

OCAK 2017

Yüksek Lisans – Biyoloji Bölümü

DERYA ARSLAN

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZİANTEP İLİ *ALOPECOSA* CİNSİ (ARANEAE:
LYCOSIDAE) ÖRÜMCEKLERİN DNA BARKOD İLE
MOLEKÜLER TANIMLANMASI**

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS

DERYA ARSLAN

OCAK 2017

**Gaziantep İli *Alopecosa* Cinsi (Araneae: Lycosidae)
Örümceklerin DNA Barkod ile Moleküler Tanımlanması**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Yrd. Doç. Dr. Türkan GÜRER

Derya ARSLAN

Ocak 2017



© 2017 [Derya ARSLAN]

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

Tezin Adı: Gaziantep İli *Alopecosa* Cinsi (Araneae: Lycosidae) Örümceklerin DNA
Barkod İle Moleküler Tanımlanması

Öğrencinin, Adı Soyadı: Derya ARSLAN

Tez Savunma Tarihi: 05.01.2017

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Prof. Dr. A. Necmettin YAZICI

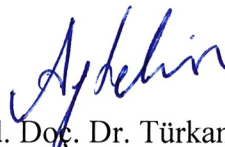
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans 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 GÜRER
İkinci Tez Danışmanı


Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

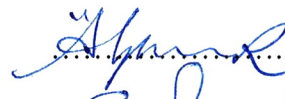
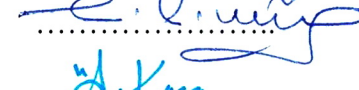
Jüri Üyeleri :

Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Doç. Dr. Murat KÜTÜK

Yrd. Doç. Dr. Ayça ÖZKAN KOCA

İmzası


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

Derya ARSLAN

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION OF *ALOPECOSA* GENUS (ARANEAE: LYCOSIDAE) WITH DNA BARCODE ANALYSIS IN GAZİANTEP

ARSLAN, Derya

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Adile AKPINAR

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Türkan GÜNER

January 2017, 54 pages

In this study, spiders of the genus *Alopecosa* (Aranae: Lycosidae) collected from in Gaziantep province were characterized using morphological and molecular methods. Between the months of February-November 2014, 76 samples were analyzed. On the basis of morphological study of only the adult individuals, 4 species (*Alopecosa aculeata* (Clerck, 1757) , *A. kuntzi* Denis, 1953, *A. cuneata* (Clerck, 1757) and *A. accentuata* (Latreille, 1817) 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, *Alopecosa kuntzi* was newly registered to the Turkey spider inventory.

Keywords: *Alopecosa*, COI, DNA barcoding, Gaziantep, spider.

ÖZET

GAZİANTEP İLİ *ALOPECOSA* CİNSİ (ARANEAE: LYCOSIDAE) ÖRÜMCEKLERİN DNA BARKOD İLE MOLEKÜLER TANIMLANMASI

ARSLAN, Derya

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticileri: Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR

Yrd. Doç. Dr. Türkan GÜRER

Ocak 2017, 54 sayfa

Bu çalışmada, Gaziantep ilinden toplanan *Alopecosa* cinsi (Araneae: Lycosidae) örümcekler morfolojik ve moleküler yönden araştırılmıştır. 2014 yılı Şubat-Aralık ayları arasında yakalanan 76 örnek incelenmiştir. Örümceklerin morfolojik çalışmaları neticesinde sadece erginleri içeren 4 tür (*Alopecosa aculeata* (Clerck, 1757), *A. kuntzi* Denis, 1953, *A. cuneata* (Clerck, 1757) ve *A. accentuata* (Latreille, 1817) elde edilmiştir. *Alopecosa* 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 uyumuştur. Çalışma neticesinde *Alopecosa kuntzi* Türkiye örümcek envanteri için yeni bir kayıt olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Alopecosa*, COI, DNA barkodlama, Gaziantep, örümcek.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasında öncü olan, beni her zaman anlayış ve sabırla karşılayan ve destekleyen, tecrübeleriyle bize yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Adile AKPINAR'a

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde uygun bir laboratuvar ortamı sağlayan Sayın Bölüm Başkan'ı Prof. Dr.Filiz Özbaş GERÇEKER' e,

Tüm deney çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen, ihtiyaç duyduğumuz bütün çalışma koşullarının gerçekleşmesini sağlayan Sayın Prof. Dr. Canan CAN' a,

Bilgileriyle bize yol gösteren, ihtiyaç duyduğumuz her an yardımlarını bizden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Türkan GÜRER'e,

Tezle ilgili araştırmalarımnda yardımları ve bilgileriyle bana yol gösteren Arş. Gör. Fatih YAYLA' ya

Arazi çalışmalarımnda beni yalnız bırakmayan ekip arkadaşım Biyolog Hasan Hüseyin YAZ'a, laboratuvar çalışmalarımnda bana destek olan güler yüzüyle sıkıntılı anlarımda beni rahatlatan çalışma arkadaşım Uzman Biyolog Aynur YÜNCÜ'ye,

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Doktorant Serap ŞAHİN YİĞİT'e ve çalışmalarımın son aşamalarında beni yalnız bırakmayan, bana tezimde destek veren Doktorant İmran UYSAL'a,

Benim en büyük destekçilerim maddi ve manevi yönden her zaman yanımda olan, bana bu çalışma sürecinde sabır gösteren aileme

Çalışmalarımı rahat bir şekilde sürdürebilmemde katkısı olan ve maddi olanak sağlayan FEF.15.05 nolu '*Alopecosa*(Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerin Morfolojik ve Moleküler olarak Belirlenmesi' isimli BAP Projesi' ne

Teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	v
ÖZET	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1. Lycosidae Familyasının Karakteristik Özellikleri ve Araneae Takımı İçerisindeki Yeri	2
1.2. COI Gen Bölgesi ve DNA Barkodlama	6
BÖLÜM 2	12
LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	12
BÖLÜM 3	16
MATERYAL VE METOD	16
3.1.MATERYAL	16
3.1.1.Araştırma Bölgesinin Tanımı	16
3.1.1.1.Gaziantep İlinin Coğrafyası	16
3.2.METOD	18
3.2.1.Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar	18
3.2.2.Laboratuar Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar	18
3.2.3.Çalışmada Kullanılan Cihazlar	18

3.2.4. Morfolojik ve Moleküler Çalışmalar	19
3.2.4.1. Morfolojik Çalışmalar:	19
3.2.4.2. Moleküler Çalışmalar:	20
3.2.4.2.1. DNA İzolasyonu	20
3.2.4.2.2. Spektrofotometrik Analiz	21
3.2.4.2.3. PCR Çalışmaları	21
3.2.4.2.4. Agaroze Jel Elektrophorezi	23
3.2.4.2.5. Sekans İşlemleri	24
3.2.4.2.6. Filogenetik Analizler	24
BÖLÜM 4	25
ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Arazi Çalışmaları	25
4.1.1. Familya: LYCOSIDAE (Sundevall, 1833)	25
4.1.2. Cins: <i>Alopecosa</i> (Simon, 1885)	26
4.1.2.1. <i>Alopecosa accentuata</i> (Latreille, 1817)	26
4.1.2.2. <i>Alopecosa cuneata</i> (Clerck, 1757)	27
4.1.2.3. <i>Alopecosa aculeata</i> (Clerck, 1757)	27
4.1.2.4. <i>Alopecosa kuntzi</i> (Denis, 1953)	28
4.1.3. DNA Konsantrasyonları	28
4.1.4. <i>Alopecosa</i> Cinsi Örümceklerde COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu Sonucunda Elde Edilen Agaroze Jel Elektrophorez Görüntüleri	30
4.1.5. Filogenetik Analizler	30
BÖLÜM 5	34
TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR	38
EKLER	45

TABLÖLAR DİZİNİ

	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	23
Tablo 3.4. PCR işleminin yapıldığı ısı döngüleri	23
Tablo 4.1. <i>Alopecosa</i> türlerine ait örneklerin DNA konsantrasyonları (ng/μl) ve DNA saflık oranları (A260/280) (μg/ml).....	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Örümceğin genel yapısı	4
Şekil 1.2. Lycosidae familyasında bacağın kısımları; cx: koksa, tro: trokanter, fe: femur, pat: patella, tib: tibia, met: metatarsus, tar: Tarsus)	4
Şekil 1.3. Lycosidae familyası dişi eşey organı. (♀) Epijin	5
Şekil 1.4. Lycosidae familyası eşey organı (♂) Pedipalp	5
Şekil 1.5. Mitokondriyal genoma ait COI gen bölgesi	7
Şekil 1.6. Barkod dizilerinin tespitinde kullanılan barkodlama açıklığı	10
Şekil 4.1. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Marker (100-200-300-400-500-600-700-800-900-1000 bç), 1-11: PCR ürünleri	30
Şekil 4.2. <i>Alopecosa</i> türlerini içeren Neighbour-Joining soy ağacı	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Açıklama

♂

Erkek

♀

Dişi

°C

Santigrat Derece

%

Yüzde

&

Ve

µl

Mikrolitre

µg

Mikrogram

°

Enlem ve Boylamda Derece

'

Enlem ve Boylamda Dakika

Kısaltmalar

Açıklama

A260/A280

DNA Konsantrasyonu

AE

Çözücü Çözeltisi

AL

Alopecosa

AW1

Yıkama Çözeltisi 1

AW2

Yıkama Çözeltisi 2

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
ey	Gözler
F	İleri Primer
Fe	Femur
G	Guanin
KOH	Potasyum Hidroksit
leg	Bacaklar
list	Liste
l	Litre
met	Metatarsus
mm	Milimetre
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribo Nükleik Asit
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
Ng	Nanogram
OH	Hidroksit
op	Opistosoma
pat	Patella
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ped	Pedisel
pp	Pedipalp
R	Geri Primer
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı

sn	Saniye
sp.	Tür
spin	Örü Memeleri
sub.	Ergin Altı
tar	Tarsus
TBE	Tris Borik asit EDTA
tib	Tibia
tro	Trokanter
vd.	Ve diğerleri

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Omurgasızlar, dünyada olduğu gibi ülkemizde de en geniş canlı grubunu oluşturmaktadır. Türkiye’de 60.000-80.000 arasında omurgasız hayvan türü olduğu tahmin edilmektedir ve günümüze kadar bunların yaklaşık 1/3’ü tanımlanabilmiştir. Omurgasız hayvanlar ekosistemlerin düzenli olarak işlemesi için hayati öneme sahiptirler. Henüz tamamıyla araştırılmamış ve ortaya çıkarılamamış bir alan olan Türkiye omurgasızları önemli bir genetik zenginlik oluşturmaktadır (T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, 2016). Dünyada Aracnida sınıfının yaklaşık 70.000 üyesi var olduğu bilinmekte ve %90’ını Araneae ve Acarina takımları oluşturmaktadır. Bilinen 1960 ilkel, 40.000 gelişmiş örümcek vardır (Bayram vd., 2014). Türkiye faunasının en önemli özelliklerinden biri bölgenin çok farklı ekosistemler içermesi nedeniyle yüksek oranda endemik türe sahip olmasıdır. Türkiye’de omurgasız hayvanların envanter çalışmaları tam olarak yapılmadığından ve bu canlı grubunun tahmin edilen tür sayısı yüksek olduğundan dolayı önemli dağılım alanları tam olarak tespit edilememektedir. Genel olarak omurgasız hayvanların farklı türleri akarsular, göller, ormanlık alanlar ve bozkır gibi doğal ortamlarda bulunmaktadır.

Dünyada yaşayan hayvanlar arasında tür açısından ve birey açısından da en zengin grubu olan her geçen gün artarak ilerleyen yeni fertlerin tespiti ile sayıları artan böcekler (Insecta), eklembacaklılar (Arthropoda) şubesinde yer almaktadırlar. Solifuguae (silindir örümcekler), 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).

Aracnida tür sayısı bakımından zengin bir sınıftır. Örümcekler, akarlar, akrepler ve keneler bu sınıfa girer. Boy ve şekil bakımından değişik yapılar göstermektedirler. Mikroskobik olanların yanı sıra çok iri türleri de vardır. Örümceklerin bilinen en eski

fosil kayıtları 300 milyon yıl öncesi karbonifer periyoda aittir ve günümüze kadar morfolojilerindeki değişim çok az olmuştur.

Örümcekler ayrı eşeye sahip canlılardır. Erkek ve dişilerinin boyutları birbirinden farklı olabilmektedir (Özdemir, 2004). Çoğu etçil (carnivora, zoophag) olmakla beraber yılın farklı zamanlarında farklı şekillerde beslenmektedirler (Edgar, 1970) ve bu beslenmelerinin etkileri dişilerde kokon yapımını etkilemektedirler. Bazılarında zehir bezleri bulunmakta, bazılarında ise ağ bezleri görülmektedir. Ağ, yuva yapma sırasında, avlanmada veya yumurtaları korumak gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (World Spider Katalog, 2014).

Örümcekler Everest dağının zirvesinden deniz kıyılarına kadar her türlü ekosistem ve habitatta yaşayabilme özelliğine sahip canlılardır. Karasal ortamlarda yaşayan örümcekler tarımsal ekosistemlerde özellikle böceklerin etkili predatörü olarak görev yapmaktadırlar (Varol, 2001). Ayrıca omurgalılar içinde balıklar, amfibiler, sürüngenler, kuşlar ve özellikle kemiriciler gibi birçok canlının da besin kaynaklarını oluşturmaktadırlar. Amfibiler arasında ise genellikle karakurbağalarının en çok örümceklerle beslendiği düşünülmektedir (Özdemir, 2004).

Gövdeleri prosoma (sefalotoraks) ve opistosoma (abdomen) olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Prosomada 6 çift ekstremite bulunur. Opistosomada ekstremite bulunmaz. Ekstremiteler önden arkaya doğru keliser, pedipalpus ve dört çift yürüme bacağından meydana gelir. Bacak segmentleri *coxa*, *trochanter*, *femur*, *patella*, *tibia*, *basitarsus* ve *tarsus* olarak adlandırılır (Özdemir, 2004).

Örümcek familyaları arasında gözler farklı karakteristik özellikler göstermektedir ve gözlerinin sıralanışı sınıflandırmada büyük bir önem taşımaktadır.

1.1. Lycosidae Familyasının Karakteristik Özellikleri ve Araneae Takımı İçerisindeki Yeri

Lycosidae (kurt örümcekleri) familyası 123 cins ve 2403 tür ile dünyanın 4. büyük örümcek familyasını oluşturmaktadır (World Spider Katalog, 2016). Lycosidae familyası, Araneomorphae (Labidognatha) alttakımında yer almaktadır.

Regnum (Alem)	: Animalia (Hayvanlar Alemi)
Subregnum (Altalem)	: Metazoa (Çok hücreli hayvanlar)
Phylum (Şube)	: Arthropoda (Eklembacaklılar)
Subphylum (Altşube)	: Chelicerata (Keliserliler)
Classis (Sınıf)	: Arachnida (Örümcekgiller)
Ordo (Takım)	: Araneida (Örümcekler)
Suborder I (Alttakım)	: Mesothelae
Suborder II (Alttakım)	: Orthognatha (Mygalomorphae, primitive spiders)
Suborder III (Alttakım)	: Labidognatha (Araneomorphae, modern spiders)
Infraorder	: Araneomorphae
Superfamily	: Lycosoidea
Family	: Lycosidae (Wolf spiders) (Kurt örümcekleri)

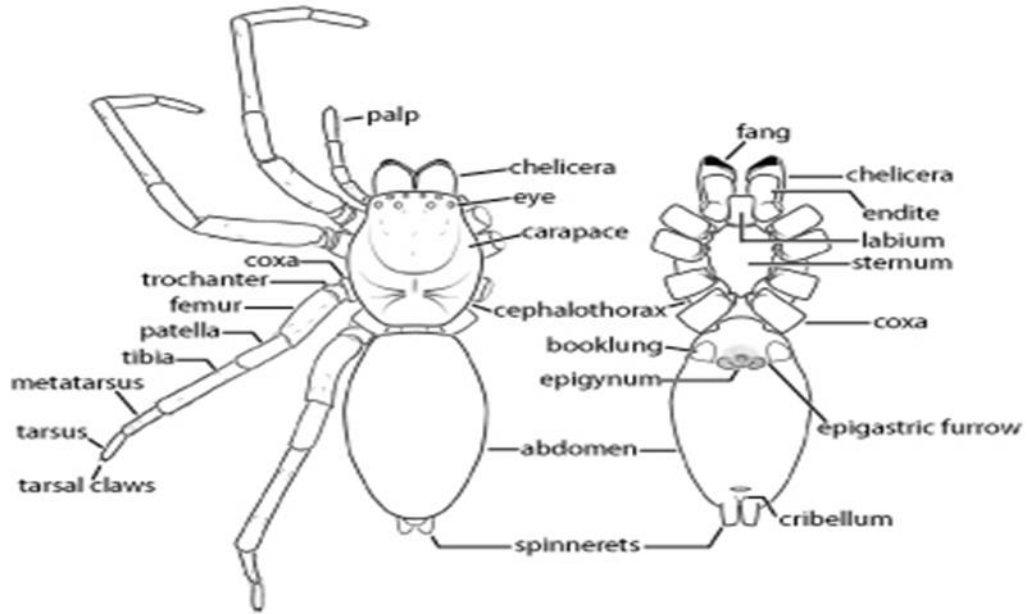
Lycosidae familyası kendine özgü karakteristik göz dizilişleriyle diğer örümcek familyalarından kolaylıkla ayırt edilebilmektedirler. Sefalotoraksı belirgin bir şekilde kubbeli bir yapıya sahiptir. Üç sıra halinde dizili 8 gözü vardır. Genellikle ağ örmezler ve avlarını serbest şekilde açık alanda koşarak yakalamaktadırlar. Gündüzleri ise taşlar içerisine ağlarıyla ördükleri sığınaklarda saklanırlar. Toprakta silindirik dikine yuvalar açarak burada saklanmaktadırlar (World Spider Katalog, 2014).

Kurt örümcekleri kayalıklarda, ormanlık alanlarda ve bazı türleri ise su kenarlarında yaşar hatta *Pardosa amentata* gibi suda yürüyen türler bile bulunmaktadır. Yine *Pirata* cinsi örümcekler su kenarlarında avlanabilmektedirler (Foelix, 1996).

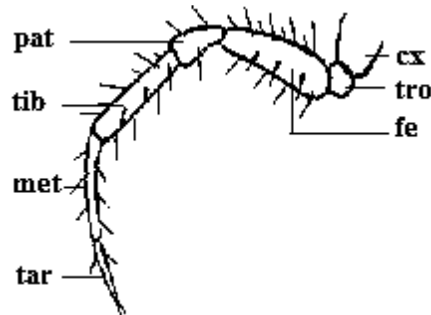
Lycosidae familyalarındaki dişiler yumurtalarını taşıma ile bilinirler. Yumurtalarını taşıdıktan sonra ise spinneretleriyle yumurtalarını uzaklaştırırlar ve her biri bir yere dağılır. Birkaç hafta sonra ise kokonlarından ayrılmaya hazır hale gelirler. 100 den fazla yavru meydana gelebilmektedir (Foelix, 1996).

Lycosidae familyasında da prosoma ve opisthosoma olmak üzere vücut iki kısımdan meydana gelir ve bu iki kısım pedisel adı verilen yapı ile birbirine bağlanır (Şekil 1.1). Prosomada iki sıra halinde dizili sekiz basit göz bulunur. İlk sırada, önden bakıldığında görülebilen eşit büyüklükte 4 küçük anterior göz; ikinci sırada ise ortada

büyük 2 posterior median göz ve arka yanlarda orta büyüklükte 2 posterior lateral göz bulunmaktadır. Üstten bakıldığında bu göz dizisi iç bükey bir sıra oluşturur. İkinci sıradaki gözler aynı zamanda ön tarafı dar olan bir yamuk meydana getirir. Gözler ve görüş alanları çok iyi gelişmiştir. Prosomada bulunan bacaklar kaslı ve kuvvetli bir yapıya sahip olup, vücuda bağlandığı yerden itibaren koksa, trokanter, femur, patella, tibia, metatarsus ve tarsus segmentlerinden oluşur (Şekil 1.2). Bacakların uzunluk sırası IV, I, II, III şeklindedir. Hemen hemen her segmentinde diken ve bazen de uzun bir trikobotrium bulundurulur. Bacak uçlarında kitinsi, taraklı iki tırnak ve bunların alt orta yerinde taraksız küçük bir tırnak yer alır. Keliseri şişkince olup, keliserin iç kısmında 2 veya 3 diş bulundurulur.

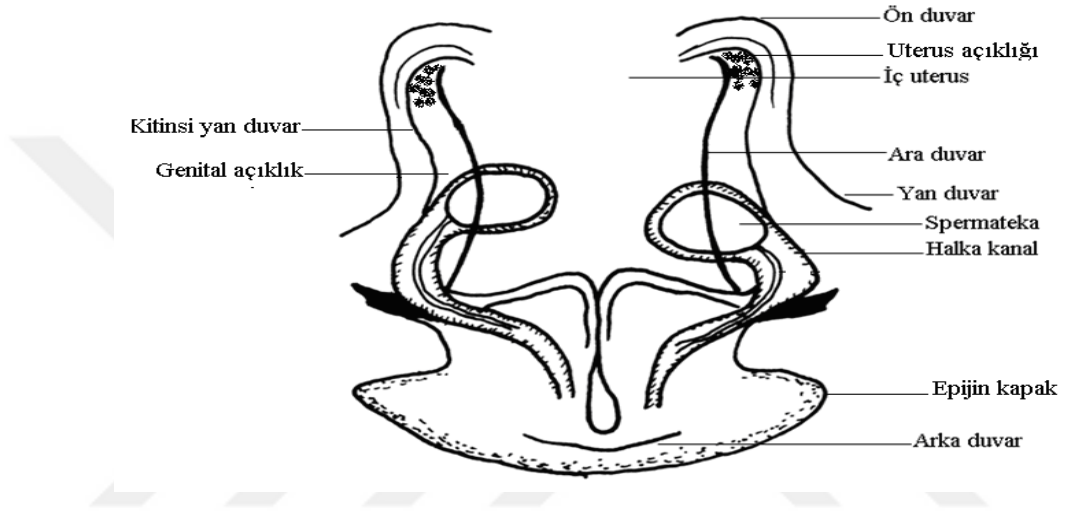


Şekil 1.1. Örümceğin genel yapısı (Barrion, 1995)

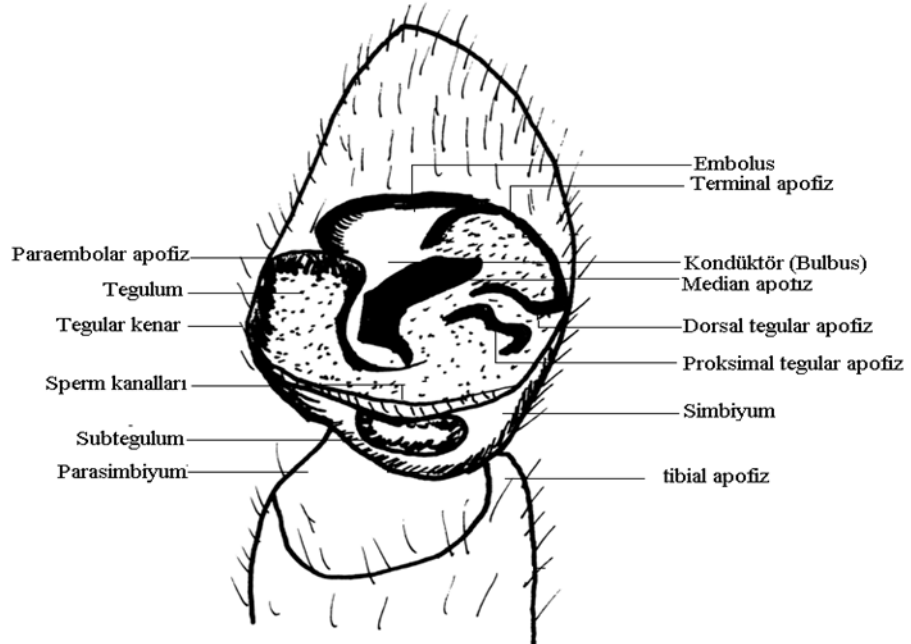


Şekil 1.2. Lycosidae familyasında bacağın kısımları; cx: koksa, tro: trokanter, fe: femur, pat: patella, tib: tibia, met: metatarsus, tar: Tarsus (Barrion, 1995)

Dişilerde genital açıklık, opistosomanın ventralindeki epigastrik yarığın hemen üzerinde yer alır. Bu açıklık epijin adı verilen dış genitalya tarafından çevrelenir. Epijin, karmaşık ve türe özgü bir yapıya sahiptir. Epijinin arka kısmında vulva adı verilen iç genitalya yer alır. Vulva, çiftleşme kanalları tarafından spermatekaya bağlanan bir çift çiftleşme açıklığı içerir (Şekil 1.3). Erkeklerde bulunan pedipalp, dişilerde ise epijinin yapısı (Şekil 1.4) morfolojik tür tayinin yapılmasında önemli rol oynamaktadır (Foelix, 1996).



Şekil 1.3. Lycosidae familyası dişi eşey organı (♀) Epijin (Akpınar, 2011)



Şekil 1.4. Lycosidae familyası eşey organı (♂) Pedipalp (Akpınar, 2011)

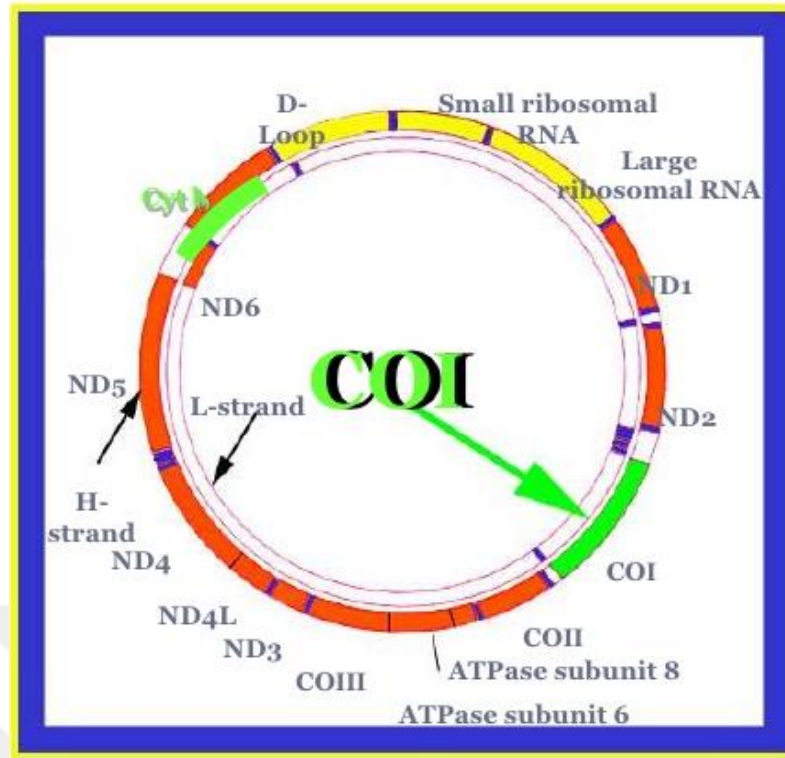
1.2. COI Gen Bölgesi ve DNA Barkodlama

Sitokrom c oksidaz I (COI)(Şekil 1.5.), mitokondriyal bir gen olmakla birlikte maternal olarak aktarılmaktadır (Keskin ve Atar, 2013) ve özellikle moleküler taksonomik alanda yapılan çalışmalar sonucunda COI geninin 5' ucundan 652-658 baz çiftlik bölgesi, günümüzde çok hücreli canlılar için standart olarak 'barkod geni' olarak tanımlanmaya başlanmıştır (Hebert, 2003a).

Mitokondriyal gen, metazoalar (çok hücreli) için bilinen en küçük gen bölgesidir (Cameron vd., 2006). Mitokondriyal genomun filogenetikteki yararı, paylaşılan genom düzenlemelerini veya tüm genomu kullanarak filogenetik temelli dizileri ortaya çıkarmaktadır (Cameron vd., 2007). Son yıllarda hayvanların evrimsel süreçteki çalışmaları için de mitokondriyal DNA kullanımı güçlü bir araç haline gelmiş ve bu çalışma sürecinde mtDNA da bulunan baz dizilişleri, varyasyon aralıkları ve dizi düzenlemeleri olmak üzere üç değişiklik incelenmiştir (Moritz 1987).

Tür tanımlamaları üzerine yapılan biyolojik araştırmalar taksonomik çalışmalara dayanmaktadır. Bu tanımlamalar sadece ergin bireyler üzerinden yapılabilmektedir. Fakat günümüzde biyolojik tanımlama amacı ile en çok kullanılan moleküler yöntem DNA barkodlama tekniğidir (Keskin ve Atar, 2013). Bu tekniğin geliştirilmesi ile türlerin tanımlanmasında yaşanan sorunlara erişilebilir bir sistemle güvenilir, uygun maliyetli bir çözüm sunabilecektir (Hebert, 2003).

Bu teknik temelde mitokondriyal DNA'nın 600-700 baz çifti uzunluğundaki standart bir bölgesinin otomatik, hızlı ve doğru bir şekilde tür belirlemek için kullanılmasına dayanmaktadır. Yapılan araştırmalarda, mitokondriyal sitokrom c oksidaz alt ünite I (COI) geninin yaklaşık 600 baz çiftlik kısa bir DNA dizisi kullanılarak kelebekler, balıklar ve kuşlar gibi varyasyonları fazla olan canlılarda %98-100 oranlarında türlerinin belirlenmesi başarıyla yapılmış bulunmaktadır (Aravind vd., 2007). DNA barkod çalışmalarında kullanılan COI geni, tüm hayvanlarda bulunan bir gendir ve ayrıca insersiyon, delesyon gibi mutasyonlara dizi karşılaştırmalarında çok az bir şekilde karşılaşıldığı için iyi bir hedef genidir. Bu açıdan bakıldığında yakın akrabalık derecelerini gösteren türlerin ayrımını yapmakta kullanılan yeterli dizileri içermektedir (Hebert vd., 2003b).



Şekil 1.5. Mitokondriyal genoma ait COI gen bölgesi (<http://image.slidesharecdn.com/dnabarcode-111013215035-phpapp02/95/dna-barcode-to-distinguish-the-species-7-728.jpg?cb=1318542701>)

DNA barkodlama yöntemi; türlere özgü olan DNA profillerinin belirlenmesi ile organizmanın genomlarının küçük parçalarındaki DNA dizisi farklılıklarının canlıların tür seviyesinde tanımlanmasını sağlayacak biyolojik barkodlar olarak kullanılabilirliği. Böylece, teşhisi yapılamayan türlerin DNA dizileri ile DNA veri tabanlarında bulunan DNA barkod dizilerinin eşleştirilmesi tekniğiyle bu türlerin tanımlanmasını sağlayacak evrensel bir şekilde tür teşhisi anahtarları oluşturulması mümkün olmaktadır. Kısa DNA dizilerinin kullanılmasının ana nedeni, dizinin tür içerisindeki farklılık seviyesinin, türler arasındaki farklılık seviyesinden daha düşük olmasının varsayımı bulunmaktadır. DNA barkodlamayı diğer yöntemlerden farklı kılan temel özellik tek bir gen bölgesi kullanılarak tüm hayvan türlerine yönelik evrensel bir biyolojik tanımlama sistemi prensibine sahip olmasıdır (Hebert vd., 2003a) COI geninin 5' ucundan 658 baz çiftlik bölgesi, farklı şubelerden birçok canlıya göre tasarlanabilen primerler ile çoğaltılabilmesi nedeniyle de DNA barkodlama için en uygun bölge olarak belirlenmiştir (Folmer vd., 1994).

Bir gen bölgesinde DNA barkodun pratik olarak kullanılabilmesi için üç özellik bulundurulması gerekmektedir. Bu özellikler;

1. Türlerin belirlenmesinde önemli olan belirgin bir genetik varyasyon ve ayırım gücüne sahip olması,
2. Geniş bir taksonomik uygulama için uygun evrensel primerlerle çoğaltılabilen bölgeler içermesi ve korunmuş uç bölgelerine sahip olması,
3. DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonunun kapasitesini arttırmak için kısa dizi uzunluğuna sahip olması şeklindedir.

COI geni bütün bu özelliklere sahip olmasından dolayı hayvanlarda tür seviyesinde ayırım gücüne sahip pratik ve standartlaştırılmış barkodlama bölgesi olarak kabul görülmüş bulunmaktadır (Kress ve Erikson, 2008).

COI barkod bölgesi, metazoan (çok hücreli) canlılar için mitokondriyal genomu bakımından tür içi %3'ten küçük, türler arasında ortalama %10 ila %25 arasında belirgin bir farklılık gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Hebert vd., 2003b). COI geninin standart barkod geni olarak seçilmesindeki asıl sebep, birden fazla tür için göstermiş olduğu ayırım gücü ve tür içi ile türler arasındaki uzaklığın çakışmadığı tipik varyasyon modeli olmasıdır (Hebert vd.,2003b). Tür içi ve türler arası oluşan çeşitlilikte çakışma meydana gelmemesi ise "barkodlama açıklığı" olarak adlandırılmış (Meyer ve Paulay, 2005) ve barkod dizilerinin tespitinde isabet ve güvenilirliğin en önemli belirteci olarak kabul edilmiştir (Şekil 1.6.). Bu sebepten DNA barkodlama taksonomik olarak türlerin tanımlanmasında buna bağlı olarak da soy ağaçlarının oluşturulmasında önemlidir (Meyer ve Paulay, 2005).

Metazoan türler için evrensel bir barkod bölgesi arayışında, mitokondriyal genomun alternatif bir gen olan nükleer genomla kıyaslandığında birçok avantajı söz konusu olmuştur. Bu avantajlar;

- Rekombinasyona sınırlı şekilde maruz kalması,
- İntronların bulunmaması,
- Tüm hücrelerde kopya sayısının yüksek olması,
- Haploit özellikte olması ve maternal bir kalıtım göstermesi şeklinde sıralanmıştır.

Geçmişte yapılan birçok sistematik analiz çalışmasında kullanılan 12S rRNA ve 16S rRNA genleri, göstermiş oldukları mutasyonlarda yüksek insersiyon ve delesyon frekansı nedeniyle elde edilen dizilerin hizalanması ve bu dizilerin karşılaştırılmasında büyük zorluklara neden olmuştur. Metazoan türlerin mitokondriyal genomlarında bulunan 13 protein kodlayan gen bu insersiyon ve delesyonları bulundurmaktadır. COI geninin diğer protein kodlayan mitokondriyal genlerden üstün olduğu taraf, metazoan türler için evrensel primer çiftlerinin kullanılmasıyla çoğaltılabilmesi ve farklı birçok taksonomik seviyede kullanılabilir bir filogenetik sinyale sahip olmasıdır (Keskin ve Atar, 2013).

COI geninde bulunan kodonların üçüncü pozisyonundaki nükleotidleri yüksek oranda substitüsyon göstermekte ve bu sebeple de mitokondriyal rRNA genlerine oranla üç kat daha yüksek moleküler evrim hızına sahip olarak değerlendirilmektedirler. Başka bir önemli nokta ise COI geninde gerçekleşen evrim hızının, yakın türlerin ayırımına olanak sağlayan ve coğrafik yapı ile ilişkilendirilebilen tür içi varyasyonları ortaya koyabilecek bir hızda gerçekleşmesidir (Bucklin vd., 2011). COI geninin bu özelliklerine rağmen protein kodlayan genlerin üçüncü kodonlardaki nükleotit dizilimlerindeki değişim göstermesi hemen hemen yavaş olan bazı canlı grupları da bulunmaktadır. Bu durumlarda COI genine alternatif genler kullanılmıştır. Bunlara örnek olarak, Ctenophora (taraklılar), Porifera (süngerler) ve Anthozoa (mercanlar) olup, bu gruplardaki canlılar için mitokondriyal DNA geninin evrimsel değişim hızının diğer metazoan gruplarda bulunan canlılara göre daha yavaş değişim gösterdiği gözlemlenmiştir (Shearer vd., 2002).

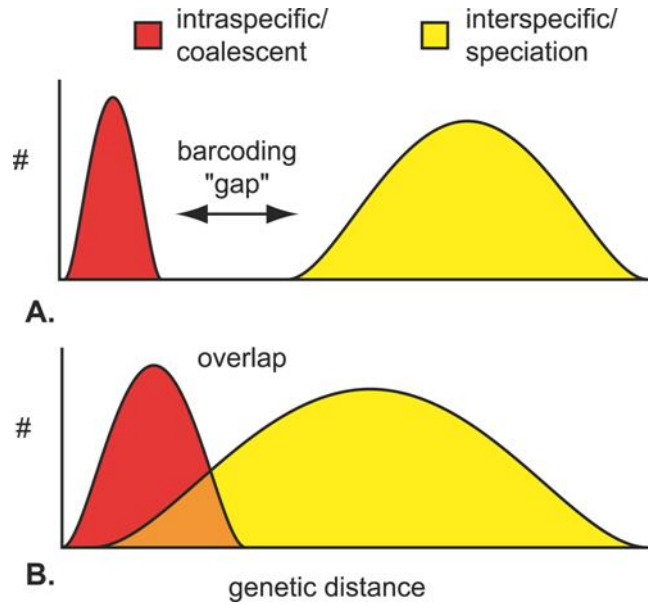
DNA barkodlama ayrıca hayvan hücre hatlarının tanımlanmasında da kullanılabilmekte (Cooper vd., 2007) ayrıca biyoçeşitlilik veri tabanlarında bulunan bilgilerin şekillendirilmesinde de önerilen bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır (Hanner ve Gregory 2007). Bunlarla birlikte, COI gen bölgesi Rhodophytalarda (kırmızı algler) tür tanımlanmasında (Saunders, 2005), tek hücreli protistler ve *Penicillium* gibi bazı mantarlarda (Seifert vd., 2007) da kullanılmaktadır. Geniş ölçekte bu kadar fazla uygulama alanına sahip bu gen bölgesinin ayırım gücünün temelinde nükleotid dizilerinde aynı anda meydana gelen değişikliklerdeki sıklık yer almaktadır (Keskin ve Atar, 2013).

Bazı araştırmacılar, türlerin tanımlanmasında alternatif lokuslardan yararlanılabileceğini savunmaktadır. Örnek olarak, toprak nematodları ve benzer gruptaki canlıların tanımlanmasında 18S rDNA dizilerinin kullanıldığı ve “DNA taksonomisi” adı verilen bir yöntem geliştirilmiştir (Blaxter, 2004).

Tüm bu olumlu özelliklerine rağmen COI dizilerinin yeterli sayıda bulunmadığı durumlarda tür içerisinde ayrım yapabildiği tespit edilen veya ayrımı zor bir türün ortaya çıkarılmasında moleküler kanıt olarak kullanılabilen nükleer DNA gibi alternatif belirteçler de (Smith vd., 2006) kullanılmıştır.

Mitochondriyal 16S rRNA, ve nükleer 18S rRNA gen bölgeleri kuşlar, balıklar, nematodlar (yuvarlak solucanlar) ve crustaceanlar (kabuklular) için kullanılmış 16S gen bölgesinin bazı canlılarda avantajlı olduğunun sonucuna varılmıştır (Neigel vd., 2007).

Coğrafik olarak geniş yayılım gösteren farklı türlerin, türler arası ve tür içi genetik varyasyonlarını da içeren birçok çalışma sonucunda elde edilmiş birbirleriyle tutarlı veri setleri, COI geninin barkodlama çalışmalarında kullanılan standart belirteç olarak benimsenmesinde büyük rol oynamıştır (Keskin ve Atar, 2013).



Şekil 1.6. Barkod dizilerinin tespitinde kullanılan barkodlama açıklığı (Meyer ve Paulay, 2005)

COI geni moleküler tür tayini bazında değerlendirildiğinde, bugüne kadar yapılan çalışmalarda sürekli hata veren bir taksona rastlanmamış ve bu özelliğinden dolayı en uygulanabilir 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. Türler arası hibridizasyon kuşkusuz barkodlama çalışmalarında önemli bir sorun teşkil etmektedir. Barkod geni olan COI, mitokondriyal bir gen olmasından ve maternal olarak aktarılmasından dolayı hibridizasyona sebep olabilmekte, bu nedenden ötürü hatalı olarak maternal türle aynı tür olarak tanımlanabilmektedir. Eğer tanımlaması yapılacak türün hibritleşebilen türler arasında olduğu biliniyorsa ve doğru bir şekilde tanımlama yapılmak isteniyorsa DNA barkodlama ile birlikte bilinen türe özgü nükleer DNA allellerinin de analiz edilmesi önerilmektedir. Eğer çalışılan örnek hibrit ise barkodlama sonucunda maternal tür belirlenmiş, nükleer DNA dizisi yardımıyla da paternal tür ortaya çıkarılmış olacaktır (Keskin ve Atar, 2013).

COI geninin standart belirteç olarak benimsenmesinin sonuçları NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank 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 (Keskin ve Atar, 2013).

Bu çalışmanın amacı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Gaziantep il ve ilçelerinden toplanan Lycosidae familyasına ait *Alopecosa* cinsi örümceklerin morfolojik olarak tanımlamak ve mitokondriyal COI gen bölgesi ile moleküler teşhisinin yapılarak örümcek envanterine katkı sağlamak ve tür teşhisi yapılamayan ergin altı örümceklerin tanımlamasını yapmaktır.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Örümcekler üzerine ilk çalışmalar taksonomik veya faunistik amaçlı olarak yapılmıştır. Zoologlar öncelikle kendi ülkeleri veya herhangi bir bölgenin örümcek listesini çıkarmaya ve yeni türleri tanımlamaya çalışmışlardır. 1758 yılında “Systema Naturae” adlı eseri ile Carl Linneaus birçok örümcek türünü adlandırmıştır.

Türkiye’de örümcek üzerine araştırmalar ise Karol ile başlamıştır. Karol çalışmalarında bilim dünyası için 10 kadar yeni tür tespit etmiş (1964; 1965; 1966a; 1966b; 1966c; 1966d; 1966e; 1967a; 1967c; 1987) ve Türkiye’nin Örümcek Listesini (1967b) hazırlamıştır.

Varol ve Bayram (1995), kurt örümcekleri (Lycosidae) ve düzkarınlı örümcekleri (Gnaphosidae) düşürme tuzakları ile mevsimsel aktivitenin tespiti için yaptıkları çalışmada bu örümceklerin kışı aktif olarak geçirdiklerini, ergin popülasyonlarında sıcaklığa bağlı olarak aktivite gittikçe artarken, yavrularda Nisan ortalarından sonra gittikçe bir azalma fark edildiğini ve ayrıca erkeklerin Haziran başlarına kadar dişilerden daha aktif olduklarını belirtmişlerdir.

Özdemir (2004), Nizip ve Karkamış (Gaziantep) Örümceklerinin (Arachnida: Araneae) Sistematiği ve Ekolojisi üzerine yaptığı çalışmada 7 familyadan 29 cins ve 57 türün sistematiğini ve ekolojisini araştırmıştır.

Varol vd. (2006) araştırmalarında Lycosidae familyasının *Xerolycosa* cinsine ait iki yeni türünü (*Xerolycosa nemoralis*, *X. miniata*), türkiye örümcekleri envanterine eklemişlerdir.

Örümcekler üzerine morfolojik tür tanımlamaları halen devam etmekte bunun yanı sıra moleküler alanda tür tanımlama ise DNA barkodlama olarak başlamış olup gittikçe artan bir gelişme göstermektedir.

“DNA barkodu” terimi ilk kez 1993 yılında (Arnot vd., 1993) kullanılmıştır. Fakat DNA barkodlamanın ileri düzeyde çalışmaları ise 2003 yılında Hebert ile başlamış (Hebert 2003a) ve günümüzde bu konuda yapılan çalışmalar hızla artmaktadır.

DNA barkodlama yönteminin kullanıcıları sadece taksonomistler değil, adli bilimler, biyoteknoloji, gıda endüstrisi, hayvan besleme, genetik çeşitlilik ve tür ayrımı gibi birçok alanda kullanılabilecek bir araç olarak literatürdeki yerini almış bulunmaktadır.

Folmer vd. (1994) araştırmalarında mitokondriyal sitokrom c oksidaz altünite I amplifikasyonunu yapmak için 710bp lik DNA primerlerini kullanarak farklı şubelere ait (Echinodermata, Mollusca, Annelida, Pogonophora, Arthropoda, Nemertinea, Echiura, Sipuncula, Platyhelminthes, Tardigrada, and Coelenterata) metazoan omurgasızları tanımlamışlardır.

Garb vd. (2003) çalışmalarında *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae) türlerini belirlemek için mitokondriyal genom (sitokrom c oksidaz altünite I) kullanılarak sekans çalışmaları yapılmış bu örümceklerin ataları olan *L.geometricus* ve *L.mactans* ile ilgili karşılaştırmalar yapılmıştır.

Arnedo vd. (2004) Theridiidae örümceklerinde üç nükleer (Histone 3, 18SrDNA, ve 28SrDNA) ve iki mitokondriyal gen (16SrDNA ve COI) filogenetik ilişkileri araştırılmış ve *Latrodectines*, *Argyrodines*, *Hadrotarsines* cinslerinin yakınlık ilişkileri ortaya çıkarılmıştır.

Crews ve Hedin (2006) çalışmalarında Baja Kaliforniya Yarımadası dahil olmak üzere Güneybatı Amerika’da bulunan *Homalonychus* (Araneae: Homolonychidae) cinsi örümceklerde filogenetik ve morfolojik farklılıklar üzerine araştırmalar yapmış ve iki mtDNA geninden (16SrRNA ve NADH dehidrogenaz altünite I) ve bir nükleer genden (28SrRNA) yararlanılmıştır.

Meier vd. (2005) çalışmada mitokondriyal COI sekans bölgesi kullanılarak Dipteranın 449 türü için DNA barkod çalışması yapmış ve barkodlamanın tür tanımlaması için kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Sonuç olarak bu sistem ile tür içi ve türler arası oluşan yanlış tanımlamaların giderildiği tespit edilmiştir.

Smith vd. (2006) Avrupa meyve sineklerinde (Diptera, Tephritidae) moleküler tanımlama için DNA barkodlamanın kullanılması üzerine çalışma yapmışlardır.

Benjamin vd. (2007) yengeç örümceklerinin (Araneae: Thomisidae) moleküler filogenisini çalışmıştır. 16S rRNA, histon 3, sitokrom c oksidaz altünite I sekans genlerini kullanarak yengeç örümceklerinin 25 cinsi ve 11 dış grupları ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçta *Barboropactus*, *Epidius*, *Stephanopsis* ve *Thomisus* cinsleri arasındaki ilişkileri araştırılmıştır.

Slowik ve Blagoev (2012) morfolojik tanımlama ve DNA barkod tekniklerini birlikte kullanarak Alaska Wiles Adasının örümceklerinin listesini çıkarmak için çalışmalar yapmışlardır.

DNA barkodlama çalışmaları omurgasız hayvanlarda sadece örümceklerde değil pek çok böcek ve yumuşakçalarda olduğu gibi omurgalı hayvanlar üzerine de çalışmalar yapılmıştır.

Alfonsi vd. (2013) Fransa Atlantik kıyılarında deniz memelilerinin biyoçeşitliliği üzerinde DNA barkodlama ile en yaygın türler (*Delphinus delphis*, *Tursiops truncatus*, *Stenella coeruleoalba*, *Globicephala melas*, *Grampus griseus*, *Phocoena phocoena*, *Halichoerus grypus*) üzerine çalışmalar yapmışlar, mitokondriyal COI genini kullanmışlardır. Sadece Delphinidae familyasında mitokondriyal kontrol bölgesini (MCR) çalışmışlardır. Bu çalışmada DNA barkod sistemiyle biyoçeşitliliğin doğru bir şekilde izlenebileceğini belirlemişlerdir.

Nijman ve Aliabadian (2013) araştırmalarında Hollandalı kuşların DNA barkod çalışmalarını yapmış ve mitokondriyal sitokrom c oksidaz altünite I (COI) markırının çok sayıda kuş türünün tanımlanmasında hızlı ve doğru bir şekilde yapılabileceğini söylemişlerdir.

Sonet vd. (2013) Belçika ve Fransa Dipteralarında COI geni kullanılarak yapılan tanımlamaların GenBank ve BOLD sistemlerinin kullanılmasının yararları üzerine bir çalışma yapmışlardır.

Nagy vd. (2013) Hybotidae (Diptera, Empidoidea) familyasında çeşitliliğin değerlendirilmesi üzerine DNA barkodlama tekniği kullanılarak bir çalışma yapmışlardır.

Keskin ve Atar (2013) DNA barkodlama ile Türkiye de bulunan ticari açıdan önemli olan tatlısu ve deniz balık türlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Toplamda 1765 DNA barkodu ile mitokondriyal sitokrom c oksidaz altünitesi I geninin 654 bp uzunluğundaki fragmentler kullanılarak Türkiye için ticari açıdan önemli olan tatlı su ve deniz balıklarında 89 tür tespit etmişlerdir.

Seyhan ve Turan (2016) Türkiyenin denizlerinde Scombridae (uskumrugiller) familyasının 9 türünün (*Thunnus alalunga*, *Thunnus thynnus*, *Euthynnus alletteratus*, *Auxis rochei*, *Katsuwonus pelamis*, *Sarda sarda*, *Scomber colias*, *Scomber scombrus*, *Scomberomorus commerson*), barkodlarını belirlemek için COI gen bölgesini sekans çalışmalarında kullanmışlardır.

Erbaş (2016) Gaziantep il ve ilçelerinde Lycosidae familyası *Pardosa* cinsi örümceklerde COI gen bölgesiyle DNA barkod çalışmaları yapılmış bu çalışma sonucunda *Pardosa proxima*, *P. tatarica*, *P. italica* ve *P. birmanica* olmak üzere 4 tür elde edilmiş *P. birmanica* ise Türkiye örümcek envanterine yeni kayıt olarak eklenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1.MATERYAL

3.1.1.Araştırma Bölgesinin Tanımı

3.1.1.1.Gaziantep İlinin Coğrafyası

Akdeniz Bölgesi ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin birleşme noktasında yer alan ilimiz $36^{\circ} 28'$ ve $38^{\circ} 01'$ doğu boylamları ile $36^{\circ} 38'$ ve $37^{\circ} 32'$ kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır. İlimizin doğusunda Şanlıurfa, batısında Osmaniye ve Hatay, kuzeyinde Kahramanmaraş, güneyinde Suriye, kuzeydoğusunda Adıyaman ve güneybatısında Kilis illeri bulunmaktadır. İlimiz 6222 km^2 'lik alanıyla Türkiye topraklarının yaklaşık olarak %1'lik bölümünü kapsamaktadır.

Güneydoğu Torosların uzantıları olan Sof dağlarının bulunduğu ilde Dülük Baba, Sam, Ganibaba ve Sarıkaya Dağları da yer almaktadır. İslahiye, Barak, Araban, Yavuzeli ve Oğuzeli ilin önemli ovalarını, Fırat Nehri, Nizip Çayı, Afrin Çayı, Merziman Çayı ve Alleben Deresi ise ilin önemli akarsularını oluşturmaktadır.

Gaziantep, Akdeniz ve kara ikliminin geçiş noktasında yer almaktadır. İlin güney kesimleri Akdeniz ikliminin etkisinde olmakla beraber, genel olarak yazlar sıcak ve kurak, kışlar ise soğuk ve yağışlıdır. İlde yağış en çok kış ve ilkbahar aylarında görülür. Genelde Akdeniz iklimi gözlenmekle birlikte, denizden uzak oluşu nedeniyle, bazı farklılıklar taşır. Yazları sıcak ve kurak, kışlar yağışlı ve bazen soğuk geçer. Yıllık ortalama sıcaklık 14.5°C , en soğuk ay Ocak (2.3°C), en sıcak ay Temmuzdur (27.2°C). Bugüne kadar ilde ölçülen en yüksek sıcaklık 42.8°C (1945), en düşük sıcaklık -17.5°C (1945), 0°C 'nin altında gün sayısı 55.7, -10°C 'nin altında gün sayısı 19, 30°C 'nin üzerindeki gün sayısı 101.3'tür. Yıllık ortalama yağış tutarı 556.2 mm 'dir. En yüksek yağış dönemi kış (ortalama 97.2 mm), en yağışlı ocak (107.7

mm), en kurak ay temmuzdur (1.7 mm). Ortalama yağışlı gün sayısı 84.5, kar yağışlı gün sayısı 6.2, karla örtülü gün sayısı 13.2, donlu gün sayısı 56.5'tir.

Gaziantep Büyükşehir Statüsünde Metropol bir kent olup üç tanesi merkezde olmak üzere toplam 9 ilçesi bulunmaktadır. Şahinbey (Merkez), Şehitkamil (Merkez), Oğuzeli (Merkez), Nizip, İslahiye, Araban, Yavuzeli, Nurdağı, Karkamış (Çed, İzin ve Denetim Şube Müdürlüğü, 2013).

Tablo 3.1. Örnek Toplanan Lokaliteler

No	Mevki	İlçe
1	Hacıaslan Gölü	Şahinbey
2	Tiyekli Köyü	Şahinbey
3	Belen Köyü	Şahinbey
4	Ortaklar Köyü	Şahinbey
5	Araban Mevki	Araban
6	Gelinbuğday Köyü	Araban
7	Nohutalan Köyü	Araban
8	Gaziantep Üniversitesi	Şehitkamil
9	Yamaçoba Köyü	Şehitkamil
10	Hovaz Köyü	Şehitkamil
11	Arıl Köyü	Şehitkamil
12	Bilek Köyü	Şehitkamil
13	Hancağız Barajı	Nizip
14	Nizip Mevki	Nizip
15	Salkım Köyü	Nizip
16	Terken Köyü	Nurdağı
17	Kuzoluk Mevki	Nurdağı
18	Sakçagözü	Nurdağı
19	Kayacık Barajı	Oğuzeli
20	Karkamış Barajı Çevresi	Karkamış
21	Yavuzeli Mevki	Yavuzeli

3.2.METOD

3.2.1.Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar

Gaziantep ili ve ilçelerindeki *Alopecosa* (Lycosidae) faunasını tespit etmek üzere arazi çalışmaları genellikle gündüz saatlerinde yapılmış olup örümcek toplamak için, aspiratör ve elle toplama yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemlerden aspiratör ile taş altı, kaya üstü, yaprak yüzeyi, ağ üzeri, ot kümeleri gibi yerlerden hareket eden veya sabit duran örümcekler yakalanmıştır. Atrap ile tarım alanlarından, otlaklardan ve bitkilerin üzerinden atrap süpürülerek örnek toplanmıştır. Atrap ve aspiratör ile gündüz aktif (diurnal) olan örümceklerin toplanması amaçlanmıştır. Morfolojik teşhis çalışmaları Olympus marka SZX12E model trinoküler Stereo mikroskop ile doğrudan 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. Araziden yakalanan örnekler direkt olarak örnek tüplerine aktarılmıştır. Örneğin üzerine bir miktar tüplük etil alkol ilave edilmiş ve tüpler etiketlenmiştir. Etiketlere örümceğin bulunduğu yer, tarih, habitat özellikleri yazılmış ve arazi defterine not tutulmuştur.

3.2.2.Laboratuvar Çalışmalarında 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).

3.2.3.Çalışmada 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).

3.2.4.Morfolojik ve Moleküler Çalışmalar

Bu çalışmada Lycosidae *Alopecosa* cinsine ait 8 erkek, 13 dişi ve 56 ergin altı olmak üzere 76 örnek çalışılmıştır. Örümcekler Gaziantep ili ve ilçelerinden elle, atrapla, aspiratörle toplanmıştır. Toplanan örümcekler laboratuvara getirilerek örneklerin arazi bilgileri ile etiketlenen ependorf tüplerde %99 luk alkol içerisinde koyularak - 20 ° C' de muhafaza edilmiştir.

Çalışma morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1. Morfolojik Çalışmalar:

Araziden yakalanan örümcekler öncelikle familya düzeyinde teşhis edilmiş ve Lycosidae familyasına ait örümcekler ayrılarak daha sonra cins tayinleri yapılmıştır. Sonraki aşamada ise *Alopecosa* cinsi örümcekler öncelikle morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda örnekler dişi, erkek ve ergin altı olmak üzere ayrılmıştır. Dişi genital yapı (epijin) diseksiyonu için Stereo mikroskop altında tutularak epijin ince uçlu pens ve bisturi ile epijine zarar verilmeyecek şekilde kenarlarından biraz boşluk bırakılarak kesilmiştir. Opistosoma bölgesinden kesilen bu epijin ters çevrilip cam petri üzerinde ve yine Stereo binoküler mikroskop altında etrafından düzgün bir şekilde kesilip küçültülmüştür. Bu işlemden sonra epijin sırasıyla dehidratasyon, saydamlaştırma ve kapatma işlemlerine tabi tutulmuştur.

Dehidratasyon: Kesilen epijin % 85'lik alkolde 5 dakika ve ardından % 98'lik alkolde 5 dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Saydamlaştırma: Bu aşamada alkolden çıkarılan epijinin kitin dışındaki dokusal yapılarının uzaklaştırılması için KOH kullanıldı. Bunun için % 10'luk KOH solüsyonunda 1 saat bekletilerek çöktürme yapıldı.

Kapatma: Kapatmada işlem için entellan kullanıldı. Entellan lamin ortasına bir miktar damlatılarak üzerine KOH solüsyonundan çıkarılan epijin düzgün bir şekilde

yerleştirilerek stereo binoküler mikroskop altında gerekli pozisyon verildi. Sonra lamel 45 derece eğim ile yavaşça entellan üzerine kapatıldı ve preparatlar hazırlandı.

Olympus SZX12 stereo mikroskop altında incelenip çeşitli check list ve kataloglara göre bu örneklerin tür tayini yapılmıştır (World Spider Katalog, 2016, Heimer & Nentwig 1991, Nentwig 2016, Bayram vd., 2014).

Erkek örümceklerin ise pedipalpleri tibialarından doğrudan kesilerek içinde alkol bulunduran cam petri kabında Olympus SZX12 stereo mikroskop altında incelenip yine check list ve kataloglar incelenip tür tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Morfolojik tür tayininde genital yapıları tam olgunlaşmadığından ergin altı örnekler ise sadece cins bazında değerlendirilmiştir.

3.2.4.2. Moleküler Çalışmalar:

Moleküler çalışmalar; morfolojik olarak tanımları yapılmış ve % 96-99 luk etil alkoldeki *Alopecosa* cinsine ait ergin ve ergin altı tüm örnekler üzerinden yapılmıştır. Örneklerin DNA izolasyonları ve PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin DNA dizi analizleri yapılmıştır. Dizi analizi yapılan örnekler ile filogenetik çalışmalar yapılmıştır.

3.2.4.2.1. DNA İzolasyonu

Qiagen DNeasy Blood&Tissue Kit protokolü ile dokudan genomik DNA izole edilmiştir. Uygulanan protokole göre her bir örnek için;

- ❖ Örümcekten 2-6 bacak koparılmış ve koparılan bacaklar ependorf tüplere alınmıştır. Daha sonra bu tüplere 180 µl Buffer ATL eklenerek 1 saat 35 dk homojenizatörde parçalama işlemi yapılmıştır.
- ❖ Cihazdan çıkarılan örneklere 20 µl proteinaz K eklenerek vorteks uygulanıp 56°C’de ayarlanmış etüvde tamamen parçalanana kadar 24 saat bekletilmiştir.
- ❖ Bekletilen örnekler etüvden çıkarılıp üzerlerine 200 µl Buffer AL eklenerek tekrar vorteks işlemi yapılmıştır,

- ❖ Daha sonra bu tüplere %96-99 luk 200 µl etanol eklenip yeniden vortekslenmiştir,
- ❖ Alkol eklenmesinden sonra pipetörle ependorftan alınan örnekler tek tek alınıp üzerinde aynı kodların bulunduğu 2 mililitrelik DNeasy Mini spin kolonlara aktarılmıştır. 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılmış üstünde bulunan filtreli kısım alınmıştır.
- ❖ Yeni bir 2 ml’ lik toplama tüpüne üstte bulunan filtreli kısmı yerleştirilip 500 µl Buffer AW1 eklenip 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- ❖ Santrifüj uygulanan örneklerin yine üst filtreli kısımları alınıp yeni bir toplama tüpüne aktarılmış 500 µl Buffer AW2 eklenip 3dk 14000 rpm’de santrifüj uygulanmış spin kolon 2 mililitrelik ependorf tüplerine transfer edilmiştir.
- ❖ Transfer edilen örneklerle 100 µl Buffer AE eklenip oda sıcaklığında (15-25°C) 1 dk bekletildikten sonra 8000 rpm’de 1dk santrifüjlenmiş, spin kolon atılıp ependorftaki DNA örneği alınmıştır.

İzole edilen DNA’lar -80 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.4.2.2. Spektrofotometrik Analiz

Örümceğin bacak dokularından izole edilen DNA konsantrasyonu spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda optik yoğunlukları okunarak belirlenmiştir. Örneklerin saflığı ise 260 ve 280 nm dalga boylarındaki optik yoğunluk değerleri oranlanarak belirlenmiştir (Tablo 4.1.). 260 ve 280 nm (A260/A280) ölçüm aralığındaki oran, nükleik asitlerde saflık değerini vermekle birlikte bu oran yaklaşık 1.80-2.00 arasında olmaktadır (Qerci vd., 2006).

3.2.4.2.3. PCR Çalışmaları

Gen amplifikasyonu kısa sürede ve doğru olarak gerçekleştirilmesi açısından laboratuvar ortamında hedef DNA’nın çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Amplifikasyonun verimli olması için DNA’nın saf olarak elde edilmiş olması gerekmektedir. PCR kullanım alanları, hedef DNA’nın çoğaltılması, DNA daki

mutasyonların belirlenmesi, dizi analizi için DNA'nın çoğaltılması, laboratuvar ortamında kontrollü mutasyon oluşturulması gibi çalışma alanlarıdır (Dilsiz, 2004).

Tipik bir PCR üç temel basamakta gerçekleşmektedir:

Ayrılma (Denatürasyon): İlk aşamada DNA molekülünün çift zincirli yapısı yüksek ısı yardımıyla birbirinden ayrılmakta ve çoğunlukla 95°C de 3-4 dakika ısıtılarak uygulanmaktadır (Dilsiz, 2004).

Bağlanma (Annealing): Primerlerin uygun sıcaklıkta DNA'ya bağlanmasıdır. Ayrılan her ipliğin 3' uçlarına DNA iplikçiklerine eş bazlar bağlanır. Bu bağlanma genelde 45-55 °C arasında gerçekleşmektedir (Dilsiz, 2004).

Uzama (Elongasyon): DNA polimeraz ile primerlerden itibaren zincirin uzatılması işlemidir. DNA polimeraz enzimi ortamdaki dNTP' leri kullanarak bu işlem 70-75°C arası gerçekleşmektedir. Bu polimerizasyon 5' -3' yönünde olmaktadır. Elongasyon basamağının süresi kullanılan polimerazın cinsine ve amplifiye edilecek DNA'nın uzunluğuna göre değişiklik göstermektedir (Dilsiz, 2004).

Bu çalışmada sitokrom C oksidaz I (COI) (658bp) gen bölgesi için primerler kullanılarak PCR gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.2. COI geninin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri

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

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 Taq 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	52 °C’de 72 °C’de	40saniye 1,30 dakika
Sonlanma	72 °C’de	10 dakika
Döngü sayısı	35	

3.2.4.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Örneklere %1,5’luk agaroz jelde 1X TBE tamponu içerisinde elektroforez işlemi uygulandı. Mikrodalga fırında hazırlanan TBE tamponu 56 °C’ ye soğutulduktan sonra DNA görüntülerini UV ışık altında belirlemek için 25 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklenerek jel tabağına yaklaşık 5mm kalınlığında olacak şekilde döküldü. Jel polimerize olduktan sonra ise, içerisinde 1X TBE tamponu olan jel tankına alındı. Her bir kuyucuğa 4 µl pcr ürünü, 2 µl yükleme tamponu olmak üzere 6 µl ürün koyularak 100 voltta 60 dk yürütüldü ve UV ışık altında DNA fragmentleri gözlemlendi.

3.2.4.2.5. Sekans İşlemleri

PCR çalışmaları yapılan örnekler sekansa tabi tutulmuştur. Bu aşama REFGEN isimli firmadan hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. Bu işlemde ‘Sanger-Coulson Zincir Sonlanma’ dizileme metodu kullanılmıştır.

3.2.4.2.6. Filogenetik Analizler

Sanger-Coulson yöntemiyle nükleotid dizilimleri belirlenen örneklerin kromotogramlar şeklinde görüntülenmesini yapmak için Finch TV 1.4 programı kullanıldı.

Sekanslar SeqTrace 0.9.0 programı ile analiz edildi.

Seqtrace ile okunan ve çift yönlü olarak dizilenen bilgiler Fasta formatında(EK1) kaydettikten sonra MEGA6 programı kullanılarak Bootstrap 1000 tekrarlı metod ile filogenetik ağaç oluşturuldu. Bu yöntemle tür içi ve türler arasındaki farklar da belirlendi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmaları sonucunda Lycosidae (Araneae) familyası *Alopecosa* cinsine ait 76 örnek toplanmıştır. -20 °C’ de saklanan örnekler incelendiğinde 13 dişi, 8 erkek ve 55 ergin altı örnek belirlenmiştir. Erginler üzerine yapılan tür tayini çalışmaları sonucunda *Alopecosa acuelata* (Clerck, 1757), *A. kuntzi* (Denis, 1953), *A. cuneata* (Clerck, 1757), *A. accentuata* (Latreille, 1817) olmak üzere 4 farklı tür belirlenmiştir. Ergin altı örnekler ise genital yapıları gelişimini tamamlamadığı için morfolojik olarak tür bazında tayin edilememiştir.

4.1.1. Familya: LYCOSIDAE (Sundevall, 1833)

Gözler üç sıra halindedir. İlk sıra dört küçük gözden, ikinci sıra ise ortada iki çok büyük göz ve arka yanlarda ise orta büyüklükte iki gözden oluşur. Üstten bakıldığında göz dizisi kuvvetli iç bükey bir sıra oluşturur. İkinci sıra gözleri aynı zamanda ön tarafı dar olan bir yamuk teşkil eder. Gözlerin bakış açısı iyidir. Keliser 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 donatılmıştır. 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: *Alopecosa* (Simon, 1885)

Alopecosa cinsi örümceklerde anterior median gözler iç bükey, içteki keliser 2 dişli, bacak yapıları diğer lycosidae familyalarındaki cinslere göre daha küt ve daha kısa yapılara sahiptir ve vücut yapıları daha küçük boyutlardadır. Prosoma beyaz kıllarla kaplı, açık renkte ve orta banda sahiptir. Clypeus küçük, ön orta göz çapından daha geniştir. Keliser iç sırada iki dişli nadiren üç dişlidir. Bacaklar kısa, tarsus'lar uzun bir tricobothri'alıdır. Vücut uzun kıllarla kaplıdır. Opisthosoma'daki kalp işareti belirgindir (Özdemir, 2004).

4.1.2.1. *Alopecosa accentuata* (Latreille, 1817)

Erkekler 7 mm dişiler ise 8-10 mm arası boya sahiptir. Prosoma kırmızımsı kahverengi kenarlarındaki çizgiler belirsizdir. Prosoma belirsiz olan boyuna çizgilerle ve prosomanın ortasında beyaz bant arkaya doğru gidildikçe daralır. Fovea belirgindir ve gözlere kadar uzanır. Opisthosoma dorsalinde kalp şeklinde uzun bir çift folium yer alır. Bacaklarında halka halka kırmızımsı kahverengi çizgiler vardır. Dişilerde epijin yapısı üstte dar alta doğru genişleyen huniyi andıran bir yapıdadır.

Habitat ve Ekoloji: Ormanlık bölgeler ve kayalık alanlarda yayılış göstermektedirler.

Yayılış Alanları: Dünya üzerindeki yayılışları ise Fransa, Rusya, Almanya gibi alanlardadır (Nentwig vd., 2016).

İncelenen Materyaller; **AL11** (erginaltı): Şahinbey, Burç, Tiyekli Köyü, 13.11.2014; **AL22** (erginaltı): Şahinbey, Burç, Tiyekli Köyü, 13.11.2014; **AL26** (erginaltı): Nizip-Hancağz Barajı 24.10.2014; **AL31** (erginaltı): Nurdağı, Kuzoluk Mevkii, 09.10.2014; **AL36** (erginaltı): Şahinbey, Burç, Tiyekli Köyü, 13.11.2014; **AL42** (erginaltı): Nizip-Hancağz Barajı, 24.10.2014; **AL43** (♂): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL45** (♂): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL47** (♀): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Amfi yanı, 20.02.2014; **AL 49** (♀): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL52** (♂): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi ormanlık alan, 25.04.2014; **AL53** (♀), Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL58** (♂), Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL59** (♂), Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi ormanlık alan,

25.04.2014; **AL74** (erginaltı): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014.

4.1.2.2. *Alopecosa cuneata* (Clerck, 1757)

Dişiler yaklaşık 7-8.5 mm uzunluğundadır. Prosoma kenarlar kahverengi ortası ise açık sarı renktedir. Opistosoma anteriora doğru genişleyen. Bacaklar koksa kısmında kırmızımsı sarı renklidir. Dişilerde epijin yapısı üstte dar alta doğru oval bir şekilde ikiye ayrılmıştır. Çok yaygın görülen bir türdür (Nentwig vd., 2016).

Habitat ve Ekoloji: Ağaçlık ve çalı olan alanlarda yayılış gösterir.

Yayılış Alanları: Dünya üzerinde İspanya, İtalya, Fransa gibi ülkelerde bulunmaktadır.

İncelenen Materyaller; **AL51** (♂), Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014; **AL66** (erginaltı): Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi BESYO arkası, 21.03.2014.

4.1.2.3. *Alopecosa aculeata* (Clerck, 1757)

Erkekler yaklaşık 7-9 mm dişiler ise yaklaşık 8-11 mm arası boya sahiptir. Prosomadan opistosomaya kadar iki yanda siyah bir şerit bulunur. Bunların ortası ise beyazımsı kahverengi bir şerit bulundurabilir. Bacaklar kırmızımsı kahverengidir. Epijin yapısı üstte uzun dar alta doğru genişleyen hüni şeklindedir.

Habitat ve Ekoloji: Ormanlık alan ve nemli topraklarda yayılış göstermektedirler.

Yayılış Alanları: Dünya üzerinde Rusyada geniş yayılışa sahip olmakla birlikte, Mısır, İspanya, İtalya, Fransa Almanya gibi alanlarda yayılış göstermektedirler (Nentwig vd., 2016).

İncelenen Materyaller; **AL28** (erginaltı): Karkamış, Kayacık Barajı, 24.10.2014; **AL30** Karkamış, Kayacık Barajı, 24.10.2014; **AL39** (♀), Karkamış, Kayacık Barajı, 24.10.2014; **AL40** (erginaltı): Karkamış, Kayacık Barajı, 24.10.2014; **AL46** (♀), Şehitkamil, Gaziantep Üniversitesi Lojman arkası, 02.04.2014 ; **AL76** (erginaltı): Eski Nizip yolu, 02.06.2014.

4.1.2.4. *Alopecosa kuntzi* (Denis, 1953)

Morfoloji; Boy dişilerde 4-5 mm dir. Prosomada belirgin foliuma sahiptir ve beyazımsı bir bant şeklinde gözlere kadar uzanmaktadır. Ayrıca prosomanın yanlarında kesik noktalı çizgilenmelere sahip şeritler de içermektedir. Opisthosoma spinnetlere kadar uzanan orta kısmında açık renkli bir banda sahiptir. Epijin güçlü sklerize yapıdadır. Vulva, belirgin spermatekalara sahiptir.

Habitat ve Ekoloji: Taşlık alanlarda, kurak ve çalılık ortamlarda yayılış göstermektedirler.

Yayılış Alanları: Dünyada Sicilya ve Yemende (World Spider Katalog 2016) yayılış göstermesine rağmen, Türkiye örümcek faunası için yeni kayıttır.

İncelenen Materyaller; **AL27** (erginaltı): Şahinbey, Belen-Ortaklar, 09.10.2014; **AL37** (♀): Burç, Hacıaslan Gölü, 13.11.2014; **AL38** (♀): Araban-Nohutalan Köyü, 06.11. 2014; **AL57** (erginaltı): Araban-Yavuzeli, 22.03.2014; **AL64** (erginaltı): Nizip, Arıl-Bilek, 22.06.2014; **AL65** (erginaltı): Yavuzeli, Havuz Köyü, 22.05.2014.

4.1.3. DNA Konsantrasyonları

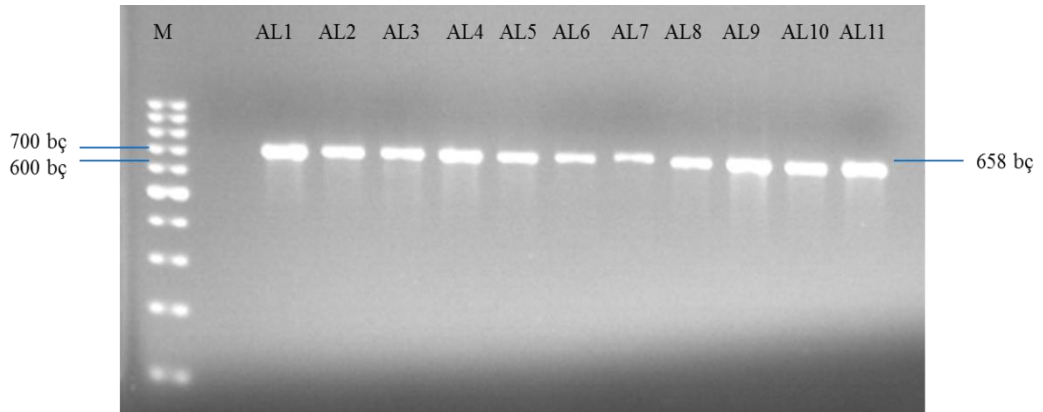
Tablo 4.1. *Alopecosa* türlerine ait örneklerin DNA konsantrasyonları (ng/μl) ve DNA saflık oranları (A260/280) (μg/ml)

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı	Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı
AL1	51,2	2,096	AL8	72,29	2,073
AL2	9,5	3,23	AL9	43,88	1,962
AL3	30,4	2,055	AL10	28,02	2,078
AL4	27,81	1,774	AL11	35,42	1,004
AL5	19,78	2,032	AL12	89,15	2,052
AL6	113,26	2,086	AL13	85,91	2,123
AL7	10,12	1,387	AL14	75,27	2,103

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı	Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı
AL15	92,72	2,515	AL39	32,8	1,847
AL17	140,97	2,243	AL40	37,88	0,867
AL18	37,97	1,882	AL41	54,81	1,069
AL19	37,97	2,248	AL42	10,73	1,587
AL20	92,2	1,993	AL43	87,79	2,107
AL21	110	2,158	AL44	40,34	2,131
AL22	63,74	2,092	AL45	128,58	2,732
AL23	160	2,175	AL46	22	2,417
AL24	20,07	2,105	AL47	25,98	1,619
AL25	69,76	2,235	AL48	48,49	1,896
AL26	25,68	1,977	AL49	135,41	2,106
AL27	50,52	0,857	AL50	227,05	2,166
AL28	65,97	1,038	AL51	177,37	2,553
AL29	17,02	1,938	AL52	37,78	3,245
AL30	28,35	2,0	AL53	231,5	2,307
AL31	44,26	0,909	AL54	239,67	2,042
AL32	68	2,169	AL55	13,28	2,102
AL33	147,88	2,232	AL56	13,35	2,135
AL34	100,65	2,244	AL57	11,11	2,458
AL35	170,61	2,219	AL58	59,55	2,191
AL36	54,29	2,051	AL59	40,88	1,281
AL37	72,01	1,265	AL60	35,53	1,150
AL38	48,95	1,442	AL61	32,86	1,068

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı	Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	A 260/280 oranı
AL62	30,82	1,474	AL70	14,92	2,293
AL63	39,27	1,195	AL71	6,58	1,744
AL64	36,2	0,978	AL72	11,93	1,595
AL65	22,23	2,216	AL73	19,06	1,119
AL66	162,94	2,207	AL74	178,22	2,112
AL67	21,05	2,237	AL75	12,63	2,227
AL68	36,84	1,044	AL76	46,93	1,947
AL69	35,54	0,744			

4.1.4. *Alopecosa* Cinsi Örümceklerde COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu Sonucunda Elde Edilen Agaroz Jel Elektroforez Görüntüleri



Şekil 4.1. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Marker (100-200-300-400-500-600-700-800-900-1000 bç), AL1-P11: PCR ürünleri)

4.1.5. Filogenetik Analizler

Çalışma kapsamında 76 *Alopecosa* cinsi örümceğe ait hem morfolojik hem de moleküler çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Moleküler aşamalarda filogenetik analizler için öncelikle örneklerin dizi analizleri yapılmıştır. Hizmet alımı ile (Refgen,

Gölbaşı, Ankara) gerçekleştirilen sekanslama işlemi PCR ürünleri üzerinden yapılmıştır. İlgili firmada PCR ürünlerine saflaştırma uyguladıktan sonra dizileme işlemine geçilmiştir. DNA diziliminde Sanger dizileme yöntemi uygulanmıştır.

DNA dizileme işlemi uygulanan örnekler için sonraki aşama olan dizilerin düzenlenmesi işlemine geçilmiştir. Tüm örneklerle ait DNA dizileri Seq-Trace programı ile hem ileri hem de geri primer çakışmasına dayalı çift yönlü eşleştirme yapılmıştır. Ancak çalışma sonucunda Sanger dizilemesi yapılamayan örnekler bulunmaktadır. 76 *Alopecosa* örneği dizilemeye gönderilmesine rağmen sadece 27 örneğe ait kaliteli dizileme yapılabilmektedir. Bu örnekler için program üzerinde gerekli olan dizi düzeltmeleri yapılarak fasta formatında kaydedilmiştir. 49 örneğin ise dizileme sonuçları düzgün olarak elde edilememiştir. Bu örnekler sadece morfolojik olarak değerlendirilmiştir.

Morfolojik verilere bakıldığında dişiler ve erkekler olarak tür bazında tanımlı yapılabilmektedir ancak ergin altı örneklerin tür tayinleri gerçekleştirilemediği için veri bankalarındaki bilgiler kullanılmıştır. 27 *Alopecosa* örneğinin her biri veri bankasındaki (NCBI ve BoldsystemV4) *Alopecosa* ve diğer cinsler ile eşleştirilmiştir. Bu anlamda 11 türe ait 397 veri bankası örneği incelenmiş ve toplam 9 cinse ait 17 tür ile eşleşme sağlanmıştır. Genel morfolojilerine bakıldığında *Alopecosa* cinsi; *Pardosa*, *Arctosa*, *Melocosa*, *Dolomedes*, *Hogna*, *Acantholycosa* ve *Lycosa* cinsleri ile benzerlik göstermektedir. Elde edilen veriler de bu cinsler ile eşleşmiştir.

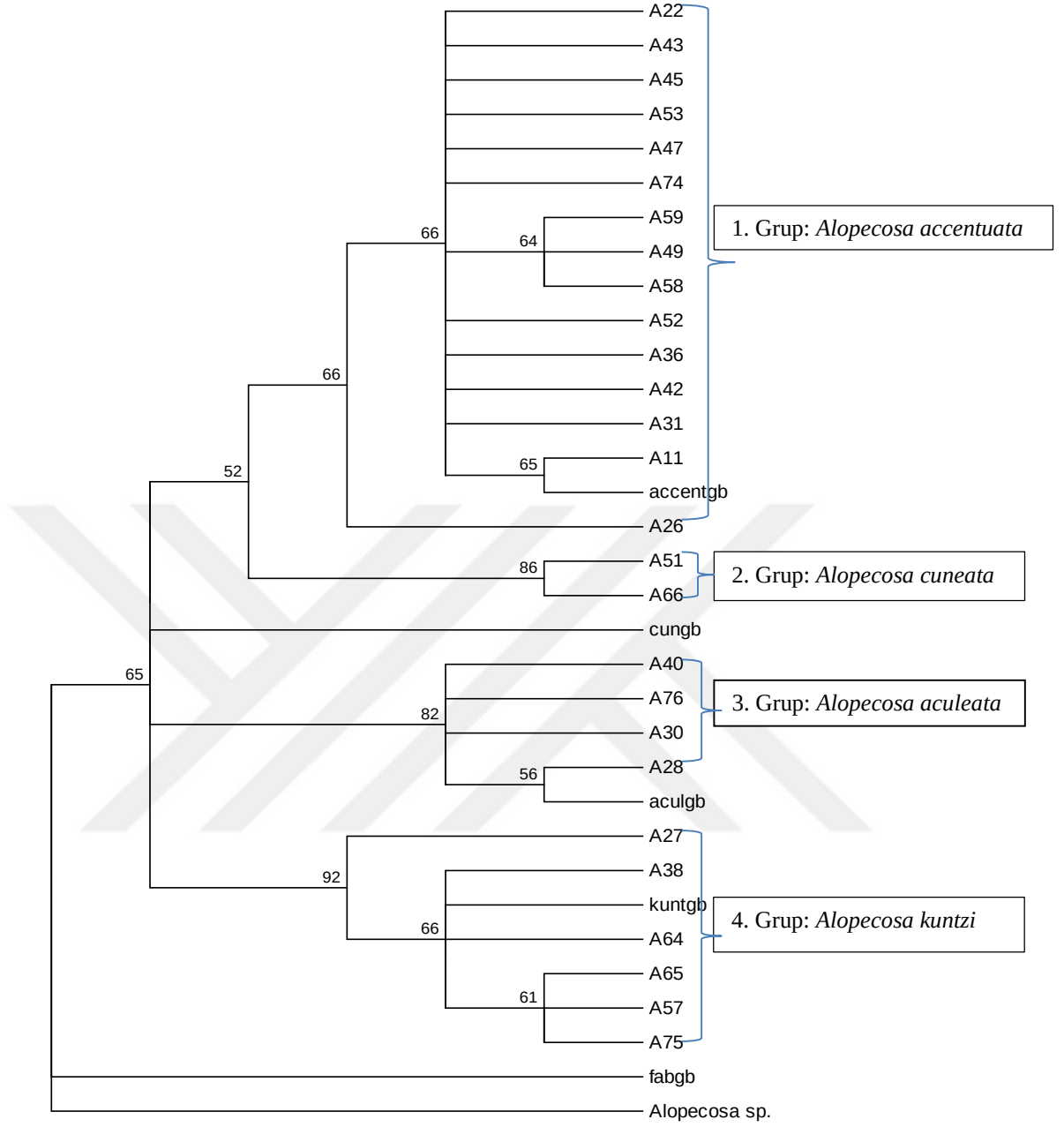
Çalışmada tüm cins ve türleri içeren bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Barkod verilerinde diziler en az 500 nükleotit içermesi ve analiz edilen dizilerde N sayısı < %1 olması gerektiğinden ağaç oluşturulma aşamasında bazı dizi verileri kullanılamamıştır.

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

Araştırma ile Bold System ve NCBI veri tabanında bulunan Blastı yapılan örnekler *Alopecosa* ve diğer cinsler ile moleküler benzerliklerine bakıldığında 17 tür

(*Alopecosa aculeata*, *A. accentuata*, *A. kuntzi*, *A. pulverulenta*, *A. albofasciata*, *Melacosa fumosa*, *Dolomedes sulfureus*, *Pardosa dorsuncata*, *Pardosa dorsalis*, *Pardosa agrestis*, *Pardosa xerempelina*, *Lycosa sp.*, *Hogna antelucana*, *Arctosa alluadi*, *Acantholycosa soliduta*, *Lycosa pampeana*, *Rabidosa rabida*) ile yakınlığı belirtilmiştir. DNA dizileri bakımından kıyaslandığında 17 tür, %82-100 aralığında benzerlik göstermiştir. Eşleşen bu DNA dizileri arasından *Alopecosa* cinsine dahil olanlar üzerinden ağaç oluşturulmuştur (Şekil 4.2.).

Filogenetik ağaçta out grup olarak *Alopecosa fabrilis* ve *Alopecosa sp.* belirlenmiştir. Neighbour joining ağacında 4 grup oluşmuştur. *Alopecosa aculeata*'ya dahil grup AL28, AL40, AL76 ve AL30 kodlarına, *Alopecosa kuntzi* türüne dahil AL27, AL38, AL57, AL65, AL64, ve AL75 şeklinde kodlara sahip örneklerdir. *Alopecosa cuneata* türü olarak belirlenen örnekler AL51 ve AL66 kodlu örnekler olarak belirlenmiştir. En fazla örneğe sahip olan *Alopecosa accentuata* türü ise AL52, AL26, AL42, AL11, AL43, AL45, AL31, AL36, AL58, AL74, AL53, AL59, AL49, AL22 ve AL47 kodlu örneklerdir.



Şekil 4.2. *Alopecosa* türlerini içeren Neighbour-Joining metodu ve Bootstrap 1000 tekrarlı test kullanılarak oluşturulan soy ağacı (Outgrup olarak *Alopecosa fabrilis* ve *Alopecosa sp.* belirlenmiştir).

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışma Gaziantep il ve ilçelerinde bulunan Lycosidae familyasına ait *Alopecosa* cinsi örümceklerin morfolojik olarak tür tayini yapılması ve bu örneklerin verilerinin moleküler çalışmalarla belirlenen türlerle karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır.

Gaziantep iline ait 9 ilçede (Şahinbey, Şehitkâmil, Nizip, Oğuzeli, Karkamış, Araban, Yavuzeli, Nurdağı, İslahiye) düzenli aralıklarla arazi çıkışları gerçekleştirilmiştir. Bu ilçelerden Nizip, Oğuzeli ve Karkamış ilçeleri Barak Ovası olarak bilinir ve oldukça geniş tarım arazilerine sahiptir. Adı geçen ilçelerden İslahiye’de örnek yakalamada sıkıntılar yaşanmasına rağmen Araban, Şahinbey, Şehitkâmil, Karkamış, Nizip ve Nurdağı ilçelerinde Lycosidae familyasına ait örnekler rahatlıkla toplanabilmiştir. Kurt örümcekleri olarak da bilinen Lycosidler yerde aktif gezinen örümceklerdir ve her türlü habitatta rahatlıkla yaşayabilmektedir. Özellikle Lycosidae familyasının üyeleri taşlık-çalılık alanları, su kenarlarını, orman açıklıklarını, tarım alanlarını tercih etmektedirler.

Tarımsal alanlarda örümcekler zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde önemli rol oynarlar. Bazı örümcek türlerinin haricinde birçoğu koloni oluşturmaz ve kannibalist hayvanlardır. Bu durum biyokontrolün avantajını azaltmaktadır. 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).

Gaziantep ilinde 2014 yılında yapılan arazi çıkışları neticesinde 9 ilçeye ait farklı lokaliteden *Alopecosa* cinsine ait örnekler yakalanmıştır. Araştırma bölgesine düzenli aralıklarla arazi çıkışları gerçekleştirilmiştir. Arazi çalışmalarının neticesinde Lycosidler toplanmış ve %96’ lık ethanol içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Elde edilen örnekler hem morfolojik hemde moleküler araştırmalarının yapılması için -20 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Örnekler öncelikle morfolojik olarak cins

bazında tayin edilmiştir. Bu anlamda özellikle gözlerin sırası, keliserdeki diş sırası, sayısı ve şekline, foveanın yapısı gibi morfolojik özelliklere bakılarak *Alopecosa* cinsi diğer toplanan örneklerden ayırt edilmiştir. *Alopecosa* keliserde bulunan diş yapısı ve sayısı bakımından *Pardosa*'ya prosomanın görünüşü bakımından *Hogna* ve *Lycosa*'ya benzerlik göstermektedir. Çalışmada belirlenen örneklerin cins bazında tayin edilmesinde özellikle keliserdeki diş sayısı bakımından *Pardosa*'ya benzerlik göstermesi nedeniyle zorlanılmıştır. Ergin örneklerde cins tayini daha rahat yapılmasına nazaran yavru örneklerde cinsi net olarak tanımlamamız mümkün olmadığı için *Hogna*, *Lycosa*, *Alopecoca* cinsleri belirlenmiştir. Morfolojik olarak yavru örneklerden belirlenmesinde zorlanılan bu cinsler moleküler analizler neticesinde netleşmiştir. Moleküler analizler sonucu çalışılan 76 örnekten ise AL 16 kodlu örneğin DNA izolasyonu yapılamadığı için çalışmaya tabi tutulamamıştır.

Ülkemizde Lycosidae familyası 15 cins ve 85 türe sahiptir (Bayram vd., 2016). *Alopecosa* cinsi ise familya içerisinde 14 türle temsil edilmektedir Türkiye flora ve faunası düşünüldüğünde cinsi temsil eden örnek sayısı çok azdır. Cinse ait morfolojik çalışmalar neticesinde ergin örnekler tür bazında tayin edilmiş ve *Alopecosa aculeata*, *A. kuntzi*, *A. cuneata* ve *A. accentuata* türleri belirlenmiştir. Yavru örneklerin tür tespitlerinin yapılabilmesi için dizi analizlerindeki veriler kullanılıp, analiz örnekleri Boldsystem V4'te bulunan identification aşaması kullanılarak belirlenmiştir. Diziler tek tek çift yönlü olarak düzeltilip kaydedildikten sonra Boldsystem V4 ve NCBI sistemine tek tek girilerek tür kıyaslamaları yapılmıştır. Ergin olmayan örnekler de erginler gibi %100-96 benzerlik aralığında tayin edilmiş ve *Alopecosa aculeata*, *A. kuntzi*, *A. cuneata* ve *A. accentuata* olarak belirlenmiştir.

Tez kapsamında hem ergin hem de erginaltı örnekler morfolojik ve moleküler olarak incelenmiş, morfolojik olarak elde edilen türler ile moleküler olarak dizileri kıyaslanan türler karşılaştırılmış ve aynı türler tespit edilmiştir. Yapılan filogenetik ağaçta Neighbour-joining istatistiksel metodu kullanılmıştır. Filogenetik ağaç yapımında Bootstrap metodu uygulanmıştır. Bootstrap metodu 1000 tekrarlılık tercih edilmiştir. Bu testte 100%100 üzerinden doğrulama testidir, 1000 tekrarda doğruluk oranını göstermektedir. *Alopecosa kuntzi* olarak tayin ettiğimiz örneklerin tümü kendi içinde kıyaslandığında %92 benzerlik göstermektedir. Tür içi örneklerinin

analizinde %61-92 benzerlik göstermektedir. *Alopecosa accentuata* grubundaki 14 örneği incelediğimizde ise %66 benzerlik göstermektedir. Yani bu örneklerin DNA dizileri tür içinde %66 yakınlığa sahiptir. *Alopecosa cuneata* ya dahil örnekler %86 benzerlik gösteren dizilere sahiptirler. Son olarak ise *Alopecosa aculeata* grubu ise %82 benzerlik göstermektedir.

DNA barkodlama çalışmalarında tür içi benzerlik % 3 den az, türler arası benzerlikler ise %10-25 arasında benzerlik göstermelidir (Hebert, 2003a).

Tez ile ülkemizde daha önce kaydedilen türler yeni lokaliteler ile desteklenmiş ve *Alopecosa kuntzi* türü Türkiye için ilk kez kaydedilmiştir. Yapılan tüm çalışmalar ve bu çalışmanı aşamaları ülkemizde gerçekleştirilen bir DNA barkodlama çalışmasıdır. Veribankalarında ülkemize ait çalışmalar da 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 yılında Akpınar (Özdemir) tarafından ‘Nizip ve Karkamış (Gaziantep) Örümceklerinin (Arachnida: Araneae) Sistematığı ve Ekolojisi’ isimli Yüksek Lisans tezi tamamlanmıştır. Ancak adı geçen çalışmada sadece Gaziantep iline ait 2 ilçe çalışılmış ve bu ilçelerdeki tüm familyalar araştırılmıştır. ‘Gaziantep İli *Alopecosa* Cinsi (Araneae: Lycosidae) Örümceklerin Morfolojik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi’ başlıklı çalışmada ile ait 9 ilçe araştırılmış ve sadece Lycosidae familyasına ait *Alopecosa* cinsi çalışılmıştır. Ayrıca tür tanımlamasına dâhil edilmeyen erginaltı örnekler de moleküler olarak analiz edilmiş ve erginler ile uyumlu türler elde edilmiştir.

Çalışma dahilinde DNA dizileri uygun olan ergin ve erginaltı örnekler moleküler olarak çalışılmış ve elde edilen sonuçlar morfolojik verilerle uyumlu çıkmıştır.

Çalışma neticesinde Gaziantep’te yapılan bu araştırma neticesinde il genelindeki Lycosidae familyası verileri elde edilmiştir. Bu veriler içerisinde *Alopecosa* cinsi detaylı olarak araştırılmıştır. Bu cinse dahil tüm örnekler DNA barkodlamaya tabi tutulmuştur. Ergin örneklerin morfolojilerinin çalışılması sonucunda *Alopecosa aculeata*, *A. kuntzi*, *A. cuneata* ve *A. accentuata* olmak üzere 4 tür belirlenmiştir.

Alopecosa kuntzi türü ilk kez bu çalışma ile Türkiye örümcek envanterine eklenmiştir.

Ergin örnekler hem morfolojik hem moleküler olarak analiz edilmelerine karşın, erginaltı örneklerde ise sadece moleküler olarak çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalarda morfolojik olarak teşhis edilen ergin örnekler, moleküler olarak da tanımlanmış ve aynı türler elde edilmiştir. Bu da morfolojik çalışmaların moleküler çalışmalar ile desteklenmesi gerekliliğini bir kez daha ortaya çıkarmaktadır.



KAYNAKLAR

- Akpınar A. (2011). Kahramanmaraş ve Adıyaman illerinin örümcek (Arachnida: Araneae) Faunası, sistematığı ve zoocoğrafik dağılışları. (Doktora tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 222 s.
- Alfonsi, E., Méheust, E., Fuchs, S., Carpentier, F.G., Quillivic, Y., Viricel, A., Hassani, S., Jung, J. L. (2013). The use of DNA barcoding to monitor the marine mammal biodiversity along the French Atlantic coast, *ZooKeys*, **365**, 5-24.
- Aravind, K., Ravikanth, G., Shaanker, U.R., Chandrashekara, K., Kumar, A.R.V., Ganeshalah, K.N. (2007). DNA barcoding: An exercise in futility or utility?, *Current Science*, **92**, 1213-1216.
- Arnedo, M.A., Coddington, J., Agnarsson, I., Gillespie, R.G. (2004). From a comb to a tree: phylogenetic relationships of the comb-footed spiders (Araneae, Theridiidae) inferred from nuclear and mitochondrial genes, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31**, 225–245.
- Arnot DE, Roper C, Bayoumi RA. 1993. Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the Plasmodium falciparum circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular and Biochemical Parasitology*. **61**, 15-24.
- Barrion A. T., Litsinger J. A. (1995). Riceland Spiders of South and Southeast Asia, International Rice Research Institute, 355 pp.
- Bayram, A., Kunt, B.K., Danişman, T. (2014). The Checklist of the Spiders of Turkey (Araneae; Arachnida), version 2014
- Benjamin, S. P., Dimitrova D., Gillespie, R. G., Hormigaa, G. (2007). Family ties: molecular phylogeny of crab spiders (Araneae: Thomisidae). *Cladistics*, **20**, 708–722

Blaxter, M.L. (2004). The promise of a DNA taxonomy, *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, **359**,669-679.

Bucklin, A., Steinke, D., Blanco-Bercial, L. (2011). DNA Barcoding of Marine Metazoa, *Annual Reviews of Marine Science*, **3**,471-508.

Cameron, L, S., Beckenbach, T, A., Dowton, M., Whiting, F, M. (2006). Evidence from Mitochondrial Genomics on Interordinal Relationships in Insects. *Arthropod Systematics & Phylogeny*, **64** (1), 27-34.

Cameron, S.L., Lambkin, C.L., Barker, S.C., Whiting, M.F. (2007).Utility of mitochondrial genomes as phylogenetic markers forinsect intraordinal relationships—a case study from flies (Diptera). *Syst Entomol, Mol Phylogenet Evol.*, **38** (1),274-9.

Citation: Nentwig W, Blick T, Gloor D, Hänggi A, Kropf C: Spiders of Europe. www.araneae.unibe.ch. Version of access date.

Cooper, J.K., Sykes, G., King, S., Cottrill, K., Ivanova, N.V., Hanne,r R., Ikonomi, P. (2007). Species identification in cell culture: a two-pronged molecular approach, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, **43**, 344-351.

Crews, S.C.,Hedin, M. (2006). Studies of morphological and molecular phylogenetic divergence in spiders (Araneae: Homalonychus) from the American southwest including divergence along the Baja California Peninsula, *Molecular Phylogenetics and Evolution*,**38** (2),470-487.

Çed, İzin ve Denetim Şube Müdürlüğü (2013). 2012 Yılı Gaziantep İl Çevre Durum Raporu. Gaziantep, Türkiye.

Dilsiz, N. (2004). Moleküler Biyoloji, Palme Yayınları. 279 s.

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.

Erbaş, A. (2016) *Pardosa* (Araneae: Lycosidae) Cinsi Örümceklerde DNA Barkod Çalışmaları. (Yüksek Lisans Tezi). Gaziantep Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. 44 s.

Finch TV. 1.4. www.geospiza.com/ftvdlinfo.html

Foelix, R. I. (1996). *Biology of Spiders*, Oxford University Press, Inc. and Georg Thieme Verlag-Oxford, 330 pp.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3** (5), 294-299.

Garb, J.E., Gonzalez, A., Rosemary G. G. (2003). The black widow spider genus *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae): phylogeny, biogeography, and invasion history, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1127–1142

GENBANK, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Hanner, R., Gregory, T.R. (2007). Genomic diversity research and the role of biorepositories. *Cell Preservation Technology*, **5**, 93-103.

Hebert, P.D., Ratnasingham, S., Dewaard, J.R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species, *Proc Biol Sci.*, **1**, 96-99.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*. **270**, 313-321.

Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S., Dewaard, J.R. (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.

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

<http://image.slidesharecdn.com/dnabarcodes-111013215035-phpapp02/95/dna-barcode-to-distinguish-the-species-7-728.jpg?cb=1318542701>, 10.10.2016

Karol, S. (1964). Sur une nouvelle espece du genre *Areneus* (Araneae, Argiopidae) originaire d'Asie Mineure. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, **36** (2), 188–190.

- Karol, S. (1965). Une Nouvelle espece du genre *Areneus* (Araneae, Argiopidae). Com. Fac. Sci. Univ, Serie C. X, 11-14.
- Karol, S. (1966a). Description d'une araignee nouvelle en Turquie (Araneae, Thomisidae). Com. Fac. Sci. Univ, **11** (1), 1–5.
- Karol, S. (1966b). Sur une nouvelle espece du genre *Xysticus* (Araneae, Thomisidae) en Turquie. Com. Fac. Sci. Univ, **11** (2), 7–9.
- Karol, S. (1966c). Description d'une nouvelle espece du genre *Oxyptila* en Turquie (Araneae, Thomisidae). Com. Fac. Sci. Univ, **11** (3), 11–15.
- Karol, S. (1966d). Spider of Ankara and Environs with a Description of a New Species *Xyticus turcicus* (Araneae, Thomisidae). Com. Fac. Sci. Univ, **11** (4), 15–32.
- Karol, S. (1966e). Description d'une nouvelle espece du genre *Thanatus* en Turquie (Araneae, Thomisidae). Rev. Fac. Sci. Univ, B, XXXI, pp. 25–27.
- Karol, S. (1967a). Description of a new species in the genus *Oxyopes* (Araneae, Oxyopidae). Com. Fac. Sci. Univ, 12, C, **1**, pp. 1–6.
- Karol, S. (1967b). Türkiye örümcekleri. 1. ön liste. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. 39 s.
- Karol, S. (1967c). Description de deux espe'ces nouvelles de Thomisidae (Araneae) de Turqui. Bull. Mus. Hist. Nat. Paris, **39** (2), 908–911.
- Karol, S. (1987). Female genitalia of a species living in Turkey (Araneae, Drassidae). Com. Fac. Sci. Univ, Serie, C. Vol. V, pp. 27–30.
- Keskin, E., Atar, H.H. (2013). DNA barcoding commercially important fish species of Turkey, *Publication History*, **13**, 788-797.
- Kress, W.J., Erickson, D.L. (2008). DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics, *Proceedings of The National Academy Of Sciences*, **105** (8), 2761-2762.
- Meier, R., Laamanen, T.R., Miller, M.A., Hille, A., Wiegmann, B.M. (2005). Phylogenetic analysis of *Themira* (Sepsidae: Diptera): sensitivity analysis,

alignment, and indel treatment in a multigene study, *Publication History*, **21**, 258-271.

Meyer, C.P., Paulay, G. (2005). DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling, *Plos Biology*, **3** (12), 422.

Moritz, C., Dowling, T.E., Brown, W.M. (1987). Evolution of Animal Mitochondrial DNA: Relevance for Population Biology and Systematics Annual Review of Ecology and Systematics, *Ecology and Systematics*, **18**, 269-292.

Nagy, Z.T., Sonet, G., Mortelmans, J., Vandewynkel, C., Grootaert, P. (2013). Using DNA barcodes for assensings diversity in the family Hybotidae (Diptera, Empidoidea), *ZooKeys*, **365**, 263-278

Neigel, J., Domingo, A., Stake, J. (2007). DNA barcoding as a tool for coral reef conservation. *Coral Reefs*, **26**, 487–499

Nentwig, W., Blick. T., Gloor, D., Hänggi. A., Kropf, C. (2016) Spiders of Europe, Online at <http://www.araneae.unibe.ch>, version 12

Nijman, V., Aliabadian, M. (2013). DNA Barcoding as a Tool for Elucidating Species Delineation in Wide-ranging Species as Illustrated by Owls (Tytonidae and Strigidae), *Zoological Science*, **30** (11), 1005-1009

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 (Arachnida: araneae) Sistematığı ve Ekolojisi. (Yüksek Lisans Tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 151 s.

Querci, M., Jermini, M., Eede, G. V. (2006). Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri, *World Health Organization Regional Office For Europe*, 238 s.

REFGEN. Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Ltd. Şti., Gölbaşı, Ankara.

Robinson, E. A., Blagoev, G.A., Hebert, P.D.N., Adamowicz, S.J. (2009). Prospects for using DNA barcoding to identify spiders in species-rich genera, *ZooKeys*, **16**, 27-46.

Rowan, D.H., Barret, D.N., Paul, D.N. (2005). Identifying spiders through DNA barcodes, *Canadian Journal of Zoology*, **83** (3), 481-491.

Saunders, G.W. (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, K.A., Samson, R.A., Dewaard, J.R., Houbraken, J., Levesque, C.A., Moncalvo, J.M., Louis-Seize, G., Hebert, P.D.N. (2007). Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case, *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **104**, 3901-3906.

SeqTrace 0.9.0. <http://www.mybiosoftware.com/seqtrace-0-8-1-rapidly-processing-dna-sequencing-chromatograms.html>

Seyhan, D., Turan, C. (2016). RESEARCH ARTICLE DNA barcoding of Scombrid species in the Turkish marine waters, *J. Black Sea/Mediterranean Environment*, **22**, 35-45.

Shearer, T.L., Oppen, M.J., Romano, S.L., Wörheide, G. (2002). Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria), *Molecular Ecology*, **11**, 475-87.

Slowik, J., Blagoev, G. A. (2012). A survey of spiders (Arachnida: Araneae) of Prince of Wales Island, Alaska; combining morphological and DNA barcode identification techniques, *Insecta Mundi*, **0251**, 1-12

Smith, M.A., Woodely, N.E., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Hebert, P.D.N. (2006). DNA barcoding reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera, Tachinidae), *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **103**, 3657-3662.

Sonet, G., Jordaens, K., Richet, R., Dupont, E., Desmyter, Y. B. (2013). Identification of forensically important *Sarcophaga* species (Diptera: Sarcophagidae)

using the mitochondrial COI gene, *International Journal of Legal Medicine*, **127**, 491–504

T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. http://www.nuhungemisi.gov.tr/DosyaRaporSunum/Belgeler/88b17a46-8cc5-435b-ba85-f1c1e99a04ba_EN.pdf, 10. 10. 2016

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 6.0

Varol, M. İ. (2001). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Yer Örümceklerinin Faunası, Ekolojisi ve Sistematiği (Doktora Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van. 132s.

Varol, M. İ., Bayram, A. (1995). Kurt örümcekleri ve düzkarınlı örümceklerde (Araneae: Lycosidae, Gnaphosidae) düşürme tuzakları ile sezonal aktivitenin tespiti. II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. 11–13 Eylül 1995, Ankara. 77–90.

Varol, M. İ., Özaslan M., Özdemir A., Akan Z., Kutbay F. (2006). Two Species of Genus *Xerolycosa* (Araneae: Lycosidae) New to the Turkish Spider Fauna, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **20**(1), 69-73

World Spider Catalog (2016). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 17.0.

EKLER

EK 1

Alopecosa Örneklerinin Sekanslama İşlemi Sonucunda Düzenlenen Fasta Formatındaki DNA Dizilişleri

Alopecosa accentuata (Latreille, 1817)

AL52, AL26, AL42, AL11, AL43, AL45, AL31, AL36, AL58, AL74, AL53, AL59, AL49, AL22 ve AL47

AL11

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATA
AATAATCTTTCTTTTGGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTGTTAACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL22

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL26

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCATAATAGGAACATGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCATTTTCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL31

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCTCGTATA
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAGTATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL36

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCTCGTATA
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTGGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL42

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGACCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATA
AATAATCTTTCTTTTGGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL43

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAGTTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL45

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGAGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAG

AL47

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTTTCAGGTGGAGGAGATC
CTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL49

AAC TTTATATTTGATATTGGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTA ACTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL52

AAC TTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC

CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL53

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL58

AACTTTATATTTAATATTGGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAATTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL59

AACTTTATATTTAATATTGGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATTCTTATTGGTGG
GTTTGGAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTGTGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTGTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC

CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL74

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATGCCAATCCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCGTTTCCTCGTATG
AATAATCTTTCTTTTTGATTGTTACCTCCTTCTTTGTTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTTAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

***Alopecosa aculeata* (Clerck, 1757), AL28, AL30, AL40 ve AL76**

AL28

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGCTCGGCTATAATAGGGACTGCTATATCAGTATTG
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTTGTAATGATTTTTTTTATAGTAATGCCAATCCTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCATTTCTCGAATA
AATAATCTTTCTTTTTGATTGTTACCTCCTTCTTTATTTTTATTGTGTATATCTTCTATGGTT
GAAATAGGAGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCGTCAAGAATAGGTCAT
ACGGGAAGTTCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGTATATCTATAGA
GAAAGTTCCTTTATTTGTTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTAC
CTGTGTTAGCAGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCGGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL30

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGCTCGGCTATAATAGGGACTGCTATATCAGTATTG
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTGTATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTTGTAATGATTTTTTTTATGGTAATGCCAATCCTTATTGGGG
GTTTTGGTAATTGATTAGTTCCTTTAATGTTAGGGGCTCCTGATATATCATTTCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTTGATTGTTACCTCCTTCTTTATTTTTATTGTTTATATCTTCTATGGT
TGAAATAGGAGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCGTCAAGAATAGGTCA

TACGGGAAGTTCTATAGATTTTGTCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGTATAACTATAG
AGAAGGTTCCCTTTATTTGTTTGATCGGTGTTTATTACGGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTA
CCTGTTTTAGCAGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCGGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL40

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCTATAATAGGGACTGCTATATCAGTATTG
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATTGTTACTGCTCATGCTTTTGTAATGATTTTTTTTTATGGTAATGCCAATTCCTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCATTTTCTCGAATA
AATAATCTTTCTTTTGATTGTTACCTCCTTCTTTATTTTTATTATGTATATCTTCTATGGTT
GAAATAGGAGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCGTCAAGAATAGGTCAT
ACGGGAAGTTCTATAGATTTTGTCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGTATATCTATAGA
GAAAGTTCCTTTATTTGTTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCAGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

AL76

AACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGGTCGGCTATAATAGGGACTGCTATATCAGTATTG
ATTCGAATAGAATTAGGTAATTCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTAATGATTTTTTTTTATGGTAATGCCAATTTTTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCATTTTCTCGAATA
AATAATCTTTCTTTTGATTATTACCTCCTTCTTTATTTTTATTATGTATATCTTCTATGGTT
GAAATAGGAGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCGTCAAGAATAGGTCAT
ATGGGAAGTTCTATAGATTTTGTCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCTTCTTCTATTAT
AGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATATTAGGTATATCTATAGAG
AAAGTTCCTTTATTTGTTTGATCAGTTTTAATTACAGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTACC
TGTTTTAGCAGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTTG
ATCCAGCAGGTGGAGGAGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTT

***Alopecosa cuneata* (Clerck, 1757), AL51 ve AL66**

AL51

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCGAATAGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATGGTTACTGCTCATGCTTTTGTAATAATTTTTTTTTATAGTAATACCAATTCCTATTGGTGG
GTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCATTTTCTCGTATA
AATAATCTTTCTTTTGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA

GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATGGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCCTCTTCTATTAT
GGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGGATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGGGATCCT

AL66

AACTTTATATTTAATATTGGGTGTTTGATCGGCAATAATAGGAACTGCTATATCAGTATTA
ATTCTGAATAGAAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGTT
ATGGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTCCTTATTGGTGG
GTTTGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATATCATTTCTCTGTATA
AATAATCTTTCTTTTGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTATTATGTATATCTTCTATAGTA
GAAATAGGGGTGGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCTCCTTTAGCATCAAGAATAGGTCAT
ACAGGAAGATCTATGGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAGCCTCTTCTATTAT
GGGAGCTGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGGATATTAGGAATAACAATGGA
AAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGATCAGTTTAAATTACAGCTGTTTTATTATTACTTTCTTTAC
CTGTTTTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTT
GATCCAGCAGGTGGAGGGGATCCTATTTTATTTCAACATTTATTTATTTTATTTCAACATT
TATTT

***Alopecosa kuntzi* (Denis, 1953), AL27, AL38, AL57, AL65, AL64 ve AL75**

AL27

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG
GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGTTTGTCGTTTTAATTACAGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTA
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTCACATTTATTT

AL38

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG

GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGGTCCGTTTTAATTACGGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTA
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTTCAACATTTATTT

AL57

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG
GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGGTCCGTTTTAATTACGGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTG
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTTCAACATTTATTT

AL64

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG
GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGGTCCGTTTTAATTACGGATGTTTTGTTATTACTTTCTTTA
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTTCAACATTTATTT

AL65

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGCGAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG

GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGGTCCGTTTTAATTACGGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTG
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTTCAACATTTATTT

AL75

GACTTTATATTTAATATTAGGTGTTTGATCGGCAATGATAGGAACTGCAATGTCAGTGTT
AATTCGAATAGAATTAGGTAATTCTGGGAGTTTATTAGGAGATGATCATTATATAATGT
TATAGTTACTGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATGCCAATTTTAATTGGTG
GTTTTGGTAATTGATTGGTTCCTTTAATATTAGGGGCTCCTGATATATCTTTTCCTCGAAT
AAATAATCTTTCTTTTGGATTATTACCTCCTTCTTTGTTTTGTTGTCTATATCATCTATAGT
GGAGATAGGGGTAGGAGCTGGTTGAACTGTTTATCCGCCTTTAGCATCANNNATTGGTCA
TATAGGAAGTGCTATAGATTTTGCTATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGTGCTTCTTCTATTA
TAGGAGCAGTAAATTTTATTTCTACTATTATTAATATACGAATGGTAGGAATATCTATGG
AGAAAGTTCCTTTGTTTGGTCCGTTTTAATTACGGCTGTTTTGTTATTACTTTCTTTG
CCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATATTATTAAGTATCGTAATTTTAATACTTCTTTTTT
TGATCCAGCAGGTGGTGGGGATCCTATTTTGTTTCAACATTTATTT