T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

# SUCUL BÖCEKLERDE KIŞ MEVSİMİ BAŞLANGICINDA FENOTİPİK ESNEKLİĞİN ÖNEMİ

**Derya ÖZTÜRK**

**Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı**

**İçsular Biyolojisi Programı**

**DANIŞMAN**
**Doç. Dr. Serap KOŞAL ŞAHİN**

**II. DANIŞMAN**
**Doç. Dr. David BOUKAL**

**Temmuz, 2017**

**İSTANBUL**

Bu çalışma 4.07.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı, İçsular Biyolojisi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**

Doç. Dr. Serap KOŞAL ŞAHİN(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

Prof. Dr. Reyhan AKÇAALAN ALBAY
İstanbul Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

Doç. Dr. Egemen AYDIN
İstanbul Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

Doç. Dr. Seray YILDIZ
Ege Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

Yrd. Doç. Dr. Özcan GAYGUSUZ
İstanbul Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

20.04.2016 tarihli resmi gazetede yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

# ÖNSÖZ

Bu çalışmada, sucul böceklerde kış mevsimi başlangıcında fenotipik esnekliğin önemi irdelenmiştir ve bu çalışmaya ilişkin deney ve analizler, Çek Cumhuriyeti South Bohemia Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Ekosistem Biyolojisi bölümünde gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle, tez konumu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurarak bana destek olan değerli danışmanım Doç. Dr. Serap KOŞAL ŞAHİN'e,

Fikir aşamasında, gerekli araştırmaların yapılarak deneyin planlanmasında, uygulanmasında ve oluşturulmasında her türlü bilgi ve desteğini benden esirgemeyen, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve bu çalışmanın bilimsel temeller doğrultusunda yürütülmesini sağlayan değerli ikinci danışmanım Doç. Dr. David Boukal'a ve Dr. Jan OKROUHLİK'e ve emeği geçen tüm laboratuvar ekibine,

Çalışmalarım süresince bir an bile yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Araş. Gör. Gökhan TUNÇELLİ'ye,

Verilerin analizleri hususunda, bilgi ve deneyimini esirgemeyen Selçuk AKBAŞ'a,

Bilgi ve birikimini her zaman benimle paylaşan ve bu süreçte bir an bile desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Lubos HRİVNİAK'a,

İlk öğretmenim, idolum olan ve tüm hayatım boyunca bana rehberlik eden, beni aydınlatan ve destekleyen sevgili hocam, teyzem Hatice YEZİZ'e,

Ve son olarak, kelimelerin yetersiz kaldığı, emeklerini, sevgilerini, sevgi dolu kalplerini tarif edemediğim, en kıymetlim annem Çiğdem ÖZTÜRK'e ve babam Ramazan ÖZTÜRK'e ve yürekleri kocaman geniş aileme tüm emekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilime katkı sağlayacağını ve son yüzyılda karşı karşıya kaldığımız ve ekosistem için tehdit unsuru olan küresel iklim değişikliğine dikkat çekeceğini ümit ettiğim bu tez çalışmasını, Ekim ayında kaybettiğim canım anneannem Saime YEZİZ'e adıyorum. Hayatına dokunduğun herkese aşıladığın sevgini, sevgi dolu yüreğini, güler yüzünü her daim yüreğimde hissedeceğim, ışıklar içinde uyu anneanneciğim.

Sevgiyle ve özlemle…

Temmuz 2017 Derya ÖZTÜRK

# İÇİNDEKİLER

**Sayfa No**

**ÖNSÖZ** ..... **iv**
**İÇİNDEKİLER** ..... **v**
**ŞEKİL LİSTESİ** ..... **vi**
**TABLO LİSTESİ** ..... **viii**
**SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ** ..... **ix**
**ÖZET** ..... **xi**
**SUMMARY** ..... **xiii**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**2. GENEL KISIMLAR** ..... **4**
**3. MALZEME VE YÖNTEM** ..... **9**
3.1. ÇALIŞILAN TÜR ..... 9
3.2. ÖRNEKLEME VE YETİŞTİRME YÖNTEMLERİ ..... 9
3.3. METABOLİZMA HIZI ÖLÇÜMLERİ ..... 13
3.4. VÜCUT ÖLÇÜLERİ ÖLÇÜMLERİ ..... 16
3.4.1 Protein İçeriğinin Belirlenmesi ..... 16
3.5. VERİ ANALİZLERİ ..... 17
**4. BULGULAR** ..... **19**
4.1. HAYATTA KALMA ..... 20
4.2. METABOLİZMA HIZI VE VÜCUT ÖLÇÜLERİ ..... 21
**5. TARTIŞMA VE SONUÇ** ..... **31**
**KAYNAKLAR** ..... **37**
**EKLER** ..... **45**
**ÖZGEÇMİŞ** ..... **48**

# ŞEKİL LİSTESİ

**Sayfa No**

**Şekil 2.1:** Son 140 yıldaki ortalama küresel sıcaklık değişimi (Griggs ve Noguer, 2001). .....5

**Şekil 2.2:** Son 1000 yılda Kuzey Yarımküredeki ortalama sıcaklık değişimi (Griggs ve Noguer, 2001).....5

**Şekil 2.3:** *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) (Ephemeroptera: Baetidae) larvası. .....7

**Şekil 3.1:** Örnekleme alanına ait harita ve fotoğraf. Çek Cumhuriyeti'nin yaklaşık 10 km Güneydoğusunda yer alan Trebon. .....10

**Şekil 3.2:** Deneyde kullanılan akvaryum düzeneği. .....11

**Şekil 3.3:** *Stigeoclonium* sp. (yeşil alg) ve *Typha angustifolia* yaprağı ile beslenen larvalar. .....12

**Şekil 3.4:** Metabolizma hızı ölçüm gruplarına ait şema. .....13

**Şekil 3.5:** Metabolizma ölçümlerinde kullanılan mikro-solunum sistemi. .....14

**Şekil 3.6:** Metabolizma ölçümlerinde kullanılan viyal. .....15

**Şekil 4.1:** Deneyin başlangıcında 4 °C ve 10 °C aklimasyon sıcaklıklarına yerleştirilen larvaların baş genişliğine ait ortalama ve standart sapma (SD) değerleri. .....19

**Şekil 4.2:** 4°C'de (mavi çizgi) ve 10°C'de (kırmızı çizgi) *Cloeon dipterum* larvasının kümülatif hayatta kalma oranı: (A) tüm deney süresi boyunca[1], (B) 68. ve 147. günler arasında[2], (C) 88. ve 147. günler arasında[3], (D) 4°C'de normoksik koşullarda (mavi çizgi) ve hipoksik koşullarda (gri çizgi)[4] Cloeon dipterum larvasının kümülatif hayatta kalma oranı. .....21

**Şekil 4.3:** *C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızı üzerine aklimasyon ve akut sıcaklıkların ve oksijen konsantrasyonunun etkisi. Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen seviyeleri: mavi = 4°C, normoksi; kırmızı = 10°C, normoksi; gri = 4°C, hipoksi; siyah = 10°C, hipoksi.....24

**Şekil 4.4:** Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının nispi protein içeriği üzerine etkisi. Kutu grafiği: alt ve üstteki çizgiler veri aralığını, dikdörtgenin alt ve üst kenarları 1. ve 3. kartilleri, ortadaki kalın çizgi medyan değerini vermektedir. Aklimasyon sıcaklıkları: mavi = 4°C, kırmızı = 10°C.....25

**Şekil 4.5:** Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığı (mg) üzerine etkisi. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir. .....26

**Şekil 4.6:** Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının baş genişliği (mm) üzerine etkisi. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir. .....26

**Şekil 4.7:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığı (mg) ve baş genişliği (mm) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir. .....28

**Şekil 4.8:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının protein içeriği (mg) ve baş genişliği (mm) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir. .....29

**Şekil 4.9:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının protein içeriği (mg) ve kuru ağırlığı (mg) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir. .....30

# TABLO LİSTESİ

**Sayfa No**

**Tablo 4.1:** Farklı vücut ölçüleri esas alınarak, *Cloeon dipterum* larvasının kütleye özgü metobolizma hızının aklimasyon ve akut sıcaklıklarına ve suyun oksijen konsantrasyonuna bağlılığını test eden modellerin derecelendirilmesi. .....22

**Tablo 4.2:** *C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızına, vücut ölçüsü (kuru ağırlık, mg), aklimasyon ve akut sıcaklıkları ve oksijen konsantrasyonu etkisinin lineer regresyon analiziyle değerlendirilmesi. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır. .....23

**Tablo 4.3:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarının ve suyun oksijen konsantrasyonunun *C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri üzerine etkisinin lineer regresyon analiziyle değerlendirilmesi[1]. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır.....25

**Tablo 4.4:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri arasındaki ilişkinin lineer regresyon analiziyle belirlenmesi[1]. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır. .....27

# SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

**Simgeler** **Açıklama**

**%** : Yüzde

**°C** : Santigrat derece

**µg** : Mikrogram

**µL** : Mikrolitre

**µm** : Mikrometre

**µmol** : Mikromol

**µS** : Mikrosiemens

***b*** : Protein miktarını belirlemede kullanılan denklemdeki tahmin edilen katsayı

***c*** : Protein miktarını belirlemede kullanılan denklemdeki tahmin edilen katsayı

***d*** : Protein miktarını belirlemede kullanılan denklemdeki tahmin edilen katsayı

***e*** : Protein miktarını belirlemede kullanılan denklemdeki tahmin edilen katsayı

**pH** : Hidrojen iyonu konsantrasyonunun negatif logaritması

***x*** : Örnekteki protein miktarı

$\Delta t$ : $t_3$ ve $t_4$ zamanlarında yapılan oksijen konsantrasyonu arasındaki zaman farkı

**Kısaltmalar** **Açıklama**

***A*** : 570 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri

***a*** : Aklimasyon sıcaklığı

**BCA** : Bicinchoninic asit

**BIC** : Bayesian bilgi kriteri

**BSA** : Bovine serum albumin

**cm** : Santimetre

**$cm^2$** : Santimetre kare

***df*** : Serbestlik derecesi

***dw*** : Kuru ağırlık

**g** : Gram

***h*** : Hipoksi

**HT** : Homojenizasyon tampon çözeltisi

***hw*** : Larvanın baş genişliği

**L** : Litre

**log** : 10 tabanında logaritma

***m*** : Kütleye özgü metabolizma hızı

***M*** : Larvanın oksijen tüketimi

**mg** : Miligram

**mL** : Mililitre

**mm** : Milimetre

***N*** : Örnek büyüklü

**nm** : Nanometre

**$O_2$** : Oksijen

***P*** : Anlamlılık seviyesi

***p*** : Larvanın protein içeriği

$r^2$ : Belirtme katsayısı

**rpm** : Santrifüj işleminde dakikadaki devir sayısı

**SD** : Standart sapma

**SE** : Standart hata

***t*** : Akut sıcaklık

$t_3$ : Üçüncü oksijen konsantrasyonu ölçümü

$t_4$ : Dördüncü oksijen konsantrasyonu ölçümü

***V*** : Viyal hacmi

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

### SUCUL BÖCEKLERDE KIŞ MEVSİMİ BAŞLANGICINDA FENOTİPİK ESNEKLİĞİN ÖNEMİ

**DERYA ÖZTÜRK**

**İstanbul Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı**

**Danışman : Doç. Dr. Serap KOŞAL ŞAHİN**

**II. Danışman : Doç. Dr. David BOUKAL**

Küresel iklim değişikliği, sucul ekosistemlerdeki sıcaklıkta, çözünmüş oksijen konsantrasyonunda ve besin zincirinde sebep olduğu değişlikler nedeniyle sucul omurgasızların fenotipini etkileyebilir. Ancak, sucul omurgasızların kış sezonunda meydana gelebilecek olası değişikliklere olan fenotipik tepkileri bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında, model tür olarak mayıs sineği olan *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) larvası kullanılarak, kış mevsiminde termal aklimasyonun, akut sıcaklığın ve çözünmüş oksijen konsantrasyonunun metabolizma hızına, hayatta kalma oranına ve vücut ölçülerine etkisi deneysel olarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; (1) kütleye özgü metabolizma hızının aklimasyon ve akut sıcaklıkları ve çözünmüş oksijen konsantrasyonunun etkisiyle arttığı, (2) sıcaklığın ve besin elverişliliğinin hayatta kalma oranını anlamlı bir şekilde etkilediği, (3) aklimasyon sıcaklığının ve oksijen konsantrasyonunun önemli ölçüde larvanın nispi protein içeriğini etkilerken, kuru ağırlık ve baş genişliği üzerine anlamlı bir etkisinin bulunmadığı ve nispi protein içeriğinin, yüksek aklimasyon sıcaklığında ve normoksik koşullarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; bu bulgular, artan sıcaklıkların ve oksijen elverişliliğinin metabolizma hızını, hayatta kalma oranını ve birey fenotipini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Küresel iklim değişimden kaynaklı kış mevsimindeki çevresel değişikliklerin özellikle değişen termal rejimin, sucul omurgasızları nasıl etkilediğini

daha iyi anlayabilmek ve doğru tahminlerde bulunabilmek için bu alanda daha fazla laboratuvar ve arazi çalışmasına ihtiyaç vardır.

Temmuz 2017, 62 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** küresel iklim değişikliği, fenotipik esneklik, termal aklimasyon, metabolik ekoloji, sucul böcekler.

# SUMMARY

## M.Sc. THESIS

### THE IMPORTANCE OF PHENOTYPIC PLASTICITY FOR THE ONSET OF OVERWINTERING IN AQUATIC INSECTS

**Derya ÖZTÜRK**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Science and Engineering**

**Department of Basic Sciences in Fisheries**

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Serap KOŞAL ŞAHİN**

**Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. David BOUKAL**

Climate change can influence individual phenotype of aquatic invertebrates through changing temperature, dissolved oxygen concentration and nutrient level of aquatic ecosystems. However, phenotypic responses of aquatic invertebrates to environmental changes during winter season remain poorly understood. In this thesis, using larvae of the mayfly *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) as a model species, the effects of thermal acclimation, acute temperature, and dissolved oxygen concentrations on respiration rate, survival, and body size during winter has been experimentally investigated. It has been found that (1) mass-specific metabolic rates increased with acclimation and acute temperature and concentration of dissolved oxygen, (2) survival was significantly affected by temperature and food availability, and (3) acclimation temperature and oxygen concentration significantly influenced the relative protein content of the larvae but not dry weight and head width and protein content was higher at high acclimation temperature and under normoxic conditions. Overall, these results show that increased temperature and oxygen availability strongly influence respiration rate, survival and individual phenotype. In this field, further laboratory and field studies are needed to fully understand and estimate how climate change-induced environmental changes in particular altered thermal regimes during winter affect aquatic invertebrates.

July 2017, 62 pages.

**Keywords:** climate change, phenotypic plasticity, thermal acclimation, metabolic ecology, aquatic insects.

# 1. GİRİŞ

Artan dünya nüfusu ve insan aktiviteleri, küresel biyoçeşitlilik ve ekosistemlerin işleyişi için ciddi bir şekilde tehdit oluşturan çevre koşullarındaki değişimin hızlanmasına yol açmaktadır (Pereira ve diğ., 2010). Küresel iklim değişikliğinin neden olduğu en önemli çevresel parametrelerden birisi, hızla değişen sıcaklık rejimidir (Griggs ve Noguer, 2001). Sıcaklık rejimlerindeki değişim, özellikle vücut ısısı ortam sıcaklığına bağlı olarak değişen ektoterm canlıların yaşamsal faaliyetlerini önemli düzeyde etkilemektedir (Angilletta, 2009).

Tatlı su ekosistemleri, karasal ekosistemlerden ayrıldığı ve parçalanmış olduğu için küresel iklim değişiminden çok daha fazla etkilenmektedir (Meyer ve diğ., 1999; Parmesan, 2006; Woodward ve diğ., 2010). Küresel iklim değişikliği, tatlı su ekosistemlerinde sıcaklığı, besin tuzu, çözünmüş organik karbon ve çözünmüş oksijen konsantrayonunu, partiküler organik madde yükünü (Poff ve diğ., 2002), tatlı su ekosistemleri çevresindeki vejetasyonu, akış rejimlerinin büyüklüğünü ve mevsimsel değişimini (Meyer ve diğ., 1999), sucul besin ağını, komünite yapısını ve biyotik etkileşimleri (Wrona ve diğ., 2006; Walther, 2010; Sentis ve diğ., 2017) değiştirebilir. Tatlı su ekosistemlerindeki ektoterm canlılar için ortam sıcaklığı, küresel iklim değişikliğine olan hassasiyetlerini belirlemede en önemli çevresel faktördür ve doğrudan ektoterm canlıların metabolizma hızını, dolayısıyla diğer hayati fonksiyonlarını belirlemektedir (Hawkins, 1995; Angilletta ve diğ., 2002). Ektoterm canlılar, ortam sıcaklığındaki değişikliklere biyokimyasal kompozisyonlarını ve fizyolojik aktivitelerini düzenleyerek adapte olabilirler (Vernberg ve Vernberg, 1972; DeWitt ve diğ., 1998; Pigliucci, 2001). Türe özgü sıcaklık aralıkları içerisinde artan sıcaklıklar, tipik olarak metabolizma hızının artışını, daha fazla besin tüketimini ve daha hızlı büyümeyi beraberinde getirmektedir (Iles, 2014; Sentis ve diğ., 2015).

Bölgedeki çevresel şartlar değiştiği zaman, bu habitatlardaki türlerin devamlılığının sürdürülebilmesi bölgesel engellere, türlerin dağılma yeteneklerine ve bireylerin fizyolojik kapasitesine bağlıdır (Woodward ve diğ., 2010). Popülasyonların elverişsiz

şartlara adapte olamaması halinde, bu durum popüslasyon büyüklüklerinin azalması veya popülasyonun yok olmasıyla sonuçlanacaktır (Berteaux ve diğ., 2004; Brittain, 2008; Shurin ve diğ., 2012). Diğer taraftan, küresel iklim değişikliği, ortam sıcaklığının türün optimum sıcaklık aralığına gelmesiyle bir fırsat haline dönüşebilir (Rahel ve Olden, 2008; Walther ve diğ., 2009; Witte ve diğ., 2010).

Bireyler ve bölgesel popülasyonlar, küresel iklim değişikliğinden kaynaklanan olumsuz değişikliklere farklı şekillerde cevap verebilirler. Eğer göç edebilirlerse, çok daha uygun şartlardaki yeni habitatlarda kolonize olabilirler, edemezlerse bulundukları habitatlara fenotipik esneklikleri veya evrimsel değişimler sayesinde adapte olabilirler. Tatlı su omurgasızları genellikle çevresel koşullardaki ani değişikliklerle başa çıkamadıkları için, hayatta kalmaları büyük ölçüde fenotipik esneklik özelliklerine bağlıdır (Whitman ve Ananthakrishnan, 2009). Aklimasyon, fenotipik esnekliğin önemli bir kısmıdır. Kısa süreli deneylerle belirlenemeyen küresel iklim değişikliğine verilen tepkiler, farklı sıcaklık rejimlerine maruz bırakılan uzun süreli deneyler sayesinde açıklanabilir (Sentis ve diğ., 2015).

Tatlı su biyotası üzerine küresel iklim değişikliğinin sonuçları ile ilgili şimdiye kadar yapılan çalışmaların çoğu, bu ekosistemlerdeki organizmaların aktif olduğu dönemlerde yüksek sıcaklıkların bu organizmalara etkisi üzerine odaklanmıştır (Meade ve diğ., 2002; Carmona-Osalde ve diğ., 2004; Hammond ve diğ., 2006; Sentis ve diğ., 2015; Carbonell ve diğ., 2016). Ancak, artan sıcaklıkların kış mevsimi boyunca sucul omurgasızlar üzerine etkisi hakkında çok sınırlı bilgi bulunmaktadır. Suyun yüksek termal kapasitesi, çok düşük sıcaklıklardaki ekstrem koşullarda tampon görevi görmektedir. Bu, karasal ektotermlerde iyi bilinen soğuğa toleransın (Košťál ve Šimek, 1995; Sinclair, 2015) sucul ektotermler için çok da önemli olmadığı anlamına gelmektedir. Sucul omurgasızlar, kuvvetle muhtemel kış mevsimi süresince tamamen donmayan habitatlarda daha sabit termal koşullara sahiplerdir.

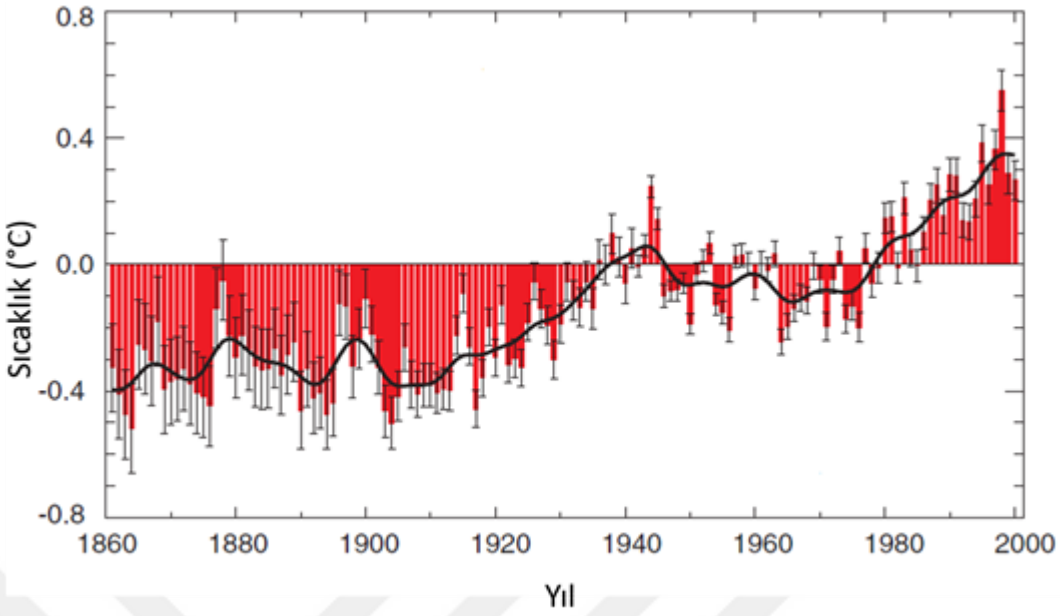
Çoğu sucul omurgasız, kış mevsimi süresince düşük sıcaklıklarda beslenmeyi ve dolayısıyla gelişmeyi durdurur ya da büyük ölçüde yavaşlatırlar (Frison, 1929; Nagell, 1980; Lencioni, 2004). Kış mevsimi sıcaklıklarında öngörülen artış, aktif beslenmelerine ve bu nedenle daha hızlı büyümelerine yol açabilir (Huey ve Kingsolver, 2011). Beraberinde gelen daha uzun büyüme sezonu ise larval dönemlerini daha erken

tamamlamalarına neden olabilir (Nebeker, 1971; Ward ve Stanford, 1982; Daufresne ve diğ., 2009). Diğer taraftan, kış mevsimi süresince artan sıcaklıklar, sindirim hızını aşan yüksek metabolizma hızları (Rall ve diğ., 2010) veya av yoğunluklarının azalması (Fussmann ve diğ., 2014) nedeniyle açlıkla karşı karşıya kalma riskini artırabilir. Son olarak, artan sıcaklıklar dekompozisyon süreçlerini hızlandırabilir ve bu nedenle detritus bakımından zengin küçük su kütlelerinde hipoksik şartların oluşmasına neden olabilir.

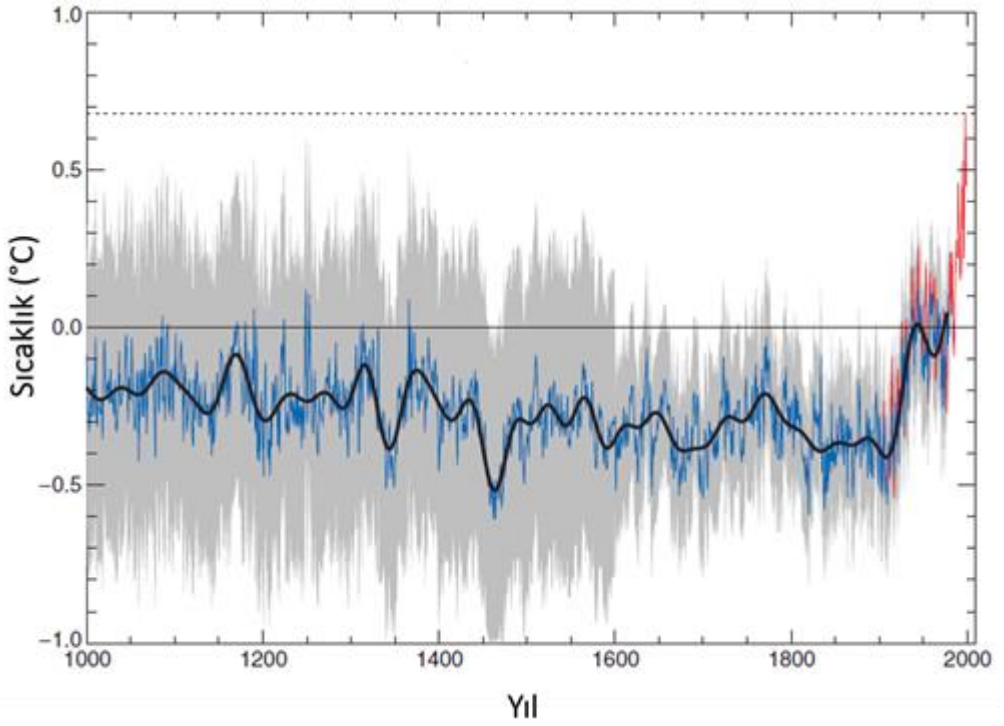
Bu çalışma, fenotipik olarak oldukça esnek olan birgün sineği *Cloeon dipterum* türünü kullanarak, kış mevsimi süresince artan sıcaklıkların ve hipoksik koşulların sucul omurgasızların metabolizma hızı, büyüme hızı, gelişmeleri ve stres toleransları üzerine etkisini araştırarak bu alandaki bilgi eksikliğini gidermeyi amaçlamaktadır (Forster ve diğ., 2011; Boukal ve diğ., 2015; Hampton ve diğ., 2016).

# 2. GENEL KISIMLAR

Artan insan nüfusu ve beraberinde gelen sanayileşme, sera gazlarının emisyonunda artışa sebep olmuş ve bu durum da, son yüzyılda küresel olarak yaklaşık 0,6 °C'lik azımsanmayacak bir sıcaklık artışına yol açmıştır. 1976 yılından bugüne kadar olan sıcaklık artışı son bin yıl içindeki herhangi bir zaman aralığından çok daha hızlı olmuştur (Griggs ve Noguer, 2001) (Şekil 2.1, Şekil 2.2) ve bu artışın devam edeceği öngörülmektedir (Flato ve diğ., 2013). Devam eden küresel iklim değişikliği, kutuplardan tropik bölgelere kadar olan bölge içerisindeki karasal ekosistemlerden deniz ekosistemlerine kadar birçok ekosistemi etkilemektedir (Walther ve diğ., 2002). Sıcaklıklardaki artışın devam etmesi, büyük olasılıkla organizmaların fizyolojisi ve fenolojisindeki değişiklikler de dahil olmak üzere, biyotaya (Iles, 2014), türlerin dağılımına ve yayılma aralığına (Araujo ve diğ., 2006), trofik etkileşimlerine (Vucic-Pestic ve diğ., 2011; Sentis ve diğ., 2015; Sentis ve diğ., 2017), komünite kompozisyonuna (Iles, 2014) ve ekosistemlerin yapısı ve dinamiği üzerine (Thornley ve Cannell, 1997) olan etkisini artıracaktır.




**Şekil 2.1:** Son 140 yıldaki ortalama küresel sıcaklık değişimi (Griggs ve Noguer, 2001).




**Şekil 2.2:** Son 1000 yılda Kuzey Yarımküredeki ortalama sıcaklık değişimi (Griggs ve Noguer, 2001).

Son yıllarda yapılan çalışmalar; sıcaklık rejimlerinin tatlı su ve deniz ekosistemlerindeki ektoterm canlılarının vücut ölçülerine etkisinin, karasal ekosistemlerindeki ektotermlerle karşılaştırıldığında çok daha fazla olduğunu göstermiştir (Forster ve diğ., 2012). Çünkü çoğu karasal ektoterm, ortam sıcaklığı değişikliğinde termoregülasyon mekanizmaları sayesinde türe-özgü termal tolerans değerleri içinde vücut sıcaklığını ayarlayabilir (Angilletta, 2009). Ancak bu durum, termoregülasyon mekanizmasına sahip olmayan yüksek termal kapasiteye sahip daha stabil sucul ekosistemlerde yaşayan ektotermler için değişmektedir. Dolayısıyla değişen sıcaklık rejimlerinde sucul ektotermlerin hayatta kalmaları, fenotipik esnekliklerine bağlı olarak termal aklimasyon yeteneklerine veya hareket kabiliyetlerinin izin verdiği ölçüde daha uygun şartlardaki yeni habitatlara göç edebilme ihtimallerine bağlıdır (Whitman ve Ananthakrishnan, 2009).

Tatlı su omurgasızlarının çoğu, hareket kabiliyetleri oldukça kısıtlı olan gastropodlar, kabuklular ve sucul böceklerden oluşmaktadır. Buna ek olarak, son çalışmalar göstermiştir ki; evrimsel tepkiler, türlerin küresel iklim değişilikliğinden kaynaklanan çevresel değişimlere uyum sağlaması açısından yeterince hızlı değildir (Quintero ve Wiens, 2013). Dolayısıyla hareket kabiliyetleri kısıtlı olan tatlı su omurgasızlarının küresel iklim değişikliğinden kaynaklı artan sıcaklıklarla başa çıkmaları doğrudan fenotipik esnekliklerine bağlıdır.

Fenotipik esneklik; tek bir genotipe sahip organizmanın değişen çevresel koşullar karşısında farklı fenotipler oluşturabilme yeteneğidir ve çevre koşullarından kaynaklanan morfolojik, fizyolojik, davranışsal ve fenolojik olan tüm değişimleri kapsamaktadır (Pigliucci, 2001; Whitman ve Ananthakrishnan, 2009). Tek bir çevresel faktör, tüm populasyonun fenotipini değiştirebilmektedir. Değişen çevresel koşullarla birlikte doğal seçilimle hayatta kalan organizmalar, genotipler arasından değil fenotipler arasından seçilmektedir (Whitman ve Ananthakrishnan, 2009).

Bununla beraber fenotipik esneklik; değişen çevresel koşullar karşısında türlerin devamlılığının sağlanması ve evrimsel süreci anlamamız açısından çok önemlidir. Bu nedenle bu tez çalışmasında, küresel iklim değişiminden kaynaklı sıcaklık değişimlerinde fenotipik esnekliğin önemini daha iyi anlayabilmek için, model tür olarak fenotipik olarak oldukça esnek olan ve sınırlı hareket kabiliyetine sahip mayıs sineği *Cloeon dipterum* larvası seçilmiştir (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3:** *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) (Ephemeroptera: Baetidae) larvası.

Tüm organizmalar, hayatta kalmak, büyümek ve üremek için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Ektotermlerin enerjiyi nasıl elde edeceği ve neye kullanacağı ortam sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir (Brown ve diğ. 2004). Sıcaklık, doğrudan ektoterm canlıların metabolizma hızını, dolayısıyla diğer hayati fonksiyonlarını belirlemektedir.

Metabolizma, bir organizmada gerçekleşen enerji ve madde dönüşümü olarak tanımlanmaktadır ve metabolizma hızı, sıcaklıkla (0-40 °C arasında) üssel olarak artmaktadır. Bu fenomen, metabolizma hızının sıcaklığın düşüşündense sıcaklığın artışından çok daha fazla etkileneceği anlamına gelmektedir (Gillooly ve diğ., 2001; Sibly ve diğ., 2012). Bu nedenle metabolizma hızı, ektotermlerin küresel iklim değişikliğinden kaynaklanan değişen sıcaklık rejimlerine nasıl tepki vereceğini anlamamıza katkı sağlayacak ve deneysel olarak ölçülebilecek en önemli faktörlerden biridir. Ektotermlerin metabolizma hızına ve beslenme aktivitelerine bağlı olarak ağırlıkları, vücut boyları ve besin içerikleri gibi vücut ölçüleri de değişmektedir (Nation, 2008).

Sonuç olarak; ektotermlerin, ortam sıcaklığının etkilerine bağlı olarak önce metabolizmalarında daha sonra vücut koşullarında değişiklikler meydana gelmektedir ve tüm bu olguların neticesinde organizmanın hayatta kalma durumu belirlenmektedir.

Küresel iklim değişikliğinden kaynaklı olarak artan sıcaklıklar sucul ekosistemlerdeki dekompozisyon süreçlerini hızlandırarak detritus bakımından zengin su kütlelerinde hipoksik koşulların oluşmasına neden olabilir. Sucul ekosistemlerde oksijen, sıcaklık artışları organizmaların metabolizma hızının da artmasına sebep olacağı için sınırlayıcı bir faktör haline gelebilir. Hatta bu fenomen, organizmaların yaşamsal faaliyetlerini önemli derecede etkileyebilir (Verberk ve Bilton, 2011).

Şu ana kadar yapılan çalışmaların bir çoğu küresel iklim değişikliğinden kaynaklanan sıcaklık rejimlerinin sucul omurgasızların aktif olduğu dönemlerdeki (yaz mevsimi) yüksek sıcaklıkların bu organizmalara etkisi üzerine odaklanmıştır (Folt ve diğ., 1999; Meade ve diğ., 2002; Carmona-Osalde ve diğ., 2004; Hammond ve diğ., 2006; Sentis ve diğ., 2015; Chavez ve diğ., 2015; Carbonell ve diğ., 2016). Ancak, kış mevsimi boyunca yüksek sıcaklıkların sucul omurgasızlara etkilerini araştıran sadece bir kaç çalışma bulunmaktadır (Nebeker, 1971; McCauley ve diğ., 2014). Bu nedenle kış mevsiminde değişen sıcaklık rejimlerinin sucul omurgasızlara etkisini ve değişen sıcaklık koşullarında fenotipik esnekliğin rolünü ve önemini anlayabilmek adına artan kış mevsimi sıcaklıklarının ve hipoksik koşulların *Cloeon dipterum* larvalarının metabolizma hızına, vücut ölçülerine ve hayatta kalma oranına etkisini araştıran bu çalışma oldukça önem taşımaktadır.

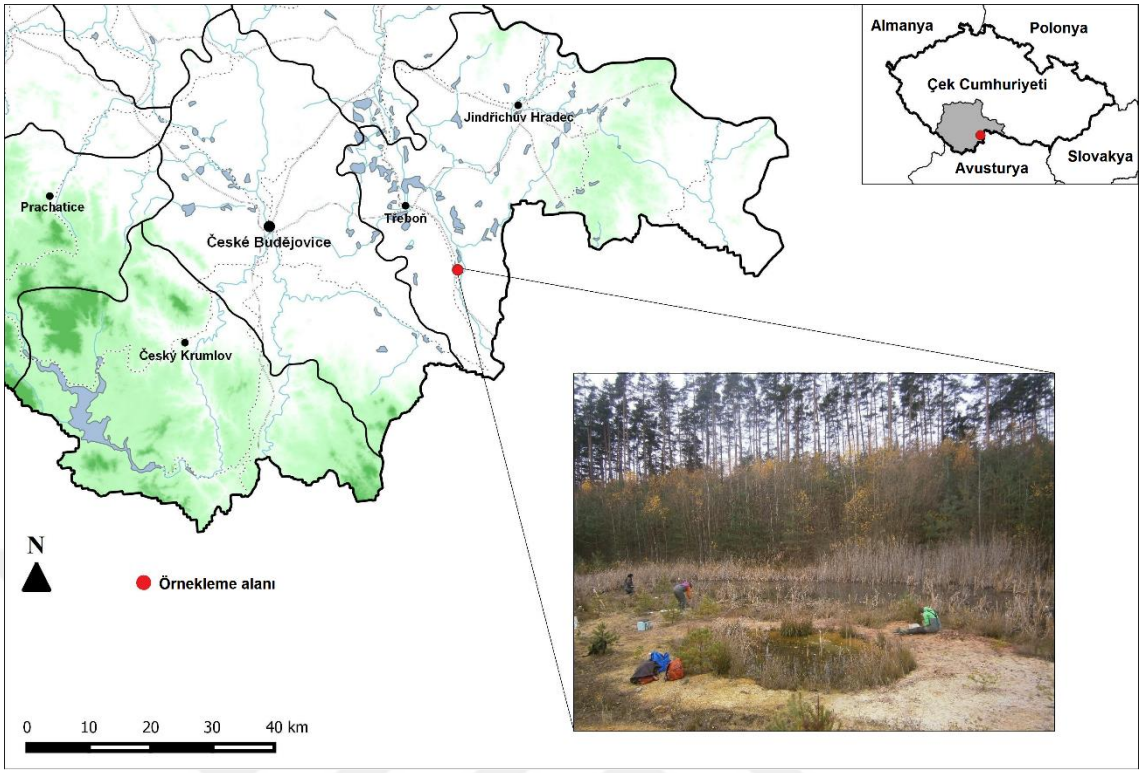
# 3. MALZEME VE YÖNTEM

## 3.1. ÇALIŞILAN TÜR

*Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) (Ephemeroptera: Baetidae) larvaları genellikle durgun veya yavaş akıntılı su kütlelerindeki vejetasyonun yoğun olduğu litoral bölgelerde yaşamaktadır. Larvaları yüzücü-toplayıcı olarak sınıflandırılır ve genel olarak ipliksi alglerle, perifitonla ve organik detritusla beslenmektedirler (Brown, 1961; Cianciara, 1980a ). *C. dipterum* oldukça yaygın bir türdür, genellikle uygun habitatlarda bol bulunur (Edmunds ve diğ., 1976; Cianciara, 1979) ve çevresel şartlardaki değişiklikleri tolera edebilirler (Cianciara, 1979). Ayrıca, laboratuvar koşullarında kolayca yetiştirilebilir ve model tür olarak kullanılırlar (Nagell, 1980; McKee ve Atkinson, 2000; Cabanita ve Atkinson, 2006; Camp ve diğ., 2014). Tek bir yaşam döngüsü tipine sahip değildirler. Coğrafi konumuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak yılda bir veya birden fazla nesil verebilirler (Clifford, 1982). Kış ve yaz mevsimi nesillerinde, larvaların son boyutu ve büyüme oranları farklılık göstermektedir. Larva evrelerinin belirlenmesi, coğrafi konumuna ve besin miktarı gibi çevresel şartlara bağlı olarak değişmesi nedeniyle oldukça zor ve tartışmalıdır (Cianciara, 1980b ).

## 3.2. ÖRNEKLEME VE YETİŞTİRME YÖNTEMLERİ

*C. dipterum* kış larvalarının örneklemesi, Çek Cumhuriyeti'nde Trebon şehri yakınlarında kum havuzundan (48° 55′ 4.874″ K, 14° 52′ 54.890″ D) 10 ve 12 Kasım 2015 tarihlerinde 2 grup olarak yapılmıştır (Şekil 3.1). Örneklenen grup hemen sonrasında örnekleme alanındaki ortam sıcaklığına yaklaşık bir sıcaklıkta (6,5°C) laboratuvara getirilmiştir.




**Şekil 3.1:** Örnekleme alanına ait harita ve fotoğraf. Çek Cumhuriyeti'nin yaklaşık 10 km Güneydoğusunda yer alan Trebon.

Her grubun larvaları, yaklaşık 6.5 °C sıcaklıkta bir gün aklimasyon için tutulduktan sonra, her iki yanında su giriş çıkışını sağlayan plankton bezi bulunan yetiştirme kaplarına (0,2L) 12'şerli gruplar halinde yerleştirilmiştir. Her bir akvaryum (44 x 15,5 x 10,5 cm) içine, 12 yetiştirme kabı yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Akvaryumların bir kısmı, tipik olarak kış şartlarını temsil eden sıcaklık koşullarında (ortalama ± SD = 4,0 ± 0,3°C), diğer bir kısmı ise yükseltilmiş sıcaklık koşullarında (ortalama ± SD = 10,0 ± 0,3°C) inkübe edilmiştir. Her bir sıcaklık rejimi için ikişer inkübatör kullanılmıştır. Akvaryumların yeri, haftada bir kere aynı sıcaklık rejimine sahip inkübatörler ve inkübatör rafları arasında değiştirilmiştir.




**Şekil 3.2:** Deneyde kullanılan akvaryum düzeneği.

Fotoperiyot, her iki deney grubu için doğal ışık koşullarını takip ederek her iki haftada bir ayarlanmıştır. Hipoksik koşullardaki test grubu dışındaki tüm deney grupları için akvaryum suyu, stabil oksijen konsantrasyonunu sağlamak için sürekli olarak havalandırılmıştır. Su sıcaklığı, EBI 20-TE veri kaydedici (Ebro, Germany) yardımı ile her 15 dakikada bir kaydedilmiştir.

Tüm larvalar, yaklaşık olarak aynı miktarda *Stigeoclonium* sp. (yeşil alg) ile beslenmiştir. Ek olarak besin ve tüneme alanı sağlamak amacıyla her bir yetiştirme kabına, örnekleme alanından toplanan kısmen çürümüş üç parça (her biri yaklaşık 2 cm uzunluğunda) *Typha angustifolia* yaprağı koyulmuştur (Şekil 3.3). Algler, Z besiyerine (Staub, 1961) yaklaşık 1 cm eninde uzun şeritler halinde 500 μm ağ göz açıklığına sahip plankton bezi yerleştirilerek 23 °C sıcaklıkta üretilmiştir. Larvalar, deneyin 68. gününe kadar haftada bir kere, her yetiştirme kabına 1 $cm^2$'lik plankton bezi koyularak beslenmiştir. Deneyin 68. günü itibariyle larvalar, yetiştirme kabında her zaman fazladan besin (haftada bir kere, her yetiştirme kabı için yaklaşık 2 $cm^2$ plankton bezi) olacak şekilde beslenmiştir. *Typha angustifolia* yaprakları, iki haftada bir yenilenmiştir. Su kalitesini iyi durumda tutmak için akvaryum suyunun yarısı, haftada bir kere dinlendirilmiş ve oksijenlendirilmiş su ile değiştirilmiştir.



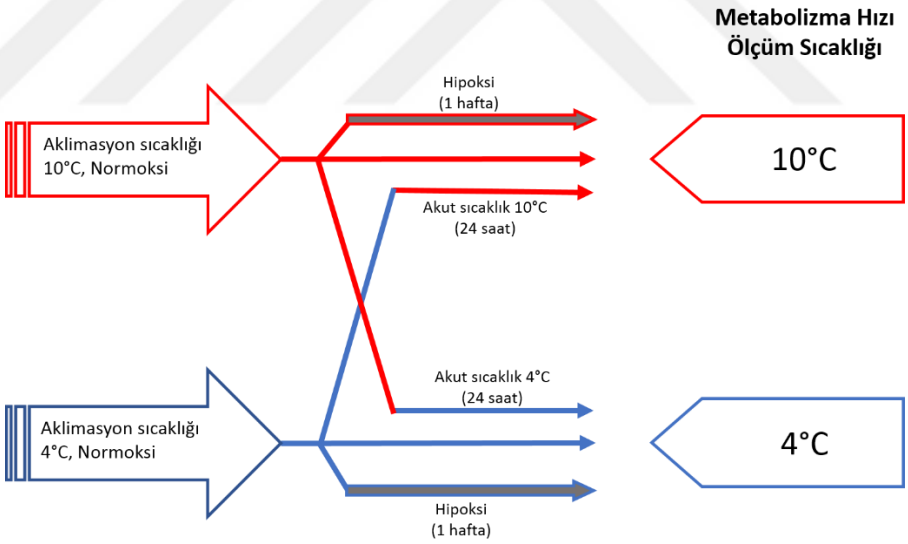
**Şekil 3.3:** *Stigeoclonium* sp. (yeşil alg) ve *Typha angustifolia* yaprağı ile beslenen larvalar.

Normoksik koşullardaki farklı aklimasyon sıcaklıklarındaki (sırasıyla, 4 °C ve 10 °C aklimasyon sıcaklıkları için 2022 ve 1964 birey sayısı) larvalar, hayatta kalma oranının belirlenmesi amacıyla, 12 Kasım 2015 ve 7 Nisan 2016 tarihleri arasında haftada bir kere olacak şekilde kontrol edilmiştir. 4 °C aklimasyon sıcaklığında oksijen konsantrasyonunun larvaların hayatta kalma oranına etkisinin değerlendirilmesi amacıyla, gruplar halinde yetiştirme kaplarından rastgele seçilen 222 larva, deneyin 102. ve 112. günleri arasında hipoksik koşullara yerleştirilmiştir (EK 1). Larvalar, hipoksik koşullar altında 29 gün tutulmuştur ve haftada üç kez kontrol edilerek hayatta kalma oranı kayıt edilmiştir. Hipoksik koşulları sağlamak amacıyla akvaryum suyu hipoksik gaz karışımı ile karıştırılmış ve çözünmüş oksijen seviyesi haftada iki kere ölçülmüştür. Normoksik koşullar altında rastgele belirlenen 515 larva, hipoksi testindeki veri setine uygun bir veri seti sağlayabilmek amacıyla haftada üç kez kontrol edilerek hayatta kalma oranı kayıt edilmiştir.

Larvaların bazıları, diğer analizler için kullanılmıştır ve bu nedenle onların gözlemleri, sansürlü veri olarak dikkate alınmıştır (EK 2).

### 3.3. METABOLİZMA HIZI ÖLÇÜMLERİ

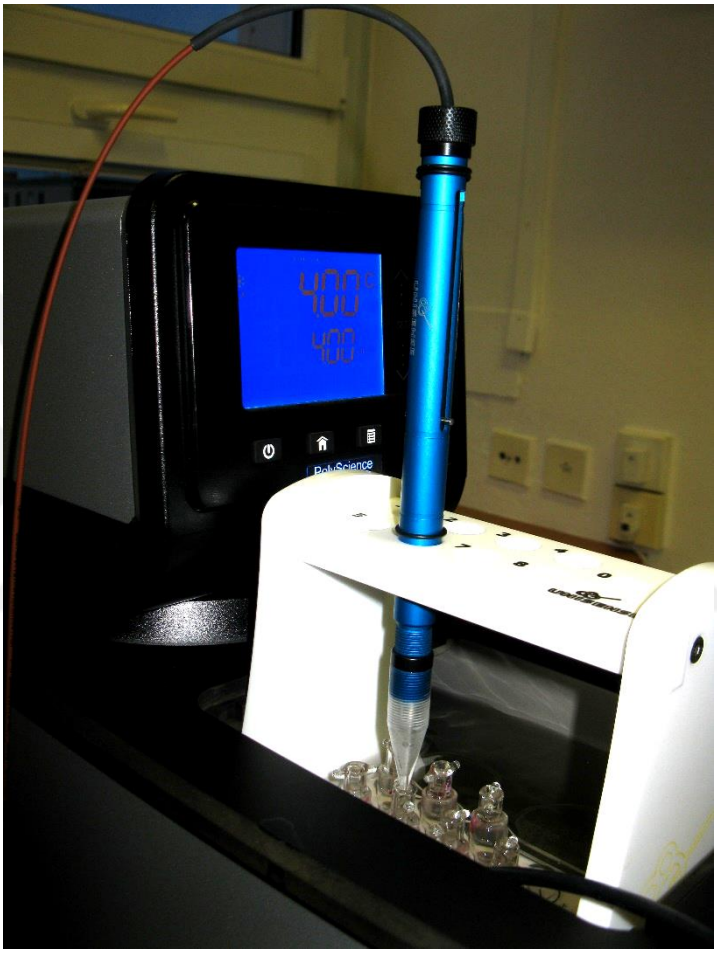
Metabolizma hızı ölçümleri için normoksik koşullar altındaki test grupları (çözünmüş oksijen konsantrasyonu: sırasıyla 4 °C ve 10 °C için, yaklaşık 12 mg $O_2.L^{-1}$ ve 10,5 mg $O_2.L^{-1}$), iki aklimasyon sıcaklığı (4 °C ve 10 °C), iki akut test sıcaklığı (4 °C ve 10 °C) ile çaprazlanarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, hipoksik koşullar altında (çözünmüş oksijen konsantrasyonu: sırasıyla 4 °C ve 10 °C için, yaklaşık 1,9 mg $O_2.L^{-1}$ ve 1,6 mg $O_2.L^{-1}$) tutulan larvaların metabolizma hızı, her iki aklimasyon sıcaklığında ölçülmüştür. Metabolizma hızı ölçümlerinde, toplamda altı grup test edilmiştir (Şekil 3.4). Larvalar, metabolizma hızı ölçümlerinden önce akut sıcaklıkta 24 saat tutulmuştur. Hipoksi testi için larvalar, metabolizma ölçümlerinden önce aynı aklimasyon sıcaklıklarında bir hafta hipoksik koşullar altında tutulmuştur. Metabolizma hızı ölçümlerinin gruplar halinde yapılması zorunlu olduğu için deneyin 75. ve 88. günleri arasında ölçümler 14 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar koşullarının kısıtlı olması nedeniyle, bir günde 6 gruptan 4 grubun metabolizma hızı ölçümleri yapılmıştır (EK 3).




**Şekil 3.4:** Metabolizma hızı ölçüm gruplarına ait şema.

*C. dipterum* larvasının metabolizma hızı, gün ışığında Sensor Trace Basic 3.2.3 yazılımıyla çalışan MicroOptode Meter ölçüm cihazına bağlı bir $O_2$ MicroOptode ölçüm ucundan oluşan Unisense mikro-solunum sistemi (Unisense, Denmark) ile ölçülmüştür (Şekil 3.5). Metabolizma hızı ölçümlerinde kullanılan distile suya, örnekleme alanında gözlemlenen iletkenlik değerleri aralığında (Sentis ve diğ., 2015) bulunan iletkenliği (yaklaşık 200 $\mu S.cm^{-2}$) sağlamak için saf tuz (Sera, 0.14 $g.L^{-1}$) eklenmiştir ve bu distile

suyun bir kısmı bir gün önceden gece boyunca normoksik koşulları elde etmek için havalandırılmıştır, diğer bir kısmı da hipoksik koşulları sağlamak amacıyla hipoksik gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Larvaların oksijen tüketimi, hazırlanan ölçüm suyuyla doldurulmuş cam viyallerde (hacim: 4 °C için yaklaşık 1 mL ve 10 °C için yaklaşık 4 mL; metabolizma hızının hacime bağlı olmadığı doğrulanmıştır) ölçülmüştür.



**Şekil 3.5:** Metabolizma ölçümlerinde kullanılan mikro-solunum sistemi.

Bir larva plastik bir pipetle her bir viyal içine bırakıldıktan hemen sonra viyal, larvayı rahatsız etmeden oksijen ölçüm ucunun girişini sağlayan 1 cm uzunluğunda kapiler bir boşluğa sahip cam bir tapa ile sıkıca kapatılmıştır (Şekil 3.6). Kapiler boşluk, viyal içine oksijen difüzyonunu engellemek için her zaman suyla dolu olmuştur. Larvadan kaynaklanmayan oksijen tüketimini belirlemek amacıyla, aynı şekilde larvasız üç kontrol viyali hazırlanmıştır. Daha sonra, bu üç kontrol viyali ölçümlerinin ortalaması alınarak her bir test viyal ölçümünden çıkarılmıştır. Viyaller, ölçümler boyunca su sıcaklığını sabit kalmasını sağlayan PolyScience su banyosunda (Illinois, USA) tutulmuştur.



**Şekil 3.6:** Metabolizma ölçümlerinde kullanılan viyal.

Her bir viyaldeki oksijen konsantrasyonu, larva viyale aktarıldıktan hemen sonra ve daha sonra yaklaşık 1., 2. ve 8. saat sonunda toplamda dört kez olmak üzere ölçülmüştür. Viyaldeki su, oksijenin homojen bir şekilde dağılımını sağlamak için ince bir tel örgüyle larvadan ayrılan manyetik karıştırıcı yardımıyla, her ölçümden hemen önce yavaşça karıştırılmıştır. İlk iki saat içinde yapılan ölçümlerde, artan ve/veya değişken oksijen tüketiminin gözlemlenmesi nedeniyle, kütleye özgü metabolizma hızını ($m$) saptamak için sadece üçüncü ($t_3$) ve dördüncü ($t_4$) ölçümler arasındaki fark kullanılmıştır. Kütleye özgü metabolizma hızı ($m$) aşağıdaki formül kullanılarak elde edilmiştir:

$$m\left[\frac{\mu L\ O_2}{saat \times g}\right] = \frac{M\ \left[\frac{\mu mol\ O_2}{L}\right] \times 22.414\ \left[\frac{\mu L\ O_2}{\mu mol\ O_2}\right] \times V[L]}{\Delta t\ (saat) \times dw\ (g)}$$

Bu formülde $M$, kontrol viyal ölçümlerinin ortalaması ile düzeltilmiş olan $t_3$ ve $t_4$ zamanında ölçülen oksijen tüketimi farkını; $V$, ölçüme ait viyalin hacmini; $\Delta t$, $t_3$ ve $t_4$ zamanında yapılan ölçümler arasındaki zaman farkını; $dw$, ölçümü yapılan larvanın kuru ağırlığını ifade etmektedir.

## 3.4. VÜCUT ÖLÇÜLERİ ÖLÇÜMLERİ

Deneyin başlangıcında 4 °C ve 10 °C aklimasyon sıcaklıklarına yerleştirilen larvaların baş genişliğini belirlemek amacıyla, her bir aklimasyon sıcaklığından rastgele seçilen 30 bireyin, Olympus SZX10 stereomikroskop üzerine monte edilmiş bir kamera ile fotoğrafları (6.25x magnifikasyon) çekilmiş ve bu fotoğraflardan larvaların baş genişliği QuickPHOTO CAMERA 2.3 yazılımı (Promicra, Czech Republic) ile 1 µm hassasiyetle ölçülmüştür.

Metabolizma ölçümlerinden hemen sonra her bireyin fotoğrafı (5x magnifikasyon) çekilmiş ve larvanın baş genişliği aynı yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Fotoğrafları çekilen bireyler hemen sonrasında –80 °C sıcaklıkta dondurulmuş ve daha sonraki analiz işlemlerine kadar bu koşullarda saklanmıştır.

–80 °C sıcaklıkta saklanan örnekler, Freezone 2.5 dondurarak kurutma cihazı (Labconco, Kansas, USA) ile 20 saat boyunca kurutulmuş ve 4 °C aklimasyon sıcaklığında tutulan ve test edilen bireyler haricindeki her bireyin kuru ağırlığı, MT5 mikro-terazi (Mettler Toledo) ile 1 µg hassasiyetle ölçülmüştür. 4 °C aklimasyon sıcaklığında tutulan ve test edilen bireylerin kuru ağırlığı ise GR200 yarımikro-terazi (A&D Instruments) ile 0,1 mg hassasiyetle ölçülmüştür.

### 3.4.1 Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Kuru ağırlıkların ölçülmesinden hemen sonra, her birey 100 µL homojenizasyon tampon çözeltisi (bundan sonra HT; 50mM TRIS/HCl, pH 7,2) içinde, motorlu bir karıştırıcıya (IKA RW 16 basic, IKA Labortechnik, Stauffen, Germany) monte edilmiş steril bir havaneliyle ezildikten sonra, Ultrasonik dalga cihazı (IKASONIC U50, IKA Labortechnik, Stauffen, Germany) yardımı ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örneklerin 5 dakika boyunca 14000 rpm'de 4 °C sıcaklıkta santrifüj edilerek elde edilen süpernatant kısmı, her bireyin protein içeriğini belirlemek amacıyla Bicinchoninic asit (BCA) yönteminde kullanılmıştır (Smith ve diğ., 1985).

BCA çalışma çözeltisi, BCA stok çözeltisi (Sigma, B-9643) ve %4'lük (g/mL) Bakır (II) sülfat ($CuSO_4.5H_2O$) çözeltisi ile 50/1 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır. Bovine serum albumin (BSA) standart stok çözeltisi, 1 mL HT içinde 4 mg Albumin Bovine Fraction V (BSA; Serva 11927) eritilerek hazırlanmıştır. Bu çözelti, –20 °C sıcaklıkta

dondurularak saklanmıştır. Kalibrasyon BSA solüsyonları (0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2, 2.8 ve 4 mg BSA.mL$^{-1}$), analiz öncesinde eritilmiş standart BSA stok çözeltisinden HT çözeltisiyle seyreltilerek hazırlanmıştır. BSA içermeyen HT çözeltisi, analizde kontrol amaçlı kullanılmıştır. Her bir 96 kuyulu plakada, kalibrasyon serisi üç tekrarlı olarak çalışılmıştır ve her kuyucuk için 10 µL BSA kalibrasyon solüsyonu kullanılmıştır.

Analizi yapılan her örnek, 5 µL homojenat ve 5 µL HT çözeltisinden oluşmuştur. Tüm örneklere ve kalibrasyon serisine 200 µL BCA çalışma çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan kuyulu plakalar, 60 ºC sıcaklıkta 45 dakika boyunca inkübe edildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Bu inkübasyon işleminden sonra her bir plakanın absorbans değerleri, mikroplaka okuyucu spektrofotometre (A-5082, Sunrise Tecan, Austria) ile 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kalibrasyon serisinin absorbans değerleri, lineer olmayan kalibrasyon eğrisi oluşturmak için kullanılmıştır:

$$A = \frac{bx + c}{dx + e}$$

Bu formülde A, 570 nm dalga boyunda ölçülen kalibrasyon absorbans değerini; x, kalibrasyon örneğindeki protein miktarını ve b, c, d, e tahmin edilen katsayıları ifade etmektedir. Denklem, Statistica 12 (Statsoft, Tulsa, USA) programında oluşturulmuştur ve veriyle güçlü bir şekilde uyum sağlamıştır (tüm kalibrasyon örnekleri için $r^2 > 0{,}93$). Bu oluşturulan denklem daha sonra, her bir larva için ilgili örnek absorbans değerinden larvanın protein içeriğini hesaplamak için kullanılmıştır.

### 3.5. VERİ ANALİZLERİ

Deneyin başlangıcında ölçülen larvaların baş genişliklerine ait veri, 4 °C ve 10 °C aklimasyon sıcaklıklarına yerleştirilen larvalar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Hayatta kalma verisi, aklimasyon sıcaklıklarının ve oksijen konsantrasyonlarının hayatta kalma oranına etkisini karşılaştırmak amacıyla Gehan'nın genelleştirilmiş Wilcoxon testi kullanılarak analiz edilmiştir (uygulandığı program: Statistica 12, Statsoft, Tulsa, USA). Buna ek olarak, hayatta kalma verisi, iki aklimasyon sıcaklıkları için de farklı beslenme rejimlerinin hayatta kalma oranına olası etkilerini saptamak amacıyla tüm deney boyunca

(1. ve 147. günleri arası), ara dönem (68. ve 147. günleri arası) ve son dönem (88. ve 147. günleri arası) için ayrı ayrı analiz edilmiştir.

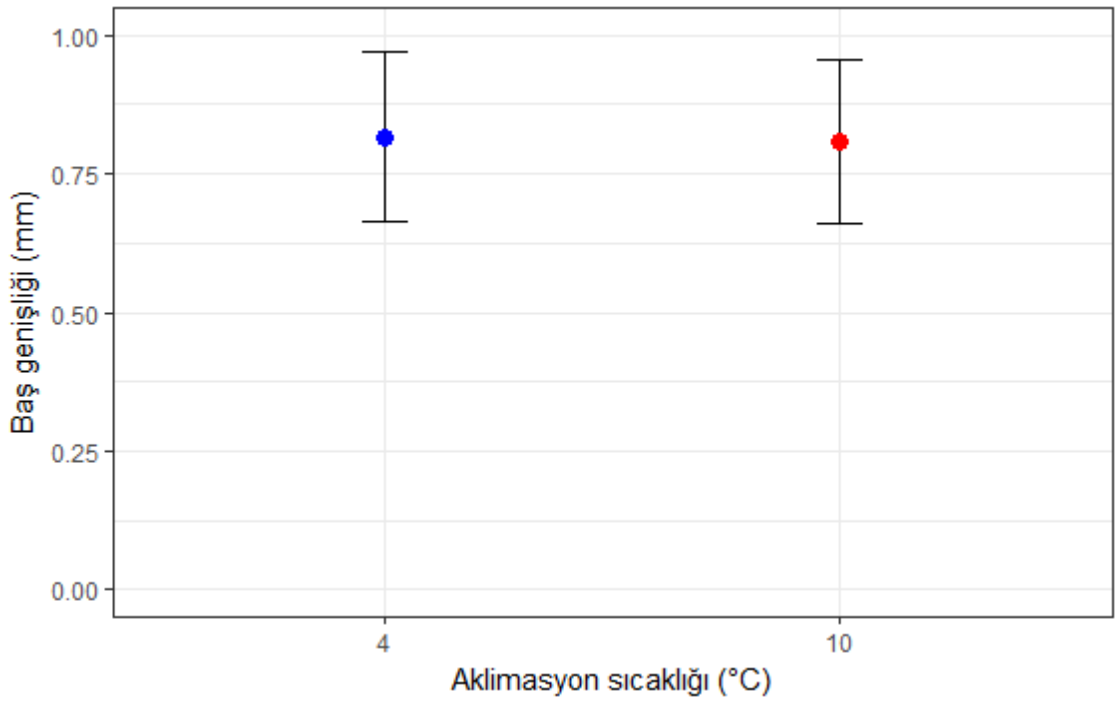
Lineer regresyon analizi; hipoksik koşullarının, aklimasyon ve akut sıcaklıklarının ve onların etkileşimlerinin larvaların metabolizma hızı üzerine etkisini test etmek amacıyla kullanılmıştır. Metabolik ekolojide, metabolizma hızının allometrik olarak vücut ölçüleriyle ölçeklendiği bilinmektedir (Gillooly ve diğ., 2001; Sibly ve diğ., 2012). Bu nedenle, vücut ölçüleri ve oksijen tüketimine ait veriler için analizden önce logaritmik dönüşüm uygulanmıştır. Analizlerde farklı vücut ölçüleri olarak kuru ağırlık, baş genişliği ve protein içeriği kullanılmıştır. Alternatif vücut ölçüleri ile uygulanan modeller içinden en az parametreli etkin lineer regresyon model seçimi, tüm değişkenleri ve etkileşimlerini içeren bir modelle başlayarak, daha sonra bütün anlamsız değişkenleri dışlayacak şekilde birtakım ardışık kısıtlamalar getirilerek yapılan Bayesian bilgi kriteri (BIC) yöntemiyle belirlenmiştir (Burnham ve Anderson, 2003). Test edilen her ayrı grubun kütleye özgü metabolizma hızı allometrisine ait eğim, en az parametreli etkin modeldeki grubun referans seviyesi değiştirilerek elde edilmiştir.

Ayrıca, lineer regresyon analizi hipoksi ve aklimasyon sıcaklıklarının farklı vücut ölçüleri üzerine ve vücut ölçüleri arasındaki ilişkiye etkisini test etmek amacıyla da kullanılmıştır. Tüm lineer regresyon analizleri, R 3.3.2 programında uygulanmıştır (R Core Team, 2016).

# 4. BULGULAR

Deneyde yapılan hayatta kalma oranına, metabolizma hızına ve vücut ölçülerine ilişkin verilerin değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgulara ait analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Deneyin başlangıcında her iki aklimasyon sıcaklığı için larvaların baş genişliğinin oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

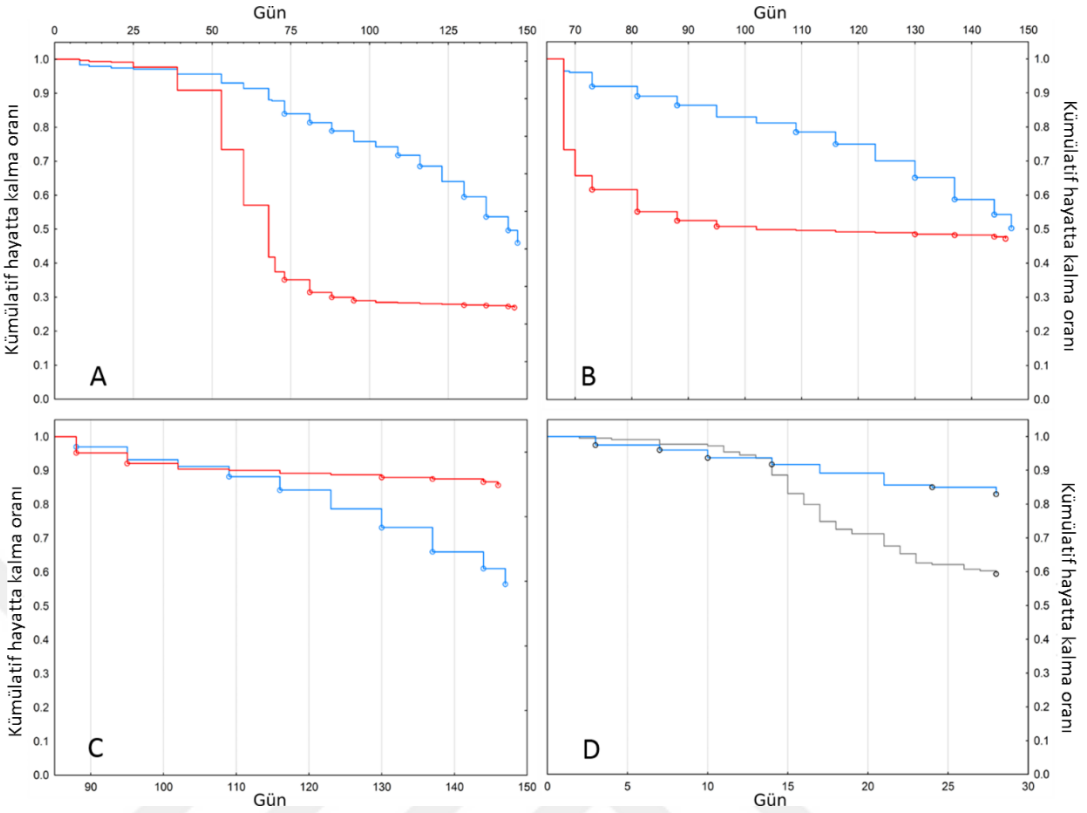



**Şekil 4.1:** Deneyin başlangıcında 4 °C ve 10 °C aklimasyon sıcaklıklarına yerleştirilen larvaların baş genişliğine ait ortalama ve standart sapma (SD) değerleri.

## 4.1. HAYATTA KALMA

*C. dipterum* larvalarının hayatta kalma oranı, her iki aklimasyon sıcaklıkları için, hem tüm deney boyunca hem de deneyin 68. ve 88. günlerinden sonraki verilerin analizleri değerlendirildiğinde anlamlı ölçüde farklılık bulunmuştur (tüm analiz sonuçları için: $P < 10^{-4}$). Deneyin yaklaşık olarak 40. ve 88. günleri arasında muhtemelen deneyin ilk bölümünde uygulanan sınırlı besin kaynağı nedeniyle 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların hayatta kalma oranı, 4 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların hayatta kalma oranından çok daha düşüktür. Deneyin yaklaşık 40. günü itibariyle 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvalar kuvvetle muhtemel açlık çekmeye başlamışlar ve sonrasında da bir süre daha beslenme yetersizliğinin etkisinde kalmışlardır. Deneyin 88. gününden itibaren ise 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların hayatta kalma oranının, 4 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların hayatta kalma oranından daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2A-B-C).

Larval mortalite 4 °C aklimasyon sıcaklığında hipoksik koşullar altında, normoksik koşullardan daha yüksek bulunmuştur ($P < 10^{-4}$; Şekil 4.2D).




**Şekil 4.2:** 4°C'de (mavi çizgi) ve 10°C'de (kırmızı çizgi) *Cloeon dipterum* larvasının kümülatif hayatta kalma oranı: (A) tüm deney süresi boyunca[1], (B) 68. ve 147. günler arasında[2], (C) 88. ve 147. günler arasında[3], (D) 4°C'de normoksik koşullarda (mavi çizgi) ve hipoksik koşullarda (gri çizgi)[4] *Cloeon dipterum* larvasının kümülatif hayatta kalma oranı.

## 4.2. METABOLİZMA HIZI VE VÜCUT ÖLÇÜLERİ

*C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızının, aklimasyon ve akut sıcaklıklarına, oksijen konsantrasyonuna ve larvanın vücut ölçülerine anlamlı bir şekilde bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Veri seti, en iyi bir şekilde vücut ölçüsü olarak kuru ağırlığın uygulandığı bir lineer regresyon modeli ile tanımlanmıştır (Tablo 4.1). Her iki yüksek aklimasyon ve akut sıcaklıkları da, metabolizma hızının artmasına yol açmıştır ve onların metabolizma hızına etkisi toplamsaldır. Ancak, metabolizma hızına akut sıcaklığın etkisi, aklimasyon sıcaklığının etkisinden yüksektir. Hipoksik koşullar ise, metabolizma hızının azalmasına neden olmuştur.

[1]başlangıç örnek büyüklüğü (*N*), 4°C'de: 2022, 10°C'de: 1964.
[2]*N*, 4°C'de: 1781, 10°C'de: 821.
[3]*N*, 4°C'de: 935, 10°C'de: 242.
[4]*N* normoksik koşullarda: 515, hipoksik koşullarda: 222. D grafiğindeki gün hipoksik koşullardaki test süresini göstermektedir; detaylar yöntem bölümünde verilmektedir. Metabolizma hızı ve diğer testler için kullanılan sansürlü veri, çember sembolü ile gösterilmektedir (Ek 2).

Tüm deney gruplarında kütleye özgü metabolizma hızı, vücut ölçüsüyle azalmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.3). Normoksik koşullar altında kütleye özgü metabolizma hızı allometrisinin eğimi 4 °C aklimasyon sıcaklığında (ortalama±SE: –0,30±0,07) ve 10 °C aklimasyon sıcaklığında (ortalama±SE: –0,19±0,07), teorik allometri değerinden (–0,25) anlamlı bir şekilde farklı değildir (Brown ve diğ., 2004). Ancak, hipoksik koşullar altında kütleye özgü metabolizma hızı, her iki aklimasyon sıcaklığında da vücut ölçüsüyle farklı olarak ölçeklenmiştir (eğim 4 °C: –0,72±0,10; eğim 10 °C: –0,10±0,08). Hipoksik koşullar altında larvanın kütleye özgü metabolizma hızı, 4 °C aklimasyon sıcaklığında vücut ölçüsüyle dramatik bir şekilde azalırken, 10 °C aklimasyon sıcaklığında çok az değişim göstermiştir (Şekil 4.3).

**Tablo 4.1:** Farklı vücut ölçüleri esas alınarak, *Cloeon dipterum* larvasının kütleye özgü metobolizma hızının aklimasyon ve akut sıcaklıklarına ve suyun oksijen konsantrasyonuna bağlılığını test eden modellerin derecelendirilmesi.

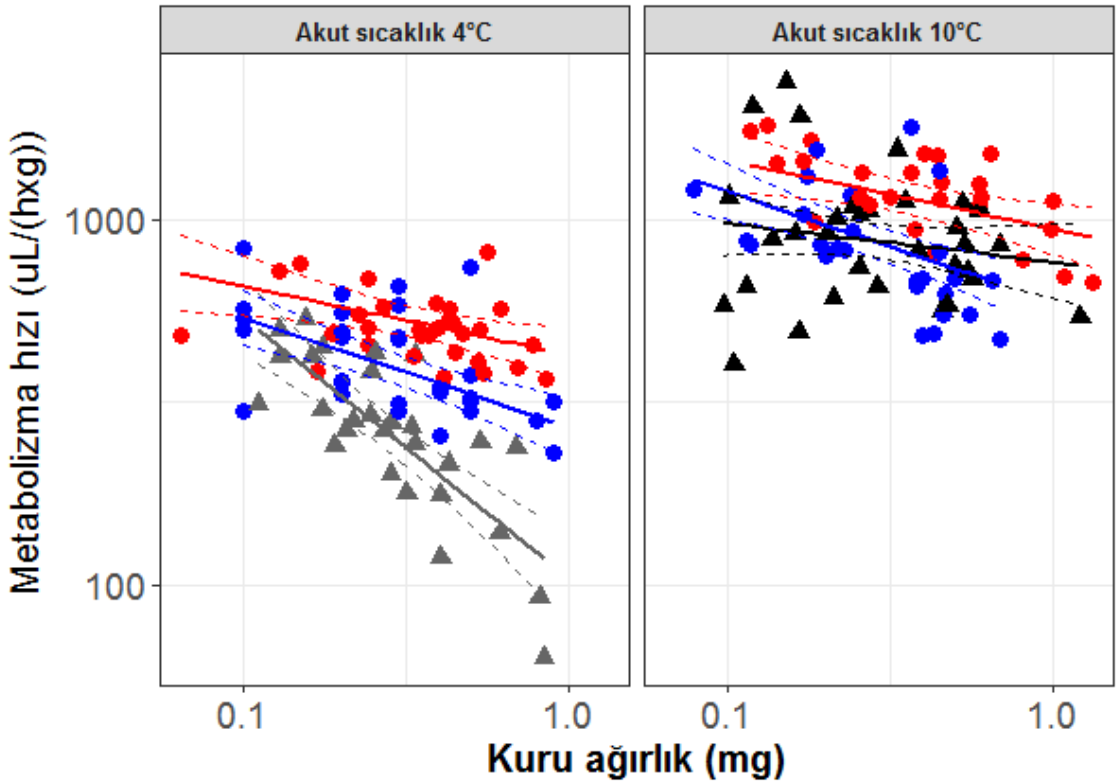
| **Model** | **dBIC**[1] | **df**[2] | **BIC**[3] |
|---|---|---|---|
| $\log(m) \sim a + t + h + \log(dw) + a{:}h + a{:}\log(dw) + h{:}\log(dw) + a{:}h{:}\log(dw)$ | 0,0 | 10 | 0,998 |
| $\log(m) \sim a + t + h + \log(p) + a{:}h + a{:}\log(p) + h{:}\log(p) + a{:}h{:}\log(p)$ | 12,1 | 10 | 0,002 |
| $\log(m) \sim a + t + h + \log(hw) + a{:}h + a{:}\log(hw) + h{:}\log(hw) + a{:}h{:}\log(hw)$ | 22,5 | 10 | <0,001 |

[1]dBIC: Bayesian bilgi kriterinde en az parametreli etkin modelden farkı.
[2]df: serbestlik derecesi.
[3]BIC: modelin nispi olasılığı.

**Tablo 4.2:** *C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızına, vücut ölçüsü (kuru ağırlık, mg), aklimasyon ve akut sıcaklıkları ve oksijen konsantrasyonu etkisinin lineer regresyon analiziyle değerlendirilmesi. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır.

| **Bağımsız değişkenler** | **ortalama ± SE** | ***T*** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Kesme noktası[1] | **5,60±0,10** | 57,5 | $< 10^{-4}$ |
| Aklimasyon sıcaklığı[2] | **0,46±0,12** | 3,79 | 0,0002 |
| Akut sıcaklık[2] | **0,79±0,06** | 13,9 | $< 10^{-4}$ |
| Hipoksi[3] | **-0,95±0,17** | -5,49 | $< 10^{-4}$ |
| log(Kuru ağırlık) | **-0,30±0,07** | -4,49 | $< 10^{-4}$ |
| Aklimasyon sıcaklığı[2] × Hipoksi[3] | **0,75±0,23** | 3,28 | 0,001 |
| Aklimasyon sıcaklığı[2] × log(Kuru ağırlık) | 0,11±0,09 | 1,19 | 0,23 |
| Hipoksi[3] × log(Kuru ağırlık) | **-0,41±0,12** | -3,33 | 0,001 |
| Aklimasyon sıcaklığı[2] × Hipoksi[3] × log(Kuru ağırlık) | **0,50±0,16** | 3,08 | 0,002 |

[1]Kesme noktası: normoksik koşullarda 4 °C aklimasyon ve akut sıcaklığında 1 mg kuru ağırlığa sahip larvanın log(metabolizma hızı).
[2]Aklimasyon ve Akut sıcaklıkları: 4 °C ve 10 °C arasındaki fark.
[3]Hipoksi: normoksik ve hipoksik koşullar arasındaki fark.

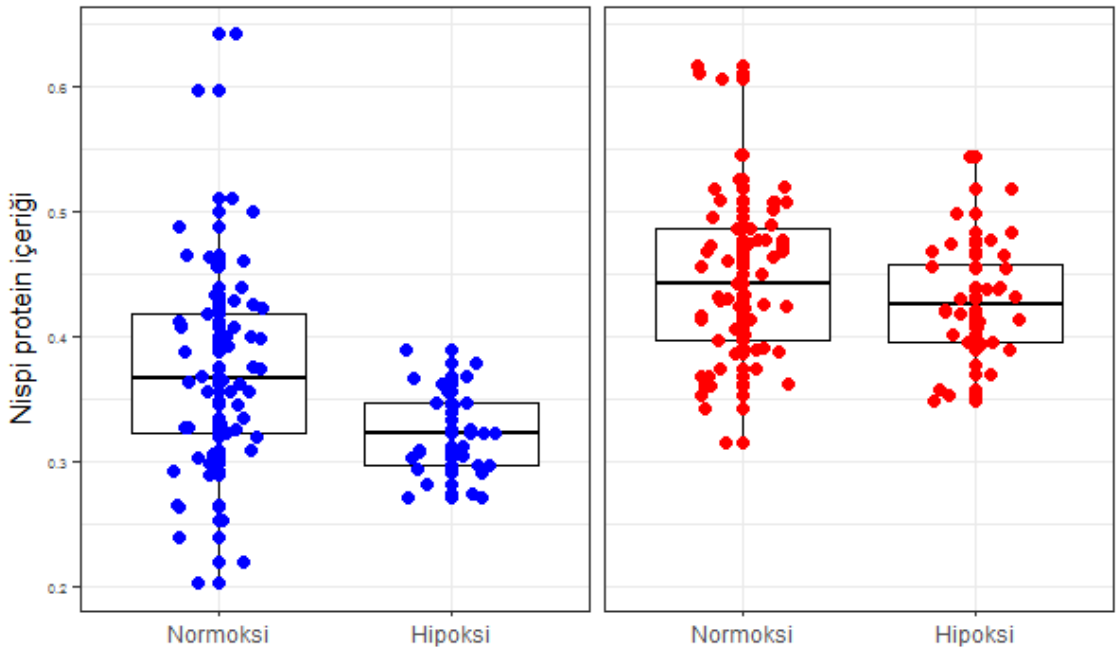



**Şekil 4.3:** *C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızı üzerine aklimasyon ve akut sıcaklıkların ve oksijen konsantrasyonunun etkisi. Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen seviyeleri: mavi = 4°C, normoksi; kırmızı = 10°C, normoksi; gri = 4°C, hipoksi; siyah = 10°C, hipoksi.

Deneyin 75. ve 88. günleri arasında ölçümleri yapılan üç vücut ölçüsünden (nispi protein içeriği, kuru ağırlık, baş genişliği) sadece bir tanesi, deney grupları arasında farklılık göstermiştir. *C. dipterum* larvasının nispi protein oranının, yüksek aklimasyon sıcaklığı artmasına, hipoksik koşullar azalmasına neden olmuştur (Tablo 4.3, Şekil 4.4). Ancak, aklimasyon sıcaklığının ve oksijen konsantrasyonun larvanın kuru ağırlığına ve baş genişliğine anlamlı bir şekilde etkisi olmamıştır (Tablo 4.3, Şekil 4.5 ve 4.6).

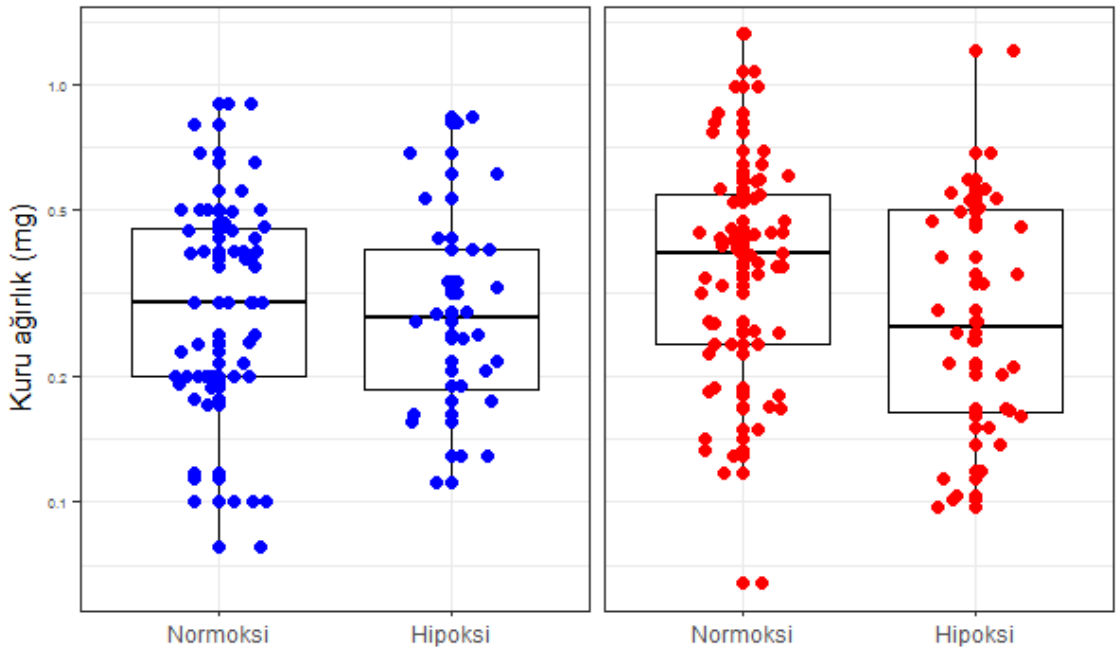
**Tablo 4.3:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarının ve suyun oksijen konsantrasyonunun *C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri üzerine etkisinin lineer regresyon analiziyle değerlendirilmesi[1]. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır.

| **Bağımsız değişkenler** | **ortalama±SE** | ***T*** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Nispi protein içeriği analizi | | | |
| Kesme noktası[2] | **0,37±0,01** | 45,7 | $< 10^{-4}$ |
| Aklimasyon sıcaklığı[3] | **0,08±0,01** | 8,4 | $< 10^{-4}$ |
| Hipoksi[4] | **-0,03±0,01** | -3,2 | 0,002 |
| Kuru ağırlık analizi | | | |
| Kesme noktası[2] | **-1,18±0,05** | -25,1 | $< 10^{-4}$ |
| Baş genişliği analizi | | | |
| Kesme noktası[2] | **-0,19±0,01** | -14,5 | $< 10^{-4}$ |

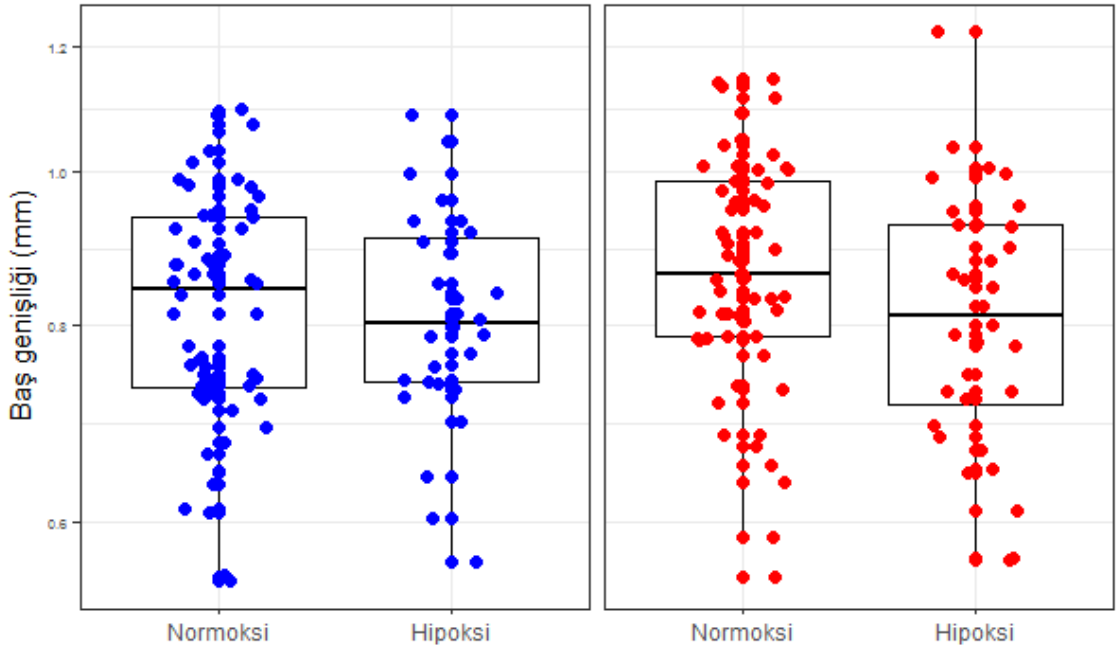



**Şekil 4.4:** Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının nispi protein içeriği üzerine etkisi. Kutu grafiği: alt ve üstteki çizgiler veri aralığını, dikdörtgenin alt ve üst kenarları 1. ve 3. kartilleri, ortadaki kalın çizgi medyan değerini vermektedir. Aklimasyon sıcaklıkları: mavi = 4°C, kırmızı = 10°C.

[1]Nispi protein içeriği dışındaki bağımlı değişkenler için logaritmik dönüşüm uygulanmıştır, detaylar method bölümünde verilmektedir.
[2]Kesme noktası: normoksik koşullarda 4 °C aklimasyon sıcaklığı..
[3]Aklimasyon sıcaklığı: 4 °C ve 10 °C arasındaki fark.
[4]Hipoksi: normoksik ve hipoksik koşullar arasındaki fark.




**Şekil 4.5**: Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığı (mg) üzerine etkisi. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir.




**Şekil 4.6:** Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonunun, *C. dipterum* larvasının baş genişliği (mm) üzerine etkisi. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir.

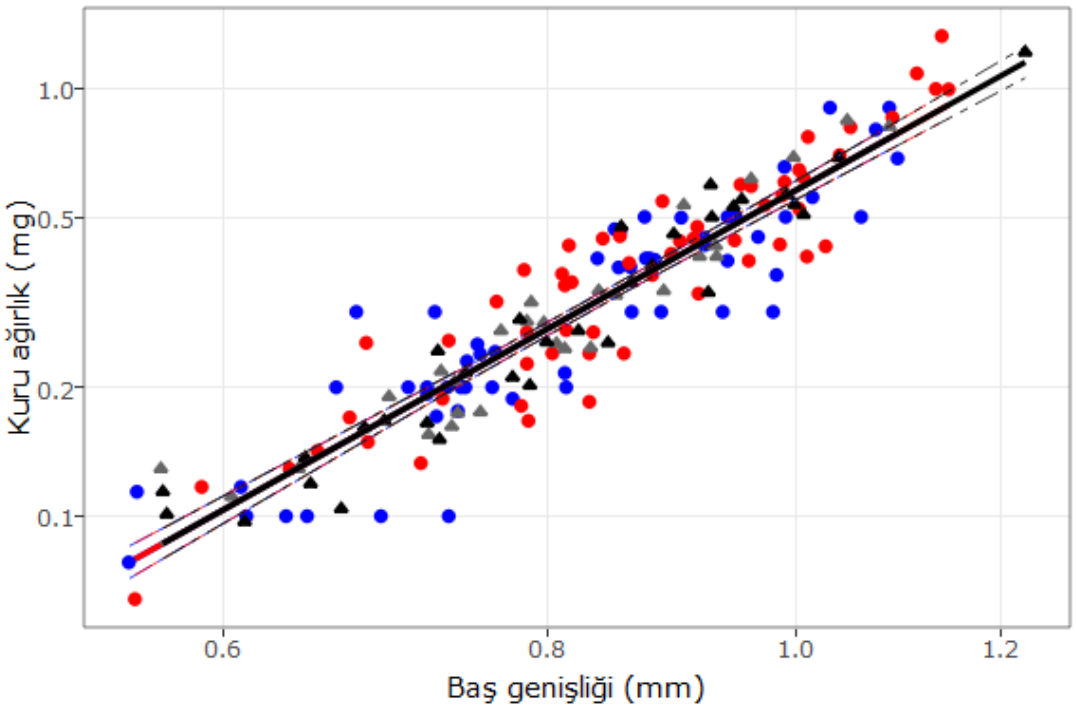
*C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri arasındaki korelasyonun çok yüksek olduğu tespit edilmiştir ($r^2 > 0{,}87$). Baş genişliği ve kuru ağırlık arasındaki allometrinin deneysel koşullardan bağımsız olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.7). Ancak, nispi protein içeriği ve diğer iki vücut ölçüsü (baş genişliği ve kuru ağırlık) arasındaki ilişki, aklimasyon

sıcaklığından ve oksijen konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilenmiştir. 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların her birim baş genişliği için protein içeriğinin, 4 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvalarınkiyle karşılaştırıldığında, anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Normoksik koşullar altındaki larvaların protein içeriği, hipoksik koşullardaki larvalarınkiyle karşılaştırıldığında aynı ilişki gözlemlenmektedir (Şekil 4.8). Aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonu, kuru ağırlık ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi, baş genişliği ve protein içeriği arasındakine benzer olarak etkilemiştir. Fakat kuru ağırlık ve protein içeriği arasındaki ilişkideki farklılık sadece daha küçük larvalarda belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir (Şekil 4.9, Tablo 4.4).

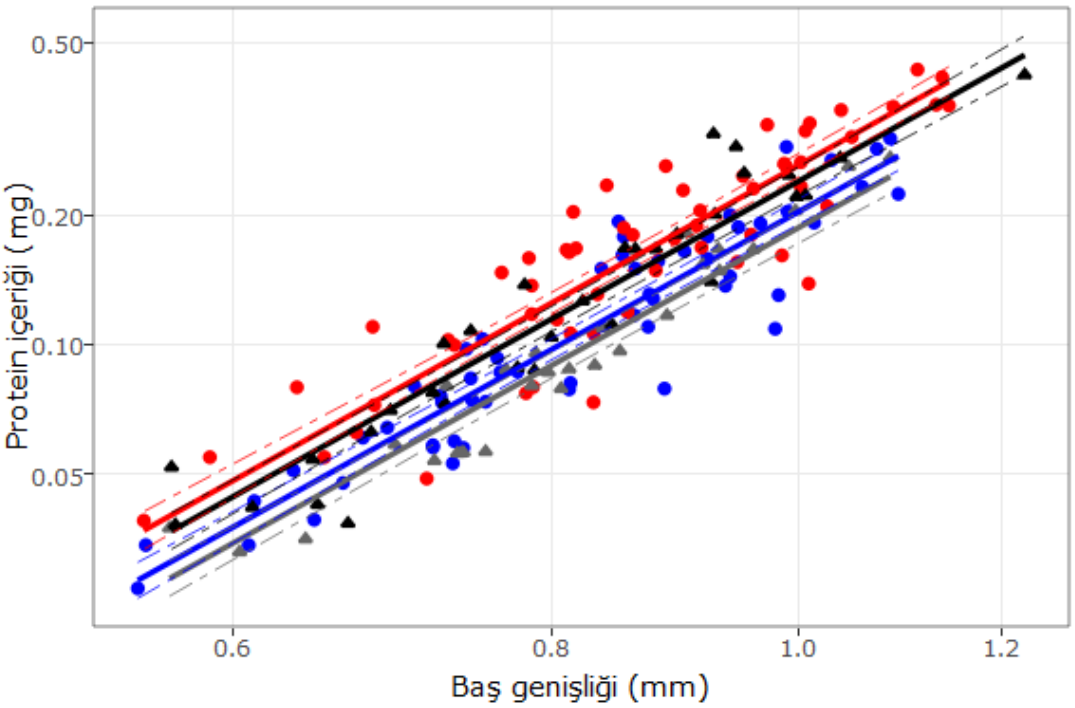
**Tablo 4.4:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri arasındaki ilişkinin lineer regresyon analiziyle belirlenmesi[1]. Anlamlı bulunan parametre değerleri ($P < 0,05$) koyu yazı karakteri ile yazılmıştır.

| **Bağımsız değişkenler** | **ortalama±SE** | ***T*** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Kuru ağırlık – Baş genişliği | | | |
| Kesme noktası[2] | **-0,55±0,03** | -21,6 | $< 10^{-4}$ |
| Baş genişliği | **3,36±0,10** | 33,7 | $< 10^{-4}$ |
| Protein içeriği – Baş genişliği | | | |
| Kesme noktası[2] | **-1,59±0,03** | -48,0 | $< 10^{-4}$ |
| Aklimasyon sıcaklığı[3] | **0,25±0,03** | 7,3 | $< 10^{-4}$ |
| Hipoksi[4] | **-0,09±0,04** | -2,4 | 0,02 |
| Baş genişliği | **3,30±0,10** | 33,0 | $< 10^{-4}$ |
| Protein içeriği – Kuru ağırlık | | | |
| Kesme noktası[2] | **-1,13±0,04** | -31,3 | $< 10^{-4}$ |
| Aklimasyon sıcaklığı[3] | **0,24±0,03** | 9,5 | $< 10^{-4}$ |
| Hipoksi[4] | 0,04±0,06 | 0,6 | 0,53 |
| Kuru ağırlık | **0,91±0,03** | 36,5 | $< 10^{-4}$ |
| Hipoksi[4] × Kuru ağırlık | **0,10±0,04** | 2,4 | 0,02 |

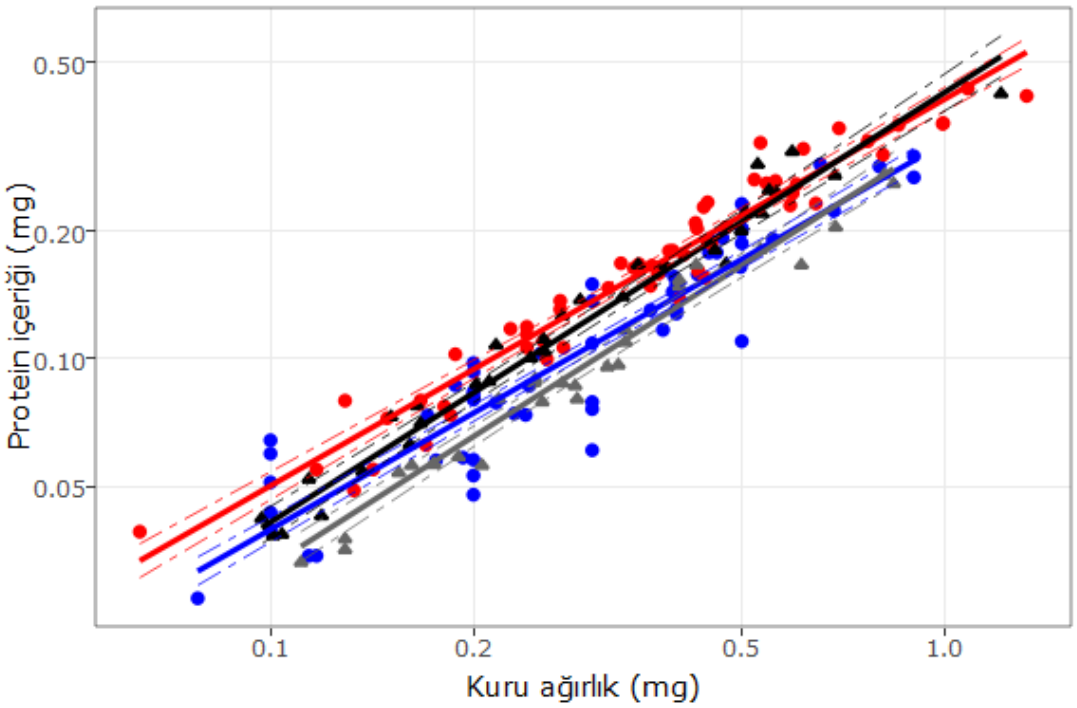
[1]Deneyin 75. ve 88. günleri arasında ölçümleri yapılan bireylere ait veri seti kullanılmıştır.
[2]Kesme noktası: normoksik koşullarda 4 °C aklimasyon sıcaklığı.
[3]Aklimasyon sıcaklığı: 4 °C ve 10 °C arasındaki fark.
[4] Hipoksi: normoksik ve hipoksik koşullar arasındaki fark.




**Şekil 4.7:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığı (mg) ve baş genişliği (mm) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir.




**Şekil 4.8:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının protein içeriği (mg) ve baş genişliği (mm) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir.




**Şekil 4.9:** Farklı aklimasyon sıcaklıklarında ve oksijen konsantrasyonları şartlarında bulunan *C. dipterum* larvasının protein içeriği (mg) ve kuru ağırlığı (mg) arasındaki ilişki. Semboller Şekil 4.4'te verildiği gibidir.

# 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, küresel iklim değişikliğinden kaynaklı sıcaklık artışının (Flato ve diğ., 2013) ve hipoksik koşulların kış mevsimi şartlarında sucul omurgasızları nasıl etkilediğini daha iyi anlayabilmek amacıyla kış mevsiminde artan sıcaklığın ve hipoksinin mayıs sineği *Cloeon dipterum* larvası üzerindeki fenotipik etkileri incelenmiştir.

Ektoterm canlılarda ortam sıcaklığı, bireylerin hayatta kalma oranını ve dolayısıyla populasyon büyüklüğünü etkilemektedir. Ektotermlerin yumurtadan erginliğe kadar hayatta kalma oranı termal toleranslarına bağlıdır. Hayatta kalma oranı ve sıcaklık arasındaki ilişkinin eğrisi genel olarak tek bir şekildedir: hayatta kalma oranı önce sıcaklık arttıkça keskin bir şekilde orta sıcaklıklara kadar artar daha sonra neredeyse sabitlenerek devam eder ve yeniden ani bir şekilde düşer. Hayatta kalma oranı ve sıcaklık arasındaki ilişkinin eğrisi türün hassasiyetine bağlı olarak simetrik, sola-çarpık veya sağa çarpık olabilir (Angilletta, 2009; de Jong, 2010).

Artan sıcaklıkların larvaların hayatta kalma oranı üzerine etkisi ile ilgili bugüne kadar yapılan çalışmaların neredeyse tamamı, yaz mevsimi koşullarındaki etkisine odaklanmıştır. Örneğin; artan yaz mevisimi sıcaklıkları, cladocera (Folt ve diğ., 1999), Odonata grubundan *Erythemis collocata* ve *Pachydiplax longipennis* (Chavez ve diğ., 2015) larvalarının hayatta kalma oranının düşmesine neden olmuştur. Bu durum kış mevsimi koşullarındaki artan sıcaklıklar, larvaların optimum sıcaklığına yaklaşması durumunda, tam tersi bir etkiye neden olabilir. Ancak, McCauley ve diğ. (2014) kış ve bahar mevsimi koşullarında *Pachydiplax longipennis* larvaları ile yaptığı bir çalışmada hayatta kalma oranı ve sıcaklık arasında benzer bir ilişki rapor etmiştir: kış ve bahar mevsimleri süresince çevre sıcaklığının 5 °C üzerinde yetiştirilen larvaların hayatta kalma oranı, çevre sıcaklığındaki ve çevre sıcaklığının 2.5 °C üzerinde olan larvalarınkine göre daha düşüktür. Fakat çevre sıcaklığındaki ve çevre sıcaklığının 2.5 °C üzerindeki larvaların hayatta kalma oranı, anlamlı bir şekilde fark oluşturmamıştır.

Besin elverişliliği, hayatta kalma oranını etkileyen önemli diğer bir faktördür. *C. dipterum* larvası da dahil bir çok ektodermin hayatta kalma oranı, besin kaynağının azalmasıyla düşmektedir (Šupina ve diğ., 2015). Buna karşın yüksek ve düşük besin kaynağı, iki yusufçuk türünün (*Erythemis collocata* ve *Pachydiplax longipennis*) larvalarının hayatta kalma oranları üzerinde bir etkiye sahip değildir (Chavez ve diğ., 2015). Bu çalışmada, deneyin ilk bölümünde sınırlı besin kaynağıyla beslenen *C. dipterum* larvalarının hayatta kalma oranının 10 °C sıcaklıkta, 4 °C sıcaklıktaki larvaların hayatta kalma oranıyla karşılaştırıldığında yaklaşık 40. günden sonra çok daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). Bunun nedeni; kuvvetle muhtemel 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların daha yüksek metabolizma hızına sahip olmaları nedeniyle besin rezervlerini tamamen tüketmiş olmalarıdır. Besin kaynağı artırıldıktan sonra (deneyin 68. günü) 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki *C. dipterum* larvaların hayatta kalma oranı, muhtemelen besin yetersizliğinin devam eden etkisi nedeniyle deneyin 88. gününe kadar azalmaya devam etmiştir. Daha sonra bu durum tersine dönmüştür: 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların hayatta kalma oranı, 4 °C aklimasyon sıcaklığındakinden çok daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki besin yetersizliğine en iyi şekilde uyum sağlayan bireylerin hayatta kalması bu duruma yol açmış olabilir. Kış mevsiminde sıcaklık rejimlerinin ve besin elverişliliğinin sucul böcek larvalarına birlikte etkisini bütünüyle anlayabilmek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Böcekler de dahil olmak üzere çoğu suda yaşayan hayvanlar için oksijen yaygın olarak bilinen ve önemli bir stres faktörüdür (Dodds, 2002). Hipoksik koşullar altında yüksek mortalite oranı, kopepodlar (Richmond ve diğ., 2006), amphipodlar (Kolar ve Rahel, 1993), mayıs sinekleri ve diğer sucul böcekler de (Nebeker, 1972; Gaufin ve diğ., 1974; Kolar ve Rahel, 1993; Winter ve diğ., 1996; Connolly ve diğ., 2004) dahil olmak üzere birçok sucul omurgasızlar üzerine yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda da, 4 °C aklimasyon sıcaklığındaki hipoksik koşullar altındaki *C. dipterum* larvasının mortalite oranı, normoksik koşullardakinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada hem aklimasyon hem de akut sıcaklığın ve çözünmüş oksijen konsantrasyonunun *C. dipterum* larvasının metabolizma hızına önemli düzeyde etkisinin bulunduğu tespit edilmiştir. Normoksik koşullar altında larvaların metabolizma hızı,

teorik olarak hesaplandığı (Brown ve diğ., 2004) ve diğer sucul böceklerle yapılan çalışmalarda gözlemlendiği gibi (Brodersen ve diğ., 2008; Sentis ve diğ., 2015), 10 °C sıcaklıkta 4 °C sıcaklıktan daha yüksektir. Ancak bu çalışmanın dikkat çekici bir sonucu; larvaların metabolizma hızının aklimasyon sıcaklığının etkisiyle de artmış olmasıdır. Bir cırcır böceği türü olan *Acheta domesticus* ile yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir (Lachenicht ve diğ., 2010): metabolizma hızı, her iki aklimasyon ve akut sıcalıkla da artış göstermiştir ve akut sıcaklığın etkisi bu çalışmada da olduğu gibi daha fazladır. Aksine, yapılan diğer çalışmalarda; test sıcaklığının metabolizma hızını arttırdığı, ancak aklimasyon sıcaklığının etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Sentis ve diğ., 2015; Chown ve diğ., 2015). Buna ek olarak, sivrisinek (*Culex pipiens pipiens*) ve çeçe sineği (*Glossina morsitans morsitans*) larvaları ile yapılan çalışmalarda metabolizma hızının, kuvvetle muhtemel sıcaklık kompenzasyonu nedeniyle yüksek aklimasyon sıcaklığıyla düştüğü tespit edilmiştir (Buffington, 1969; Terblanche ve diğ., 2005).

Organizma oksijen ihtiyacını karşılayamayacağı için hipoksik koşullar özellikle yüksek sıcaklıklarda, önemli düzeyde zarar verici olabilir. Bu çalışmada her iki aklimasyon sıcaklığında da *C. dipterum* larvasının metabolizma hızı, hipoksik koşullar altında normoksik koşullarınkinden daha düşüktür. Fox (1937) tarafından yapılan bir çalışmada; *C. dipterum* larvalarının oksijen tüketiminin, çözünmüş oksijenin kritik eşik konsantrasyonuna kadar neredeyse sabit olduğu ve kritik eşik değerinin altında ani bir şekilde düştüğü gözlemlenirken, diğer mayıs sineği larvalarının (*Baetis* sp., *Baetis scambus, Ephemera vulgata, Leptophlebia marginata*) metabolizma hızının, çözünmüş oksijen konsantrayonuyla arttığı tespit edilmiştir. Farklı türler için metabolizma hızının çözünmüş oksijen konsantrasyonuyla farklı ilişkileri gözlemlenmiştir: Cricotopus larvasının metabolizma hızı, oksijen konsantrasyonunun azalmasıyla birlikte azalırken, Micropsectra larvasının metabolizma hızı, azalan oksijen elverişliliği ile kritik bir değere kadar artmıştır. *C. dipterum* larvasında gözlemlendiği gibi (Fox, 1937) *Chironomus hyperboreus* larvasının metabolizma hızı, oksijen konsantrasyonunun kritik bir değerine kadar neredeyse sabit kalırken, kritik değerin aşağısında ani bir şekilde düşmüştür (Brodersen ve diğ., 2008). *C. dipterum* larvası gibi çözünmüş oksijenin kritik eşik konsantrasyon değerine sahip olan tüm türler için bu durum kritik eşik değerine kadar avantaj oluştururken çözünmüş oksijen konsantrasyonu kritik eşik değerinin altına

indiğinde aniden düşen metabolizma hızı nedeniyle larvalar için önemli düzeyde bir stres faktörü oluşturabilir.

Bu çalışmada *C. dipterum* larvasının kütleye özgü metabolizma hızı, tahmin edildiği gibi (Brown ve diğ., 2004) vücut ölçüsüyle azalmıştır, fakat allometri, gruplar arasında farklılık göstermiştir. Her iki aklimasyon sıcaklığında da kütleye özgü metabolizma hızı allometrisine ait eğimler, teorik olarak tahmin edilen –0,25 değerine oldukça yakındır. Yüksek aklimasyon sıcaklığındaki (10°C) allometri eğimi, düşük aklimasyon sıcaklığındakinden (4 °C) daha sığdır. Sıcaklığın allometri eğimine farklı bir etkisi, 10 °C (allometri eğimi: –0,34) ve 20 °C (allometri eğimi: –0,48) sıcaklıklarda test edilen chironomid larvasıyla yapılan bir çalışmada gözlemlenmiştir (Brodersen ve diğ., 2008). Diğer taraftan, hipoksik koşullar altında 4 °C aklimasyon sıcaklığındaki *C. dipterum* larvasının allometri eğimi (–0,72±0,10), dramatik bir şekilde düşmüştür ve teorik allometri değerinden (–0,25) önemli derecede farklıdır. Ancak, hipoksik koşullar altında 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki allometri eğimi (–0,10±0,08), oldukça sığdır. Hipoksik koşullar altında 4 °C aklimasyon sıcaklığında kütleye özgü metabolizma hızının ölçeklenmesi, daha fazla yüzey/hacim oranına sahip daha küçük larvaların daha fazla oksijen alım yetenekleri nedeniyle artmış olabilir. Bu çalışmada hipoksi gruplarında uygulanan oksijen konsantrasyonu, *C. dipterum* larvası için tespit edilen çözünmüş oksijenin kritik eşik konsantrasyon değerine (~1,9 mg $O_2.L^{-1}$) benzerdir (Fox, 1937). Hipoksik koşullar altında 10 °C aklimasyon sıcaklığında daha küçük larvaların metabolizma hızları, 4 °C aklimasyon sıcaklığınkinden daha değişkendir. Bunun nedeni; yüksek sıcaklıklarda artan oksijen ihtiyacı ve bunun sonucu olarak stresin de artmasıyla, oksijenin kritik eşik konsantrasyonunda, 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvaların tepkilerinin daha fazla değişkenlik göstermiş olması olabilir.

Küresel iklim değişikliği, bireylerin biyokimyasal ve fizyolojik tepkilerindeki değişiklikler nedeniyle büyümelerini, gelişmelerini ve vücut ölçülerini etkilemektedir. Büyüme oranı, sınırsız besin kaynağı koşullarında sıcaklık arttıkça optimum bir noktaya kadar artış gösterir ve daha sonra hızlı bir şekilde düşer ve sonucunda asimetrik bir büyüme oranı eğrisi oluşturur. Bununla beraber, artan sıcaklıklarla metabolik ihtiyaçların da artması nedeniyle büyüme oranının optimum sıcaklığı, besin kaynakları sınırlandığında düşmektedir (Angilletta, 2009). Bu durum, bu çalışmada yüksek

aklimasyon sıcaklığının *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığını ve baş genişliğini neden etkilemediğinin açıklaması olabilir. 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki larvalar için deneyin ilk bölümünde besin kaynağı kuvvetle muhtemel yetersiz gelmiştir ve deney sırasında gözlemlenen daha yüksek beslenme aktivitesiyle elde edilen enerjinin tümü, artan bazal metabolizma tüketimi için kullanılmıştır. Bu nedenle, kuvvetle muhtemel yüksek aklimasyon sıcaklığının büyüme üzerine pozitif etkisi, besin kaynağı sınırlamasının negatif etkisiyle nötrlenmiştir.

Bu deneyde; oksijen konsantrasyonu da, *C. dipterum* larvasının kuru ağırlığını ve baş genişiliğini anlamlı bir şekilde etkilememiştir. Artan sıcaklıklar ektotermlerin metabolizma hızını artırdığı için oksijen elverişliliğinin, sıcak koşullar altında sınırlayıcı olma olasılığı daha yüksektir (Verberk ve Bilton, 2011) ve sıcaklık arttıkça sucul ektotermlerin oksijen ihtiyacı, sudaki oksijen miktarından çok daha hızlı bir şekilde artmaktadır (Angilletta, 2009; Verberk ve diğ., 2011). Hipoksik koşullar altındaki *C. dipterum* larvasının metabolizma hızı, normoksik koşullardakinden daha düşük olduğu için hipoksik koşullar altındaki larvaların büyüme oranını sınırlayan asıl faktörün sınırlı besin kaynağı olmadığı varsayılabilir. Onun yerine, hipoksik koşullar altında Richmond ve diğ. (2006)'nin kopepod *Acartia tonsa* ile yaptığı çalışmanın sonucuna benzer olarak sınırlı oksijen kaynağı, *C. dipterum* larvasının büyüme performansını sınırlamış olabilir. Ancak, deneyde kullanılan düşük sıcaklıklarda hipoksik koşulları test etme süresinin (bir hafta), hipoksinin *C. dipterum* larvasının büyümesine etkisini ortaya çıkarabilmek için yetersiz olma ihtimalini de göz önünde bulundurmak gerekmektedir.

Ancak aklimasyon sıcaklığı ve oksijen konsantrasyonu, *C. dipterum* larvasının nispi protein içeriğini anlamlı bir şekilde etkilemiştir. Protein, büyüme ve üreme için gereklidir (Nation, 2008). Amino asit-lipit metabolizması arasında daha önceki yapılan çalışmalarda gözlemlenen dengeleyici etkileri, türlerin yayılması ve üremesi arasındaki takas ilkesiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Zera ve Zhao, 2006; Zhao ve Zera, 2006). McCue ve diğ. (2015) karasal böceklerle (*Gromphadorhina portentosa*, *Romalea microptera*, *Acheta domesticus*, *Zophobis morio* ve *Manduca sexta*) yaptığı bir çalışmada açlık başlangıcında tüm türlerin enerji için öncelikli olarak lipit kaynaklarını kullandıklarını ancak bu durumun daha sonrasında türe-özgü olarak farklılık gösterdiğini saptamışlardır. İki böcek türünün larvası (*Zophobis morio* ve *Manduca sexta*), diğer türlerin erginleriyle

karşılaştırıldığında (*Gromphadorhina portentosa*, *Romalea microptera* ve *Acheta domesticus*) açlık sırasında enerji kazanımı için protein kaynaklarını çok daha az kullandıkları gözlemlenmiştir. Bu durum, larvaların büyümeye devam edebilmek için ihtiyaçları olan proteinin, mekanik olarak başka amaç için kullanımından mümkün olduğunca kaçındıklarını düşündürmektedir. Türler, büyük bir olasılıkla bulundukları yaşam evresinin gerekliliklerine bağlı olarak protein veya lipit kullanımından kaçınmaktadırlar. Bu fenomen, yüksek aklimasyon sıcaklığındaki *C. dipterum* larvasının neden daha fazla nispi protein oranına sahip olduğunu açıklayabilir. Diğer bir açıklama ise, yüksek nispi protein içeriği, 10 °C aklimasyon sıcaklığındaki hayatta kalan larvaların gözden kaçan çürümüş ölü bireylerle beslenmesi sonucu ortaya çıkmış olabilir.

*C. dipterum* larvasının farklı vücut ölçüleri arasındaki korelasyonun çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. Baş genişliği ve kuru ağırlık arasındaki allometri, aklimasyon sıcaklığından ve çözünmüş oksijen konsantrasyonundan etkilenmemiştir. Ancak, protein içeriği ve diğer iki vücut ölçüsü (baş genişliği ve kuru ağırlık) arasındaki ilişki aklimasyon sıcaklığıyla ve çözünmüş oksijen konsantrayonu ile değişmiştir. Bu sonuç, standart olarak yapılan vücut ölçüsü ölçümlerinin, değişen çevresel koşullardan kaynaklanan bireylerin fenotipik değişimine doğru bir bakış açısı sağlamayabileceğini göstermektedir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar kış mevsiminde tatlı su omurgasızlarının özellikle değişen sıcaklık rejimleri gibi çevresel değişikliklere verdikleri fenotipik tepkilerini tam olarak anlamamızda yeterli olmamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma göstermektedir ki kış mevsimi sıcaklıklarındaki değişiklikler ve çözünmüş oksijen konsantrasyonu, tatlı su omurgasızlarının bireysel uygunluklarının altında yatan temel özelliklerini etkileyebilir. Termal aklimasyon ve oksijen elverişliliği, kış uykusuna girmeyen mayıs sineği larvalarının metabolizma hızını, hayatta kalma oranını ve vücut ölçülerini önemli düzeyde etkilemiştir. Kış mevsimi koşullarında değişen çevresel koşulların, tatlı su omurgasızlarının bireysel uyumluluğunu ve popülasyon dinamiklerini nasıl etkilediğini tamamen anlayabilmek için bu çalışmaya ek olarak daha fazla laboratuvar deneylerine ve arazi gözlemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

# KAYNAKLAR


Angilletta, M.J., 2009, *Thermal Adaptaion A Theoretical and Empirical Synthesis*, 1st ed., New York, Press. ISBN: 978–0–19–857087–5 978–0–19–857088–2.

Angilletta, M.J., Niewiarowski, P.H. and Navas, C.A., 2002, The evolution of thermal physiology in ectotherms, *Journal of Thermal Biology*, 27, 249–268.

Araujo, M.B., Thuiller, W. and Pearson, R.G., 2006, Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe, *Journal of Biogeography*, 33, 1712–1728.

Berteaux, D., Reale, D., McAdam, A.G., and Boutin, S., 2004, Keeping pace with fast climate change: can arctic life count on evolution?, *Integrative and comparative biology*, 44, 140–151.

Boukal, D.S., Ditrich, T., Kutcherov, D., Sroka, P., Dudova, P., and Papacek, M., 2015, Analyses of developmental rate isomorphy in ectotherms : introducing the dirichlet regression, *PLoS ONE*, 10(6), 1–16.

Brittain, J.E., 2008, Mayflies, biodiversity and climate change, *International advances in the ecology, zoogeography and systematics of mayflies and stoneflies*, 128, 1–14.

Brodersen, K.P., Pedersen, O., Walker, I.R., and Jensen, M.T., 2008, Respiration of midges (Diptera; Chironomidae) in British Columbian lakes: oxyregulation, temperature and their role as palaeo-indicators, *Freshwater Biology*, 53(3), 593–602.

Brown, D.S., 1961, The food of the larvae of Chloeon dipterum L. and Baetis rhodani (Pictet) (Insecta, Ephemeroptera), *Journal of Animal Ecology*, 30(1), 55–75.

Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., and West, G.B., 2004, Toward a metabolic theory of ecology, *Ecology*, 85(7), 1771–1789.

Buffington, J.D., 1969, Temperature acclimation of respiration in Culex pipiens pipiens (Diptera: Culicidae) and the influence of seasonal selection. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 30, 865–878.

Burnham, K.P. and Anderson, D.R., 2003, Model Selection and Multimodel Inference: a Practical Information-Theoretic Approach, *Springer Science and Business Media*.

Cabanita, R. and Atkinson, D., 2006, Seasonal time constraints do not explain exceptions to the temperature size rule in ectotherms, *Oikos*, 114(3), 431–440.

Camp, A., Funk, D. and Buchwalter, D., 2014, A stressful shortness of breath: molting disrupts breathing in the mayfly *Cloeon dipterum*, *Freshwater Science*, 33(3), 695–699.

Carbonell, J.A., Bilton, D.T., Calosi, P., Millan, A., Stewart, A., and Velasco, J., 2016, Metabolic and reproductive plasticity of core and marginal populations of the eurythermic saline water bug Sigara selecta (Hemiptera: Corixidae) in a climate change context, *Journal of Insect Physiology*, 98, 59–66.

Carmona-Osalde, C., Rodriguez-Serna, M., Olvera-Novoa, M.A., and Gutierrez-Yurrita, P.Y., 2004, Gonadal development, spawning, growth and survival of the crayfish Procambarus llamasi at three different water temperatures, *Aquaculture*, 232(1–4), 305–316.

Chavez, M.Y., Mabry, K.E., McCauley, S.J., and Hammond, J.I., 2015, Differential larval responses of two ecologically similar insects ( Odonata ) to temperature and resource variation, *International Journal of Odonatology*, 18(4), 297–304.

Chown, S.L., Haupt, T.M. and Sinclair, B.J., 2015, Similar metabolic rate-temperature relationships after acclimation at constant and fluctuating temperatures in caterpillars of a sub-Antarctic moth, *Journal of Insect Physiology*, 85, 10–16.

Cianciara, S., 1979, Life cycles of *Cloeon dipterum* (L.) in natural environment, *Polskie archiwum hydrobilogii*, 26(4), 501–513.

Cianciara, S., 1980a, Food preference of *Cloeon dipterum* (L) larvae and dependence of their development and growth on the type of food, *Polskie archiwum hydrobilogii*, 27(1), 143–160.

Cianciara, S., 1980b, Stages and physiological periods in the development of *Cloeon dipterum* (L.) (Baetidae), *Advances in Ephemeroptera Biology*, Springer US, 265–276.

Clifford, H.F., 1982, Life cycles of mayflies (Ephemeroptera), with special reference to voltinism, *Quaestiones Entomologicae*, 18, 15–90.

Connolly, N.M., Crossland, M.R. and Pearson, R.G., 2004, Effect of low dissolved oxygen on survival, emergence, and drift of tropical stream macroinvertebrates, *Journal of the North American Benthological Society*, 23(2), 251–270.

Daufresne, M., Lengfellner, K. and Sommer, U., 2009, Global warming benefits the small in aquatic ecosystems, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12788–12793.

DeWitt, T.J., Sih, A. and Wilson, D.S., 1998, Costs and limits of phenotypic plasticity, *Trends in Ecology and Evolution*, 13(2), 77–81.

Dodds, W.K., 2002, *Freshwater ecology: concepts and environmental applications*, 1st ed., California, USA, ISBN: 0-12-219135-8.

Edmunds, G.F., Jensen, S.L. and Berner, L., 1976, *The mayflies of north and central America*, 1st ed., Ontario, ISBN: 0-8166-0759-1.

Flato, G., Marotzke, J., Abiodun, B., Braconnot, P., Chou, S.C., Collins, W.J., Cox, P., Driouech, F., Emori, S., Eyring, V. and Forest, C., 2013, Evaluation of climate models, *Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*, Cambridge, United Kingdom and New York, USA, Cambridge University Press, 741–866.

Folt, C.L., Chen, C.Y., Moore, M.V., and Burnaford, J., 1999, Synergism and antagonism amond multiple stressors, *Limnology and Oceanography*, 44(3), 864–877.

Forster, J., Hirst, A.G., and Woodward, G., 2011, Growth and development rates have different thermal responses, *The American Naturalist*, 178(5), 668–678.

Forster, J., Hirst, A.G., and Atkinson, D., 2012, Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 19310–19314.

Fox, H.M., 1937, The oxygen consumption of ephemerid nymphs from flowing and from still waters in relation to the concentration of oxygen in the water, *Journal of Experimental Biology*, 210–218.

Frison, T.H., 1929, Fall and winter stoneflies, or plecoptera, of Illinois, *Illinois Natural History Survey Bulletin*, Illinois, 345–409.

Fussmann, K.E., Schwarzmüller, F., Brose, U., Jousset, A., and Rall, B.C., 2014, Ecological stability in response to warming, *Nature Climate Change*, 4, 206–210.

Gaufin, A.R., Clubb, R. and Newell, R., 1974, Studies on the tolerance of aquatic insects to low oxygen concentrations, *The Great Basin Naturalist*, 45-49.

Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M., and Charnov, E.L., 2001, Effects of size and temperature on metabolic rate, *Science*, 293, 2248–2251.

Griggs, D.J. and Noguer, M., 2001. Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change, *Intergovernmental panel on climate change*, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press.

Hammond, K.S., Hollows, J.W., Townsend, C.R., and Lokman, P.M., 2006, Effects of temperature and water calcium concentration on growth, survival and moulting of freshwater crayfish, Paranephrops zealandicus, *Aquaculture*, 251(2–4), 271–279.

Hampton, S.E., Galloway, A.W., Powers, S.M., Ozersky, T., Woo, K.H., Batt, R.D., Labou, S.G., O'Reilly, C.M., Sharma, S., Lottig, N.R. and Stanley, E.H, 2016, Ecology under lake ice, *Ecology Letters*, 20(1), 98-111.

Hawkins, A.J.S., 1995, Effects of temperature change on ectotherm metabolism and evolution: metabolic and physiological interrelations underlying the superiority of multi-locus heterozygotes in heterogeneous environments, *Journal of Thermal Biology*, 20(l), 23–33.

Huey, R.B. and Kingsolver, J.G., 2011, Variation in universal temperature dependence of biological rates, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(26), 10377–10378.

Iles, A.C., 2014, Toward predicting community-level effects of climate : relative temperature scaling of metabolic and ingestion rates, *Ecology*, 95(9), 2657–2668.

de Jong, G., 2010, A biophysical interpretation of temperature-dependent body size in Drosophila aldrichi and D. Buzzatii, *Journal of Thermal Biology*, 35(2), 85–99.

Kolar, C.S. and Rahel, F.J., 1993, Interaction of a biotic factor ( predator presence ) and an abiotic factor ( low oxygen ) as an Influence on benthic invertebrate communities, *International Association for Ecology*, 95(2), 210–219.

Košťál, V. and Šimek, P., 1995, Dynamics of cold hardiness, supercooling and cryoprotectants in diapausing and non-diapausing pupae of the cabbage root fly, Delia radicum L., *Journal of Insect Physiology*, 41(7), 627–634.

Lachenicht, M.W., Clusella-Trullas, S., Boardman, L., Rous, C.L., and Terblanche, J.S., 2010, Effects of acclimation temperature on thermal tolerance, locomotion performance and respiratory metabolism in Acheta domesticus L. (Orthoptera: Gryllidae), *Journal of Insect Physiology*, 56(7), 822–830.

Lencioni, V., 2004, Survival strategies of freshwater insects in cold environments, *Journal of Limnology*, 63, 45–55.

McCauley, S.J., Hammond, J.I., Frances, D.N., and Mabry, K.E., 2014, Effects of experimental warming on survival, phenology, and morphology of an aquatic insect (Odonata), *Ecological Entomology*, 40(3), 211–220.

McCue, M.D., Guzman, R.M., Passement, C.A., and Davidowitz, G., 2015, How and when do insects rely on endogenous protein and lipid resources during lethal bouts of starvation? A new application for 13C-breath testing, *PLoS ONE*, 10(10), 1–18.

McKee, D. and Atkinson, D., 2000, The influence of climate change scenarios on populations of the mayfly *Cloeon dipterum*, *Hydrobiologia*, 441, 55–62.

Meade, M.E., Doeller, J.E., Kraus, D.W., and Watts, S.A., 2002, Effects of temperature and salinity on weight gain, oxygen consumption rate, and growth efficiency in juvenile red-claw crayfish Cherax quadricarinatus, *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(2), 188–198.

Meyer, J.L., Sale, M.J., Mulholland, P.J., and Poff, N.L., 1999, Impacts of climate change on aquatic ecosystem functioning and health, *Journal of the American Water Resources Association*, 35(6), 1373–1386.

Nagell, B., 1980, Overwintering strategy of *Cloeon dipterum* (L.) larvae, Advances in Ephemeroptera biology, *Springer US*, 259–264.

Nation, J.L., 2008, *Insect physiology and Biochemistry*, 2.nd ed., Gainesville, Florida, U.S.A., ISBN: 978-1-4200-6177-2.

Nebeker, A.V., 1971, Effect of high winter water temperatures on adult emergence of aquatic insects, *Water Research*, 5(9), 777–783.

Nebeker, A. V., 1972. Effect of low oxygen concentration on survival and emergence of aquatic insects, *Transactions of the American Fisheries Society*, 101(4), 675–679.

Parmesan, C., 2006, Ecological and evolutionary responses to recent climate change, *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 37, 637–669.

Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J.P.W., Fernandez-Manjarrés, J.F., Araújo, M.B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W.W. L., Chini, L., Cooper, H.D., Gilman, E.L., Guénette, S., Hurtt, G.C., Huntington, H.P., Mace, G.M., Oberdorff, T., Revenga, C., Rodrigues, P., Scholes, R.J., Sumaila, U. R., Walpole, M., 2010, Scenarios for global biodiversity in the 21st century, *Science*, 330(6010), 1496–1501.

Pigliucci, M., 2001, *Phenotypic Plasticity Beyond Nature and Nurture*, 1.st ed., Baltimore, The Johns Hopkins University Press. ISBN: 0-8018-6788-6.

Poff, N.L., Brinson, M.M. and Day, J.W., 2002, Aquatic ecosystems and global climate change, *Pew Center on Global Climate Change*, Arlington, VA, 44.

Quintero, I. and Wiens, J.J., 2013, Rates of projected climate change dramatically exceed past rates of climatic niche evolution among vertebrate species, *Ecology Letters*, 16(8), 1095–1103.

R Core Team, 2016, R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rahel, F.J. and Olden, J.D., 2008, Assessing the effects of climate change on aquatic invasive species, *Conservation Biology*, 22(3), 521–533.

Rall, B.C., Vucic-Pestic, O., Ehnes, R.B., Emmerson, M., and Brose, U., 2010, Temperature, predator-prey interaction strength and population stability, *Global Change Biology*, 16(8), 2145–2157.

Richmond, C., Marcus, N.H., Sedlacek, C., Miller, G.A., and Oppert, C., 2006, Hypoxia and seasonal temperature : short-term effects and long-term implications for Acartia tonsa dana, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 328, 177–196.

Sentis, A., Hemptinne, J.-L. and Brodeur, J., 2017, Non-additive effects of simulated heat waves and predators on prey phenotype and transgenerational phenotypic plasticity, *Global Change Biology*, 1–11.

Sentis, A., Morisson, J. and Boukal, D.S., 2015, Thermal acclimation modulates the impacts of temperature and enrichment on trophic interaction strengths and population dynamics, *Global Change Biology*, 21(9), 1–9.

Shurin, J.B., Clasen, J.L., Greig, H.S., Kratina, P., and Thompson, P.L., 2012, Warming shifts top-down and bottom-up control of pond food web structure and function, *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B*, 367(1605), 3008–3017.

Sibly, R.M., Brown, J.H. and Kodric-Brown, A., 2012,. *Metabolic ecology: a scaling approach*, 1st ed., West Sussex, UK, ISBN: 9780470671535.

Sinclair, B.J., 2015, Linking energetics and overwintering in temperate insects, *Journal of Thermal Biology*, 54, 5–11.

Smith, P.K. Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallıa, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujımoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., and Klenk, D.C., 1985, Measurement of protein using bicinchoninic acid, *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76–85.

Staub, V.R., 1961, Ernährungphysiologisch-autökologische Untersuchungen an den planktischen Blaualge Oscillatoria rubescens DC, *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, 23(1), 182–198.

Šupina, J., Bojková, J. and Boukal, D., 2015, Influence of food availability and predation risk on growth and maturation of *Cloeon dipterum* (Ephemeroptera: Baetidae). *XIV International Conference on Ephemeroptera and XVII International Symposium on Plecoptera 2015*, 64, 53–64.

Terblanche, J.S., Klok, C.J. and Chown, S.L., 2005, Temperature-dependence of metabolic rate in Glossina morsitans morsitans (Diptera, Glossinidae) does not vary with gender, age, feeding, pregnancy or acclimation, *Journal of Insect Physiology*, 51(8), 861-870.

Thornley, J.H.M. and Cannell, M.G.R., 1997, Temperate grassland responses to climate change : an analysis using the Hurley Pasture Model, *Annals of Botany*, 80, 205–221.

Verberk, W.C.E.P., Bilton, D.T., Calosi, P., and Spicer, J.I., 2011, Oxygen supply in aquatic ectotherms: partial pressure and solubility together explain biodiversity and size patterns, *Ecology*, 92(8), 1565–1572.

Verberk, W.C.E.P. and Bilton, D.T., 2011, Can Oxygen set thermal limits in an insect and drive gigantism?, *PLoS ONE*, 6(7).

Vernberg, W.B. and Vernberg, F.J., 1972, *Environmental Physiology of Marine Animals, Berlin*, 1st ed., Springer-Verlag, e-ISBN-13 :978-3-642-65334-6.

Vucic-Pestic, O., Ehnes, R.B., Rall, B.C., and Brose, U., 2011, Warming up the system : higher predator feeding rates but lower energetic efficiencies, *Global Change Biology*, 17, 1301–1310.

Walther, G.-R., Roques, A., Hulme, P.E., Sykes, M.T., Pysek, P., Kühn, I., Zobel, M., Bacher, S., Botta-Dukat, Z., Bugmann, H., Czucz, B., Dauber, J., Hickler, T., Jarosik, V., Kenis, M., Klotz, S., Minchin, D., Moora, M., Nentwig, W., Ott, J., Panov, V.E., Reineking, B., Robinet, C., Semenchenko, V., Solarz, W., Thuiller, W., Vila, M., Vohland, K., and Settele, J., 2009, Alien species in a warmer world: risks and opportunities, *Trends in Ecology and Evolution*, 24(12), 686–693.

Walther, G.-R., 2010, Community and ecosystem responses to recent climate change, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2019–2024.

Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O., and Bairlein, F., 2002, Ecological responses to recent climate change, *Nature*, 416(6879), 389–395.

Ward, J. V. and Stanford, J.A., 1982, Thermal responses in the evolution ecology of aquatic insects, *Annual Review of Entomology*, 27, 97–117.

Whitman, D.W. and Ananthakrishnan, T.N., 2009, *Phenotypic plasticity of insects: mechanisms and consequences*, 1st ed., New Hampshire, USA, ISBN: 978-1-57808-423-4.

Winter, A., Ciborowski, J.J.H. and Reynoldson, T.B., 1996, Effects of chronic hypoxia and reduced temperature on survival and growth of burrowing mayflies, (Hexagenia limbata) (Ephemeroptera: Ephemeridae), *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53, 1565–1571.

Witte, S., Buschbaum, C., Beusekom, J.E.E., and Reise, K., 2010, Does climatic warming explain why an introduced barnacle finally takes over after a lag of more than 50 years?, *Biological Invasions*, 12(10), 3579–3589.

Woodward, G., Perkins, D.M. and Brown, L.E., 2010, Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2093–2106.

Wrona, F.J., Prowse, T.D., Reist, J.D., Hobbie, J.E., Levesque, L.M.J., and Vincent, W.F., 2006, Climate impacts on arctic freshwater ecosystems and fisheries : background , rationale and approach of the arctic climate impact assessment, *A Journal of the Human Environment*, 35(7), 326–329.

Zera, A.J. and Zhao, Z., 2006, Intermediary metabolism and life-history trade-offs: differential metabolism of amino acids underlies the dispersal-teproduction trade-off in a wing-polymorphic cricket, *The American Naturalist*, 167(6), 889–900.

Zhao, Z. and Zera, A.J., 2006, Biochemical basis of specialization for dispersal vs. reproduction in a wing-polymorphic cricket: morph-specific metabolism of amino acids, *Journal of Insect Physiology*, 52(6), 646–658.

# EKLER

**EK 1.** Hayatta kalma analizi için hipoksik koşullara yerleştirilen birey sayısı (*N*).

| Gün | N |
|---|---|
| 102 | 20 |
| 103 | 20 |
| 104 | 19 |
| 105 | 20 |
| 107 | 20 |
| 108 | 20 |
| 109 | 19 |
| 110 | 21 |
| 111 | 20 |
| 112 | 43 |

**EK 2.** Metabolizma hızı ölçümlerinde, diğer analizler için kullanılan sansürlü bireylerin sayısı (*N*).

| Gün | N (4°C) | N (10°C) |
|---|---|---|
| 73 | 20 | 22 |
| 81 | 229 | 137 |
| 88 | 420 | 197 |
| 95 | 0 | 12 |
| 109 | 119 | 0 |
| 116 | 103 | 0 |
| 130 | 131 | 0 |
| 137 | 94 | 10 |
| 144 | 22 | 14 |

**EK 3.** Metabolizma hızı testinde günlük örnek büyüklüğü (*N*). Gruplar: L4 = 4 °C aklimasyon ve akut sıcaklığı, normoksi; H4 = 10 °C aklimasyon sıcaklığı ve 4 °C akut sıcaklığı, normoksi; L10 = 4 °C aklimasyon sıcaklığı ve 10 °C akut sıcaklığı, normoksi; H10 = 10 °C aklimasyon ve akut sıcaklığı, normoksi; Lh = 4 °C aklimasyon scıaklığı, normoksi ve 4 °C akut sıcaklığı, hipoksi; Hh = 10 °C aklimasyon scıaklığı, normoksi ve 10 °C akut sıcaklığı, hipoksi.

| Gün | Grup | *N* |
|---|---|---|
| 75 | H4 | 2 |
| 75 | L10 | 2 |
| 75 | L4 | 2 |
| 75 | H10 | 2 |
| 76 | L10 | 3 |
| 76 | H4 | 3 |
| 76 | L4 | 3 |
| 76 | H10 | 3 |
| 77 | L10 | 3 |
| 77 | H4 | 3 |
| 77 | L4 | 3 |
| 77 | H10 | 3 |
| 78 | L10 | 6 |
| 78 | H4 | 6 |
| 78 | L4 | 2 |
| 78 | H10 | 2 |
| 79 | Lh | 4 |
| 79 | Hh | 5 |
| 79 | L4 | 2 |
| 79 | H10 | 2 |
| 80 | Lh | 3 |
| 80 | Hh | 5 |
| 80 | L4 | 2 |
| 80 | H10 | 2 |
| 81 | Lh | 5 |
| 81 | Hh | 5 |
| 81 | L4 | 2 |
| 81 | H10 | 2 |
| 82 | Lh | 6 |
| 82 | Hh | 5 |
| 82 | L4 | 2 |
| 82 | H10 | 2 |
| 83 | L10 | 3 |
| 83 | H4 | 3 |
| 83 | L4 | 2 |
| 83 | H10 | 2 |
| 84 | L10 | 2 |

**EK 3**. **(devam)** Metabolizma hızı testinde günlük örnek büyüklüğü (*N*). Gruplar: L4 = 4 °C aklimasyon ve akut sıcaklığı, normoksi; H4 = 10 °C aklimasyon sıcaklığı ve 4 °C akut sıcaklığı, normoksi; L10 = 4 °C aklimasyon sıcaklığı ve 10 °C akut sıcaklığı, normoksi; H10 = 10 °C aklimasyon ve akut sıcaklığı, normoksi; Lh = 4 °C aklimasyon scıaklığı, normoksi ve 4 °C akut sıcaklığı, hipoksi; Hh = 10 °C aklimasyon scıaklığı, normoksi ve 10 °C akut sıcaklığı, hipoksi.

| Gün | Grup | *N* |
|---|---|---|
| 84 | H4 | 3 |
| 84 | L4 | 2 |
| 84 | H10 | 2 |
| 85 | L10 | 6 |
| 85 | H4 | 5 |
| 85 | L4 | 2 |
| 85 | H10 | 2 |
| 86 | L10 | 6 |
| 86 | H4 | 6 |
| 86 | L4 | 2 |
| 86 | H10 | 2 |
| 87 | Lh | 6 |
| 87 | Hh | 6 |
| 87 | L4 | 2 |
| 87 | H10 | 2 |
| 88 | Lh | 6 |
| 88 | Hh | 6 |
| 88 | L4 | 2 |
| 88 | H10 | 2 |

# ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler | |
|---|---|
| Adı Soyadı | Derya ÖZTÜRK |
| Doğum Yeri | İstanbul |
| Doğum Tarihi | 26.12.1982 |
| Uyruğu | ☑ T.C. ❒ Diğer: |
| Telefon | +90 543 328 21 08 |
| E-Posta Adresi | dderyaozturkk@gmail.com |
| Web Adresi | |



| Eğitim Bilgileri | |
|---|---|
| **Lisans** | |
| Üniversite | İstanbul Üniversitesi |
| Fakülte | Su Ürünleri Fakültesi |
| Bölümü | Su Ürünleri Mühendisliği |
| Mezuniyet Yılı | 2014 |

| Yüksek Lisans | |
|---|---|
| Üniversite | İstanbul Üniversitesi |
| Enstitü Adı | Fen Bilimleri Enstitüsü |
| Anabilim Dalı | Su Ürünleri Temel Bilimleri |
| Programı | İçsular Biyolojisi |
| Mezuniyet Tarihi | 2017 |

| Makale ve Bildiriler |
|---|
| Koşal Şahin, S. ve Öztürk, D., 2014, Hisardere (Malatya) Mollusklarının Ekolojik ve Biyolojik Durumu, *VI. Ulusal Limnoloji Sempozyumu*, 25-28 Ağustos 2014, Uludağ Üniversitesi, Bursa.<br><br>Koşal Şahin, S. ve Öztürk, D., 2015, Aktarla Deresi (Tunceli) Mollusk Türleri ve Ekolojilerini Etkileyen Bazı Fizikokimyasal Parametreler, *Ekoloji 2015 Sempozyumu*, 06-09 Mayıs 2015, Sinop Üniversitesi, Sinop. |