

MAYIS 2016

Yüksek Lisans – Biyoloji Bölümü

AYNUR ERBAŞ

T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PARDOSA (ARANEAE: LYCOSIDAE) CİNSİ ÖRÜMCEKLERDE DNA
BARKOD ÇALIŞMALARI***

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYNUR ERBAŞ

MAYIS 2016

***Pardosa* (Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerde DNA Barkod Çalışmaları**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

Danışmanlar

Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Yrd. Doç. Dr. Türkan AYTEKİN

Aynur ERBAŞ

Mayıs 2016



© 2016 [Aynur ERBAŞ]

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: *Pardosa* (Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerde DNA Barkod Çalışmaları
Öğrencinin, Adı Soyadı: Aynur ERBAŞ
Tez Savunma Tarihi: 16/05/2016

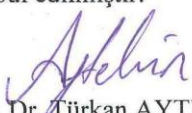
Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Prof. Dr. Metin BEDİR
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Yrd. Doç. Dr. Türkan AYTEKİN
İkinci Tez Danışmanı


Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR
Tez Danışmanı

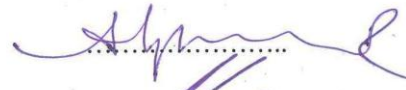
Jüri Üyeleri:

Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Prof. Dr. Canan CAN

Yrd. Doç. Dr. İsmail VAROL

İmzası


.....

.....

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Aynur ERBAŞ

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF *PARDOSA* GENUS (ARANEAE: LYCOSIDAE) WITH DNA BARCODE ANALYSES

ERBAŞ, Aynur

M.Sc. in Biology

Supervisors: Assist. Prof. Dr. Adile AKPINAR

Assist. Prof. Dr. Türkan AYTEK N

May 2016, 44 pages

In this study, spiders of the genus *Pardosa* (Aranae: Lycosidae) collected from 9 locations ( ahinbey,  ehitk mil, Nizip, O uzeli, Karkam  , Yavuzeli, Araban, Nurda  ,  slahiye) in Gaziantep province were characterized using morphological and molecular methods. Between the months of February-September 2014, 78 samples were analyzed. On the basis of morphological study of only the adult individuals, 4 species (*Pardosa proxima* (C.L.Koch, 1847), *P. tatarica* (Thorell, 1875), *P. italica* Tongiorgi, 1966, *P. birmanica* Simon, 1884) were identified. Molecular analysis of the barcode region of the mitochondrial cytochrome c oxidase I (COI) gene in both adult and juvenile specimens was carried out and revealed the same species. The morphological and molecular data were consistent with each other. As a result of this study, *Pardosa birmanica* was newly registered to the Turkey spider inventory. This is the first time that morphological analysis has been combined with DNA barcoding for spiders in Turkey.

Key words: COI, DNA barcoding, Gaziantep, spider, *Pardosa*.

ÖZET

PARDOSA (ARANEAE: LYCOSIDAE) CİNSİ ÖRÜMCEKLERİN DNA BARKOD İLE MOLEKÜLER OLARAK TANIMLANMASI

ERBAŞ, Aynur

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticileri: Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Yrd. Doç. Dr. Türkan AYTEKİN

Mayıs 2016, 44 sayfa

Bu çalışmada, Gaziantep iline ait 9 ilçeden toplanan *Pardosa* cinsi (Şahinbey, Şehitkâmil, Nizip, Oğuzeli, Karkamış, Yavuzeli, Araban, Nurdağı, İslahiye) (Araneae: Lycosidae) örümcekleri morfolojik ve moleküler yönden araştırılmıştır. 2014 yılı Şubat-Eylül ayları arasında yakalanan 78 örnek incelenmiştir. Örümceklerin morfolojik çalışmaları neticesinde sadece erginleri içeren 4 tür (*Pardosa proxima* (C.L.Koch, 1847), *P. tatarica* (Thorell, 1875) , *P. italica* Tongiorgi, 1966, *P. birmanica* Simon, 1884) elde edilmiştir. *Pardosa* örümcekleri, yavru ve erginleri dâhil mitokondriyal gen bölgesi olan sitokrom c oksidaz I (COI) genin ‘barkod’ kısmı ile moleküler çalışmalar gerçekleştirilmiş ve aynı türler elde edilmiştir. Morfolojik veriler moleküler veriler ile uyuşmuştur. Çalışma neticesinde *Pardosa birmanica* Türkiye örümcek envanteri için yeni bir kayıt olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez örümcekler, morfolojilerinin yanısıra DNA barkotlanması açısından da araştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: COI, DNA barkotlama, Gaziantep, örümcek, *Pardosa*

Çok kıymetli aileme.....

TEŞEKKÜR

Çalışmalarındaki azmini her zaman örnek aldığım, bilimsel çalışma inceliklerini ve önemini bana en iyi şekilde öğreten, farklı ve ileri bir vizyon kazanmamız konusunda bizleri cesaretlendiren, tez çalışmalarım boyunca hiçbir emeğini esirgemeyen, her zaman arkamda olup beni yüreklendiren, birlikte çalışmaktan büyük onur ve mutluluk duyduğum saygı değer danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR' a,

Mesleki açıdan sahip olduğu deneyim ve başarılarıyla her zaman saygı duyduğum, laboratuvar çalışmalarım için uygun ortamı kulanabilmemi sağlayan Sayın Bölüm Başkan'ım Prof. Dr.Filiz Özbaş GERÇEKER' e

Sahip olduğu yüksek bilgi birikimi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan, bilimsel çalışmalarımda düşüncelernden yaralandığım ve laboratuvar çalışmalarım boyunca ihtiyaç duyduğum her türlü imkanı bana sağlayan Sayın Prof. Dr. Canan CAN' a

Alanında yaptığı başarılı taksonomik çalışmalarla bana ilham veren Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail Varol' a

Bilimsel çalışmalarımda tüm bilgi deneyim ve tavsiyelerini benimle paylaşan bana yol gösteren Sayın Yrd. Doç. Dr. Türkan AYTEKİN' e

Lisans yıllarımda çalışmalarına verdiği önemleriyle tanıdığım daha sonraları ise öğrencilerine gösterdiği büyük fedakarlık, eğiticilik yönleriyle benim bilimsel ve insani yönden gelişimime büyük katkıda bulunan, üzerimde büyük emeği olan Arş. Gör. Fatih YAYLA' ya

Mesleki yönden fikirlerini aldığım, bana her zaman doğru ve mantıklı tercihler yapmamı sağlayan Yrd. Doç. Dr.Mustafa PEHLİVAN'a

Tez çalışmalarım boyunca uygun çalışma ortamı kulanabilmeme olanak sağlayan Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü' ne

Çalışmalarımı rahat bir şekilde sürdürebilmemde katkısı olan ve maddi olanak sağlayan FEF.14.05 nolu '*Pardosa* (Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerin DNA Barcod Çalışması' isimli BAP Projesi' ne

Çalışmalarımın her alanında yanımda olan, emeğini hiçbir zaman esirgemeyen, özellikle laboratuvar çalışmalarını bana büyük bir sabırla öğreten çalışma arkadaşım Biyolog Derya ARSLAN'a, güler yüzü pozitif düşüncesiyle bana destek veren arkadaşım Biyolog Rüfama MAMMADOVA' ya

Laboratuvar çalışmalarım boyunca gereksinim duyduğum tüm araç gereç ve elverişli ortamı kullanabilmemi sağlayan, zor durumlarımda yardımlarını esirgemeyen Hatice POLATBİLEK' e, Nagihan KUŞCALI' ya, Yağmur KAR' a, Ayhan TURAN' a, Selçuk BAŞBUĞA ve Mete DUMAN' a

Hayata dair bakış açılarıyla ve başarılarıyla örnek aldığım, bana her koşulda kol kanat geren değerli ağabeylerim Vasil Ercüment ERBAŞ' a ve Bülent ERBAŞ' a

Hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmalarım da sonuna kadar beni destekleyen yanımda olan, bugünlere gelebilmem için her türlü fedakârlıkta bulunan, biricik annem Halise ERBAŞ' a ve biricik babam Naci Şahin ERBAŞ'a

Tez çalışmalarımın en yoğun dönemlerinde tanıştığım, o zamandan beri her zaman benim yanımda olup beni destekleyen, bana pozitif enerji ve mutluluk veren sevgili nişanlım Selim YÜNCÜ' ye

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ.....	1
1.1. Lycosidae Familyasının Araneae Takımı İçerisindeki Yeri.....	2
1.2. Lycosidae Familyasının Biyolojisi ve Ekolojisi.....	7
BÖLÜM 2	13
KAYNAK ÖZETLERİ.....	13
BÖLÜM: 3	16
MATERYAL YÖNTEM	16
3.1 MATERYAL.....	16
3.1.1. Araştırma Alanının Tanımı.....	16
3.2. YÖNTEM.....	18
3.2.1. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar	18
3.2.2. Laboratuar Çalışmaları, Teşhis ve Sınıflandırma	18
BÖLÜM 4	25
ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1.1. Familya: LYCOSIDAE Sundevall, 1833	25
4.1.2. Cins: <i>Pardosa</i> C. L. Koch, 1847.....	26
4.1.3. DNA Konsantrasyonları	29
4.1.4. <i>Pardosa</i> Cinsi Örümceklerde COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Agaroze Jel Görüntüleri.....	31

4.1.5. Filogenetik Analizler	31
BÖLÜM 5	34
TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR	39



TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Örnek toplanan lokaliteler.....	17
Tablo 3.2. COI geninin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri.....	22
Tablo 3.3. COI geninin çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon içeriği.....	22
Tablo 3.4. PCR işleminin yapıldığı ısı döngüleri.....	22
Tablo 4.1. <i>Pardosa</i> tür dağılımı.....	25
Tablo 4.2. <i>Pardosa</i> türlerine ait örneklerin DNA konsantrasyonları (ng).....	29
Tablo 5.1. <i>Pardosa</i> cinsine ait türlerin morfolojik ve moleküler verileri.....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Örümceğin genel yapısı.....	5
Şekil 1.2. Lycosidae familyasında bacağın kısımları; cx: koksa, tro: trokanter, fe: femur, pat: patella, tib: tibia, met: metatarsus, tar: Tarsus).....	5
Şekil 1.3. Lycosidae familyası eşey organı (♂) Pedipalp.....	6
Şekil 1.4. Lycosidae familyası dişi eşey organı. (♀) Epijin	6
Şekil 1.5. Mitokondri genomuna ait COI gen bölgesi.....	9
Şekil 3.1. Jel tankına PCR ürünlerini yükleme işlemi.....	32
Şekil 4.1. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Markır (100-200-300-400-500-600-700-800-900-1000 bç), 1-12: PCR ürünleri.....	36
Şekil 4.2. <i>Pardosa</i> türlerini içeren filogenetik ağaç.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

♂

Erkek

♀

Dişi

°C

Santigrat Derece

%

Yüzde

&

Ve

µl

Mikrolitre

°

Enlem ve Boylamda Derece

'

Enlem ve Boylamda Dakika

Kısaltmalar

Açıklama

A₂₆₀/A₂₈₀

DNA Konsantrasyonu

AE

Çözücü Çözeltisi

AW1

Yıkama Çözeltisi 1

AW2

Yıkama Çözeltisi 1

BOLD

Barkod Veri Sistemi

bp

Baz Çifti

C

Sitozin

car

Karapaks

cm

Santimetre

COI

Sitokrom C Oksidaz 1

cx

Koksa

DNA

Deoksiribo Nükleik Asit

dNTP

Deoksiribonükleozit

dk

Dakika

E

East (Doğu)

ey

Gözler

F

İleri Primer

fe

Femur

G	Guanin
kg	Kilogram
km	Kilometre
km ²	Kilometre Kare
KOH	Potasyum Hidroksit
leg	Bacaklar
list	Liste
m	Metre
m ²	Metre Kare
met	Metatarsus
Mm	Milimetre
mtDNA	Mitokondrial Deoksiribo Nükleik Asit
N	North (Kuzey)
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Merkezi
Ng	Nanogram
OH	Hidroksit
op	Opistosoma
OTU	İşlevsel Taksonomik Birimler
P	<i>Pardosa</i>
pat	Patella
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ped	Pedisel
pp	Pedipalp
R	Geri Primer
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
Sal	Salticidae
sn	Saniye
sp.	Tür
spin	Örü Memeleri
sub.	Ergin Altı
tar	Tarsus
tib	Tibia
tro	Trokanter
vs	Vesaire

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Araneae (Örümcekler) takımı Arachnida sınıfında akarlardan sonra en zengin ikinci takım olup, oldukça geniş bir yayılış alanına sahiptirler. Dünyada tanımı yapılmış 114 örümcek familyasına ait 3981 cins ve 45874 tür bulunmaktadır (World Spider Katalog, 2016). Türkiye'de ise 53 familya, 330 cins ve 1013 türün tanımı yapılmıştır (Bayram vd., 2014).

Eklembacaklılar tesbiti yapılmış hayvan türlerinin yaklaşık 2/3 ünü teşkil eder ve protostomia hayvan grupları içinde yer alarak evrimsel açıdan gelişmişliğin son basamağını oluştururlar. Dünyada yaşayan hayvanlar arasında tür bakımından olduğu gibi birey açısından da en zengin grubu olan ve her geçen gün yeni fertlerin tespiti ile sayıları artan böcekler (Insecta), eklembacaklılar (Arthropodo) şubesinde yer almaktadırlar. Solifugae (silindirörümcekler), Opiliones (ot biçenler), Ricinulei, Acari (akarlar), Scorpiones (akrepler), Pseudoscorpiones (yalancı akrepler), Schizomida (kırbaçlı akrepler), Uropygi (kamçılı akrepler), Amblypygi (kamçılı örümcekler) ve Araneae (örümcekler) Arachnida sınıfında yer almaktadırlar. (Özdemir, 2004)

Arthropoda filumunun Arachnida sınıfı içinde yer alan örümcekler hayvan grupları arasında geniş ve önemli bir yer tutar. Karbonifer periyodundan 300 milyon yıl öncesine ait fosil kayıtları bulunan örümcekler bilinen en eski gruplardan biridir. Böcekler hariç karada yaşamını en iyi şekilde sürdürebilen omurgasızlardır. Dünya üzerinde tanımlanmış yaklaşık 40.000 örümcek türü bulunmaktadır. Everest dağının zirvesi gibi tabiatın çok değişik habitatlarına uyum sağlayabilen hayvanlardır (Levi, 1990; Preston, 1982). Oldukça geniş bir yayılış alanına sahip olan örümcekler, akarlardan sonra en zengin ikinci örümceğimsiler takımıdır.

Mevsime bağlı olarak besin miktarında görülen değişim örümceklerin yılın değişik zamanlarında farklı miktarlarda besin tüketmesine neden olur. Ayrıca örümcekler

hayatlarının değişik evrelerinde de farklı oranlarda besin alırlar. Yapılan laboratuvar çalışmaları Salticidae familyasının tüm üyeleri gibi gündüz görüşlü örümceklerin beslenmesinde zaman açısından sabahları öğleden sonralarının daha elverişli olduğu, ayrıca 15°C' nin üstündeki sıcaklıklarda 15°C' nin altındaki sıcaklıklardan daha fazla beslendiği tesbit edilmiştir (Edgar, 1970).

Örümceklerin fazla miktarlarda aldığı besinin, onların büyümesinde ve ürettiği yumurta sayısı üzerinde pozitif etkisi olduğu tesbit edilmiştir. İyi beslenen örümcekler daha çok yumurta bırakır. Bir *Pardosa amentata* dişisinin beslenmeye açık olduğu süre günde yaklaşık 10 saat olarak belirlenmiştir ve bu süre içinde toplam 35 mg besin almaktadır. Temmuz ayında, örümceklerin bir tarlada m² başına 31 afid yediklerini tespit etmiştir. Burada ilginç olan Coccinellid'ler sadece afide özgü predatör iken, örümcekler polifag predatörlerdir. Örümcekler böcekler içerisinde özellikle Collembola, Diptera, Heteroptera ve Orthoptera türleri üzerinden beslenirler. Omurgalıları örümceklerin avı olabilirler. Sal örümcekleri (*Dolomedes*) kendilerinden 4–5 kat büyük balıkları zararsız hale getirirler. İyi beslenen örümcekler daha çok yumurta bırakır. Örümceklerin bıraktığı yumurta sayısı örümceğin büyüklüğüne de bağlıdır. Bu nedenle büyük örümcekler daha fazla sayıda yumurta bırakırlar. Örümceklerin metabolizmalarının düşük olması nedeniyle aylarca aç yaşaya bilirler (Varol, 2001).

Kurt örümcekler (Lycosidae) örümcekler içerisinde dominant familyadır ve tüm örümceklerin % 42'sini oluşturur. *Pardosa crassipalpis* ise Lycosidae familyası içerisinde dominant bir tür olup tüm örümceklerin % 22,5'ini oluşturur. Lycosidae familyasından sonra yaygın olan diğer familyalar ise; Theridiidae, Linyphiidae ve Clubionidae'dir. Kuzey Amerika'nın Virginia Eyaletinde soya tarlalarında yapılan faunistik bir araştırmada zeminde Lycosidae ve Linyphiidae'nin, yapraklar üstünde ise Oxyopidae, Thomisidae ve Salticidae'nin en fazla bulunan örümcekler olduğunu tesbit etmişlerdir (Varol, 2001).

1.1. Lycosidae Familyasının Araneae Takımı İçerisindeki Yeri

Lycosidae familyası tür sayısı (123 cins ve 2403 tür) bakımından dünyanın 4. büyük örümcek familyası olup (World Spider Katalog, 2016). Araneomorphae

(Labidognatha) alttakımı içerisinde yer alan Lycosidae familyası, günümüz sistematikçileri tarafından aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (Foelix, 1996).

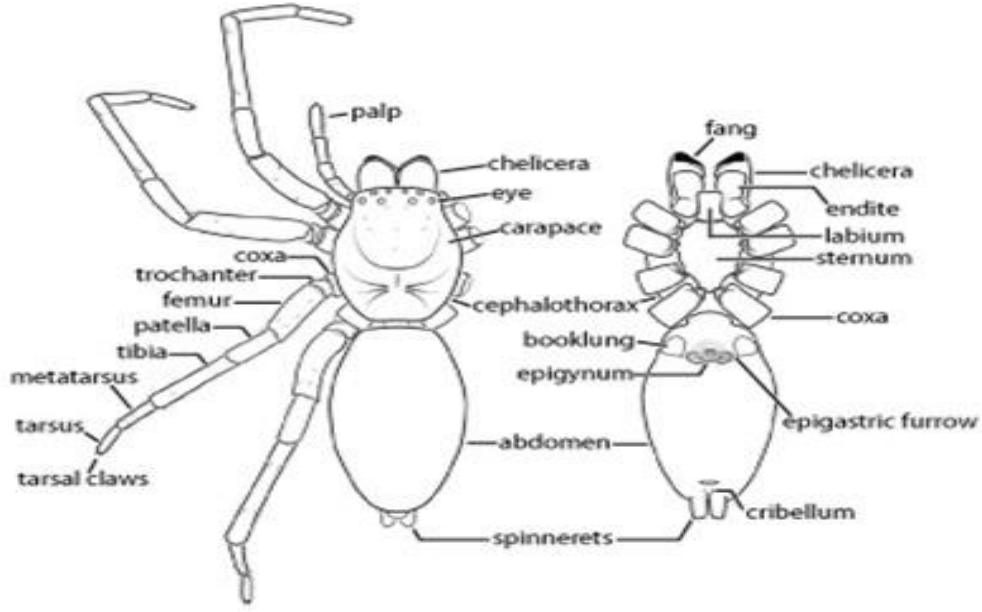
Domain	: Eukaryota Whittaker & Margulis, 1978 - eukaryotes
Kingdom	: Animalia Linnaeus, 1758 - animals
Subkingdom	: Bilateria (Hatschek, 1888) Cavalier-Smith, 1983
Branch	: Protostomia - Grobden, 1908
Infrakingdom	: Ecdysozoa - Aguinaldo Et Al., 1997 Ex Cavalier-Smith, 1998
Superphylum	: Panarthropoda - Cuvier
Phylum	: Arthropoda Latreille, 1829 - Arthropods
Subphylum	: Arachnomorpha Heider, 1913
Infraphylum	: Cheliceriformes
Superclass	: Chelicerata
Epiclass	: Euchelicerata
Class	: Arachnida Cuvier, 1812 - Arachnids
Subclass	: Micrura
Order	: Araneae Clerck, 1757 - Spiders
Suborder I	: Mesothelae
Suborder II	: Opisthothelae (Orthognatha, Primitive spiders)
Infraorder	: Mygalomorphae
Suborder III	: Labidognatha (Modern spiders)
Infraorder	: Araneomorphae
Superfamily	: Lycosoidea
Family	: Lycosidae

Lycosidae familyası üyelerinde de vücut prosoma (sefalotoraks) ve opistosoma (abdomen) olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Bu kısımlar pedisel adı verilen bir yapı ile birbirine bağlanır. (Şekil 1.1)

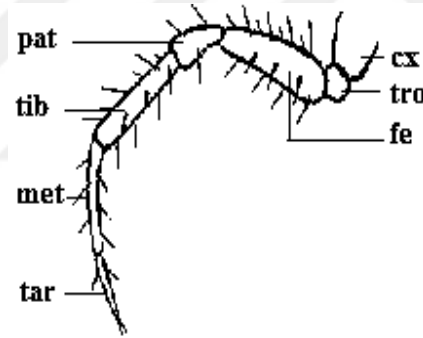
Dorsalde sert ve kalkan şeklinde sklerize olan prosoma, karapaks adı verilen bir yapı ile kaplı olup; dört çift yürüme bacağı, bir çift keliser ve bir çift pedipalp taşır. Gözler ise prosomanın ön kısmında yer alır.

Opistosoma genellikle ince ve sık kıllarla kaplı olmak üzere torba şeklinde bir yapıya sahiptir ve uç kısmında örü memeleri bulunur.

Lycosidae familyasının prosoma kısmında iki sıra halinde dizili sekiz basit göz bulunur. İlk sırada, önden bakıldığında görülebilen eşit büyüklükte 4 küçük anterior göz; ikinci sıradaiki posterior median göz bulunur ve çok büyüktür, arka yanlarda ise orta büyüklükte 2 göz yer almaktadır. Bu göz sırası üst kısımda detaylı bir şekilde incelendiğinde belirgin bir iç bükey şekil arz eder. İkinci sırada yer alan gözler ise aynı zamanda ön tarafı dar olan bir yamuk meydana getirir. Kurt örümcekler familyasına ait örneklerin gözleri ve görüş alanları çok iyi gelişmiştir. Arka orta (median) ve arka yan (lateral) gözlerin bulunduğu doğrultu, orta çizgi ile prosomanın üzerinde kesişmeyip, ön tarafta bir bölgede kesişir. Vücuda bağlandığı yerden itibaren femur, koksa, trokanter, patella, tibia, tarsus ve metatarsus segmentlerinden oluşan prosomadaki bacaklar (Şekil 1.2) oldukça güçlüdür. Uzunluk ölçüleri açısından dört, bir, iki ve üçüncü bacak şeklinde sıralanmaktadır. Ayrıca tüm bacakların hemen hemen her segmentinde diken ve bazen de uzun bir kıl benzeri yapı (trikobothrium) bulunur. Bacakların uç kısımlarında kitin yapısında taraklı iki tırnak ve bu tırnakların alt orta yerlerinde taraksız küçük bir tırnak daha bulunmaktadır.

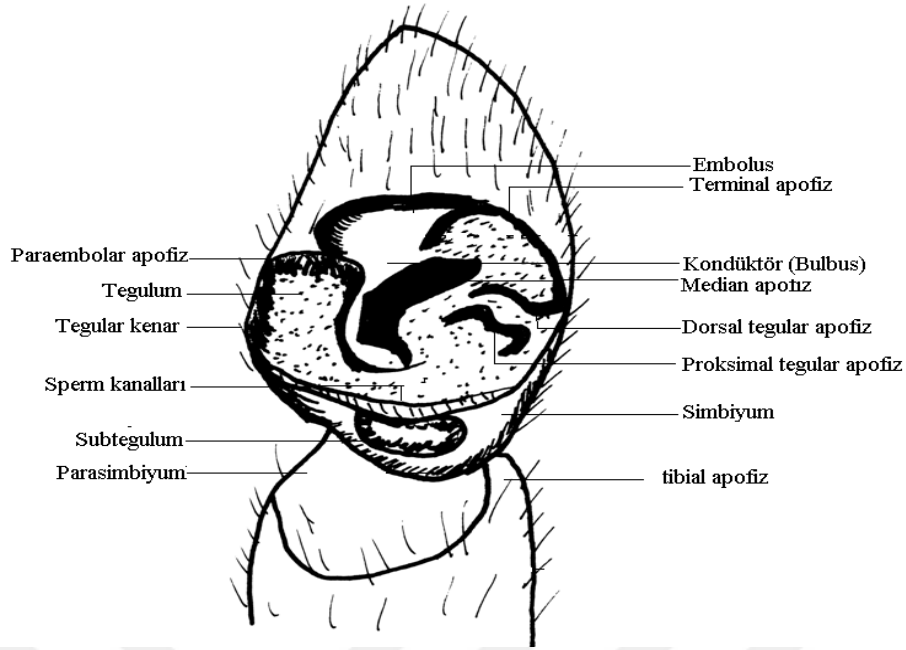


Şekil 1.1. Örümceğin genel yapısı (Barrion, 1995)



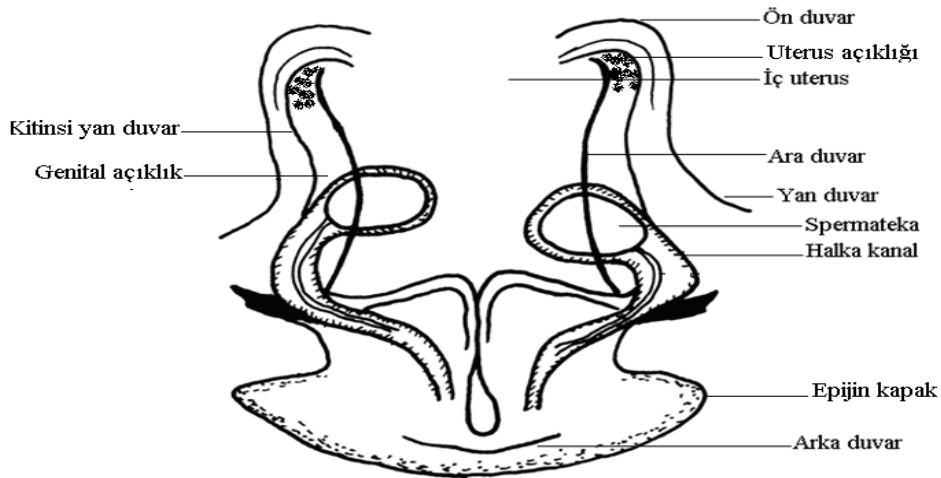
Şekil 1.2. Lycosidae familyasında bacağın kısımları; cx: koksa, tro: trokanter, fe: femur, pat: patella, tib: tibia, met: metatarsus, tar: Tarsus (Barrion, 1995)

Oluğun iç kenarında 2 ya da 3 diş bulunduran keliser, şişkince bir yapıya sahiptir. Erkeklerde çiftleşme organı olarak görev yapan. pedipalpler türler arasında büyük çeşitlilik gösterirken; koksa, trokanter, femur, patella, tibia ve tarsus olmak üzere altı segmentten oluşur. Tarsus dışarıya doğru uzayarak dorsalde organları koruyan ve içine alan simbiyumu oluşturur. Pedipalpin en ucunda embolus adı verilen ince, kıvrık bir boşaltım kanalı ve onu sarıp hareketi sağlayan bir kondüktör bulunur. Embolusun kaidesinden çıkan terminal apofiz ve median apofiz ise palpin epijine uygun bir şekilde yerleşmesini sağlar (Roberts, 1995).



Şekil 1.3. Lycosidae familyası eşey organı (♂) Pedipalp (Akpınar, 2011)

Dişilerde, opistosomanın ventralindeki epigastrik yarığın üzerinde bulunan genital açıklık, epijin adı verilen dış genityalya tarafından çevrelenir. Karmaşık yapıdaki ve türe özgü olan epijin sklerize haldedir (Şekil 1.4). Epijinin arkasında ise vulva adı verilen iç genityalya yer alır ve çiftleşme kanalları tarafından spermatekaya bağlanan bir çift çiftleşme açıklığı içerir. Dişilerde epijin, erkeklerde pedipalp, yapısı morfolojik tür teşhisinde çok önemlidir (Roberts, 1995).



Şekil 1.4. Lycosidae familyası dişi eşey organı. (♀) Epijin (Akpınar, 2011)

1.2. Lycosidae Familyasının Biyolojisi ve Ekolojisi

Kurt örümcekler olarak bilinen Lycosidae familyası üyeleri genellikle yer seviyesinde, nadiren de alçak vejetasyonlar da yaşar. *Pirata* cinsi üyeleri ise familyanın diğer üyelerinden farklı olarak su çevresinde yaşar, su üzerinde yürüyebilir ve sudaki böceklerle beslenirler (Roberts, 1995).

Bu familya üyelerinin bir kısmı nokturnal, bir kısmı diurnal, çok azı ise nokturnal-diurnaldır. Çok hızlı hareket eden hayvanlardır fakat avlarını yakalayabilmek için aktif olarak hareket etmez ve avının ortaya çıkmasını bekler. Lycosidae familyasına ait pekçok tür sıçrayabilir özelliğe sahiptir. Bu özellik *Pardosa nigriceps* gibi alçak vejetasyonda avlanan ve yapraktan yaprağa sıçrama konusunda hünerli türlerde açık bir şekilde gözlenebilir (Roberts, 1995).

Lycosidae familyası görüş alanları oldukça iyidir. Bu nedenle avının kanat çırpıntısına ya da karakteristik yürüme biçimlerine karşı tepki gösterir. Ancak gözleri sadece basit şekilleri algılayabilir ve yalnızca yakın olan nesneleri uyarıcı olarak algılar. Görüş alanının iyi olması, çiftleşme sırasında dişiye cezbetmek için de büyük önem taşır. Çiftleşme öncesinde erkek, dişi feromon salgıladıktan sonra ön bacak ve pedipalplerini hareket ettirerek kur dansı yapar (Roberts, 1995).

Lycosidae familyasına ait bireylerin (kurt örümcekleri) çoğu ilkbahar aylarında erginleşirken, erkek örümcek bir dişi bulur ve eşleşir. Dölllenmiş olan dişi örümcekler, Mayıs-Haziran aylarında ipeksi ağlarıyla bir kokon örerek içine yumurtlar. Fakat dişiler, yaz aylarında bazen ikinci, hatta güze doğru üçüncü bir kokon örebilir (Roberts, 1995).

Kurt örümceklerin bazı cinslerinin dişi bireyleri (*Arctosa*, *Alopecosa* ve *Trochosa*), küçük oyuklar oluşturarak yavru örümcekleri ortaya çıkana kadar yumurta keseleri ile birlikte burada kalır ve türlerin çoğunda dişi birey, yumurta keselerini örü memelerine yapıştırarak gittiği her yere beraberinde onu da taşır (Roberts, 1995).

Bazı türlerin yumurta keseleri bej veya beyaz renkte olup, küre şeklinde olurken; bazı türlerde ise kahverengimsi ya da yeşil-mavi renkte olup, mercimek şeklindedir. Yumurta keseleri, periyodik olarak örü memelerinin etrafında döndürülür ve yeniden örü memelerine yapıştırılır (Roberts, 1995).

Dişiler, keseleri sıklıkla açarak yumurtalara ağzıyla sıvı verir, sonra onu tekrar ipleriyle kapatır. Bazı türler yumurta keselerini periyodik olarak suya daldırır ve birçoğu da kendini güneşe doğru yönelterek yumurta kesesinin güneş ısısından uygun bir şekilde yararlanmasını sağlar (Roberts, 1995).

Birkaç hafta sonra, annenin kokon duvarını delmesiyle birlikte örü memelerine tutturulan yumurta keselerinden dışarı çıkan yavru örümcekler, sürünerek annelerinin sırtına tırmanır ve burada yaklaşık bir hafta kaldıktan sonra dağılırlar. Boş yumurta keseleri ise bu aşamada genellikle atılır. Fakat bazen örü memelerine yeniden yapıştırılarak yavrularla birlikte taşınır (Roberts, 1995).

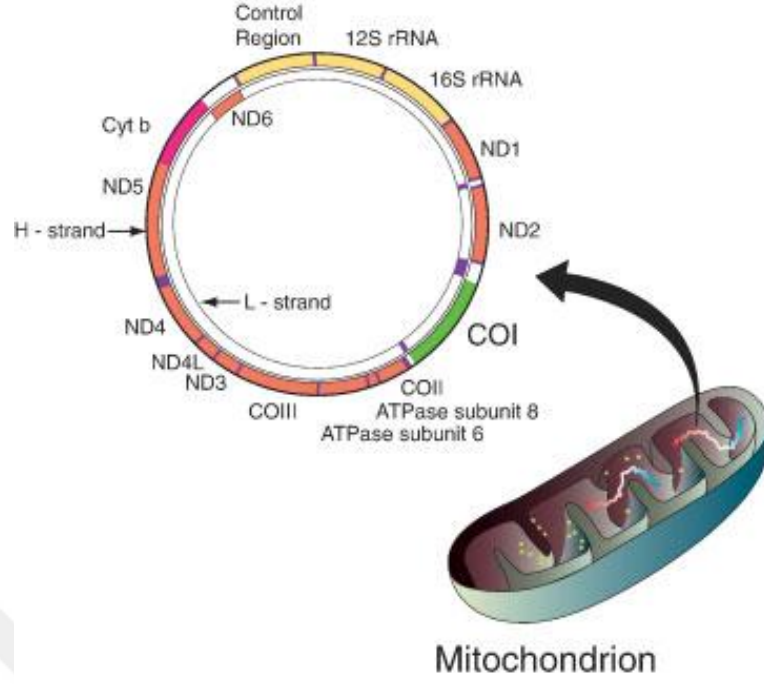
Lycosidae familyası, tarımsal ekosistemlerin önemli predatörleri arasında yer alır. Bu örümceklerin, tarımsal alanlarda çalışan entomolog ve zoologların karşısına böcekler ile birlikte sıkça çıkması, araştırmacıları bu hayvan grubunun hayat çevrimi, habitat tercihleri, beslenme ve üremeleri gibi birçok konunun araştırılmasına yöneltmiştir (Bayram, 1993).

Böceklerle beslenen Lycosidae familyası, böcek populasyonlarının kontrolünde büyük öneme sahiptir. Bu sebeple ekosistemdeki populasyon dengesinin korunmasında büyük rol oynar. Örneğin, *Pardosa amentata* bir günde yaklaşık 10 saat boyunca Diptera türü böceklerle beslenerek 35 mg besin tüketmektedir (Edgar, 1970).

İsviçre tarlalarında, Lycosidae familyasının yoğunluk ve birey başına tüketilen besin miktarına dayanılarak yılda hektar başına 1,2 kg kadar böcek tükettikleri tespit edilmiştir (Nyffeler, 1988).

1.3. COI GEN BÖLGESİ

COI (Şekil 2.1) geninin 5' ucundan 652-658 baz çiftlik bölgesi, günümüzde çok hücreli türler için standart olarak kullanılan barkod tanımıdır (Hebert, 2003a).



Şekil 1.5. Mitokondri genomuna ait COI gen bölgesi (Waugh, 2007).

Sitokrom C oksidaz alt ünite 1 dizisi küçük standart bir markıdır ve bu alt ünite birçok durumda tür sınıflandırmasını sağlar (Casiraghi vd., 2010; Hebert ve Gregory 2005). Bu bölgenin farklı hayvan türleri (örümcekler, Barrett ve 2005; Lepidoptera, Hajibabaei vd., 2006; kuşlar, Kerr vd., 2007; balıklar Ward vd., 2005) ve önemli gruplar için etkili olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden taksonomik incelemeler için kullanılmaktadır.

Taksonomik durum veya son türleşme sonucu yanlış ise barkod bölgeye göre desteklenmeyen bu kimliğin taksonomisini belirlemek için yeniden gözden geçirilmesi gerekir. Uyumluluk göstermeyen kapalı örnekler diğer farklı davranışlar gibi; feromon ve coğrafik bölge özellikleri bakımından sık sık kuvvetlendirilir. Alternatif olarak spesifik olmayan tür barkodları daha önceden sınıflandırılmış olan türler arasında gözlemlenmiştir. Spesifik olmayan barkodlar geri melezleme sonucu veya son türleşmenin yansıyan tamamlanmamış soy sıralaması olabilirken (Avice, 2000), onlar ayrıca yanlış taksonomi sonucu da olabilir (Herbert ve Gregory, 2005). Barkod bölgesi parafili ya da polifili olan türlerde etkisiz sayılsa bile ileride yapılacak çalışmalar için gerekli olabilir.

Diğer karakterlerin araştırılması ve çelişkili (anormal) barkod sonuçlarının coğrafik konumu, türlerin evrimsel durumlarında yardımcı olmalıdır. Son türleşmenin, geri

melezlemesi durumunda genellikle genetik örtüşmeme tarafından sempatik popülasyon bölgelerinde belirgin morfolojik türlerin sınır bölgeleri arasında işaretleme yapılır (Avise, 2000). Türleşme etkisiz genler de mutasyon birikiminden daha hızlı meydana gelebilir, bu genler düşük genetik farkına ve yeni türler arasında tanımlanmamış soy sıralamasına neden olabilir (Funk ve Omland, 2003). Bu nedenle barkod bölgesi dahil özel bir tür açıklığı göstermez ve türlerin sınırlaması içinde etkisiz bir rol oynar.

COI barkod bölgesi, çok hücreli mitokondriyal genom bakımından tür içerisinde %3'ten küçük, türler arasında ise ortalama %10 ile %25 arasında belirgin bir farklılık gösterdiği yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Hebert, 2003b). Mitokondriyal genomun nükleer genoma göre birçok avantajının olması çok hücreli türler de evrensel bir barkod bölgesi arayışının nedeni olmuştur. Bu avantajlar ise başta intronların bulunmaması, rekombinasyona sınırlı şekilde maruz kalması, tüm hücrelerde yüksek kopya sayısı, haploit özelliğe ve maternal bir kalıtıma sahip olması şeklinde sıralanabilir. Geçmişte 12S rRNA ve 16S rRNA genleri kullanılarak yapılan birçok sistematik analizlerde bu genlerin yüksek insersiyon ve delesyon frekansı göstermesi nedeniyle elde edilen dizilerin hizalanmasında ve karşılaştırılmasında çok fazla zorluklar meydana gelmiştir. Çok hücreli canlıların mitokondriyal genomlarında bulunan 13 protein kodlayan gen genellikle bu insersiyon ve delesyonları içermektedir. COI geninin diğer protein kodlayan mitokondriyal genlerden üstünlüğünü sağlaması, çok hücreli türler için evrensel primer çiftleri kullanılarak çoğaltılabilmesi ve birçok farklı taksonomik seviyede kullanılabilir bir filogenetik sinyale sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Keskin ve Atar, 2013).

COI geninde bulunan kodonlar mitokondriyal rRNA genlerine oranla üç kat daha yüksek moleküler evrim hızına sahip olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni ise COI geninde bulunan kodonların üçüncü pozisyonundaki nükleotidleri yüksek oranda substitüsyon göstermesidir. Diğer bir önemli nokta da COI geninde gerçekleşen evrimin, yakın türlerin ayırımına imkan tanıyan ve coğrafik yapı ile ilişkilendirilebilen tür içi varyasyonu ortaya koyabilecek bir hızda gerçekleşmesidir (Bucklin, 2011).

COI geninin birden fazla tür için göstermiş olduğu belirgin ayırım gücü ve tür içi ile türler arasındaki uzaklığın çakışmadığı tipik varyasyon modeli olması bu genin standart barkod geni olarak seçilmesindeki asıl nedendir (Hebert, 2003b). “Barkodlama açıklığı” ise tür içi ve türler arası varyasyonda çakışma meydana gelmemesi olarak tanımlanmıştır (Meyer, 2005)

COI geninin tüm bu özelliklerine rağmen çözümleyemediği bazı canlı grupları da bulunmaktadır. Bu canlı gruplarına Porifera (süngerler), Ctenophora (taraklılar) ve Anthozoa (mercanlar) örnek verilebilir, bu gruplardaki mitokondriyal DNA evrimsel hızının diğer çok hücreli canlı gruplarına kıyasla 10-20 kat daha az olduğu ileri sürülmektedir (Shearer, 2002).

Bu istisnalar dışında, coğrafik olarak geniş yayılım gösteren farklı türlerin, COI geninin barkodlama çalışmalarında standart bir belirteç olarak benimsenmesinde büyük rol oynamasının sebebi, türler arası ve tür içi genetik varyasyonlarını da içeren birçok çalışma sonucunda elde edilmiş birbirleriyle tutarlı veri setlerinin olmasıdır. COI geninin standart belirteç olarak benimsenmesinin sonuçları NCBI (National Center for Biotechnology Information), GenBank (Gen Bankası) ve BOLD (Barcode of Life Data Systems) gibi geniş, halka açık veri tabanlarına da belirgin bir şekilde yansımıştır. Barkodlama geninde gerçekleştirilen standartlaştırma sonrasında GenBank ve BOLD gibi veri tabanlarına COI gen dizilerinin girişinde büyük bir artış yaşanmıştır. Bu veri çeşitliliği ve yoğunluğu, G-C değişimleri gibi nükleotid kompozisyonundaki evrimsel değişimler de dahil olmak üzere hayvanlar, bitkiler ve mantarlardaki birçok moleküler evrimsel hipotezin incelenmesine olanak sağlamıştır. COI barkod bölgesi, nükleotid kompozisyonundaki tahminlerde özellikle tercih edilen bir dizi olmamasına ve mitokondriyal genomun herhangi bir bölgesinden bu anlamda çok farklı olmamasına rağmen, farklı taksonlardan yapılan çok fazla örnekleme sonucunda barkod kütüphanelerinde bu bölgeye ilişkin birçok kayıt oluşmakta ve böylece çok sınırlı sayıda diziye sahip olan mitokondriyal genom veri tabanlarının sunamadığı karşılaştırma yapılacak bir referans DNA kütüphanesi imkanını araştırmacılara sunmaktadır (Bucklin, 2011)

Tür tanımlamalarında COI gen bölgesinin etkin bir şekilde kullanılabilirliği günümüzde omurgalı ve omurgasız birçok hayvan grubu için kabul edilmiştir (Waugh, 2007). Barkodlama yöntemi ile hayvan hücre hatlarının tanımlanması da

yapılabilmektedir (Cooper, 2007). COI geninin aynı bölgesi, kırmızı makro alglerin tür tanımlanmalarında (Saunders, 2005) , tek hücreli protistler ve bazı mantarlar için (Seifert ve Hebert, 2007) de kullanılmaktadır. Bu bölgenin ayırım gücünün temelinde nükleotid dizilerinde aynı anda meydana gelen değişikliklerdeki sıklık geniş ölçekte uygulama alanına sahip olmasını sağlamaktadır (Keskin ve Atar, 2013).

Moleküler biyoloji yöntemleri hızla gelişmekte olduğundan günümüzde ekonomik olarak görülmeyen mikroyarray ve hibridizasyon problemleri kullanılarak tek bir prob ile çok sayıda türün moleküler tür tayini uygulanabilir olacaktır. COI geni moleküler tür tanımlama özelliğinde değerlendirildiğinde, bugüne kadar yapılan çalışmalarda sürekli hata veren bir taksona rastlanmamış ve bahsedilen tüm bu avantajlar nedeniyle en uygun moleküler belirteç olarak değerlendirilmektedir. Fakat filogenetik çalışmalarda ve populasyon çalışmalarında COI geni ile birlikte nükleer genlerden de en az bir belirteç kullanılması, sadece mitokondriyal bir gen ile çalışmanın doğurabileceği olası hataları en aza indirmek bakımından göz önünde bulundurulması gereken bir başka noktadır (Keskin ve Atar, 2013).

Çalışma ile Lycosidae familyası içerisinde en zengin cins olan *Pardosa* örümcekleri, morfolojik olarak tayin edilmesi, tür bazında teşhis yapılamayan ergin altı örneklerin mitokondriyal gen bölgesi olan sitokrom c oksidaz bir (COI) ile moleküler olarak değerlendirilmesi, DNA barkot yapılması, filogenetik ağaç oluturulması ve moleküler veriler ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

1758-1940 yılları arasını kapsayan ve iki ciltten oluşan örümcek kataloğu hazırlanmış ve bu katologlarda Anadolu, İran, Afganistan ve Türkmenistan'ı kapsayan bölgelerde tespit edilen yer örümceklerinin kayıtları verilmiştir (Roewer, 1942; 1954).

1846-1966 yıllarını kapsayan dönemde Doğu Avrupa ve Rusya örümceklerinin teşhis anahtarları üzerine ayrıntılı olarak yapılan çalışmalar sonucunda Kafkasya'nın tür listesi oluşturulmuştur (Rossi,1846; Guy,1966; Tyschchenko,1917; Locket ve Millidge, 1951; 1953).

İlk araknolog olarak Karol, ülkemizde örümcekler üzerine araştırmaları başlatarak 1964-1969 yılları arasındaki çalışmaları sonrasında, Türkiye'nin ilk örümcek listesini oluşturmuştur. Bu listede Türkiye'den 30 familyaya ait 302 tür kaydedilmiştir (Karol, 1967b).

Büyük Britanya, İngiltere, Kuzey ve Orta Avrupa'daki örümceklerin teşhis anahtarları ile birlikte genital yapıları da verilmiştir (Roberts, 1985; 1995, Heimer ve Nentwig, 1991).

Varol (2001) yaptığı çalışmalarda *Xerolycosa nemoralis* (Araneae: Lycosidae) ve *X. miniata* türlerini Türkiye için yeni kayıt olarak eklemiştir.

Bayram ve Varol (2003) Gnaphosidae familyasına ait *Poecilochroa variana* Türkiye için yeni kayıt olarak eklemişlerdir.

Akpınar (2011) yaptığı çalışmada Türkiye örümcek listesine 1 familya, 3 cins ve 26 türü ilk kez eklemiştir.

Avisé 1998 de yakın ilişkili omurgalı türlerinin diğer mitokondrial gen sitokrom b de % 2' den fazla farklılık olduğunu kanıtladı.

Medina ve arkadaşları 1999 yılında COI genini *Monstastraea annularis* türünün sınıflandırmalarını incelemek için kullanılmışlardır.

Canlıların morfolojik olarak sınıflandırılmasından kaynaklanan zorluklardan dolayı moleküler çalışmaları oldukça ilerleten Hebert 2003 yılında yaptığı çalışmada Sitokrom C Oksidaz I (COI) genine dayanarak birbirine yakın 200 Lepidoptera türünün akrabalasının belirlenmesinde % 100 başarılı oldu. Bu sayede COI geninin düşük yoğunluktaki örneklerin yüksek taksonomik kategoriler sağladığını ve tür seviyelerindeki belirlemelerin COI profili tarafından yapılabilirliğini kanıtladı.

2004 yılında Hebert ve Hogg' un Kanada'nın artık bölgesinde bulunan yay kuyruklu böcek (Hexapoda: Collembola) türleri arasındaki farklılıkları çözmek için COI genini kullanarak tür içi sekans farklılıklarının % 1'den az ve türler arasındaki farklılıkların %8 de fazla olduğu belirlenmiştir.

Masta ve Boore (2004) Arthropot gruplarının en küçük mitokondrial genomu olarak bilinen 14,381 baz çiftlik mitokondrial örümcek genomunu bulmuştur.

Fukami ve Knowlton (2005) gizli türlerin mtDNA dizilerinin belirlenmesi üzerine sadece 25 ile 16,135 baz çifti arasında pozisyonlarının değişken olduğunu bulmuşlardır.

Astrin (2006), COI gen bölgesindeki birtakım çakışmalarından dolayı kullanılan 16S rRNA bölgesinin COI gen bölgesinden daha uygun olduğunu savunmuştur.

Hajibabaei ve arkadaşları (2006) taksonomide DNA barkodlama örneklerin rutin olarak tanımlanabilmesi için kullanılmışlardır, ayrıca kapsamlı araştırmalar için tipik örnekler işaretlenebilmiştir. Filogenetik çalışmalarda DNA barkodlama uygun takson seçimi için başlangıç noktası olabileceğini belirlemişlerdir ve barkod dizilerini filogenetik çalışmalar için barkod dizi setleri eklemişlerdir. Popülasyon genetiği çalışmalarında ise DNA barkodlarının ilk kapsamlı sinyali ve doğal popülasyon farklılıkları sağlayabileceğini ve birçok türde farklı popülasyonların karşılaştırmalı çalışmalarına yardım edeceği sonucuna varmışlardır.

Huang ve arkadaşları (2008) Porifera ve Cnidaria'da 224 türden 619 tane veri dizisi seti kullanılarak tür içi ve türler arası kapsamlı bir analiz ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonunda tipik metazoanlarla benzer farklılıklara sahipken Porifera ve

Anthozalarla karşılaştırıldıklarında türler arasında çok daha düşük farklılıklar bulmuşlardır.

Slowik ve Blagoev (2012), çalışmalarında DNA barkodlama sisteminin ergin altı ve erkek bireylerin teşhisinin kolaylaştırdığını ve filogenetik çalışmalarda türlerin birbirine yakınlık derecelerini belirlemede kolaylık sağladığını incelerken bu çalışmaların morfolojik çalışmalarla paralel işlediğinde daha kapsamlı sonuçlar elde edildiğini ortaya koymuşlardır.

Franzini ve arkadaşlarının 2013 yılında *Cyrtophora* türleri üzerinde yaptığı çalışmada COI gen bölgesini ve nükleer histon geni olan H3'ü kullanarak farklı analiz sonuçları elde etmişlerdir.

Blagoev ve arkadaşları (2013) Pensilvanya' da bir yerleşim yeri olan Churchill'de DNA barkodlama sistemi ve morfolojik incelemelere bağlı kalınarak yapılan araştırmalar sonucunda 198 tür tesbit edilmiştir. Ayrıca Kanada da *Robertus lyrifer* (Theridiidae), *Baryphyma triferans* (Linyphiidae) ve *Satialtas monticola* (Linyphiidae) olarak 3 yeni tür tanımlanmıştır.

Ratnasingham ve Hebert (2013) barkod indeks numara sistemine dayalı çalışmasında türleri tanımlamanın sadece DNA ile mümkün olmayacağını düşünerek, işlevsel taksonomik birimler (OTU) ve buna benzer sistemleri kullanmışlardır.

Kathrin (2013), Lycosidae familyasına ait *Pardosa* cinsi örnekleri üzerinde yapılan genetik çalışmalarda Palearktik ve Nearktik *P.lapponica* örneklerinin Nearktik *P.lapponica* ve *P.concinna* örneklerinden daha fazla genetik varyasyon gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

Chandek ve Kuntner (2014), Avrupa ve Kuzey Amerika'da yayılış aralıkları gösteren 20 örümcek türü üzerinde yaptığı çalışmada DNA barkodlarının etkilerinin tür tanımlaması için coğrafik çeşitlik tarafından etkilenmediğini ortaya koymuşlardır.

Blageoev ve arkadaşları tarafından Kanada' da yapılan 2015 tarihli çalışmada barkod indeks numarası ile 1018 örnekten bilim için 52 yeni kayıt ve 16 yeni tür bulunmuştur.

BÖLÜM 3

MATERYAL YÖNTEM

3.1 MATERYAL

3.1.1. Araştırma Alanının Tanımı

3.1.1.1. Gaziantep Coğrafyası

Akdeniz Bölgesi ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin birleşme noktasında yer alan ilimiz 36° 28' ve 38° 01' doğu boylamları ile 36° 38' ve 37° 32' kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır. Büyük bölümü Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin batı kesiminde, bir bölümü de Akdeniz bölgesinin doğusunda yer alan Gaziantep topraklarını Akdeniz'den ayıran Amanos (Nur) Dağları batıda Osmaniye'yle, Fırat Irmağı da Doğuda ilin Şanlıurfa'yla arasındaki doğal sınırını çizer. İlimizin doğusunda Şanlıurfa, batısında Osmaniye ve Hatay, kuzeyinde Kahramanmaraş, güneyinde Suriye, kuzeydoğusunda Adıyaman ve güneybatısında Kilis illeri bulunmaktadır. İlimiz 6887 km²'lik alanıyla Türkiye topraklarının yaklaşık olarak %1'lik bölümünü kapsamaktadır. Genelde dalgalı ve engebeli bir arazi yapısına sahiptir. İl merkezinin denizden yüksekliği 850 metredir. Yüzey alanının yaklaşık % 52' sini dağlar, % 27' sini ise ovalar kaplamaktadır. Güneydoğu Torosların uzantıları olan Sof dağlarının bulunduğu ilde ayrıca Dülükbaba, Sam, Ganıbababa ve Sarıkaya Dağları da yer almaktadır. İslahiye, Barak, Araban, Yavuzeli ve Oğuzeli ilin önemli ovalarını oluşturmaktadır (Çed, İzin Ve Denetim Şube Müdürlüğü, 2013).

3.1.1.2. İklimi

Konumu sebebiyle Gaziantep'te Akdeniz İklimi ve Karasal iklimin bir karışımı görülmektedir. İlin güney kesimleri Akdeniz ikliminin etkisinde olmakla beraber, genel olarak yazlar sıcak ve kurak, kışlar ise soğuk ve yağışlıdır. Hava özellikle Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında çok sıcaktır. Aralık, Ocak ve Şubat aylarında ise çok soğuktur. Gaziantep'te ölçülen en yüksek sıcaklık 44 °C, en düşük

sıcaklık ise -17,5 °C'dir. İlde yağış en çok kış ve ilkbahar aylarında görülür. Haziran-Eylül arasında Gaziantep, en az yağışı alır. En çok yağışı ise Aralık-Şubat arasında alır. Mevsim değişirken gündüz ve gece arasında çok büyük bir sıcaklık farkı vardır. Denize kıyısı olmaması sebebiyle kentte nem oranı çok düşüktür. Bu yüzden hava çok sert değildir (Çed, İzin Ve Denetim Şube Müdürlüğü, 2013).

Tablo 3.1. Örnek toplanan lokaliteler

No	Köy	İlçe
1	Alaca mevkii	İslahiye
2	Çubuk	İslahiye
3	Tahta Köprü Barajı	İslahiye
4	Yerliburun	İslahiye
5	Karakaya	İslahiye
6	Kömürler	Nurdağı
7	Yamaçoba	Nurdağı
8	İkizkuyu	Nurdağı
9	Sakçagözü	Nurdağı
10	Keçi Kuyu	Nurdağı
11	Katrancı	Nurdağı
12	Hisar	Nurdağı
13	Emirler	Nurdağı
14	Kartal	Nurdağı
15	Cerit Yeni Yapan	Nurdağı
16	Süleymanoba	Yavuzeli
17	Yarımca	Yavuzeli
18	Havuz	Yavuzeli
19	Hacımmallı	Yavuzeli
20	Merkez	Yavuzeli
21	Gelin Buğday	Araban
22	Araban mevki	Araban
23	Nohutalan	Araban
24	Gelin Buğday Mevkii	Araban
25	Arıl Bilek alan	Nizip
26	Salkım	Nizip
27	Çanakçı	Nizip
28	Hancağız	Nizip
29	Hancağız Barajı	Nizip
30	Hancağız Köprü gerisi	Nizip
31	Sarıkaya mevkii	Karkamış
32	Karkamış Barajı	Oğuzeli
33	Sarıkaya Köyü	Şahinbey (Burç)
34	Belen Köyü	Şahinbey (Burç)
35	Ortaklar Köyü	Şahinbey
36	Bayatlı Köyü	Şehitkamil

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar

Gaziantep ve ilçelerindeki örümcek *Pardosa* (Lycosidae) faunasını tespit etmek üzere arazi çalışmaları çoğunlukla gündüz saatlerinde yapılmış toplamada elle toplama, aspiratör ve atrap kullanılmıştır. Bunlardan aspiratör ile taş altı kaya üstü, yaprak yüzeyi, toprak yüzeyi, ağ üzeri, ot kümeleri gibi yerlerden hareket eden sabit duran örümcekler yakalanmıştır. Atrap ile tahıl alanlarda ve otlaklarda bitkilerin üzerinde atrap süpürülerek örnek toplanmıştır. Aspiratör, atrap ile gündüz aktif (diurnal) örümceklerin toplanması amaçlanmıştır.

Teşhis çalışmaları Olympus marka SZX12E model trinoküler Stereo mikroskop ile yapılmıştır. Erkeklerde genital yapı görüntülerinin çekimleri yine bu mikroskopla gerçekleştirilmiştir. Dişilerde hazırlanan preparatlar Micros marka MC 300 A model trinoküler ışık mikroskobu kullanılarak görüntüler alınmıştır. Aspiratör yardımıyla toplanan örnekler direkt olarak örnek tüplerine aktarılmıştır. Örneğin üzerine bir miktar tüplük etil alkol ilave edilmiş ve tüpler etiketlenmiştir. Etiketlere örümceğin bulunduğu yer, tarih, habitat ve özellikleri, toplam ile ilgili ilginç gözlemler gibi kayıtlar arazi defterine kaydedilmiştir. Atrap ile yakalanan örümcekler ve böcekler az olması durumunda aspiratör ile örnek tüplere aktarılmıştır.

3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları, Teşhis ve Sınıflandırma

3.2.2.1. Kullanılan Kimyasallar

Absolute etanol (Sigma, Almanya), Agaroz (Sigma, Almanya), Borik asit (Sigma, Almanya), DNA ladder (Qiagen, Almanya), Tris (Sigma, Almanya), Tris-HCL (Sigma, Almanya), Etidyum bromür (Sigma, Almanya), EDTA (Merck, Almanya), dNTP set (Qiagen, Almanya), (Merck, Almanya), Primerler (Qiagen, Almanya), Proteinaz K (Qiagen, Almanya), Taq Polimeraz (Qiagen, Almanya), MgCl₂ (Qiagen, Almanya), Yükleme Tamponu (6X) (Qiagen, Almanya).

3.2.2.2. Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu (Uğur, Türkiye), İnkübatör (Nüve, Türkiye), Güç kaynağı (Cleaver Scientific Ltd., İngiltere), Hassas Terazî (Denver Instrument, Almanya), Jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa), Mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), Otoklav (Nüve, Türkiye), Otomatik pipetler (Eppendorf-Almanya, CAPP-Danimarka), Saf su cihaz (Microline), Santrifüjler (Selecta, İspanya), Spektrofotometre (Nanodrop, ND- 1000, Amerika), Vorteks (Velp Scientifica, İtalya), Yatay elektroforez sistemi (Cleaver Scientific Ltd.,İngiltere), Homojenizatör cihazı (Qiagen, Almanya).

3.2.2.3. Morfolojik Çalışmalar

Araziden toplanmış olan örnekler % 99'luk etil alkol ortamında tüpler içinde etiketlenmiş olarak laboratuara getirilmiş ve -20°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Taksonomik çalışmalara öncelikle örneklerin cins ve tür bazında tayini ile başlanmıştır. Örnekler dişi, erkek, yavru olarak ayrıldıktan sonra tür seviyesinde morfolojik olarak çalışmalara devam edildi. Dişilerin morfolojik olarak incelenmesi epijin yapısına göre yapılmıştır. Dişi genital yapı (epijin) diseksiyon için Stereo mikroskop altında tutularak epijini ince uçlu pens ve keskin ağızlı bisturi ile dört bir yanından kesilmiştir. Opistosoma bölgesinden çıkarılan epijin ters çevrilip cam petri üzerinde ve yine Stereo binoküler mikroskop altında etrafından düzgünce kesilip küçültülmüştür. Bu işlemden sonra epijin sırasıyla dehidratasyon, saydamlaştırma ve kapatma işlemelerine tabi tutulmuştur.

a-Dehidratasyon: Epijin önce % 85'lik alkode 5 dakika, daha sonra % 98'lik alkolde 5 dakika dehidre edilmiştir.

b-Saydamlaştırma: Kitin dışındaki dokusal yapıların uzaklaştırılması amaçlanan bu aşamada KOH kullanıldı. Epijin % 10'luk KOH eriğinde 1 saat bekletilerek çöktürme yapıldı.

c-Kapatma: Ortam olarak entellan kullanıldı. Etiketli lamın ortasına önce bir miktar entellan döküldü. Daha sonra epijin entallanın üzerine bırakıldı ve Stereo binoküler

mikroskop altında uygun pozisyon verildi. En son ise üzerine 45 derece eğim ile yavaşça lamel kapatıldı.

Erkek örneklerin tür teşhisi ise pedipalp yapılarına bakılarak yapılmıştır. Erkek örneklere ait palpler önce tibialarından kesildi ve içerisinde alkol bulunan petri kabı içerisinde Stereo binoküler mikroskop ile gözlenmiştir.

3.2.2.4. DNA Barkod Çalışmaları

Morfolojik olarak tür tayini tamamlanan ergin örnekler ve teşhisi yapılamayan erginaltı örnekler için moleküler çalışmalar aşamasına geçilmiştir. *Pardosa* cinsine ait örneklerin moleküler olarak incelenmesinde mitokondrial gen bölgesi olan Sitokrom C oksidase I (COI) ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4.1. DNA İzolasyonu ve Aşamaları

Moleküler çalışmalara morfolojik olarak tanımları yapılmış ve % 96-99 luk etil alkoldeki ve -20°C de saklanan *Pardosa* cinsi örnekler ile başlandı. Daha sonra tür tayini morfolojik olarak yapılamayan ergin altı örnekler ile devam edildi. DNA izolasyonu için Qiagen marka, DNeasy Blood&Tissue kit kullanıldı ve izolasyon şu aşamalarda gerçekleştirilmiştir;

- 1) Örümceklerin 2. ve 7. bacakları arasındaki toplam 6 tane bacak örümcekten koparılmıştır (1. ve 4. bacak teşhis için önemlidir bu yüzden örümcek üzerinden koparılmaz.).
- 2) Alınan bacaklar alkolü uzaklaştırıldıktan sonra örnek kodlarının yazılı olduğu tüplere konulmuştur, üzerine Buffer ATL eklenmiştir ve homojenizatörde 1 saat 35 dakika işleme tabi tutulmuştur.
- 3) Homojenizatörden çıkarılan örnekler 56°C sıcaklığındaki inkübatörde bir gün bekletildi (24 saat).
- 4) 24 saat sonra her bir ependorf tüpe 200 µl Buffer AL eklendi ve yaklaşık 1-2 saniye her bir tüp vortekslendi.
- 6) Vortekslenen tüplere 200 µl ethanol (96-100%) eklenir ve tüpler yeniden vortekslendi.

- 7) Bu işlemden sonra ependorfdaki bulunan örnekler pipet ile kodlarının yazılı olduğu 2 ml'lik spin kolonlara alındı ve 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi.
- 8) Santrifüj sonrası spin kolonun filitreli olan üst kısmı alındı ve 2 mililitrelik yeni bir toplama tüpü içerisine yerleştirildi. Her bir tüp içerisine 500 µl Buffer AW1 eklenir ve 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi.
- 9) 1 dakikadan sonra örneklerin filitreli üst kısmı alındı ve yine 2 mililitrelik yeni toplama tüpüne alındı. Her bir örneğe 500 µl Buffer AW2 eklenir ve bu kez 14000 devir de 3 dakika santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- 10) Bu işlemden sonra örneklerin yine filitreli olan üst kısmı alınır ve bu örnekler kodlarının yazılı olduğu 2 mililitrelik ependorf tüplere konur.
- 11) Yeni ependorflara alınan örnekler üzerine 100 µl Buffer AE eklendikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) bekletilir. Son olarak ise bu örnekler 8000 devirde 1 dakika santrifüj işleminden geçirildi ve santrifüj sonrası tüplerin filitreli kısmı atıldı. Ependorf tüpler içerisindeki DNA' lar -20 °C' de muhafaza edildi.

3.2.2.2.2. Spektrofotometrik Analiz

DNA örneklerinin konsantrasyonu spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda optik yoğunlukları okunarak belirlendi. Örneklerin saflığı ise 260 ve 280 nm dalga boylarındaki optik yoğunluk değerleri oranlanarak belirlendi.

3.2.2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasına olanak sağlayan bir tekniktir. PCR'nin temel prensibi; tekrarlanan üç basamağa dayanır. Bunlar; denatürasyon, primer bağlanma ve zincir uzama basamaklarıdır. Bu işlemler çok sayıda tekrarlanarak (30-35 döngü) istenilen DNA bölgesi çoğaltılmış olur (Birben, 2006). Sitokrom C oksidase I (COI) (658bp) gen bölgesi için uygun primerler kullanılarak PCR gerçekleştirilir.

Tablo 3.2. COI geninin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri

Gen	Primer Dizileri	PCR Ürününün Büyüklüğü
COI	İ: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' G: 5'-GGATGGCCAAAAAATCAAAATAAATG-3'	658 bp

Tablo 3.3. COI geninin çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
ddH ₂ O	15,8 µl
10X Taq Buffer (KCl)	2,5 µl
dNTP mix	0,5 µl
2,5 mM MgCl ₂	2 µl
10 µmol İleri Primer	1µl
10 µmol Geri Primer	1µl
5U/1µl Tap Polimeraz Enzimi	0,12 µl
Genomik DNA	2 µl
Toplam Hacim: 25 µl	

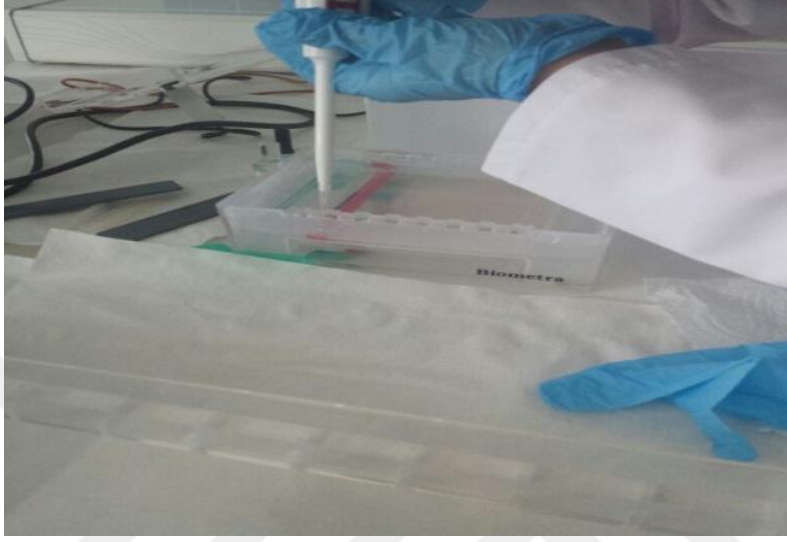
Tablo 3.4. PCR işleminin yapıldığı ısı döngüleri

Denatürasyon	95 °C'de	5 dakika
Döngü	95 °C'de	30 saniye
	52 °C'de	40saniye
	72 °C'de	1,30 dakika
Sonlanma	72 °C'de	10 dakika
Döngü sayısı	35	

3.2.2.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerinin incelenmesi için %1,5'lük agaroz jel kullanıldı. Agaroz jel 1xTBE tamponu içinde mikrodalga fırında kaynatılarak hazırlandı. DNA örneklerinin UV ışık altında izlenebilmesi için agaroz jel çözeltisinin içine 25 µl etidyum bromür

(10mg/ml) eklendi. Çözelti 56 °C' ye soğutulduktan sonra jel tabağına kalınlığı yaklaşık 5 mm olacak şekilde döküldü. Jel polimerize olduktan sonra 1xTBE tamponu içeren elektroforez tankına alındı. 4 µl PCR ürünü 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra jele yüklendi. Örnekler 100 V'da yaklaşık 60 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında incelendi.



Şekil 3.1. Jel tankına PCR ürünlerini yükleme işlemi

3.2.2.2.5. Sekans İşlemi

PCR ile çoğaltılan DNA'lar, nükleotit dizilerinin belirlenmesi 'Sanger-Coulson Zincir Sonlanma Yöntemi' ile gerçekleştirildi (Refgen ve Medsantek).

Sanger-Coulson Zincir Sonlanma Yöntemi DNA dizi analizinde kullanılan bir yöntemdir.

3.2.2.2.6. Filogenetik Analizler

Sanger yöntemiyle dizilenen nükleotitler çeşitli programlar yardımıyla analizler görünebilir hale getirildi (FinchTV 1.4). Sekanslanan diziler program yardımıyla kromotogramlar şeklinde gözlendi.

Nükleotitleri içeren kromotogramlar SeqTrace 0.9.0 programı ile detaylı şekilde analiz edildi. SeqTrace programı, sekanslanan çift yönlü dizileri düzeltmeye, tamir etmeye ve fasta formatında verilerin kaydedilmesini sağlar.

Seqtrace ile okunan ve çift yönlü olarak dizilenen bilgiler Fasta formatında kaydettikten sonra MEGA6 programı kullanılarak Bootstrap 1000 tekrarlı metod ile filogenetik ağaç oluşturuldu. Aynı zamanda bu analizde tür içi, türler arası benzerliklerde hesaplandı.



BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmalarında Lycosidae familyasına ait *Pardosa* cinsine dahil 78 örnek toplanmıştır. -20 °C’ de saklanan örnekler tayin edildiğinde 17 dişi, 13 erkek ve 42 erginaltı örnek belirlenmiştir. Erginler üzerine yapılan tür tayini çalışmaları sonucunda 4 tür belirlenmiştir. Bunlar, *Pardosa proxima*, *P. tatarica*, *P.italica* ve *P. birmanica*’dır (Tablo 4.1). Erginaltı örnekler genital yapıları henüz gelişimini tamamlamadığı için tür bazında tayin edilememiştir.

Tablo 4.1. *Pardosa* tür dağılımı.

Familiya	Cins	Tür
Lycosidae	<i>Pardosa</i>	<i>Proxima</i>
		<i>Tatarica</i>
		<i>İtalica</i>
		<i>Birmanica</i>

4.1.1. Familiya: LYCOSIDAE Sundevall, 1833

Bütün gözler koyu, iki sıraya dizili. İlk sıra dört küçük gözden, ikinci sıra ise ortada iki çok büyük göz, arka yanlarda ise orta büyüklükte iki gözden oluşur. Üstten bakıldığında bu göz dizisi çok kuvvetli iç bükey bir sıra oluşturur. İkinci sıra gözleri aynı zamanda ön tarafı dar olan bir yamuk teşkil eder. Gözler iyi görür. Chelicerae şişkince, oluğun iç kenarında iki, üç diş mevcut. Bacaklar kuvvetli, uzunluk sırası IV, I, II, III şeklinde, hemen her segment dikenler ve bazen uzun bir trichobothria ile donatılmış. Bacak uçlarında kitinsi, tarak dişli iki tırnak ve bunların alt orta yerinde yer alan taraksız küçük bir tırnak yer alır. Opisthosoma çoğunlukla belirgin bir folium bulundurur. Genellikle ince ve sık kıllarla kaplı olan opisthosoma arkada yuvarlakça sonlanır. Kurt örümceklerinin bir kısmı nocturnal, bir kısmı diurnal, az

bir kısmı ise nocturnal-diurnal'dır. Toprak yarıkları veya çukurları içinde, tarla veya otlaklarda dökülmüş ot, yaprak altlarında yaşarlar. İpeksi ipleriyle ördükleri yumurta kokonlarını ağ memelerine yapışık olarak taşırlar. Yumurta keselerinden çıkan yavrular ilk haftalarını ana örümceğin sırtında, toplu halde geçirirler (Özdemir, 2004).

4.1.2. Cins: *Pardosa* C. L. Koch, 1847

Lycosidae familyası içinde en yaygın ve tür sayısı en fazla olan cinstir. Gözler üç enine sıraya dizilidir. Ön sıra gözler daha küçük, ikinci sırada yer alan arka orta gözler çok büyük, üçüncü sıra arka yan gözler orta büyüklüktedir. Prosoma önde çok daralmış. Gözlerin arka sırası ortada kolaylıkla fark edilen iki koyu bantlıdır. Önemli ölçüde yükselmiş clypeus geniş, en azından ön yan gözlerin çaplarının iki katı kadar. Bacaklar ince, zayıf ve çok uzun. Metatarsus, patella ve tibia'nın toplamından daha uzundur. Gündüzleri avlanırlar ve sıcak güneşli günlerde çok hızlı bir şekilde koşarken görülebilirler.

4.1.2.1. *Pardosa tatarica* (Thorell, 1875)

4.1.2.1.1. Morfoloji

Boy ♂: 6–7 mm. Prosoma açık kahverengi bantlarla, koyu kahverengiden siyaha kadardır. Orta bant başın arkasında büyümüş göze kadar uzanır, kenarlarda sabittir, yan bant tarak şeklinde kesiksiz ve klipeusa kadar uzanır. Bacaklar siyahdan koyu kahverengiye kadar değişken renklerde ve beneklidir. Opistosoma gri beneklerle koyu kahverengi, siyah renktedir. Palp orta apofiz kaidesinin arka tarafında büyük bir çıkıntılıdır. Kalın tegal apofiz uzun, uçta körelmiştir.

4.1.2.1.2. Habitat ve ekoloji

Daha çok fundalık ve çimenlik yerlerde ağaç kabuklarının çatlaklarında, kütük altlarında yaşarlar, kurak , nemli alanlarda yaşarlar.

4.1.2.1.3. Yayılış Alanı

Dünyada Palearktik bölgede görülür. Türkiye'de ise tüm bölgelerde görülür.

4.1.2.1.4. İncelenen Materyal

(P44) ♂: Hacı Aslan Gölü, 13.11.2014. (P79) ♀: Yavuzeli Araban, 22.05.2014

4.1.2.2. *Pardosa proxima* C. L. Koch, 1847

4.1.2.2.1. Morfoloji

Boy: ♀: 5,5–6,5 mm; ♂: 4,5–5 mm. Prosoma çok koyu kahverengi, bantlar parlak sarı ve kesiktir. Yan bantlar genellikle üç parçaya ayrılmış halde bulunurlar. Sternum ön kısmının ortalarına kadar gelen açık renkte orta bant daralmış koyu kahverengi. Keliser sarı, tepe kısımda koyucadır. Bacaklarda tibia halkalı ve bazen metatarsi düzensiz halkalıdır. Erkekde sadece femur halkalıdır. Opistosoma kahverengiden siyaha kadar renklindedir. Ampülün üst orta yerinde kitinsi lamel gelişmemiştir. Tibial apofiz uzunluğu genişliğinden fazla. Palp orta apofizi kısadır.

4.1.2.2.2. Habitat ve Ekoloji

Issız yerlerde, su birikintisi olan yosunlu alanlarda ve çimenlik yerlerde yaşarlar. Erkekler Nisan ve Mayıs'ta, dişiler yaz boyunca erginleşir.

4.1.2.2.3. Yayılış Alanı

Bir kuzey örümceği olmasına rağmen İngiltere'nin Güney yarısı ve vadilerinden kayıt verilmiştir. Yaygın değildir. Lokal alanlarda yayılım göstermişlerdir. Avrupa'nın daha çok batısında yaygındır. Kafkasya'da bu türe rastlanmıştır. Türkiye'de Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Doğu Akdeniz, Marmara, İç Anadolu ve Doğu Karadeniz Bölgelerinden kayıt verilmiştir.

4.1.2.2.4. İncelenen Materyal

(P10): ♀; Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 02.04.2014; (P26) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P33) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014 ; (P37) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P55) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 02.04.2014; (P57) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P59) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014, (P15) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüs, 20.02.2014; (P18) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüs, 20.02.2014; (P20) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P21)

♂: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014 ; (P28) ♂; Gaziantep Üniversitesi kampüs, 20.02.2014; (P31) ♂: Gaziantep Üniversitesi Botanik Bahçesi, 19.02.2014; (P35) ♂: Gaziantep Üniversitesi Botanik Bahçesi, 19.02.2014; (P38) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014, (P39) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P49) ♂; Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014, (P52) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P58) ♀: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 02.04.2014; (P64) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014.

4.1.2.3. *Pardosa italica* Tongiorgi, 1966

4.1.2.3.1. Morfoloji

Boy; dişide 7 mm'dir. Prosoma koyu kahverengi, siyaha yakın renklindedir. Prosoma üzerinde yoğun siyah renklerde kıllar bulunur. Prosomanın ortasında yer alan median band kırmızımsı renkte ve gizlere kadar uzanmaktadır. Yan bantlar ise kesintili ve kahverengidir. Bacaklar açık renklerde ve beneklidir. Opistosoma koyu kahverengi, siyah renklindedir.

4.1.2.3.2. Habitat ve Ekoloji

Nemli ve sulak alanlarda yayılım gösterir. İlkbahardan sonbahara kadar görülür

4.1.2.3.3. Yayılış Alanı

Güneydoğu Avrupa'dan Çin'e kadar yayılır. (World Spider Catalog 2016). Türkiye ise Güneydoğu Anadolu Bölgesi' dir.

4.1.2.3.4. İncelenen Materyal

(P54) ♀: Oğuzeli Kayacık Barajı, 24.10.2014

4.1.2.4. *Pardosa birmanica* Simon, 1884

4.1.2.4.1. Morfoloji

Prosoma açık kahverengi, siyah renklindedir. Fovea prosomada belirgin bir açıklıktadır. Prosoma yanlara doğru açıklıkları ve uzantıları belirgin değildir. Keliser uzun ve güçlüdür. Bacaklar belirgin beneklere sahiptir. Opisthosoma açık

kahverengiden siyaha deęişen renklerdeir. Üzerinde delirgin desenlenmeler gözlenir.

4.1.2.4.2. Habitat ve Ekoloji

Kurak ve nemli ortamlarda, çalılık, imenlik alanlarda, orman açıklıklarında bulunurlar.

4.1.2.4.3. Yayılış Alanı

Dünyada Pakistan, Burma, India, Sri Lanka and Bangladesh (Perveen ve ark, 2012). Türkiye örümcek faunası için yeni kayıttır.

4.1.2.4.4. İncelenen Materyal

(P17) ♀: Oğuzeli Kayacık Barajı, 24.10.2014, (P5): Oğuzeli Kayacık Barajı, 24.10.2014, sub., (P40) ♂: Gaziantep Üniversitesi kampüsü, 20.02.2014; (P45): Nizip Hancağız Barajı, 24.10.214, sub., P46): Oğuzeli Kayacık Barajı, 24.10.2014, sub., (P51): Oğuzeli Kayacık Barajı, 24.10.2014, sub.

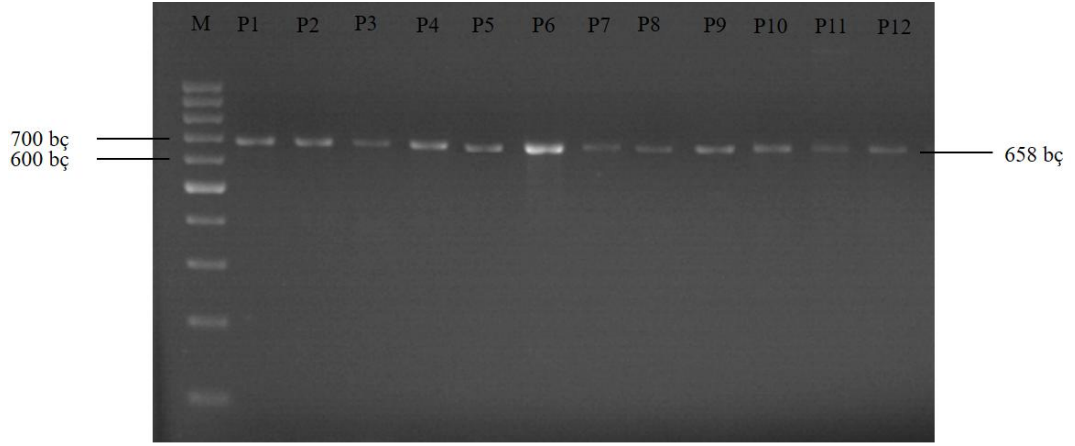
4.1.3. DNA Konsantrasyonları

Tablo 4.2. *Pardosa* türlerine ait örneklerin DNA konsantrasyonları (ng)

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu (A260/280)
P1	12, 67
P2	27, 49
P3	13,14
P4	20,02
P5	23,02
P6	27,66
P7	77,85
P8	22, 44
P9	23,97
P10	18,37
P11	23,54
P12	19,94
P13	15,54
P14	37,70
P15	12,57
P16	34,94
P17	25, 26
P18	19,25
P19	59,50
P20	64,47
P21	59,72
P22	115, 08

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu (A260/280)
P23	8,04
P24	35,22
P25	35,86
P26	47,95
P27	48,91
P28	34,16
P29	38,83
P30	17,18
P31	12,78
P32	15,32
P33	19,77
P34	7,73
P35	9,90
P36	50,66
P37	85,41
P38	66,98
P39	33,83
P40	18,90
P41	61, 56
P42	23,93
P43	52,21
P44	21,04
P45	8,52
P46	11,59
P47	10,15
P48	12,26
P49	7,85
P50	5,31
P51	2,48
P52	18,91
P53	60,9
P54	35,38
P55	130,89
P56	37,81
P57	81,94
P58	29,40
P59	20,61
P61	105,95
P62	85,77
P63	50,40
P64	11,45.
P65	28,19
P66	44,08
P67	93,20
P68	12,67
P69	63,31
P70	122,05
P75	44,97
P77	51,84
P78	25,70
P79	35,53

4.1.4. *Pardosa* Cinsi Örümceklerde COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Agaroz Jel Görüntüleri



Şekil 4.1. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Markır (100-200-300-400-500-600-700-800-900-1000 bç), P1-P12: PCR ürünleri

4.1.5. Filogenetik Analizler

Çalışma kapsamında 78 örneğe ait hem morfolojik hem moleküler çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Morfolojik tanımlamaları yapılan ergin örnekler aynı zamanda moleküler işlemlerde tabi tutulmuştur. Erginaltı tüm örnekler üzerinde moleküler işlemler gerçekleştirilmiştir. Moleküler aşamalarda örneklerin dizi analizleri yapılmıştır. Hizmet alımı ile (refgen, mediantek) ile gerçekleştirilen sekanslama işleminde, PCR ürünleri üzerinden yapılmıştır. Gerekli firmalar PCR ürünlerini saflaştırma uyguladıktan sonra dizileme işlemine geçilmiştir. DNA dizileme Sanger dizileme şeklindedir.

Sekanslama işlemi uygulanan örnekler bir sonraki aşama olan dizilerin düzenlenmesine geçilmiştir. Tüm örneklere ait DNA dizileri Seq-Trace programı ile hem ileri hemde geri primer çakışmasına dayalı çift yönlü eşleştirme yapılmıştır. Dizilenen örnekler içerisinde gerekli düzeltmeler uygulanmış ve 78 örnek üzerinden 4 örneğin (P19,P28,P52,P58) seqtrace ile düzeltmeleri yapılamamıştır. Bu örneklerin sekanslama verileri düzgün olmadığı için dizi kıyaslamalarında verimli olmamıştır. Kalan 74 örnek program üzerinde gerekli düzeltmeleri yapılarak fasta formatında kaydedilmiştir.

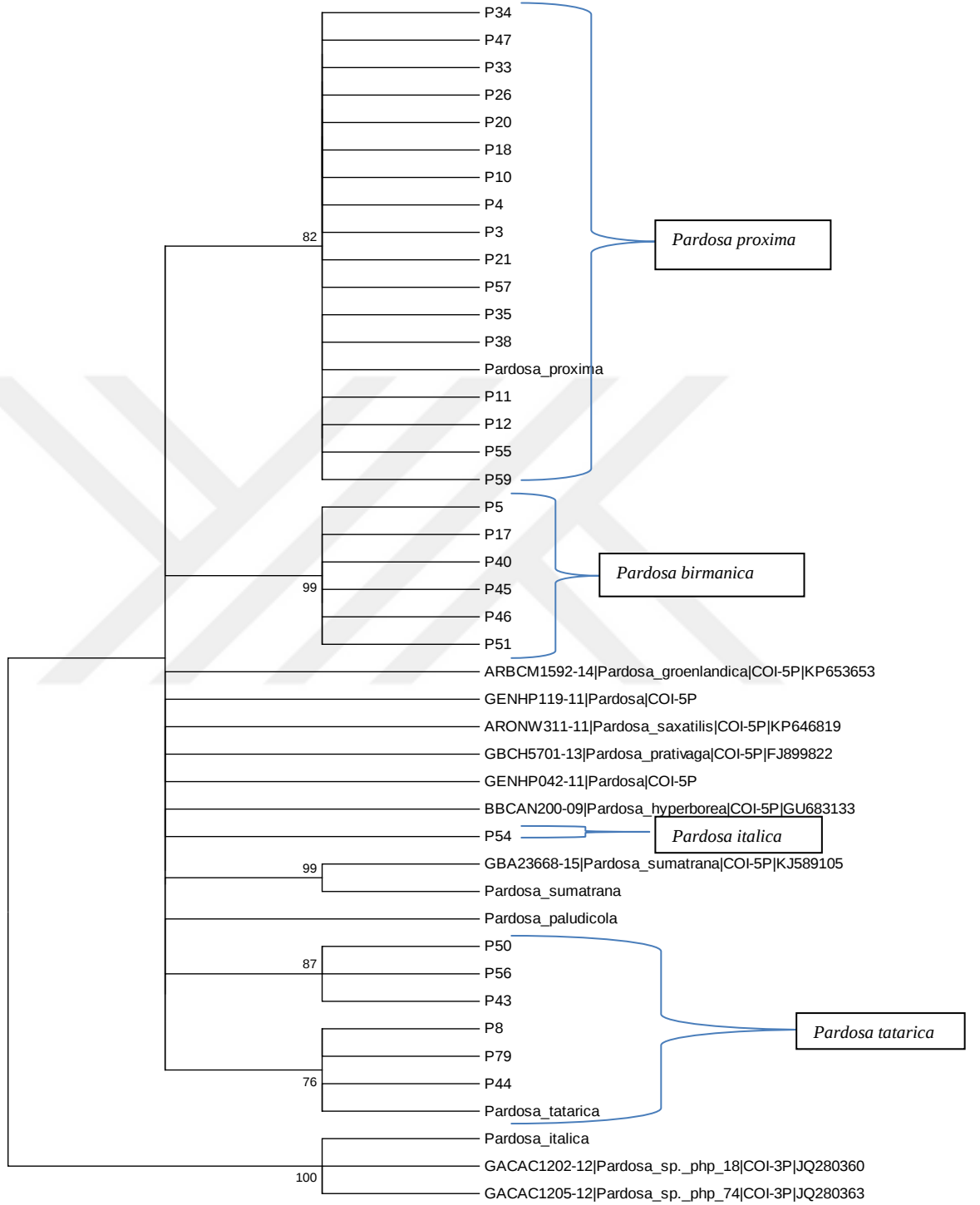
74 örneğin morfolojik verilerine bakıldığında tür bazında dişiler ve erkekler bilinmektedir ancak ergin altı örneklerin tür tayinleri gerçekleştirilemediği için tamamen veri bankalarındaki veriler kullanılmıştır. 74 örneğin herbiri veri bankasındaki (NCBI ve BoldsystemV4) *Pardosa* ve diğer cinsler ile eşleştirilmiştir. Bu anlamda toplam 6 cinse ait 26 tür ile eşleşme sağlanmıştır. Morfolojik verilere bakıldığında *Pardosa* örnekleri genellikle *Alopecosa*, *Arctosa*, *Hogna* ve *Lycosa* cinsleri ile benzerlik göstermektedir. Elde edilen verilerde bu cinsler ile eşleşmiştir.

Çalışmada tüm cins ve türleri içeren bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 3.8) Ağaç oluşturulma aşamasında bazı dizi verileri kullanılamadı. Bunlardan P42 ve P64 ve P68 dizileri barkod standardına uymamakta idi. Barkod verilerinde diziler en az 500 nükleotit içermesi gerekmektedir. Ayrıca analiz edilen dizilerde N sayısı $\square$ %1 olması gerekmektedir. Bu nedenle P64 ve P68 dizileri çok fazla N içermekte idi ve filogenetik ağaç oluşumunda kullanılmadılar.

Çalışma ile MEGA6 kullanılarak çoklu dizileme yapılmış ve Neighbour-Joining ağacı oluşturulmuştur. Ağaçta gösterilen rakamlar 1000 tekrarlı bootstrap metodu ile oluşturulmuştur. Yani ağaçta yazılı olan 99, 1000 bootstrap testinin %99 unda benzerlik olduğunu göstermektedir.

Tez kapsamında *Pardosa* dışındaki diziler gözardı edilerek *Pardosa* dizilerini içeren tekrar bir ağaç oluşturulmuştur. Bold System ve NCBI veritabanında bulunan Blastı yapılan örnekler 14 tür (*Pardosa proxima*, *P.tatarica*, *P. birmanica*, *P.riparia*, *P. fulvipes*, *P. prativaga*, *P. groelandica*, *P.italica*, *P.sumatrana*, *P. hyperborea*, *P. morosa*, *P. paludicola*, *P. saxatilis* ve *P.sp.*) ile % 100-% 91 aralığında eşleşmiştir. Eşleşen bu diziler ile çalışmayı oluşturan *Pardosa* ya dâhil 30 dizi çoklu dizileme ile analiz edildi ve ağaç oluşturuldu (Şekil 3.8). Filogenetik ağaçta *Pardosa* örnekleri 4 grup altında incelenmiştir. Bunlar *Pardosa proxima*’ yı içeren grup; P34,P47,P33,P26,P20,P18,P10,P4, P3,P21,P57,P35,P38,P11,P12,P55,P59 kodlarına sahiptir; *Pardosa birmanica*’ ya dahil örnekler; P5,P17,P40,P45,P46,P51 şeklindedir. *Pardosa tatarica* türü olarak belirlenen örnekler; P50, P56, P43, P8, P79, P44 kodlarına sahiptir. Bunlar arasında P50, P56, P43 örnekleri *Pardosa tatarica* dışında *P. fulvipes*, *P. prativaga* ve *P. groelandica* türleri ile de %91-99 aralığında eşleşmişlerdir. DNA barkotlama çalışmalarında tür içi benzerlik % 3 den az olmasından kaynaklanmaktadır. Aynı cins içinde türler arası benzerlikler ise %10-25

arasında benzerlik gözlenmektedir. Diğer bir grup ise *Pardosa italica*'dır ve bu grupta sadece P54 kodlu örnek yer almaktadır.



Şekil 4.2. *Pardosa* türlerini içeren filogenetik ağaç

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırma Gaziantep ilinde bulunan Lycosidae familyasına ait *Pardosa* cinsi örümceklerin morfolojik ve moleküler verilerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Gaziantep iline ait 9 ilçede (Şahinbey, Şehitkâmil, Nizip, Oğuzeli, Karkamış, Araban, Yavuzeli, Nurdağı, İslahiye) düzenli aralıklarla arazi çıkışları gerçekleştirildi. Nizip, Oğuzeli ve Karkamış ilçeleri oldukça geniş tarım arazilerine sahiptir. Adı geçen ilçelerde örnek yakalamada sıkıntılar yaşanmasına rağmen Araban, İslahiye, Şahinbey, Şehitkâmil ve Nurdağı ilçelerinde Lycosidae familyasına ait örnekler rahatlıkla toplanabilmektedir. Kurt örümcekler yerde aktif gezinen örneklerdir ve her türlü habitatda rahatlıkla yaşayabilmektedir. Özellikle bu familya üyeleri taşlık, çalılık alanları, su kenarlarını, orman açıklıklarını, tarım alanlarını tercih etmektedirler.

Tarımsal alanlarda örümcekler zararlı böceklerin doğal kontrolünde önemli rol oynarlar. Bu tür zararlıların biyokontrolünde bu böcekler üzerinden direkt beslenen predatör hayvanlar veya zararlı böceklerin yumurta veya larvalarına saldıran, onları tüketen, parazitleyen hayvanlar kullanılmaktadır. Bazı örümcek türleri hariç birçoğu koloni oluşturmaz ve kannibalistik yaygındır. Bu durum biyokontrolde dezavantaj oluşturur. Gerek avlanmak için ağ ören örümcekler, gerekse av yakalamak için ağ kurmayan yer örümceklerinin tarımsal ortamlarda böcekler için etkili predatörler olduğu birçok ekolog tarafından kabul görmüştür (Nyffeler ve Benz, 1987). Ziraî açıdan önemli bir yeri olan çalışma bölgesinde örümceklerin listesinin belirlenmesi, biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması önemli bir adımdır.

Gaziantep ilinde 2014 yılında yapılan arazi çıkışları neticesinde 9 ilçeye ait 36 farklı lokaliteden *Pardosa* cinsine ait örnekler yakalanmıştır. Araştırma bölgesine düzenli olarak arazi çıkışları neticesinde Lycosidler toplanmış ve %96' lık ethanol içerisinde

laboratuvara getirilmiştir. Elde edilen örnekler hem morfolojik hemde moleküler çalışmalar için -20 °C de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Örnekler öncelikle cins bazında morfolojik olarak tayin edilmiştir. Bu anlamda gözlerin sayısı, keliser şekli, keliserlerdeki diş sayısı, diş sayısı, prosomanın yapısı, foveanın yapısı gibi morfolojik özelliklere bakılarak *Pardosa* cinsi ayırılmıştır. Adı geçen cins ayırımında oldukça zorlanılmıştır. *Pardosa* cinsi örneklerinin prosomasının morfolojisi ve keliserdeki dişleri bakımından *Alopecosa*, *Arctosa* ve *Hogna* ile yakın benzerlik göstermektedir. Ayrıca *Pardosa* örnekleri vücut uzunluğu bakımından standart bir yere konulamadığı için bu anlamda daha büyük örnekler olan *Lycosa*, *Acantholycosa* ile morfolojik olarak benzetilmektedir. Çalışmamızda özellikle erginaltı örnekleri cins bazında net olarak tanımlamamız mümkün olmadığından *Hogna*, *Lycosa*, *Alopecoca* cinsleri belirlenmiştir. Morfolojik olarak yavru örneklerden belirlenemeyen bu cinsler moleküler analizler neticesinde belirlenmiştir.

Ülkemizde Lycosidae familyası 15 cins ve 87 türe sahiptir (Bayramvd, 2014). *Pardosa* familya içerisinde 36 türle en fazla türe sahip cinstir. *Pardosa* üzerinde yapılan morfolojik çalışmalar neticesinde ergin örnekler tür bazında tayin edildi ve *Pardosa proxima*, *P.tatarica*, *P. italica*, *P. birmanica* olarak belirlenirken ergin altı örnekler tür bazında belirlenemedi. Yavru örneklerin tür tespitlerinin yapılabilmesi için dizi analizleri verileri kullanıldı. Analiz örnekleri Boldsistem V4 te bulunan identification aşaması kullanılarak belirlendi. Diziler tek tek çift yönlü olarak düzeltildi ve kaydedildiken sonra boldsystem v4 e tek tek girilerek tür tanımlamaları yapıldı. Ergin olmayan örnekler de erginler gibi %100-96 benzerlik aralığında tayin edildi ve *Pardosa proxima*, *P.birmanica*, *P italica* ve *P. tatarica* olarak belirlendi.

Tez kapsamında hem ergin örnekler hemde erginaltı örnekler moleküler ve morfolojik olarak incelendi. Morfolojik olarak elde edilen türler ile moleküler olarak dizileri kıyaslanan türler karşılaştırıldı ve aynı türler tespit edildi. Ergin örnekler ait 3 tür belirlenirken yavru örneklerin analizi neticesinde erginlere ilaveten 1 tür daha eklenmiş ve toplam 4 tür tespit edilmiştir.

Yapılan filogenetik ağaçta Neighbou-joining istatistiksel metodu kullanılmış ve ağaç yapımında Bootstrap metodu uygulanmıştır. Bootstrap metodu 1000 tekrarlılık tercih edilmiştir. Bu testte 100%100 üzerinden doğrulama testidir, 1000 tekrarda doğruluk oranını göstermektedir. *Pardosa proxima* olarak tayin ettiğimiz örneklerin tümü

kendi içinde kıyaslandığında %82 benzerlik göstermektedir. Tür içi örneklerinin analizinde %97-98 benzerlik göstermektedir. *Pardosa birmanica* grubundaki 6 örneği incelediğimizde ise %99 benzerlik göstermektedir. Yani Bu örneklerin DNA dizileri tür içinde %99 yakınlığa sahiptir. *Pardosa tatarica*’ ya dahil örnekler %87 ve %76 benzerlik gösteren dizilere sahiptirler. Son olarak ise *Pardosa italica* örneği tek bir erginaltı örnektir ve %99 benzerlik göstermektedir.

Çalışma ile elde edilen veriler morfolojik verilerle uyumluluk göstermektedir. Bu anlamda ülkemizde örümcekler üzerine yapılan ilk moleküler tanımlama çalışmasıdır. Sonuçların morfolojik sonuçlarla uyumlu olması moleküler verilerin morfoloji ile kıyaslanması gerektiğini bir kez daha desteklemiştir.

Tez ile Ülkemizde daha önce kaydedilen türler yeni lokaliteler ile desteklenmiş ve *Pardosa birmanica* ilk kez kaydedilmiştir. Veriler ile ilk kez tüm aşamaları ülkemizde gerçekleştirilen bir DNA barkotlama çalışması gerçekleştirilmiştir. Veribankalarında ülkemize ait çalışmalar bulunmaktadır ancak örnekler ülkemiz dışındaki zooloji müzelerinde görülmektedir. Çalışmadaki tüm örnekler ve veriler Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü laboratuvar ve müzesinde yer almaktadır.

Tez kapsamında Gaziantep ili ve ilçeleri çalışılmıştır. İl kapsamında 2004 yılına Akpınar (Özdemir) tarafından bir ‘ Nizip ve Karkamış (Gaziantep) Örümceklerinin (Arachnida: Araneae) Sistematigi ve Ekolojisi ‘ isimli yüksek Lisans tezi tamamlanmıştır. Ancak adı geçen çalışmada sadece ile ait 2 ilçe çalışılmış ve bu ilçelerdeki tüm familyalar araştırılmıştır. ‘***Pardosa (Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerin DNA Barcode ile Moleküler olarak Tanımlanması***’ başlıklı çalışmada ile ait 9 ilçe araştırılmış ve sadece Lycosidae familyasına ait *Pardosa* cinsi çalışılmıştır. Ayrıca tür tanımlamasına dâhil edilmeyen erginaltı örnekler moleküler olarak analiz edilmiş ve erginler ile uyumlu türler elde edilmiştir.

Proje dâhilinde elde edilen veriler bölgede tamamlanan yüksek lisans tezinin verileri ile kıyaslandığında *Pardosa proxima* türünün her iki çalışmada da ortak tür olduğu belirlenmiştir.

Çalışma dâhilinde DNA dizileri uygun olan ergin ve yavru örnekler moleküler olarak çalışılmış ve elde edilen sonuçlar morfolojik verilerle uyumlu çıkmıştır. Bu anlamda 30 *Pardosa* örneği araştırılmış ve tür bazında değerlendirilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 5.1. Pardosa cinsine ait türlerin morfolojik ve moleküler verileri

Örnek no	Yavru/dişi/erkek	Morfolojik tanımlama	Moleküler tanımlama
P3	Yavru	yapılamadı	<i>P. proxima</i>
P4	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P5	yavru	yapılamadı	<i>P. birmanica</i>
P8	yavru	yapılamadı	<i>P. tatarica</i>
P10	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P11	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P12	yavru	yapılamadı	<i>P. proxima</i>
P15	erkek	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P17	dişi	<i>Pardosa sp.</i>	<i>P. birmanica</i>
P18	erkek	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P19	yavru	yapılamadı	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P20	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P21	erkek	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P26	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P28	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P31	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P33	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P34	sub	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P35	erkek	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P37	Dişi	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P38	Erkek	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P39	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P40	erkek	<i>P birmanica</i>	<i>P. birmanica</i>
P41	yavru	yapılamadı	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P 42	yavru	yapılamadı	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P43	yavru	Yapılamadı	<i>Pardosa tatarica</i>
P44	Erkek	<i>P. tatarica</i>	<i>P tatarica</i>
P45	yavru	Yapılamadı	<i>P. birmanica</i>
P46	yavru	yapılamadı	<i>P. birmanica</i>
P47	yavru	Yapılamadı	<i>P. proxima</i>
P49	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (Sekans iyi değil)
P50	yavru	yapılamadı	<i>P. tatarica</i>
P51	yavru	yapılamadı	<i>Pardosa birmanica</i>
P52	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P53	yavru	yapılamadı	<i>P. proxima</i>
P54	Dişi	<i>P. italica</i>	<i>Pardosa italica</i>
P55	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P56	yavru	yapılamadı	<i>Pardosa tatarica</i>
P57	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P58	dişi	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P59	dişi	<i>P. proxima</i>	<i>P. proxima</i>
P64	erkek	<i>P. proxima</i>	Yapılamadı (sekans iyi değil)
P79	dişi	yapılamadı	<i>P. tatarica</i>

Tablo 5.1’ de verildiği üzere *Pardosa* cinsi olduğu bilinen ergin örneklerin bazılarının sekans verileri düzgün olmadığı için moleküler olarak analiz edilememiştir. Bu sebeple filogenetik ağaç oluşumunda bu türler kullanılmamıştır. Aynı şekilde erginaltı örneklerde de morfolojik veriler kullanılamadığı için sadece moleküler veriler değerlendirilebildi.

Çalışma neticesinde Gaziantep iline ait 9 ilçe kapsamında yapılan bu araştırma ile, il genelindeki Lycosidae familyası verileri elde edilmiştir. Bu veriler içerisinde *Pardosa* cinsi detaylı olarak araştırılmıştır. Cinse dahil tüm örnekler DNA barkotlamaya tabi tutulmuştur. Ergin örneklerin morfolojilerinin çalışılması sonucunda *Pardosa proxima*, *P. tatarica*, *P. italica* ve *P. birmanica* türleri elde edilmiştir.

Tez kapsamında ilk kez *Pardosa birmanica* türü Türkiye örümcek envanterine eklenmiştir.

Ergin örnekler hem morfolojik hem moleküler olarak analiz edilmelerine karşın, erginaltı örnekler sadece moleküler olarak araştırılmıştır ve ergin örnekler ile aynı türler elde edilmiştir. Bu da morfolojik çalışmaların moleküler analizleri ile desteklenmesinin sağlam temellere oturacağını gösterecektir.

Verilerin morfoloji ve moleküler olarak kıyaslanması ve sonuçların anlamlı olması sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

Ayrıca çalışma ile Türkiye örümcek envanterinin morfolojinin yanısıra moleküler çalışmalarla da desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Çalışma Türkiye örümcek listesini içeren veribankası oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akpınar A. (2011). Kahramanmaraş ve Adıyaman illerinin örümek (Arachnida: Araneae) Faunası, sistematigi ve zoocoğrafik dağılışları. (Doktora tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 222s.
- Alicata, P. (1974). Su una nuova specie di Harpactea (Araneae, Dysderidae) della Turchia *Animalia*, **1**, 69-72.
- Astrin, H Uber, Mısof, Klütsch, (2006). Molecular Taxonomy In Pholcid Spiders (Pholcidae, Araneae): Evaluation Of Species Identification Methods Using Co1 And 16s Rrna. **35**, 441-457
- Awise JC. (1998). Comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene.
- Awise, J.C. (2000). Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 447 pp.
- Azarkina, G. (2002). New and poorly known species of the genus Aelurillus Simon, 1884 from Central Asia, Asia Minor and the Eastern Mediterranean (Araneae: Salticidae), *Bull. Br. arachnol. Soc.*, **12**(6), 249-263.
- Azarkina, G. (2004). New and poorly known Palaearctic species of the genus Phlegra Simon, 1876 (Araneae, Salticidae), *Revue Arachnol.*, **14**, 73-108.
- Barrett, R. D. H., Hebert, P. D. N. (2005). Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, **83**, 481–491.
- Barrion A. T., Litsinger J. A. (1995). Riceland Spiders of South and Southeast Asia, *International Rice Research Institute*, 355 pp.
- Bayram, A., Kunt, K.B., Danışman, T. (2014). The Checklist of the Spiders of Turkey (Araneae; Arachnida) Version 2014, <http://www.kazimcapaci.com/spidersofturkey.htm>.
- Bayram, A. (1993). Ecological studies on wolf spiders (Lycosidae, Araneae) in a mixed agricultural situation (Doktora Tezi). University of Newcastle upon Tyne, England. 328 p.
- Bayram. A., Varol. M. İ., 2003. Türkiye örümcekleri (Araneae: Gnaphosidae) için yeni kayıt, *Poecilochroa variana*. *Zoology in the Middle East* **30**: 101–104
- Birben E. (2006). Polimeraz zincir reaksiyonu. *Astım Allerji İmmünoloji*, **4**, 92-94.

- Blagoev, Nadya I Nikolova, Crystal N Sobel, Paul DN Hebert, and Sarah J Adamowicz (2013). Spiders (Araneae) of Churchill, Manitoba: DNA barcodes and morphology reveal high specie diversity and new Canadian record.
- Blagoev GA, deWaard JR, Ratnasingham S, deWaard SL, Lu L, Robertson J, Telfer AC, Hebert PD. (2015). Untangling taxonomy: a DNA barcode reference library for Canadian spiders.
- Bosmans, R. (1997). Revision of the Genus *Zodarion* Walckenaer, 1833, part II. Western and Central Europe, including Italy (Araneae: Zodariidae), *Bull. Br. Arachnol. Soc.*, **10** (8), 265-294.
- Buchar, J., Thaler, K., Über (2002). *Pardosa atomaria* (C.L. Koch) und andere Pardosa- Arten an Geröllufeln in Süd-und Mitteleuropa (Araneae, Lycosidae), *Linzer biol. Beitr.*, **34**, 445-465.
- Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L. (2011). DNA Barcoding of Marine Metazoa. *Annual Reviews of Marine Science*. **3**, 471-508.
- Candek, Kuntner, (2014). DNA barcoding gap: reliable species identification over morphological and geographical scale. *Molecular Ecology Resources*, **15**, 268-277.
- Casiraghi, M., Labra, M., Ferri, E., Galimberti, A. & De Mattia, F. (2010). DNA barcoding: a six-question tour to improve user' awareness about the method. *Briefings in Bioinformatics*, **2**, 440–453.
- Cooper JK, Sykes G, King S, Cottrill K, Ivanova NV, Hanner R, Ikonomi P. (2007). Species identification in cell culture: a two-pronged molecular approach. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*. **43**, 344-351.
- Çed, İzin Ve Denetim Şube Müdürlüğü (2013). 2012 Yılı Gaziantep İl Çevre Durum Raporu. Gaziantep, Türkiye.
- Edgar, W.D. (1970). Prey and feeding behaviour of adult females of the wolf spider *Pardosa amentata* (Clerck), Netherlands, *Journal of Zoology*, **20**, 487-491.
- Franzini P. Z. N., Dippenaar-Schoeman A. S., K. Yessoufou and F. H. Van der Bank (2013). Combined analyses of genetic and morphological data indicate more than one species of *Cyrtophora* (Araneae: Araneidae) in South Africa.
- Foelix, R. I. (1996). *Biology of Spiders*, Oxford Universty Pres, Inc. and Georg Tieme Verlag-Oxford, 330 pp.
- Fukami H, Knowlton (2005). N. Analysis of complete mitochondrial DNA sequences of three members of the *Montastraea annularis* coral species complex (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia).
- Funk, D. J. & Omland, K. E. (2003) Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insight from animal

mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 397–423.

Gasparo, F. (2002). Notes on *Hoplopholcus patrizii* (Roewer, 1962), with description of the male (Araneae, Pholcidae), *Boll. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino*, **19**, 291-296.

Gasparo, F. (2008). Descrizione di una nuova specie del genere *Dysdera* Latreille, 1804, di Turchia (Araneae, Dysderidae), *Boll. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino*, Vol: **25**, 499-504.

Gasparo, (2009). F., Note su *Tegenaria percuriosa* Brignoli, 1972 con descrizione del maschio (Araneae, Agelenidae), *Atti e Mem. Del. Com. Grotte "E Boegan"* Vol: **41**, 95- 113.

Griswold, C. E. (1990). A revision and phylogenetic analysis of the spider subfamily Phyxelidinae (Araneae, Amaurobiidae), *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 196: 1-206.

Guy, Y. (1966). Contribution à l'étude des araignées de la famille des Lycosidae et de la sousfamille des Lycosinae avec étude spéciale des espèces du Maroc. *Trav. Inst. Scient. chérif (Zool.)*, **33**, 1-174.

Hajibabaei, M., Janzen, D. H., Burns, J. M., Hallwachs, W. & Hebert, P. D. (2006) DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 968–871.

Hajibabaei M, Singer GA, Hebert PD, Hickey DA. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics.

Hebert P. D. N., Cywinska A, Shelley L. Balland Jeremy R. deWaard. (2003). Biological identifications through DNA barcodes.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*. **270**, 313-321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, Dewaard JR. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*. **270**, 96-99.

Hogg and Hebert (2004). Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *The NRC Research*, 82, 749–754.

Hebert, P. D. N. & Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, **54**, 852–859.

Heimer, S., Nentwig, W., (1991). *Spinnen von Mitteleuropas*, Verlag Paul Parey. Berlin. 628 p.

- Hogg ID, Hebert PDN. (2004). Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes.
- Huang, Meier, Todd, Chou (2008). Slow Mitochondrial COI Sequence Evolution at the Base of the Metazoan Tree and Its Implications for DNA Barcoding. *Springer Journals*.
- Karol, S., (1967b). Türkiye Örümcekleri 1. Ön Liste, Ankara Üniversitesi Basımevi, 109, 34.
- Kerr, K. C. R., Stoeckle, M. Y., Dove, C. J., Weigt, L. A., Francis, C. M. & Hebert, P. D. N. (2007). Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular Ecology Notes*, 7, 535–543.
- Kathrin A. Sim. (2013). Genetic analysis of *Pardosa* wolf spiders (Araneae: Lycosidae) across the northern Nearctic, Department of Natural Resource Sciences McGill University, Montreal.
- Keskin, Atar (2013). DNA Barkodlama: Mitokondriyal COI Geni Kullanılarak Moleküler Tanımlama. *Türk Bilimsel Derleme Dergisi*.
- Levi, W. H. And Levi, L.R. (1990). A Gold Guide: Spider and Their Kin, New York.
- Locket, (1951). G. H. and Millidge, A. F., British Spiders. Vol. I. *The Ray Society*, London, pp: 436.
- Locket, G. H. and Millidge, A. F. (1953). British Spiders. Vol. II. *The Ray Society*, London, pp: 499.
- Masta and Boore (2004). The Complete Mitochondrial Genome Sequence of the Spider *Habronattus oregonensis* Reveals Rearranged and Extremely Truncated tRNAs. *Oxford journals.*, 21(5), 893-902.
- Medina, M., Ernesto Weil, Alina M. Szmant (1999). Examination of the *Montastraea annularis* Species Complex (Cnidaria: Scleractinia) Using ITS and COI Sequences.
- Meyer CP, Paulay G. (2005). DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. *Plos Biology*. 3(12), 2229-2238.
- Millidge, A. F. (1981). A revision of the genus *Gonatium* (Araneae: Linyphiidae), *Bull. Br. Arachnol. Soc.*, 5, 253-277.
- Nyffeler, M. & Benz, G., (1988). Feeding ecology and predatory importance of wolf spiders (*Pardosa spp.*) (Araneae, Lycosidae) in winter wheat fields, *J. appl. entomol.*, 106, 123-134.
- Özdemir, A. (2004). Nizip ve Karkamış (Gaziantep) Örümceklerinin Sistematığı ve Ekolojisi, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 77.
- Preston, K. (1982). Identifying Spiders, Chartwell Books, Inc., Mafham.

- Ratnasingham and Hebert (2013). A DNA-Based Registry for All Animal Species: The Barcode Index Number (BIN) System. *Plos journals*. **8**(8).
- Roberts, M. J. (1985). The Spiders of Great Britain and Ireland, Vol 1-3. Harley Books. Cochester, pp: 951.
- Roberts, M. J. 1(995). The Spiders of Great Britain and Ireland, Vol 1-3. Harley Books. Cochester, pp: 682.
- Roberts, M. J., Collins Field (1995). Guide Spiders of Britain and Nothern Europe, London, 12-383 pp.
- Roewer, C. F., 1942. Katologe der Araneae von 1758 bis 1940. I.band. Natura Verlag, 1040, Bremen.
- Roewer, C. F., 1954. Katologe der Araneae von 1758 bis 1940. II.band. Natura Verlag, 1751, Bremen.
- Rossi, F. W. (1846). Neue Arten von Arachniden des Museums, beschrieben und mit Bemerkungen über verwandte Formen begleitet, *Naturw. Abh. Wien* **1**, 11-19.
- Sanger, f., Nicklen, S., Coulson, A.R., DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. (1977), *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **74**, 5463-7.
- Saunders GW. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*. **360**, 1879-1888.
- Seifert KA, Samson RA, deWaard JR, Houbraken J, Levesque CA, Moncalvo JM, Louis-Seize G, Hebert PDN. (2007). Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. *Proc Natl Acad Sci*. **104** (10): 3901– 3906.
- Shearer TL, Oppen MJ, Romano SL, Wörheide G. (2002). Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Ecology*. **11**, 475-87.
- Slowik J, Gergin A. Blagoev. (2012). A survey of spiders (Arachnida: Araneae) of Prince of Wales Island, Alaska; combining morphological and DNA barcode identification techniques.
- Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ. (1986). "Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis". *Nature* **321** (6071), 674–9.
- Tyschchenko, V. P. (1917). İdentification Key to Spiders of the European USSR, Leningrad, *Opred Faune USSR* 105, pp: 281.
- Varol, M. İ. (2001). *Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Yer Örümceklerinin Faunası, Ekolojisi ve Sistematigi* (Doktora Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.132s.

- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R. & Hebert, P. D. (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **360**, 1847–1857.
- Waugh J. (2007). DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *Bioessays*. **29**, 188-197.
- World Spider Catalog (2016). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 17.0.

