

**DNA BARKOTLAMA METODUNUN SU KENELERİ  
(ACARI, HYDRACHNİDİA) TÜRLERİNDE  
UYGULANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şaban KABAK  
DANIŞMAN

Doç. Dr. Ferruh AŞÇI  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Aralık, 2015

Bu tez çalışması 14.FEN.BİL.01 numaralı proje ile BAPK tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DNA BARKOTLAMA METODUNUN SU KENELERİ (ACARI,  
HYDRACHNİDİA) TÜRLERİNDE UYGULANMASI**

**Şaban KABAK**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Ferruh AŞCI**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ARALIK, 2015**

## TEZ ONAY SAYFASI

Şaban Kabak tarafından hazırlanan “DNA Barkotlama Metodunun Su Keneleri (Acari, Hydrachnidia) Türlerinde Uygulanması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 29/12/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Ferruh Aşçı  
**Başkan** : Prof. Dr. Yunus Ömer Boyacı  
SDÜ. Su Ürünleri Fakültesi  
**Üye** : Doç. Dr. Ferruh Aşçı  
AKÜ. Fen-Edebiyat Fakültesi  
**Üye** : Doç. Dr. Süleyman Cenkçi  
AKÜ. Fen-Edebiyat Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....  
Prof. Dr. Hüseyin ENGİNAR  
Enstitü Müdürü

**BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**  
**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**29/12/2015**

**Şaban KABAK**

**ÖZET**  
Yüksek Lisans Tezi

DNA BARKOTLAMA METODUNUN SU KENELERİ (ACARI, HYDRACHNİDİA)  
TÜRLERİNDE UYGULANMASI

Şaban KABAK  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
**Danışman:** Doç. Dr. Ferruh AŞÇI

Bu araştırmada, Karamık Gölünden toplanan su kenesi türleri; *Hydrachna globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens*'te DNA barkodlama yöntemi kullanılmıştır. Her bir örnekten gDNA izole edilmiş ve 28S rDNA gen bölgesi çoğaltılmıştır. MEGA6 paket programı kullanılarak bu su keneleri için moleküler düzeyde analiz yapılmıştır. Her bir türe ait analizler morfolojik temelli sınıflandırmanın doğruluğunu göstermiştir. Bu çalışma *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türleri için bir ilktir.

**2015, x + 72 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Su Kenesi, DNA Barkodlama, 28S rDNA, Karamık Gölü, Afyonkarahisar, Türkiye

## **ABSTRACT**

M.Sc Thesis

### **DNA BARCODING METHOD'S APPLICATION ON THE WATER MITES (ACARI, HYDRACHNIDIA) SPECIES**

Şaban KABAK

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetic

**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Ferruh AŞÇI

In this research, DNA barcoding method is used on *Hydrachna globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* and *Hydrodroma despiciens* water mites collected from Karamık Lake. gDNA was extracted from individual specimens and 28S rDNA gene region was amplified. At the molecular level analysis was performed for this water mites using MEGA6 software. Each species has shown the accuracy of the classification based on analysis of morphological. This study is first for *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* and *Hydrodroma despiciens*.

**2015, x + 72 pages**

**Key Words:** Water Mites, DNA Barcoding, 28S rDNA, Karamık Lake, Afyonkarahisar, Turkey

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ferruh AŞCI'ya, tüm laboratuvar çalışmalarında daima yardım ve alakalarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Süleyman ÇENKÇI'ye, deneysel çalıőmalarımda yardımcı olan Sayın Sultan DEMİR'e, yazım süresince beni yalnız bırakmayan Sayın Fikri BİLGİN ve Sayın Murat PEMBEÇİÇEK'e,

Bu tez çalışmasında maddi destek veren Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: 14.FEN.BİL.01),

Ayrıca bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Şaban KABAK  
AFYONKARAHİSAR, 2015

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Moleküler Sistematik .....	5
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	8
2.1 Klasik Sistematik Çalışmaları .....	8
2.2 DNA Barkodlama Uygulamaları.....	12
2.3 Su Keneleri İle İlgili Genel Çalışmalar .....	16
3. MATERYAL ve METOT .....	18
3.1 Biyolojik Materyal .....	18
3.2 Morfolojik Metot.....	18
3.3. Moleküler Metot.....	19
3.3.1 DNA izolasyonu .....	19
3.3.2 2xCTAB Çözültisi Hazırlama .....	21
3.3.3 PCR Kurulumu ve Döngü Koşulları .....	21
3.3.4 PCR Ürününün Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi .....	22
3.3.5 PCR ürünü saflaştırma .....	23
3.3.6 DNA Dizi Analizi .....	23



4. BULGULAR .....	24
4.1 Morfolojik Bulgular .....	24
4.1.1 Hydrachnidae Leach, 1815 .....	24
4.1.2 Hydryphantidae Thor, 1900 .....	26
4.1.3 Hydrodromidae Viets, 1936.....	30
4.2 Moleküler Bulgular .....	33
4.2.1 COI dizisi .....	33
4.2.2 28S rDNA .....	34
4.2.3 Filogenetik analizler.....	47
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	48
5.2 Moleküler Analizler .....	51
6. KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	72

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

$\alpha$	Alfa
bp	Baz Çifti
dH <sub>2</sub> O	Distile su
g	Gram
mA	Miliamper
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
nt	Nükleotid
$\mu\text{m}$	Mikrometre
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
rpm	Revolutions Per Minute (r/min) (Dakikadaki Devir Sayısı)
U	Ünite
V	Volt
♀	Dişi
♂	Erkek
$\pi$	Pi sayısı
%	Yüzde

### Kısaltmalar

---

BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CBOL	Consortium for the Barcode of Life
CTAB	Cetil Trimetil Amonyum Bromid
COI	Sitokromoksidaz Altünite 1
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid Çözeltisi
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
gDNA	Genomik DNA

GMYC	Generalized Mixed Yule-Coalescent
ITS	İnternal Transcribed Spacers
M	Molar
mtCOI	Mitokondriyal COI
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
ML	Maximum Likelihood (Maksimum Benzerlik)
MP	Maximum Parsimony (Maksimum Sıklık)
NaCl	Sodyumklorür
NaOAc	Sodyum Asetat
NCBI	National Center for Biotechnology Information
P <sub>n</sub>	n. Palp Segmenti
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
rDNA	Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
s.str.	Sensu Stricto (Dar anlamda)
TBE	Tris Borat Tamponu
TE	Tris-EDTA Çözeltisi
UV	Ultraviyole Işık

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Su akarına ait genel vücut yapısı .....	2
Şekil 1.2 Su akarlarına ait gnatostoma, keliser ve palp yapısı .....	2
Şekil 1.3 İdiosoma.....	3
Şekil 1.4 Su akarlarının hayat döngüsü.....	4
Şekil 2.1 Ökaryot rDNA gen bölgesi .....	13
Şekil 3.1 Çalışma Bölgesi olarak seçilen Karamık Gölü.....	18
Şekil 4.1 <i>Hydrachna globosa</i> türüne ait bazı morfometrik ölçümler.....	25
Şekil 4.2 <i>Hydrphantes dispar</i> türüne ait bazı morfometrik ölçümler .....	27
Şekil 4.3 <i>Georgella helvetica</i> türüne ait bazı morfometrik ölçümler .....	29
Şekil 4.4 <i>Hydrodroma despiciens</i> türüne ait bazı morfometrik ölçümler .....	31
Şekil 4.5 <i>Hydrachna globosa</i> örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması.....	35
Şekil 4.6 <i>Georgella helvetica</i> örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması.....	42
Şekil 4.7 <i>Hydrodroma despiciens</i> örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması.....	46
Şekil 4.8 Neighbor-Joining metoduna göre <i>Hydracna globosa</i> , <i>Hydrphantes dispar</i> , <i>Georgella helvetica</i> ve <i>Hydrodroma despiciens</i> rDNA dizileri temelinde filogenetik ilişkileri. ....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

- Çizelge 2.1** *Hydrachna globosa*, *Hydraphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* Türlerin Türkiye'deki yayılış alanları ..... 10
- Çizelge 4.1** *Hydrachna (Diplohydrachna) globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türlerine ait morfometrik ölçümler...32

## RESİMLER DİZİNİ

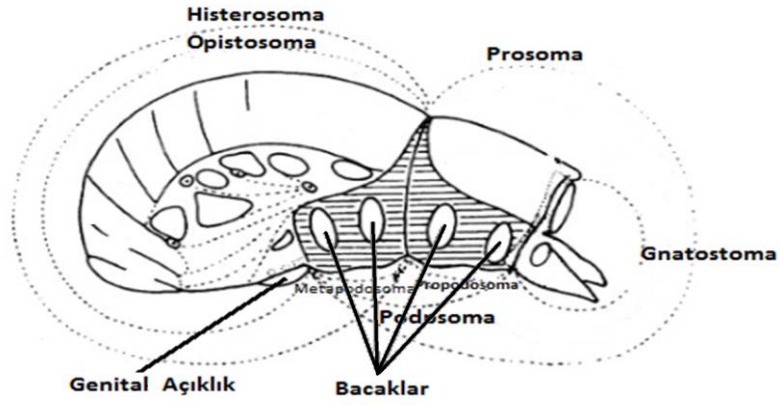
	<b>Sayfa</b>
<b>Resim 3.1</b> Karamık Gölü'nün genel görünüşü.....	18
<b>Resim 4.1</b> <i>Hydrachna globosa</i> türünün mikroskop görüntüsü.....	24
<b>Resim 4.2</b> <i>Hydryphantes</i> (s.str.) <i>dispar</i> türünün mikroskop görüntüsü.....	26
<b>Resim 4.3</b> <i>Georgella helvetica</i> türünün mikroskop görüntüsü.....	28
<b>Resim 4.4</b> <i>Hydrodroma despiciens</i> türünün mikroskop görüntüsü.....	30

## 1. GİRİŞ

Su keneleri iç sularda bulunan en önemli omurgasız gruplarından birisidir. Hydrachnidia (Hydrachnellae, Hydracarina veya Hydrachnidia) olarak tanımlanan su kenelerinin tamamı tatlı sulara uyum sağlamıştır (Smith and Cook 2009). Günümüzde yaklaşık olarak 57 familya, 81 süperfamilya ve 400'den fazla cinse ait 6000'den fazla türü tanımlanmıştır (Di Sabatino *et al.* 2008, Smith *et al.* 2009).

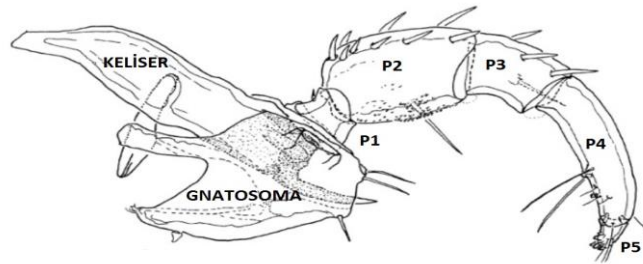
Genel olarak örümceklere benzemekle beraber örümceklerden baş ve boyunun birleşmesi, abdomenin tek parça olması ve segmentlerin kaybolması gibi önemli farklılıkları vardır. Vücutları genellikle küresel veya oval olup dorsoventral veya lateral yassılaştırmıştır. Pek çok su kenesi, özellikle de ilkel cinsler hassas vücutludur. Vücut yüzeyi yumuşak, ince, pürüzlü, çizgili veya papillalıdır. Vücut, birisi dorsalde ve diğeri de ventralde olmak üzere iki plaka tarafından komple kaplanmış ta olabilmektedir. Bazı türlerde kutikula, sklerize plak serilerinden oluşmaktadır. Vücut büyüklüğü genellikle 0,4 mm ile 3,0 mm arasında değişmektedir (Pennak 1991). Vücut yüzeyinde porlar dışında setalar, çıkıntı veya kıvrımlar ve çeşitli pigment tabakaları bulunmaktadır (Jeppson *et al.* 1975). Ayrıca gözler ile birlikte ışığa duyarlı organlar da bulunur. Genellikle canlı renklidirler (Vacante 2010).

Akarlarda baş oluşumu yoktur. Vücutları gnatostoma ve idiosoma olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Gnatostomada keliser ve palp çiftleri, idiosomada ise bacaklar ile vücudun geri kalan kısmı bulunmaktadır (Krantz and Walter 2009, Hoy 2011). İdiosoma da kendi içinde bacakların bulunduğu bölge (podosoma) ve bacakların arkasında kalan bölge (opistosoma) olmak üzere iki bölgeye ayrılmaktadır. Ayrıca akarların vücutları farklı araştırmacılar tarafından farklı kısımlara da ayrılabilir. Propodosoma, ilk iki bacak çiftini ayıran bölge ve geri kalan bölge de histerosoma bölgesi olarak ayrılmaktadır. Prosoma, gnathostoma ve podosomayı, opistostoma da vücudun geri kalanını içeren bölgedir (Hoy 2011). Su akarlarına ait genel vücut yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 1.1** Su akarına ait genel vücut yapısı. Moritz vd. (1994)'den uyarlanmıştır.

Gnatosoma veya kapitulum vücudun ön bölgesidir. Gnatosoma bir sutur ile idiosomadan ayrılmaktadır. Dışta palp çifti, içte keliser çifti ve ağız açıklığı bulunmaktadır (Gerson *et al.* 2003). Keliserler tipik olarak üç segmentten oluşmaktadır. Karşılıklı kancalardan içteki parça sabitken dıştaki parça hareketlidir. Keliserler kesmek ve delmek için kullanılmaktadır. Palpler beş segmentten oluşmaktadır. Besinleri algılamak ve tanımak için kullanılmaktadır (Şekil 1.2). Farklı akar gruplarında, palp segmentlerinde kayıplar ve yapısal değişiklikler meydana gelebilmektedir. Bazı akarlarda tarsus, dış taraftan iç tarafa doğru taşınmıştır. Bu sayede besinlerin tutulması sağlanmaktadır. Ayrıca tarsusun iç kısmında setalar bulunur ve besinlere dokunarak onları hissetmeye yaramaktadır. Keliser ve palplarda meydana gelen farklılıklar, sınıflandırmada kullanılan önemli karakterlerdir (Zhang 2003).

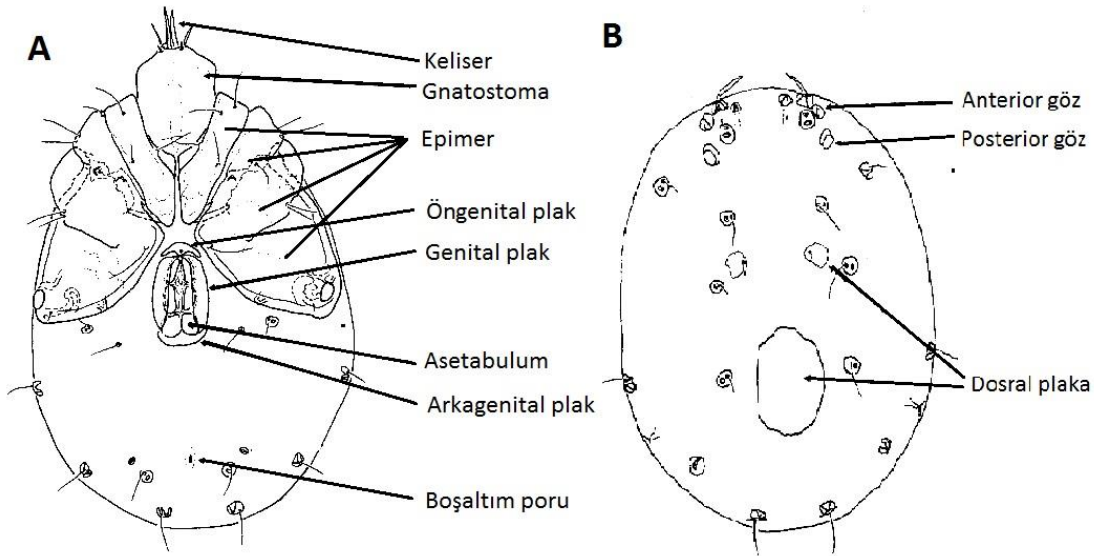


**Şekil 1.2** Su akarlarına ait gnatosoma, keliser ve palp yapısı. P1-P5 palp segmentlerini ifade etmektedir. Panesar (2000)'den uyarlanmıştır.

İdiosoma veya su kenesi vücudu bazen uzunlamasına veya dorso-ventral yassılaştırmış olmasına rağmen genellikle küreseldir. İdiosomada tipik olarak anterio-lateralde iki çift



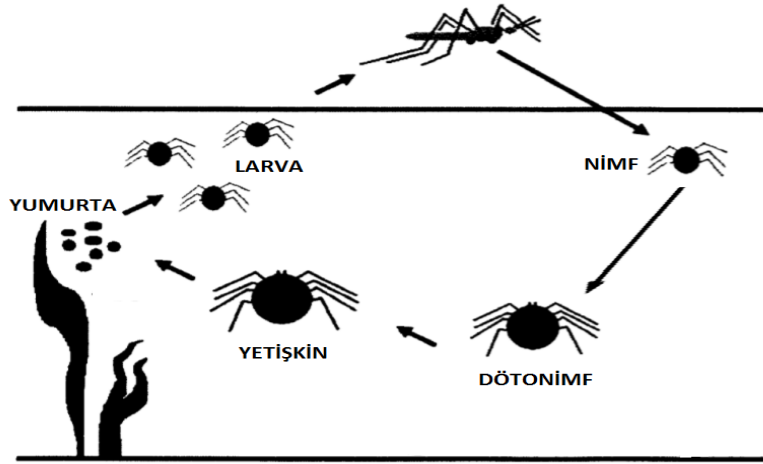
göz, bazı ilkel türlerde ise ortada median göz bulunmaktadır. Sırt ve karında bulunan salgı açıklıklarından salgılanan fenolik salgılar ile yırtıcı avcılarını uzaklaştırdığı bilinmektedir. Bu salgı açıklıkları tür ve cinslerin sınıflandırılmasında önemli yapılarıdır. Sırtta gözün önünde ve arkasında olmak üzere iki çift sensör setaları bulunmaktadır. Karında genital açıklık, bacaklar, boşaltım poru ve salgı açıklıkları bulunmaktadır. Genital açıklık bazı gruplarda posteriorda olsa da genellikle karının merkezinde konumlanmıştır. Bazı su kenelerinde genital plak olmamasına ya da ilkel kapaklar olmasına rağmen genellikle genital kapak çiftleriyle kaplanmıştır (Harvey 1998). Her bacak koxsa, trakanter, femur, genu, tibia, tarsus ve apotel olmak üzere altı segmentten oluşmaktadır. Bacak segmentlerinde değişen sayıda spin, seta ve uzun kıllar bulunmaktadır. Bacaklar sklerize olmuş ve koksal plaka veya epimer olarak isimlendirilen ventral plakalardan orjinlenmiştir (Pennak 1991).



**Şekil 1.3** İdiosoma. A: Ventral B: Dorsal. Panesar (2000)'dan uyarlanmıştır.

Su kenelerinin yaşam döngüleri yumurta ve prelarva, larva, protonimf, deutonimf, tritonimf ve ergin olmak üzere farklı evrelerden oluşmaktadır (Şekil 1.4). Tamamı parazit olan larval fazlar su yüzeyinde yaşayan, özellikle Hemiptera, Coleoptera ve Odonata'larda gelişmektedir. Dötonimf ve ergin evresinde suda serbest olarak yaşamaktadır (Panesar 2000, Martin and Gerecke 2009). Yetişkinlerden farklı olarak üç çift bacak vardır (Martin 2003). Su kenesi larvaları böcekler çoğunlukta olmak üzere yumuşakçalar, Cladocera, Copepoda gibi Arthropodalar, iki yaşamlılarda gibi sucul

organizmalarda parazit olarak yaşamaktadır (Butler and Burns 1991, Balseiro 1992, Davis 1997, Goldschmidt 2002, Martin and Smith 2002, Ernsting *et al.* 2006). Genellikle parazitlerin konak seçiminde konağın cinsiyetinin önemi yoktur (Martin and Stur 2006). Konağını sadece beslenmek için değil nimfe dönüşmek için de kullanmaktadır (Smith 1998).



Şekil 1.4 Su akarlarının hayat döngüsü. Nordqvist and Herrmann 2008'den düzenlenmiştir.

Orijini karasal formlar olan su keneleri bahar ve yaz aylarında lotik ve lentik habitatlarda yaşamaktadır. Tür zenginliği ve çeşitliliği bakımından sucul ekosistemlerin önemli bileşenini temsil etmektedir. Özellikle bahar aylarında bazı ekosistemlerde yumuşakçalardan sonra en fazla su kenelerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Genellikle canlı ve parlak renklere sahip su keneleri, avcı balıklar tarafından itici geldiğinden dolayı diğer soluk renkli olanlara göre daha yoğun bulunmaktadır (Proctor and Garga 2004). Küçük habitatlara kolaylıkla uyum sağlayabilmesi ve diğer zayıf omurgasızlar üzerindeki av ve parazitik etkileşimleri önemli özellikleridir (Di Sabatino *et al.* 2000, 2003, 2008). Su kenelerinin sucul ekosistemlerdeki bolluk ve çeşitliliğini habitatın flora ve faunası etkilemektedir. Littoral tabakada diğer tabakalara göre daha fazla tür bulunmaktadır (Davids *et al.* 1994, Cassano 2002). Biyotik faktörler ile birlikte abiyotik faktörler de su kenelerinin varlığını önemli ölçüde etkilemektedir. Su seviyesinin zamanla azalması ve buna bağlı olarak göldeki tuzluluk oranının artması bolluk ve çeşitliliği olumsuz etkilemekte, sıcaklık gibi iklimsel faktörler türlerin aylara göre dağılımını etkilemektedir (Erman vd. 2006, Özdemir vd. 2010). Ayrıca sedimentteki elementlerin oranı, suyun sıcaklığı, pH ve suda çözülmüş gazlar da su kenelerinin

dağılımını etkilemektedir (Ramon Roca and Gil 1992, Van der Hammen and Smith 1996, Goldschmid 2009).

### **1.1 Moleküler Sistemik**

Standardize edilmiş gen bölgeleri kullanılarak moleküler sınıflandırma fikri türlerin sınıflandırılmasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli yaklaşımın gelişmesinden sonra hızla artmıştır. İlk olarak mikrobiyal çalışmalarda kullanılmaya başlayan bu PCR temelli yaklaşım daha sonra taksonomide de kullanılmaya başlanmıştır (Woese 1996, Zhou *et al.* 1997). Bu kapsamda organizmaların genomunun standardize edilmiş özel gen bölgesindeki farklılıklarının canlıların tür düzeyine tanımlanabilmesini sağlayacak barkodlar oluşturulmaktadır. DNA barkodlama; standardize edilmiş kısa dizilerin (600-700 bp) türler arası genetik mesafenin tür içinden daha fazla olduğu prensibine dayanarak türlerin birbirlerinden ayırabileceği önermesine dayanmaktadır (Hebert *et al.* 2003). 2004 yılında DNA barkodlama protokolünde standart geliştirmek ve kapsamlı DNA barkod kütüphanelerini karşılaştırabilmek için Kanada'da Yaşam Barkod Birliği (Consortium for the Barcode of Life – CBOL) kurulmuştur. 2007 yılında diğer ülkelerin de katılımı ile geliştirilerek resmen Yaşam Barkodu Veri Sistemi (Barcode of Life Data Systems - BOLD) (İnt.Kyn.1) ve bilgisayarlı veri işleme sistemi Ulusal Biyoteknolojik Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information – NCBI) kurulmuştur (İnt.Kyn.2). Bu iki sistemin birleştirilmesiyle GenBank veri tabanı sistemi kurulmuştur. Araştırmacılar bu sistem sayesinde internet üzerinden türlerin verilerine kolayca ulaşabilmektedir (Jinbo *et al.* 2011). CBOL ve NCBI, GenBank'ta barkod dizileri için standart formatlar önerilmiştir (İnt.Kyn.3).

Bir türün sınıflandırılması, barkod kütüphanesindeki dizi yakın ise yapılabilmektedir. Tür için verilen dizilerin referans kütüphanedekilerden farklı olduğu durumlarda halotip veya coğrafik varyasyonlar değil ise yeni tür olarak önerilmektedir (Aravind *et al.* 2007, Hajibabaei *et al.* 2007). DNA barkodalama yöntemi sadece türlerin tanımlanmasında değil evrensel bitki barkodlamada, evrim, ekoloji, evrimsel biyoloji ve doğa koruma çalışmaları, popülasyon dinamiğinin ve popülasyonlar arasındaki gen akışının

belirlenmesi, tarımda zararlı böceklerin tespit, parazit ve vektörlerin tespiti, nesli tükenmekte olan türlerin tespiti ve koruma çalışmaları, aynı türün farklı yaşam evrelerinin belirlenmesi, çevresel analizler, parazit – konak ilişkisinin belirlenmesi ile simbiyotik ilişkinin aydınlatılması gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Besansky *et al.* 2003, Ball and Armstrong 2006, Bashasab *et al.* 2006, Kress and Erickson 2008, Ramadan and Baeshen 2012).

Organizmanın genomundaki gen bölgesinin DNA barkod olarak kullanılabilmesi için;

- a) Tür düzeyinde önemli derecede genetik çeşitlilik gösteren bölgeler içermelidir.
- b) Geniş taksonomik uygulamalarda evrensel primerler geliştirebilmek için korunmuş bölgeler olmalıdır.
- c) DNA izolasyonu ve PCR sırasında mevcut özellikleri kolaylaştırmak için kısa dizilerden oluşmalıdır (Kerss and Ericson 2008).

Bu temel özelliklere ilave olarak ideal bir markör; tek kopya veya çoklu homojen kopyalardan oluşmalı, kolay hizalanabilmeli, tüm bölgelerdeki varyasyonlar aynı derecede olmalı, türler arasında baz kompozisyonunda varyasyonlar olmamalı, kabaca eşit baz kompozisyonuna sahip olmalıdır (Cruickshank 2002).

Moleküler sistematik çalışmalarının uygulaması oldukça basit ve hızlıdır. Barkod bölgesinin dizi verilerinden genetik mesafeler hesaplanarak filogenetik ağaç oluşturulmaktadır. Bu filogenetik ağaçta yakın ilişkili bireyler kümelenmiş olur. Her bir tür tek dizi tarafından karakterize edilmiş gibi görünmektedir. Fakat türler arasında önemli farklılıklar oluşu gibi türler içinde de varyasyonlar gösterebilmektedir. Ancak genetik mesafe, farklı türler arasında genellikle tür içi genetik mesafeden daha büyüktür. Bu yüzden filogenetik ağaç yakın ilişkili birey kümeleri ile ifade edilmektedir ve her bir küme bir türü göstermektedir (Dasmahapatra and Mallet 2006).

PCR temelli moleküler sistematik yaklaşımının pek çok avantajı vardır. Bunlardan ilki moleküler verilere hızlı ve kolay ulaşılabilmesidir. Örneğin standart DNA barkod bölgesinin pek çok hayvan için ayırt etme gücü yüksektir. Bu kısa gen bölgesi organizmaların sınıflandırılabilmesi için yeterli bilgiye sahiptir. Bu sayede fazla sayıda

örnek uzmanlık gerektirmeden doğru bir şekilde sınıflandırılabilir. Barkod kayıtlarında dizi analizi verileri ve PCR primerleri ile birlikte tür ismi, tür etiketi (lokalite, tarih, fotoğraf vb.) yer almaktadır. Morfolojik veriler yetersiz kaldığında önceden tanımlanan türler sayesinde örneklerin doğrulanabilirliği de DNA barkodlamanın avantajlarından birisidir (Hebert *et al.* 2003, Jinbo *et al.* 2011). Bu yöntem canlı örnekler ile birlikte formalinde saklanan müze örneklerinde de uygulanabilmektedir (Frézal and Leblois 2008). İlave olarak özellikle parazit türler gibi klasik taksonomik yöntemler ile açıklanamayan türlerin tanımlanmasında da moleküler tabanlı sınıflandırmadan yararlanılmaktadır (Ernsting *et al.* 2008).

Türlerin tanımlanmasında moleküler yöntemlerin kullanılmasının önemli avantajlarının olmasının yanında henüz aydınlatılmamış bazı problemleri de bulunmaktadır. Örneğin türlerin sınıflandırılmasında tür içi varyasyonlar ya göz ardı edilmiştir ya da çalışmalara akraba türler dahil edilmemiştir. Ayrıca moleküler temelli tanımlamalar sınırlı coğrafik bölgelerde uygulanmıştır (Meyer and Paulay 2005). Bahsedilen biyolojik sorunların yanında istatistiksel sorunlar da bulunmaktadır. Türlerin sınırlandırılmasında ve filogenetik ağaç oluşturulmasında farklı programların kullanılması da farklı soy ağaçları oluşturulmasına neden olmaktadır (Sites and Marshall 2003).

Su kenelerinin morfolojik karakterlere dayalı sistematik çalışmalarında başta zaman kaybı olmak üzere büyük ve karmaşık bir literatür, coğrafik farklılıklardan kaynaklanan varyasyonlar gibi pek çok sorunla karşılaşmaktadır (Sites and Marshall 2003, 2004). Bu çalışmada Karamık Gölünden toplanan *Hydrachna (Diplohydrachna) globosa*, *Hydrodroma despiciens*, *Georgella helvetica*, *Hydryphantes dispar* türlerinin 28S ribozomal DNA (rDNA) gen bölgesinin nükleotid dizisi belirlenmiştir. Ayrıca tür içi ve türler arası ilişki belirlenmiştir. Ek olarak sistematikte DNA barkodlama ile moleküler markörler kullanılarak dünyada olduğu gibi ülkemizde geniş yaşam alanlarına sahip olan su kenelerinin 28S rDNA gen bölgesi nükleotid dizileri tanımlanmıştır. Elde edilen veriler gen bankalarına girilerek küresel çapta veri tabanı oluşturulmasına katkı sağlanacaktır. Ülkemizde henüz yaygınlaşmayan moleküler sistematik çalışmalarına da kaynak olacağı düşünülmektedir.

## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Klasik Sistemik Çalışmaları

Kenelerin biyolojileri ve beslenme şekilleri hakkında önceleri yeterli bilgi sahibi olunmadığı için parazit olduklarına inanılmaktadır. Fakat günümüzde böceklerde, hayvanlarda ve bitkilerde bulunan pek çok türün parazit olmadığı bilinmektedir. Dünyada keneler ile ilgili ilk çalışmanın Mısır'da başladığı bilinmektedir (Barker and Wharton 1952). Linnaeus döneminde 90 tür tanımlanmış ve Systema of Nature'nin 10. baskısında *Acarus* cinsi altında 10 tür daha eklenmiştir. Daha sonraki yıllarda keneler ile ilgili araştırmalar hız kazanmış ve birçok araştırmacı tarafından yüksek kategoriler oluşturulmuştur. Kapsamlı araştırmalar özellikle son yüzyılda Almanya'dan Viets (1936) ve Vitzthum (1940-1942), İsveç'ten Lundblad (1956) tarafından yapılan çalışmalarla hız kazanmıştır. Bu çalışmalar su kenelerinin ekonomik önemi ile ilgili değil, yaşam alanları, yayılışları ve renklenmeleri ile ilgili olmuştur (Jeppson *et al.* 1975).

Ülkemizdeki ilk su kenesi çalışması Erciyes Dağı'nda (Kayseri) Thon (1905) tarafından yapılmıştır. Bunu Szalay (1933)'in Zonguldak'taki çalışması takip etmiştir. Uzun bir aradan sonra Doğu Anadolu'da Özkan (1982) tarafından tekrar başlayan çalışmalar, daha sonraki yıllarda Doğu Karadeniz, Orta Karadeniz, Afyonkarahisar, Antalya gibi ülkemizin çeşitli bölge ve şehirlerinde yapılan tez ve makale çalışmaları ile yeniden hız kazanmıştır (Aşçı 2002, Bursalı 2002, Uysal 2005, Gülle 2010). Bu çalışmada kullanılan türler ile ilgili ülkemizde bazı şehirlerde yapılan çalışmalar Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Dumlu Çayı ve Akdağ suyunda Boyacı (1990) tarafından yapılan çalışmada incelenen 2330 örnekten *Hydryphantes dispar* türü ile birlikte 40 tür tanımlanmıştır. Bunlardan 16 tanesi Türkiye için yeni kayıttır. Bu çalışmada ayrıca bölgenin ekolojik özelliği, bölgedeki baskın, etkin, asıl ve yedek türleri de belirlenmiştir (Boyacı 1990).

Erman (1990) tarafından Elazığ İli Su Kenelerinin (Hydrachnellae, Acari) Sistemik

Yönden İncelenmesi adlı tezinde tanımlanan 47 tür içinde *Hydrachna globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türleri de bulunmaktadır. Bu çalışmada tespit edilen türlerden 20 tanesi Türkiye faunası için yeni kayıt olup 4 tanesi de bilim camiası için yeni kayıttır.

Boyacı (1995) Konya ili ve çevresinde yaptığı sistematik çalışmasında *Hydrachna globosa* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin de içinde bulunduğu 88 tür tanımlamıştır. Bu türlerden 40 tanesi ülkemiz, 2 tanesi de bilim dünyası için yeni kayıttır.

Aşçı (2002) tarafından Kars, Ardahan, Artvin, Rize illeri su kenelerinin sistematik yönden incelenmesinin sonucunda *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türleri ile birlikte 73 tür tespit edilmiştir. Bu türlerden 17'si Türkiye faunası için yeni kayıt olup 1 tanesi de bilim dünyası için yenidir.

Bursalı (2002)'nin Yeşilırmak Havzası'nda yaptığı sistematik çalışmasında *Hydrachna globosa*, *Hydryphantes dispar* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin de dahil olduğu 60 tür ve 6 alttür tanımlanmıştır. Bu çalışmada bilim camiası için 2, ülkemiz faunası için de 7 tür kaydedilmiştir.

Esen (2006) tarafından yapılan Malatya ili su kenelerinin sistematik yönden incelenmesinde tespit edilen 48 tür içinde *Hydrodroma despiciens*'te kaydedilmiştir. Ayrıca bu 48 türden 10 tanesi Türkiye faunası için yeni kayıttır.

Eber Gölü'nde (Afyonkarahisar) Ünal (2010) tarafından yapılan çalışmada *Hydrachna globosa*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin yanında toplamda 8 tür tespit edilmiştir.

Karakuyu Gölü su kenelerinin incelenmesi sonucunda *Hydrachna globosa*, *Hydraphantes dispar* ve *Hydrodroma despiciens* türleri ile 27 tür tanımlanmıştır ve bunlardan iki *Arrenurus* türü Türkiye için yeni kayıttır (Akın 2013).

**Çizelge: 2.1** *Hydrachna globosa*, *Hydraphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türlerin Türkiye'deki yayılış alanları

Tür	Yer	Kaynak
<i>Hydryphantes dispar</i>	Afyon	Uysal 2005, Akın 2013
	Antalya	Gülle 2010
	Bingöl	Esen 2011
	Bitlis	Özkan 1982b, Boyacı ve Özkan 2007
	Denizli	Boyacı ve Özkan 2003
	Elazığ	Erman 1990, Erman vd. 2006, Orhan 2006
	Erzincan	Dillkaraoğlu 2012, Esen vd. 2013
	Erzurum	Özkan 1982a, Boyacı 1990
	Kars	Aşçı 2002
	Tokat	Bursalı 2002
	Van	Küçüköner 2001
<i>Hydrachna globosa</i>	Afyon	Uysal 2003, Ünal 2010
	Bingöl	Esen 2011
	Bitlis	Özkan 1982b
	Denizli	Boyacı ve Özkan 2003
	Elazığ	Erman, 1990
	Erzurum	Özkan 1982b
	Kayseri	Özkan vd. 1996
	Konya	Boyacı 1995
	Samsun	Bursalı 2002
	Tokat	Bursalı 2002
	Van	Küçüköner 2001
<i>Georgella helvetica</i>	Afyon	Uysal 2003, Ünal 2010
	Antalya	Gülle 2010
	Bingöl	Esen 2011
	Bitlis	Küçüköner 2001
	Denizli	Boyacı ve Özkan 2003
	Elazığ	Erman 1990, Erman vd. 2006, Orhan 2006
	Erzurum	Özkan 1982b



**Çizelge 2.1** (Devam) *Hydrachna globosa*, *Hydraphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türlerin Türkiye’deki yayılış alanları

---

	Kars	Aşçı 2002
	Kayseri	Özkan vd. 1996
	Konya	Boyacı 1995
	Van	Küçüköner 2001
<i>Hydrodroma despiciens</i>	Afyon	Uysal 2003, Ünal 2010
	Antalya	Gülle 2010
	Ardahan	Aşçı, 2002
	Bingöl	Esen 2011
	Bitlis	Özkan 1980
	Denizli	Boyacı ve Özkan 2003
	Elazığ	Erman 1990, Erman vd. 2006, Orhan 2006
	Erzincan	Dilkataoğlu 2012, Esen vd. 2013
	Hakkâri	Özkan 1980
	Kars	Aşçı, 2002
	Kayseri	Özkan vd.1996
	Konya	Boyacı 1995
	Malatya	Esen 2006
	Siirt	Esen vd. 2014
	Tokat	Bursalı 2002
	Van	Küçüköner 2001

---

## 2.2 DNA Barkodlama Uygulamaları

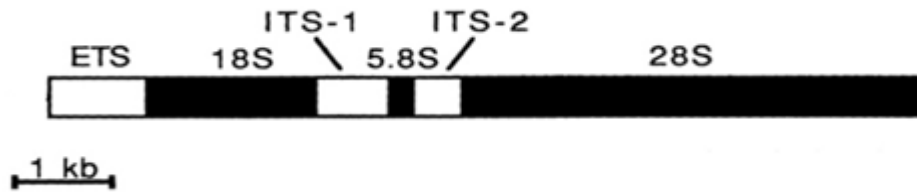
‘DNA Barkodlama’ terimi literatürde ilk defa Arnot vd. (1993) tarafından *Plasmodium falciparum*’un tanımlanmasında alternatif olarak kullanılmıştır. Bilim camiası tarafından o dönemde rağbet görmeyen moleküler sistematik yaklaşımı, 2003 yılından sonra altın çağını yaşamaya başlamış ve günümüze kadar kuş, balık, salyangozlar, deniz kabukları, örümcekler, böcekler ve diatomeler gibi omurgalılarından omurgasızlara pek çok organizmada başarı ile uygulanmıştır (Remigio and Hebert 2003, Hebert *et al.* 2004, Prendini 2005, Evans *et al.* 2007, Johnson *et al.* 2008, Ward *et al.* 2008, Virgilio *et al.* 2010).

Coelenterate’den Echinodermata’ya kadar toplamda 11 şubeden 80 omurgasız tür ile yapılan çalışmalar sonucunda, DNA barkod bölgesi için mitokondriyal sitokromoksidaz altünite I (COI) gen bölgesi önerilmiştir (Folmer *et al.* 1994). Barkodlama için uygun özelliklere sahip olmasının yanında çok kopyasının bulunması, uygun koşullarda saklanan örneklerden kolayca izole edilebilmesi, küçük olduğu için hızlı evrimsel gelişme göstermesi ve maternal aktarılması gibi avantajlarından dolayı genellikle mitokondriyal COI (mtCOI) tercih edilmektedir (Zhang and Hewitt 1996, Behura 2006). Yapılan pek çok çalışmada etkili sonuçlar alınmasına rağmen uygulamada yaşanan bazı sorunlardan dolayı mtCOI gen bölgesi evrensel değildir. Barkod bölgelerindeki farklılıklar türlerin ayrımında yeterli gibi görünse de ikinci bir gen bölgesi ya da diğer veriler ile birlikte kullanılması gerektiği önerilmiştir (Wiemers and Fiedler 2007).

Bazı araştırmacılar tarafından moleküler tabanlı sistematik çalışmalarında mtDNA’ya ait COI gen bölgesi dışında alternatif olarak 12S, 16S ve sitokrom *b* (cytb) gen bölgelerinin yanında genomik DNA’ya (gDNA) ait uzama faktörü geni ( $Ef1\alpha$ ), karbonil fosfat sentez gen bölgesi, mikrosatellitler, iç ara bölgeler (ITS1 ve ITS2), 12S, 16S ve 18S, 28S rDNA, COIII gen bölgesi dizilerinin de kullanılabileceğini belirtmektedirler (Whiting *et al.* 1997, Delaye *et al.* 1998, Essing *et al.* 1999, Kain *et al.* 1999, Norris *et al.* 1999, Kutty *et al.* 2010). Ayrıca bu gen bölgelerine ilaveten ecto-5'-nucleotidaz (e5NT) ve octopamine G-protein reseptör gen bölgeleri de önerilmiştir. Ancak yapılan

çalışmalarda bu gen bölgelerinin türlerin tanımlanabilmesi için özel bölgeler içermediği için tavsiye edilmemiştir (Baxter and Barker 1999, Liyou *et al.* 1999). Filogenetik çalışmalar için bu iki gen bölgesine ek olarak elongation factor-1 $\alpha$  gen bölgesi önerilmiştir (Klompen 2000).

Moleküler tabanlı sistematik çalışmalarında tek bir gen bölgesinin kullanımı hatalı sonuçlara neden olabileceğinden dolayı mevcut barkod bölgesini tamamlayıcı rDNA barkod bölgeleri önerilmektedir. Ökaryotlarda rDNA gen bölgesi dış transkribe bölgesi (ETS), 18S, 5.8S ve 28S olmak üzere üç altünite ve 18S ile 5.8S arasında ITS1 ve 5.8S ile 28S arasında ITS2 bölgelerinden veya bunların homologlarından oluşmaktadır (Hillis and Dixon 1991). Şekil 2.1'de ökaryot organizmalara ait rDNA gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Ökaryot rDNA gen bölgesi (Hillis and Dixon 1991)

Hebert vd. (2002) Avustralya ve Kuzey Amerika içsu ve denizlerde yayılış gösteren *Daphnia* ve *Anostraca* türlerine ait mitokondriyal (12S, 16S, COI) ve nükleer rDNA (18S, 28S) gen bölgelerinde UV ve ozmatik stresin etkisini araştırmışlardır. Dizileme sonuçlarında incelenen 15 *Daphnia sp.* türünün COI geninde C/T bazlarında yüksek oranda mutasyonlar meydana geldiği görülmüştür. Mutasyonlar içsulardan örneklenen *D. carinata* türünde diğerlerine göre daha yüksek oranda görülmüştür. Ayrıca iyonik kuvvet de DNA dizisinde değişikliklere neden olmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde moleküler evrimin yükseliş hızı çevresel etkenlere maruz kaldıkça arttığı görülmüştür.

Hebsgaard vd. (2004) su böceklerinin (Hemiptera-Heteroptrea) 16S ve 28S gen bölgelerini kullanarak filogenetik ilişkilerini belirlemişlerdir. Analiz sonuçları Nepoidea süperfamilyasındaki familyaların monofili gösterdiği hipotezini doğrulamıştır. Fakat Nauectoidea ile monofili göstermemektedir.

Witt vd. (2006) California ve Nevada (Amerika) eyaletlerinde yayılış gösteren tartışmalı *Hyalella azteca*, *H. muerta* ve *H. sandra* (Amphipoda) türlerinin tanımlanmasında 28S rDNA ve COI gen bölgelerini kullanmıştır. 28S dizilerinde 33 bölgede bulunan farklılığın COI bölgesinden %5 daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak 28S ve COI gen bölgeleri arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Bu çalışmanın sonucunda *H. muerta* ve *H. sandra* türlerinin *H. azteca* türü içinde geçici iki tür olduğu görülmüştür.

Dabert vd. (2010) 18S rDNA ve COI gen dizilerini kullanarak *Partnunia steinmanni*, *Hygrobatas longipalpis* ve *Hygrobatas sp.* türlerinin de içinde bulunduğu Acariformes alttakımının kapsamlı filogenetik analizini yapmışlardır. 130 takson için 18S rDNA dizi analizi ClustalX 1.81 programı kullanılarak yapılmıştır. Filogenetik ilişki maksimum tutumluluk (MP) ve maksimum olasılık (ML) analizleri ile kurulmuştur. Analiz sonuçları akarların monofili gösterdiğini doğrulamıştır ve Acariformes içinde iki büyük takım oluşturduğunu onaylamıştır.

Mironov vd. (2012) Rusya'dan morfolojik özellikler ile birlikte COI ve 28S rDNA gen bölgelerini kullanarak yeni bir tüy akarı türü (*Proctophyllodes valchukae*) tanımlanmıştır. Bu çalışmanın moleküler sistematik kısmında COI geninin 613 bp'lik uzunluğu ve 28S rDNA gen bölgesinin 788 bp'lik uzunluğu dizilenmiştir. Yapılan analizlere göre COI'nin nükleotidlerin sinonimliğinden dolayı 0,72'lik genetik mesafe ölçülmüştür. 28S rDNA bölgesinde bireyler arasında genetik farklılık görülmemiştir.

Skoracka ve Dabert (2010) farklı bölgelerden topladıkları üç farklı *Abacarus hystrix* popülasyonunun COI ve 28S rDNA dizisi temelli ayrımı yapılmıştır. ML analizleri ile oluşturulan filogenetik ağaç konağa adapte olmuş farklı *A. hystrix* kümeleri göstermiştir. Daha önceden tanımlanan morfolojik ve ekolojik veriler ile moleküler veriler arasında belirgin farklılıklar gözlenmiştir. *A. hystrix* popülasyonlarının üreme uyumsuzluğunun COI için %20, 28S için %2'den fazla olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre örneklenen *A. hystrix* türleri ile tek bir küme oluşturulamamıştır.

Martin vd. (2010) Kuzey Almanya'nın 13 farklı bölgesindeki göl ve akarsulardan topladıkları *Hygrobatas nigromaculatus*, *H. longipalpis* (1), *H. trigonicus* (2) ve *H.*

*fluviatilis* (10) türlerinin COI ve 28S rDNA dizileri kullanılarak taksonomik statüsünü ve habitatlar arasındaki farklılıkları belirlemiştir. Grup dışı olarak *Limnesia undulata* türü çalışılmıştır. Nükleotid dizilerinin genetik mesafeleri ve oranları MEGA4.1 yazılımı ile hesaplanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde göl ve akarsu popülasyonları arasında yüksek oranda COI ve 28S rDNA farklılıkları gözlenmiştir. Popülasyon içi polimorfizm, göl popülasyonları kadar akarsularda da yüksek görülmüştür.

Pepato vd. (2010) 18S ve 28S rDNA gen bölgesini kullanılarak *Limnesia sp.*, *Recifella sp.*, *Arrenurus sp.* ve *Hydrachna sp.* türlerinin de içinde bulunduğu Acariformes'in filogenetik ilişkisi kurulmuştur. Bayesian analizi sonuçları dal uzunluğu testi morfolofik sonuçlar ile uyumlu sonuçlar göstermiştir ve akarların monofli gösterdiğini onaylamıştır.

Arabi vd. (2012) su kenelerinden *Mideopsis roztozensis*, *Hydrachna conjecta*, *H. globosa*, *Hygrobatas norvegicus*, *Unionicola foili*, *Teutonia cometes*, *Teutonia sp.*, *Hydrodroma torrenticola*, ve *Torrenticola amplexa*'nın da içinde bulunduğu 180 Chelicerata taksonunun COI, 18S ve 28S rDNA gen kompozisyonunun gelişimini çalışmışlardır. Nükleotid hizalamaları Se-AI v2.0a11 programı ile manuel yapılmıştır. Her bir gen bölgesi için filogenetik analizler yapılmıştır. Trombidiformes içinde her alan Hydracarina'da *Hydrodroma torrenticola* ve *Torrenticola amplexa* türleri (BP=73) ile *Mideopsis roztozensis*, *Hydrachna conjecta*, *H. globosa*, *Hygrobatas norvegicus*, *Unionicola foili*, *Teutonia cometes*, *Teutonia sp.*, türleri olarak iki ana gruba ayrılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları Dabert vd. (2010) ve Pepato vd. (2010)'nin sonuçları ile benzerlik göstermiştir.

Pešić vd. (2012) Kuzey Montenegro (İspanya)'dan *Torrenticola lukai* n. sp. (Hydrachnidia, Torrenticolidae) türünü tanımlamışlardır. Lazer taramalı mikroskop ile morfolojik özellikleri incelenen örneklerin DNA barkod verileri de belirlenmiştir. Bu yeni türün hem morfolojik özelliklerinin hem de moleküler verilerinin diğer türlerden farklı olduğu görülmüştür.

Stålstedt vd. (2013)'nin 2007 ve 2008 yıllarında İsveç'ten toplanan *Unionicola crassipes* (14♀), *U. minor* (12♀), *Piona coccinea* (10♂), *P. stjordalensis* (6♂, 4♀), *P. imminuta* s. lat. (3♂, 1♀), *P. pusilla* (9♂, 1♀), *P. rotundoides* (3♂, 1♀), *P. variabilis* (9♀), ve *P. dispersa* (10♀) türlerinin morfolojik parametreler ile birlikte COI (658 bp) ve 28S rDNA (395 bp) barkod bölgelerini kullanarak filogenetik değişikliklerini analiz etmişlerdir. Grup dışı olarak *Arrenurus suecius* Ludbland, 1917 kullanılmıştır. Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC) analizleri ile tür kompleksi analizleri, Rosenberg testi ile resiprokal monofili ve Retriego testi ile dal uzunluk oranı hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda COI ve 28S sonuçları benzerlik göstermiştir. Veriler değerlendirildiğinde *Unionicola* ve *Piona* türleri arasında farklı genetik kümeler olduğu görülmüştür. Analiz sonuçları MrBayes v.3.2.1 programı kullanılarak Bayesian yöntemi ile de onaylanmıştır.

### 2.3 Su Keneleri İle İlgili Genel Çalışmalar

Günümüzde su keneleri ile yapılan çalışmalar genellikle klasik sistematik çalışmaları ile ilgilidir. Son yıllarda moleküler biyolojinin hızla gelişmesi ile klasik sistematik çalışmalarını moleküler markör tabanlı sistematik çalışmaları desteklemiş ve filogenetik çalışmalar hız kazanmıştır. Ancak genetik ve ekoloji alanındaki çalışmalar göz ardı edilmiştir. Su keneleri ile ilgili sistematik çalışmaları dışında sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunlardan bazıları:

Havens (1993) pH 4,5 olan yumuşak sulara maruz bırakılan *Caenis sp.*, *Hyalella azteca*, *Enallagma sp.*, *Gyraulus sp.*, Chironomidae ve Hydracarina türlerinde asit ve alüminyum etkisini araştırmıştır. 6, 12, 24 ve 48 saat alüminyuma maruz bırakılan örneklerde, alüminyum etkisi 24/48 saat arasında en azdan çoğa kadar *Caenis sp.* (2%) >*Hyalella azteca* (12%) >*Enallagma sp.* (20%) >*Gyraulus sp.* (55%) >Chironomidae (94%) >Hydracarina (99%) olarak ölçülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda *H. azteca*, *Gyraulus sp.* ve Chironomidae düşük pH (4,5)'ta ileri dozda alüminyumdan etkilenirken Hydracarina'nın etkilenmediği görülmüştür.

Onrat vd. (2006) *Hydrodroma despiciens* türünün somatik hücre kültürü incelenmiştir ve somatik hücrelerin  $2n=16$  kromozomlu olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada pek çok metot uygulanmış ve kromozom sayısı belirlenebilmiştir. Embriyonik hücre elde edilemediğinden eşey kromozomları tam olarak tespit edilememiştir.

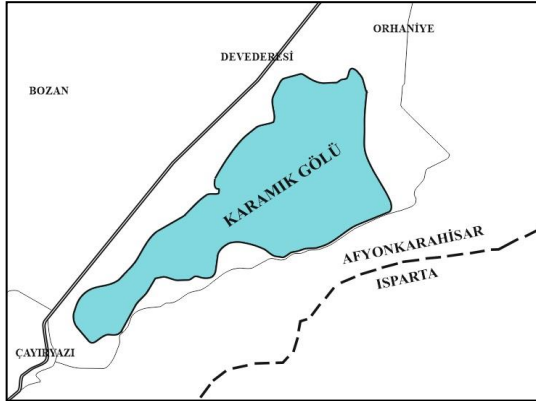
Aşçı vd. (2009) Eber ve Karamık Göllerindeki kontaminasyonu belirlemek için *Eylais sp.*, *Hydrodroma sp.*, *Hydrachna sp.* ve *Arrenurus sp.* türlerini kullanmışlardır. En muhtemel sayı tekniği kullanılarak koliform bakteri yükü ve uygun testler kullanılarak *Escherichia coli* için pozitif sonuçlar belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Eber ve Karamık Gölleri, Koliform bakteri oranından dolayı kirli sular sınıfına girdiği ifade edilmiştir (100 mL'de 2000-100 000). Bu veriler değerlendirildiğinde su kenelerinin evsel kaynaklı olmayan organik kirliliğin belirlenmesinde belirleyici organizmalar olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Aşçı vd. (2015) tarafından aralarında *Hydrachna globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin de içinde bulunduğu 10 su kenesi türünün elemental analizini yapılmıştır. Su kenelerinin yapısındaki karbon (C), azot (N), hidrojen (H) ve kükürt (S) yüzdesi mg olarak hesaplanmıştır. C miktarı yaklaşık %50 oran ile bütün türlerde en yüksek miktarda bulunurken S miktarı %1 oran ile en düşük miktarda tespit edilmiştir.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1 Biyolojik Materyal

Bu araştırmada kullanılan su kenesi örnekleri, 2014 ve 2015 yıllarında Afyonkarahisar İli sınırları içinde bulunan Karamık Gölü'nden (38°25'46.0"K 30°50'11.4"G) gözenekleri 0.5 mm çaplı akvaryum kepçesi ile toplanmıştır (Şekil 3.1). Genellikle iyi yüzebilen ve parlak renklerinden dolayı kolay ayıt edilebilen su keneleri daha önceden belirlenen lokalitelerden, littoral zondan toplanmıştır (Resim 3.1). İçinde yosun ve diğeri sucul omurgasızların bulunduğu akvaryum kepçesi içeriği arazi çalışması sırasında beyaz zeminli küvete alınmıştır. Su kenesi örnekleri pastör pipeti yardımı ile etiketli şişelere alınmıştır. Arazide ayıklanmayan akvaryum kepçesinin içeriği poşetlenerek laboratuvara getirilmiştir. Su kenelerinin ayırımı laboratuvarında beyaz zeminli küvette ışık altında yapılmıştır.



Şekil 3.1 Çalışma Bölgesi Karamık Gölü



Resim 3.1 Karamık Gölü'nün genel görünüşü

#### 3.2 Morfolojik Metot

Laboratuvara getirilen su kenesi örneklerinin teşhisinde Olympus SZ61 stereo mikroskop kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan *Hydrachna (Diplohydrachna) globosa* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin teşhisinde Besseling (1964) ve *Georgella helvetica* ve *Hydryphantes dispar* türlerinin teşhisinde László (1964) gibi temel kaynaklar ile birlikte Uysal (2005)'dan faydalanılmıştır. Mikroskop altında iğne ve ince uçlu pens yardımı ile şekil verilen örneklerin fotoğrafları Olympus Color View I



görüntüleme sistemi ile çekilmiştir. Morfometrik ölçümler Olympus cellSens Standart programı kullanılarak yapılmıştır. Tür seviyesinde tanımlanan her bir örnek moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere etiket bilgileri yazılmış akvaryumlara konulmuştur.

### 3.3. Moleküler Metot

#### 3.3.1 DNA izolasyonu

DNA izolasyonu her bir türe ait tek örnekten gerçekleştirilmiştir ve canlı örnek kullanılmıştır. DNA izolasyonunda COI gen bölgesi için *Hydrachna proceasisifera*, *H. globosa*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Piona contraversiosa*, *Arrenurus affinis*, *A. maculator* türlerinden ve 28S rDNA gen bölgesi için *Hydrachna proceasisifera*, *H. globosa*, *Eylais setosa*, *E. extendens*, *Hydryphantes dispar*, *H. flexuosus*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Arrenurus affinis*, *A. maculator* türlerine ait gDNA izole edilmiştir.

DNA izolasyonu yapılmadan önce su kenisi örnekleri saf su ile yıkanmıştır. Her bir örnek iğne ile delinerek vücut ve sindirim sıvısı uzaklaştırılmıştır. DNA izolasyonu, bazı değişiklikler yapılarak tarafından uygulanan Cetil Trimetil Amonyum Bromid (CTAB) metodu ile gerçekleştirilmiştir (Schäffer *et al.* 2008). 1,5 mL steril ependorf tüpüne alınan su kenisi örneği üzerine sıvı azot dökülerek azot içinde ezilerek toz haline getirilmiştir. Tüp içine 400 µL CTAB çözeltisi (%2 CTAB, %1 PVP-40 000, 20 mM 2-Merkactoetanol, 50 mM Tris-HCl pH 8,0, 10 mM ETDA pH 8,0, 1,4 M NaCl) eklendikten sonra 55°C'ye ayarlı sıcak su banyosunda 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. 400 µL kloroform:izoamil alkol (49:1 v/v) eklenerek tüpler 30-40 defa ters-düz edilerek karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 2 dakika dinlendirildikten sonra 12 000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant yeni bir ependorf tüpe alınmıştır ve üzerine 1/10 hacimde 3 M NaOAc (pH 5,2) eklenmiştir. Karışım pipetleme ile iyice karıştırılmıştır. Karışımın son hacminin %60'ı izo-propanol olacak şekilde soğuk izo-propanol eklenmiştir. Tüp içinde oluşan faz kaybolana kadar yavaşça ters-düz edilerek karıştırılmıştır ve +4°C'de 2 saat bekletilmiştir. Tüpler +4°C'de 12 000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. %70 soğuk etanol ile yıkanan pellet +4°C'de 12 000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant

uzaklaştırılarak oda sıcaklığında 10 dakika kurumaya bırakılmıştır. DNA pelleti, 20 µL TE çözeltilisinde (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 1 mM ETA pH 8,0) çözdürüldükten sonra bir gece +4°C’de dinlendirildikten sonra tekrar kullanılana kadar -20°C’de saklanmıştır.

Ayrıca DNA izolasyonunda CTAB metodundan başka QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) ve GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Kiti (Thermo Scientific™) kullanılmıştır.

QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) doku protokolü:

1,5 mL santrifüj tüpü içinde sıvı azot yardımı ile ezilen su akarı örneklerinin üzerine oda sıcaklığında 180 µL Buffer ATL ve 20 µL Proteinaz K eklenmiştir. Karışım 15 saniye vortekslenildikten sonra 56°C sıcak su banyosunda 3 saat doku tamamen lize olana kadar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında örneklerin homojen karışması için belirli aralıklarla vortekslenmiştir. 200 µL (%96-100) etanol eklendikten sonra 15 saniye vortekslenmiştir. Bu karışım (çökelti ile birlikte) dikkatlice QIAamp spin kolona (2 mL toplama tüpü içine) aktarılmıştır. 6 000g’de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Süzüntü içeren tüp yenisi ile değiştirilmiştir. Üzerine 500 µL Buffer AW1 eklenmiştir ve 6 000 g’de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Süzüntü içeren tüp atılmıştır. Tüp çeperi ıslatılmadan 500 µL Buffer AW2 eklenmiştir. 20 000g’de (14 000 rpm) 3 dakika santrifüjlenmiştir. QIAamp spin kolon temiz 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir ve süzüntü içeren tüp atılmıştır. QIAamp spin kolon tüpüne dikkatlice 25 µL Buffer AE eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 6 000 g’de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bir gece +4°C’de dinlendirilen DNA örnekleri tekrar kullanılana kadar -20°C’de saklanmıştır.

GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Kiti (Thermo Scientific™) doku protokolü:

Su kenisi örnekleri 1,5 mL mikrosantrifüj tüpünde sıvı azot yardımı ile ezilmiştir. Üzerine 180 µL Digestion Buffer ile 200 µL Proteinaz K eklenmiştir ve kısaca vortekslenmiştir. Karışım 3 saat 56°C’ye ayarlanmış sıcak su banyosunda doku tamamen lize olana kadar inkübasyona bırakılmıştır. Tüpler inkübasyon sırasında belirli aralıklarla vortekslenmiştir. 20 µL RNase A çözeltilisi eklenmiştir. Vortekslenildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Karışıma 200 µL Lysis

Solution eklenmiştir ve 15 saniye vortekslenmiştir. 400 mL %50 etanol eklenmiştir ve homojen karışım olana kadar pipet yardımı ile karıştırılmıştır. Karışım GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Colon tüpüne alınmıştır. 6 000 g'de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Süzüntü içeren tüp yenisi ile değiştirilmiştir. Üzerine 500 µL Wash Buffer I (etanol eklenmiş) eklenmiştir ve 6 000 g'de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Süzüntü içeren tüp yenisi ile değiştirilmiştir. Kolon tüpe çeperi ıslatılmadan 500 µL Wash Buffer 2 (etanol eklenmiş) eklenmiştir. 20 000 g'de (14 000 rpm) 3 dakika santrifüj edilmiştir. GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Colon tüpü temiz 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Kolon tüpünün zarına dikkatlice 50 µL Elution Buffer eklenmiştir. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 6 000 g'de (8 000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bir gece +4°C'de dinlendirilen DNA örnekleri tekrar kullanılabilece kadar -20°C'de saklanmıştır.

### **3.3.2 2xCTAB Çözeltisi Hazırlama**

DNA izolasyonunda kullanılmak üzere 100 mL CTAB çözeltisi hazırlanmıştır. 10 mL 100 mM Tris (Stok 1 M), 28 ml 1,4 mM NaCl (Stok 5 M), 4 ml 20 mM EDTA (Stok 0,5 M) cam pipet ile ölçülerek dereceli silindirde birleştirilmiştir. 2 g %2 CTAB eklendikten sonra son hacim 100 mL olacak şekilde dH<sub>2</sub>O ilave edilmiştir. Cam şişeye aktarılan karışım 60°C sıcak su banyosunda CTAB eriyene kadar bekletilmiştir. Karışım oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 1 g %1 PVP eklenmiştir. Hazırlanan çözelti otoklav ile steril edilmiştir. % 0,2 2-Markeptoetanol, CTAB çözeltisini kullanmadan hemen önce eklenmiştir.

### **3.3.3 PCR Kurulumu ve Döngü Koşulları**

İzole edilen gDNA'lardan her birisi için 0,2 mL ependorf tüplerde 50 µL polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) karışımı hazırlanmıştır. 28S rDNA ve COI gen bölgelerini çoğaltmak için 1X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 nM F primer, 0,5 nM R primer, 5 µL dNTP (25 µM dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 5 µL gDNA ve 1 U Yüksek güvenilirlikli DNA Polimeraz (Thermo Scientific) ve son hacim 50 µL olacak miktarda dH<sub>2</sub>O kullanılarak karışım hazırlanmıştır. COI geni için LCO 1490-forward 5'-

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' ve HCO 2198-reverse 5'- TCAGGGT GACCAAAAAATCA-3' ile dejenere bcdF01 5'-CATTTTCHACTAAYCATAARGA TATTGG-3' ve bcdR04 5'-TATAAACYTCDGGATGNCCAAAAAA-3' primerleri kullanılarak iki farklı PCR karışımı hazırlanmıştır (Folmer *et al.* 1994). COI geni için PCR koşulları 98°C'de 3 dakika denatürasyon (DNA zincirlerinin ayrılması) döngüsünden sonra 35 döngü 98°C'de 20 saniye denatürasyon, 61,5°C'de 20 saniye annealing (primerlerin bağlanması), 72°C'de 30 saniye polimerizasyon (zincirin uzaması) ve son olarak 72°C'de 8 dakika polimerizasyon döngüsü olarak ayarlanmıştır. 28S rDNA bölgesini için D2F-forward 5'-AGTCGTGTTGCTTGATAGTGACAG-3' ve D2R-reverse 5'-TTGGTCCGTGTTTCAAGACGGG-3' primerleri kullanılarak reaksiyon kurulmuştur (Campbell *et al.* 1993, Goolsby *et al.* 2006). 28S rDNA için PCR koşulları denatürasyon için 98°C'de 2 dakika, annealing ve polimerizasyon için 35 döngü 98°C'de 15 saniye ve 72°C'de 3 dakika, son polimerizasyon için 1 döngü 72°C'de 5 dakika olarak ayarlanmıştır. PCR döngüleri ProFlex™ 3x32-Well PCR System cihazında gerçekleştirilmiştir.

### **3.3.4 PCR Ürününün Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi**

PCR ürünleri 6X yükleme tamponunda (10 mM Tris-HCl pH 7,6, %0,03 bromofenol blue, %0,03 ksilen siyanol FF, %60 gliserol, 60 mM EDTA) yürütülmüştür. PCR ürünlerini yürütmek için 1X TBE tamponu (10,78 g Trizma® baz, 5,50 g 88 mM Borik asit, 1 mL EDTA) ve 8 µL (100 mL agaroz jel için) RedSafe (20000X) (INTRON BIOTECHNOLOGY) nükeik asit boyama çözeltisi kullanılarak %1,8'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jele 100 bp uzunluğunda DNA ladder (Thermo Scientific GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, 10 mM Tris-HCl pH 7,6, 1 mM EDTA) ile birlikte PCR ürünleri yüklenmiştir. DNA örnekleri Consort EV245 güç kaynağı kullanılarak 1X TBE tamponu bulunan jel tankı içinde 147 mA, 120 V akım ile yaklaşık bir saat yürütülmüştür. Agaroz jelde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jel saf su ile durulanmıştır. DNA bantları GEN-BOX SDR Bio-imaging Systems ile UV ışık altında görüntülenmiştir.

### 3.3.5 PCR ürünü saflaştırma

1,5 mL ependorf tüplere alınan PCR ürünlerine 1/10 hacimde soğuk NaOAc (sodyum asetat) ve 2,5 hacimde buz soğucu %100 etanol eklenmiştir. Karışım, tüpler ters düz edilerek yavaşça karıştırılıp -20°C'de 2 saat bekletilmiştir. +4°C'de 20 dakika 15 000 rpm'de santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. DNA pelleti üzerine 500 ml soğuk %70 etanol eklenmiştir ve +4°C'de 5 dakika 15 000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet oda sıcaklığında 10 dakika kurumaya bırakılmıştır ve 30 µL TE tamponunda çözdürülmüştür.

### 3.3.6 DNA Dizi Analizi

Saflaştırılmış PCR ürünleri dizi analizi Sangers Metodu ile BM Laboratuvar Sistemleri (Reşit Galip Cad. 74-7, 06700, Çankaya, Ankara)'ne hizmet alımı karşılığı yaptırılmıştır. İleri ve geri olmak üzere iki yönlü okuma yapılmıştır. Firmadan gelen DNA dizi elektrogamları FinchTV (Geospiza, Inc. USA) programı kullanılarak açılmıştır. Gen bölgeleri kopyalanarak düzenlenmek üzere yeni metin belgesine alınmıştır. Geri okuma dizisi Nucleic Acid Sequence Massager (İnt.Kyn.4) programı kullanılarak çevrilmiş ve ileri okuma dizisi ile eşleştirilmiştir. Elde edilen bu veriler ile NCBI'nde kayıtlı mevcut veriler ile BlastN ve BlastP programları kullanılarak karşılaştırılmıştır. Dizilerin karşılaştırmasında internet üzerinden MEGA6 paket programı kullanılarak su akarı örneklerinin tür içi ve türler arası filogenetik ilişki düzeyleri değerlendirilmiştir. Gen dizileri protein ve DNA hizalama aracı Clustal Omega programı kullanılarak çevrimiçi hizalanmıştır (İnt.Kyn.5).

## 4. BULGULAR

### 4.1 Morfolojik Bulgular

#### 4.1.1 Hydrachnidae Leach, 1815

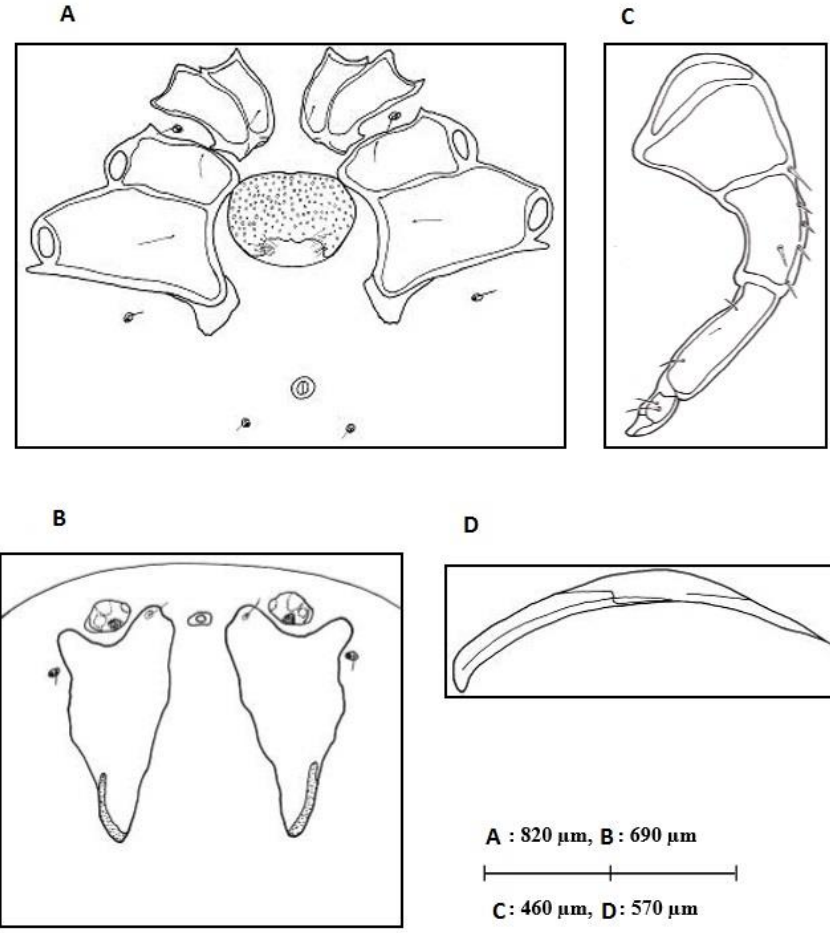
##### 4.1.1.1 *Hydrachna (Diplohydrachna) globosa* (Geer, 1778)

**Erkek:** Yuvarlak vücutlu olup derileri papillidir. Sırt plağı göz kapsülünün altında satır şeklindedir. Tek parça olan keliser ince uzun, kama şeklini almıştır. Palpin kaidesi kalın olup uçlara doğru daralmaktadır ve alt kenarı içbükeydir. P<sub>4</sub> ve P<sub>5</sub> kıskaç oluşturmuştur. Epimerler ikili gruplara ayrılmıştır. III. epimerin arka ucu eşeyssel plağa yaklaşmıştır, IV. epimerin arka uç kısmı aşağı doğru daralarak uzamıştır. Bacaklarda çok sayıda yüzme kılı vardır. Eşeyssel plak kabarıktır ve aşağı doğru uzanarak kalp şeklini almıştır. Eşeyssel plağın kaynaşma çizgisi ve üst bölgesi dışında kalan bölgelerde farklı boyutlarda çukurluklar bulunur. Boşaltım poru eşeyssel plağın altında olup çevresi kitin halka ile çevrilidir (Resim 4.1).

Türlere ait sistematikte önemli olan bazı organların çizimleri Şekil 4.1’de, ölçümleri Çizelge 4.1’de ve ülkemizdeki yayılış alanları Çizelge 2.1’de verilmiştir.



**Resim 4.1** *Hydrachna globosa* türünün mikroskop görüntüsü



**Şekil 4.1** *Hydrachna globosa* türüne ait bazı morfometrik ölçümler. A. Karın, B.Sırt plakları, C. Palp, D. Keliser (Uysal 2005).

## 4.1.2 Hydryphantidae Thor, 1900

### 4.1.2.1 *Hydryphantes* (s.str.) *dispar* (Schaub, 1888)

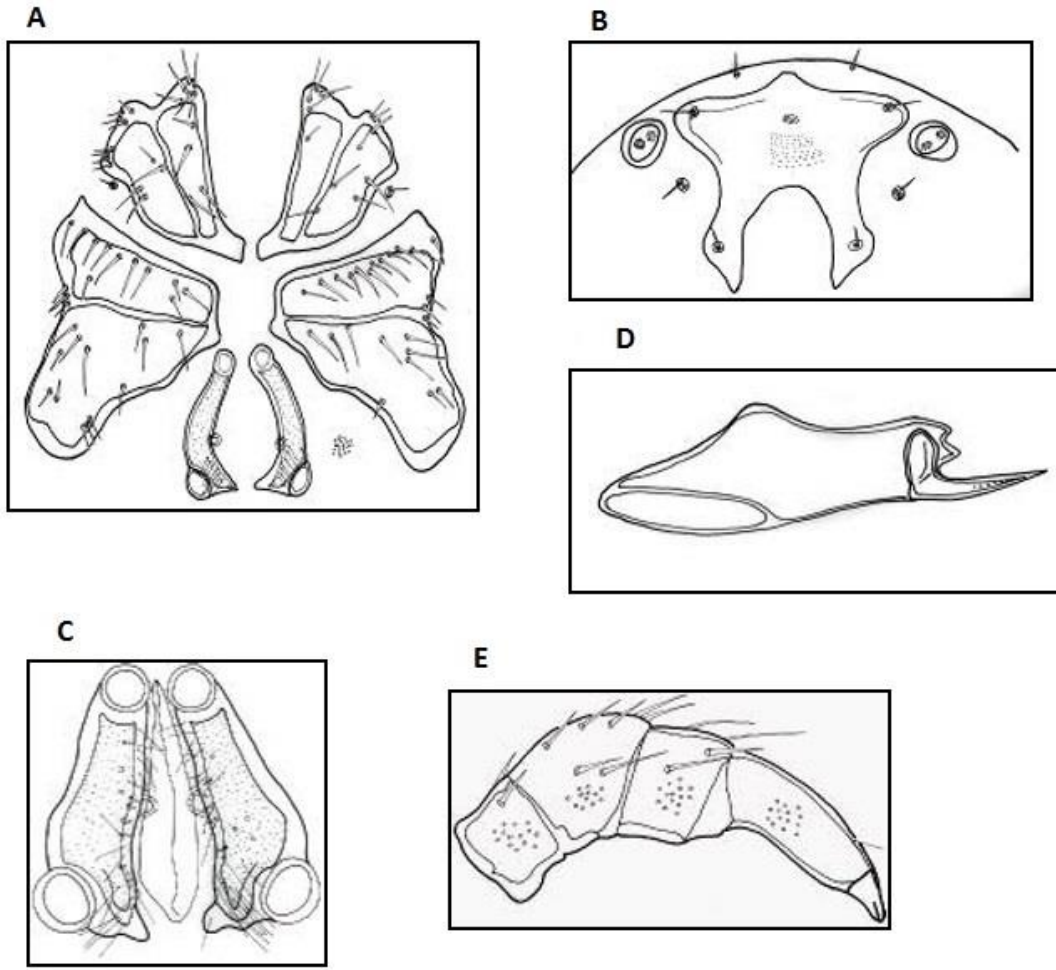
**Dişi:** Vücut dorso-ventral basık, deri papillidir. Sırt plağının önü çıkıntılıdır. Keliser iki parça olup uç kısmında iğne şeklinde tırnak vardır. Palp segmentlerinde P<sub>5</sub> dışında farklı sayıda kıllar bulunur. Epimerler ikili gruplar halindedir. Bacak segmentleri farklı sayılarda yüzme kılları içerir. Eşeyssel plakta birisi üst uçta, diğeri altta olmak üzere bir çift kabartı bulunur (Resim 4.2).

Türe ait sistematikte önemli olan bazı organların çizimleri Şekil 4.2’de, ölçümleri Çizelge 4.1’de ve ülkemizdeki yayılış alanları Çizelge 2.1’de verilmiştir.



**Resim 4.2** *Hydryphantes* (s.str.) *dispar* türünün dorsalden mikroskop görüntüsü





A : 675  $\mu\text{m}$ , B : 600  $\mu\text{m}$

C : 335, D : 220, E : 305  $\mu\text{m}$

**Şekil 4.2** *Hydryphantes dispar* türüne ait bazı morfometrik ölçümler. A. Vücut; Ventral, B. Sırt plağı, C. Eşeyssel plak, D. Keliser, E. Palp (Uysal 2005)

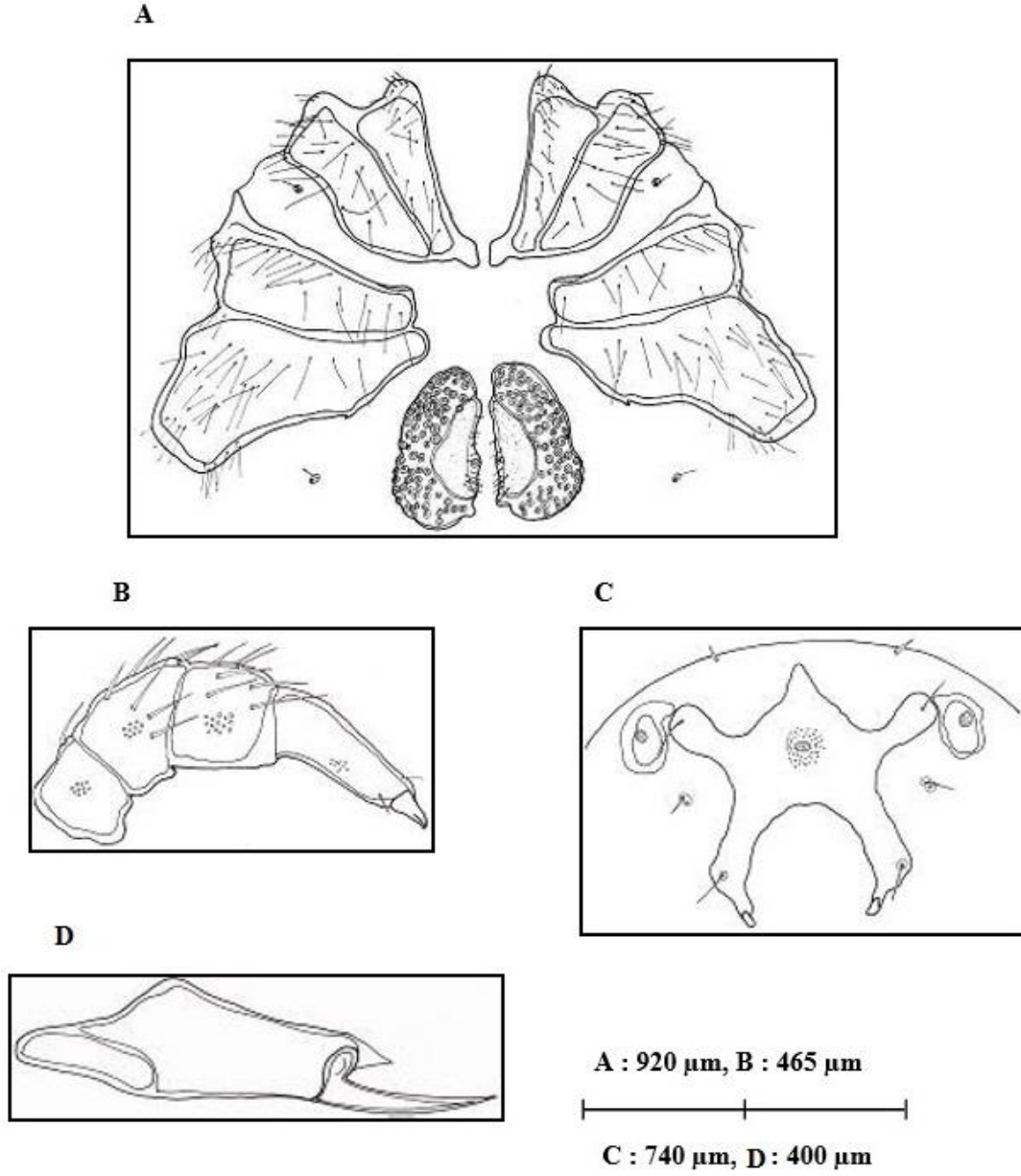
#### 4.1.2.2 *Georgella helvetica* (Haller, 1882)

**Dişi:** Deri papillidir. Sırt plağının yanal çıkıntıları uzundur ve öndeki uzantılar arasında üçgen şeklinde uzun bir çıkıntı vardır. Arka uzantılar U şeklindedir. Keliserin ucunda kama şeklinde tırnak bulunur. Plap segmentlerinde çeşitli sayıda kıllar bulunur. Epimerler ikili gruplar halde bulunur ve arka uçları birbirlerine yönelerek sonlanmıştır. I. epimerlerin arka uçlarında birbirlerine doğru uzanan çıkıntılar bulunur. IV. epimerlerin arka kısımları eşeyssel plakla uyumlu şekilde çukurlaşmıştır. Bacak segmentlerinde çeşitli sayılarda yüzme kılları bulunur. Eşeyssel plakta tüm yüzeye yayılmış çok sayıda çukurluklar bulunur.

Türe ait sistematikte önemli olan bazı organların çizimleri Şekil 4.3'te ölçümleri Çizelge 4.1'de ve ülkemizdeki yayılış alanları Çizelge 2.1'de verilmiştir.



**Resim 4.3** *Georgella helvetica* türünün dorsalden mikroskop görüntüsü



**Şekil 4.3** *Georgella helvetica* türüne ait bazı morfometrik ölçümler. A. Vücut; Ventral, B. Sırt plağı, C. Eşeyssel plak, D. Keliser, E. Palp (Uysal 2005)

### 4.1.3 Hydrodromidae Viets, 1936

#### 4.1.3.1 *Hydrodroma despiciens* (Müller, 1776)

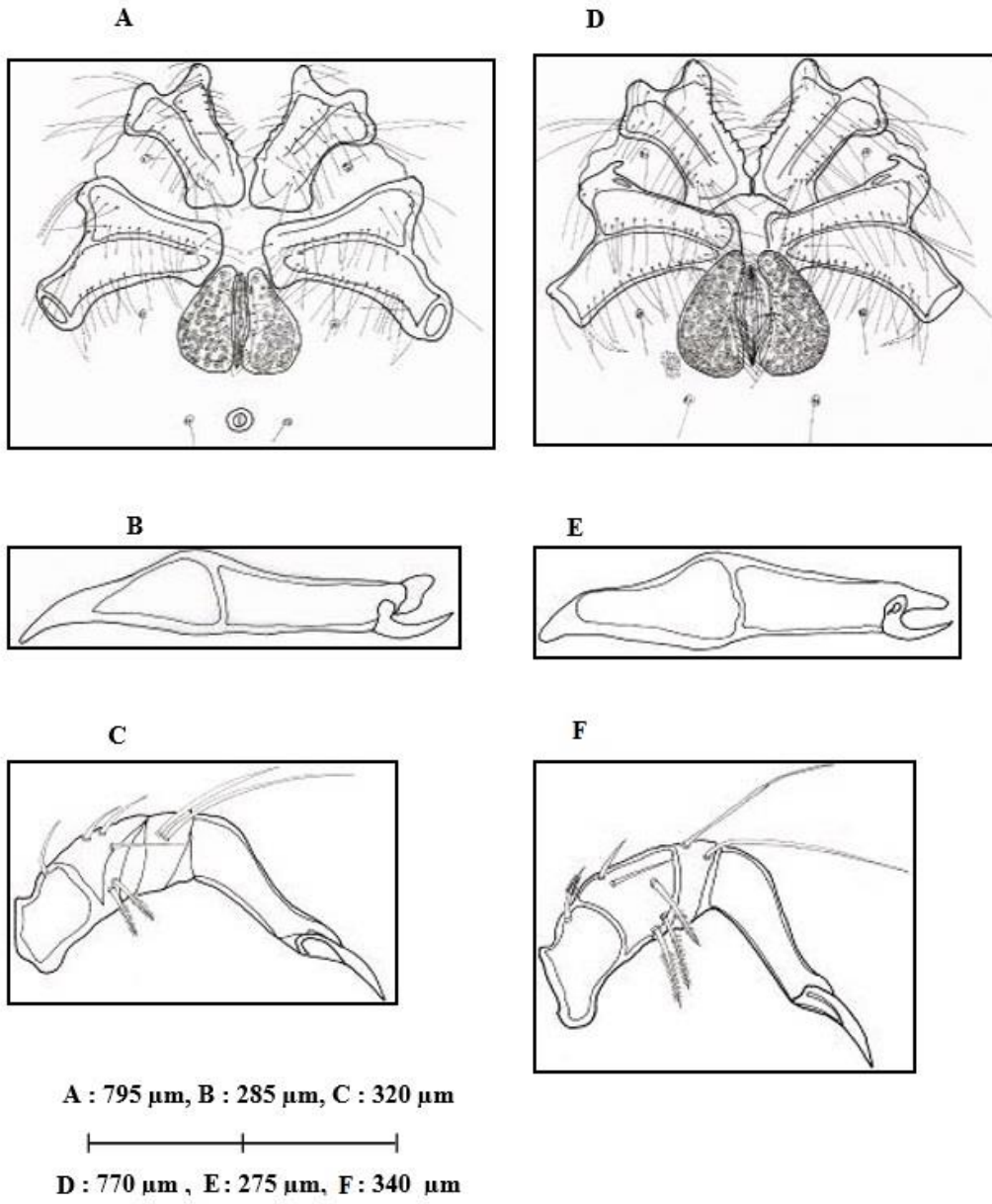
**Erkek:** Yuvarlak, yumuşak vücutludur. Sırt ve karında plakalaşma yoktur. Gözler deri altında bulunur. Keliserin uç kısmında kanca şeklinde tırnak bulunur. P<sub>3</sub>'te uzun, P<sub>2</sub> ile P<sub>3</sub>'te alt ve yanda düz veya fırça şeklinde olmak üzere palpte üç tip kıl bulunur. Bacaklarda yüzme kılları bulunur. Eşeyssel bölge iki plaktan oluşur ve üzerinde çok sayıda çukurluk bulunur. İç kısımları içbükeydir.

**Dişi:** Vücutları erkeklerden farklı olarak daha büyüktür. Eşeyssel plaktaki ortalama kabartı sayısı erkelerden daha azdır.

Türlere ait sistematikte önemli olan bazı organların çizimleri Şekil 4.4'te ölçümleri Çizelge 4.1'de ve ülkemizdeki yayılış alanları Çizelge 2.1'de verilmiştir.



**Resim 4.4** *Hydrodroma despiciens* türünün dorsalden mikroskop görüntüsü



**Şekil 4.4** *Hydrodroma despiciens* türüne ait bazı morfometrik. ♀ A. Vücut; Ventral, B. Keliser, C. Palp; ♂ D. Vücut; Ventral, E. Keliser, F. palp (Uysal 2005)

**Çizelge 4.1** *Hydrachna (Diplohydrachna) globosa*, *Hydryphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despicens* türlerine ait morfometrik ölçümler. V: Vücut Büyüklüğü (En/Boy), K: Keliser Uzunluğu, P: Palp Uzunluğu, E1: 1. Epimer, E2: 2. Epimer, E3: 3. Epimer, E4: 4. Epimer, B1: 1. Bacak, B2: 2. Bacak, B3: 3. Bacak, B4: 4. Bacak, E: Eşysel Açıklık (En/Boy). Uzunluklar  $\mu\text{m}$  olarak verilmiştir.

TÜR ADI	V	K	P	E1	E2	E3	E4	B1	B2	B3	B4	E
<i>H. globosa</i> ♂	2263/2127	550	631	340	357	440	484	1587	1802	1901	2087	494/426
<i>H. globosa</i> ♀	2081/2322	590	587	336	356	426	615	1064	1535	2210	2118	430/448
<i>H. dispar</i> ♀	1226/1346	892	1218	310	287	311	394	949	1327	1350	1673	288/317
<i>G. helvetica</i> ♀	2504/2975	864	1150	454	424	542	720	1572	2191	2216	2356	394/460
<i>H. despicens</i> ♂	1812/2688	342	351	306	369	327	348	1072	1418	1399	1757	218/357
<i>H. despicens</i> ♀	2363/2220	xxx	395	330	390	356	448	1114	1450	1381	1707	390/312

## 4.2 Moleküler Bulgular

### 4.2.1 COI dizisi

Bu çalışmada, su kenesi örneklerinden genomik DNA örnekleri çıkarıldıktan sonra PCR'da COI gen bölgeleri çoğaltılma çalışmaları yapılmıştır. Defalarca DNA izolasyon çalışmaları tekrarlanmasına rağmen ve bu izolasyonlarda en ez iki farklı kit ve bir manuel DNA izolasyonu uylamaları yapılmış olmasına rağmen PCR'da DNA bölgesi çoğaltımı yapılamamıştır. Ayrıca, PCR koşulları optimize edilmesine rağmen de başarılı bir sonuç alınamamıştır. Ancak, *Georgella helvetica* su akarından sadece bir örnek için COI gen parçası PCR'da çoğalmıştır. Bu PCR ürünü diziletilmiş ve aşağıdaki nükleotid ve tahmin edilmiş protein dizisine sahip olunmuştur.

>GhCOI [*Georgella helvetica*] cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial, 657 nt

```
CTTGATTTAGCTTTTGGAGCATGGTCTGGGATAGTGGGAGCTAGATTAAGAA  
CATTAAATTAGATTAGAATTAGGACAACCAGGGACATTATTGGAGAGGATCA  
AGTATATAATACAACCTTTAACAGGCCACGCATTTGTTATAATTTTCTTTAT  
AGTTATAACCAATAATCAGTGGTGGATGTGGGAATTGGTTAGTTCCTTTAATA  
ATTAGAGCCCCAGACATAGCATTCCCTCTAACAAATAATATAAGATTTTGGC  
TATTACCTCCTTCCTTAATTCTATTGTTAACCAGATCATTTACATCATTGGGA  
ACGGGAACGGGAGGAACAGTATATCCTCCTCTCTCACGAAATTTAGCTCATT  
CAGGACCTTCAGTTGATTTAACAATTTTTTCACTTCATTTAGCTGGTATTTCT  
TCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATAGCAACTATTATTAATGTTAAACCTA  
AACATATAAAAATAGAACAAATTCCTTTATTTGCTCGATCCATTTTCATTAC  
AACAAATTTTACTTCTTTTATCTCTTCTGTACTAGCAGGAGCCATTACTATAC  
TTTTAACAGATCGAAATTTTAATACATCATTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGG  
GGATCCCATTTTATATCAACATTTATTTTGA
```

>GhCOI [*Georgella helvetica*] predicted cytochrome oxidase subunit 1 (COI) protein, partial cds; mitochondrial, 218 amino acids

```
LDLAFGAWSGIVGARLRTLIRLELGQPGTLLERIKYIIQPLTGHAFFVIIFVVIPIISG  
GCGNWLVP LIIRAPDIAFPLTNNIRFWLLPPSLILLTRSFSLGTGTGGTVYPPLS  
RNLAHSGPSVDLTIFSLHLAGISSILGAINFIATIINVKPKHIKIEQIPLFARSIFITL  
LLLSLPVLAGAITILLTDRNFNTSFFDPAGGGDPILYQHLLF*
```

#### 4.2.2 28S rDNA

COI gen dizisinin aksine, 28S rDNA gen bölgesi *Hydrachna procesisifera*, *H. globosa*, *Eylais setosa*, *E. extendens*, *Hydryphantes dispar*, *H. flexuosus*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Arrenurus affinis*, *A. maculator* türlerinden *H. globosa* (3), *H. dispar* (1), *G. helvetica* (5) ve *H. despiciens* (5) türlerinden başarı ile izole edilip çoğaltılmıştır. Su kenelerine ait uzunluğu 568 nt ve 582 nt arasında değişen toplamda 14 tane 28S rDNA gen dizisi elde edilmiştir. 14 farklı örneğe ait 28S rDNA'daki 100 bp'lik bölge (TAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAA GAACTTTGAAGAGAGAGAGTTCAAAAAGGACGTGAAACCGTATGCAGGTAAAC AGATGGACCCACGAAGT) büyük oranda korunmuş bunun haricindeki bölgeler türe özgü olarak korunmuştur.

*Hydrachna globosa* türüne ait 3 farklı örnekten başarılı bir şekilde 28S rDNA dizisine ulaşılmıştır. Bu türlere ait örneklerin etiket numaraları Hdg01, Hdg02 ve Hdg03 şeklinde verilmiştir. Bu etiketlerin nükleotid hizalamaları Clustal Omega programında yapılmış ve nükleotid hizalaması Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Dizilerin hizalaması sonucunda Hdg01 ve Hdg02 etiket örneklerinde 525. nükleotid olmak üzere bir bölgede boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 568 nt olarak belirlenmiştir. Hdg03 etiket örneğinde boşluk görülmemiştir ve aynı bölge için toplam nükleotid sayısı 569 nt olarak belirlenmiştir. 28S rDNA gen bölgesi *H. globosa* türünün 3 etiket örneği 42 değişken nükleotid (%7,4) içermektedir. Hdg01, Hdg02 ve Hdg03 etiket numaralı örneklerin 28S rDNA gen bölgesi nükleotid dizileri aşağıda verilmiştir.



CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

```

Hdg0328S   AGTCCCCGAAGGAAAAGATGCGTCCACCTAAGGCTAAATATCGCATAATGTGAGACACG   60
Hdg0128S   AGTCCCCGAAGGAAAAGATGCGTATAGATGATGATAATATTGAAATAATAGAGGAGACC   60
Hdg0228S   AGTCCCCGAAGGAAAAGATGCGTATAGATGATGATAATATTGAAATAATAGAGGACACG   60
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   AGTCGCAACAAGTACCGTGAGGGAAAAGTTGCAAAGAACITTTGAAGAGAGAGTTCAAAG   120
Hdg0128S   GATAGCAACAAGTACCGTGAGGGAAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAACAG   120
Hdg0228S   AGTAGCAACAAGTACCGTGAGGGAAAAGTTGCAAAGAACITTTGAAGAGAGAGGTTCAAAG   120
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   GACGTGAAACCGTTTGCAGGTAACAGATGGACCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTC   180
Hdg0128S   GACGTGAAACCGTTTGTAGGTAACAGATGGACCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTC   180
Hdg0228S   GACGTGAAACCGTTTGCAGGTAACAGATGGACCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTC   180
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   AATTTTTGATTGTGGTCGCTACTTTTTGAAGGATTGCATTGTCAAAAATTCAAATGTGGT   240
Hdg0128S   AATTTTTGATTGTGGTCGCTACTTTTTGAAGAATTGCATTGTCAAAGATTCAAATGTGGT   240
Hdg0228S   AATTTTTGATTGTGGTCGCTACTTTTTGAAGGATTGCATTGTCAAAAATTCAAATGTGGT   240
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   TGAACGCATGAGAAATGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAAATAAG   300
Hdg0128S   TGAACGCATAAGAAATGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAAATAAG   300
Hdg0228S   TGAACGCATGAGAAATGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAAATAAG   300
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   TACCTCATTAAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTATATTGGAGTAAAC   360
Hdg0128S   TACCTCATTAAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTATATTGGAGTAAAC   360
Hdg0228S   TACCTCATTAAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTATATTGGAGTAAAC   360
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   TTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCATGTTTGTITTT   420
Hdg0128S   CTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCATGTTTGTITTT   420
Hdg0228S   TTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCATGTTTGTITTT   420
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   CAGGGTGACAAATTAAGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGGTGATGAATTATTGTATCT   480
Hdg0128S   CAGGGTGACAAATTAGGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGGTGATGAATTATTGTATCT   480
Hdg0228S   CAGGGTGACAAATTAAGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGGTGATGAATTATTGTATCT   480
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   TTTTGAATTGTTGTCATGATAAATAAATGAGATGATCCAGTAGTAAGTAGGTCGTTTATC   540
Hdg0128S   TTTTGAATTGTTGCCATGATAAATAAATGAGGTGATCCAGTTTA-AGTAGGTCGTTTATC   539
Hdg0228S   TTTTGAATTGTTGCCATGATAAATAAATGAGATGATCCAGAGTA-AGTAGGTCGTTTATC   539
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Hdg0328S   CATCTGACCCGTCCTTGAACACGGACCAA   569
Hdg0128S   GTTCTCCTCCGTCCTTGAACACGGACCAA   568
Hdg0228S   CATCTGACCCGTCCTTGAACACGGACCAA   568
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

Şekil 4.5 *Hydrachna globosa* örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması. (\*) Aynı pozisyondaki nükleotidlerin ortak olduğunu; diziler içindeki "-" işareti boşluğu ifade etmektedir.

>Hdg0128S [*Hhydrachna globosa*] voucher Hdg01 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 568 nt

AGTCCCCGAAGGGAAAAGATGCGTATAGATGATGATAATATTCGAATAATA  
GAGGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTT  
TGAAGAGAGAGTTCAACAGGACGTGAAACCGTTTGTAGGTAAACAGATGGA  
CCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTCAATTTTTGATTGTGGTCGCTACTT  
TTTGAAGAATTGCATTGTCAAAGATTCAAATGTGGTTGAACGCATAAGAAA  
TGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAATAAGTACCTCA  
TTAAAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTTATATTGGAGTAAA  
CCTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCATG  
TTTGTTTTTCAGGGTGACAAATTAGGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGGT  
GATGAATTATTGTATCTTTTTGAATTGTTGCCATGATAAATAAATGAGGTGA  
TCCAGTTTAAGTAGGTCGGTTATCGTTCTCTCCCGTCTTGAAACACGGACCA  
A

>Hdg0228S [*Hhydrachna globosa*] voucher Hdg02 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 568 nt

AGTCCCCGAAGGGAAAAGATGCGTATAGATGATGATAATATTCGAATAATA  
GAGGACACGAGTAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAACTT  
TGAAGAGAGAGGTCAAAAGGACGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGG  
ACCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTCAATTTTTGATTGTGGTCGCTACT  
TTTTGAAGGATTGCATTGTCAAAAATTCAAATGTGGTTGAACGCATGAGAA  
ATGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAATAAGTACCTC  
ATTAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTTATATTGGAGTAA  
ACTTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCAT  
GTTTGTTTTTCAGGGTGACAAATTAAGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGG  
TGATGAATTATTGTATCTTTTTGAATTGTTGCCATGATAAATAAATGAGATG  
ATCCAGAGTAAGTAGGTCGGTTATCCATCTGACCCGTCTTGAAACACGGAC  
CAA

>Hdg0328S [*Hhydrachna globosa*] voucher Hdg03 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 569 nt

AGTCCCCGAAGGGAAAAGATGCGTCCACCTAAGGCTAAATATCGCATAATG  
TGAGACACGAGTCGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAACTTT  
GAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGA  
CCCACGAAGTCTTGTTGAGTAGAAATTCAATTTTTGATTGTGGTCGCTACTT  
TTTGAAGGATTGCATTGTCAAAAATTCAAATGTGGTTGAACGCATGAGAAA  
TGCATTTTTCTACTCATGAAAGAGCTCTGACTGCTTGGAATAAGTACCTCA  
TTAAAACAATGTATTATCACTATCTTCGGAGGAGATTTTATATTGGAGTAAA  
CTTAGTTTCGTTGCAGGTGAAATCGTTGCAATTCGCGGCGTTTCAGGTCATG  
TTTGTTTTTTCAGGGTGACAAATTAAGAAGTGTGATATATTTGTTACTTCGGT  
GATGAATTATTGTATCTTTTTGAATTGTTGTCATGATAAATAAATGAGATGA  
TCCAGTAGTAAGTAGGTCGTTTATCCATCTGACCCGTCTTGAAACACGGACC  
AA

*Hydryphantes dispar* türüne ait 1 örnekten başarılı bir şekilde 28S rDNA dizisine ulaşılmıştır. Bu türlere ait örneğin etiket numarası Hyd01 şeklinde verilmiştir. Toplam nükleotid sayısı 552 nt olarak belirlenmiştir. Bu örneğin 28S rDNA gen bölgesi nükleotid dizisi aşağıda verilmiştir.

>Hyd0128S [*Hydryphantes dispar*] voucher Hyd01 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 552 nt

TATCACTGACTAGACCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGAAAAGTTGCAAA  
GAACTTTGAAGAGAGAGAGTTCAAAAAGGACGTGAAACCGTATGCAGGTAAAC  
AGATGGACCCACGAAGCCCCTGTTGATCAGAGAATTCATATTCTTACATTTT  
ACAAAGAGTGCAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGCTGTGCTCTTTTGG  
CGGTGAAAGGATGCATTTTCTTCTGATCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAAT  
CGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGTAAGCGTGGTAAAACCTCATTGAGTTT  
ATTCACACTACAACAGGTGAAGTATGCAAAGTCAAACCTGAGCAGGTGAAA  
TTCTCACGTAAGTGGGGTTTCAGATTGTTTCTGCAGCCCGGTGGACAAGTGT  
GACTGCACTAAAGTGCTCTTCGGCTCTTGGGTTGAAACCTTTATGCCGTTGC  
ACTTATGTTCTGCTGGTGTCTGTAGTGAATAATAATCCAGAGTAAGTAGGT  
CGGTCATCCATCTGACCCGTCTTGCAACGGGACCAA

*Georgella helvetica* türüne ait 5 farklı örnekten başarılı bir şekilde 28S rDNA dizisine ulaşılmıştır. Bu türlere ait örneklerin etiket numaraları Grh01, Grh02, Grh03, Grh04 ve Grh05 şeklinde verilmiştir. Bu etiketlerin dizi hizalaması Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Dizi hizalaması sonucunda Grh01 ve Grh02 etiket numaralı örneklerde boşluk görülmemiş olup toplam nükleotid sayısı 582 nt olarak belirlenmiştir. Grh03 etiket örneğinde 538. ve 582. nükleotidler olmak üzere iki bölgede boşluk görülmüştür ve toplam nükleotid sayısı 580 nt olarak belirlenmiştir. Grh04 etiket örneğinde 536., 538. ve 582. nükleotidler olmak üzere üç bölgede boşluk görülmüştür ve toplam nükleotid sayısı 579 nt olarak belirlenmiştir. Grh05 etiket numaralı türde 582. nükleotidler olmak üzere bir boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 581 nt olarak belirlenmiştir. 28S rDNA gen bölgesi *G. helvetica* türünün 5 etiket örneği 20 değişken nükleotid (%3,4) içermektedir. Grh01, Grh02, Grh03, Grh04 ve Grh05 etiket numaralı örneklerin 28S rDNA gen bölgesi nükleotid dizileri aşağıda verilmiştir.

>Grh0128S [*Georgella helvetica*] voucher Grh01 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 582 nt

GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAAAG  
GACGTGAAACCGTATGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTCCTGTTGAG  
CAGAGAATTCATATTCTTGCATTTGTCAAAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCG  
ATAGGTGTTTGCTCTGCTCTTTTTGGCGATGTAAGGATGCATTTTCTTCTGCT  
CACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGT  
AAGCGTGGTAAAACCTCTCTGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT  
GCCAAGTCAAACCTGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATT  
ATTTCTGCAGCCTTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCTCTTCGGCTC  
TTGGGTTGAAGCCTTTGTGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTTTCTGC  
AGTGTAATAATAATCCAGAGTAAGTAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGTCT  
TGAAACACCGACCAA

>Grh0228S [*Georgella helvetica*] voucher Grh02 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 582 nt

GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAAAG  
GACGTGAAACCGTATGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTCCTGTTGAG  
CAGAGAATTCATATTCTTGCATTTGTCAAAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCG  
ATAGGTGTTTGCTCTGCTCTTTTTGGCGATGTAAGGATGCATTTTCTTCTGCT  
CACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGT  
AAGCGTGGTAAAACCTCTCTGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT  
GCAAAGTCAAACCTGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATT  
ATTTCTGCAGCCTTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCTCTTCGGCTC  
TTGGGTTGAAGCCTTTGTGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTTTCTGC  
AGTGTAATAATAATCCAGAGTAAGTAGGTCGGTCATTCATCTGACCCGTCT  
TGAAACACCGACCAA

>Grh0328S [*Georgella helvetica*] voucher Grh03 28S ribosomal DNA gene, partial  
sequene; genomic, 580 nt

GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAAGCTTTGAAGAGAGAGTTCAAAAG  
GACGTGAAACCGTATGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTCCTGTTGAG  
CAGAGAATTCATATTCTTGCATTTGTCAAAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCG  
ATAGGTGTTTGCTCTGCTCTTTTTGGCGATGTAAGGATGCATTTTCTTCTGCT  
CACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGT  
AAGCGTGGTAAAACTCTCTGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT  
GCAAAGTCAAAGTCTGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATT  
ATTTCTGCAGCCTTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCTCTTCGGCTC  
TTGGGTTGAAGCCTTTGTGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTTTCTGC  
AGTGTAATAATAATCCACGATGGTAGTTCGGTCATCCATCTGACCCGTCTT  
GACATGGAACCAA

>Grh0428S [*Georgella helvetica*] voucher Grh04 28S ribosomal DNA gene, partial  
sequene; genomic, 579 nt

GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAAGCTTTGAAGAGAGAGTTCAAAAG  
GACGTGAAACCGTATGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTCCTGTTGAG  
CAGAGAATTCATATTCTTGCATTTGTCAAAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCG  
ATAGGTGTTTGCTCTGCTCTTTTTGGCGATGTAAGGATGCATTTTCTTCTGCT  
CACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGT  
AAGCGTGGTAAAACTCTCTGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT  
GCAAAGTCAAAGTCTGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATT  
ATTTCTGCAGCCTTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCTCTTCGGCTC  
TTGGGTTGAAGCCTTTGTGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTTTCTGC  
AGTGTAATAATAATCCAGTTGTTAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGTCTTG  
ACATGGAACCAA

>Grh0528S [*Georgella helvetica*] voucher Grh05 28S ribosomal DNA gene, partial  
sequene; genomic, 581 nt

GGTGGTGAGCTCCACCTATGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGCAAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAAAG  
GACGTGAAACCGTATGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTCCTGTTGAG  
CAGAGAATTCATATTCTTGCATTTGTCAAAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCG  
ATAGGTGTTTGCTCTGCTCTTTTTGGCGATGTAAGGATGCATTTTCTTCTGCT  
CACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTTGGCCCCTGT  
AAGCGTGGTAAAACTCTCTGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT  
GCAAAGTCAAAGTCTGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATT  
ATTTCTGCAGCCTTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCTCTTCGGCTC  
TTGGGTTGAAGCCTTTGTGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTTTCTGC  
AGTGTAATAATAATCCAGAGTAAGTAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTCT  
TGACATGGAACCAA

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

Grh0128S	GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCCT	60
Grh0228S	GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCCT	60
Grh0528S	GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCCT	60
Grh0328S	GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCCT	60
Grh0428S	GGTGGTAAGCTCCACCTAAGGCTAAATATGACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCCT	60
	*****	
Grh0128S	GAGGGAAAGTTGC AAAGAAC TTTGAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTATGCAG	120
Grh0228S	GAGGGAAAGTTGC AAAGAAC TTTGAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTATGCAG	120
Grh0528S	GAGGGAAAGTTGC AAAGAAC TTTGAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTATGCAG	120
Grh0328S	GAGGGAAAGTTGC AAAGAAC TTTGAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTATGCAG	120
Grh0428S	GAGGGAAAGTTGC AAAGAAC TTTGAAGAGAGAGTTCAAAGGACGTGAAACCGTATGCAG	120
	*****	
Grh0128S	GTAACAGATGGACCCACGAAGTCTGTTGAGCAGAGAATTCATATTC TTGCATTTGTCA	180
Grh0228S	GTAACAGATGGACCCACGAAGTCTGTTGAGCAGAGAATTCATATTC TTGCATTTGTCA	180
Grh0528S	GTAACAGATGGACCCACGAAGTCTGTTGAGCAGAGAATTCATATTC TTGCATTTGTCA	180
Grh0328S	GTAACAGATGGACCCACGAAGTCTGTTGAGCAGAGAATTCATATTC TTGCATTTGTCA	180
Grh0428S	GTAACAGATGGACCCACGAAGTCTGTTGAGCAGAGAATTCATATTC TTGCATTTGTCA	180
	*****	
Grh0128S	AAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGTCTGCTCTTTTGGCGATGTAAGG	240
Grh0228S	AAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGTCTGCTCTTTTGGCGATGTAAGG	240
Grh0528S	AAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGTCTGCTCTTTTGGCGATGTAAGG	240
Grh0328S	AAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGTCTGCTCTTTTGGCGATGTAAGG	240
Grh0428S	AAGAGTGGAGTTAAAGACTTAGCGATAGGTGTTTGTCTGCTCTTTTGGCGATGTAAGG	240
	*****	
Grh0128S	ATGCATTTTCTTCTGCTCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTT	300
Grh0228S	ATGCATTTTCTTCTGCTCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTT	300
Grh0528S	ATGCATTTTCTTCTGCTCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTT	300
Grh0328S	ATGCATTTTCTTCTGCTCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTT	300
Grh0428S	ATGCATTTTCTTCTGCTCACGCTGGAGCTCTGACTGCTTAATCGACTTGAGCTGCTTTTT	300
	*****	
Grh0128S	GGCCCTGTAAGCGTGGTAAAAC TCTCGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT	360
Grh0228S	GGCCCTGTAAGCGTGGTAAAAC TCTCGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT	360
Grh0528S	GGCCCTGTAAGCGTGGTAAAAC TCTCGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT	360
Grh0328S	GGCCCTGTAAGCGTGGTAAAAC TCTCGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT	360
Grh0428S	GGCCCTGTAAGCGTGGTAAAAC TCTCGAGTTTATCTCACACTACAACAGGTGAAGTAT	360
	*****	
Grh0128S	GCCAAAGTCAAAC TGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATTATTTCTGCA	420
Grh0228S	GCCAAAGTCAAAC TGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATTATTTCTGCA	420
Grh0528S	GCCAAAGTCAAAC TGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATTATTTCTGCA	420
Grh0328S	GCCAAAGTCAAAC TGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATTATTTCTGCA	420
Grh0428S	GCCAAAGTCAAAC TGAGCAGTTGAAATTCTCACGCAAGTGGGGTTTCAGATTATTTCTGCA	420
	** *****	
Grh0128S	GCC TTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCCTTCGGCTCTTGGGTTGAAGCCTTTG	480
Grh0228S	GCC TTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCCTTCGGCTCTTGGGTTGAAGCCTTTG	480
Grh0528S	GCC TTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCCTTCGGCTCTTGGGTTGAAGCCTTTG	480
Grh0328S	GCC TTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCCTTCGGCTCTTGGGTTGAAGCCTTTG	480
Grh0428S	GCC TTGTGGACAAGTATAGCGACGTCAAAGTGCCTTCGGCTCTTGGGTTGAAGCCTTTG	480
	*****	
Grh0128S	TGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTCTGCAAGTGTAAATAATAATCCAGAGTAAG	540
Grh0228S	TGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTCTGCAAGTGTAAATAATAATCCAGAGTAAG	540
Grh0528S	TGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTCTGCAAGTGTAAATAATAATCCAGAGTAAG	540
Grh0328S	TGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTCTGCAAGTGTAAATAATAATCCAGAT -GG	539
Grh0428S	TGTTGAGAATACTTAAGCTCTGCAAGTGTCTGCAAGTGTAAATAATAATCCAGT -T-GT	538
	***** *	
Grh0128S	TAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGAAACACCGACCAA	582
Grh0228S	TAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGAAACACCGACCAA	582
Grh0528S	TAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGACATGGAACCAA-	581
Grh0328S	TAGTTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGACATGGAACCAA-	580
Grh0428S	TAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGACATGGAACCAA-	579
	** ***** *	

Şekil 4.6 *Georgella helvetica* örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması. (\*) Aynı pozisyondaki nükleotidlerin ortak olduğunu; diziler içindeki "-" işareti boşluğu ifade etmektedir.



*Hydrodroma despiciens* türüne ait 5 farklı örnekten başarılı bir şekilde 28S rDNA dizisine ulaşılmıştır. Bu türlere ait örneklerin etiket numaraları Hdd01, Hdd02, Hdd03, Hdd04 ve Hdd5 şeklinde verilmiştir. Bu etiketlerin dizi hizalaması Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Dizilerin hizalaması sonucunda Hdd01 etiket örneğinde 538. ve 545. nükleotidler arasında 8 bölgede boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 573 nt olarak belirlenmiştir. Hdd02 etiket örneğinde boşluk görülmemiştir ve aynı bölge için toplam nükleotid sayısı 581 nt olarak belirlenmiştir. Hdd03 etiket örneğinde 1., 314., 552. ve 581. bölgeler olmak üzere dört bölgede boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 577 nt olarak belirlenmiştir. Hdd04 etiket örneğinde 1., 2. ve 581. bölgeler olmak üzere üç bölgede boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 578 nt olarak belirlenmiştir. Hdd05 etiket örneğinde 1., 2., 445. ve 581. bölgeler olmak üzere dört bölgede boşluk görülmüş ve toplam nükleotid sayısı 577 nt olarak belirlenmiştir. 28S rDNA gen bölgesi *H. despiciens* türünün 5 etiket örneği 113 değişken nükleotid (%19,5) içermektedir. Hdd01, Hdd02, Hdd03, Hdd04 ve Hdd5 etiket numaralı örneklerin 28S rDNA gen bölgesi nükleotid dizileri aşağıda verilmiştir.

>Hdd0128S [*Hydrodroma despiciens*] voucher Hdd01 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 573 nt

```
GGTGGTAAGCTCCACTTAGGGCTAAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAAC
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAATAG
GACGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTGCAACTGTG
TGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCTGCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTT
AGGGACACTTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGGCAAGACGTCTTTAGC
AGGAGTGATCCGCAAGGTTTCGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAAGTGATA
GTCATGTAAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCAGTACTGAA
TGTTGACTCTGCATTAAGCCCGTTCCCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGA
AGTACTTACATGTTTCAGGGTACACCAGTACTGTTTGTACCAAATCACTCCT
GTGATCATATCTCGGATCAGAGTAGTAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGTCT
TGAAAAAAAGACCAATAGTGAGTACGTCATCCCTCTGAGCCGTCCTGCAAA
CAGGAACAA
```

>Hdd0228S [*Hydrodroma despicens*] voucher Hdd02 28S ribosomal DNA gene,  
partial sequene; genomic, 581 nt

GGGGGGTAGCTCCACCTAAGGCTAAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAAC  
AAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAATAG  
GACGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTGCAACTGTG  
TGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCTGCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTT  
AGGGACACTTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAAGGGCAAGACGTCTTTAGC  
AGGAGTGATCCGCAAGGTTTCGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAAGTGATA  
GTCATGTAAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCAGTACTGAA  
TGTTGACTCTGCATTAGGTGCGTTCCCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGA  
AGTACTTACATGTTTCAGGGTACACCAGTACTGTTTGTACCAAATCACTCCC  
CTCATGAAATCTCGCATCAGAGTAGTGAGTACGTCATCCCTCTGAGCCGTCC  
TGCAAACAGACCAAAAAAAAAAAGTAAGTAGGTCGGTCATCCATCTGACCCGT  
CTTGAACACAAGACCAA

>Hdd0328S [*Hydrodroma despicens*] voucher Hdd03 28S ribosomal DNA gene,  
partial sequene; genomic, 577 nt

GAGGGGGAGCTCACCTATGGCTATATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACA  
AGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAATAGG  
ACGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTGACAGCTGAAA  
GGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCTGCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTA  
GGGACACTTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAAGGGCAAGACGTCTTTAGCA  
GGAGTGATCCGCAAGGTTTCGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAAGTGATAG  
TCATGTAAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCAGTACTGAATGT  
TGACTCTGCATTAGGTGCGTTCCCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGT  
ACTTACATGTTTCAGGGTACACCAGTACTGCTGGTCACAAATCACATCCCCTG  
AGCATTCTGCAATTAATTAGTAGGACGGTAACCCTTCTAACCCGTCTTGA  
ACCCAGGAACAAAAAAAAAAGTAAGTAGGTCGGTCACCATCTGACCCGTCTTG  
AACACGGACCAA

>Hdd0428S [*Hydrodroma despiciens*] voucher Hdd04 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 578 nt

GGGTGCTAGCTCACCTAAGGCTAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAA  
GTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAATAGGA  
CGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTGCAACTGTGTG  
GGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCTGCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAG  
GGACACTTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAAGGGCAAGACGTCTTTAGCAG  
GAGTGATCCGCAAGGTTTCGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAAGTGATAGT  
CATGTAAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCAGTACTGAATG  
TTGACTCTGCATTAGGTGCGTTCGCCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAG  
TACTTACATGTTCAGGGTACACCAGTACTGCTGGCCCCCAATTCCCTCCCAT  
GTTCAATTTTTCAAATCAAATTATAAGGCCGGCCTTCCTTCTAACCCGCCTGG  
AAAACGAACAATAAAAAAGTAAGTAGGTTCGGTCATCCATCTGACCCGTCT  
TGAACACGGACCAA

>Hdd0528S [*Hydrodroma despiciens*] voucher Hdd05 28S ribosomal DNA gene, partial sequene; genomic, 577 nt

GGGTGCTAGCTCACCTAAGGCTAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAA  
GTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTCAATAGGA  
CGTGAAACCGTTTGCAGGTAAACAGATGGACCCACGAAGTGCAACTGTGTG  
GGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCTGCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAG  
GGACACTTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAAGGGCAAGACGTCTTTAGCAG  
GAGTGATCCGCAAGGTTTCGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAAGTGATAGT  
CATGTAAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCAGTACTGAATG  
TTGACTCTGCATTAGGTGCGTTCGCCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAG  
TACTTACATGTTCAGGGTACACCAGTACTGTGGCCCCCAATTCCCTCCCATG  
TTCATTTTTCAAATCAAATTATAAGGCCGGCCTTCCTTCTAACCCGCCTGGA  
AAACGAACAATAAAAAAGTAAGTAGGTTCGGTCATCCATCTGACCCGTCTT  
GAACACGGACCAA

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

```

Hdd0328S   -GAGGGGAGCTCACCTATGGCTATATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGT   59
Hdd0428S   --GGGTGCTAGCTCACCTAAGGCTAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGT   58
Hdd0528S   --GGGTGCTAGCTCACCTAAGGCTAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGT   58
Hdd0128S   GGTGGTAAGCTCCACTTAGGGCTAAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGT   60
Hdd0228S   GGGGGTAGCTCCACTAAGGCTAAATATTACTGTGAGACCGATAGCAAACAAGTACCGT   60
          **                                  * *****

Hdd0328S   GAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTC AATAGGACGTGAAACCGTTTGCAG   119
Hdd0428S   GAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTC AATAGGACGTGAAACCGTTTGCAG   118
Hdd0528S   GAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTC AATAGGACGTGAAACCGTTTGCAG   118
Hdd0128S   GAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTC AATAGGACGTGAAACCGTTTGCAG   120
Hdd0228S   GAGGGAAAGTTGAAAAGGACTTTGAAGAGAGAGTTC AATAGGACGTGAAACCGTTTGCAG   120
          *****

Hdd0328S   GTAACACAGATGGACCCACGAAGTGCAGCTGAAAGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCT   179
Hdd0428S   GTAACACAGATGGACCCACGAAGTGC AACTGTGTGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCT   178
Hdd0528S   GTAACACAGATGGACCCACGAAGTGC AACTGTGTGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCT   178
Hdd0128S   GTAACACAGATGGACCCACGAAGTGC AACTGTGTGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCT   180
Hdd0228S   GTAACACAGATGGACCCACGAAGTGC AACTGTGTGGGCAGCAGAGATCTCGGTCTCAGTCT   180
          ***** **

Hdd0328S   GCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAGGGACAC TTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGG   239
Hdd0428S   GCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAGGGACAC TTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGG   238
Hdd0528S   GCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAGGGACAC TTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGG   238
Hdd0128S   GCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAGGGACAC TTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGG   240
Hdd0228S   GCTCCGTTGCAACTCTGACTGTTTAGGGACAC TTTGATGTAGTCCTTTTCACAAAAGGG   240
          *****

Hdd0328S   CAAGACGCTTTAGCAGGAGTGATCCGCAAGGTT CGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAA   299
Hdd0428S   CAAGACGCTTTAGCAGGAGTGATCCGCAAGGTT CGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAA   298
Hdd0528S   CAAGACGCTTTAGCAGGAGTGATCCGCAAGGTT CGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAA   298
Hdd0128S   CAAGACGCTTTAGCAGGAGTGATCCGCAAGGTT CGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAA   300
Hdd0228S   CAAGACGCTTTAGCAGGAGTGATCCGCAAGGTT CGCCTACTAGAGAGCATCTTCATCAA   300
          *****

Hdd0328S   GTGATAGTCATGTA-ACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCACTGAATGT   358
Hdd0428S   GTGATAGTCATGTAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCACTGAATGT   358
Hdd0528S   GTGATAGTCATGTAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCACTGAATGT   358
Hdd0128S   GTGATAGTCATGTAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCACTGAATGT   360
Hdd0228S   GTGATAGTCATGTAACAGATCTAATCGAGAATATCATATTGGGTACCACTGAATGT   360
          *****

Hdd0328S   TGACTCTGCATTAGGTGCGTTC CCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGTACTTACAT   418
Hdd0428S   TGACTCTGCATTAGGTGCGTTC CCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGTACTTACAT   418
Hdd0528S   TGACTCTGCATTAGGTGCGTTC CCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGTACTTACAT   418
Hdd0128S   TGACTCTGCATTAGGTGCGTTC CCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGTACTTACAT   420
Hdd0228S   TGACTCTGCATTAGGTGCGTTC CCGCCTGTACTCTTCGGATACAGTGGAAGTACTTACAT   420
          ***** *

Hdd0328S   GTTCAGGGTACACCACTACTGCTGGTCACAAATCACATCCCCTGAGCATTCTGCAATTA   478
Hdd0428S   GTTCAGGGTACACCACTACTGCTGGCC CCAATTCCCCTCCCATGTTCAATTTTCAAATCA   478
Hdd0528S   GTTCAGGGTACACCACTACTGCTGG- CCCC AATCCCCTCCCATGTTCAATTTTCAAATCA   477
Hdd0128S   GTTCAGGGTACACCACTACTGTTTGT CACCAATCACTCCTGTGATCATATCTCGGATCA   480
Hdd0228S   GTTCAGGGTACACCACTACTGTTTGT CACCAATCACTCCTCATGAAATCTCGCATCA   480
          ***** * * * * *

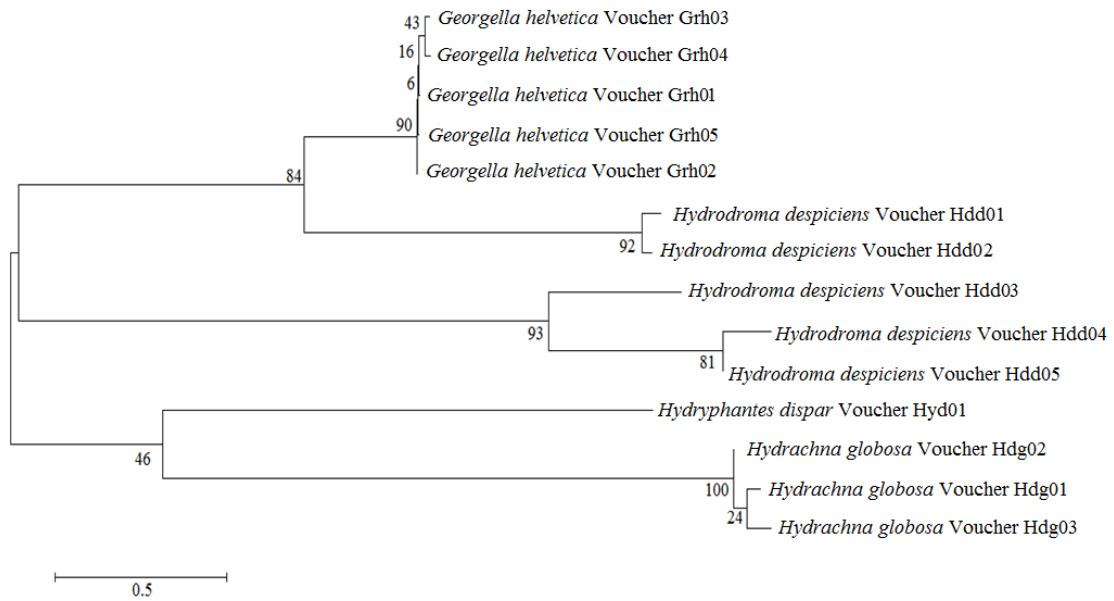
Hdd0328S   AATTAGTAGGACGGTAACCTTCTAACC GGCTTGAACCCAGGAACAAAAAAGTAAGT   538
Hdd0428S   AATTATAAGGCCGGCTTCTCTTCTAACC GGCTGGAAAACGAACAATAAAAAAGTAAGT   538
Hdd0528S   AATTATAAGGCCGGCTTCTCTTCTAACC GGCTGGAAAACGAACAATAAAAAAGTAAGT   537
Hdd0128S   GAGTAGTAGGTCGGTCATCCATCTGAC CCGCTTGAAAAAAGACCAATAGTGAGTA--   537
Hdd0228S   GAGTAGTGAGTACGTACCTCCCTCTGAG CCGCTTGAAAACAGACAAAAAAGTAAGT   540
          * * * * *

Hdd0328S   AGGTCGGTCAC-CATCTGACCCGCTTGAACACGGACCAA- 577
Hdd0428S   AGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGAACACGGACCAA- 578
Hdd0528S   AGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGAACACGGACCAA- 577
Hdd0128S   ----CGTCATCCCTCTGAGCCGCTGCA AACAGGAACAA 573
Hdd0228S   AGGTCGGTCATCCATCTGACCCGCTTGAACACAGACCAA 581
          **** * ***** **
    
```

**Şekil 4.7** *Hydrodroma despicens* örneklerine ait 28S rDNA (5'-3') DNA dizilerinin hizalaması. (\*) Aynı pozisyonadaki nükleotidlerin ortak olduğunu; diziler içindeki "-" işareti boşluğu ifade etmektedir.

### 4.2.3 Filogenetik analizler

İncelenen su kenesi türlerine ait 28S rDNA gen dizilerinin dendogramı MEGA6 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur (Şekil 4.8). Bu dendograma göre, incelenen türler, diğer türlerden büyük genetik mesafeler ile ayrılmış ve kendi içlerinde tür kümeleri oluşturmuştur ( $P < 0.5$ ). *H. globosa* ve *G. helvetica* türleri morfolojik verileri destekleyecek şekilde kendi içlerinde küme oluşturmuştur ve dendogramımıza göre bu iki tür genetik olarak yakın çıkmıştır. *H. despiciens* türü örnekleri farklılık göstermiştir ve iki farklı küme oluştuğu görülmüştür. İki *H. despiciens* türünden oluşan ilk küme *G. helvetica* kümesi ile diğeri de kendi içlerinde olmak üzere ayrı bir küme oluşturmuştur. Ayrıca *G. helvetica* ile aynı familya içinde yer alan *H. dispar* ile *H. globosa* türlerine ait birey örnekler kendi içlerinde bağımsız olarak kümelenmiştir. Bulgularımız mevcut örneklerin moleküler markörleme ile bir birlerinden ayrılabilceğini göstermiştir.



Şekil 4.8 Neighbor-Joining metoduna göre *Hydrachna globosa*, *Hydrphantes dispar*, *Georgella helvetica* ve *Hydrodroma despiciens* rDNA dizileri temelinde filogenetik ilişkileri. Dallanma noktalarındaki rakamlar 100 tekrarlı bootstrapt testinden sonra üretilen kümeleme olasılığıdır.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Orijini karasal formlar olan su keneleri bahar aylarında lotik ve lentik sistemlerde oldukça yüksek çeşitlilik göstermektedir (Di Sabatino *et al.* 2000, Smith *et al.* 2009). Yaşam döngüleri aktif larva, nimf ve ergin olmak üzere farklı evrelerden oluşmaktadır (Smith *et al.* 2009). Avcı olan nimf ve erginlerin çeşitliliği av hayvanların çeşitliliği ile orantılıdır (Więcek *et al.* 2013). Tatlısu ekosistemlerindeki zooplankton biyoçeşitliliğinin önemli kısmını limnetik bölgede yaşayan su keneleri oluşturmaktadır (Di Sabatino *et al.* 2003). Göllerde littoral zonda bol bulunmakla birlikte sublittoral ve profundal bölgede dip çamurunun içinde yaşayan bazı özel bentik türleri de bulunmaktadır (Rieradevall and Gill 1993). Su kenelerinin bolluk ve çeşitliliğini biyotik faktörler ile birlikte tuzluluk, sıcaklık, pH, suda çözülmüş gazlar gibi abiyotik faktörler de etkilemektedir (Ramon Roca and Gil 1992, Erman vd. 2006, Bahadır vd. 2010).

Su keneleri hakkında araştırmalara Avrupa'dan Viets (1936), Vitzthum (1940-1942) ve Lundblad'ın (1956) çalışmaları öncülük etmiştir. Ülkemizde ilk çalışma Thon (1905) tarafından Erciyes Dağı'nda yapılmıştır. Daha sonra Zonguldak ilinde Szalay (1933) tarafından yapılan çalışmalara Özkan (1982)'a kadar uzun bir ara verilmiştir. Ülkemizde Doğu Anadolu'da başlayan çalışmalar ilerleyen yıllarda hız kazanmış ve bu çalışmalarda ülkemizin çeşitli bölgelerinden yeni kayıtlar girilmiştir (Erman vd. 2008, Aşçı vd. 2011, Gülle vd. 2011). Ancak buna rağmen pek çok şehirden su kenesi kaydı hala girilmemiştir. Tamamı iç sularda yayılış gösteren su kenelerinin dünya çapında 57 familya ait 400 cins ve 6 000'den fazla türü tanımlanmıştır (Di Sabatino *et al.* 2007). Bu sayı dünya genelinde çalışmaların artması ile birlikte hızla artmaktadır. Örneğin sadece Neoarktik bölgeden 5 500'e yakın tür tanımlanmıştır (Goldschmidt 2002). Ülkemizden de son yıllarda artan araştırmalarda yeni türler tanımlanmaktadır (Gülle 2010). Yapılan bu araştırmalar morfolojik temelli çalışmalardır. Bu çalışmada morfolojik tanımlama ile birlikte ülkemizde su keneleri için bir ilk olan moleküler temelli tanımlama yapılmıştır. Çalışma bölgesi olarak seçilen Karamık Gölü'nde (Afyonkarahisar) Uysal (2005) tarafından 8 familyaya ait 21 tür tanımlanmıştır. Bu türler; *Hydrachna proceasisifera*, *H. globosa*, *H. skorikowi*, *Eylais setosa*, *E. extendens*, *Hydryphantes dispar*, *H. flexuosus*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Unionicola minör*, *U.*

*crassipes*, *Piona contraversiosa*, *Arrenurus rodrigensis*, *A. affinis*, *A. bruzelii*, *A. cuspidator*, *A. maculator*, *A. cuspidifer*, *A. suecius*, *A. globotar*'dur. Bu çalışmada moleküler tanımlanması yapılan örnekler;

***Hydrachna globosa***, Ülkemizde olduğu gibi Avrupa'da da yaygın türdür (Viets 1936, Uysal 2005). Örnekler Viets (1936), Özkan (1982) ve Uysal (2005)'in da belirttiği gibi su yosunları ve makrofitlerin bulunduğu littoral bölgeden yakalanmıştır. Sırt plağının şekli, palplerinin uzunluğu ve IV. epimerin sivri uçla sonlanmasıyla bölgedeki diğer *Hydrachna* türlerinden kolayca ayrılmaktadır. Bu çalışmada yakalanan örneklerin morfolojik özellikleri Uysal (2005) ile benzerlik göstermektedir.

***Hydryphantes dispar***, Asya ve Avrupa'da yaygındır ve ülkemizden de kaydedilmiştir (Viets 1936, Sokolow 1957, Aşçı, 2002). Örnekler littoral bölgede su yosunlarının arasından toplanmıştır. Farklı ülkelerden ve ülkemizden toplanan örneklerin palp segmentlerindeki kılların dağılımı farklılık göstermektedir (Sokolow 1930, Lundblad 1956, Küçüköner 2001, Aşçı 2002). Karamık Gölü'nden yakalanan örneklerdeki kıl sayısı ülkemizden yakalanan diğer örnekler ile benzerlik göstermektedir (Uysal 2005). Yüzme kılları ayrıntılı olarak incelenmiş ve türlerin tanımlanmasında kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca yüzme kıllarının türün habitatının şartları ve yaşam biçimi bakımından önemli olduğu vurgulanmıştır (Viets 1956, Sokolow 1957).

***Georgella helvetica***, Avrupa'da ve ülkemizde yaygın bir türdür (Viets 1936, Uysal 2005). Örnekler littoral zonda su yosunları arasından toplanmıştır. Sırt plağı yakın türler ile benzerlik gösterdiği için ayırımın güç olduğu vurgulanmıştır (Özkan 1981). Türler sırt plağı ve eşeysel plakların özellikleri ile ayrılmaktadır (Gülle 2010). Bu çalışmada kullanılan örnekler morfolojik özellikleri ve morfometrik ölçümleri ile ülkemizden yakalanan diğer örnekler ile benzerlik göstermektedir (Uysal 2005).

***Hydrodroma despiciens***, Ülkemiz durgun sularında en yaygın bulunan türlerden birisidir. Belirgin morfolojik özellikleri ile diğer su kenesi türlerinden kolayca ayırt edilebilmektedir (Gülle 2010). Morfometrik özellikleri pek çok araştırmacı ile benzerlik göstermektedir (Erman 1990, Aşçı 2002, Uysal 2005, Gülle 2010).

Su keneleri ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu iç sulardaki varlığı ve bolluğu ile ilgilidir. Son yıllarda PCR temelli yaklaşımın geliştirilmesi ile morfolojik temelli yaklaşım desteklenmiştir. Moleküler biyolojinin hızla gelişmesine rağmen su keneleri ile ilgili ekolojik, biyokimyasal, genetik çalışmalara çok rastlanmamaktadır.

Havens (1993) pH4.5 olan yumuşak sulara maruz bıraktığı sulak alanlarda yaygın rastlanan altı omurgasızın hayatta kalma süresini belirlemiştir. Daha sonra test hayvanlarının asit dayanıklılığını test etmiştir. En duyarlı *Caenis sp.* (2%) iken Hydracarina'nın (99%) en dayanıklı olduğu görülmüştür.

Onrat vd. (2006) *Hydrodroma despiciens* türünün somatik hücrelerin 2n=16 kromozomlu olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kromozom sayısı pek çok metot uygulanarak belirlenmiştir. Somatik hücrelerin kromozom sayıları belirlenirken eşey kromozomları tam olarak tespit edilememiştir.

Aşçı vd. (2009) *Eylais sp.*, *Hydrodroma sp.*, *Hydrachna sp.* ve *Arrenurus sp.* türlerini kullanarak Eber ve Karamık Göllerinde kontaminasyon olduğunu tespit etmiştir. En muhtemel sayı tekniği kullanılarak koliform bakteri yükü ve uygun testler kullanılarak *Escherichia coli* bakterisi için pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Eber ve Karamık Gölleri'nin Koliform bakteri (100 ml'de 2 000 - 100 000) oranı yüksek olduğundan dolayı kirli sular sınıfına girdiği belirlenmiştir. Veriler değerlendirildiğinde su kenelerinin organik kirliliğin belirlenmesinde belirleyici organizmalar olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Aşçı vd. (2015) tarafından aralarında *Hydrachna globosa*, *H. processifera*, *H. skorikowi*, *Hydryphantes dispar*, *H. flexuosa*, *Georgella helvetica*, *Eylais extendens*, *E. setosa*, *Limnesia fulgida* ve *Hydrodroma despiciens* türlerinin elemental analizi yapılmıştır. Su kenelerinin yapısındaki karbon (C), azot (N), hidrojen (H) ve kükürt (S) yüzdesi mg olarak hesaplanmıştır. C miktarı yaklaşık %50 oran ile bütün türlerde en yüksek miktarda bulunurken bunu N ve H takip etmiştir. S miktarı %1 oran ile en düşük miktarda tespit edilmiştir.



## 5.2 Moleküler Analizler

Günümüzde tartışmalı türlerin tanımlanmasında morfolojik veriler yetersiz kalabilmektedir. Böyle durumlarda moleküler temelli sistematik çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır (Smith *et al.* 2006, Jinbo *et al.* 2011). Bu yüzden morfolojik temelli klasik sistematige yardımcı olacak moleküler temelli sınıflandırma yöntemi de kullanılmaktadır (Hebert *et al.* 2003). Literatürde Arnot vd. (1993) tarafından *Plasmodium falciparum*'un tanımlanmasında ilk kez kullanılan 'DNA barkodlama' terimi 2003 yılından sonra yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. DNA barkod bölgesi için 80 omurgasız türünde yapılan çalışmalar sonucunda mitokondiral cytochrome c oxidase subunit I (mtCOI) gen bölgesi önerilmiştir (Folmer *et al.* 1994). Omurgalılarından omurgasızlara kadar pek çok organizmada özellikle mtCOI barkodlaması uygulanmıştır (Hebert *et al.* 2004, Pons *et al.* 2006, Ivanova *et al.* 2007, Footitt *et al.* 2008). Pek çok organizmada uygulanmış olduğundan, mevcut çalışmada da Karamık Gölü'nden örneklediğimiz su keneleri türleri için COI gen bölgesi temelinde moleküler sistematik çalışması yapılmaya çalışılmıştır.

Bireysel ve çoklu su akarlarından DNA izolasyonunda ilk olarak CTAB metodu uygulanmıştır (Schäffer *et al.* 2008). Her bir örnekten izole edilen genomik DNA'nın COI gen bölgesini çoğaltmak için evrensel COI primer çifti ile PCR reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Ancak PCR'da istenilen PCR ürünleri çoğalmamıştır. Bu sorunun DNA izolasyonundan, evrensel kabul edilen primerlerden ya da PCR koşullarından kaynaklanabileceği tahmin edilmiştir. Bu amaçla, farklı DNA izolasyonu metodları kullanılmış, mevcut primer çifti yenilenmiş, farklı primer çiftleri kullanılmış, PCR reaksiyon içeriği ve döngü optimizasyonları (annealing sıcaklığı) denemiştir. CTAB metoduna ilaveten QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) ve GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Kit (ThermoScientific, USA) ile bireysel su akarlarından genomik DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Primerlerden kaynaklanabileceği sorununun çözülmesi için Folmer vd. (2006) tarafından önerilen dejenere primerler kullanılmıştır. Ayrıca PCR döngüsü sırasında primerlerin bağlanma sıcaklığı dejenere primerlere göre düzenlenmiştir. Yapılan bu değişikliklerden sonra çalışılan *Hydrachna proceşisifera*, *H. globosa*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Piona*

*contraversiosa*, *Arrenurus affinis*, *A. maculator* türlerinden sadece *G. helvetica* türünün bir örneğinden başarılı bir şekilde çoğaltılabildiği. Oysaki Dorda ve Valdecasas (2002), Ernsting vd. (2006), Witt vd. (2006), Dabert vd. (2010), Martin vd. (2010), Asadi vd. (2012), Pešić vd. (2012), Young vd. (2012), Deiner vd. (2013) COI gen bölgesini kullanarak başarılı bir şekilde moleküler temelli sınıflandırma ve filogenetik analizleri gerçekleştirmişlerdir. Bulgularımızda izah edildiği gibi, izole edilen DNA'lardan 28S rDNA gen parçalarının kısmen başarılı bir şekilde çoğaltılmış olması DNA izolasyonunda problem yaşanmadığının göstergesidir. Ancak bilinmeyen bir nedenle PCR'da COI primerleri çalışmamış ve istenilen sonuçlara ulaşılamamıştır.

Literatürde COI gen bölgesi temelinde hedeflenen sonuçlara ulaşan araştırma bulguları olduğu gibi mevcut çalışmaya benzer şekilde hedeflerine ulaşamamış çalışma raporları da mevcuttur. Hogg ve Hebert (2004) Collembola türlerinin COI barkodu ile tanımlanmasını gerçekleştirmiştir. DNA örneklerin vücut bölmelerinden Proteinaz K yöntemi ile elde edilmiştir. COI bölgesini, çoğaltmak için LCO1490 ve HCO2198 evrensel primerler kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre türler birbirlerinden kabul edilebilir derecede ayrılmışlardır. Fakat *Archisotoma polaris*, *Entomobrya comparata*, *Hypogastrura concolor* ve *Podura aquatica* türlerinin yakın dizilere sahip olduğu görülmüştür.

Stevens ve Hogg (2006) yosun böceği *Gomphiocephalus hodgsoni* (Hypogastruridae) ve karasal akar *Stereotydeus mollis* (Penthalodidae)'in COI gen bölgelerini karşılaştırmışlardır. Tüm nükleotid dizilerindeki A ve T oranları keneler için %69, yosun böceği için % 62 olarak belirlenmiştir. Yosun böceği ve kene arasında sırası ile 365/234 ve 320/184 sabit/değişken bölge tespit edilmiştir. *S. mollis* türleri arasındaki genetik mesafe 0,097 ile 0,194 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Sweeney vd. (2011) akarsulardaki omurgasızları COI gen bölgesini kullanarak DNA barkodlama ile tanımlamışlardır. Diptera, Oligochaeta, Crustacean ve Bivalvia'ya ait örneklerden standart DNA eldesi protokolü kullanılarak elde edilmiştir (Ivanova *et al.* 2006). Türler arasındaki genetik mesafe, morfolojik bulgularla uyum içinde çıkmıştır. Ancak; bazı Plecoptera ve Chironomidae'lerde ayrışım sağlanamamıştır.

Feng vd. (2011) Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) familyasının COI ve 16S rDNA genlerine dayalı DNA barkodlama ve filogenetik analizlerini yapmışlardır. COI bölgesi Folmer vd. (1994) tarafından kullanılan evensel primerler ile çoğaltma sağlanamamışken Matsumoto (2003) tarafından kullanılan primerler ile çoğaltma sağlanmıştır. 16S gen bölgesi için ise %100 başarı ile sağlanmıştır. Türler arası genetik farklılığın tür içi genetik farklılıktan fazla olduğu görülmüştür. 63 tür arasındaki filogenetik ilişki NJ testi ile kurulmuştur (Barett and Hebert 2005). Analiz sonuçları incelendiğinde Pectenidae familyasının ilişkili türler ile monofili gösterdiği belirlenmiştir.

Deiner vd. (2013) alpin göllerdeki bentik omurgasız türlerini morfolojik özellikleri ile birlikte COI geni ile tanımlamışlardır. *Lebertia*, *Hydryphantes*, *Limnesia*, *Sperchon*, *Piona*, *Oxus* cinslerine ait türlerin de içinde bulunduğu 429 örnek COI gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Barkodlama yaklaşımı ve morfolojik veriler birleştirilerek sınıf düzeyinde tanımlama yapılmıştır. Ancak, tüm örnekler takım seviyesine filogenetik olarak ayıramamıştır.

Tüm bu çalışmaların yanı sıra COI gen bölgesinin evrensel ve dejenere primerler kullanılarak çoğaltılamadığı yumuşakçalarda (Mollusca: Bivalvia), yassıkurtlarda (Platyhelminthes) ve yarımkanatlılarda (Hemiptera) da rapor edilmiştir (Feng *et al.* 2010, Sweeney *et al.* 2011, Deiner *et al.* 2013). Mevcut çalışmada da çoklu ve farklı denemelere rağmen COI gen bölgesinin su akarlarından çoğaltılamamış olması primerlerden kaynaklı olabileceğini akla getirmektedir.

Tek bir gen bölgesine dayalı yapılan sınıflandırma yönteminde zaman zaman sorunlar yaşanabileceği için mtDNA'ya alternatif olarak gDNA'ya ait ikinci bir gen bölgesinin de çalışılmasının daha uygun olacağı tavsiye edilmiştir (Wiemers and Fiedler 2007). Önerilen E $\alpha$ 1, ITS1, ITS2 gibi bazı gen bölgeleri türlerin ayrımı için yeterli bilgiye sahip olmadığından moleküler temelli sistematik çalışmalarında kullanılmamaktadır (Baxter and Barker 1999, Liyou *et al.* 1999). Farklı hayvan gruplarında yapılan çalışmalarda rDNA gen bölgesinden mtDNA ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Berilli *et al.* 2002, Martin *et al.* 2010, Lv *et al.* 2014). Bu çalışmaya COI gen bölgesinde

yaşanan aksaklıklardan dolayı 28S rDNA ile devam edilmiştir. Mevcut çalışmada *Hydrachna procesisifera*, *H. globosa*, *Eylais setosa*, *E. extendens*, *Hydryphantes dispar*, *H. flexuosus*, *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida*, *Arrenurus affinis*, *A. maculator* türlerinden *H. globosa*, *H. dispar*, *G. helvetica* ve *H. despiciens* türlerinden başarı ile 28S rDNA gen bölgesi çoğaltılmıştır. Türler için baz dizileri analiz edilmiş ve tür içi ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren NJ temelli filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

28S rDNA gen bölgesine göre oluşturulan filogenetik ağaca göre *H. dispar* ve *H. globosa* genetik olarak yakın bulunmuştur. Ancak *H. dispar*, *G. helvetica* ile aynı familyadadır ve morfolojik olarak ta birbirlerine daha çok benzemektedir (Uysal 2005). Ayrıca *H. despiciens* türünün örneklerinde de iki farklı küme görülmüştür. Bu sonuçlara benzer sonuçlar aynı konaktan toplanan *Unionicola cinci* su kenelerinde (Edwards *et al.* 1999) olduğu gibi karasal kenelerde de kaydedilmiştir (Söller *et al.* 2001).

Hebsgaard vd. (2004) morfolojik karakterler ve moleküler dizi verilerini Hemiptera ve Heteroptera için ilk defa birlikte incelemişlerdir. Hemiptera ve Heteroptera takımlarına ait tüm familyalardan 16S ve 28S rDNA çoğaltılmıştır ve elde edilen veriler bu gen bölgeleri temelinde başarılı bir şekilde DNA barkodlamasının yapılabileceğini göstermiştir.

Niedbala and Dabert (2013) Madeira'dan topladıkları karasal kenelerden COI ve 28S rDNA gen bölgeleri temelinde kurdukları NJ ağaçları ile başarılı sonuçlar almışlardır. COI gen dizisi kullanılarak *Steganacarus spinosus* türü yakın akraba olan *S. applicatus* ve *S. crassisetosus* türleri ile net olarak ayrılamamıştır. 28S gen bölgeleri karşılaştırıldığında 67 farklı bölge tespit edilmiştir. İki gen bölgesinde de benzer filogenetik analizler elde edilmiştir.

Witt vd. (2006) taksonomik olarak tartışılı *Hyaella sp.* türlerinin DNA barkodunu yapmıştır. COI ve 28S rDNA bulgularından üretilmiş olan filogenetik ilişkiler uyumlu görülmüştür.

Dabert vd. (2010) Acariformes alttakımının filogenetik analizini yapmışlardır. Çalışmalarında akarasal keneler ile birlikte su kenelerinden *Partnuias teinmanni*, *Hygrobates longipalpis* ve *Hygrobates sp.* türleri de kullanılmıştır. PCR ile 18S ve COI gen bölgeleri çoğaltılmıştır. 18S rDNA ve COI gen bölgesi için filogenetik ilişkiler kurulmuştur. Analiz sonuçları akarların monofili gösterdiğini doğrulamıştır ve Acariformes içinde iki büyük takım oluşturduğunu onaylamıştır.

Martin vd. (2010) farklı habitat ve konaklardan topladığı *Hygrobates* türlerinin COI ve 28S rDNA dizileri kullanılarak taksonomik durumunu ve habitatlar arasındaki ilişkilerini belirlemişlerdir. gDNA *Hygrobates nigromaculatus*, *H. longipalpis*, *H. trigonicus* ve *H. fluviatilis* türlerinden DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) kullanılarak elde edilmiştir. Grup dışı olarak *Limnesia undulata* türü kullanılmıştır. COI ve 28S gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. *Hygrobates* türlerinin monofili gösterdiği belirlenmiştir. *H. nigromaculatus* tür kompleksi de her iki gen bölgesi için kabul edilebilir değerlerde monofili göstermiştir. Araştırmacılar göl ve akarsu popülasyonları arasında yüksek oranda COI ve 28S rDNA gen bölgeleri bakımından farklılıklar gözlenmiştir.

Pepato vd. (2010) Acariformes'in filogenetik ilişkisini kurmuştur. *Limnesia sp.*, *Recifella sp.*, *Arrenurus sp.* ve *Hydrachna sp.* türlerinin de içinde bulunduğu her bir Acariformes örneğinin bacak parçalarından gDNA elde edilmiştir. Morfolofik sonuçlar ile 18S ve 28S rDNA gen bölgeleri için elde edilmiş bulgular uyumluk göstermiştir ve akarların monofli gösterdiğini onaylamıştır.

Arabi vd. (2012) 180 Chelicerata taksonunun COI, 18S ve 28S rDNA gen dizisi kompozisyonu çalışmışlardır. *Mideopsis roztozensis*, *Hydrachna conjecta*, *H. globosa*, *Hygrobates norvegicus*, *Unionicola foili*, *Teutonia cometes*, *Teutonia sp.*, *Hydrodroma torrenticola*, ve *Torrenticola amplexa*'nın 28S rDNA ve COI gen bölgeleri çalışılmıştır. Tüm akar takımlarının monofili gösterdiği görülmüştür. Trombidiformes içinde her alan Hydracarina'da *Hydrodroma torrenticola* ve *Torrenticola amplexa* türleri (BP=73) ile *Mideopsis roztozensis*, *Hydrachna conjecta*, *H. globosa*, *Hygrobates norvegicus*, *Unionicola foili*, *Teutonia cometes*, *Teutonia sp.* türleri olmak

üzere iki ana gruba ayrılmıştır.

Stålstedt vd. (2013) tarafından *Unionicola crassipes* (14♀), *U. minor* (12♀), *Piona coccinea* (10♂), *P. stjordalensis* (6♂,4♀), *P. imminuta* s. lat. (3♂,1♀), *P. pusilla* (9♂,1♀), *P. rotundoides* (3♂,1♀), *P. variabilis* (9♀), ve *P. dispersa* (10♀) türlerinin COI (658 bp) ve 28S rDNA (395 bp) barkod bölgelerini kullanarak sistematik konumları incelenmiştir. Grup dışı olarak *Arrenurus suecius* Ludbland, 1917 kullanılmıştır. COI ve 28S sonuçları benzerlik göstermiştir. Veriler değerlendirildiğinde *Unionicola* ve *Piona* türleri arasında farklı genetik kümeler olduğu görülmüştür.

Mevcut çalışmada kullanılan *H. globosa*, *H. dispar*, *G. helvetica* ve *H. despiciens* türleri arasında 28S rDNA gen dizisine dayalı varyasyonlar farklı su keneleri ile ilgili yapılan diğer çalışmalar ile büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (Ernsting *et al.* 2006, Edwards *et al.* 2010, Pilgrim *et al.* 2011, Stålstedt *et al.* 2013). Elde edilen moleküler bulgular sonucunda türler arası ve tür içi ayrımın 28S rDNA ile başarılı bir şekilde yapılabileceği görülmüştür. DNA Barkodlamanın avantaj ve dez avantajları belirgin hale geldikçe bu DNA dizisinin morfolojik ve ekolojik çalışmalarla entegre edilerek türlerin tanımlanmasında maksimum verimliliğin elde edileceği açıktır.

Sonuç olarak; bir kaç miligram ağırlığındaki su kenelerinden başarılı bir şekilde DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir ve su kenesinden DNA izolasyon protokolü laboratuarmızda optimize edilmiştir. Muhtemelen COI geni için kullandığımız primerlerin PCR reaksiyonunda çalışmamış olması nedeni ile bu gen bölgesinin çoğaltılması yetersiz olmuştur. Ancak 28S ribozomal DNA bölgeleri çoğaltmış, dizilenmiş ve dizler arası filogenetik ilişki başarılı bir şekilde kurulmuştur. Bu temel çalışma sonrası, morfolojik olarak sorunlu su kenesi cinsleri ve/veya türlerinin moleküler sistematığının yapılması yapılabilecektir.

## 6. KAYNAKLAR

- Akın, A. (2013). Karakuyu Gülü (Afyonkarahisar) Su Kenelerinin (Hydrachnidia, Acari) Sistematik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Arabi, J., Judson, M.L., Deharveng, L., Lourenço, W.R., Cruaud, C. and Hassanin, A. (2012). Nucleotide composition of CO1 sequences in Chelicerata (Arthropoda): detecting new mitogenomic rearrangements. *Journal of Molecular Evolution*, **74(1-2)**: 81-95.
- Aravind, K., Ravikanth, G., Shaanker, R.U., Chandrashekara, K., Kumar, A.R.V. and Ganeshiah, K.N. (2007). DNA barcoding: An exercise in futility or utility? *Current Science*, **92(9)**: 1213-1216.
- Arnot, D.E., Roper, C. and Bayoumi, R.A. (1993). Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the Plasmodium falciparum circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **61(1)**: 15-24.
- Asadi, M., Hinomoto, N., Saboori, A. and Javan-Nikkhah, M. (2012). Genetic diversity in mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I sequences of the water mite *Hygrobatas fluviatilis* (Acari: Hydrachnidia: Hygrobatidae). *International Journal of Acarology*, **38(2)**: 96-100.
- Aşçı, F. (2002). Kars, Ardahan ve Rize İlleri Su Kenelerinin (Acari, Hydrachnellae) Sistematik Yönden İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aşçı, F., Fıçıcı, E.K. ve Konuk, M. (2009). Eber ve Karamık Göllerindeki Kontaminasyonun Belirlenmesine Yeni Bir Yaklaşım. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2(1)**: 1-4.
- Aşçı, F., Boyacı, Y.Ö. ve Özkan, M. (2011). A new species of water mite family Hygrobatidae (Acari, Hydrachnidia), from Turkey. *Journal of Biology and Life Sciences*, **2(2)**: 14-16.

- Aşçı, F., Uçar, M., Kabak, Ş. ve Özkan, M. (2015). Assessment of the Phylogenetic Affiliation Levels of Water Mite (Acari, Hydrachnidia) Species with the Elemental Analysis Method. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, **6(06)**: 427-432.
- Ball, S.L. and Armstrong, K.F. (2006). DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths (Lepidoptera: Lymantriidae). *Canadian Journal of Forest Research*, **36(2)**: 337-350.
- Balseiro, E.G. (1992). The role of pelagic water mites in the control of cladoceran population in a temperate lake of the southern Andes. *Journal of Plankton Research*, **14(9)**: 1267-1277.
- Barker, E.W. and Wharton, G.W. (1952). An Introduction to Acarology. Macmillan Company, New York, USA.
- Bashasab, F., Vijaykumar, R., Kambapally, K.B., Patil, B.V. and Kuruvashetti, M.S. (2006). DNA-based marker systems and their utility in entomology. *Entomol. Fennica*, **17**: 21-33.
- Baxter, G.D. and Barker, S.C. (1999). Isolation of a cDNA for an octopamine-like, G-protein coupled receptor from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **29**: 461-467.
- Behura, S.K. (2006). Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, **15(11)**: 3087-3113.
- Besansky, N.J., Severson, D.W. and Ferdig, M.T. (2003). DNA barcoding of parasites and invertebrate disease vectors: What you dont know can hurt you. *Trends Parasitol*, **19**: 545-546.
- Besseling, A.J. (1964). De Nederlandse watermijten (Hydrachnellae Latreille 1802). Monographieën van de Nederlandse Entomologische Vereniging No: 1, Amsterdam, Netherlands.
- Boyacı, Y.Ö., (1990). Dumlu Çayı ve Akdağ Suyu Su Kenelerinin (Hydrachnellae, Acari) Sistematik ve Ekolojik Yönden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
- Boyacı, Y.Ö. (1995). Konya İli ve Çevresi Su Kenelerinin (Hydrachnellae, Acari) Sistematik Yönden İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.



- Boyacı, Y. Ö. ve Özkan, M. (2003). Işıklı gölü (Denizli) faunası su keneleri (Hydrachnellae, Acari). *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **20(3)**: 357-366.
- Boyacı, Y.Ö. ve Özkan, M., (2007). Dumlu Çayı ve Akdağ Suyu Su Kenelerinin (Acari, Hydrachnidia) Sistematiik ve Ekolojik Yönden İncelenmesi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **24(1-2)**: 113–115.
- Bursalı, A. (2002). Yeşilırmak Havzası Su Kenesi (Acari, Hydrachnellae) Sistematiik yönden İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Butler, M.I. and Burns, C.W. (1991). Prey selectivity of *Piona exigua*, a planktonic water mite. *Oecologia*, **86(2)**: 210-222.
- Campbell, B.C., Steffen-Campbell, J.D. and Werren, J.H. (1993). Phylogeny of the *Nasonia* species complex (Hymenoptera: Pteromalidae) inferred from an internal transcribed spacer (ITS2) and 28s rDNA sequences. *Insect Molecular Biology*, **2**: 225–237.
- Cassano, C.R., Castilho-Noll, M.M. and Arcifa, M.S. (2002). Water mite predation on zooplankton of a tropical lake. *Brazilian Journal of Biology*, **62(4A)**: 565-571.
- Cruickshank, R.H. (2002). Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic and Applied Acarology*, **7**: 3-14.
- Dabert, M., Witalinski, W., Kazmierski, A., Olszanowski, Z. and Dabert, J. (2010). Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56(1)**: 222-241.
- Dasmahapatra, K.K. and Mallet, J. (2006). DNA barcodes: Recent successes and future prospects. *Heredity*, **97(4)**: 254-255.
- Davids, C., Ten Winkel, E.H. and De Groot, C.J. (1994). Temporal and spatial patterns of water mites in Lake Maarsveen I. *Netherland Journal of Aquatic Ecology*, **28(1)**: 11-17.
- Davis, C. (1997). The influence of larval parasitism on the life history strateies in water mites (Acari, Hydrachnidia). *Archiv fur Hydrobiologie*, **141(1)**: 35-43.
- Deiner, K., Knapp, R.A., Boiano, D.M. and May, B. (2013). Increased accuracy of species lists developed for alpine lakes using morphology and cytochrome oxidase I for identification of specimens. *Molecular Ecology Resources*, **13(5)**: 820-831.

- Delaye, C., Aeschlimann, A., Renaud, F., Rosenthal, B. and De Meeus, T. (1998). Isolation and characterization of microsatellite markers in the *Ixodes ricinus* complex (Acari: Ixodidae). *Molecular Ecology*, **7(3)**: 360-361.
- Di Sabatino, A., Gerecke, R. And Martin, P. (2000). The biology and ecology of lotic water mites (Hydrachnidia). *Freshwater Biology*, **44(1)**: 47-62.
- Di Sabatino, A., Cicolani, B. and Gerecke, R. (2003). Biodiversity and distribution of water mites (Acari, Hydrachnidia) in spring habitats. *Freshwater Biology*, **48(12)**: 2163-2173.
- Di Sabatino, A., Smit, H., Gerecke, R., Goldschmidt, T., Matsumoto, N. and Cicolani, B. (2008). Global diversity of water mites (Acari, Hydrachnidia; Arachnida) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595(1)**: 303-315.
- Dorda, B.A. and Valdecasas, A.G. (2002). Traditional water mite fixatives and their compatibility with later DNA studies. *Experimental and Applied Acarology*, **34(1-2)**: 59-65.
- Edwards, D.D., Bogardus, R. and Wilhite, N. (1999). Geographic differences in host specialization between the symbiotic water mites *Unionicola formosa* and *U. foili* (Acari: Unionicolidae). In: Bruin, J., van der Geest, L. and Sabelis, M.W. (Eds.), *Evolution and Ecology of the Acari*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 195-206.
- Edwards, D.D., Vidrine, M.F. and Ernsting, B.R. (2010). Phylogenetic relationships among *Unionicola* (Acari: Unionicolidae) mussel-mites of North America based on mitochondrial cytochrome oxidase I sequences. *Zootaxa*, **2537(14)**: 47-57.
- Erman, O., (1990). Elazığ İli Su Kenelerinin (Hydrachnellae, Acari) Sistematik Yönden İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Erman, O. Tellioglu, A., Orhan, O., Çitil, C. ve Özkan, M., 2006. Hazar Gölü ve Behremaz Çayı Su Kenesi (Hydrachnidia: Acari) Faunası ve Mevsimsel Dağılımı, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **18(1)**: 1–10.
- Erman, O., Oğlu, A.T. ve Özkan, M. (2008). Türkiye Faunası için Yeni Hygrobatas Koch, 1837 (Hygrobatidae: Hydrachnidia: Acari) Türleri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **20 (1)**: 1-14.

- Ernsting, B.R., Edwards, D.D., Vidrine, M.F., Myers, K.S. and Harmon, C.M. (2006). Phylogenetic relationships among species of the subgenus *Parasitatax* (Acari: Unionicolidae: Unionicola) based on DNA sequence of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene. *International Journal of Acarology*, **32(2)**: 195-202.
- Ernsting, B.R., Edwards, D.D., Vidrine, M.F. and Cun, H. (2008). Genetic differences among sibling species of the subgenus *Dimockatax* (Acari: Unionicolidae: Unionicola): Heterogeneity in DNA sequence data supports morphological differentiation. *International Journal of Acarology*, **34(4)**: 403-407.
- Esen, Y., (2006). Malatya İli Su Kenelerinin (Acari, Hydrachnidia) Sistematik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ
- Esen, Y. (2011). Bingöl İli Su Kenelerinin (Acari, Hydrachnidia) Sistematik Yönden İncelenmesi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Esen, Y. ve Erman, O. (2013). Bingöl İli Su Keneleri (Acari: Hydrachnidia) Faunası. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **25(2)**: 105-114.
- Esen, Y. ve Erman, O. (2014). Siirt İli Hygrobatas Koch, 1837 (Acari: Hydrachnidia: Hygrobatidae) Türleri Ve Türkiye Faunası İçin Yeni Bir Kayıt: Hygrobatas (S. Str.) Angustipalpis Ko Viets, 1982. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **7(1)**: 57-64.
- Evans, K.M., Wortley, A.H. and Man, D.G. (2007). An assessment of potential diatom “barcode” genes (cox1, rbcL, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in *Sellaphora* (Bacillariophyta). *Protists*, **158**: 349-364.
- Feng, Y., Li, Q., Kong, L. and Zheng, X. (2011). DNA barcoding and phylogenetic analysis of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes. *Molecular Biology Reports*, **38(1)**: 291-299.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3(5)**: 294-299.
- Footitt, R.G., Maw, H.E.L., Von Dohlen, C.D. and Hebert, P.D.N. (2008). Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources*, **8(6)**: 1189-1201.

- Frézal, L. and Leblois, R. (2008). Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, **8(5)**: 727-736.
- Gerson, U., Smiley, R.L. and Ochoa, R. (2003). Mites (Acari) for Pest Control. Blackwell Publishing, UK.
- Goldschmidt, T. (2002). The biodiversity of Neotropical water mites. In Bernini, F., R. Nannelli, G. Nuzzaci and F. de Lillo (Eds), *Acarid Phylogeny and Evolution. Adaptations in mites and ticks*. Kluwer Academic Publishers.
- Goldschmidt, T., Gerecke, R. and Alberti, G. (2002). *Hygrobates salamandrarum* sp. nov. (Acari, Hydrachnidia, Hygrobatidae) from China: the first record of a freshwater mite parasitizing newts (Amphibia, Urodela). *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology*, **241(4)**: 297-304.
- Goldschmidt, T. (2009). Water mites (Acari, Hydrachnidia) in tropical springs—diversity, specificity, monitoring possibilities. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, **30(5)**: 669-672.
- Goolsby, J.A., De Barro, P.J., Makinson, J.R., Pemberton, R.W., Hartley, D.M. and Frohlich, D.R. (2006). Matching the origin of an invasive weed for selection of a herbivore haplotype for a biological control programme. *Molecular Ecology*, **15(1)**: 287-297.
- Gülle, P. (2010). Antalya ili Su Akarları (Hydrachnidia, Acari) Faunası. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Temel Bilimleri, Isparta.
- Gülle, P., Boyacı, Y.Ö. ve Gülle, İ. (2011). Türkiye Faunası İçin Yeni Bir Su Kenesi (Acari: Hydrachnidia) Türü: *Mixobates incurvatus* (Laksa, 1954). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **28(3)**: 81-82.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A., Hebert, P.D. and Hickey, D.A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, **23(4)**: 167-172.
- Harvey, M.S. (1998). *The Australian Water Mites: A Guide to Families and Genera*. Csiro Publishing, 4. Edition, Collingwood, Australia.
- Havens, K.E. (1993). Acid and aluminum effects on the survival of littoral macro-invertebrates during acute bioassays. *Environmental Pollution*, **80(1)**: 95-100.

- Hebert, P.D., Remigio, E.A., Colbourne, J.K., Taylor, D.J. and Wilson, C.C. (2002). Accelerated molecular evolution in halophilic crustaceans. *Evolution*, **56(5)**: 909-926.
- Hebert, P.D., Cywinska, A. and Ball, S.L. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **270(1512)**: 313-321.
- Hebert, P.D., Stoeckle, M.Y., Zemplak, T.S. and Francis, C.M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS biology*, **2**: 1657-1663.
- Hebsgaard, M.B., Andersen, N.M. and Damgaard, J. (2004). Phylogeny of the true water bugs (Nepomorpha: Hemiptera–Heteroptera) based on 16S and 28S rDNA and morphology. *Systematic Entomology*, **29(4)**: 488-508.
- Hillis, D.M. and Dixon, M.T. (1991). Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology*, **66(4)**: 411-453.
- Hogg, I.D. and Hebert, P.D. (2004). Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, **82(5)**: 749-754.
- Hoy, M.A. (2011). *Agricultural Acarology: Introduction to Integrated Mite Management*. CRC Press, Florida, USA.
- Ivanova, N.V., Zemplak, T.S., Hanner, R.H. and Hebert, P.D. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, **7(4)**: 544-548.
- Jeppson, L.R., Keifer, H.H. and Barker, E.W. (1975). *Mites Injurious to Economic Plants*. University of California Press, California, USA.
- Jinbo, U., Kato, T. and Ito, M. (2011). Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science*, **14(2)**: 107-124.
- Johnson, S.B., Warén, A. and Vrijenhoek, R.C. (2008). DNA barcoding of *Lepetodrilus* limpets reveals cryptic species. *Journal of Shellfish Research*, **27(1)**: 43-51.
- Kain, D.E., Sperling, F.A.H., Daly, H.V. and Lane, R.S. (1999) Mitochondrial DNA sequence variation in *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). *Heredity*, **83**: 378-386.
- Klompen, J.S.H. (2000). A preliminary assessment of the utility of elongation factor-1 $\alpha$  in elucidating relationships among basal Mesostigmata. *Experimental and Applied Acarology*, **24**: 805–820.

- Krantz, G.W. and Walter D.E. (2009). A Manual of Acarology: Third Edition. Texas Tech University Press, Lubbock, Texas.
- Kress, W.J. and Erickson, D.L. (2008). DNA barcodes: genes, genomics, and bioinformatics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105(8)**: 2761-2762.
- Kutty, S.N. Pape, T., Wiegmann, B. M. and Meier, R. (2010). Molecular phylogeny of the Calyptratae (Diptera: Cyclorrhapha) with an emphasis on the superfamily Oestroidea and the position of Mystacinobiidae and McAlpine's fly. *Systematic Entomology*, **35(4)**: 614-635.
- László, S. (1964). Víziatkák Hydracarina. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.
- Li, Q., Park, C. and Kijima, A. (2002). Isolation and characterization of microsatellite loci in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, **21(2)**: 811-816.
- Liyou, N. Hamilton, S., Elvin, C. and Willadsen, P. (1999). Cloning and expression of ecto 5'-nucleotidase from the cattle tick *Boophilus microplus*. *Insect Molecular Biology*, **8**: 257–266.
- Lundblad, O., (1956). Zur Kenntnis süd-und mitteleuropaischer Hydrachnellen. *Arkiv för zoologi*, **10**: 1-306.
- Lv, J., Wu, S., Zhang, Y., Zhang, T., Feng, C., Jia, G. and Lin, X. (2014). Development of a DNA barcoding system for the Ixodida (Acari: Ixodida). *Mitochondrial DNA*, **25(2)**: 142-149.
- Martin, P. (2003). Larval morphology of spring-living water mites (Hydrachnidia, Acari) from the Alps. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* **39(4)**: 363-393.
- Martin, P. and Smit, H. (2002). The larval morphology and host of the Australian water mite *Limnochara australica* (Acari: Hydrachnidia: Limnocharidae). *Records of the Western Australian Museum*, **20(4)**: 409-414.
- Martin, P. and Stur, E. (2006). Parasite-host associations and life cycles of spring-living water mites (Hydrachnidia, Acari) from Luxembourg. *Hydrobiologia*, **573(1)**: 17-37.
- Martin, P. and Gerecke, R. (2009). Diptera as hosts of water mite larvae-an interesting relationship with many open questions. *Lauterbornia*, **68**: 95-103.

- Martin, P., Dabert, M. and Dabert, J. (2010). Molecular evidence for species separation in the water mite *Hygrobates nigromaculatus* Lebert, 1879 (Acari, Hydrachnidia): evolutionary consequences of the loss of larval parasitism. *Aquatic Sciences*, **72(3)**: 347-360.
- Matsumoto, M. (2003). Phylogenetic analysis of the subclass Pteriomorpha (Bivalvia) from mtDNA COI sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **27(3)**: 429-440.
- Meyer, C.P. and Paulay, G. (2005). DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLOS Biology*, **3(12)**: 2229-2238.
- Mironov, S.V., Dabert, J. and Dabert, M. (2012). A new feather mite species of the genus *Proctophyllodes* Robin, 1877 (Astigmata: Proctophyllodidae) from the Long-tailed Tit *Aegithalos caudatus* (Passeriformes: Aegithalidae)—morphological description with DNA barcode data. *Zootaxa*, **3253**, 54-61.
- Moritz, M. (1994). Onychophora, Tardigrata, Pentastomida, Arachnata. In: Urania Tierreich. Band 2: Wirbellose Tiere 2 Die grosse farbige Enzyklopädie, Urania Verlag, Berlin, Deutsch.
- Niedbała, W. and Dabert, M. (2013). Madeira's ptyctimous mites (Acari, Oribatida). *Zootaxa*, **3664(4)**: 571-585.
- Nordqvist, J. and Herrmann, J. (2008). Vattenkvalster (Acari: Hydrachnidia) på Öland—vanliga men okända. *Entomologisk Tidskrift*, **129(1)**: 1-7.
- Norris, D.E., Klompen, J.S.H. and Black, W.C. (1999). Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard ticks (Acari: Ixodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **92(1)**: 117-129.
- Onrat, S.T., Aşçi, F. ve Özkan, M. (2006). A cytogenetics study of *Hydrodroma despiciens* (Müller, 1776) (Acari: Hydrachnellae: Hydrodromidae). *Genetics and Molecular Research*, **5(2)**: 342-349.
- Orhan, O. (2006). Hazar Gölü ve Behremaz Çayı Su Kenelerinin (Hydrachnidia, Acari) Sistemik ve Mevsimsel Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

- Özdemir, M.A., Aşçı, F. ve Bahadır, M. (2010). The Effect of Climatic Factors of Karamık and Acıgöl Lakes on the Distribution of the Species of Water Mites (Acari, Hydrachnida). *Journal of Biology and Life Sciences*, **1(1)**: 27-35.
- Özkan, M., 1980. Doğu Anadolu Su Akarları (Acari, Hydrachnellae) Üzerine Taksonomik Araştırmalar I, *Doğa Bilim Dergisi, Temel Bilimler*, **5**: 25–46.
- Özkan, M., (1981), Georgella (Acari, Hydrachnellae) türleri üzerine sistematik bir araştırma. *Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, **1**: 1-8.
- Özkan, M., (1982a). Doğu Anadolu Bölgesi Su Keneleri (Hydrachnellae. Acari) Üzerine Sistematik Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi. Erzurum.
- Özkan, M. (1982b). Wassermilben (Acari, Actinedida) aus der Türkei, *Entomologica Basiliensia*, **7**: 29–60.
- Özkan, M., Erman, O. ve Boyacı, Y.Ö. (1996). Sultan Sazlığı'nın (Kayseri) Su Akarı (Hydrachnellae, Acari) Faunası Üzerine Bir Araştırma, *Turkish Journal of Zoology*, **20**: 95–98.
- Panesar, A.R. (2000). Evolution in water mites (Hydrachnellae, Actinedidia, Acari): a revision of the Anisitsiellidae, Koenike, 1910. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig.
- Pennak, R.W. (1991). Fresh-Water Invertabrates of United State Protozoa to Mollusca. A Wiley-Interscience Publication, 3. edition, Colorado, USA.
- Pepato, A.R., da Rocha, C. E. and Dunlop, J.A. (2010). Phylogenetic position of the acariform mites: sensitivity to homology assessment under total evidence. *BMC Evolutionary Biology*, **10(1)**: 235.
- Pešić, V., Valdecasas, A. and Garcia-Jimenez, R. (2012). Simultaneous evidence for a new species of *Torrenticola* Piersig, 1896 (Acari, Hydrachnidia) from Montenegro. *Zootaxa*, **3515**: 38-50.
- Pilgrim, E.M., Jackson, S.A., Swenson, S., Turcsanyi, I., Friedman, E., Weigt, L. and Bagley, M.J. (2011). Incorporation of DNA barcoding into a large-scale biomonitoring program: opportunities and pitfalls. *Journal of the North American Benthological Society*, **30(1)**: 217-231.



- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. and Vogler, A.P. (2006). Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic biology*, **55(4)**: 595-609.
- Prendini, L. (2005). Comment on "Identifying spiders through DNA barcodes". *Canadian Journal of Zoology*, **83(3)**: 498-504.
- Proctor, H.C. and Garga, N. (2004). Red, distasteful water mites: did fish make them that way? *Experimental and Applied Acarology*, **34**: 127-147.
- Ramadan, H.A. and Baeshen, N.A. (2012). Biological Identifications through DNA barcodes. In Lameed, G.A., (Eds), Biodiversity conservation and utilization in a diverse World, InTech Publisher, Republika Hrvatska, 109-129.
- Ramon Roca, J. and Gil, M.J. (1992). Ecological and historical factors affecting the distribution of water-mites (Hydracnellae, Acari) in pyrenean springs. *Archiv für Hydrobiologie*, **125(2)**: 227-244.
- Remigio, E.A. and Hebert, P.D.N. (2003). Testing the utility of partial COI sequences for phylogenetic estimates of Gasrtopod relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**: 641-647.
- Rieradevall, M. and Gill, M.J. (1993). Distribution, density and specific composition of water mites (Acari) in the sublittoral of Lake Banyoles (Spain). *Annales de Limnologie*, **29(1)**: 41-46.
- Schäffer, S., Krisper, G., Pfungstl, T. and Sturmbauer, C. (2008). Description of *Scutovertex pileatus* sp. nov.(Acari, Oribatida, Scutoverticidae) and molecular phylogenetic investigation of congeneric species in Austria. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, **247(4)**: 249-258.
- Sites, J.W. and Marshall, J.C. (2003). Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **18(9)**: 462-470.
- Sites, J.W. and Marshall, J.C. (2004). Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**:199–227.
- Skoracka, A. and Dabert, M. (2010). The cereal rust mite *Abacarus hystrix* (Acari: Eriophyoidea) is a complex of species: Evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Bulletin of Entomological Research*, **100(3)**: 263-272.

- Smith, B.P. (1998). Loss of larval parasitism in parasitengonine mites. *Experimental and Applied Acarology*, **22(4)**: 187-199.
- Smith, M.A., Woodley, N.E., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D. (2006). DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103(10)**: 3657-3662.
- Smith, I.M., Cook, D.R. and Smith, B.P. (2009). Water mites (Hydrachnida) and other arachnids. In: Thorp JH, Covich AP (eds) Chapter 15: Ecology and classification of North American freshwater invertebrates, 3rd edn. Academic Press, San Diego.
- Sokolow, I. (1930). Beitrage zur Kenntnis der Hydracarinen Sibiriens. *Archiv fur Hydrobiologie*, **22**: 306-350.
- Sokolow, I. (1957). Die Fortschritten in der Kenntnis der Hydrachnellen der Sowjetunion (1937-1956). *Abhandlungen herausgegeben vom Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen*, **35(1)**: 123-134.
- Söller, R., Wohltmann, A., Witte, H. and Blohm, D. (2001). Phylogenetic relationships within terrestrial mites (Acari: Prostigmata, Parasitengona) inferred from comparative DNA sequence analysis of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. *Molecular Pphylogenetics and Evolution*, **18(1)**: 47-53.
- Stålstedt, J., Bergsten, J. and Ronquist, F. (2013). Forms'' of water mites (Acari: Hydrachnidia): intraspecific variation or valid species?. *Ecology and Evolution*, **3(10)**: 3415-3435.
- Stevens, M.I. and Hogg, I.D. (2006). Contrasting levels of mitochondrial DNA variability between mites (Penthalodidae) and springtails (Hypogastruridae) from the Trans-Antarctic Mountains suggest long-term effects of glaciation and life history on substitution rates, and speciation processes. *Soil Biology and Biochemistry*, **38(10)**: 3171-3180.
- Sweeney, B.W., Battle, J.M., Jackson, J.K. and Dapkey, T. (2011). Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality?. *Journal of the North American Benthological Society*, **30(1)**: 195-216.

- Szalay, L. (1933). Eine neue Hydracarinen-Form aus der Gattung Eylais Latr., nebst Bemerkungen über Eylais degenerata Koenike und ihre verwandten Formen. *Zoologischer Anzeiger*, **104**: 324-334.
- Thor, S. (1905). Lebertia-Studien II-V. *Zoologischer Anzeiger*, **29(2/3)**: 3,41.
- Uysal, G. (2005). Karamık Gölü Su Keneleri (Acari; Hydrachnellae) Üzerine SistematiK Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Ünal, B. (2010). Eber Gölü (Afyonkarahisar) Su Keneleri (Acari, Hydrachnellae) Üzerine SistematiK Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Vacante, V. (2010). Citrus Mites: İdentification, Biomy and Control. MPG Books Group, Prenston, UK.
- Van der Hammen, H. and Smit, H. (1996). The water mites (Acari: Hydrachnidia) of streams in the Netherlands: distribution and ecological aspects on a regional scale. *Netherland Journal of Aquatic Ecology*, **30(2-3)**: 175-185.
- Viets, K. (1936). Wassemilben order Hydracarina (Hydrachnellae und Halacaridae. *Die Tierwelt Deutschlands*, **31**: 1-288; **32**: 289-574.
- Viets, K., (1956). Die milben des Süsswassers und des meeres. 2/3 katalog und Nomenklatur, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Virgilio, M., Backeljau, T., Nevado, B. and De Meyer, M. (2010). Comparative performances of DNA barcoding across insect orders. *BMC Bioinformatics*, **11(1)**: 206-216
- Vitzthum, H.G. (1940-1942). Acarina. In: Brons, H.G., Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. 5, Abt. IV, Bunch 5, Lief. 6. Akademische Verlagsgesellschaft Becker & Erler, Leipzig, Germany.
- Ward, R.D., Costa, F.O., Holmes, B.H. and Steinke, D. (2008). DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species. *Aquatic Biology*, **3(1)**: 71-78.

- Whiting, M.F., Carpenter, J.C., Wheeler Q.D. and Wheeler, W.C. (1997). The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Systematic Biology*, **46**: 1-68.
- Więcek, M., Martin, P. and Gąbka, M. (2013). Distribution patterns and environmental correlates of water mites (Hydrachnidia, Acari) in peatland microhabitats. *Experimental and Applied Acarology*, **61(2)**: 147-160.
- Wiemers, M. and Fiedler, K. (2007). Does the DNA barcoding gap exist?—a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, **4(8)**: 1-16.
- Witt, J.D., Threlkoff, D.L. and Hebert, P.D. (2006). DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. *Molecular Ecology*, **15(10)**: 3073-3082.
- Woese C.R. (1996). Phylogenetic trees: Whither microbiology? *Current Biology*, **6(9)**: 1060-1063.
- Young, M.R., Behan-Pelletier, V.M. and Hebert, P.D. (2012). Revealing the hyperdiverse mite fauna of subarctic Canada through DNA barcoding. *Plos one*, **7(11)**: 1-11.
- Zhang, Z. (2003). *Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Zhang, D.X. and Hewitt, G.M. (1996). Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *Trends in Ecology and Evolution*, **11(6)**: 247-251.
- Zhou, J., Davey, M.E., Figueras, J.B., Rivkina, E., Gilichinsky, D. and Tiedje, J.M. (1997). Phylogenetic diversity of a bacterial community determined from Siberian tundra soil DNA. *Microbiology*, **143**: 3913-3919.

## **İNTERNET KAYNAKLARI**

- 1 – <http://www.barcodeoflife.org/content/about/what-cbol>
- 2 – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission.shtml>
- 3 – [http://www.insdc.org/documents/feature\\_table.html#2](http://www.insdc.org/documents/feature_table.html#2)
- 4 – <https://www.attotron.com/cybertory/analysis/seqMassager.html>
- 5 – <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şaban KABAK  
Doğum Yeri ve Tarihi : Antalya / 1987  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim (Telefon/e-posta) : 0505 5856380 / sabankabak07@gmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bahaeddin Güney Lisesi, 2004  
Lisans : Gazi Üniversitesi, 2011  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2015

Yayınları (SCI ve diğer) :