelge 2.1). Toplanan bireyler buldukları bitki örtüsü dikkate alınarak araziden toplanan bitki demetleri ve ek su kaynakları (havuç, salatalık rendesi gibi) ile birlikte eşeyler birbirinden ayrı olacak şekilde farklı kafeslerde laboratuvara taşınmıştır. Laboratuvara taşınan örnekler kafeslere eşit sayıda ve eşeyler birbirinden ayrılmış olarak dağıtılmıştır. Kafesler düzenli olarak temizlenip içindeki besin kaynakları iki günde bir tazelenmiştir. Erginleşen bireyler her gün kontrol edilerek tarih verileri ile birlikte etiketlenip ayrı kafeslere alınmıştır. Sekiz yaşını doldurmuş bireyler (gün olarak) çiftleşme için seçilmiştir. Çiftleşme işlemi eşit sayıda ergin dişi ve erkek bireylerin bir araya koyulduğu kafeslerde gerçekleşmiştir. Yeterli sayıya ulaşmış çiftleşmiş ve virjin bireyler etiketlenerek kan alma tüplerine alınmış ve kütüküler hidrokarbon çalışmalarında kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Türlere ait bireylerin toplandığı habitatların görüntüleri 117Z068 numaralı TÜBİTAK projesinin arazi çalışmaları esnasında fotoğraflanmıştır (Şekil 2.5-2.9).



**Şekil 2.5** *I. ilkazi*'nin bulunduğu habitatlara ait görüntüler/Kastamonu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).



**Şekil 2.6** *I. nervosa*'nın Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Kırıkkale (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).



**Şekil 2.7** *I. stenocauda*'nın Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Çorum (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).



**Şekil 2.8** *I. obenbergeri*'nin Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Kastamonu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).



**Şekil 2.9** *I. rectipennis*'in Bulunduğu Habitatlara Ait Görüntüler/Bolu (Fotoğraflar: Hasan SEVGİLİ).

### **2.3. Kütiküler Hidrokarbon Çalışmaları**

Yaş faktörünün KHK çalışmalarını etkilememesi bakımından bireyler aynı yaşlarda olacak şekilde seçilmiştir.

KHK verilerinin profillendirilmesinde TC. Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı bünyesinde bulunan “Shimadzu GCMS QP2010 Ultra” gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi kullanıldı. -80°C’de dondurulmuş bireyler desikatörde 45 dakika bekletilerek oda sıcaklığına gelmesi ve fazla sudan arınması sağlandı ve ardından her birey farklı konik tabanlı cam santrifüj tüpüne alınarak 4 ml hekzan eklendi. Hekzan içerisinde bekleme süresi 30 saniye vorteks de dahil 5 dakika olduktan sonra tek kullanımlık cam pipetler ile çözeltinin üst katmanından vialle alınarak analiz için GC/MS cihazına yerleştirildi. Cihaza enjekte edilen örnekten 1µl alınıp split modda (10:1) iç çapı 30x0.25 mm olan Stabilwax kolonda Helyum gazı altında çalışıldı. Analiz 50 °C’de 1 dakika olarak başlayıp 250 °C’ye 20 dakikada ulaşacak şekilde programlanıp kolondaki sıcaklık farkından yararlanılarak ekstraktın ayrışması sağlanmıştır. Bileşenlerin Gaz Kromatografisinden Kütle Spektrometresine transferi 250 °C’de düzenlendi. Çalı çekirgeleri için KHK



profillerindeki C36-C40+ aralığındaki bileşenlerin analizi için RTX-5 MS (30x0.25) kolonu kullanıldı. Bu noktadan sonra kolon sıcaklık profili 320 °C'ye 10 dakikada ulaşarak toplam akış hızı dakikada 11.5 ml olacak şekilde taşıyıcı gaz Helyum ile tamamlandı. Kontaminasyon riskine karşı kontrol olarak hekzan her gün sonunda analize eklenmiştir.

Data analizi için pikler alıkonma zamanı dikkate alınarak numaralandırıldı ve temel hidrokarbonların isimleri GC/MS kütüphanesi, (NIST-17 ve Willey kütüphaneleri) ve diğer yayınlanmış verilerin ışığında değerlendirilmiş olup pik değerleri için MSD ChemStation programı kullanılmıştır.

#### **2.4. İstatistiksel Yöntemler**

İstatistiksel değerlendirme Thomas ve Simmons (2009), Steiger, vd. (2013) ve Babis, vd. (2014) tarafından izlenen yollar üzerinden giderek tamamlandı. GC/MS'ten elde edilen KHK verilerinin tüm istatistiksel analizleri SPSS (Version 26.0) program ile yapılmıştır.

Türler arasında ortalama pik sayısı dikkate alınarak ilk 23 pik değerlendirilmiştir. Her bir pikin yüzde alanı standart olarak eklenen pentadekannın yüzde alanına bölünüp toplanmış, 1/Toplam yüzde ile çarpılarak logaritması alınmıştır. Her bir pik için hazırlanan bu veri üzerinden Temel Bileşenler Analizi (TBA) yapılmış elde edilen komponentlerden ilk ikisi eşeyleri, türleri, çiftleşme durumunu, yalnızca dişiler bazında türleri ve yalnızca erkekler bazında türleri değerlendirmek için kullanılmıştır.

Genelleştirilmiş Mixed Linear Model kullanılarak her bir birey random faktör olarak türler, cinsiyet ve çiftleşme durumları ise faktör olarak analize dahil edildi. İlk beş (PC1-PC5) komponentin random faktörler üzerine anlamlılığına bakıldı.

Çift yönlü varyans analizi için Multivariate MANOVA testi PC1-PC5 komponentleri bağımlı değişkenler, T-türler faktör olarak girilerek gerçekleştirildi. Anlamlı çıkan sonuçlar için MANOVA Posthoc (Benferroni) analizi yapıldı.

### 3. ARAŞTRIMA BULGULARI

Çalışma kapsamında *I. ilkazi*, *I. rectipennis*, *I. nervosa*, *I. obenbergeri* ve *I. stenocauda* olmak üzere *rectipennis* tür grubuna ait 5 türün KHK verileri alınmıştır (Şekil 3.1-3.5). Dış tür olarak arazi çalışmaları esnasında toplanan *I. ilkazi* ile simpatrik yayılış gösteren *I. staneki* kullanılmıştır.

**Çizelge 3.1** Çalışma Kapsamında Kullanılan Türlerle Ait Birey Sayılarını Gösteren Tablo (A: Türlerle Ait Tüm Dişi ve Erkek Bireylerin Sayısı, B: Virgin ve Nonvirgin Bireylerin Sayısı).

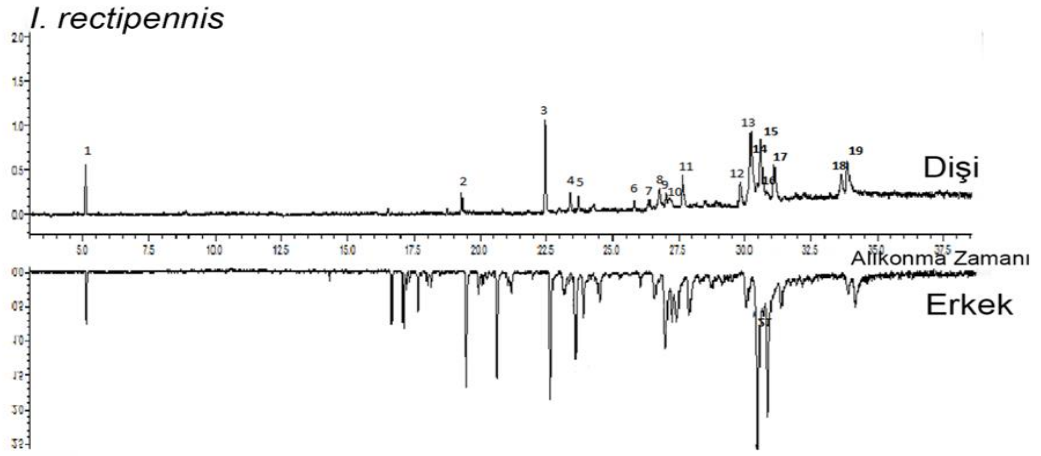
TÜR	DİŞİ	ERKEK	TOPLAM
<i>ilkazi</i>	37	39	<b>76</b>
<i>nervosa</i>	45	44	<b>89</b>
<i>obenbergeri</i>	45	45	<b>90</b>
<i>rectipennis</i>	45	45	<b>90</b>
<i>stenocauda</i>	45	44	<b>89</b>
<i>staneki</i>	5	5	<b>10</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>222</b>	<b>222</b>	<b>444</b>

A

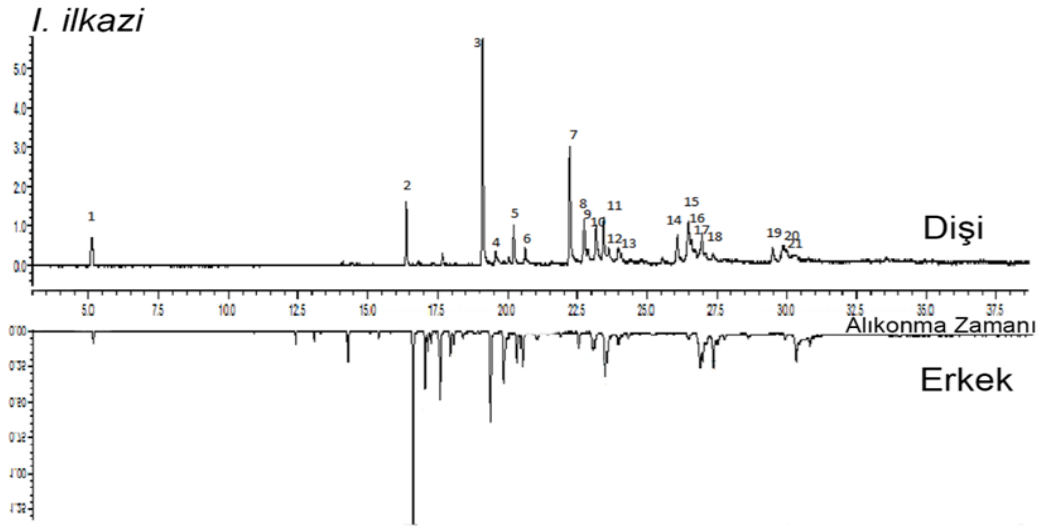
TÜR	VİRGİN	NONVİRGİN	TOPLAM
<i>ilkazi</i>	48	28	<b>76</b>
<i>nervosa</i>	49	40	<b>89</b>
<i>obenbergeri</i>	50	40	<b>90</b>
<i>rectipennis</i>	50	40	<b>90</b>
<i>stenocauda</i>	49	40	<b>89</b>
<i>staneki</i>	10	0	<b>10</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>256</b>	<b>188</b>	<b>444</b>

B

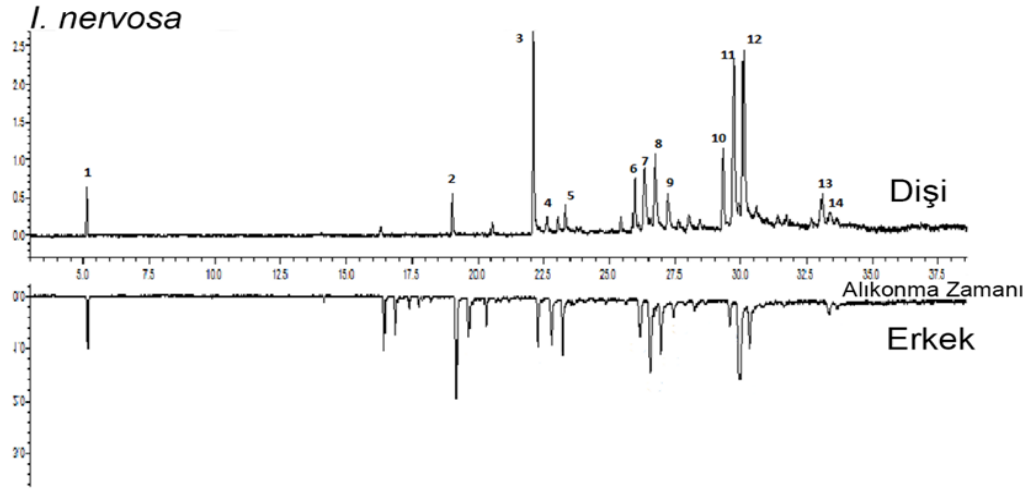
Çizelge 3.1’ de çalışılan türlere ait birey sayıları eşeylere ve çiftleşme statülerine göre kaç birey ile çalışıldığını göstermektedir. Toplamda dış grup da dahil 444 bireyin GC/MS cihazından elde edilen verileri alıkonma zamanlarına göre numaralandırılıp pikleri belirlenmiş ve beş farklı tipte; *n*-alkanlar (düz zincirli), alken (tek çift bağ), alkadien (iki çift bağa sahip), mono metil alkan (tek metil grubu içeren) ve dimetil (iki metil grubu içeren) alkanlar tespit edilmiştir (Şekil 3.1-5).



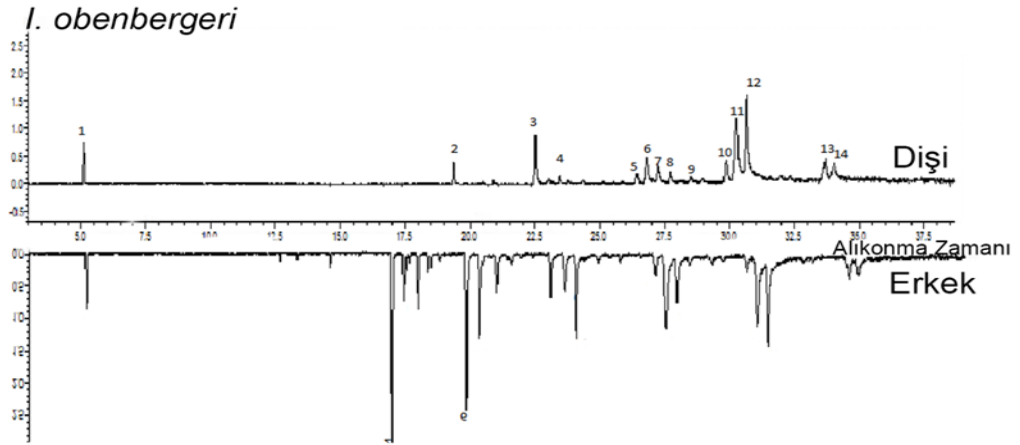
Şekil 3.1 *I. rectipennis* Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri



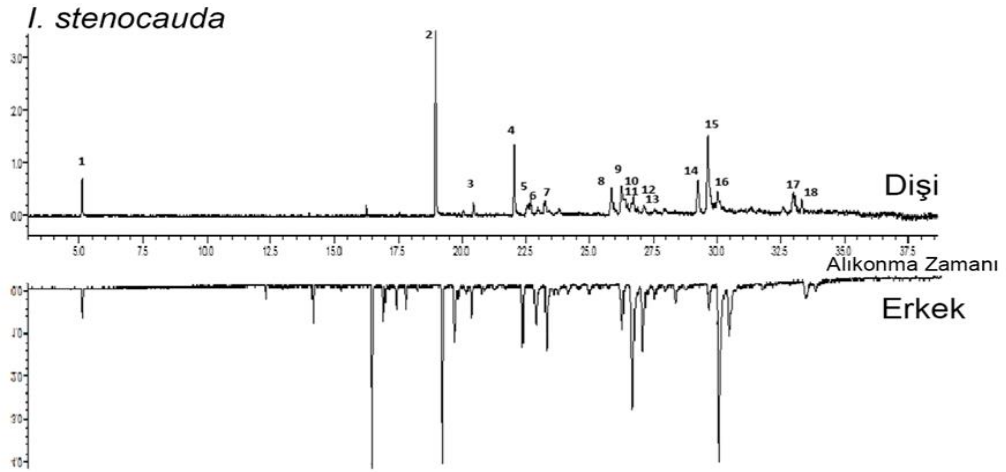
Şekil 3.2 *I. ilkazi* Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri



Şekil 3.3 *I. nervosa* Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri



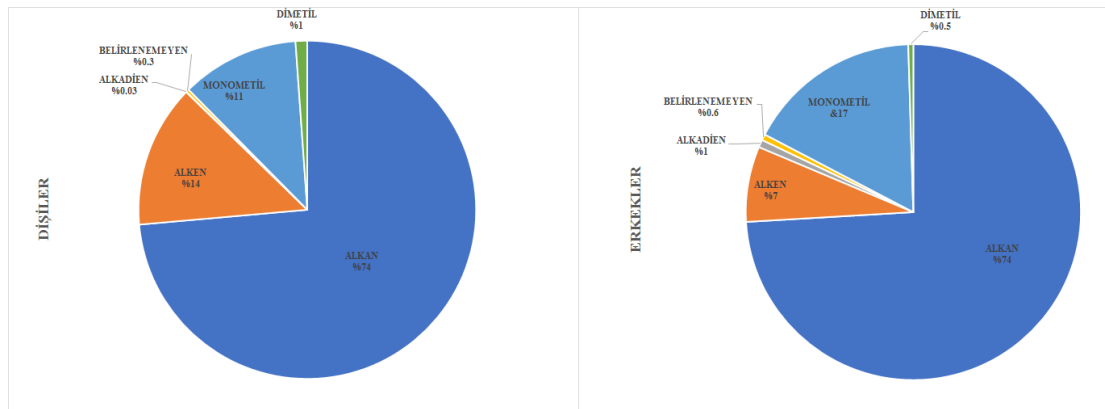
Şekil 3.4 *I. obenbergeri* Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri



**Şekil 3.5** *I. stenocauda* Türüne Ait Dişi ve Erkek Bireylerin KHK Profilleri

Bu sonuçlara göre;

1. Tüm pikler eşeye bağlı değerlendirildiğinde erkek ve dişilerde alkan (%74) içeriği yönünden belirgin bir farklılık görülmemiştir.
2. Dişiler (%14) erkeklere (%7) oranla yaklaşık iki kat daha fazla alken bileşiği içerirken alkadien yapısındaki bileşiklerin erkeklerde (%1) dişilerden (%0.03) daha fazla olduğu gözlenmiştir.
3. Tek metil grubu içeren (monometil) alkanlar erkeklerde (%17) dişilerden (%11) daha fazlayken iki metil grubu içeren (dimetil) daha nadir alkanlar dişilerde %1 ile erkeklerden (%0.5) iki kat daha fazladır (Şekil 3.6)



**Şekil 3.6** Dişi ve Erkek Bireylerde Beş Tür KHK Yapısının Yüzdesele Oranları.

4. Türler bazında bakıldığında ise en yoğun alkan içeriği *I. ilkazi* dişide (%83) iken %63 ile *I. stenocauda* dişileri türler arasında en az alkan içeriğine sahiptir.

5. Alkenler *I. ilkazi* dışında dişî bireylerde daha fazla görülürken *I. ilkazi*'de erkek bireyler daha fazla alken yapısına sahiptir. Dış grup olan *I. staneki* ise hiç alken bileşiği içermezken alken içeriği en az olan tür *I. obenbergeri* (toplam %2) olarak bulunmuştur.

6. En fazla alken içeren tür dişî (%33) ve erkek (%13) bireyler toplam %23 alkan içeriği ile *I. stenocauda* olarak bulunmuştur. Ardından %12 ile *I. nervosa* (dişî %16 erkek %7) ve %10 ile *I. rectipennis* (dişî %10 erkek %10) gelmektedir.

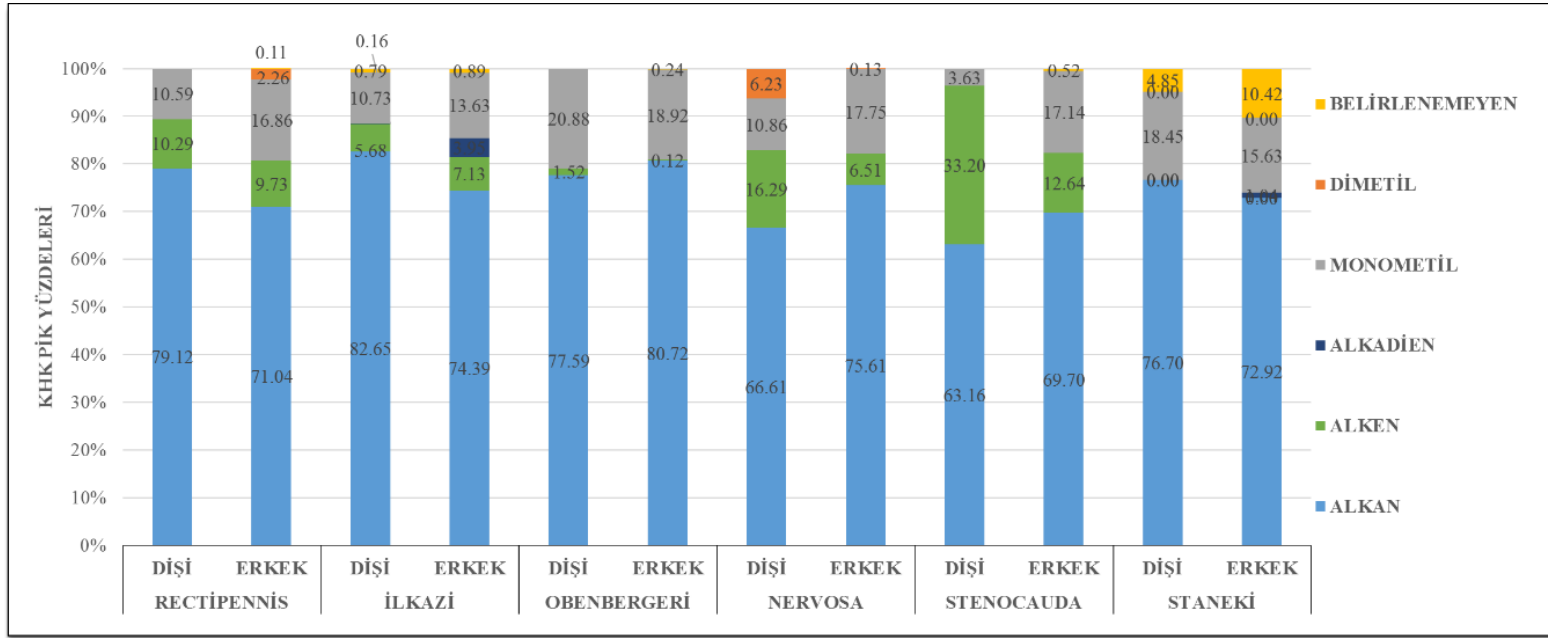
7. Alkadien yapısına yalnızca *I. ilkazi* ve *I. staneki* türlerinde rastlanmıştır. *I. staneki* için ihmal edilebilecek kadar az alkadien bileşiği varken *I. ilkazi* dişî bireylerde %0.2 erkek bireylerde ise %4 oranında görülmüştür.

8. Tüm türler (dişî ve erkekler) monometil alkan bileşiği içermektedir.

9. *I. obenbergeri* ve *I. staneki* dışında monometil alkanlar erkek bireylerde daha fazla bulunma eğilimdedir.

10. Monometil alkanlar %21 ile en fazla *I. obenbergeri* dişide görülürken %4 ile en az *I. stenocauda* dişide görülmüştür.

11. Daha kompleks yapıdaki dimetil alkanlar daha az rastlanan bileşikler olmuştur ve bileşiğin bulunduğu türler azalan sıraya göre; %6 *I. nervosa* dişî, %2 *I. rectipennis* erkek ve %0.1 ile *I. nervosa* erkek olarak bulunmuştur (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Türlerle Ait Dişi ve Erkek Bireylerin Beş Tür KHK Yapısının Yüzdeler Oranları

*Rectipennis* tür grubuna ait beş türün (*I. ilkazi*, *I. rectipennis*, *I. nervosa*, *I. obenbergeri* *I. stenocauda* ve *I. staneki*) kütikular hidrokarbon analizinden elde edilen veriler ile Temel Bileşen Analizi (TBA) yapılmıştır (Çizelge 3.2). TBA'den elde edilen bileşenlerden ilk iki komponent (PC1 ve PC2) üzerinden türlerin birbirine göre durumları değerlendirilmiştir. Aynı zamanda çiftleşme statüleri (virgin-nonvirgin), eşeylerin birbirine göre kıyaslaması ve tüm türlerin eşeyler bazında birbirinden ne kadar ayrıştığı da değerlendirilmiştir.

**Çizelge 3.2** *I. rectipennis* Tür Grubuna Ait Beş Türün KHK Verilerinin TBA Analizinden Elde Edilen Komponentleri

	KOMPONENTLER						
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
<b>Eigen Değeri (Özdeğer)</b>	5.691135	2.042061	1.662943	1.526866	1.299178	1.221512	1.114688
<b>Varyans Yüzdeleri</b>	24.74406	8.878528	7.230185	6.63855	5.648598	5.310923	4.846471
<b>Kümülatif Yüzde</b>	24.74406	33.62259	40.85278	47.49133	53.13992	58.45085	63.29732

Elde edilen ilk beş (PC1-PC5) komponentlerin Tür, Eşey ve Çiftleşme Durumlarına göre farklılık gösterip göstermediği Genelleştirilmiş Mixed Linear Model ile gösterilmiştir (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.3** Genelleştirilmiş Mixed Linear Model ile Gerçekleştirilmiş İlk Beş Komponentin Tür, Eşey ve Çiftleşme Durumlarına Göre Farklılığını Gösteren Çizelge. Anlamlı Sonuçlar Kalın Olarak Gösterilmiştir.

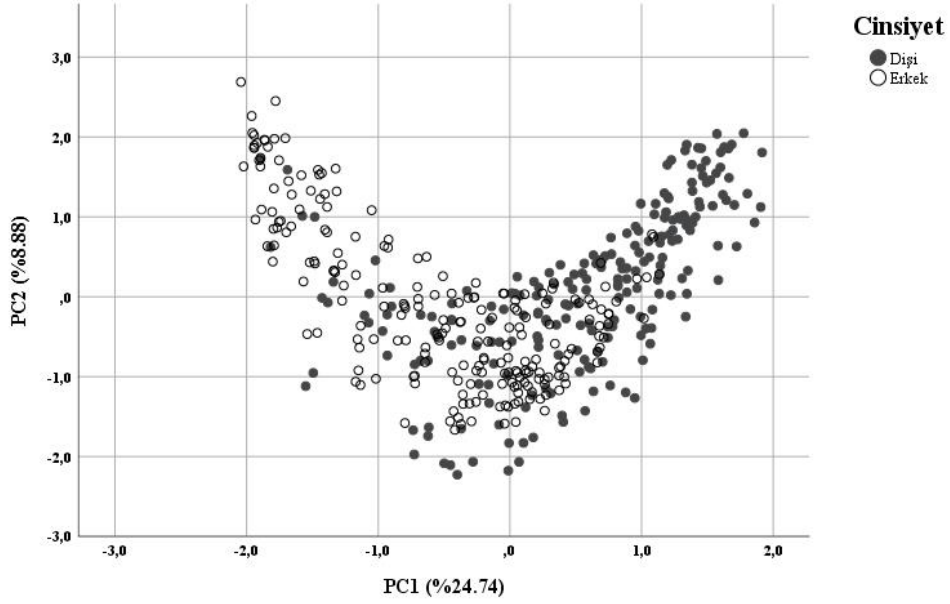
Etki	PC1		PC2		PC3		PC4		PC5	
	F <sub>7,435</sub>	p	F <sub>7,435</sub>	p	F <sub>7,435</sub>	p	F <sub>7,435</sub>	p	F <sub>7,435</sub>	p
<b>Model</b>	56.09	<0.001	7.65	<0.001	4.55	<0.001	1.34	0.229	2.21	<b>0.032</b>
<b>Tür</b>	31.69	<0.001	8.78	<0.001	5.21	<0.001	1.12	0.349	2.57	<b>0.026</b>
<b>Eşey</b>	227.5	<0.001	4.86	<b>0.028</b>	2.85	0.092	1.37	0.242	0.81	0.367
<b>Çiftleşme Durumu</b>	3.89	0.049	6.29	<b>0.013</b>	2.98	0.085	2.79	0.095	2.07	0.151

### 3.1. *Rectipennis* Tür Grubunda Erkek ve Dişilere Ait KHK Verilerinin Karşılaştırılması

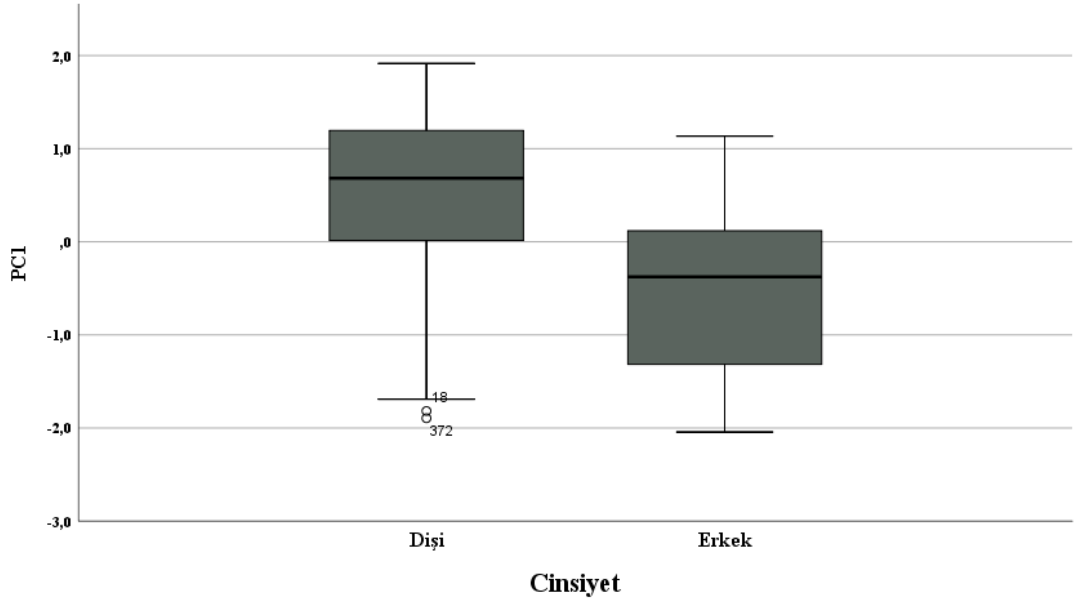
*Rectipennis* tür grubuna ait *I. nervosa*, *I. ilkazi*, *I. rectipennis*, *I. obenbergeri*, *I. stenocauda* ve *I. staneki* türlerinin TBA analizinden elde edilen PC1 ve PC2 komponentleri karşılaştırılmıştır. Sonuçlara bakıldığında eşeyler arasında KHK'lar



bakımından belirgin bir ayrışma gözlenmiştir (Şekil 3.8). PC1 komponenti eşeyler arasındaki dimorfizmi ( $p < 0.001$ ) daha net bir şekilde ayırtmıştır (Şekil 3.9).



**Şekil 3.8** Türler Ait Dişi ve Erkek Bireylerin PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Karşılaştırılması



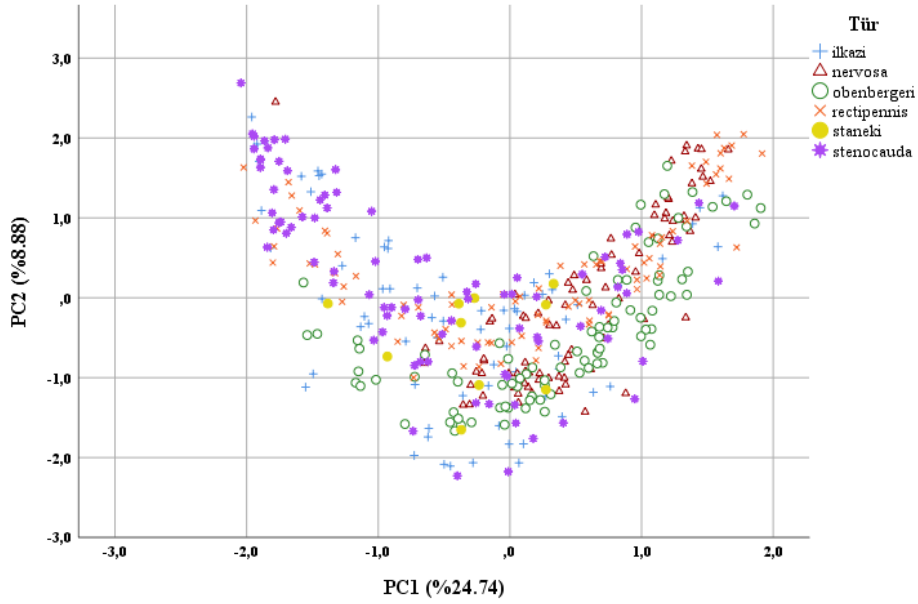
**Şekil 3.9** Türler Ait Dişi ve Erkek Bireylerin PC1 (%24.74) Komponenti Bazında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği

### 3.2. KHK Verilerinin Türler Bazında Değerlendirilmesi

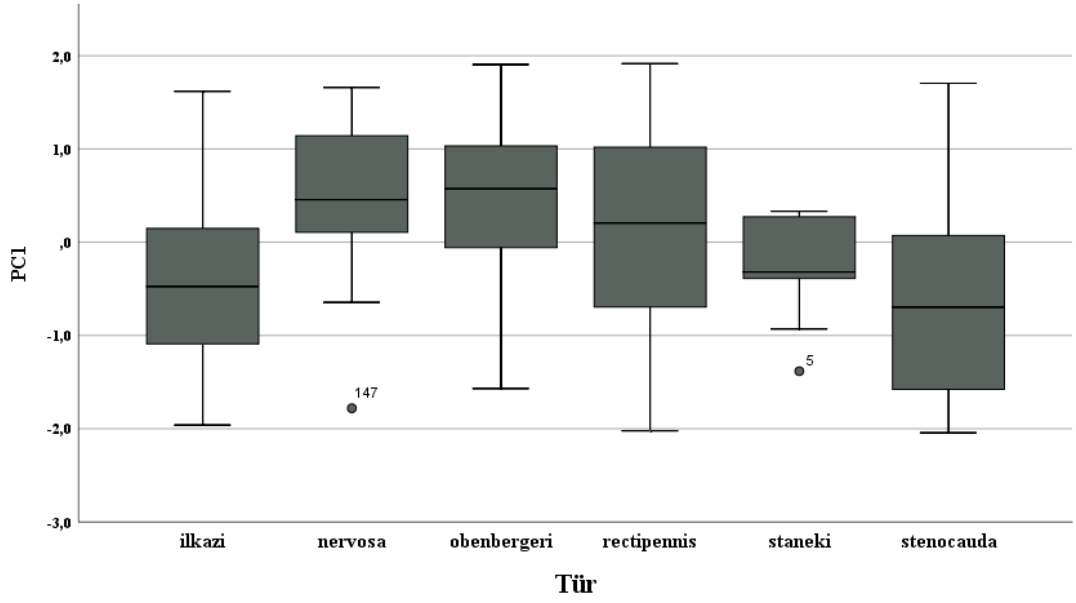
PC1 ve PC2 komponenti bazında türlerin birbirlerine göre durumları Şekil 3.10’ da gösterilmiştir. Verilerin çokluğu grafiğin anlaşılmasını zoraştırırken PC1 komponentinin bu ayrımı daha iyi açıklaması nedeniyle Şekil 3.11’de kutu grafiği verilmiştir. Türlerin birbirinden farklılaştığı Çizelge 3.4’te de görüldüğü üzere özellikle PC1, PC2 ve PC3 komponenti ( $p < 0.001$ ) üzerinden anlaşılmaktadır.

Bu grafikler üzerinden; daha önce birbirlerine yakın türler olarak konumlandırılan *I. obenbergeri* ve *I. stenocauda*’nın PC1 komponenti bazında birbirinden anlamlı derecede farklılık gösterdiği bulunmuştur (Şekil 3.11, Çizelge 3.5).

Hangi türlerin birbirinden ne kadar farklılaştığını göstermek için MANOVA Posthoc testi (Benferroni) yapılmıştır (Çizelge 3.5).



Şekil 3.10 PC1 ve PC2 komponentleri Bazında Türlerin Karşılaştırılması.



**Şekil 3.11** PC1 komponenti Bazında Türlerin Birbirlerine Göre Durumunun Kutu Grafiği.

**Çizelge 3.4** Multivariate MANOVA İle Bağımlı Değişkenler PC1-PC5'in Türler Üzerinden Farklılığı Kalın Olarak Gösterilmiştir.

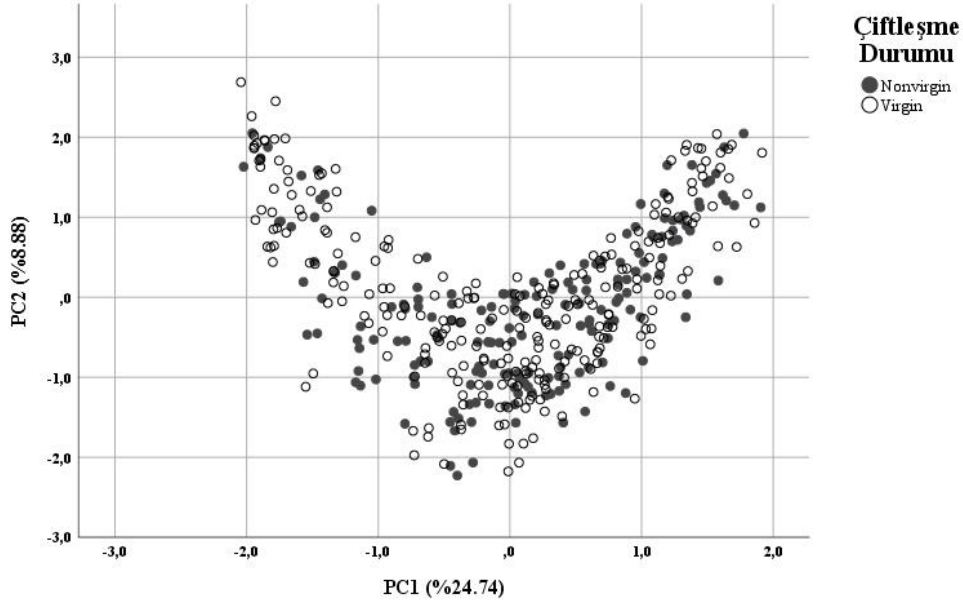
Değişkenler	PC1		PC2		PC3		PC4		PC5	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
<b>Türler</b>	21.14	<b>&lt;0.001</b>	8.31	<b>&lt;0.001</b>	5.16	<b>&lt;0.001</b>	1.04	0.4	2.52	<b>0,03</b>

### 3.3. KHK Verilerinin Çiftleşme Durumları Bazında Değerlendirilmesi

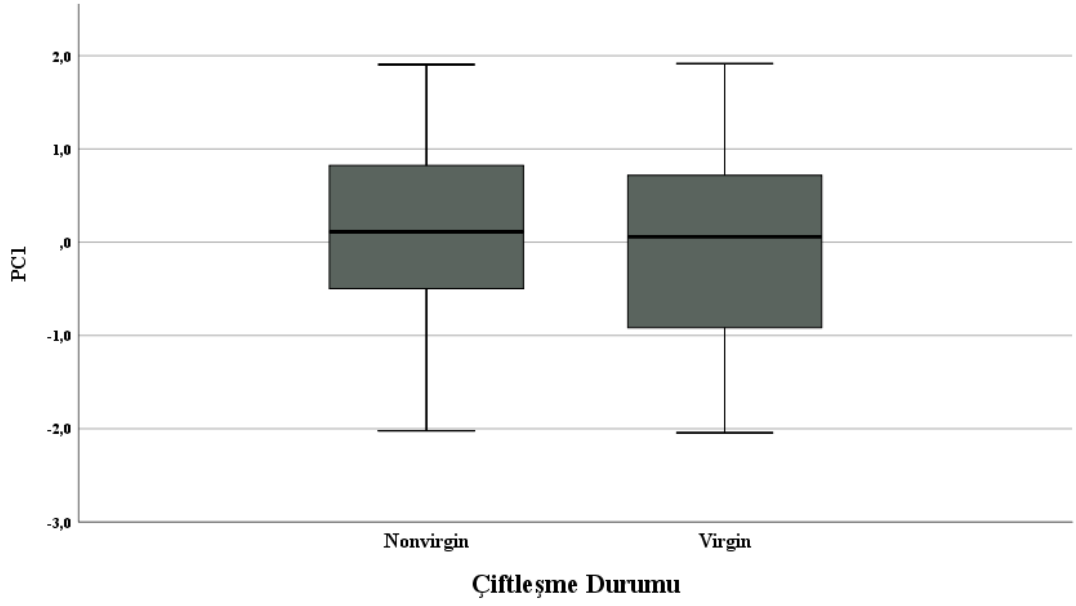
Verilerin analizi sonucunda çalışma kapsamındaki türlerin virgin ve nonvirgin bireyleri arasında PC1 komponenti açısından KHK profilleri hiçbir farklılık göstermemiştir (Şekil 3.12 ve 3.13). PC2 komponenti bazında ise küçük bir farklılaşma söz konusudur ( $p < 0.013$ ) (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.5** MANOVA Posthoc Analizi (Benferroni) İle Türlerin Birbirleri İle Karşılaştırılması. Anlamlı Farklılıklara Sahip Türler Kalın Olarak Gösterilmiştir.

Türler	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
	<b>p</b>	<b>p</b>	<b>p</b>	<b>p</b>	<b>p</b>
<i>ilkazi*nervosa</i>	<b>&lt;0.001</b>	1	0.379	1	1
<i>ilkazi*obenbergeri</i>	<b>&lt;0.001</b>	0.625	1	1	1
<i>ilkazi*rectipennis</i>	<b>0.004</b>	<b>0.037</b>	0.095	1	1
<i>ilkazi*stenocauda</i>	1	0.068	0.152	1	0.726
<i>ilkazi*staneki</i>	1	1	1	1	1
<i>nervosa*obenbergeri</i>	1	0.054	<b>0.01</b>	1	1
<i>nervosa*rectipennis</i>	<b>0.02</b>	0.279	1	1	0.147
<i>nervosa*stenocauda</i>	<b>&lt;0.001</b>	0.462	1	1	0.054
<i>nervosa*staneki</i>	0.085	1	1	1	1
<i>obenbergeri*rectipennis</i>	0.456	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.001</b>	1	1
<i>obenbergeri*stenocauda</i>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.003</b>	0.8	0.549
<i>obenbergeri*staneki</i>	0.331	1	0.994	1	1
<i>rectipennis*stenocauda</i>	<b>&lt;0.001</b>	1	1	1	1
<i>rectipennis*staneki</i>	1	0.155	1	1	1
<i>stenocauda*staneki</i>	1	0.198	1	1	1



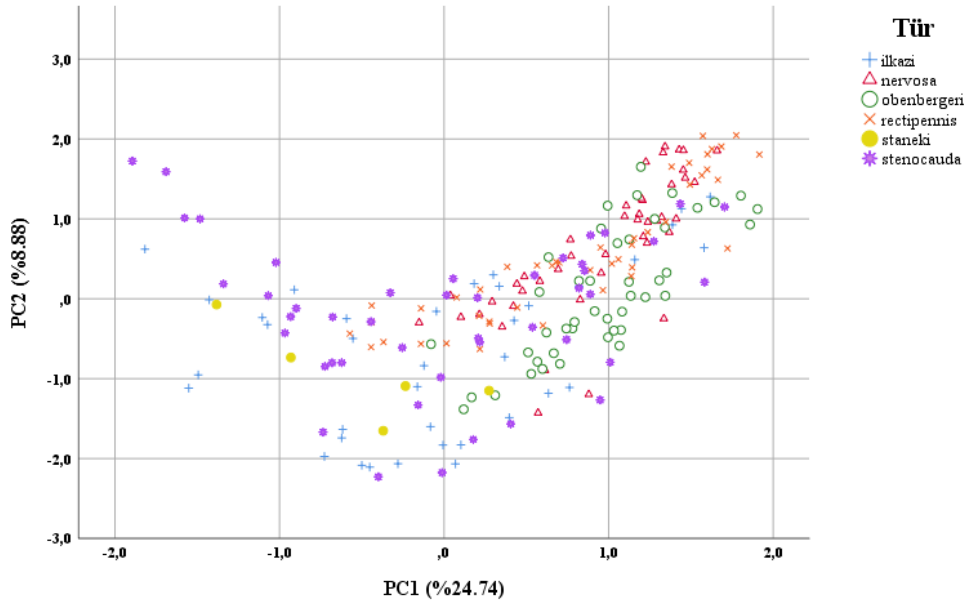
**Şekil 3.12** Türler Ait Virgin ve Nonvirgin Bireylerin PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Karşılaştırılması



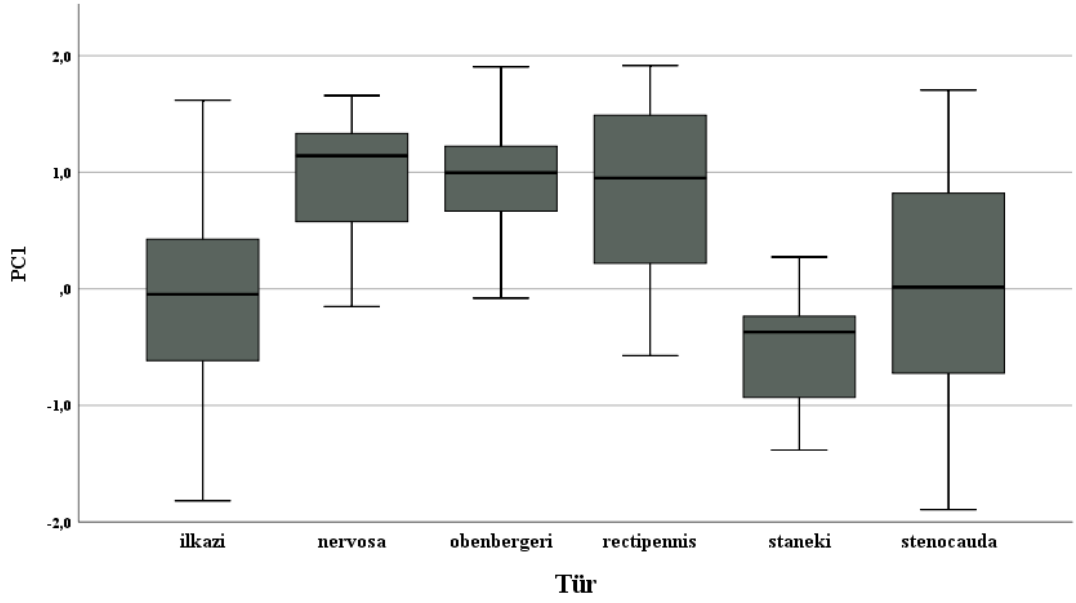
**Şekil 3.13** Türler Ait Virgin ve Nonvirgin Bireylerin PC1 (%24.74) Komponenti Bazında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği

### 3.4. *Rectipennis* Tür Grubunda Dişilere Ait KHK Verilerinin Türler Bazında Karşılaştırılması

Çalışılan türlerde dişiler kendi aralarında değerlendirilerek türlerin durumları araştırılmıştır (Şekil 3.14). *I. nervosa*, *I. rectipennis* ve *I. obenbergeri* dişileri kendi aralarında *I. ilkazi* ve *I. stenocauda* ise kendi aralarında birbirine yakın KHK profilleri sergilerken, dış grup *I. staneki* PC1 komponenti bazında kısmen ayrılmıştır (Şekil 3.15).



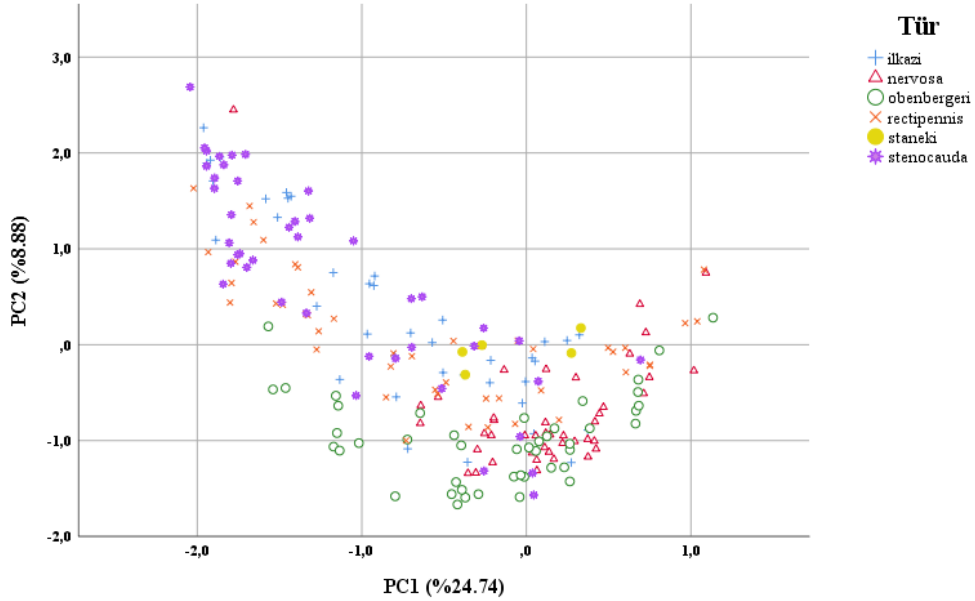
Şekil 3.14 PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Türlerin Dişiler Arasında Karşılaştırılması.



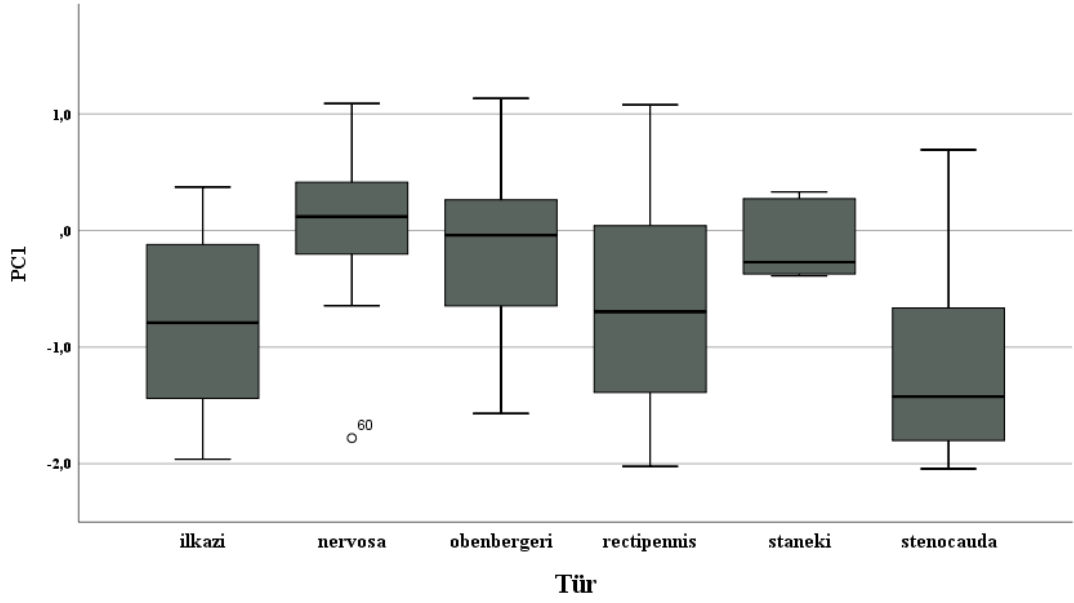
Şekil 3.15 PC1(%24.74) KmpONENTİ Bazında Türlerin Dişiler Arasında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği.

### 3.5. *Rectipennis* Tür Grubunda Erkekler Ait KHK Verilerinin Türler Bazında Karşılaştırılması

Erkek bireylerde dişilerden farklı olarak türler birbirlerinden KHK profilleri bakımından daha farklılaşmış görünmektedir (Şekil 3.17).



Şekil 3.16 PC1 ve PC2 Komponentleri Bazında Türlerin Erkekler Arasında Karşılaştırılması.



**Şekil 3.17** PC1(%24.74) KmpONENTİ Bazında Türlerin Erkekler Arasında Karşılaştırılmasının Kutu (Boxplot) Grafiği.

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 4.1. Tartışma

Bu çalışmada *I. rectipennis* tür grubuna ait altı türün (*I. ilkazi*, *I. rectipennis*, *I. nervosa*, *I. obenbergeri*, *I. stenocauda* ve *I. staneki*) kütikular hidrokarbon verilerinden elde edilen piklerin profilleri değerlendirilmiştir. Dış grup olarak kullanılan *I. staneki* morfolojik olarak çalışmada kullanılan türlerden belirgin şekilde farklı, Ilgaz Dağı'nın yüksek rakımlarında yayılış gösteren oldukça narin bir türdür. Arazi esnasında *I. ilkazi* ile simpatrik yayılış gösterdiği için toplama imkanı bulunmuş ve dış grup olarak değerlendirilmiştir. Ancak örnek sayısı yetersiz olduğu için KHK profilleri bakımından (5 dişi, 5 erkek) yeterli ayrışma gözlenememiş olabilir (Çizelge 3.5). Buna rağmen Şekil 3.15 ve Şekil 3.17'de görüldüğü üzere diğer türler ile arasında dişi ver erkek bireylerin verilerinin dağılımı bazında tersi yönde bir yönelim görüldü.

Eşeye bağlı değerlendirildiğinde erkek ve dişilerde alkan yüzdesi açısından farklılık görülmemesi ise beklediğimiz bir sonuçtur. Çünkü n-alkanların bireyler arasındaki iletişimden çok vücuttan su kaybını önlemekle ilişkilendirildiği bilinmektedir (Gibbs ve ark., 1995, 1998; Santos ve Nascimento, 2015).



Türlerin tamamında eşeyler arasında dimorfizm KHK verileri (pik sayıları, KHK'ların oluşturduğu profil) bakımından da açıkça ortaya koyulmuştur. Eşeyler arasında KHK'lar bakımından eşeyssel dimorfizmin gözlemlendiği çalışmalara örnek olarak, kısa antenli bir çekirge türü olan *Chorthippus biguttulus* ve *C. mollis* üzerinde (Acrididae) yapılan çalışma verilebilir (Finck ve ark., 2016). Hem türler arasında hem de eşeyler arasında belirgin bir farklılık bulunmuştur. Uzun antenli yer çekirgelerinden *Gryllus firmus* ve *G. pennsylvanicus* türleri arasındaki çalışma ise her iki tür için de eşeyler arasında farklılık gösterirken türler arasında sadece dişiler arasında KHK kompozisyonun farklı olduğunu göstermişken erkekler arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır (Maroja ve ark., 2014). Aynı bölgede yayılış gösteren *G. tali* ve *G. marismortui* (Orthoptera: Gryllotalpidae) türleri düz zincirli 27 karbon atomlu ve 28 karbon atomlu (n-C27, n-C28) KHK'lar bazında tür düzeyinde farklılıklar tespit edilmiştir. Bu durum *Gryllotalpa*'ya ait kompleks türlerin ayırt edilmesi bakımından yararlı taksonomik sonuçlar ortaya koymuştur (Broza ve ark., 2000). Morfolojik olarak oldukça benzerlik gösteren *G. tali* ve bir tarım zararlısı olan *G. gryllotalpa* birbirinden kromozom sayılarındaki farklılık ve KHK profilleri üzerinden ayırt edilebilirler (Broza ve ark., 1998). KHK'ların taksonomide kullanım alanını arttıran bir özelliği de yapısının kararlılığıdır. Yani; müze örneklerini ve taze toplanan bireyleri içeren çalışmalardan elde edilen verilerin birbiriyle tutarlı olması bu görüşü destekler (Broza ve ark., 2000; Kather ve Martin, 2012a).

Dişilerde erkek bireylere oranla alken yapısının daha fazla olması alkenlerin böceklerde doğurganlık sinyali olarak işlev görmesi olabilir (Hora ve ark., 2008; Drijfhout ve ark., 2010). Ayrıca dişi bireylerin vücut büyüklüğü erkek bireylerden fazladır. Bu durumda dış kabuğa esneklik sağlayan doymamışlık bu yolla sağlanmaktadır.

Çekirgelerde erkek bireylerin dişilere spermatafor denilen ve düğün hediyesi olarak adlandırılan bir çiftleşme sıvısı verme davranışları onaylanmadan önce dişiler metanotal bezin salgısıyla beslenir (Özdemir, 2013). Yapılan analizlerin sonuçları doğrultusunda dallanmış monometil alkanların erkek bireylerde daha fazla oranda bulunma eğilimleri ise bu bileşiklerin seks feromonları, kairomon (alıcıya zarar veren, ama vericiye yarar sağlayan bileşen), anti-afrodizyak, doğurganlık sinyali ve

yuva arkadaşı tanıma fonksiyonlarına sahip olmaları olabilir (Nelson, 1993; Drijfhout ve ark., 2010).

Birçok böcek grubunda KHK'ların taksonomik araç olarak kullanılabilirliğine ilişkin kapsamlı bir derleme Bagneres ve Wicker-thomas (2010) tarafından yapılmıştır. KHK'ların türler arasında oldukça özgün profiller sergilediği ve eş bulma sinyalleri olarak değerlendirilen yapılar içerdiği neticesiyle morfoloji ve moleküler teknikler gibi taksonomik karakterlere ek olarak biyokimyasal bir karakter olarak kullanılabilirliğine dair önemli kanıtlar vardır (Bagneres ve Wicker-thomas, 2010; McLean ve ark., 2018; Buellesbach ve ark., 2018; Seppä ve ark., 2011; Haverty ve Nelson, 1997; Lucas ve ark., 2005; Shahandeh ve ark., 2018; Sharma ve ark., 2012; Steiger ve ark., 2013).

Çalışılan *Isophya* türleri genel olarak ses sinyalleri bakımından belirgin farklılıklar gösterir (Sevgili, 2004). Yukarıda bahsedilen iki *Chorthippus* türüne ait erkekler de ses sinyalleri bakımından farklılık mevcutken *G. firmus* ve *G. pennsylvanicus* erkek çağrı seslerinde herhangi bir farklılık saptanmamıştır (Finck ve ark., 2016; Maroja ve ark., 2014). Yani, Orthoptera içerisinde çiftleşme öncesinde kullanılan yöntemlerde farklılıklar mevcuttur. Bu durum KHK kompozisyonlarının da çekirgelerde hem tür hem de eşey tanımada görevli olduğuna işaret etmektedir. Çalışılan türlerde biyoakustik özellikler birbirinden farklıdır (Sevgili, 2004) ve KHK profilleri de birbirinden belirgin şekilde farklılık göstermiştir. Bu durumda eşeye özgü tanıma sinyalleri kullanılıyor olabilir.

KHK'lar üzerinden eşeyssel dimorfizm birçok çalışma ile birçok böcek grubunda gösterilmiştir (Thomas ve Simmons, 2008). Fakat eşeyler arasından KHK profili bakımından farklılık göstermemiş çekirge türleri de vardır (Espelie ve ark., 1994). Biyoakustik iletişim ile eşey seçimi daha çok uzak mesafedeki dişiye yönelik iken KHK'lar temas halinde olunan yakın mesafede etkili olarak düşünülmektedir (Mullen ve ark., 2007). Örneğin *Drosophila prolongata*'nın erkek ve dişileri arasında KHK profilleri ile birlikte bacaklarında bulunan kemosenör setalatları da dimorfizm gösterir (Luo ve ark., 2019). Feromon sentezi ve kemosenörlerin evrimi birlikte

gerçekleşmiştir. *Drosophila*'lardaki kısa mesafelerdeki kimyasal iletişimi düzenleyen feromonların KHK kökenli olduğu gösterilmiştir (Everaerts ve ark., 2010).

Bu çalışmada kullanılan *Isophya* türleri için virgin ve nonvirgin, dişi ve erkek bireylerin KHK verilerinden elde edilen komponentler de karşılaştırılmıştır. Sonuçlara göre PC1 komponenti bakımından farklılık yokken PC2 komponenti bazında küçük bir farklılaşma gözlenmiştir. Bunun sebebini bu KHK'ların biyosentezinin bireyin erginliğe ulaştığı sürece kadar gerçekleşmesi ve KHK profillerinin daha çok çiftleşmeye kadar olan süreçteki çeşitli kimyasal iletişim ihtiyaçlarına hizmet etmek amacıyla kullanılması olabilir. Aynı zamanda *Isophya* cinsi çekirgelerin çiftleşme çağrısı olarak türe özgü oluşturdukları biyoakustik sinyalleri kullanmaları KHK'ları sosyal böceklerdeki kullanımına kıyasla daha işlevsiz kılabilir. Örneğin yaş ve çiftleşme statüsü gibi durumların bazı komponentleri değiştirebildiğine dair *Drosophila melanogaster*'de yapılmış bir çalışma bulunmaktadır (Everaerts ve ark., 2010). Bu tez kapsamında ortaya koyduğumuz PC2 komponentinin değişimi eş tanıma sisteminin bir sonucu olabilir mi henüz bilmiyoruz. Fakat KHK profilinde değişikliğe sebep olan çevresel ve yaş gibi fiziksel faktörlerin olduğu bilinmektedir. Çiftleşme durumuna göre KHK profilinin değişip değişmediği konusu eşeyssel seçim için önemlidir (Thomas ve Simmons, 2009). Simpatrik yayılış gösteren iki tür *Drosophila serrate* ve *D. birchii* buldukları bölgede erkek ve dişi bireylerin KHK'larında karakter yer değiştirmesinin evrimleşmesi sonucu eş tanıma sistemini düzenlerler (Higgie ve ark., 2000). Bir başka *Drosophila* türü olan *D. suzukii* önemli bir tarım zararlısıdır ve eş tanıma sisteminde KHK'ları kullanır (Snellings ve ark., 2018).

Çalışmada kullanılan türlerin çoğunluğu allopatrik yayılış gösterirken *I. ilkazi* ve *I. obenbergeri* türleri Ilgaz dağı civarında simpatrik yayılış göstermektedir. Bu çalışmada bu iki türün KHK'ları hem KHK'ların kompozisyonuna bağlı profilleri bakımından hem de piklerin sayıları bakımından oldukça farklı bulunmuştur. Erkek ve dişi bireylerde *I. ilkazi* daha fazla pik sayısına ve Alken grubuna sahipken *I. obenbergeri*'de Alken grubu KHK bulunmamıştır. Bu farklılığın eş tanıma sistemi için önemli olduğunu düşünmemize rağmen bu konuda yapılmış herhangi bir deneysel çalışma *Isophya* türleri için mevcut değildir. Aynı zamanda spesifik bir

sinyal için (örneğin, bir türde dişi-erkek etkileşimi), “spesifik bir bileşik” gerekir. Bir kimyasalın çok spesifik olması için (böylece gürültüden kolayca ayrılabilir), diğer benzer bileşiklerden kolayca ayırt edilebilmesini sağlayan çeşitli yapısal özelliklere sahip olması gerekir. Spesifik bir hidrokarbonun, örneğin bir seks feromonu gibi, uzun bir mesafe boyunca haberci olabilmesi için gereksinimlerden biri, uçucu olması gerektiğidir (doymamışlık veya metil-dallanması ile sağlanır). Bununla birlikte, eğer bileşik çok daha küçük bir mesafeye etki ediyorsa, uçuculuk o kadar önemli değildir. Alkadienler çok spesifik sinyal iletimi ihtiyacında ortaya çıkan moleküllerdir (Drijfhoutve ark., 2013). Çünkü 2 çift bağ taşırlar ve bu çift bağların birbirlerine göre konumları değişebileceği gibi, çift bağlar etrafındaki grupların birbirlerine göre konumları da değişebilir ve pek çok izomeri, dolayısıyla pek çok spesifik bileşen ortaya çıkabilir. *I. ikazi* erkek bireylerde rastlanan %4 oranındaki alkadien yapısı bu erkek bireylerin spesifik sinyal iletim ihtiyacının, dişi bireylerinden yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun nedeni çalışmada da yer verdiğimiz *I. obenbergeri* ve *I. staneki* ile simpatrik yayılışa sahip olması olabilir.

*Schistocerca shoshone* (Acrididae) Kuzey Amerika’da yayılış gösteren kısa antenli bir çekirge türüdür. Farklı popülasyonlarında yapılan bir çalışmada daha sıcak koşullarda yaşayan popülasyonların daha fazla n-alkan üretmesi dışında KHK profilinde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Aynı zamanda *Isophya autumnalis*’e ait beş farklı popülasyonun KHK profilinin incelendiği bir tez çalışması (Özdemir, 2020) bu popülasyonlar arasında da KHK’lar yönünden önemli bir farklılık göstermemiştir. Bu durum bize KHK’ların yardımcı taksonomik karakterler olarak kullanışlı araçlar olduğunu göstermektedir.

#### **4.2. Sonuç ve Öneriler**

Bu çalışmada KHK’ların çalışılan her tür için farklı profil sergilediğini göstermiş olsak da hangi bileşiğin ne derecede türleri ayırdığına bakılmamış olup yalnızca elde edilen bu biyokimyasal veriler üzerinde tür tanımlaması yapmak pek mümkün değildir. Ancak *I. stenocauda* ve *I. obenbergeri*’de olduğu gibi profillerin birbirinden farklılık göstermesi yol gösterici önemli bir yardımcı taksonomik karakter olduğunu doğrular niteliktedir. Daha önce KHK’lar bakımından

çalışılmamış olan bu türlere ait veriler *rectipennis* tür grubu için bilimsel bir altyapı sağlayabilir.

Ekolojik parametreler için KHK'ların kullanımının daha yararlı sonuçlar çıkaracağını düşünmekteyiz. Türler arasındaki eşeyssel dimorfizmi açıklaması, simpatrik yayılış gösteren türlerde daha çok bilgi içeren sipesifik hidrokarbonların varlığı, eşeye özgü tanıma sinyallerine işaret etmeleri gibi konular üzerinde daha ileri çalışmalar yapılabilir.

Çevresel koşulların birçok böcek türünde popülasyon içi varyasyonu oluşturduğuna (Rundle ve ark., 2005) ve diyet ile tüketilen hidrokarbonların kütüküler lipitlere dahil olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur (Blomquist ve Jackson, 1973).

Sosyal böceklerin davranışlarında ve evriminde yuva arkadaşını tanımının önemi büyüktür ve yuva arkadaşı tanımada kullanılan KHK'lar büyük oranda avlanılan böceklerden (besin kaynağından) elde edilir (Liang ve Silverman, 2000). Karıncalarda yapılan bir çalışmada beslenme ile ilişkili olarak KHK yapısında değişim olduğu gözlenmiştir. Uygulanan her diyet türüne özgü ipuçları KHK profiline yansır (Liang ve Silverman, 2000; Buczkowski ve ark., 2005). Ortak gıda kaynağının paylaşılması, yuva arkadaşının tanınması için ipuçları içerebilirken komşu kolonilerde saldırganlığı azaltarak kaynaşmayı teşvik edebilir (Buczkowski ve ark., 2005).

*Grylloides sigillatus* (tropikal ev çekirgesi) üzerinde yapılan bir çalışmada iki farklı beslenme koşullarına (yüksek ve düşük kaliteli) maruz bırakılan çekirge gruplarının KHK profilleri incelenmiştir. Dişilerde KHK profiline farklılıklar olsa da istatistiksel olarak fenotipin genotip düzeyinde çevresel faktörlerden etkilenmediği düşünülmüş, erkeklerde ekspresyon seviyesinin dahi değişerek KHK profiline değişikliğe neden olduğu görülmektedir. KHK üretimi erkekler için bir maliyet gerektirdiğinden yüksek besin değeri içeren bir beslenme dişilere erkeklerin kalitesi hakkında güvenilir bilgiler sunar (Weddle ve ark., 2012). Bu çalışmada elde edilen erkek bireylerin KHK profillerinin birbirinden daha belirgin şekilde farklılaşmış olması (dişilere oranla) beslenmeyle ilişkili olarak açıklanabilir mi bilmiyoruz. Ancak bu yönde yapılacak çalışmalar çoğunluğu lokal endemik olan bu

türlerin ekolojisini anlamamıza olanak sağlayarak kimyasal ekoloji, koruma biyolojisi gibi alanlarda yol gösterici kaynaklar sunabilir. Türlerin KHK profillerinin beslenmeyle ilişkisini anlayabilmek için her tür için tüm popülasyonlarının KHK profilleri uygun koşullarda çıkarılmalıdır.

Sonuç olarak, son kırk yılda yapılan araştırmaların sonuçlarının ışığında kimyasal iletişimde kütiküler hidrokarbonların önemli bir sinyal olduğu ve keşfedilmemiş yeni rollerinin bulunduğu ortadadır. Biyolojik çeşitlilik krizine hızla yaklaştığımız bugünlerde, doğru tür sınırlaması her zamankinden daha önemlidir. Taksonomik doğruluğu sağlamak için şimdi türleri sınırlandırmak için bir dizi araca (morfolojik, genetik ve kimyasal) güvenmemiz gerekmektedir. KHK'lar gerçekten de böcek taksonomisinde paha biçilmez bir araçtır. Türler, tüm veya KHK'ların bir alt kümesine bağlı olarak ayırt edilebilir (Lockey ve Metcalfe, 1988). Hidrokarbonların, yakınsak uğur böceğinde (convergent lady beetle) kışlama alanlarını belirlemek için kümelenme feromonları olarak hizmet ettiğine ilişkin son gözlemler (Wheeler ve Cardé, 2014; Ginzl and Blomquist, 2016), diğer bazı işlevlerin henüz keşfedilmediğini düşündürmektedir. Metil dallı hidrokarbonlarla kimyasal iletişimde kiralitenin (stereokimyanın) önemi ise henüz araştırılmaktadır. Kesin bir stereokimyasal yapısal karakterizasyon ise bu bileşenlerin saf olarak izolasyonu ile mümkün olabilecektir ve gelecekteki çalışmalar şüphesiz bu konuyu daha derinlemesine ele alacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

- Ahrens, D., Monaghan, M. T., & Vogler, A. P. (2007). DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 436-449.
- Arnegard, M. E., McGee, M. D., Matthews, B., Marchinko, K. B., Conte, G. L., Kabir, S., . . . Schluter, Y. (2014). Genetics of ecological divergence during speciation. *Nature*, 307-311.
- Babis, M., Holman, L., Fenske, R., Thomas, M., & Baer, B. (2014). Cuticular lipids correlate with age and insemination status in queen honeybees. *Insectes Sociaux*, 61, 337-345.
- Bartelt, R. J., Cossé, A. A., Petroski, R. J., & Weaver, D. K. (2002). Cuticular Hydrocarbons and Novel Alkenediol Diacetates from Wheat Stem Sawfly (*Cephus cinctus*): Natural Oxidation to Pheromone Components. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 385-405.
- Bello, J. E., Hughes, G. P., Millar, J. G., & Ginzel, M. D. (2015). Determination of the Absolute Configuration of Female-Produced Contact Sex Pheromone Components of the Longhorned Beetle, *Neoclytus acuminatus acuminatus* (F). *Journal of Chemical Ecology*, 1050-1057.
- Blomquist, G. J., & Bagnères, A. G. (2010). *Insect hydrocarbons biology, biochemistry, and chemical ecology*. New York: Cambridge University Press.
- Böröczky, K., Crook, D. J., Jones, T. H., Kenny, J. C., Zylstra, K. E., Mastro, V. C., & Tumlinson, J. H. (2009). Monoalkenes as Contact Sex Pheromone Components of the Woodwasp *Sirex noctilio*. *Journal of Chemical Ecology*, 1202-1211.
- Braga, M., Pinto, Z., de Carvalho Queiroz, M., Matsumoto, N., & Blomquist, G. (2013). Cuticular hydrocarbons as a tool for the identification of insect species: Puparial cases from Sarcophagidae. *Acta Tropica*, 128(3), 479 - 485.
- Breed, M. D. (1998). Recognition Pheromones of the Honey Bee. *BioScience*, 48(6), 463-470.
- Broza, M., Blondheim, S., & Nevo, E. (1998). New species of mole crickets of the *Gryllotalpa gryllotalpa* group (Orthoptera: Gryllotalpidae) from Israel, based on morphology, song recordings, chromosomes and cuticular hydrocarbons, with comments on the distribution of the group in Europe and the Medi. *Systematic Entomology*, 23(2), 125-135.
- Broza, M., Nation, J., Milne, K., & Harrison, J. (2000). Cuticular Hydrocarbons as a Tool Supporting Recognition of *Gryllotalpa tali* and *G. marismortui* (Orthoptera: Gryllotalpidae) as distinct species in Israel. *Annals of the Entomological Society of America*, 93(5), 1022-1030.

- Buellesbach, J., Vetter, S. G., & Schmitt, T. (2018). Differences in the reliance on cuticular hydrocarbons as sexual signaling and species discrimination cues in parasitoid wasps. *Frontiers in Zoology*, 1-11.
- Can, E. (1959). Zur Kenntnis von *Isophya amplipennis* Br.v.W. *I. pavelii* Br.v.W. und *I. tenuicerca* Rme. (Orth. Tettigoniidae), als Schädlinge von Eichenniederwäldern in Südosteuropa. Teil I. Teil II. [*Isophya amplipennis*, *I. pavelii* and *I. tenuicerca* as pests of oak scrub. *ZEITSCHRIFT FÜR ANGEWANDTE ENTOMOLOGIE*, 43, 387–411.
- Châline, N., Sandoz, J.-C., Martin, S. J., Ratnieks, F. L., & Jones, G. R. (2005). Learning and Discrimination of Individual Cuticular Hydrocarbons by Honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical Senses*, 30(4), 327–335.
- Chen, L., Zhang, Z., Luo, J., Wang, Y., Lei, C., & Blomquist, G. (2014). Morphology and chemical analysis of the metathoracic scent glands system in *Adelphocoris suturalis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Insect Science*, 14(1).
- Chobanov, D. P., Sevgili, H., & Heller, K. G. (2020). Bioacoustics of poorly known Poecilimon taxa (Insecta: Orthoptera: Tettigoniidae) with redescrptions of *P. pechevi* and *P. stschelkanovzevi*. *Zootaxa*, 535 - 553.
- Chobanov, D. P., Kaya, S., Grzywacz, B., Warchałowska-Śliwa, E., & Çiplak, B. (2017). The Anatolio-Balkan phylogeographic fault: a snapshot from the genus *Isophya* (Orthoptera, Tettigoniidae). *Zoologica Scripta*, 165 - 179.
- Chung, H., & Carroll, S. B. (2015). Wax, sex and the origin of species: Dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. *Bioessays*, 37(7), 822–830.
- Cigliano, M. M., Braun, H., Eades, D. C., & Otte, D. (2020). *Orthoptera Species File (Version 5.0/5.0)*. <http://orthoptera.speciesfile.org>. adresinden alındı
- Dani, F. R., Jones, G. R., Corsi, S., Beard, R., Pradella, D., & Turillazzi, S. (2005). Nestmate Recognition Cues in the Honey Bee: Differential Importance of Cuticular Alkanes and Alkenes. *Chemical Senses*, 477–489.
- Drijfhout, F. P., Kather, R., & Martin, S. J. (2010). The role of cuticular hydrocarbons in insects. W. Zhang, & H. Liu içinde, *Behavioral and Chemical Ecology* (s. Chapter 3). UK: Nova Science Publishers.
- Espelie, K. E., Gamboa, G. J., Grudzien, T. A., & Bura, E. A. (1994). Cuticular hydrocarbons of the paper wasp, *Polistes fuscatus*: A search for recognition pheromones. *Journal of Chemical Ecology*, 1677–1687.
- Everaerts, C., Farine, J.-P., Cobb, M., & Ferveur, J.-F. (2010). Drosophila Cuticular Hydrocarbons Revisited: Mating Drosophila Cuticular Hydrocarbons Revisited: Mating. *PLoS ONE*, 5(3).
- Fan, R., Xiong, Q., Xie, Y., Zhu, Y., Xue, J., & Li, J. (2013). Morphological and ultrastructural characterization of *Carposina sasakii* larvae (Lepidoptera: Carposinidae) infected by *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae). *Micron*, 44(1), 303 - 311.



- Fedorka, K. M., & Mousseau, T. A. (2007). Immune system activation affects male sexual signal and reproductive potential in crickets. *Behavioral Ecology*, 18(1), 231–235.
- Finck, J., Berdan, E. L., Mayer, F., Ronacher, B., Geiselhardt, S., & Reports, S. (2016). Divergence of cuticular hydrocarbons in two sympatric grasshopper species and the evolution of fatty acid synthases and elongases across insects. *nature*.
- Fletcher, M. T., Allsopp, P., Mcgrath, M., Chow, S., Gallagher, O. P., Hull, C. D., . . . Kitching, W. (2008). Diverse cuticular hydrocarbons from Australian canebeetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Australian Journal of Entomology*, 153-159.
- Fletcher, M. T., Mc Grath, M. J., Konig, W. A., Moore, C. J., Cribb, B. W., Allsopp, P. G., & Kitching, W. (2001). A novel group of allenic hydrocarbons from five Australian (Melolonthine) beetles. *Chemical Communications*, 885-886.
- Gibbs, A. (1995). Physical properties of insect cuticular hydrocarbons: Model mixtures and lipid interactions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 112(4), 667-672.
- Gibbs, A. (1998). Water-Proofing Properties of Cuticular Lipids. *American Zoologist*, 38(3), 471–482.
- Ginzel, M. D., & Blomquist, G. J. (2016). Insect Hydrocarbons: Biochemistry and Chemical Ecology. *Extracellular Composite Matrices in Arthropods*, 221–252.
- Gwynne, D., Bowen, B., & Codd, C. (1984). The function of the katydid spermatophore and its role in fecundity and insemination (Orthoptera: Tettigoniidae). *Australian Journal of Zoology*, 32(1), 15 - 22.
- Havertya, M., & Nelsona, L. (1997). Cuticular Hydrocarbons of Reticulitermes (Isoptera: Rhinotermitidae) from Northern California Indicate Undescribed Species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 118(4), 869-880.
- Heethoff, M., Koerner, L., Norton, R., & Rasputnig, G. (2011). Tasty but Protected- First Evidence of Chemical Defense in Oribatid Mites. *Journal of Chemical Ecology*, 1037.
- Hefetz, A. (1993). Hymenopteran exocrine secretions as a tool for chemosystematic analysis: Possibilities and constraints. *Biochemical Systematics and Ecology*, 163-169.
- Heller, K. G., Helversen, O. V., & Sergejeva, M. (1997). Indiscriminate Response Behaviour in a Female Bushcricket: Sex Role Reversal in Selectivity of Acoustic Mate Recognition? *Naturwissenschaften*, 84, 252–255.
- Heller, K. G., Orci, K. M., Grein, G., & Ingrisch, S. (2004). The Isophya species of central and Western Europe (Orthoptera: Tettigonioidae: Phaneropteridae). *Tijdschrift voor Entomologie*, 237 - 258.
- Heller, K.-G., Korsunovskaya, O., Sevgili, H., & Zhantiev, R. (2006). Bioacoustics and systematics of the Poecilimon heroicus-group (Orthoptera:

- Phaneropteridae: Barbitistinae). *European Journal of Entomology*, 103(4), 853 - 865.
- Higgle, M., Chenoweth, S., & Blows, M. W. (2000). Natural Selection and the Reinforcement of Mate Recognition. *SCIENCE*, 290(5491), 519-521.
- Holze, H., Schrader, L., & Buellesbach, J. (2020). Advances in deciphering the genetic basis of insect cuticular hydrocarbon biosynthesis and variation. *Heredity*, 219-234.
- Hora, R. R., Ionescu-Hirsh, A., Simon, T., Delabie, J., Robert, J., Fresneau, D., & Hefetz, A. (2008). Postmating changes in cuticular chemistry and visual appearance in *Ectatomma tuberculatum* queens (Formicidae: Ectatomminae). *Naturwissenschaften*, 55–60.
- Howard, R. W., & Blomquist, G. J. (2005). Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*, 371 - 393.
- Jackson, L., & Baker, G. (1970). Cuticular lipids of insects. *Lipids*, 239–246.
- Jenkins, T., Haverty, M., Basten, C. J., Nelson, L., Page, M., & Forschler, B. (2000). Correlation of Mitochondrial Haplotypes with Cuticular Hydrocarbon Phenotypes of Sympatric *Reticulitermes* Species from the Southeastern United States. *Journal of Chemical Ecology*, 1525–1542 .
- Kather, R., & Martin, S. J. (2012). Cuticular hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: Advantages, limitations and technical aspects. *Physiological Entomology*, 37(1), 25 - 32.
- Kather, R., & Martin, S. J. (2015). Evolution of Cuticular Hydrocarbons in the Hymenoptera: a Meta-Analysis. *Journal of Chemical Ecology*, 871 - 883.
- Kassambara, A. (2018). *Machine learning essentials: Practical guide in R*. Sthda.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2015). Package ‘lmerTest’. *R package version*, 2(0), 734.
- Kaya, S., Chobanov, D. P., Skejo, J., Heller, K. G., & Çiplak, B. (2015). The Balkan *Psorodonotus* (Orthoptera: Tettigoniidae): Testing the existing taxa confirmed presence of three distinct species. *European Journal of Entomology*, 525 - 541.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25(1), 1-18.
- Lockey, K. H., & Metcalfe, N. B. (1988). Cuticular hydrocarbons of adult *Himatismus* species and a comparison with 21 other species of adult tenebrionid beetle using multivariate analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 371-382.
- Lucas, C., Pho, D., Jallon, J., & Fresneau, D. (2005). Role of cuticular hydrocarbons in the chemical recognition between ant species in the *Pachycondyla villosa* species complex. *Journal of Insect Physiology*, 51(10), 1148-1157.
- Luo, Y., Zhang, Y., Farine, J.-P., Ferveur, J.-F., Ramire, S., & Kopp, A. (2019). Evolution of sexually dimorphic pheromone profiles coincides with increased

- number of male-specific chemosensory organs in *Drosophila prolongata*. *Ecology and Evolution*, 9(23), 13608-13618.
- MacLean, M., Nadeau, J., Gurnea, T., Tittiger, C., & Blomquist, G. (2018). Mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*) CYP4Gs convert long and short chain alcohols and aldehydes to hydrocarbons. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 102, 11-20.
- Maroja, L. S., McKenzie, Z. M., Hart, E., Jing, J., Larson, E., & Richardson, D. (2014). Barriers to gene exchange in hybridizing field crickets: the role of male courtship effort and cuticular hydrocarbons. *BMC Evolutionary Biology*, 65.
- Martin, S. J., & Drijfhout, F. (2009). A review of ant cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology*, 35(10), 1151 - 1161.
- Martin, S., & Drijfhout, F. (2009). A review of ant cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology*, 35(10), 1151 - 1161.
- McGrath, M., Cribb, B., & Kitching, W. (2003). A Suite of Novel Allenes from Australian Melolonthine Scarab Beetles. Structure, Synthesis, and Stereochemistry. *The Journal of Organic Chemistry*, 3739–3748.
- Menzel, F., Blaimer, B. B., & Schmitt, T. (2017). How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. *The Royal Society Publishing*, 284(1850).
- Morgan, E. D. (2010). *Biosynthesis in Insects*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Mullen, S. P., Mendelson, T. C., Schal, C., & Shaw, K. L. (2007). Rapid evolution of cuticular hydrocarbons in a species radiation of acoustically diverse Hawaiian crickets (Gryllidae: Trigonidiinae: Laupala). *Evolution*, 61(1), 223-231.
- Nelson, D. R. (1993). methyl-branched lipids in insects. D. W. Stanley, & D. R. Nelson içinde, *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry, and Biology* (s. 270-315). Lincoln: University of Nebraska Press.
- Nelson, D. R., Dillwith, J. W., & Blomquist, G. J. (1981). Cuticular hydrocarbons of the house fly, *Musca domestica*. *Insect Biochemistry*, 11(2), 187-197.
- Ozaki, M., Katsumata, A. W., Fujikawa, K., Iwasaki, M., Yokohari, F., Satoji, Y., . . . Yamaoka, R. (2005). Ant Nestmate and Non-Nestmate Discrimination by a Chemosensory Sensillum. *SCIENCE*, 311-314.
- Pokorny, T., Hannibal, M., Quezada-Euan, J., Hedenström, E., Sjöberg, N., Bång, J., & Eltz, T. (2013). Acquisition of species-specific perfume blends: Influence of habitat-dependent compound availability on odour choices of male orchid bees (*Euglossa* spp.). *Oecologia*, 172(2), 417 - 425.
- Rousset, F., & Roze, D. (2007). Constraints on the origin and maintenance of genetic kin recognition. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 61(10), 2320-2330.
- Santos, A. d., & Nascimento, F. d. (2015). Cuticular Hydrocarbons of Orchid Bees Males: Interspecific and Chemotaxonomy Variation. *PLoS One*, 10(12).

- Schluter, D. (2001). Trends in Ecology & Evolution. *Cell Press*, 372-380.
- Schluter, D., & Conte, G. L. (2009). Genetics and ecological speciation. *PNAS*, 9955-9962.
- Seppä, P., Helanterä, H., Trontti, K., Punntila, P., Chernenko, A., Martin, S., & Sundström, L. (2011). The many ways to delimit species: hairs, genes and surface chemistry. *Myrmecological news*, 31-41.
- Sevgili, H. (2004). Türkiye *Isophya* Brunner Von Wattenwly (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae) Türlerinin Revizyonu. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Sevgili, H., & Heller, K. G. (2003). A new species of the genus *isophya* brunner von wattenwyl from Turkey (Orthoptera, Tettigoniidae, Phaneropterinae). *Tijdschrift voor Entomologie*, 39 - 44.
- Sevgili, H., Çiplak, B., Heller, K. G., & Demirsoy, A. (2006). Morphology, bioacoustics and phylogeography of the *Isophya* major group (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae): A species complex occurring in Anatolia and Cyprus. *European Journal of Entomology*, 657 - 671.
- Sevgili, H., Demirsoy, A., & Çiplak, B. (2012). Description and bioacoustics of a new species of the genus *Isophya* (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae) from Turkey. *Zootaxa*, 33 - 44.
- Shahandeh, M. P., Pishedda, A., & Turner, T. L. (2018). Male mate choice via cuticular hydrocarbon pheromones drives reproductive isolation between *Drosophila* species. *Evolution*, 72(1), 123-135.
- Sharma, M. D., Hunt, J., & Hosken, D. J. (2012). Antagonistic responses to natural and sexual selection and the sex-specific evolution of cuticular hydrocarbons in *Drosophila simulans*. *EVOLUTION: International Journal of Organic Evolution*, 66(3), 665-677.
- Singer, T. L. (1998). Roles of Hydrocarbons in the Recognition Systems of Insects. *American Zoologist*, 38(2), 394-405.
- Snellings, Y., Herrera, B., Wildemann, B., Beelen, M., Zwarts, L., Wenseleers, T., & Callaerts, P. (2018). The role of cuticular hydrocarbons in mate recognition in *Drosophila suzukii*. *Scientific Reports*, 8(1), 1-11.
- Steiger, S., Ower, G. D., Stökl, J., Mitchell, C., Hunt, J., & Sakaluk, S. K. (2013). Sexual selection on cuticular hydrocarbons of male sagebrush crickets in the wild. *Proceedings of The Royal Society*, 280(1773).
- Steiner, S., Hermann, N., & Ruther, J. (2006). Characterization of a Female-Produced Courtship Pheromone in the Parasitoid *Nasonia vitripennis*. *Journal of Chemical Ecology*, 1687-1702.
- Sullivan, A. M., Madison, D. M., Maerz, J. B., McDarby, J. H., & Rohr, J. R. (2002). A complex, cross-taxon, chemical releaser of antipredator behavior in amphibians. *Journal of Chemical Ecology*, 28(11), 2271 - 2282.

- Tamara Pokorny, T., Lunau, K., Javier G, J., Quezada-Euan, & Eltz, T. (2014). Cuticular hydrocarbons distinguish cryptic sibling species in *Euglossa* orchid bees. *Apidologie*, 45, 276–283.
- Thomas, M., & Simmons, L. (2008). Cuticular hydrocarbons are heritable in the cricket *Teleogryllus oceanicus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(3), 801-806.
- Thomas, M., & Simmons, L. (2009). Male dominance influences pheromone expression, ejaculate quality, and fertilization success in the Australian field cricket, *Teleogryllus oceanicus*. *Behavioral Ecology*, 20(5), 1118–1124.
- Tregenza, T., & Wedell, N. (1997). Definitive evidence for cuticular pheromones in a cricket. *Animal Behaviour*, 54(4), 979-984.
- Uma, R., & Sevgili, H. (2015). Spermatophore allocation strategy over successive matings in the bushcricket *Isophya sikorai* (Orthoptera Phaneropterinae). *Ethology Ecology and Evolution*, 129 - 147.
- Unal, M. (2003). *Poecilimon Fischer* (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae) Species of the Bati Karadeniz Region of Turkey, N.W. Anatolia. *Transactions of the American Entomological Society*, 361 - 387.
- Unal, M. (2010). Phaneropterinae (Orthoptera: Tettigoniidae) from Turkey and the middle east II. *Transactions of the American Entomological Society*, 125 - 183.
- Van Alphen, J. J., & Visser, M. E. (1990). Superparasitism as an Adaptive Strategy for Insect Parasitoids. *Annual Reviews*, (35), 59-79.
- Wagner, D., Brown, M. J., Broun, P., Cuevas, W., Moses, L. E., Chao, D. L., & Gordon, D. M. (1998). Task-Related Differences in the Cuticular Hydrocarbon Composition of Harvester Ants, *Pogonomyrmex barbatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 2021–2037.
- Wagner, D., Tissot, M., & Gordon, D. (2001). Task-Related Environment Alters the Cuticular Hydrocarbon Composition of Harvester Ants. *Journal of Chemical Ecology*, 1805–1819.
- Walsh, J., Pontieri, L., d'Ettoire, P., & Linksvayer, T. A. (2020). Ant cuticular hydrocarbons are heritable and associated with variation in colony productivity. *Journal of the Royal Society Interface*, 287(1928).
- Wheeler, C. A., & Cardé, R. T. (2014). Following in their footprints: cuticular hydrocarbons as overwintering aggregation site markers in *Hippodamia convergens*. *Journal of Chemical Ecology*, 418-428.
- Whitman, D. W. (2008). The significance of body size in the Orthoptera: a review. *Journal of Orthoptera Research*, 17(2), 117–134.
- Wickham, H. (2009). Getting started with qplot. In *ggplot2* (pp. 9-26). Springer, New York, NY.
- Wickham, H., Francois, R., Henry, L., & Müller, K. (2015). dplyr: A grammar of data manipulation. *R package version 0.4, 3*, p156.

- Wilgenburg, E., Torres, C. W., & Tsutsui, N. D. (2010). The global expansion of a single ant supercolony. *Synthesizing ecology and evolution for the study of invasive species*, 136-143.
- Wilson, E. O., & Regnier, F. E. (1971). Chemical communication and "propaganda" in slave-maker ants. *Science*, 267 - 269.
- Yeates, D. K., Seago, A., Nelson, L., Cameron, S. L., Leo, J., & Trueman, J. (2010). Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? *Systematic Entomology*, 36(2), 209-217.