

T.C.  
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI OTBİÇEN  
(ARACHNIDA: OPILIONES) TÜRLERİNİN 16S rRNA VE  
MİTOKONDRIYAL SİTOKROM OKSİDAZ I (COI) GENLERİNE  
DAYALI MOLEKÜLER ANALİZİ

Pınar KURT

Danışman: Prof. Dr. Nalan YILDIRIM DOĞAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZİNCAN  
2020

Her Hakkı Saklıdır.

### Kabul ve Onay Sayfası

Prof. Dr. Nalan YILDIRIM DOĞAN danışmanlığında, Pınar KURT tarafından hazırlanan bu çalışma 17 Ocak 2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Salih DOĞAN

İmza:



Üye : Prof. Dr. Nalan YILDIRIM DOĞAN

İmza:



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Serap SUNAR

İmza:



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR

İmza:



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL

İmza:



Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunun 24/01/2020 tarih ve 4/....8.... sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Mustafa Fatih ERTUGAY  
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, şekil ve tabloların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

### **Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası**

“Türkiye’de Yayılış Gösteren Bazı Otbiçen (Arachnida: Opiliones) Türlerinin 16S rRNA ve Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz I (COI) Genlerine Dayalı Moleküler Analizi” isimli “Doktora” tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim.

17/01/2020

  
**Pinar KURT**

## ÖZET

Doktora Tezi

### TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI OTBİÇEN (ARACHNIDA: OPILIONES) TÜRLERİNİN 16S rRNA VE MİTOKONDRIYAL SİTOKROM OKSİDAZ I (COI) GENLERİNE DAYALI MOLEKÜLER ANALİZİ

Pınar KURT

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nalan YILDIRIM DOĞAN

Moleküler yöntemler, farklı taksonlara ait organizmaların tanımlanmasında ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Mitokondriyal genoma ait olan SOI ve 16S rRNA genleri, DNA barkod bölgelerindedir. Çalışmada; Türkiye'de yayılış gösteren Nemastomatidae, Sclerosomatidae ve Phalangiidae familyalarına ait bazı otbiçen türlerinin moleküler özellikleri, SOI ve 16S rRNA genleri kullanılarak araştırıldı. Çalışmada, 17 türe ait 127 birey incelendi. Sanger-Coulson metodu ile elde edilen nükleotid dizileri Finch TV 1.4 programında görüntülendi. Diziler, Codon Code Aligner V.8.0:2 programı ile analiz edildi. Çift yönlü olarak dizilenen bilgiler Fasta formatında kaydedildi. Mega 7.0.26 programında Neighbor joining yöntemi kullanılarak soy ağaçları oluşturuldu ve genetik mesafe belirlendi. *Nelima pontica* Charitonov, 1941 türüne ait haplotipler için median joining Network analizi yapıldı. 16S rRNA gen bölgesi için çalışılan 9 bireye ait 5 haplotip ve SOI gen bölgesi için ise çalışılan 4 bireye ait 3 haplotip belirlendi. Filogenetik analiz sonuçlarına göre 16S rRNA gen bölgesine ait verilerin, SOI gen bölgesine ait verilerden daha fazla morfolojik verileri desteklediği görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** DNA barkodlama, Filogenetik analiz, Moleküler analiz, Nemastomatidae, Otbiçen, Phalangiidae, Sclerosomatidae, SOI, 16S rRNA

2020, 91 Sayfa

## ABSTRACT

PhD Thesis

### MOLECULAR ANALYSIS OF THE SOME SPECIES OF HARVESTMEN DISTIRIBUTED IN TURKEY BASED ON 16S rRNA AND MITOCHONDRIAL CYTOCHROME OXIDASE I (COI) GENES

Pınar KURT

Erzincan Binali Yıldırım University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr Nalan YILDIRIM DOĞAN

Molecular methods are used to identify organisms belonging to different taxa and to determine their phylogenetic relationships. SOI and 16S rRNA genes in the mitochondrial genome are DNA barcode regions. In this study, molecular characterization of some opiliones species distributed in Turkey belonging to Nemastomatidae, Sclerosomatidae and Phalangiidae families were investigated using the SO and 16S rRNA genes. 127 individuals belonging to 17 species were examined in the study. The nucleotide sequences obtained by the Sanger-Coulson method were viewed in the Finch TV 1.4 program. Sequences were analyzed with Codon Code Aligner V.8.0: 2 program. The datas of two-way sequence was recorded in Fasta format. Genealogical trees were constructed by using Neighbor joining method in Mega 7.0.26 program and genetic distance was determined. Median joining Network analysis was performed for haplotypes belonging to *Nelima pontica* Charitonov, 1941 species. Five haplotypes of 9 individuals studied for 16S rRNA gene region and three haplotypes of 4 individuals studied for SOI gene region were determined. According to the results of phylogenetic analysis, 16S rRNA gene region datas supported morphological characters in opilioned taxonomy than SOI gene region datas.

**Keywords:** COI, DNA barcoding, Harvestmen, Molecular analysis, Nemastomatidae, Phalangiidae, Phylogenetic analysis, Sclerosomatidae, 16S rRNA

**2020, 91 Pages**

## TEŞEKKÜR

Beni her zaman sonsuz anlayış ve sabırla karşılayan, destekleyen, tecrübeleriyle yol gösteren, tez çalışmamın yürütülmesinde ve tamamlanmasında danışmanlığımı yapan, önemli destekler veren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nalan YILDIRIM DOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında yol gösterip destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Salih DOĞAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Serap SUNAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Yaptıkları arazi çalışmalarıyla tezime destek olan Doç. Dr. Ersen Yağmur AYDIN ve Doç. Dr. Kemal KURT'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bilgileriyle bana yol gösteren ve destek olan Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR ve Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımnda bana her konuda yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Murat Eser AKYÜREK, Merve SAĞLAM ve Zeynep ŞAHİN başta olmak üzere Atlas Biyoteknoloji Laboratuvarı'nın tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca hep yanımda olan, her konuda destek olan, özveri gösteren, değerli eşim Kemal KURT'a, kızım Fatma Buket'e, oğlum Yusuf Cemal'e ve hayatım boyunca bana güvenen, arkamda olan ve hep destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmamı maddi olarak destekleyen Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje № FDK-2018-580) teşekkürlerimi sunarım.

Pınar KURT

Ocak, 2020

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR .....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>3</b>
<b>3. KURAMSAL TEMELLER.....</b>	<b>8</b>
3.1. Otbiçenlerin (Opiliones) Morfolojik Özellikleri ve Sistematikteki Yeri .....	8
3.2. Hayvanlarda Mitokondriyal Genom.....	11
3.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu .....	13
3.2.2. Sitokrom c oksidaz I (SOI) gen bölgesi.....	15
3.2.3. 16S rRNA gen bölgesi .....	18
<b>4. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>20</b>
4.1. Materyal.....	20
4.1.1. Çalışılan türlerin hazırlanması .....	20
4.2. Yöntem .....	21
4.2.1. Morfolojik çalışma .....	21
4.2.2. Moleküler çalışmalar .....	21
4.2.2.1. Lizis.....	22
4.2.2.2. DNA izolasyonu.....	22
4.2.2.3. Spektrofotometrik analiz.....	23
4.2.2.4. PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) işlemleri.....	24
4.2.2.5. Agoroz jel elektroforezi .....	27
4.2.2.6. Sekans işlemleri .....	28
4.2.2.7. Filogenetik analizler.....	28
<b>5. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>29</b>
5.1. Arazi Çalışmaları ve Moleküler Veriler.....	29
5.1.1. Familya: Nemastomatidae (Simon, 1872) özellikleri.....	29

5.1.1.1. Cins: <i>Giljarovia</i> Kratochvíl ve Miller, 1958.....	29
5.1.1.2. Cins: <i>Histicostoma</i> Kratochvíl, 1958 .....	31
5.1.1.3. Cins: <i>Mitostoma</i> Roewer, 1951.....	33
5.1.1.4. Cins: <i>Pyza</i> Staręga 1976 .....	35
5.1.1.5. Cins: <i>Vestiferum</i> Martens, 2006.....	37
5.1.2. Familya: Phalangiidae (Latreille, 1802) özellikleri .....	39
5.1.2.1. Cins: <i>Egaenus</i> C.L.Koch 1839.....	39
5.1.2.2. Cins: <i>Mitopus</i> Thorell, 1876 .....	41
5.1.2.3. Cins: <i>Odiellus</i> Roewer, 1923 .....	43
5.1.2.4. Cins: <i>Opilio</i> Herbst, 1798 .....	47
5.1.2.5. Cins: <i>Phalangium</i> Linnaeus, 1758.....	50
5.1.2.6. Cins: <i>Rilaena</i> Šilhavý, 1965 .....	54
5.1.3. Familya: Sclerosomatidae (Simon, 1879) özellikleri .....	55
5.1.3.1. Cins: <i>Nelima</i> Roewer, 1910 .....	56
5.2. Otbiçen Türlerine Ait DNA Konsantrasyonları .....	58
5.3. Otbiçen Türlerine Ait Agaroz Jel Elektroforez Görüntüsü .....	60
5.4. Filogenetik Analizler .....	61
<b>6. TARTIŞMA .....</b>	<b>66</b>
<b>7. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>68</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>72</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>82</b>
Ek-1. <i>Egaenus turcicus</i> 'un Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri.....	82
Ek-2. <i>Giljarovia tenebricosa</i> 'nın Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri	83
Ek-3. <i>Histicostoma caucasicum</i> 'un Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri .....	84
Ek-4. <i>Mitopus morio</i> 'nun Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri .....	85
Ek-5. <i>Nelima pontica</i> 'nın Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri .....	86
Ek-6. <i>Opilio parietinus</i> 'un Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri .....	87
Ek-7. <i>Phalangium punctipes</i> 'in Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri ..	88
Ek-8. <i>Rilaena anatolica</i> 'nın Boldsystem'de kayıtlı türler arasındaki yeri .....	89
Ek-9. Tez Çalışması Süresince Yapılan Akademik Çalışmalar.....	90
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>91</b>



## ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Otbiçenin genel görünüşü .....	10
Şekil 3.2. Bir otbiçene ait birinci çift bacak ve genital organ .....	11
Şekil 3.3. Bir otbiçenin üyeleri .....	11
Şekil 3.4. Otbiçenlerde ( <i>Opilio parietenus</i> ) mitokondriyal genom.....	13
Şekil 3.5. Barkodlama açıklığı .....	17
Şekil 4.1. Lizis ve DNA izolasyonunda kullanılan malzemeler .....	23
Şekil 4.2. DNA konsantrasyon ölçümünde kullanılan cihaz .....	24
Şekil 4.3. PZR cihazı.....	25
Şekil 4.4. Ultra viyole jel görüntüleme sistemi.....	28
Şekil 5.1. <i>Giljarovia tenebricosa</i> türünün genel vücut şekli.....	30
Şekil 5.2. <i>Histicostoma caucasicum</i> türünün genel vücut şekli .....	32
Şekil 5.3. <i>Mitostoma gracile</i> türünün genel vücut şekli.....	34
Şekil 5.4. <i>Pyza taurica</i> türünün genel vücut şekli.....	36
Şekil 5.5. <i>Vestiferum alatum</i> türünün genel vücut şekli.....	38
Şekil 5.6. <i>Egaenus turcicus</i> türünün genel vücut şekli .....	40
Şekil 5.7. <i>Mitopus morio</i> türünün genel vücut şekli .....	42
Şekil 5.8. <i>Odiellus lendlii</i> türünün genel vücut şekli .....	44
Şekil 5.9. <i>Odiellus zecariensis</i> türünün genel vücut şekli.....	46
Şekil 5.10. <i>Opilio hemseni</i> türünün genel vücut şekli.....	47
Şekil 5.11. <i>Opilio parietinus</i> türünün genel vücut şekli.....	49
Şekil 5.12. <i>Phalangium punctipes</i> türünün genel vücut şekli .....	51
Şekil 5.13. <i>Phalangium opilio</i> türünün genel vücut şekli .....	53
Şekil 5.14. <i>Rilaena anatolica</i> türünün genel vücut şekli .....	54
Şekil 5.15. <i>Nelima pontica</i> türünün genel vücut şekli .....	57
Şekil 5.16. <i>Nelima pontica</i> 'ya ait 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü .....	60
Şekil 5.17. <i>Odiellus lendlii</i> 'ye ait SOI ve 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüleri.....	60
Şekil 5.18. 16S rRNA gen bölgesine dayalı soy ağacı.....	61
Şekil 5.19. SOI gen bölgesine dayalı soy ağacı .....	63

Şekil 5.20. <i>Nelima pontica</i> türü haplotiplerinin 16S rRNA gen bölgesine dayalı median joining network analizi.....	65
Şekil 5.21. <i>Nelima pontica</i> türü haplotiplerinin SOI gen bölgesine dayalı median joining network analizi .....	65



## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 4.1. Çalışılan türlere ait örnek sayıları ve yer bilgileri .....	20
Tablo 4.2. Laboratuvar çalışmasında kullanılan cihazlar.....	21
Tablo 4.3. Spektrofotometrik analizde kullanılan reaktifler .....	24
Tablo 4.4. SOI ve 16S rRNA genlerinin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri.....	26
Tablo 4.5. PZR reaksiyon içeriği .....	26
Tablo 4.6. PZR ısıtım işlem döngüleri .....	27
Tablo 5.1. Otbiçen türlerine ait DNA konsantrasyonları .....	59
Tablo 5.2. Türlerin 16S rRNA gen bölgesine ait A-T oranları .....	62
Tablo 5.3. Türlerin 16S rRNA gen bölgesine dayalı genetik mesafeleri.....	62
Tablo 5.4. Türlerin SOI gen bölgesine ait A-T oranları.....	63
Tablo 5.5. Türlerin SOI gen bölgesine dayalı genetik mesafeleri.....	64
Tablo 5.6. <i>Nelima pontica</i> türü için haplotip değerlerinin gösterimi.....	64

## SİMGELER ve KISALTMALAR

### Simgeler

°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
μl	Mikrolitre
ng	Nanogram

### Kısaltmalar

bç	Baz Çifti
BOLD System	Yaşam Veritabanı Barkot Sistemi
Bs	Bazal Segment
Co	Corpus
dk	Dakika
DNA	Deoksi Ribonükleik Asit
dNTP	Deoksi Ribonükleotid Tri Fosfat
Ds	Distal Segment
Fe	Femur
Gl	Glans
ITS	Transkripsiyonu Yapılan İç Ara Bölgeler
kb	Kilobaz
Ko	Koksa
Leu	Lösin
LSU	Büyük Altbirim Ribozomal Ribonükleik asit
m	Metre
MEGA	Moleküler Evrimsel Genetik Analiz
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
mm	Milimetre
mRNA	Mesajcı Ribonükleik asit
Mt	Metatarsus

mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribo Nükleik Asit
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NJ	Komşu Birleştirme Metodu
Pt	Patella
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	Ribozomal Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
sdH2O	Distile Su
sn	Saniye
SOI	Sitokrom Oksidaz I (COI)
SOII	Sitokrom Oksidaz II (COII)
SSU	Küçük Alt Birimdeki Ribozomal Ribo Nükleik Asit
St	Stilus
Ta	Tarsus
Tb	Tibiya
TBE	Tris Borik Asit Edta
Tr	Trokanter
tRNA	Transfer Ribo Nükleik Asit
Tt	Tarsus Tırnağı
Tyr	Tirozin

## 1. GİRİŞ

Eklembacaklılar (Arthropoda) şubesinin, örümceğimsiler (Arachnida) sınıfı içerisinde yer alan otbiçenler (Opiliones), örümcekler, akarlar ve yalancı akreplerden sonraki büyük grubu oluşturur ve dünya üzerinde yaklaşık 6.125, ülkemizde ise 95 tür ile temsil edilirler (Kury, 2012; Kurt, 2014).

Dünya üzerinde Antartika hariç tüm kıtalarda yayılış gösteren otbiçenlerin büyük bir kısmı tropikal ve ılıman bölgelerin tarımsal ekosistemlerinde yaşamaktadır. Ayrıca orman, çayır, taş, toprak ve ağaç kabuklarının altında, bitkilerin üstünde ve döküntü içleri gibi çok farklı habitatlarda hayatlarını sürdürürler (Çorak, 2010).

Taksonomik çalışmalarda, tür tanımlamaları yapılırken morfolojik verilerin yanı sıra fizyolojik, ekolojik, etolojik gibi diğer bazı özellikler de esas alınmaktadır. Bazı türlerin morfolojik olarak birbirine ayırt edilemeyecek kadar çok benzemesi, ikiz türlerin varlığı gibi nedenler teşhisi zorlaştırmakta ve güvenilirliğini azaltmaktadır. Bu nedenlerden dolayı sınıflandırmada morfolojik özelliklerin tek başına kullanılması her zaman güvenilir sonuçlar vermemektedir.

Moleküler tanı tekniklerinin yaygınlaşması ile taksonomik çalışmalar yeni bir boyut kazanmıştır. Morfolojik veriler ile yapılan teşhisler teyit edilmiş, teşhis edilemeyen türler ise teşhis edilmiştir. Bu teknikler ile türlere ait moleküler verilerin bulunduğu gen bankaları da oluşturulmuştur.

Dünyada, tanımlanan tür sayısının her geçen gün artması, bu türlerin teşhisi için kısa sürede, kesin sonuçlar veren yeni yöntemlerin kullanılmasını gerektirmiştir (Blaxter, 2003).

Moleküler çalışmaların, böcek sistematğinde kullanılmasında, mitokondriyal DNA ve nükleer DNA'nın dizilenmiş bölgeleri türlere ait özel bilgiler taşımaktadır. Bu bilgiler de, tür seviyesinde ayrımı sağlamaktadır. Mitokondriyal DNA'nın, sitokrom oksidaz I, II, sitokrom b ve 16S rRNA gibi belirli gen bölgelerinin sekanslarının karşılaştırılması ile tür seviyesinde ayrımlar yapılabilmektedir. Bu analizler birçok tür ile yapılan taksonomik ve filogenetik çalışmaya katkı sağlamaktadır (Oshaghi vd., 2007).

Mitokondriyal DNA ile yapılan çalışmalarında genellikle SOI, SOII, 16S rRNA gen bölgelerinin sekansı yapılırken, nüklear DNA çalışmalarında en fazla 18s rDNA, 28s rDNA, SSU ve LSU genlerinin sekansı yapılmaktadır.

Sitokrom oksidaz I (SOI) gen bölgesi türler üzerinde çalışılmış, güvenilirliği kanıtlanmış ve uluslararası standart “DNA barkod” bölgesi olarak belirlenmiştir (Ratnasingham ve Hebert, 2007).

DNA barkod çalışmalarını ilk kez Kanada’da bulunan “Canadian Barcode of Life Network Biodiversity” Enstitüsü yapmıştır. Çalışmalarda, kısa standartlaştırılmış genomik bölgeler kullanılarak DNA barkodlama yöntemiyle, canlıların tür düzeyinde ayrılabilceği ortaya konmuştur. Bu yöntem, standart kısa gen bölgelerini kullanarak türlerin birbirinden ayrılmasını esas almaktadır (Hebert vd., 2003a, 2003b).

Bu çalışmada, ülkemizin farklı bölgelerinden toplanmış ve tür teşhisleri morfolojik karakterlerine göre yapılmış olan Nemastomatidae, Sclerosomatidae ve Phalangiidae familyalarına ait türlerin mitokondriyal, SOI ve 16S rRNA gen bölgelerinin dizi analizi ile moleküler karakterizasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Türkiye’de ilk kez yapılan bu çalışmada; bazı otbiçen türlerinin SOI ve 16S rRNA gen bölgelerine ait dizileri belirlenerek elde edilen veriler ilk kez NCBI veri sistemine yüklenmiş ve gen bank erişim numaraları alınmıştır. Verilerin değerlendirilmesi ile türler arasındaki akrabalık ilişkilerini ortaya çıkarmak için filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ülkemizde opilionidler üzerine morfolojik karakterlere dayalı olarak çalışmalar yapılmaktadır. İlk çalışmalar yabancı bilim insanları tarafından gerçekleştirilmiştir (Simon, 1875, 1878; Pavesi, 1876; Kulczynski, 1903; Nosek, 1905; Roewer, 1912, 1959; Gruber, 1966, 1968, 1969, 1976, 1978, 1979, 1998; Martens, 2006; Mitov, 2012).

Son yıllarda ise yerli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda artış görülmektedir. Yapılan ilk yerli araştırmalar yüksek lisans tez çalışmaları olup otbiçenlerin morfolojik verilerine dayalı çalışmalardır (Çorak, 2004; Kurt, 2005). Daha sonra Bayram vd. (2019), Bayram ve Çorak (2007), Yiğit vd. (2007), Çorak vd. (2008), Kurt vd. (2008a, 2008b), Kurt ve Erman (2011, 2012), Kurt (2014, 2015) yine morfolojik veriler ile çalışmalar yapmışlardır.

Morfolojik tür tanımlamalarının yanı sıra DNA barkodlama ile moleküler düzeyde de tür tanımlama çalışmaları yapılmaktadır. Ülkemizde moleküler özelliklere dayalı otbiçen çalışmaları mevcut değildir. Dünyada ise yapılan çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır. Bir veya birkaç standart DNA bölgesini kullanarak hızlı ve güvenilir tür tanımlamasını sağlayan DNA barkodlama sistemi, bitki ve hayvanlar âleminde oldukça sık kullanılmaktadır.

DNA bölgesi için mitokondriyal genler (SOI, 16S rRNA) ve nükleer genler (18S rDNA, ITS) gibi uygun potansiyel barkodlar olarak seçilmiştir. Bunlardan 658 baz çifti uzunluğundaki SOI gen bölgesi tüm hayvanlar için genel ve standart bir belirteç olarak kabul edilmektedir (Hebert vd., 2003a,2003b)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kaynaklı hataların üstesinden gelebilmek ve türlerin belirlenmesini sağlayabilmek için farklı gen bölgeleri kullanılmaktadır. Moleküler taksonomi çalışmalarında, SOI ve 16S rRNA gen bölgelerinin beraber kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Astrin vd., 2006).

Otbiçenler ile yapılan moleküler çalışmalarda da SOI gen bölgesi, 16S rRNA gen bölgesi ve diğer gen bölgeleri kullanılmıştır. Vaschetto vd. (2005), yapmış oldukları çalışmada, Kuzey Doğu Arjantin de geniş bir alana yayılan *Geraeocormobius sylvarum* (Gonyleptidae) türünün SOI mitokondriyal genini moleküler belirteç olarak kullanmış



ve SOI geninin, geçmiş çevresel olaylar ile genetik çeşitlilik arasındaki ilişkinin belirlenmesinde uygun bir belirleyici olduğu sonucuna varmıştır.

Boyer vd. (2005), Balkanlarda yayılış gösteren *Cyphophthalmus* (Cyphophthalmi) cinsinin nükleer ribozomal genlerinin (18S rRNA, 28S rRNA) yanı sıra mitokondriyal gen (SOI ve 16S rRNA) bölgelerini de kullanarak akrabalık ilişkilerini ortaya koymuşlardır.

Boyer ve Giribet (2007), Avustralya ve Yeni Zelanda'nın Pettalidae (Cyphophthalmi) ailesinde 18S rRNA, 28S rRNA, SOI ve 16S rRNA moleküler belirteçlerini kullanarak taksonomik revizyonunu yapmışlardır.

Sharma ve Giribet (2009a), Sandokanidae ailesi üyelerinde sekiz moleküler belirteç (18S rRNA, 28S rRNA, 12S rRNA, 16S rRNA, SOI, histon H3, H4 ve U2 snRNA) kullanarak ailenin filogenesini ortaya koymuşlardır.

Sharma ve Giribet (2009b), Troglosironidae (Cyphophthalmi) ailesinin filogenetik ilişkileri ortaya çıkarmak için yapmış oldukları çalışmada 18S rRNA, 28S rRNA, SOI ve 16S rRNA moleküler belirteçleri kullanılmıştır.

Murienne vd. (2009), Balkanlar'daki *Cyphophthalmus* cinsinde iki mitokondriyal (SOI ve 16S rRNA) ve iki nükleer (28S rRNA ve 18S rRNA) belirteç kullanarak cinsin filogenetik geçmişini ortaya çıkarmışlardır.

Giribet vd. (2010), Kuzey Amerika Sironidae ailesinin 18S rRNA, 28S rRNA ve SOI gen bölgelerini kullanarak filogenesi incelenmiş, Avrupa ve Japonya'daki türlerle karşılaştırmıştır. Filogenetik analizler ve ayrıntılı morfolojik çalışmalar sonucu dört yeni sironid türü tanımlanmıştır.

Sharma vd. (2011), Laniatores grubunun filogenesini belirlemek için moleküler yöntemleri (12S rRNA, 16S rRNA, 18S rRNA, 28S rRNA, SOI, sitokrom b, EF-1 $\alpha$ , histon 3, H4 ve U2 snRNA) kullanarak iki yeni otbiçen ailesi tanımlanmıştır.

Hedin vd. (2012), Sclerosomatidlerin (Sclerosomatidae) 28S ve 18S rRNA, Histon 3, EF-1 $\alpha$ , SOI- SOII, 16S ve 12S rRNA gen bölgelerini çalışarak moleküler sistematüğini belirlemişlerdir.

Clouse ve Wheeler (2014), güneydoğu ABD’de bilinen üç ayrı popülasyon merkezinden elde edilen *Metasiro* cinsine ait örneklerin 769 bç büyüklüğündeki SOI gen bölgesini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda bu cinse ait 2 yeni tür tanımlamışlardır.

Pinto-da-Rocha vd. (2014), Gonyleptidae ailesinin filogenisi belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmada SOI, 28S rRNA, 12S rRNA, ve 16S rRNA gen bölgelerini kullanmışlardır.

Astrin vd. (2016), yaptıkları çalışmada 3300 örümcek ve 200 opilionid olmak üzere toplam 3500 araknid örneğinin DNA barkod veri tabanı hazırlamışlardır.

Giribet vd. (2016), Ilıman Gondwana bölgesinde dağılım gösteren Pettalidae (Cyphophthalmi) ailesine ait bireylerin 18S rRNA, 28S rRNA, 16S rRNA, SOI gen bölgelerini kullanarak türlerin moleküler filogenisini ortaya çıkarmışlardır.

Giribet vd. (2017), Sironidae ailesinin (Cyphophthalmi) sistematığı ve biyocoğrafyasını belirlemek için yaptıkları çalışmada 18S rRNA, 28S rRNA, 16S rRNA, SOI genleri kullanmışlardır.

Chen ve Shih (2017), yaptıkları çalışmada Pseudogagrella (Opiliones: Sclerosomatidae: Gagrellinae) cinsine ait 3 yeni opilionid türü tanımlamışlardır. Bu çalışmada hem moleküler hem de morfolojik verilerden yararlanmışlardır. Moleküler çalışmada 16S rRNA ve SOI genlerini kullanmışlardır.

Chen ve Shih (2018), Tayvan’da yayılış gösteren *Metadentobunus* (Gagrellinae) cinsi üzerine yapmış oldukları çalışmada SOI ve 16S rRNA gen bölgelerini kullanarak yeni bir tür tanımlaması yapmışlardır.

Benavides vd. (2019), Neogoveidae (Cyphophthalmi) ailesini filogenisi, evrimi ve sistematik revizyonları belirlemek için, 18S rRNA, 28S rRNA ve 16S rRNA, H3, SOI gen bölgelerini kullanmışlardır ve sonuçta 13 yeni türü bilim dünyasına tanıtmışlardır.

Cruz-Lopez vd. (2019), Meksika’da dağılım gösteren Ortholasmatinae (Nemastomatidae) alt familyasının 18S rRNA ve SOI gen bölgeleri ile morfolojik

karakterlerini kullanarak yeni bir cins tanımlaması yaparak alt familya üzerindeki bazı sistematik sorunların çözümüne katkı sağlamıştır.

Opilionidlere yakın olan araknid sınıfının diğer üyelerinde DNA barkodlama yöntemiyle yapılan çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır. DNA barkodlama yöntemi parazitik keneler ve diğer eklembacaklı gruplarında kullanılmaktadır. Son yıllarda kenelerin evrimi ve filogenisini belirlemede mitokondriyal genler ve nükleer genler kullanılmaya başlanmıştır. Ixodida türlerinin 16S rRNA, 18S rRNA ve SOI gen bölgeleri çalışılmış ve NJ metoduyla filogenetik ağaçları oluşturulmuştur (Jizhou vd., 2014).

Aşçı ve Kabak (2019) bazı su akarı (Acari, Hydrachnidia) türlerinin SOI ve 28S rDNA gen bölgelerini kullanarak moleküler analizi yapmıştır.

Arnedo vd. (2004) Theridiidae ailesine ait örümceklerinde nükleer ve mitokondriyal genler (16S rRNA ve SOI) ile filogenetik ilişkileri ortaya koymuştur.

Astrin vd. (2006), Pholcidae familyası örümcekleri üzerine yaptıkları çalışma da SOI ve 16S rRNA gen bölgelerini kullanmış ve barkod olarak 16S rRNA geninin SOI'den daha üstün olduğunu belirtmişlerdir. Kurbağa, salyangoz ve Pholcid örümceklerinde 16S rRNA gen bölgesinin SOI gen bölgesinden daha güvenilir sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Benjamin vd. (2007) yengeç örümceklerinin (Araneae: Thomisidae) 16S rRNA, histon 3, SOI genlerini kullanarak moleküler filogenisini çalışmıştır.

Slowik ve Blagoev (2012) DNA barkod tekniklerini kullanarak Alaska Wiles Adasının örümcekleri üzerine çalışmalar yapmışlardır.

Wang vd. (2018), Çin tarım arazilerinde yayılış gösteren örümcek türleri üzerine yaptıkları bir araştırmada tür tanımlamasında, 16S tabanlı tanımlama yönteminin SOI kadar etkili olmadığı görülmüştür.

Ülkemizde de örümceklere ait DNA barkod çalışmaları yapılmıştır. Erbaş (2016) Gaziantep il ve ilçelerinde *Pardosa* cinsi örümceklerde SOI gen bölgesiyle DNA barkod çalışması yapmıştır.

Akpınar (2017) Gaziantep ilinde yayılış gösteren *Alopecosa* cinsi örümceklerde SOI gen bölgesiyle DNA barkod çalışması yapmıştır ve cinsin filogenetik ilişkilerini ortaya koymuştur.

Mammadova (2019) Gaziantep ili *Xysticus* (Thomisidae) cinsi örümceklerini morfolojik ve moleküler (SOI ve ITS) yönden karşılaştırmıştır.



## KURAMSAL TEMELLER

### 3.1. Otbiçenlerin (Opiliones) Morfolojik Özellikleri ve Sistematikteki Yeri

Eklembacaklılar (Arthropoda) şubesinin Örümceğimsiler (Arachnida) sınıfı içerisinde bir takım olan otbiçenler; orman, tarım arazileri, toprak içerisinde ve üzerinde taş, kaya ve ağaç kabuklarının altında, döküntü içlerinde, bitkilerin üzerinde ve çayır gibi çok farklı habitatlarda yaşarlar (Çorak, 2010).

Günümüzde otbiçenler, karasal ekosistemlerde yaşayan böcekler ve diğer birçok eklembacaklının predatörü olarak tanımlanmış ve birçok araştırmaya konu olmuştur (Kurt, 2013).

Bu takım için literatürde “çoban örümcekleri” ismi geçmektedir. Bazı Avrupa ülkelerinde çobanlar uzun çubuklar üzerinde yürüyerek sürüyü kontrol ederler. Otbiçenlerin yürüyüşü, bu çobanların yürüyüşüne benzetildiğinden otbiçenlere “çoban örümcekler” de denmiştir. Ayrıca bir opilionidin otlar arasındaki yürüyüşü, tırpan veya orak çeken bir çiftçiye benzetildiğinden “otbiçen” adı da verilmiştir (Pinto-da-Rocha vd., 2007).

Otbiçenler, Cyphophthalmi, Laniatores, Dyspnoi ve Eupnoi alttakımlarından oluşmaktadır. Türkiye’de otbiçenlere ait türlerin çoğu Eupnoi alttakımda yer almaktadır (Çorak, 2010).

Otbiçenlerde vücut tek parça halindedir. Prozoma ve opistozoma birleşmiştir. Opistozomanın segmentli oluşu, yükselti üzerinde yerleşmiş bir çift gözlerinin varlığı, zehir ve ağ bezlerinin bulunmayışı gibi özelliklerden dolayı diğer araknidlerden kolayca ayırt edilirler (Hillyard ve Sankey, 1990).

Otbiçenlerde gözler, prozomanın ortasında veya keliseri üstten kapatan bir çıkıntı üzerinde yer alır. Türlerin birçoğunda göz, yukarı doğru kalkmış bir çıkıntı üzerindedir. Bazı mağara türlerinde ise göz bulunmamaktadır (Bayram vd., 2007).

Otbiçenlerin vücudu genellikle oval, yuvarlak veya köşegenimsi yapıda olup, büyüklüğü 1-22 mm arasında değişmektedir. Prozoma, birleşmiş halde altı segmentten

oluşur ve her bir segmentten bir çift üye çıkar. Bu üyelerin birinci çifti keliserleri, ikinci çifti pedipalpleri, geriye kalan dört çifti ise yürüme bacıklarını oluşturmaktadır. Prozomada yer alan desenler tür teşhislerinde kullanılır (Çorak, 2010).

Opistozoma on segmentten oluşur ve üzerinde üyeler yer almaz. Opistozomanın ventralindeki ilk iki sternit birleşip eşeyssel açıklığı örten kapağı oluşturur. Onuncu sternit ise anal kapağı oluşturur. (Chevrizov, 1979).

Otbiçenlerde, avın yakalanıp parçalanmasını sağlayan keliserlerin üzerinde küçük diş, kıl, tüberkül ve apofiz (çıkıntı) gibi yapılar yer almaktadır. Bazı otbiçenlerde keliserler erkek ve dişi bireylerde aynı görünümde olmasına rağmen bazılarında ise farklılaşarak eşeyssel ikişekillilik belirgin olmaktadır (Kurt, 2013).

Otbiçenlerdeki yürüme bacıklarına benzeyen ancak daha kısa olan pedipalpler, besinlerin yenmesi ve üyelerin temizlenmesinde görevlidir. Bazı gruplarda bu yapılar üzerinde tırnak bulunmayabilir. Otbiçenlerde zehir bezleri yoktur. Vücutlarının ön tarafında savunma için kullandıkları bir çift koku bezi vardır (Kurt, 2005).

Otbiçenler, omnivordur, av ve besinlerini pedipalplerle yakalayarak keliserlere iletirler. Genellikle keneler, örümcekler, akrepler, küçük otbiçenler, salyangozlar, kırkayaklar, sinekler, karıncalar, cırcır böcekleri, yaprak bitleri, yer solucanları, hayvanların ölmüş artıkları ve meyve artıkları ile beslenirler (Pinto-da-Rocha vd., 2007).

Dolaşım sistemi; kalp, kalbe ait ön ve arka aortlardan oluşur. Malpigi tüpleri yoktur, boşaltım bir çift koksa bezi ile yapılır (Çorak, 2010). Solunum trake ile yapılır. Hareketli türlerde ek olarak solunum yarığı bulunur (Hillyard ve Sankey, 1990). Sinir sisteminin merkezi ise bir beyin ve yutak altı ganglion kitlesinden meydana gelmektedir (Kurt, 2005).

Otbiçenlerin duyu organları; gelişmiş bir çift göz, prozomada, bacaklarda ve pedipalp üzerinde bulunan duyu kılları ve lir organıdır. Birkaç tür ise az duyulabilen sesler çıkaran ses çıkarma (stridülasyon) organına sahiptir (Çorak, 2010).

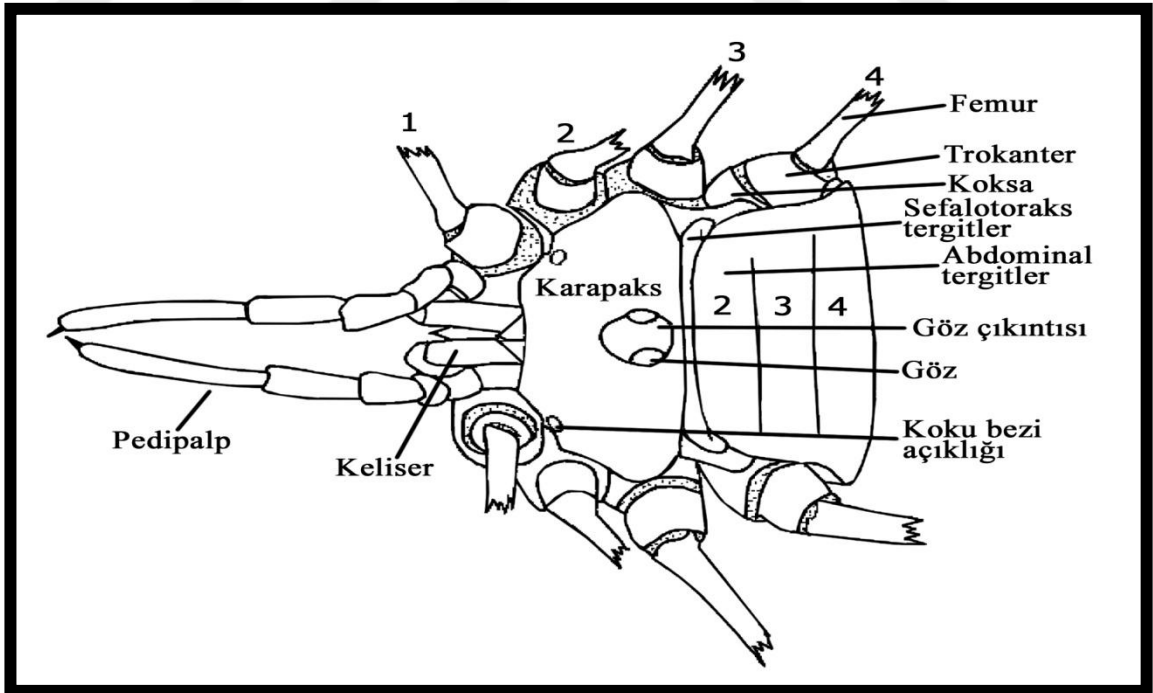
Otbiçenler ayrı eşeylidir. Eşeyssel açıklık son bacak çiftinin arasındadır. Bu açıklıkta, dişilerde; abdomenin ortasından çıkan tüp şeklindeki yumurta koyma borusu, erkeklerde

ise boru şeklinde bir penis bulunur. Penis, türlerin teşhis edilmesinde kullanılan önemli bir karakterdir (Hillyard ve Sankey, 1990).

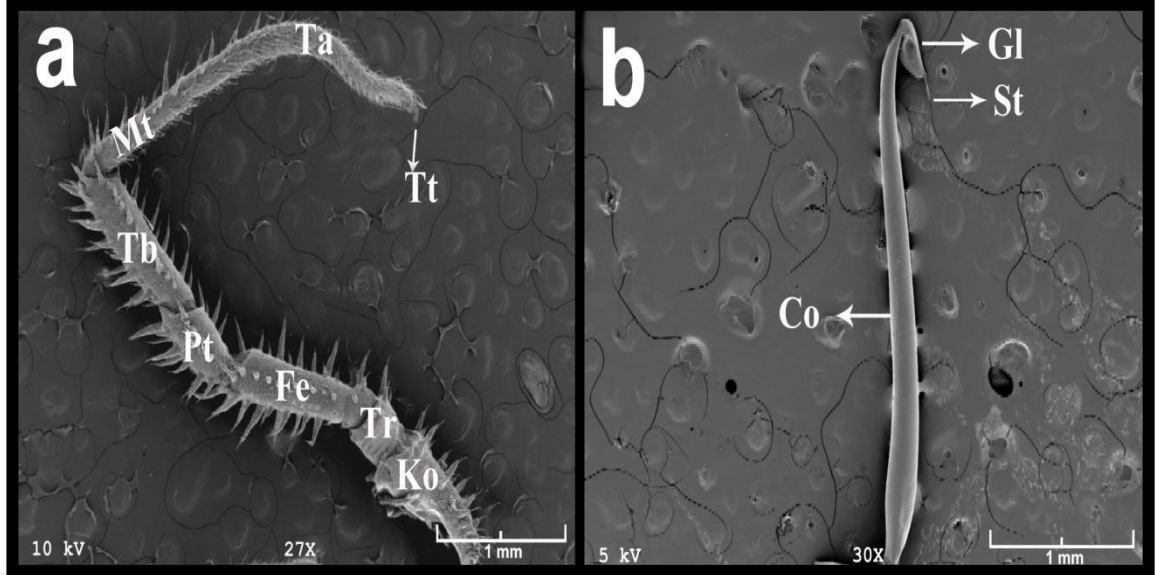
Otbiçenlerde iç dölleme görülür. Dişi bireyler çiftleşmeden kısa bir süre sonra yumurtalarını uygun ortamlara bırakır. Yumurtalardan çıkan yavrular birkaç kez deri değiştirerek ergin hale gelirler. Otbiçenlerin yaşam döngüsünde, embriyonik ve postembriyonik evreler vardır. Postembriyonik evrede gelişim larva, nimf ve ergin safhalarından oluşur (Pinto-da-Rocha vd., 2007).

Otbiçenlerin sınıflandırma sistemindeki yeri şu şekildedir (Pinto-da-Rocha vd., 2007).

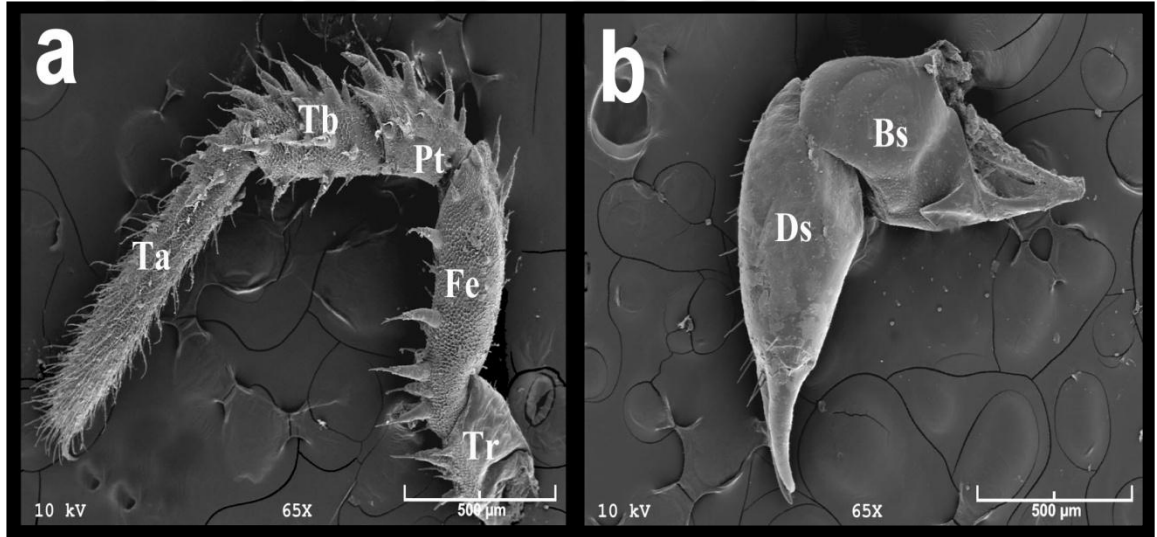
Alem : Animalia  
Alt alem: Eumetazoa  
Şube : Arthropoda  
Alt şube : Chelicerata  
Sınıf : Arachnida  
Takım : Opiliones



Şekil 3.1. Otbiçenin genel görünüşü (Kurt, 2013)



Şekil 3.2. Bir otbiçene ait birinci çift bacak ve genital organ a) Bacak, b) Penis (Kurt, 2013)



Şekil 3.3. Bir otbiçenin üyeleri a) Pedipalp, b) Keliser (Kurt, 2013)

### 3.2. Hayvanlarda Mitokondriyal Genom

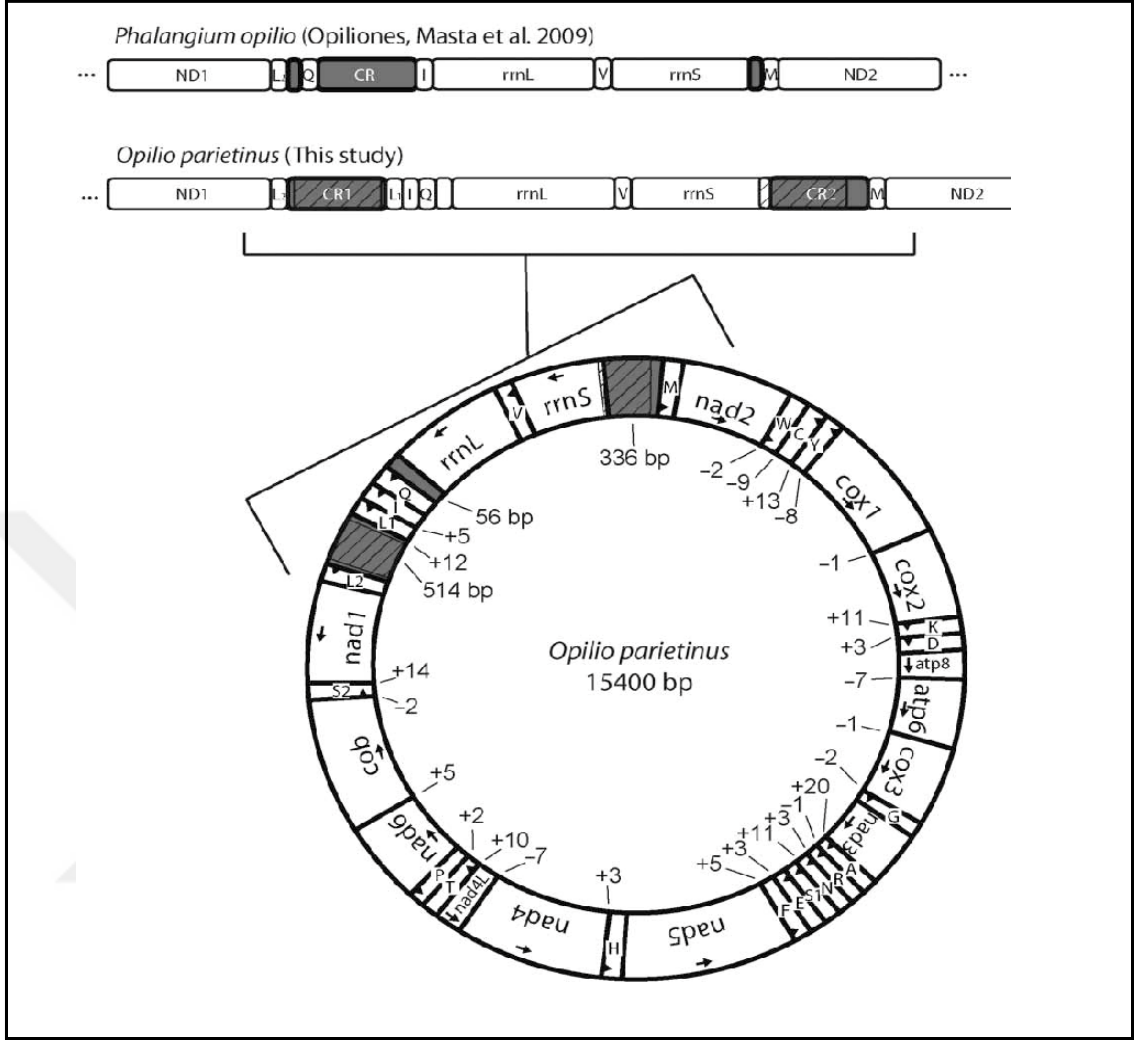
Günümüzde, tür teşhislerinde çoğunlukla morfolojik karakterler kullanılmakta ve teşhisler genellikle ergin bireyler üzerinden yapılmaktadır. Bu çalışmalar moleküler yöntemler kullanılarak desteklenebilmektedir. Moleküler taksonomi, organizmaların protein veya nükleik asit özelliklerinin baz alınarak tanımlanmasıdır. Tür teşhislerinde morfolojik özellikler ile fenotip, DNA molekülünün kullanılması ile de genotip araştırılmaktadır. Biyoinformatiğin de DNA ile yapılan çalışmalarda kullanılması ile tür



teşhisi ve gen kaynaklarının tespitinde moleküler yöntemlerin güvenilirliği artmaktadır (Bisen, 2014).

Çok hücreli (Metazoa) hayvanlar için bilinen en küçük gen bölgesi mitokondriyal genomdur (Cameron vd., 2006). Mitokondriyal DNA, yaklaşık 14-39 kb büyüklüğünde, yuvarlak ve çift sarmallı yapıdadır. 13 mRNA, 2 rRNA ve 22 tRNA kodlayan 37 gene sahiptir (Wolstenholme, 1992). Bu genomda, adenin ve timin bazlarının yoğun olarak bulunduğu bölge omurgalılarda mitokondriyal DNA'nın replikasyon başlangıcı olarak tanımlanmaktadır (Brown, 1985).

Mitokondriyal genomdaki çalışmalar, baz dizilişleri, varyasyon aralıkları ve dizi düzenlemeleri, hayvanların evrimsel süreçleri ile ilgili çalışmalara katkı sağlamıştır (Günay, 2015). Mitokondriyal genomun, genom düzenlemelerini veya tüm genomu kullanarak filogenetik temelli dizileri ortaya koymasını filogenetik çalışmalar açısından önemlidir (Cameron vd., 2007).



**Şekil 3.4.** Otiçenlerde (*Opilio parietenus*) mitokondriyal genom (Podsiadlowski ve Fahrein, 2010)

### 3.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu

Dünyada canlıları oluşturan genetik yapının çözülmesi, genlerin yerlerinin ve işlevlerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir. Bu nedenle, yeni yöntemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir. Geliştirilen bu yöntemlerin en önemlilerinden birisi Polimeraz Zincir Reaksiyonu'dur (PZR).

PZR moleküler genetikte en sık kullanılan yöntemlerdendir. K. Mullis (1993) tarafından uygulamaya konmuş ve bu, araştırmacıya Nobel Kimya Ödülünü kazandırmıştır. Bu

yöntem, kalıp DNA üzerinde istenilen bölgenin in vitro koşullarda enzimatik olarak çoğaltılması esasına dayanmaktadır. İstenilen bölgenin uygun primerler kullanılarak kısa sürede milyonlarca kopyası yapılmaktadır. Uygulanması ve otomasyonu kolay olan bir yöntemdir (Yıldırım, 2010).

PZR ile çift iplik formunda olan DNA, yüksek ısıda denatüre olarak tek iplik formuna geçmekte ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri ile çok sayıda kopyası oluşturulmaktadır (Halden vd., 1994).

Bir PZR döngüsü için temiz ve PZR inhibitörlerinden arındırılmış DNA örneği, çoğaltılacak bölgeye özgü sentetik primer, deoksinükleotit trifosfatlar (dNTP), yüksek ısıya dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi, uygun pH ve iyon koşullarını ( $Mg^{+2}$ ) sağlayan tampon karışımı ve  $MgCl_2$  gereklidir (Aygün, 2006).

Hedeflenen gen bölgesine uygun primerler kullanılarak, PZR 3 aşamada gerçekleşir (Yıldırım, 2010);

**1- Denatürasyon (denaturation) (DNA'nın tek zincire ayrılması):** Yüksek ısı ile DNA'nın iki zincirini bir arada tutan, moleküller arası hidrojen bağlarını kırılır ve iki zincir birbirinden ayrılır.

**2- Primer bağlanması (annealing):** DNA polimerazın polimerizasyon yapabilmesi için serbest 3' OH grubu olması gerekir. Bu da primer adı verilen ve sentetik olarak sentezlenen DNA molekülleri tarafından sağlanır. Primerler, çoğaltılacak olan bölgeye bağlanırlar. Bir PZR için, farklı zincirlerde olacak şekilde 2 adet primer sentezlenir.

**3- Uzama (extension):** DNA polimerazın polimerizasyonu gerçekleştirdiği aşamadır. DNA polimeraz, solüsyonda bulunan dATP, dTTP, dCTP veya dGTP moleküllerinden diziyeye gelmesi gerekeni primerden başlayarak bağlar. Bu aşama, ortalama 25-45 kez tekrarlanır. DNA miktarı logaritmik artış gösterir ve primer dizileri arasında gerçekleşir. Çoğaltılan bu DNA parçalarına ampikon adı verilir.

PZR analizi ile belli genler hedeflenerek çoğaltılmış olur.

Genetik yapıyı ortaya koymak amacıyla kullanılan farklı moleküler yöntemlerden bazıları; nükleik asit dizilenmesi, nükleik asit hibridizasyonu, nükleik asit problemleri, DNA parmakizi, RAPD analizleri ile ribozomal tiplendirme yöntemleridir (Brown-Elliott vd., 2006).

### **3.2.2. Sitokrom c oksidaz I (SOI) gen bölgesi**

Mitokondriyal bir gen olan sitokrom c oksidaz I (SOI) geni maternal olarak kalıtılmaktadır (Keskin ve Atar, 2013). Tür teşhisi yapılmış bireyler üzerinde, SOI gen bölgesinin 5' ucundan 658 baz çiftlik bölgesi, güvenilirliği kanıtlanmış ve uluslararası standart "DNA barkod" bölgesi olarak kabul edilmiştir (Hebert vd., 2003a). Bir gen bölgesinin barkod bölgesi olarak kullanılabilmesi için çok sayıda farklı türe ait güvenilir sekans verisinin elde edilen yeni veri ile karşılaştırılabilir olması gerekmektedir (Veri tabanı 1).

SOI gen bölgesinin, potansiyel barkod bölgesi olarak kabul edilmesinde, mitokondriyal DNA'nın hızlı mutasyon oranına sahip olması ve bunun sonucunda varyasyonun türler arasında yüksek, tür içinde ise karşılaştırılabilir oranda düşük olması etkilidir (Hebert vd., 2003).

Sitokrom oksidaz I (SOI) ve sitokrom b (S b) gen bölgeleri, mtDNA'daki diğer genlerden büyük olmaları sebebiyle tür teşhislerinde sık kullanılan mitokondriyal genlerdir. Evrensel primerlerin, SOI geni için daha güvenilir olması, aminoasit sekans değişikliklerinin sitokrom b genine oranla daha yavaş olması nedeniyle taksonomik çalışmalarda daha güvenilir sonuçlara ulaşılmaktadır (Jameson vd., 2003). Ayrıca SOI geni 5' ucunda tRNATyr ve 3' ucunda tRNA<sup>Leu</sup> ile çevrelenerek protein kodlayan genlerin sırası yüksek oranda korunmuştur (Günay, 2015).

Barkodlama çalışmaları, böcek türleri üzerine gerçekleştirilen taksonomik, filogenetik ve populasyon yapısı ile ilgili çalışmalarda güvenilir sonuçlar sağlamaktadır. Ayrıca hayvan hücre hatlarının tanımlanmasında ve biyoçeşitlilik çalışmalarında da kullanılmaktadır (Arslan, 2017).

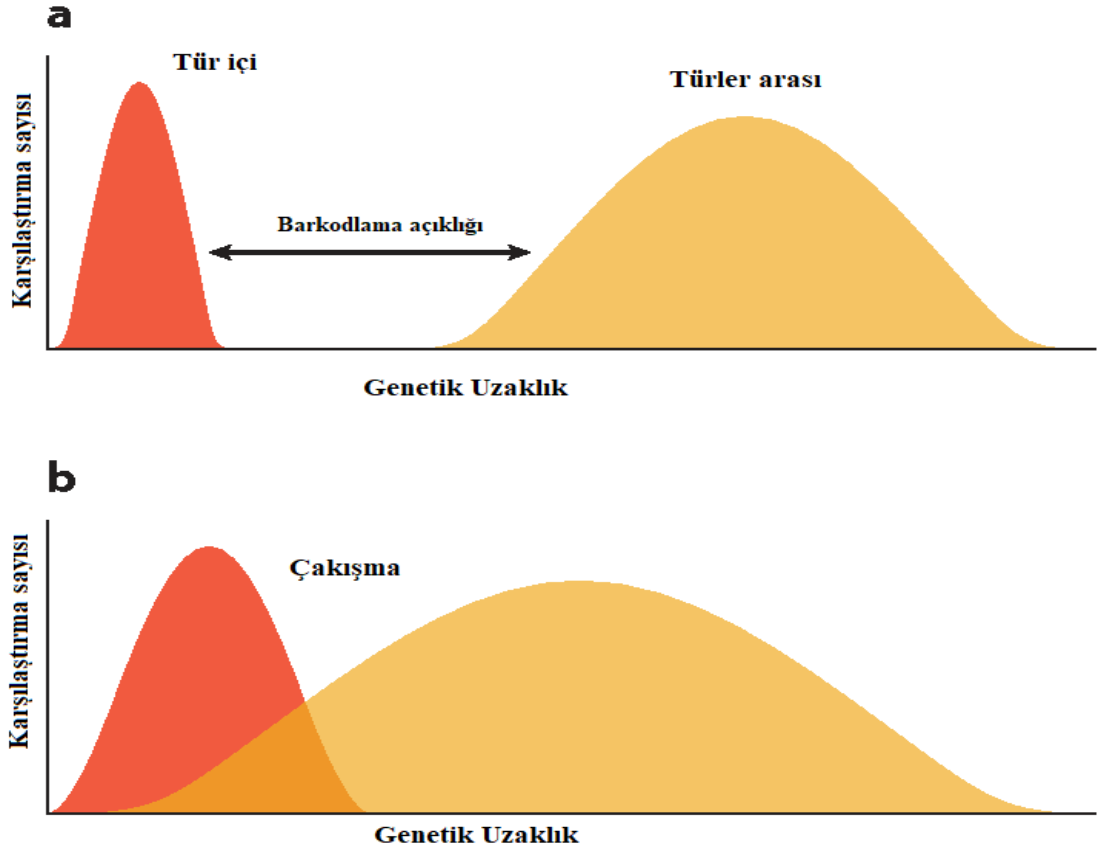
DNA barkodlamayı diğer yöntemlerden farklı ve avantajlı yapan temel özellik, bir gen bölgesini kullanarak tüm türlere ait evrensel bir biyolojik tanımlama sistemine sahip

olması ve dizi karşılaştırmalarında insersiyon ve delesyon gibi mutasyonlarla çok az karşılaşıldığı için ideal bir gen bölgesi olmasıdır (Hebert vd., 2003). SOI gen bölgesinin 5' ucunda 658 bç bölgesi, birçok canlıya göre özel tasarlanabilen primerler ile çoğaltılabilmektedir. Bu da DNA barkodlama yöntemi için en uygun bölge olmasını sağlamıştır (Folmer vd., 1994).

DNA barkodlama yönteminde, organizma genomlarındaki küçük DNA dizisi farklılıkları, bireylerin DNA profillerinin belirlenmesi ile tür seviyesinde ayrılması ve tanımlanmasını sağlamaktadır. Morfolojik karakterler ile tür teşhisi yapılamayan bireylerin DNA dizileri belirlenir ve DNA veri bankasındaki DNA barkod dizileri ile eşleştirilmesi yapılarak tanımlanır.

DNA barkod bölgesinin; türlerin teşhisinde yüksek ayırım gücüne sahip olması, evrensel primerler ile çoğaltılabilen özel bölgeler içermesi, korunmuş uç bölgelerinin bulunması ve kısa dizi uzunluğuna sahip olması kullanılabilirliğini artırmaktadır (Kress ve Erikson, 2008).

SOI gen bölgesi; türlerin belirlenmesinde, ayırt edilmesinde yüksek ayırım gücüne sahiptir ve bu özelliği ile tür içi ve türler arası uzaklık çakışmamaktadır (Arslan, 2017). Tür içi ve türler arası çakışmanın olmaması “barkodlama açıklığı” olarak tanımlanmaktadır. Bu durum güvenilirliği ortaya koymaktadır ve dizilerin tespitinde, soy ağaçlarının oluşturulmasında önem taşımaktadır (Meyer ve Paulay, 2005).



Şekil 3.5. Barkodlama açıklığı (Meyer ve Paulay, 2005)

Mitokondriyal genomun maternal kalıtıma sahip olması, haploit özellikte olması, intron bulundurmaması, tüm hücrelerde kopya sayısının fazla olması, rekombinasyona az maruz kalması nükleer genoma göre avantajlarıdır (Keskin ve Atar, 2013).

SOI geni, çok hücreli canlılar için evrensel primer çifti ile çoğaltılabilmesi, birçok taksonomik seviyede ayırım yapabilmesi ve filogenetik ilişkileri belirlemesinde önemli rol oynar (Savolainen vd., 2003). Diğer genlerde meydana gelen insersiyon ve delesyonlar, dizilerin karşılaştırılmasında ve tür teşhislerinde sorunlara neden olmaktadır.

SOI gen bölgesinin ayırım gücünün fazla olmasının temelinde nükleotid dizilerinde aynı anda meydana gelen değişikliklerdeki sıklık etkili olmaktadır. SOI geni, mitokondriyal rRNA genlerinden daha fazla moleküler evrim hızına sahiptir. Bu özelliği ile yakın türlerin ayırımı yapılabilmekte ve tür içi varyasyonlar da ortaya konmaktadır. Bu avantajlı durumların yanı sıra SOI geninin protein kodlayan genlerin üçüncü kodondaki nükleotid dizilerindeki evrimsel değişim hızı yavaş olan canlı gruplarında, SOI genine alternatif gen bölgeleri de kullanılmaktadır (Shearer vd., 2002). Bunlar 16s rRNA, 12s

rRNA, 18S rDNA ve nüklear 18S rRNA gen bölgeleridir ve güvenilirlikleri oldukça yüksektir.

Moleküler olarak tür teşhislerinin yapılmasında, SOI geni güvenirligi yüksek moleküler belirteç olarak tanımlanmaktadır. Ancak yapılacak çalışmalarda hatayı en aza indirmek adına SOI barkod genine destekleyici olarak mitokondriyal diğer genler ya da nüklear genler kullanılmaktadır.

SOI geninin mitokondriyal bir gen olması ve maternal olarak aktarılması hibridizasyona sebep olabilmektedir. Bu durumda maternal tür ile aynı tanımlama yapılabilmektedir. Tür teşhislerinde türler, hibritleşen tür ise bilinen türün nüklear DNA allellerinin de analizi gerekmektedir. Teşhisi yapılacak birey hibrid ise barkodlama ile maternal tür, nüklear DNA dizisi ile de paternal tür ortaya çıkarılmaktadır (Keskin ve Atar, 2013).

### **3.2.3. 16S rRNA gen bölgesi**

16S rRNA geni mitokondriyal genomda bulunmaktadır. Moleküler tür teşhisi çalışmalarında, filogenetik ilişkinin belirlenmesinde ve özellikle bakteriyel tanımlama çalışmalarında kullanılmaktadır. RNA'nın alt birimidir ve 1540 nükleotidden oluşmaktadır. Bu bölgeler tür için spesifiktir ve çok sayıda korunmuş bölge içerdiğinden tüm türlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (Brown-Elliott vd., 2006). Korunmuş bölgeler daha yavaş evrimleştikleri için taksonomik çalışmalarda karşılaştırmaların yapılmasını sağlamaktadır. 16S rRNA gen bölgesine ait dizi bilgileri gen bankalarında kayıt altına alınmakta ve çalışmalarda bu verilere rahatlıkla ulaşılmaktadır (Tindall vd., 2010).

16S rRNA gen dizisinde, diğer organizmalardan %3'den fazla farklılık gösteren bir tür yeni olabilir. Ancak yapılan bazı çalışmalarda 16S baz dizileri çok benzer olduğu halde organizmaların tamamen farklı bir genoma sahip olduğu görülmüştür. Bu yüzden %97'den fazla dizi benzerliği görülen durumlarda genomik hibridizasyon yeni türlerin tanımlanması için önemli bir yöntemdir (Goodfellow ve Fiedler, 2010). Bu yöntemde, korunmuş bölgelerden yapılan PZR ile çoğaltılan bölge içindeki korunmamış bölgeleri kullanarak filogenetik olarak tanımlama yapılabilmektedir (Sachse ve Frey, 2003).

Son zamanlarda literatürde 16S rRNA gen bölgesi birçok organizmada ve özellikle de bakteriyel tanı koymada sıklıkla kullanılmaktadır(Chen vd., 2009). Bazı canlı grupları için de SOI den, daha yüksek güvenilirliğe sahiptir.

Bu gen bölgesi yüksek miktarda korunmuşluğa sahip olduğundan bazı reaksiyonlarda herhangi bir nedenle bulunan kalıntı DNA'nın dizisi çoğaltılmış olabilmektedir (Mishra vd., 2006). Bu kalıntı DNA'nın kaynağı genellikle bakteriden izole edilen *Taq* polimeraz enzimidir (Reesink, 2008). DNA barkod çalışmalarında tür teşhisleri yapılırken en az iki gen bölgesi ile çalışılması sonucun doğru ve güvenilir olması adına önemlidir.

SOI geni ve 16s rRNA geni ile yapılan çalışmalar sonucu elde edilen veriler NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank ve BOLD (Barcode of Life Data Systems) gibi veri tabanlarına yüklenerek değerlendirilmektedir.

Türkiye'de bulunan ve morfolojik karakterlere göre tür teşhisi yapılmış olan bazı otbiçen türlerinin SOI gen bölgesi ve 16s rRNA gen bölgesi kullanılarak sekans verilerinin elde edilmesi amacı ile bu doktora tez çalışması yapılmıştır. Bu araştırmada, teşhisleri morfolojik karakterlere göre yapılmış türlerin tanımlamalarında sekans veri bankası NCBI kullanılmıştır.



## 4. MATERYAL ve YÖNTEM

### 4.1. Materyal

#### 4.1.1. Otbiçen türlerinin hazırlanması

Ülkemizin farklı yaşam alanlarından, farklı zaman periyotlarında Doç. Dr. Ersen Aydın YAĞMUR ve Doç. Dr. Kemal KURT tarafından yakalanan otbiçen türlerinin SOI ve 16S rRNA gen bölgelerine göre moleküler özelliklerinin belirlenebilmesi için 3 familya mensubu 17 türe ait morfolojik olarak tanımlanmış 127 bireyin moleküler analizleri yapıldı. Çalışılan türlere ait örnek sayıları ve lokalite bilgileri Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışılan türlere ait örnek sayıları ve yer bilgileri

Örnek Adı	Örnek Sayısı	Lokalite bilgileri
<b>Nemastomatidae</b>		
<i>Giljarovia tenebricosa</i>	5	Trabzon, Maçka, Pilav Dağı, 1030 m, 21.07.2013
<i>Histicostoma caucasicum</i>	7	Trabzon, Maçka, Çaltape şehitliği, 1497 m, 13.09.2013
<i>Mitostoma gracile</i>	5	Trabzon, Maçka, Hamsiköy, Mezralar, 1428 m, 20.07.2013
<i>Vestiferum alatum</i>	3	Trabzon, Maçka, Pilav Dağı, 1030 m, 13.09.2013
<i>Pyza taurica</i>	2	Kahramanmaraş, Armut Dağı, 2410 m, 05.07.2012
<b>Phalangiidae</b>		
<i>Egaenus turcicus</i>	2	Kütahya, Türkmen Dağı, 1800 m, 16.05.2013
<i>Rilaena anatolica</i>	2	Sinop, Erfelek, 31.05.2016
<i>Mitopus morio</i>	20	Trabzon, Maçka, Derebaşı köyü yaylası, 1866 m, 15.08.2013
<i>Odiellus lendlii</i>	8	Afyon, Sandıklı, Kumalar Dağı, 2100 m, 18.09.2013
<i>Odiellus zecariensis</i>	7	Trabzon, Maçka, Pilav Dağı, 950 m, 13.09.2013
<i>Opilio hemseni</i>	5	Trabzon, Maçka, Orman içi köyü, 1045 m, 13.09.2013
<i>Opilio insulae</i>	4	İzmir, Buca, Kaynaklar köyü, 28.05.2010
<i>Opilio parietinus</i>	7	Trabzon, Maçka, Dikkaya köyü, 1045 m, 17.08.2013
<i>Phalangium punctipes</i>	10	Şanlıurfa, Birecik, Arat dağı, 14.03.2013
<i>Phalangium opilio</i>	10	Trabzon, Maçka, Yüzüncüyıl köyü, 900 m, 17.08.2013
<i>Zachaeus crista</i>	10	Trabzon, Maçka, Zigana Dağı, 1723 m, 20.07.2013
<b>Sclerosomatidae</b>		
<i>Nelima pontica</i>	20	Trabzon, Maçka, Güzel yayla köyü, 1497 m, 13.09.2013

## 4.2. Yöntem

### 4.2.1. Morfolojik çalışma

Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan otbiçenler, %70'lik etil alkolde muhafaza edildi. Otbiçen örneklerinin morfolojik teşhis çalışmaları, Doç. Dr. Kemal KURT tarafından Leica EZ4 stereo mikroskobu altında, literatür yardımı ile yapıldı.

### 4.2.2. Moleküler çalışmalar

Moleküler çalışmalarda, otbiçenlerden DNA izolasyonu ve PZR çalışmaları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında ve Atlas Biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünlerinin sekanslama işlemi ise Atlas Biyoteknoloji Laboratuvarında hizmet alımı ile yapıldı.

**Tablo 4.2.** Laboratuvar çalışmasında kullanılan cihazlar

---

#### **Laboratuvar Çalışmasında Kullanılan Cihazlar**

---

PZR cihazı (Proflex PCR System)

Yatay elektroforez sistemi (Biocomdirect)

Dondurucu (SEG)

Jel görüntüleme sistemi (Gene Direx)

Güç kaynağı (Model 4001 P)

Santrifüj (mrc)

Otomatik pipetler (A.B.T. Laboratory Industry, eppendorf, research plus)

Hassas terazi (BEL engineering)

İnkübatör (Benchmark)

Mikrodalga fırın (Arçelik, İntellowave)

Santrifüj (Hettich Mikro 120)

Florometrik ölçüm (Qubit, İnvitrogen)

---

#### **Kullanılan kimyasallar**

- **DNA izolasyonu**
- TL buffer, Proteinaz K, TB buffer, BW buffer, TW buffer, AE buffer (Gene All).

- **PZR işleminde belirtilen primerler kullanılarak çoğaltım gerçekleştirildi.**
- Primerler; LCO1490 (Sentegen), HCOoutout (Sentegen), HCO2198(Sentegen), LCO1490JJ2 (Sentegen), HCO2198JJ2 (Sentegen), COIJJ2 (Sentegen), 16Sa (Sentegen), 16Sb (Sentegen), Taq polimeraz (Gene Direx), MgCl<sub>2</sub> (Fermentas), dNTP (Gene All), DNA Ladder (Vivantis), Master mix (Wizbiosolutions).
- **Jel elektrofoezi**
- Agoroz (Nzytech), TBE (Nzytech), GelRed (Biotium), DNA Loading Dye (Geneaid).

Moleküler çalışmada, morfolojik teşhisi yapılmış ve %70'lik alkol içerisinde bulunan otbiçenlerin, mitokondriyal DNA'daki SOI ve 16S rRNA gen bölgesi kullanıldı. Bu amaçla Lizis, DNA izolasyonu, PZR, jele yükleme ve elektroforez aşamaları takip edildi. Lizis ve DNA izolasyonu Gene All Exgene Tissue kit protokolüne dayanarak yürütüldü.

#### **4.2.2.1. Lizis**

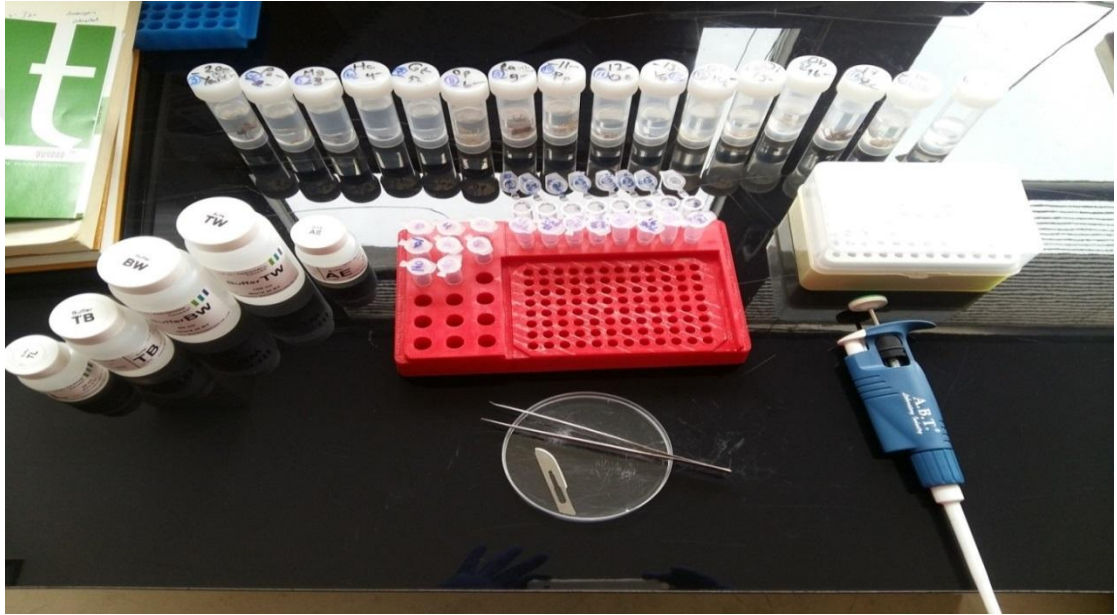
Otbiçen örneklerinden bacaklar (mitokondri, bacaklardaki kaslarda daha çok bulunduğundan) veya 1-2 mm den küçük olan bireylerde vücudun tamamı petriye alındı. Daha sonra üzerine 200 µl TL buffer eklendi. Örnekler bistüri yardımı ile parçalanarak eppendorflara alındı. Her bir eppendorfun üzerine 20 µl proteinaz K eklenerek vortex uygulanıp 56 °C de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

#### **4.2.2.2. DNA izolasyonu**

Dokudan genomik DNA, kit protokolüne göre izole edilirken, her bir örnek için;

- Lizis işlemindeki inkübasyondan sonra bu eppendorfların üzerine 400 µl TB buffer eklenerek vortekslendi.
- Karışım SV kolona aktararak 10000 rpm'de 1 dakika satrifüj edildi ve tüp yenisiyle değiştirildi.
- 600 µl BW buffer eklenip 10000 rpm'de 30 sn santrifüj edildi ve tüp yenisiyle değiştirildi.

- 700 µl TW buffer eklenerek 10000 rpm’de 30 sn santrifüj edildi.
- Tüpler boşaltılarak 10000 rpm’de 30 sn santrifüj edildi.
- Collection tüpler boşaltıldı ve kolon 1,5’luk eppendorfa aktarıldı.
- 200 µl AE buffer kademeli olarak eklendi. İlk olarak 100 µl AE buffer eklendi ve 16000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildi. Ardından yine 100 µl AE buffer eklenerek santrifüj tekrarlandı.
- Spin kolon atılarak eppendorfdaki DNA örneği alındı.
- İzole edilen DNA’lar -20 °C de muhafaza edildi.



Şekil 4.1. Lizis ve DNA izolasyonunda kullanılan malzemeler

#### 4.2.2.3. Spektrofotometrik analiz

Otbiçenlerden izole edilen DNA’ların konsatrasyonları, Qubit fluorometer ile direkt olarak ölçüldü. Ölçüm işlemi;

- Assay tüplerini standartlar (2 adet) için ve her örnek kullanıcı için 1 tüp ayarlandı,
- Qubit materyal 1-200’ü Qubit buffer’ında seyreltilerek Qubit çalışma çözeltisi hazırlandı. Her standart ve örnek için 200 µL çalışma çözeltisi hazırlandı.

Assay tüpleri aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

**Tablo 4.3.** Spekrtofotometrik analizde kullanılan reaktifler

	<b>Standart</b> Assay Tüpleri	<b>DNA Örneği</b> Assay Tüpleri
<b>Çalışma solüsyon</b> hacmi (2. adımdan)	190 µL	180–199 µL
<b>Standart</b> hacmi (kitten)	10 µL	—
<b>DNA Örneği</b>	—	1–20 µL
Her Assay Tüpündeki Toplam Hacim	200 µL	200 µL

- Tüm tüpler 2-3 saniye vortekslendi.
- Tüpler oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
- Tüpler Qubit 2.0 Fluorometer'e yerleştirildi ve okumaları alındı.



**Şekil 4.2.** DNA konsantrasyon ölçümünde kullanılan cihaz

#### 4.2.2.4. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) işlemleri

PZR, hedef DNA bölgesinin, uygun primerler kullanılarak uygun reaksiyon şartlarında çoğaltılması esasına dayanır. Bu işlemin başarılı olabilmesi için DNA saf olarak elde edildi. Elde edilen PZR ürünleri jel elektroforezinde DNA'ların görüntülenmesinde ve dizi analizi (sekanslama) çalışmalarında kullanıldı.

PZR, temel olarak üç aşamada gerçekleştirildi.

Ayrılma (denatürasyon); DNA'nın çift zincirli yapısı yüksek ısı etkisiyle birbirinden ayrıldı. Bu aşama 95°C de 5 dakikada gerçekleşti.

Bağlanma (annealing); Uygun şartlar altında DNA'ya primerler bağlandı. Bağlanma SOI gen bölgesi için 49°C ve 16S rRNA gen bölgesi için de 50°C de 30 saniye de gerçekleşti. Yapılan çalışmada bağlanma aşaması 40 döngüden oluştu.

Uzama (elongasyon); Primerlerin bağlanması ile primerlerden itibaren zincirin uzatılması aşamasında, DNA polimeraz enzimi kullanıldı. Bu işlem 72°C de 5 dakikada gerçekleşti.

Yapılan PZR çalışmasında, SOI gen bölgesi için LCO1490, HCOoutout, HCO2198, LCO1490JJ2, HCO2198JJ2, COIJJ2 primerleri, 16S rRNA gen bölgesi için ise 16Sa ve 16Sb primerleri kullanıldı (Tablo 4.4).



Şekil 4.3. PZR cihazı

**Tablo 4.4.** SOI ve 16S rRNA genlerinin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri

Gen	Primer	Primer Dizileri	Kaynak
SOI	LCO1490 (ileri)	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	Folmer vd., 1994
	HCO2198 (geri)	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	
	HCOoutout (geri)	5'-GTAAATATATGRTGDGCTC- 3'	Prendini vd., 2005
	LCO1490JJ2 (ileri)	5'-CHACWAAAYCAYAARGAYATYGG -3'	Astrin vd., 2016
	HCO2198JJ 2 (geri)	5'-ANACTTCNGGRTGNCCAAARAATCA -3'	Astrin vd., 2016
	COIJJ2 (geri)	5'-CTTCCGGATGGCCAAAGAATCA -3'	Modifiye primer
	16Sa	5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'	Xiong ve Kocher, 1991
16S rRNA	16Sb	5'-CTCCGGTTTGAAGTCAGATCA-3'	Edgecombe vd., 2000

**Tablo 4.5.** PZR reaksiyon içeriği

sdH <sub>2</sub> O	7 µl
Mastermix (2x) [10X Tampon, 2,5 mM dNTP, 25 mM MgCl <sub>2</sub> , Taq polimeraz]	8 µl
İleri Primer (F)	1 µl
Geri Primer (R)	1 µl
Genomik DNA	3 µl
<b>Toplam</b>	<b>20 µl</b>

**Tablo 4.6.** PZR ısııl işlem döngüleri

Ayrılma	95°C	5 dk	
Bağlanma	95°C	30 sn	<b>40 Döngü (40X)</b>
Bağlanma	49°C-50°C	30 sn	
Bağlanma	72°C	30 sn	
Uzama	72°C	5 dk	
Ayrılma	95°C	5 dk	

#### 4.2.2.5. Agoroz jel elektroforezi

Otbiçen örneklerinden elde edilerek polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan DNA'lar %1'lik agoroz jelde yürütüldü. Jel, 0,6 gr agoroz ve 60 ml 1X TBE (Tris-Borate-EDTA) ile 3µl GelRed kullanılarak hazırlandı. Agoroz jelin hazırlanmasında; 0,6 gr agoroz tartılarak erlene alındı. Üzerine 60 ml 1X TBE eklenerek mikrodalga fırında çözünmesi sağlandı. 3 µl Gel-Red eklenip homojen dağılımı sağlandıktan sonra jel tabağına döküldü. Jel, yarım saat bekletilerek polimerize olması sağlandı ve içerisinde 1X TBE tamponu olan tanka alındı. PZR ürünlerine, 1'er µl yükleme tamponu (DNA Loading) eklendi. Jeldeki kuyucuklardan birincisine 5 µl markır (DNA Ladder, NL 1404, 100 bp) ve diğerlerine 6 µl PZR ürünü konularak 110 voltta 40 dakika elektrik akımına maruz bırakılarak yürütüldü. Daha sonra ultraviyole ışık altında DNA'lar görüntülendi. Elde edilen bantlar jelden kesildi ve GelSV ile ürün saflaştırıldı. Saflaştırma protokolü;

- Jel görüntüleme cihazı altında istenilen bantlar alkolle temizlenmiş blade ile kesildi.
- Kesilen jel parçası mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
- Hassas terazi de tartılarak (100 mg ise 300 µl (3 volume) üzerine GB buffer eklendi.
- 56°C'de 5-10 dk inkübe edildi. Jel parçasının tamamen erimesi sağlandı. Ve pipetaj yapılarak homojen dağılması sağlandı.
- 100µl isopropanol eklenip pipetaj yapıldı ve karışım SV kolona aktarıldı. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Collection tüp değiştirildi.



- Üzerine 700 µl NW Buffer eklendi. 13000 rpm’de 30 saniye santrifüj edildi ve collection tüp değiştirildi.
- Herhangi bir wash buffer kalma ihtimaline karşı 1 dk santrifüj yapıldı.
- Kolon temiz ve etiketli 1.5 ml lik ependorfa aktarıldı.
- Üzerine 50µl EB buffer kademeli olarak eklendi. 13000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Temiz PZR ürünleri -20°C’de saklandı.



**Şekil 4.4.** Ultra viyole jel görüntüleme sistemi

#### **4.2.2.6. Sekans işlemleri**

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan DNA örneklerinin dizi analizi yapıldı. Dizi analizleri Atlas Biyoteknoloji isimli firmadan hizmet alımı şeklinde yapıldı. Bu işlemde ‘Sanger-Coulson Zincir Sonlanma’ dizileme metodu kullanıldı.

#### **4.2.2.7. Filogenetik analizler**

Sanger-Coulson metodu ile nükleotid dizileri belirlenen DNA’ların kromotogramlar şeklinde görüntülenmesinde Finch TV 1.4 programı kullanıldı. Sekanslar Codon Code Aligner V.8.0:2 programı ile analiz edildi. Çift yönlü olarak dizilenen bilgiler Fasta formatında kaydedildi. Mega 7.0.26 (Molecular Evolutionary Genetics Analizis) programında NJ (Neighbor joining) ile filogenetik ağaçlar oluşturuldu ve genetik mesafe belirlendi. Haplotipler için median joining Network analizi yapıldı.

## 5. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 5.1. Arazi Çalışmaları ve Moleküler Veriler

Arazi çalışmalarında, araştırmacılar Doç. Dr. Ersen YAĞMUR AYDIN ve Doç. Dr. Kemal KURT tarafından 2010-2016 yılları arasında 7 ilde yapılan örneklemelemlerde 17 otbiçen türene ait 127 birey çeşitli yöntemlerle toplanarak %70'lik etil alkol içerisinde saklandı. Moleküler olarak çalışmaları gerçekleştirildi. Çalışılan türlerin özellikleri, genel görüntüleriyle birlikte verildi.

#### 5.1.1. Familya: Nemastomatidae (Simon, 1872)

Vücut uzunluğu 1,2-5,6 mm'dir. Vücut basık ve güçlü kemer şekillidir. Koku bezleri serbestçe görülmez. Pedipalplerde tarsal tırnak bulunmaz. Erkek genital organ olan penis, uzun ve gövde ampul şeklindedir.

*Giljarovia tenebricosa*, *Histicostoma caucasicum*, *Mitostoma gracile*, *Pyza taurica* ve *Vestiferum alatum* türlerine ait bireyler çalışıldı.

#### 5.1.1.1. Cins: *Giljarovia* Kratochvíl ve Miller, 1958

#### *Giljarovia tenebricosa* (Redikorzev, 1936)

#### Morfolojik özellikler

Vücut dikdörtgen şekilli, dorsali enine dizilmiş küt tüberküllerle kaplı ve genel görünüm kahverengi-siyah renklidir. Keliserler, pedipalpler ve bacaklar vücut rengine benzeyen renklenme gösterir. Keliserin bazal boğumu uzun apofizlidir. Bacaklar kısa, iğ şekilli ve parçaları kıllarla kaplıdır. Gözler arasındaki kanallar üzerinde çapa şekilli tüberküller yer alır. Penis gövdesi dar ve bazal kısım dik açıyla bükülmüştür. Glans üzerinde ise ince kıllar yer alır. Dişi bireylerde vücut daha uzun ve keliserlerin bazal boğumunda apofiz ve tüberkül bulunmaz.

Örnekler ormanlık alanlarda, taş ve kabuk altlarından toplanmıştır.

Dünyada Abhazya, Azerbaycan, Gürcistan ve Türkiye’de yayılış gösterir (Redikorzev, 1936; Roewer, 1951; Mkheidze, 1964; Snegovaya ve Chemeris, 2005; Martens, 2006). Türkiye’de ise Artvin, Rize, Gümüşhane ve Trabzon’da kaydedilmiştir (Kurt, 2015).



Şekil 5.1. *Giljarovia tenebricosa* türünün üstten görüntüsü

### **Moleküler özellikler**

#### **SOI gen bölgesi:**

*Giljarovia tenebricosa* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097803’dür.

```
TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTATAAAGT
AATCGTAACAGCACATGCTTTTGTAAATAATTTTTTTTATGGTTATGCCTATTA
TAATTGGGGGGTTTGGAAACTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGAGCTCCAGA
TATAGCTTTTCCTCGTCTAAATAATATAAGATTTTGAATCCTGCCCCCTTCTT
```

TTTTTTTACTTTTAACTTCTACAATAGTAGAAAAAGGAGCAGGAACAGGATG  
AACAGTTTACCCCCCTTTATCTAGAACTTAGCTCATCCAGGAGCTTCTGTA  
GATTTAACTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGAGTTTCCTCTATTTTAGGAGC  
AATTAATTTTATTACCACAATTATTAATATACGAACTCAAGGAATAATTTTT  
GAACGAATACC

#### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Giljarovia tenebricosa* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209230'dur.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTTTCTTAATTAGAAGCTGGAATGAAAG  
GTTTAATAAAGGATATTTTTATAGAGAAATATAATTGAAGTTAATTTAATA  
TAAAAAGTATTAATATTTTTATGGGACGATAAGACCCTATTAAGCTTGATA  
TTAACTTAATAACTTAAAAGATAAGTTAGGAGAAAATATTGTACTGGGGCG  
GTAGAATTATAAAAGAAGGAGAAAATTAGAGCCAATAATATTGCTAAATAG  
AAAAAGTTACTATAGGGATAACAGCATAATTTCTTTTAAGAGATCTTATCAA  
TAAAAAGTTTATGACCTCGATGTTGAATT

#### **5.1.1.2. Cins: *Histicostoma* Kratochvíl, 1958**

##### ***Histicostoma caucasicum* (Redikorzev, 1936)**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut dörtgen şekilli ve kahverengi- siyah renktedir. Vücudun dorsali küt tüberküllü ve prozoma da yuvarlak hilal şeklinde gümüş noktalar vardır. Opistozoma da dört çift çomak şekilli diken bulunur. Erkeklerde pedipalpin patellasında tırnak yer alır.

Dişilerde vücut daha uzun ve geniştir ayrıca pedipalpin patellasında tırnak bulunmaz.

Örnekler ormanlık alanlardan, taş ve kabuk altlarından toplanmıştır.

Dünyada Azerbaycan, Ermenistan, Gürcistan ve Türkiye’de yayılış gösterir (Redikorzev, 1936; Roewer, 1951; Mcheidze, 1964; Staręga, 1966, 1978; Snegovaya ve Chemeris, 2005; Martens, 2006). Türkiye’de ise Artvin, Ordu, Rize, Gümüşhane ve Trabzon’dan kaydedilmiştir (Kurt, 2013).



Şekil 5.2. *Histricostoma caucasicum* türünün üstten görünüşü

### Moleküler özellikler

#### SOI gen bölgesi:

*Histricostoma caucasicum* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097810’dur.

```
TTTACAATGTTATTGTAACAGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTCTTTATAGTT  
ATACCTATTATAAATTGGAGGGTTTGGAAATTGACTTGTCCTTTAATATTAG  
GAGCACCAGATATAGCATTTCACGTCTTAATAATATAAGATTTTGACTCTT  
ACCTCCTGCAATTATATTACTTTCAAGTTCAGCAATGGTTGAAAGAGGAGCA
```

GGAAGTGGATGAACAGTATATCCTCCCTTATCAAGAAATTTAGCTCACCCCTG  
GAGCTTCCGTTGATTTAACAATCTTTTCCCTACACTTAGCAGGTGTTTCATCT  
ATTTTAGGAGCAATTAATTTTATTACTACAATTATTAATATACGATCTAAAG  
GAATAATTATAGAACGAATTCCCTTATTTGTTTGATCAGTAGGAATTACTGC  
ACTTTTATTACTTTTATCTTTACCTGTTCTTGCAGGAGCAATTACTATACTCT  
T

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Histicostoma caucasicum* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209231'dur.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTTTCTTCATTAGAACTGGAATGAAGG  
GTTTAATGAAAAGTATCTTTATTAATATAATAAATTGAATTTAATCTTAGAA  
TAAAAAAGTTCTAATGGAGTTGTGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTAT  
AATAAATTAAGAAGAAAAGAATTATTCTTATTAAAATATTTTACTGGGGTG  
GTAAAAAATTATATAAATGAGAATTTGATCCATTAATTATGACAATTAGAT  
AAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCTTTTTAAGAGATCTTATCAATG  
AAAGAGATTATGACCTCGATGTTGAATT

### **5.1.1.3. Cins: *Mitostoma* Roewer, 1951**

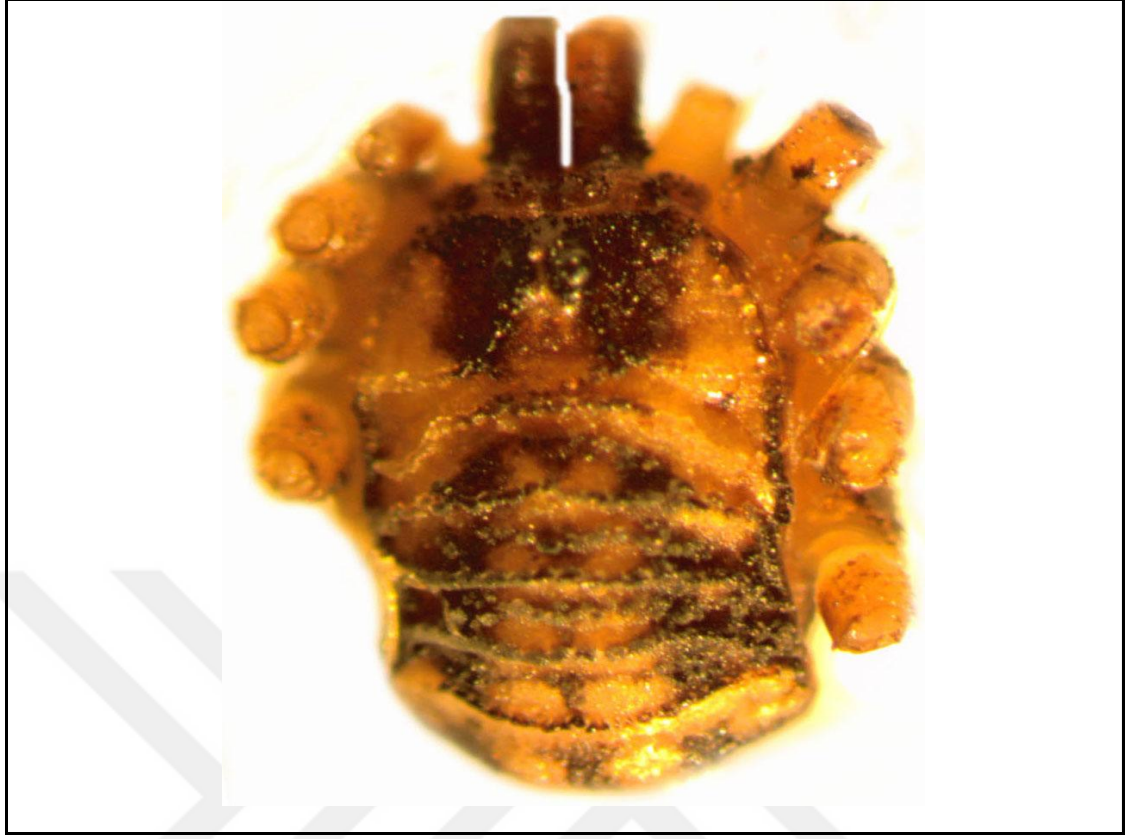
#### ***Mitostoma gracile* (Redikorzev, 1936)**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut arkaya doğru genişleyen dikdörtgen şekillidir. Vücut dorsali sarı renkte ve siyah noktalıdır. Bacaklar ise uzun, ince iplik şeklindedir. Penis gövdesi kısa, bazal kısım torba şeklindedir, glans külah şeklinde ve üzeri dikenlidir. Dişilerde vücut daha uzun ve geniştir.

Örnekler ormanlık alanlarda, taş altlarından toplanmıştır.

Dünyada Azerbaycan, Bulgaristan, Gürcistan, Rusya ve Türkiye'de yayılış göstermektedir. Türkiye'de ise Rize, Ordu ve Kastamonu'da kaydedilmiştir (Kurt, 2013).



**Şekil 5.3.** *Mitostoma gracile* türünün üstten görünüşü

#### **Moleküler özellikler**

#### **SOI gen bölgesi:**

*Mitostoma gracile* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097807'dir.

```
TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTACAAAGT
AATCGTAATGACTCATGCTTTTGTATAAATTTTTTTTATGGTTATACCTATCA
AAATTGGTGGGTTTGGAACTGACTTGTTCCCCTAATATTAGGAGCCCCTGA
TATAGCTTTTCCTCGTCTTAATAATATAAGATTTTGGTTATTACCCCCCTCTT
TTCTTTTACTTTTAACTTCTACTTTAGTAAAAAAGGAGCAGGAACAGGGTG
AACAGTTTACCCCCCTTTATCAAGAAATTTAGCTCATCCAGGGGCTTCTGTT
GATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAGTTTCCTCTATTTTAGGAGC
CATTAATTTTATTACTACTATTATTAATATACGAACTCAAGGAATAATTTTTG
AACGAATACC
```

### 16S rRNA gen bölgesi:

*Mitostoma gracile* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN213727'dir.

TCGCCTGTTTTATCAAAAACATCGCTTTAAGAGGAGGATTTAAGGTAGGACC  
TGCCCCCTGGCTTTAAGCTAAAGGGTCGCAGTATACTGACTGTGCAAAGGT  
AGCATAATCATTGTTTCTTGATTAGGAACTGGAATGAAAGGTTTGATTGAG  
AATGGCTTTATTAAGGAAAAGAGTTGAAATTAGCGTTGAGATAAAAAGCTT  
TCAATATATTTGTGGGACGATAAGACCCTATTAAGCTTTACTCAAAAAGTAG  
AGAAAGGAGACTTGTTTTCTGCTATAAAGAGTTTTACTGGGGCGGTAGCTT  
AAAATAAGATTAGTAAGAAATTATTAAGAGCCATCATTGGTGAAAATAAG  
ATAAAGTTACTGTAGGGATAACAGCATAATATTTCTAGGAGCACTAATCTG  
AGAGAAGGTTTATGACCTCGATGTTGAATTAATATATC

#### 5.1.1.4. Cins: *Pyza* Starega 1976

*Pyza taurica* (Gruber, 1979)

#### Morfolojik özellikler

Vücut oval şekilli ve dorsali dört çift siyah tüberküle kaplıdır. Keliserin distal segmenti hafif dış bükey ve uç kısmı mantar şeklindedir. Pedipalpler, uzamış, narin yapılı ve rozet şekilli kıllarla kaplıdır. Bacaklar küçük diken ve kıllarla kaplıdır. Glans penisin tabanı yaprak şeklinde ve dikenlerle kaplıdır. Stilus boru şeklindedir.

Örnekler ormanlık alanlardan, taş ve ağaç kabuklarının altlarından toplanmıştır.

Sadece Türkiye'de yayılış göstermektedir (Gruber, 1979, Bayram vd., 2010; Kurt vd., 2010). Antalya, Burdur, Isparta, Mersin, Niğde ve Kahramanmaraş'dan kaydedilmiştir (Kurt ve Yağmur, 2017).





**Şekil 5.4.** *Pyza taurica* türünün üstten görünüşü

#### **Moleküler özellikler**

#### **SOI gen bölgesi:**

*Pyza taurica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097805'dir.

```
TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTATAACGTA
ATTGTAACCGCTCATGCTTTTGTGATAATTTTTTTTATAGTTATACCCATCAT
AATTGGAGGTTTTGGAAATTGATTAGTACCTTTAATATTAGGTGCCCCAGAT
ATAGCTTTTCCACGATTAAATAATATAAGATTTTGATTATTACCCCCTTCATT
TCTTTTACTTTTATCTTCAACAATAGTAGAAAATGGAGCAGGAACAGGATGA
ACAGTTTACCCCCTTTATCAAGAAATATTGCGCATAACAGGGGCTTCTGTAG
ATTTAACTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGAGTTTCCTCTATTTTAGGAGCC
ATTAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAACACAAGGAATAATTTTTG
AACGAATACC
```

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Pyza taurica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209236'dir.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTTTCTTAATTAGGAACTGGAATGAAGG  
GTTTAATAAAGAGTAATTTTATTAAGAAAGAAAATTGAAATTAATTTTAGA  
ATAAAAAAGTTCTAATGCCCCTGTAGGACGATAAGACCCTATTAACCTTTAT  
ATTAWCTTAGGTACTTTAACAAAAGTTCTAGAAGAAAATATTTTACTGGGG  
TGGTAAATGAATAAAGGAGGAGAAGAAAATTAAGATCCATATTAATGATAA  
ACAGAAAAAGTTACTATAGGGATAACAGCATAATTTTTTTTAAAGAGTTCTTA  
TCAATGAAGAAGATTATGACCTCGATGTTGAATT

### **5.1.1.5. Cins: *Vestiferum* Martens, 2006**

#### ***Vestiferum alatatum* Martens, 2006**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut, dikdörtgen şeklinde ve dorsali ince kum taneleri ile kaplıdır. Bacaklarda birinci femur kalınlaşmış, diğer bacakların femur kısmı normal yapılı ve yalancı segmentleşme görülmez. Keliserler, tıknaz yapılı, erkeklerde distal segmentin uç kısmı genişlemiş mantar şekilli apofizli yapıdadır. Keliser üyeleri ve pedipalpler kıllarla kaplıdır. Penis gövdesi dar, tabanı ise ortadan ikiye ayrılmış torba şeklindedir.

Örnekler ormanlık alanlardan, taş altlarından, çamur ve toprak içerisinde toplanmıştır.

Dünyada Gürcistan ve Türkiye'de yayılış göstermektedir (Martens, 2006). Türkiye'de Artvin ve Trabzon'dan kaydedilmiştir.



Şekil 5.5. *Vestiferum alatum* türünün üstten görüşü

#### Moleküler özellikler

##### 16S rRNA gen bölgesi:

*Vestiferum alatum* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209267'dir.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTTGTTTTTTAATTGAAAACCTGGAATGAAAG  
GTTTAATAAAAAAATATTTATTGTATCTAAAGTTTGAAATTTATGGAAGRA  
TAAAAAAGTTCTTATAAATCTAGGGGACGATAAGACCCTATTAAGCTTTAA  
ATAAATTTAAGAGGTTAACAAAAAGTTTAGAATATTATATTTTACTGGGGTG  
GTAAATGAAATTTATATAAAAAAATTAGATCCATTATTAATGACAAATAG  
ATTAAGTTACTATAGGGATAACAGCATAATTCTTTTTAAGAGTTCTTATCAA  
TGAAAGAGATTATGACCTCGATGTTGAATT
```

### 5.1.2. Familia: Phalangiidae (Latreille, 1802)

Vücut uzunluğu 2,2-12 mm arasında değişmekle birlikte birçoğu 5 mm civarındadır. Gözler genellikle yüksek bir çıkıntı üzerine yerleşmiş ve dorsali çok sayıda tüberküllerle kaplıdır. Bazı türlerde prozomanın ön kenarında trident (üçlü diş şeklindeki çıkıntı) olarak isimlendirilen üç belirgin tüberkülden oluşmuş yapılar bulunur. Koku açıklıkları belirgin olup birinci çift bacakların taban kısmına yerleşmiştir. Vücudun ventralinde, bacakların koksalar kısmında sıra halinde diş gibi çıkıntılar bulunmaz, bacak koksaları düz ve sadece kıllarla kaplıdır. Genital kapak ve karın sternitleri daima seyrek kıllarla kaplıdır. Erkek bireylerde distal segment aşırı genişlemiştir. Pedipalplerde tarsal tırnak düz, nadiren tarak şekillidir. Bacaklar, silindirik şekilli, üzeri kıllar ve dikenlerle kaplıdır. Penis mızrak şekillidir.

*Egeanus turcicus*, *Mitopus morio*, *Odiellus lendli*, *Odiellus zecariensis*, *Opilio hemseni*, *Opilio parietinus*, *Phalangium punctipes*, *Phalangium opilio* ve *Rilaena anatolica* türlerine ait bireyler çalışıldı.

#### 5.1.2.1. Cins: *Egaenus* C.L.Koch 1839

*Egaenus turcicus* Snegovaya ve Marusik, 2012

#### Morfolojik özellikler

Tüm vücut ince dikenlerle ve göz çıkıntısının önü küçük granüllerle kaplıdır. Göz çıkıntısının arkasından vücudun sonuna doğru uzanan merkezi bir beyaz bant bulunur. Bacaklar kısa, birinci ve üçüncü bacak femurları hafifçe kalınlaşmıştır. Pedipalp, femurun uç kısmına doğru genişlemiş ve ventrali tüberküllerle kaplıdır. Keliserler, oldukça genişlemiş, bazal segmentin dorsali ve ventrali büyük dikenlerle kaplıdır. Penis gövdesi tabanda oldukça geniş, glans penis muz şeklindedir.

Örnekler ormanlık alanlarda ve açık arazilerde, otlar arasından toplanmıştır.

Sadece Türkiye’de yayılış göstermektedir (Snegovaya ve Marusik, 2012). Bursa ve Kütahya’da kaydedilmiştir (Kurt ve Yağmur, 2017).



**Şekil 5.6.** *Egaenus turcicus* türünün üstten görünüşü

#### **Moleküler özellikler**

#### **SOI gen bölgesi:**

*Egaenus turcicus* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MK947100'dür.

```
CCCACAAATCCACAAGGACATCGGGACTTCTCTACTATCACTTCTTTGGAAT  
ATGAGCAGCTATAGTAGGATCCGCCCTAAGAATTTTAATCCGGACAGAATT  
AGGGCAACCAGGATCACTAATAAATGATGACCAGATTTACAATGTAATTGT  
AACTGCCCATGCCTTTGTAATAATTTTCTTCATAGTAATACCCATCATGATTG  
GAGGGTTCGGAAATTGATTAGTGCCCTTGATACTTGGTGCACCCGATATAGC  
TTCCCCCGTCTAAATAATATAAGATTCTGATTATTACCCCTTCTTTTCTCC  
TATTACTATCCTCTGCTATGGTCGAAAATGGGGCAGGCACGGGTTGAACCGT  
TTACCCCTTTTATCTAGAAACATTGCCCATACAGGAGCATCCGTTGATCTT  
ACCATCTTTTCACTCCACTTAGCAGGAGTCTCTTCCATTTTAGGGGCAATTA  
ACTTTATTACTACTATTATTAATATACGAACACAAGGAATGATCCTGGAACG  
CATACCATTATTTGTATGATCAGTAAAAATTACAGCTATCCTTCTACTTCTTT
```

CCCTCCCCGTA CTGGCGGGGGCTATCACTATACTCCTTACAGACCGTAATTT  
TAATACCTCATTGTCGACCATGCAGGAGGAGAGACTCCACTACTCCATTCCG  
GCAGGG

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Egaenus turcicus* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209229'dur.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTCTTAAATGGGATCTTGTATGAAAGG  
GTTAACGGGGGGGCATCTTTTTTTAGGGTATAAGTTTAATTTAGAGTTTTTGT  
ATAATACAAAATTAATTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATTT  
TATTAATAATTAATAACTAAATTTAATTTTTGTAAAATTTACTGGGGCG  
GTAGCTTATTAAGTAACTAGGTAATATTTTATTGATCCATTATTGATGAGAAATT  
GATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTAGGGAGTACAAATC  
GAAGAATGAGATTGTGACCTCGATGTTGAATT

### **5.1.2.2. Cins: *Mitopus* Thorell, 1876**

*Mitopus morio* (Fabricius, 1779)

### **Morfolojik özellikler**

Vücudun şekli ve rengi değişkenlik gösterir. Prozomanın ön tarafında trident bulunmaz. Prozoma ve opistozoma'nın dorsali belirgin olmayan tüberküllerle kaplıdır. Keliser normal yapılı ve bazal boğum ventral çıkıntılıdır. Pedipalp üyeleri kıllarla kaplıdır. Glans penis torba şekilli ve taban kısmı parmak şeklinde çıkıntılıdır (Kurt, 2013). Dişilerde vücut daha uzun ve ovaldir.

Örnekler, dağ tepelerinde, açık alanlarda ot ve taş aralarından toplanmıştır.

Dünyada Almanya, Arnavutluk, Avusturya, Belçika, Bosna-Hersek, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Çin, Danimarka, Estonya, Fareo Adaları, Finlandiya, Fransa, Hırvatistan, Himalayalar, Hollanda, İran, İspanya, İsveç, İsviçre, İtalya, İzlanda, Japonya, Kore, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Macaristan, Norveç, Polonya, Romanya, Rusya,

Sibirya, Slovakya, Slovenya, Tibet ve Türkiye’de yayılış göstermektedir (Spoek 1963; Martens 1978; Blick ve Komposch 2004). Türkiye’de Mardin ve Niğde’den kaydedilmiştir (Kurt vd., 2008a, 2010).



Şekil 5.7. *Mitopus morio* türünün üstten görünüşü

### Moleküler özellikler

#### SOI gen bölgesi:

*Mitopus morio* türü için NCBI veri tabanına veriler yüklendi. NCBI erişim numarası MN097808’dir.

```
CCGCTCATGCCTTTGTAATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGA  
GGATTTGGTAATGGATTAGTCCCCTTGATACTAGGGGCTCCTGATATAGCTT  
TTCCACGATTAATAATATAAGTTTTTGGATTATTACCCCCCTCATTTCTACTT  
CTTCTATCTTCCACAATAGTAGAAAATGGAGCCGGAACAGGATGAACTGTA  
TACCCCCCTTTATCAAGAAACATTGCGCATACTGGAGCTTCTGTAGATGTAA  
CAATCTTTTCTTTGCACCTAGCAGGTGTTTCCCTCAATGTTGGGAGCTATGAA  
TTTTATGAATAATATGATGAATATACGAACACAAGGAATAATATTTGAACG  
AATACCTTTATTTGTATGATCAGTAAAAATAACAGCAATGTTACTATTATTA
```

TCTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCAATGACAATACTATTAACAGACCGAAATT  
TTAATAATTCTTTTTTTT

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Mitopus morio* türü için NCBI veri tabanına veriler yüklendi. NCBI erişim numarası MN209232'dir.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTAAATGGAATCTTGTATGAAAGG  
GAAAACGAATAAAAGCTGTCTTTTTAATAAATTTGAATTTAAGTTTCTTGT  
AAAAATTCAAGAATAATATTAGGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATT  
TTAATATTAATTATTACATTATTTATTTAATATTTAAAAATTTTACTGGGGCG  
GTAGCTTAAGAACTAAGTATAAAAATTTAGATCCACTAATAGTGATAATTT  
GATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTAGGGAGTTCAAATCG  
AAAAATGAGATTATGACCTCGATGTTGAATT

### **5.1.2.3. Cins: *Odiellus* Roewer, 1923**

#### ***Odiellus lendlii* (Sorensen, 1894)**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut enli ve yuvarlak, sarımsı renkte ve dorsalde eyer belirgin değildir. Prozoma ve opistozoma kahverengi noktalı ve dorsalde enine satıra dizilmiş çeşitli tüberküller bulunur. Karapaksın ön kısmında ise aynı boyda üç adet trident yer alır. Koku bezleri belirgin ve uzun sivri tüberküller ile çevrilidir. Bacaklar ise kısa ve üzerinde koyu renkli noktalar vardır. Dişilerde vücut daha koyu renklidir (Kurt, 2013).

Örnekler, açık alanlardan, ot ve taş aralarından toplanmıştır.

Dünyada Bulgaristan, Makedonya, Romanya, Rusya, Türkiye ve Ukrayna'da yayılış göstermektedir (Martens, 1978). Türkiye'de Antalya'dan kaydedilmiştir (Çorak, 2010).





Şekil 5.8. *Odiellus lendlii* türünün üstten görünüşü

#### Moleküler özellikler

#### SOI gen bölgesi:

*Odiellus lendlii* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097806'dır.

```
GATCCCCCCCCTCTCKKAGCGTAGGCCAAAAAGGTCTCCMCTCCGGTGGGAM  
MAAGGAAGCAAGTATTAATTACGGTCAGTTAAAAGTATAGTAATTGCGCC  
TGCTAAAACAGGTAGTGATAGTAATAGAAGAATTGCTGTGATTTTTACTGAC  
CAAACGAATAATGGTATACGTTCTATAATTATACCTTGTGTTTCGTATATTGA  
TAATGGTGGTAATAAAATTAATAGCTCCAAGAATAGATGAGATACCTGCTA  
AGTGTAATGAAAAAATTGTTAAATCTACAGAAGCTCCTGTATGAGCAATAT  
TTCTGGATAAGGGGGGGTAAACTGTTTCATCCTGTTTCCTGCCCCGTTTTCTAC  
TATAGTGGAAGAAAGAAGTAGTAGGAATGAAGGGGGTAACAACCAAAAAC  
TTATATTATTTAAACGAGGGAATGCTATATCAGGGGCCCTAATATTAATGG  
TACTAACCAGTTACCAAATCCTCCAATTATGATAGGTATAACTATAAAGAA
```

GATTATTACAAAAGCGTGAGCAGTTACAATTACATTATAAATTTGATCATCA  
TTTATTAGTGAGCCTGGTTGCCCAAGTTCAGTACGATAAAATACTTAAGCTG  
TACCAATTTGCACTCTTACCCTAAGAGTCGATTATTAATTG

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Odiellus lendlii* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN217231'dir.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTAAATGGAACTTGAATGAAAG  
GGTTAACGAGAAATAACTGTCTTTAAGAAAATTTTGAAATTAACCTTTT  
TAAAAATGCAAGAATTATATTAGGGGACGATAAGACCCTATTAAGCTTTAT  
ATTAAATTATAAATTGGTCATAACATATTTAATTTTAAAATTTTACTGGGG  
CGGTAGCTTAATAAACAAAGTAAAAAATATTGATCCATTATGAGTGATAA  
TTTGATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTTGGGAGTTCAAA  
T

### ***Odiellus zecariensis* Mcheidze 1952**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut, toprak renginde ve yuvarlak şekillidir. Dorsalde belirgin bir eyer bulunmaz. Prozoma dağınık, küçük, siyah uçlu dikenlerle kaplı ve karapaksın ön tarafında trident bulunur. Opistozoma, enine satırlar halinde dizilmiş küçük tüberküllerle kaplıdır. Femurun ventrali küçük tüberküllü, dorsali kılı; patella, tibiya ve tarsus kıllarla örtülüdür. Tarsal tırnak düzdür. Bacaklar beşgen şeklinde ve kıllarla kaplıdır. Penis gövdesi tabana doğru giderek daralmış yapıdadır. Dişilerde vücut erkeklere oranla daha uzundur.

Örnekler, açık alanlardan, ot ve taş aralarından toplanmıştır .

Dünyada Abhazya, Acara Özerk Cumhuriyeti, Gürcistan, Kırım, Rusya ve Türkiye'de yayılış göstermektedir. Türkiye'de Artvin ve Trabzon'dan kaydedilmiştir (Snegovaya ve Marusik, 2012).



**Şekil 5.9.** *Odiellus zecariensis* türünün üstten görünüşü

#### **Moleküler özellikler**

#### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Odiellus zecariensis* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN213726'dır.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTAAATGGAATCTTGATGAAAGG
GTTAACGAGAAATAACTGTCTTTAAGTATATTTTGAAATTAACTTTTTGT
AAAAATGCAAGAATTTATTTAGGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATT
TTAAATTAATAATTAGGACTAACTTATTTAATTTTTAAATTTTACTGGGGC
GGTAGCTTAATAAATAAGTATAAAAATTTTGATCCATTATGAGTGATAATT
TGATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTAGGGAGTTCAAAT
```

#### 5.1.2.4. Cins: *Opilio* Herbst, 1798

#### *Opilio hemseni* Roewer, 1952

#### Morfolojik özellikler

Vücut, enine satırlar halinde ve göz çıkıntısının önü grup halinde küçük dikenlerle kaplıdır. Bacaklar, normal yapılı, birinci ve üçüncü çift bacaklar hafif kalınlaşmıştır. Birinci çift bacakların femuru iğ şeklindedir. Bacakların femur kısımları uzunlamasına dikenlerle kaplıdır. Keliser, küçük dikenlerle örtülüdür. Pedipalp femurunun ventrali ve dorsali küçük dikenli yapıdadır. Penisin tabanı geniş, sonra daralmış ve tekrar genişlemiş yapıdadır.

Örnekler, açık alanlardan, ot ve taş aralarından toplanmıştır.

Dünyada Ermenistan, Gürcistan, İran, Rusya, Türkiye ve Ukrayna'da yayılış göstermektedir (Kurt, 2015). Türkiye'de Artvin ve Trabzon'dan kaydedilmiştir (Kurt ve Yağmur, 2017).



Şekil 5.10. *Opilio hemseni* türünün üstten görünüşü

## **Moleküler özellikler**

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Opilio hemseni* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209234'dür.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTTAAATGAAATCTTGTATGAAAGG
GTTAACGGGGATAAACTGTCTTTAAAGTATATTTTGAATTTAACTTTTTGT
AATAATGCAAAAATTTATTTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATTT
TAAATTTAAATAAGGACTTATTTTTTTTTTAATAATTAATTTTACTGGGGCG
GTAGCTTATAAACTAAGTAATAATAATTTGATCCATTATTAATGATAATTT
GATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTAGGGAGTACAAATC
GAAAATGAGATTATGACCTCGATGTTGAATT
```

### ***Opilio parietinus* (De Geer, 1778)**

## **Morfolojik özellikler**

Vücut soluk kahverenkli ve dörtgen şekilli, dorsalinde enine satırlar halinde dizilmiş küçük dikenler ve belirgin olmayan eyer bulunur. Bacaklar, uzun ve sağlam, koksalarında siyah lekeler vardır. Tüm üyelerde diken ve kıl yapısı mevcuttur. Dişilerde vücut, oval yapılı ve daha uzundur.

Örnekler, toprak ve taş üstlerinden, ağaç kabuğu ve ot altlarından, yıkık yapıların olduğu alanlardan toplanmıştır.

Dünyada; Amerika Birleşik Devletleri, Asya, Avrupa, Batı Sibirya, Kafkaslar, Kanada, Kanarya Adaları, Kuzey Afrika, Tasmanya ve Türkiye yayılış göstermektedir (Spoek, 1963; Martens, 1978; Staręga, 1978, 1984; Mitov, 2000).

Türkiye'de Adana, Ankara, Antalya, Kastamonu, Kayseri, Kırıkkale, Kırşehir, Konya, Niğde ve Osmaniye'den kaydedilmiştir (Bayram vd., 2010; Çorak, 2010; Kurt vd., 2010, 2011).



Şekil 5.11. *Opilio parietinus* türünün üstten görünüşü

### Moleküler özellikler

#### SOI gen bölgesi:

*Opilio parietinus* türü için NCBI veri tabanına veriler yüklendi. NCBI erişim numarası MN049977'dir.

```
TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTATAACGTA
ATTGTAAGTGGCCATGCTTTTGTATAAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT
AATTGGGGGATTTGGAAATTGATTAGTACCACTAATATTAGGTGCCCCAGAT
ATAGCTTTTCCACGATTAAATAATATAAGATTTTGATTATTACCTCCATCATT
TCTTTTACTTTTATCTTCAACAATAGTAGAAAATGGAGCAGGAACAGGATGA
ACAGTTTACCCCCCTTTATCAAGAAATATTGCACATACAGGAGCTTCTGTTG
ATTTAACTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGAGTTTCCTCTATTTTAGGAGCC
ATTAATTTTATTACAACAATTATTAATATACGAACACAAGGAATAATTTTTG
AACGAATACC
```

### 16S rRNA gen bölgesi:

*Opilio parietinus* türü için NCBI veri tabanına veriler yüklendi. NCBI erişim numarası MN217232'dir.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTTAAATGAAATCTTGTATGAAGGG
GTTAACGGGGGATTAAGTGTCTTAAAAGAATATTTTGAATTTTAACTTTTTGT
AATAATGCAAAAATTTATTTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATTT
TAAATTTAAAATAAGGACTAATTTTTTTTTTAATAAATAAATTTTACTGGGGCG
GTAGCTTATAAACTAAGTTAAAATAATTTGATCCAATATTATTGATAATAA
GATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCATTTAGGGAGTTCAAATCG
AAGAGTGGGATTGTGACCTCGATGTTGAATT
```

### 5.1.2.5. Cins: *Phalangium* Linnaeus, 1758

#### *Phalangium punctipes* (C. L. Koch, 1878)

#### Morfolojik özellikler

Vücut, açık sarı renkte ve uzamış. Dorsalinde eyer bulunur. Prozoma ve opistozomanın dorsalinde seyrek tüberküller dizilmiştir. Keliserin distal boğumunda kısa bir apofiz bulunur. Dişilerde vücut, daha uzun ve opistozoma daha geniştir.

Örnekler, orman ve açık alanlarda ot aralarından, toprak ve taş üzerinden toplanmıştır.

Dünyada; Azerbaycan, Ermenistan, Gürcistan, İsrail, Kıbrıs, Rusya, Suriye, Türkiye ve Ukrayna'da yayılış göstermektedir (Roewer, 1911, 1912; Stareğa, 1966, 1973; Chevrizov, 1979; Chemeris ve Kovblyuk, 2005).

Türkiye'de ise Adana, Amasya, Antalya, Niğde ve Samsun'dan kaydedilmiştir (Roewer, 1912; Kurt vd., 2008b, 2010, 2011; Bayram vd., 2010; Çorak, 2010).



**Şekil 5.12.** *Phalangium punctipes* türünün üstten görünüşü

### **Moleküler özellikler**

#### **SOI gen bölgesi:**

*Phalangium punctipes* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN097804'dür.

```
TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTTAAATGTA
ATTGTAACCGCCCATGCTTTTGTAAATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT
AATTGGAGGGTTTGGAAACTGATTAGTCCCATTAATATTAGGAGCCCCCTGAT
ATAGCTTTTCCCCGACTAAATAATATAAGATTTTGATTGCTCCCCCATCTTT
TTACTACTTCTATCTTCAACTATAGTAGAAAACGGAGCAGGAACAGGTTGA
ACAGTATACCCCCCTTTATCTAGAAATATTGCTCATAACAGGAGCTTCTGTTG
ATTTAACTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGTGTTTCCTCTATTTTAGGAGCA
ATTAATTTTATTACCACAATTATTAATATACGAACACAAGGAATAATTTTTG
AACGAATACC
```



### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Phalangium punctipes* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN217230'dur.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTCTTAAATGGGATCTTGTATGAAGGG
GTTAACGAAAATTAGCTGTCTTAAAAGAATATTTTGAATTTTAACTTTTTGT
AATAATGCAAAAATTTAATTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATT
TTAATTATAAATTAGGAGTATTACTATTTTATTTAATAAATTTTACTGGGGC
GGTAGCTTAAACTAAGTTAAAAAATTTTGATCCAATATTATTGATTAAGG
ATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATACATTTAGGGAGTTCAAATCG
AAGAGTGGGATTGTGACCTCGATGTTGAATT
```

### ***Phalangium opilio* (Linnaeus, 1761)**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut, kahverengi, büyük ve uzamış şekilli, alt kısmı ise beyaz renklidir. Dorsalde genişleyen ve daralan yapıda belirgin kahverengi eyer bulunur. Erkek bireylerde keliserin distal boğumu boynuz şeklindedir. Dişilerde vücut daha uzundur, keliserin distal boğumunda boynuz şekilli apofiz yoktur.

Örnekler, taş ve toprak üstünden, ağaç kabuklarının altından ve otların arasından toplanmıştır.

Dünyada; Almanya, Arnavutluk, Avustralya, Belçika, Bosna-Hersek, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Finlandiya, Hollanda, İspanya, İsveç, İsviçre, İtalya, Japonya, Kuzey Amerika, Macaristan, Norveç, Polonya, Rusya, Slovakya, Slovenya, Türkiye ve Yeni Zelanda da yayılış göstermektedir (Martens, 1978; Suzuki ve Tsurusaki, 1983; Blick ve Komposch, 2004; Bayram vd., 2010).

Türkiye'de ise Ankara, Kırıkkale, Niğde ve Hatay'dan kaydedilmiştir (Kurt vd. 2008a, 2010; Bayram vd., 2010).



Şekil 5.13. *Phalangium opilio* türünün üstten görünüşü

#### Moleküler özellikleri

#### 16S rRNA gen bölgesi:

*Phalangium opilio* türü için NCBI veri tabanına veriler yüklendi. NCBI erişim numarası MN209235' dir.

```
GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTCTTAAATGGGATCTAGTATGAAGG
GGTTAACGAAAATTAGCTGTCTTAAAAGAATATTTTGAATTTAACTTTTTG
TAATAATGCAAAAATTTATTTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATT
TTAAATAAAAATTAGGAGAAATACTATTTTTTATTATAAATTTTACTGGGGC
GGTAGCTTATAACTTAGTATAAAAATTTTGATCCAATTTTATTGATTATAAG
ATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATACATTTAGGGAGTTCAAATCG
AAGAGTGGGATTGTGACCTCGATGTTGAATT
```

#### 5.1.2.6. Cins: *Rilaena* Šilhavý, 1965

#### *Rilaena anatolica* (Roewer, 1956)

#### Morfolojik özellikler

Vücut, dörtgen şekilli ve kahverenkli, üzerinde açık renkte noktalara sahiptir. Prozoma küçük dikenlerle kaplıdır. Gözler, yüksekte yerleşmiş ve yamuk şekilli ve her iki kanal üzerinde küçük dikenler bulunur. Pedipalpler koyu kahverenkli. Palp femurunun ventrali dikenlerle kaplı, patella belirgin apofizli ve kıllarla kaplıdır. Palp tibiyası küçük apofizli ve kıllı yapıdadır. Palp tarsusunun ventrali küçük tüberküllerle kaplıdır. Bacaklar, kısa, açık kahverenkli ve birinci çift bacaklar kalındır. Penis gövdesinin uç kısmı kaşık şeklindedir.

Örnekler, ağaç kabuklarının altından ve otların arasından toplanmıştır.

Türkiye’de yayılış göstermektedir. Ankara ve Kastamonu’dan kaydedilmiştir (Snegovaya ve Maarusik, 2012).



Şekil 5.14. *Rilaena anatolica* türünün üstten görünüşü

## **Moleküler özellikleri**

### **SOI gen bölgesi:**

*Rilaena anatolica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN049978'dir.

TGAACTTGGTCAGCCAGGATCTCTAATAAATGATGACCAAATTTATAATGTA  
ATTGTAACAGCCCATGCTTTTGTAAATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT  
AATTGGAGGATTTGGAAACTGACTTGTACCTTTAATATTAGGGGCCCCCGAT  
ATAGCTTTTCCTCGCTTAAACAACATAAGATTTTGACTTTTACCCCTTCTTT  
TCTTTTACTTTTATCTTCTACTTTAGTAGAAAATGGAGCAGGAACAGGGTGA  
ACAGTTTACCCCTTTATCAAGAAATATTGCACATACAGGGGCTTCTGTAG  
ATTTAACAATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGTGTTTCCTCTATTTTAGGAGCC  
ATTAATTTTATTACAACCATTATTAATATACGAACACAAGGAATAATTTTTG  
AACGAATACC

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Rilaena anatolica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209265'dir.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTCTTAATTGGAATCTTGTATGAAGGG  
GTTAACGAGATTTTACTGTCTTAAAAATATTTTTTGAATTTATAATTTTTGTA  
ATAATACAAGAATTTAGTTAAGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATTTT  
AATRATAAGCTGTYATACAATTCAGTTTGTTAAGAAAATTTTACTGGGGCGG  
TACTTTAATAAACTAGAGTTAATATATTTGATCCAATTTTATTGAGCATAAG  
ATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGCATAATTCGCTTAGGGAGTTCAAATCGA  
AAAGCGAGATTATGACCTCGATGTTGAATT

### **5.1.3. Familya: Sclerosomatidae (Simon, 1879)**

Vücut uzunluğu 2 mm civarında olup oldukça küçük ve narin yapıdadır. Vücut, oval ve genellikle balon şeklinde şişkindir. Gözler, küçük, büyük granüllerle veya dikenlerle kaplı, bazen de apofizli veya diken şeklinde çıkıntılıdır. Keliserlerin bazal segmenti

ventral çıkıntılıdır. Pedipalpler, ince ve uzun; tarsal tırnak tarak şekillidir. Bacaklar genellikle yuvarlak şekilli, femur nodüllerle kaplı, koksalar sıra halinde dizilmiş diş şeklinde çıkıntılara sahiptir. Tarsal tırnak düz yapıdadır. Penis; shaft, kanatlar, glans ve stilusdan oluşur. Stilus yüzeyi düz ve gözeneksizdir.

#### **5.1.3.1. Cins: *Nelima* Roewer, 1910**

##### ***Nelima pontica* Charitonov, 1941**

#### **Morfolojik özellikler**

Vücut oval şekilli ve dorsalinde düzensiz dağılmış granüllerle örtülüdür. Pedipalpin femurunun dorsali ve patella küçük dikenlerle kaplıdır. Pedipalpin tarsal tırnağı tarak şekillidir. Bacaklar oldukça uzun, sadece koksaları kıllı, femur ve patella uzunlamasına hatlar şeklinde küçük dikenlerle kaplıdır. Keliserler, kıllarla kaplı ve bazal segmentin ventrali parmak şeklinde çıkıntılıdır. Penis tabanı oldukça geniş ve merkeze doğru daralmış ve uç kısma doğru tekrar genişleyerek kanat şeklini almıştır. Stilus ise kısadır.

Örnekler, taş ve toprak üstünden, ağaç kabuklarının altından ve otların arasından toplanmıştır.

Dünyada; Abhazya, Bulgaristan, Gürcistan, Rusya ve Türkiye’de yayılış gösterirler (Snegovaya ve Marusik, 2012). Türkiye’de Kastamonu, Kırklareli ve Trabzon’dan kaydedilmiştir (Kurt, 2015).



Şekil 5.15. *Nelima pontica* türünün üstten görünüşü

#### Moleküler özellikler

#### SOI gen bölgesi:

*Nelima pontica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MK372228'dir.

```
GATTA AAAAAGATTAGAGAGAAATTGCTTGAATTTAAATTGAAATCCAAA  
CCGAATACTAGAAGGTTACTCGTTACAAAAAGAATAAAGGCCTATCTAGTT  
TCCGGTAATAAGTTTAATGAAATAAGAAGTAGAATGAAAGTTAAATAGGCC  
CCCTAAAATTGAGGAGAATATCTGGCCCAAATGAAAGGAAAAAAAAAATCGT  
TAGGTCGAACGGGATGGGTCCTCTAATGCGCTGTATTTCTAGATAAATGGTG  
GGTAGAACAGGTTCAAACCTGTCCCCTGCTCCGTTTTCCACTAATGGTAGAG  
CTTAAATAGAAGAAAGAAAAAGAGGGGGGGCAAAAAGTCAAAAATCTTAT  
ATTGTTTCAGCCCGGGGGGAATGCTACGATCTGGTGCCCCCAATATTAGTG  
GTACTAGTCAAATTCCCAAACTACCCCATCTATATTAGGTATAACTATAAA  
AAAAATTATCACAAAAGCGTGGGCCGTAACAATGACATTGTAGATTTGGT  
CAACAAATCATAAAGATATTGGA ACTATATACATAATCTTCGGTATTTGAGC  
AGCAATAGTAGGATCAGCATTAGAATCCTTATCCGAACGGAATTGGGTCA
```

ACCAGGATCTTTAATAAATGATGACCAAATCTACAATGTCATTGTTACGGCC  
CACGCTTTTGTGATAAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAATGGGTAGTTT  
TGGGAATTGACTAGTACCACTAATATTGGGGGCACCAGACATAGCATTCCC  
CCGGCTAAACAATATAAGATTTTGACTTTTGCCCCCTCTTTTCTTCTTCTAT  
TAAGCTCTACCATAGTGGAAAACGGAGCAGGGACAGGTTGAACTGTCTACC  
CCCCATTATCTAGAAATACAGCGCATAGAGGACCATCCGTTGACCTAACGA  
TTTTTCCCTTCATTTGGCAGGTATCTCCTCAATTTTGGGGGCTATTAAC TTC  
ATCACTACTATTATAAATATACGAACAAAAGGCATAATCTTTGAACGAGTA  
CCTCTATTCGTTTGGTCCATTA AAAATTACAGCAATTCTCTTACTTTTATCTTT  
ACCTGTCTTAGCAGGGGCTATCACGATACTCCTAACAGATCGTAATTTTAAC  
ACCTCATTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGGACCCTATTTTATACCAACATTT  
ATTCTGATTTTTTTGGTCACCCCTGAAGTTTAAGGGACAAACGAGAGGGGAC  
CTGTTCAAAGATTGTGCCT

### **16S rRNA gen bölgesi:**

*Nelima pontica* türü için NCBI veri tabanına veriler ilk kez yüklendi. NCBI erişim numarası MN209233'dür.

GTGCAAAGGTAGCATAATCATTGGTTTTTTTATTGGGATCTGGTATGAATGA  
ATGAATGGATAAGAGCTGTCTTTAGGTTTTTTGTTGAATTTAAATTTTTAGTA  
AAAATGCTAGAATTA AACTATGGGACGATAAGACCCTATAAAGCTTTATTT  
CCTTTAAA AATTAAAATTTTTCTAGTTTGTTAAAGGAATTTTACTGGGGCG  
GTAGCTATTTAACTTAGGTAAGAGGAGTTTGATCCAATATTATTGAAATAAG  
ATTAAGTTACTTTAGGGATAACAGGATAATATATTTTTGGAGTACTAATCGA  
AGATTATGTTTGTTACCTCGATGTTGAATT

### **5.2. Otbiçen Türlerine Ait DNA Konsantrasyonları**

PZR da, uygun primerler ile çoğaltım yapılabilmesi DNA'nın konsantrasyonuna bağlıdır. Tablo 5.1. de otbiçen türlerine ait konsantrasyon değerleri verilmiştir.

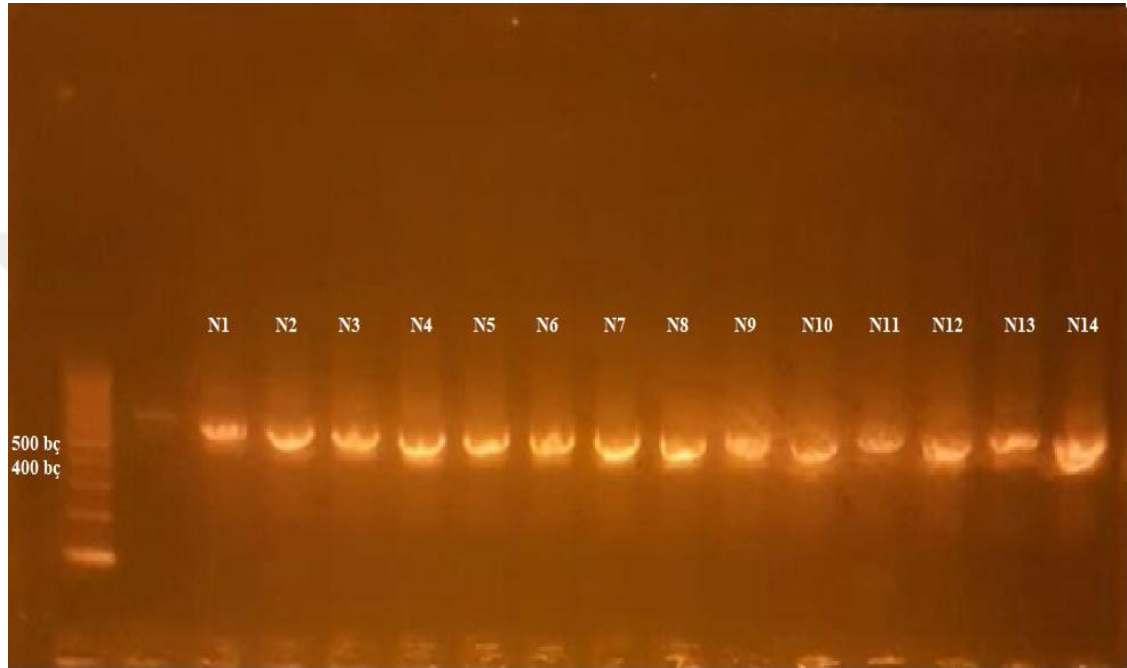
**Tablo 5.1.** Otbiçen türlerine ait DNA konsantrasyonları (ng/ul)

Örnek No	DNA Konsant.	Örnek No	DNA Konsant.	Örnek No	DNA Konsant.	Örnek No	DNA Konsant.
ET1	2,412	MM14	8,840	OI1	9,255	PO7	3,502
ET2	3,020	MM15	2,020	OI2	2,800	PO8	2,310
GT1	1,862	MM16	5,850	OI3	3,520	PO9	1,850
GT2	2,870	MM17	3,560	OI4	1,564	PO10	2,845
GT3	4,060	MM18	3,256	OL1	3,520	PP1	9,050
GT4	3,020	MM19	2,320	OL2	4,520	PP2	3,500
GT5	2,026	MM20	1,145	OL3	4,045	PP3	1,842
HC1	6,130	NP1	2,278	OL4	3,612	PP4	2,546
HC2	2,860	NP2	5,140	OL5	5,365	PP5	2,854
HC3	3,280	NP3	3,260	OL6	5,600	PP6	1,040
HC4	2,560	NP4	2,220	OL7	4,045	PP7	3,560
HC5	1,023	NP5	1,110	OL8	2,100	PP8	2,040
HC6	2,020	NP6	2,040	OP1	1,080	PP9	6,085
HC7	1,880	NP7	4,500	OP2	2,300	PP10	3,654
MG1	0,960	NP8	1,223	OP3	2,625	PT1	2,960
MG2	1,260	NP9	2,400	OP4	3,024	PT2	3,080
MG3	2,320	NP10	3,432	OP5	1,080	RA1	5,240
MG4	3,110	NP11	8,300	OP6	2,950	RA2	3,254
MG5	1,080	NP12	11,08	OP7	3,564	VA1	2,040
MM1	2,220	NP13	4,025	OZ1	3,851	VA2	3,623
MM2	7,070	NP14	3,856	OZ2	3,256	VA3	2,851
MM3	1,115	NP15	5,020	OZ3	5,640	ZC1	11,02
MM4	2,210	NP16	8,870	OZ4	4,040	ZC2	8,245
MM5	3,487	NP17	16,02	OZ5	12,05	ZC3	12,04
MM6	4,560	NP18	8,040	OZ6	8,205	ZC4	9,087
MM7	6,200	NP19	3,025	OZ7	3,050	ZC5	4,980
MM8	2,314	NP20	3,047	PO1	6,075	ZC6	9,287
MM9	5,040	OH1	1,020	PO2	8,990	ZC7	6,124
MM10	2,078	OH2	5,078	PO3	7,025	ZC8	6,240
MM11	1,807	OH3	6,245	PO4	12,54	ZC9	3,870
MM12	2,587	OH4	2,635	PO5	18,55	ZC10	6,247
MM13	3,040	OH5	3,65	PO6	8,078		

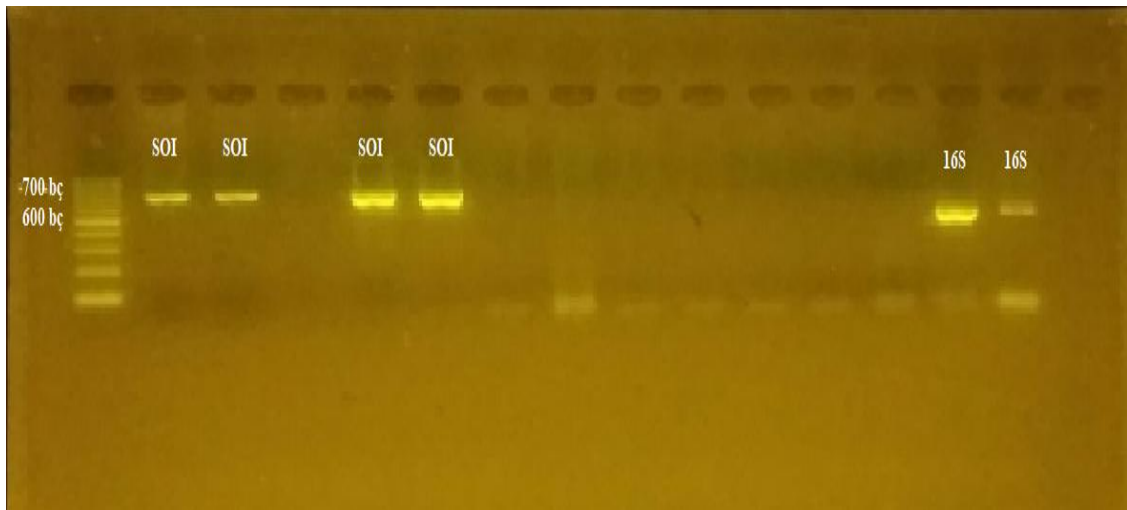


(ET: *Egaenus turcicus*, GT: *Giljarovia tenebricosa*, HT: *Histicostoma caucasicum*, MG: *Mitostoma gracile*, MM: *Mitopus morio*, NP: *Nelima pontica*, OH: *Opilio hemseni*, OI: *Opilio insulae*, OL: *Odiellus lendlii*, OP: *Opilio parietinus*, OZ: *Odiellus zecariensis*, PP: *Phalangium punctipes*, PO: *Phalangium opilio*, PT: *Pyza taurica*, RA: *Rilaena anatolica*, VA: *Vestiferum alatum*, ZC: *Zachaeus crista*)

### 5.3. Otbicen Türlerine Ait Agaroz Jel Elektroforez Görüntüsü



**Şekil 5.16.** *Nelima pontica*'ya ait 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü

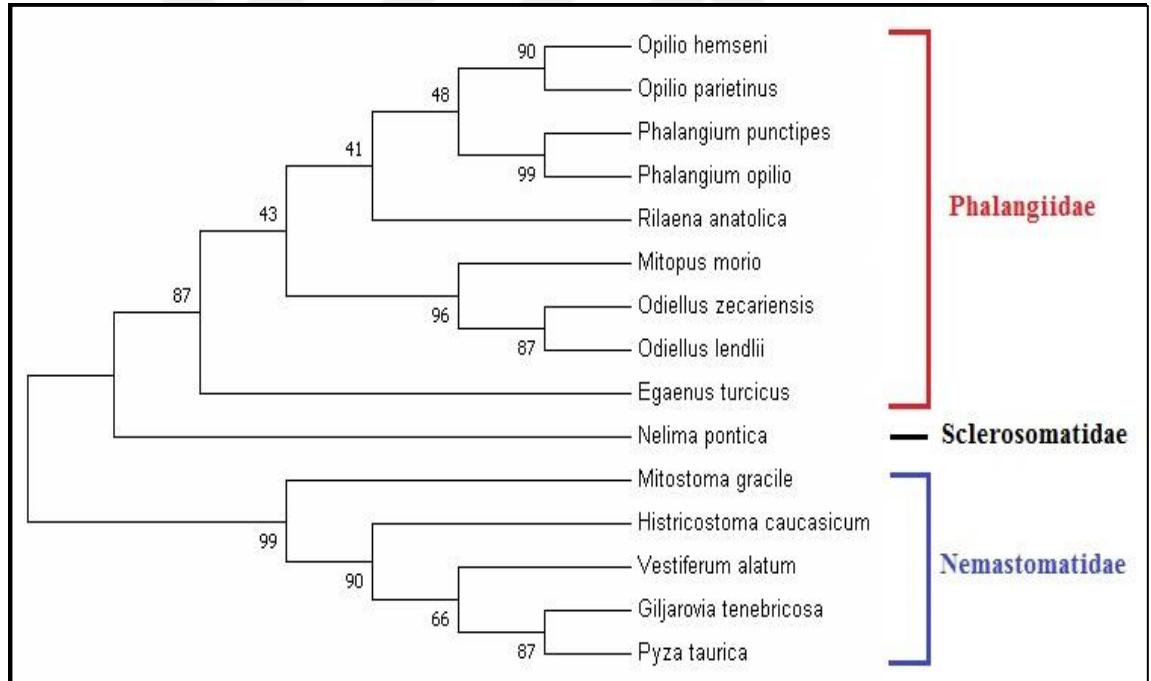


**Şekil 5.17.** *Odiellus lendlii*'ye ait SOI ve 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüleri

#### 5.4. Filogenetik Analizler

DNA dizilemesi ile elde edilen veriler değerlendirildi. 16S rRNA gen bölgesi için 15 türe ait 69 sekans verisi elde edilirken 2 türe (*Zachaeus crista*, *Opilio insulae*) ait sekans okumaları yeterli olmadı. SOI gen bölgesi için ise 11 türe ait 32 sekans verisi elde edildi, 6 türe (*Odiellus zecariensis*, *Opilio hemseni*, *Opilio insulae*, *Phalangium opilio*, *Vestiferum alatum*, *Zachaeus crista*) ait sekans okumaları yeterli olmadı.

DNA dizileme sonucu elde edilen ileri ve geri yöndeki okumalara ait ham sekans verileri Codon Code Aligner 8.0.2 programı ile düzenlendi. Veriler fasta formatında kaydedildi. Sekans verileri ile Mega 7.0.26 (Molecular Evolutionary Genetics Analizis) programında NJ (Neighbor joining) ile filogenetik ağaçlar oluşturuldu (Şekil 5.18, Şekil 5.19). Mega 7.0.26 programı ile gen bölgeleri için türler arasındaki genetik mesafe (Tablo 5.2) ve türlere ait Adenin ve Timin bazlarının oranı belirlendi (Tablo 5.3).



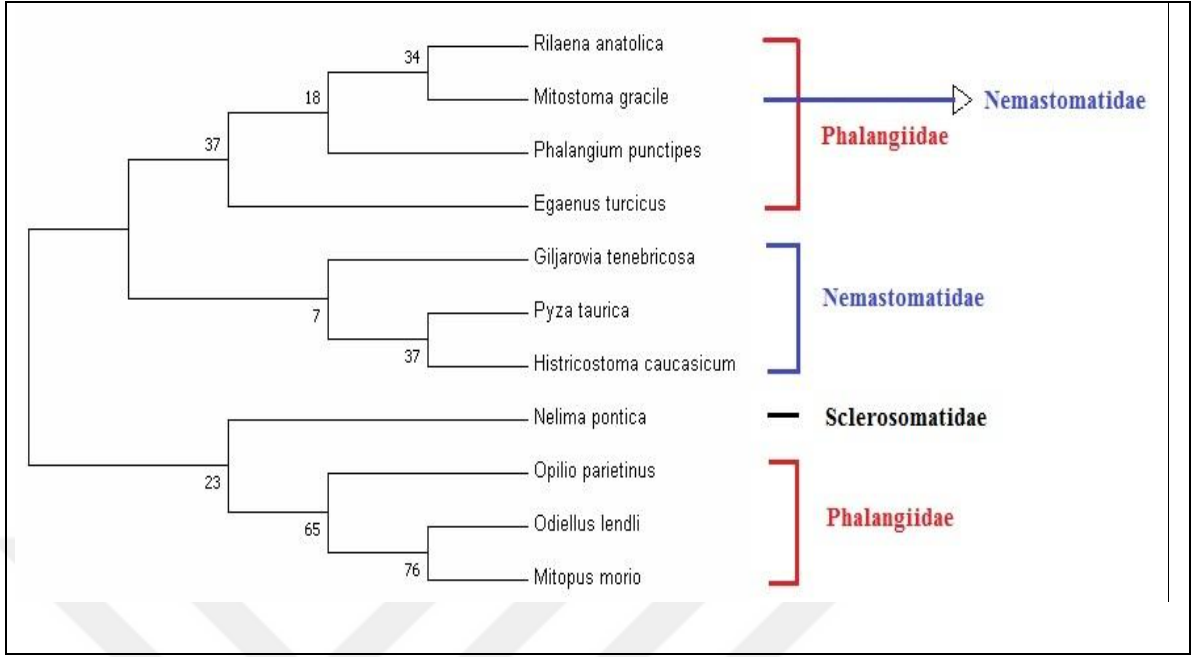
Şekil 5.18. 16S rRNA gen bölgesine dayalı NJ soy ağacı

**Tablo 5.2.** 16S rRNA gen bölgesine ait A-T oranı

	<b>T(U)</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>Toplam</b>
<i>Nelima pontica</i>	38,9	8,5	32,5	20,2	342,0
<i>Opilio hemseni</i>	37,3	8,7	37,3	16,6	343,0
<i>Opilio parietinus</i>	36,4	8,7	36,7	18,1	343,0
<i>Rilaena anatolica</i>	36,7	10,3	34,6	18,5	341,0
<i>Odiellus lendlii</i>	35,2	8,7	39,0	17,1	310,0
<i>Odiellus zecarinsis</i>	37,1	8,7	37,1	17,1	310,0
<i>Egaenus turcicus</i>	37,3	8,7	34,4	19,5	343,0
<i>Pyza taurica</i>	31,7	9,1	41,1	18,2	341,0
<i>Histicostoma caucasicum</i>	34,7	8,3	40,4	16,6	337,0
<i>Mitostoma gracile</i>	32,2	10,0	34,8	23,0	339,0
<i>Giljarovia tenebricosa</i>	32,7	7,7	41,9	17,7	339,0
<i>Phalangium punctipes</i>	36,1	9,1	36,4	18,5	341,0
<i>Phalangium opilio</i>	36,4	9,1	36,1	18,5	341,0
<i>Mitopus morio</i>	36,2	9,0	38,2	16,6	343,0
<i>Vestiferum alatum</i>	34,6	7,7	41,4	16,3	338,0
Ortalama	35,6	8,8	37,4	18,2	336,7

**Tablo 5.3.** Türlerin 16S rRNA gen bölgesine dayalı genetik mesafeleri

<b>Tür Adı</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>
<i>O. zecariensis</i>														
<i>O. lendlii</i>	,058													
<i>O. hemseni</i>	,085	,136												
<i>O. parietinus</i>	,105	,156	,044											
<i>P. punctipes</i>	,115	,156	,119	,075										
<i>P. opilio</i>	,115	,156	,125	,088	,041									
<i>M. gracile</i>	,315	,312	,312	,312	,312	,305								
<i>V. alatum</i>	,268	,258	,281	,298	,302	,302	,302							
<i>H. caucasicum</i>	,261	,271	,271	,258	,258	,258	,264	,203						
<i>G. tenebricosa</i>	,308	,302	,325	,312	,312	,312	,268	,231	,220					
<i>R. anatolica</i>	,173	,210	,176	,153	,149	,156	,349	,319	,295	,322				
<i>M. morio</i>	,108	,119	,156	,180	,156	,163	,305	,285	,292	,295	,214			
<i>N. pontica</i>	,220	,247	,207	,210	,197	,210	,298	,336	,302	,332	,241	,220		
<i>P. taurica</i>	,342	,325	,346	,325	,325	,332	,285	,207	,203	,186	,342	,339	,353	
<i>E. turcicus</i>	,173	,200	,142	,183	,180	,190	,298	,332	,308	,339	,210	,207	,241	,353



Şekil.5.19. SOI gen bölgesine dayalı NJ soy ağacı

Tablo 5.4. SOI gen bölgesine ait A-T oranı

	T(U)	C	A	G	Toplam
<i>Nelima pontica</i>	29,3	19,0	32,8	18,9	1258,0
<i>Opilio parietinus</i>	31,5	15,4	35,4	17,8	715,0
<i>Rilaena anatolica</i>	29,8	16,0	33,3	20,9	642,0
<i>Odiellus lendlii</i>	29,4	16,4	34,5	19,8	653,0
<i>Egaenus turcicus</i>	30,6	24,6	27,7	17,1	683,0
<i>Pyza taurica</i>	35,3	20,9	26,5	17,3	678,0
<i>Histicostoma caucasicum</i>	29,7	15,4	37,2	17,7	710,0
<i>Mitostoma gracile</i>	37,0	19,2	25,0	18,8	616,0
<i>Giljarovia tenebricosa</i>	35,7	17,8	30,2	16,3	540,0
<i>Phalangium punctipes</i>	33,2	21,7	27,1	18,0	665,0
<i>Mitopus morio</i>	30,8	15,2	35,6	18,3	710,0
Ortalama	31,7	18,3	31,6	18,3	715,5

**Tablo 5.5.** Türlerin SOI gen bölgesine dayalı genetik mesafeleri

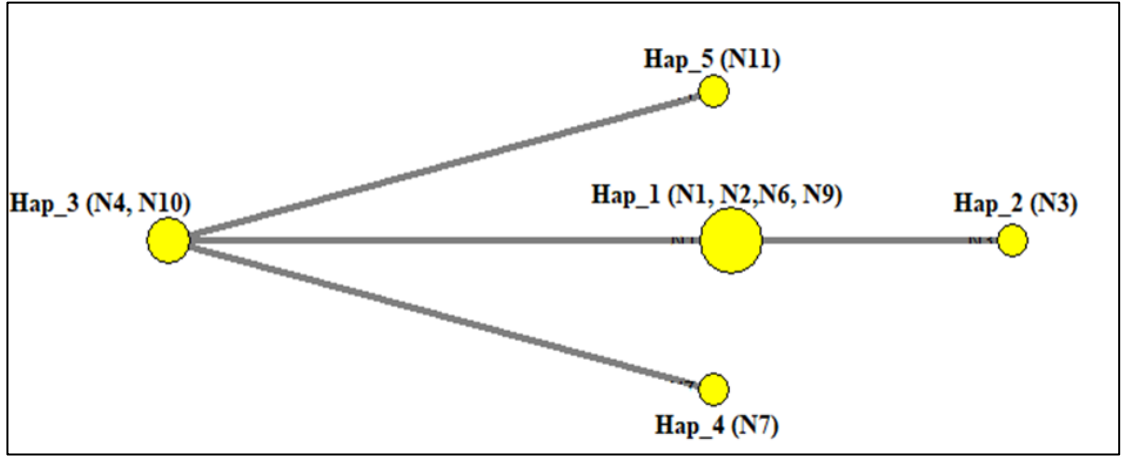
Tür Adı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. <i>Nelima pontica</i>											
2. <i>Opilio parietinus</i>	0,700										
3. <i>Rilaena anatolica</i>	0,760	0,756									
4. <i>Odiellus lendlii</i>	0,739	0,679	0,756								
5. <i>Egaenus turcicus</i>	0,741	0,739	0,734	0,747							
6. <i>Pyza taurica</i>	0,732	0,773	0,713	0,779	0,743						
7. <i>Histicostoma caucasicum</i>	0,702	0,655	0,720	0,765	0,773	0,685					
8. <i>Mitostoma gracile</i>	0,750	0,704	0,687	0,749	0,711	0,737	0,739				
9. <i>Giljarovia tenebricosa</i>	0,732	0,745	0,758	0,724	0,743	0,717	0,734	0,698			
10. <i>Phalangium punctipes</i>	0,732	0,739	0,732	0,749	0,728	0,756	0,720	0,692	0,771		
11. <i>Mitopus morio</i>	0,713	0,647	0,719	0,649	0,762	0,764	0,700	0,752	0,724	0,732	

Kromozom ya da mitokondriyal DNA üzerinde yakın mesafede bulunan genler ya da nükleotit bölgeleri gamete birlikte aktarılırlar ve bu bağlı bölgeler daima birlikte buldukları için Haplotip adını alırlar (Hedrick, 2005).

*Nelima pontica* türü için her iki gen bölgesine ait birden fazla sonuç elde edildiğinden haplotip belirlemede kullanıldı. Median joining network analizi yapılarak SOI gen bölgesi için 4 bireye ait 3 haplotip ve 16S rRNA gen bölgesi içinde 9 bireye ait 5 haplotip belirlendi (Tablo 5.6).

**Tablo 5.6.** *Nelima pontica* türü için haplotip değerlerinin gösterimi (n= örnek sayısı, N<sub>h</sub>=haplotip sayısı, Hd= haplotip çeşitliliği)

<i>Nelima pontica</i>	16S rRNA	SOI
<b>n</b>	9	4
<b>N<sub>h</sub></b>	5	3
<b>Hd</b>	0,8056	0,8333



**Şekil 5.20.** *Nelima pontica*'nın 16S rRNA gen bölgesine dayalı haplotiplerinin median-joining network analizi



**Şekil 5.21.** *Nelima pontica*'nın SOI gen bölgesine dayalı haplotiplerinin median-joining network analizi

## 6. TARTIŞMA

Çalışmada, Nemastomatidae, Phalangiidae ve Sclerosomatidae ailelerine ait olan ülkemizin farklı illerinden (Trabzon, Kahramanmaraş, Kütahya, Sinop, Afyon, İzmir, Şanlıurfa) toplanarak, morfolojik karakterlerine göre tür teşhisleri yapılmış bireylerin, moleküler yöntemler kullanılarak 16S rRNA ve SOI gen bölgeleri değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmada, örneklerin, 16S rRNA gen bölgesine ait kaliteli DNA dizileri elde edilirken, bazı örneklerin SOI gen bölgesi için sekans verilerine tekrar edilmelerine rağmen ulaşamadı.

Elde edilen 16S rRNA gen bölgesine ait sekans verileri ile oluşturulan filogenetik ağaç morfolojik verilerle uyumlu iken, SOI gen bölgesi için oluşturulan filogenetik ağaçta bazı türlerin morfolojik verilere uyumlu olarak yerleşmediği görüldü.

Jizhou vd. (2014), Ixodida akarları üzerine yaptıkları çalışmada da 16S rRNA ve 18S rRNA gen bölgeleri başarı bir şekilde elde edilirken, SOI gen bölgesi için birkaç türde başarılı olamamıştır. Aşçı ve Kabak (2019), su akarları ile yaptıkları çalışmada tüm bireylerde 28S rDNA gen bölgesinin verileri elde ederken bazı türlerde SOI gen bölgelerine ait veriler elde edilemedi. Yine bazı örümcek, salyangoz, kinidli, kabuklu ve kurbağa gruplarında da 16S rRNA gen bölgesinden elde edilen sekans verilerininin SOI gen bölgesine göre daha güvenilir olduğu tespit edilmiştir (Vences vd., 2005; Collins vd., 2005; Steinke vd., 2005 Schubart vd., 2000). Bu durum çalışmamızı destekler niteliktedir.

NCBI veri tabanında; çalışılan otbiçen türlerinin 16S rRNA gen bölgesi için sadece *Mitopus morio*, *Opilio parietinus* ve *Phalangium opilio* türlerine ait veriler bulunurken, SOI gen bölgesi için sadece *Mitopus morio* ve *Opilio parietinus* türlerine ait veriler bulunmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile; 17 otbiçen türünden SOI gen bölgesi için 11 türe (*Egaenus turcicus*, *Giljarovia tenebricosa*, *Histicostoma caucasicum*, *Mitostoma gracile*, *Mitopus morio*, *Nelima pontica*, *Odiellus lendlii*, *Opilio parietinus*, *Phalangium punctipes*, *Pyza taurica*, *Rilaena anatolica*) ait sekans verisine ve 16S rRNA gen

bölgesi için de 15 türe (*Egaenus turcicus*, *Giljarovia tenebricosa*, *Histicostoma caucasicum*, *Mitostoma gracile*, *Mitopus morio*, *Nelima pontica*, *Opilio hemseni*, *Odiellus lendlii*, *Opilio parietinus*, *Odiellus zecariensis*, *Phalangium punctipes*, *Phalangium opilio*, *Pyza taurica*, *Rilaena anatolica*, *Vestiferum alatum*) ait sekans verisine ulaşıldı. Fakat 2 türün (*Zachaeus crista*, *Opilio insulae*) her iki gen bölgesinde ulaşamadı. Elde edilen veriler ülkemizden ilk kez NCBI veri tabanına yüklendi.

Çalışmada, üç farklı aileye (Nemastomatidae, Sclerosomatidae ve Phalangidae) ait NCBI da verisi bulunmayan türler seçildi. Ancak çalışılan türlerin seçiminde birbirine yakın olan türlerin seçimi ve örneklerin saklanma koşulları göz ardı edildi.

EK1-EK8 de BOLD veri tabanına SOI gen bölgesine ait verilerin yüklenmesiyle soy ağaçları oluşturuldu. Oluşturulan soy ağaçlarında sisteme yüklenen bir türün sistem içerisinde kayıtlı olan diğer türler ile akrabalık ilişkileri gösterildi.

*Egaenus turcicus*, sistemde verisi bulunmadığından, dahil olduğu Phalangidae ailesi üyeleri ile bir arada görüldü (EK1), *Giljarovia tenebricosa*, sistemde verisi bulunmadığından, dahil olduğu Nemastomatidae ailesi üyelerinden *Nemastomella dubia* ve *Nemastoma lugubre* türleri ile dallanma yaptı (EK2), *Histicostoma caucasicum*, sistemde cins düzeyinde verisi bulunmaktadır, Nemastomatidae ailesi üyeleri ile dallanma göstermekte ve *Histicostoma dentipalpe* ile yakın olduğu görüldü (EK3), *Mitopus morio* sistemde kayıtlı olduğundan aynı tür altında dallandı (EK4), *Nelima pontica* sistemde verisi bulunmadığından dahil olduğu Sclerosomatidae ailesi üyeleri ile bir arada bulundu *Leiobunum* cinsine ait türler ile yakın olduğu soy ağacında görüldü (EK5), *Opilio parietinus* sistemde kayıtlı olduğundan, aynı tür ile bir arada yerleşti, Rusya ve Almanya'dan sisteme yüklenmiş olan *O.parietinus* lar ile dallandığı görüldü (EK6), *Phalangium punctipes* sistemde verisi bulunmadığından aynı cins altında olduğu *Phalangium opilio*'ya yakın dallandı (EK7), *Rilaena anatolica* ise sistemde verisi bulunmadığından aynı cins altında olduğu *Rilaena triangularis*'e yakın dallanma gösterdi (EK8).



## 7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Barkod bölgelerinin belirlenmesi ve güvenilirliklerinin test edilmesi ile otbiçenler üzerine yapılmış moleküler çalışmalar da hızla artmıştır. Türkiye’de ise otbiçenler üzerine çok sayıda morfolojik ve sistematik çalışmalar mevcutken, moleküler filogeni çalışması bulunmamaktadır. Özellikle Almanya’da, Avrupa’da var olan otbiçen türleri üzerine yapılmış barkodlama çalışmaları mevcuttur (Astrin vd., 2016).

Hebert vd. (2003), SOI nükleotid çeşitliliğinin yakın ilişkili hayvan gruplarının tanımlanmasında kullanışlı bir yöntem olduğunu belirtmiştir.

Filogenetik analizlerde sadece bir gen bölgesine göre cins ve cinsten yukarı taksonların ilişkisi belirlenebilir. Ancak bu durum tür ve alttürleri değerlendirirken hatalara neden olabilmektedir. Bu nedenle çalışmalarda, literatür yardımı ile belirlenmiş herhangi iki gen bölgesinin birlikte kullanılması sonuçların kıyaslanmasını sağlayarak, güvenilirliği artıracaktır.

Moleküler taksonomide mitokondriyal genoma ait belirteçlerden SOI ve 16S rRNA gen bölgelerinin birlikte kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Astrin vd., 2006).

Wu vd. (2018) yaptıkları çalışmada Veneroida (İstiridyeler)’daki türlerin belirlenmesinde hem SOI hemde 16S rRNA gen bölgelerinin barkod olarak uygun belirteçler olduğunu ortaya koymuştur.

Falade vd. (2016), bazı balık türlerinin DNA barkodlaması üzerinde yapmış oldukları çalışmada, SOI’nin 16S rRNA’ dan daha yüksek derecede DNA değişkenliğine sahip olduğunu ve balıklarda yaygın olarak kullanıldığını belirtmişlerdir.

Bazı taksonomik gruplarda SOI gen bölgesinden elde edilen verilerin, 16S rRNA’dan elde edilen verilere göre daha güvenilir olduğu; ancak bazı örümcek, salyangoz, kinidli, kabuklu ve kurbağa gruplarında ise 16S rRNA gen bölgesinden elde edilen verilerin daha güvenilir olduğu tespit edilmiştir (Vences vd., 2005; Collins vd., 2005; Steinke vd., 2005 Schubart vd., 2000).

Astrin vd. (2006) Pholcidlerle yaptıkları çalışmada taksonomi için 16S rRNA gen bölgesinin SOI gen bölgesinden daha uygun olduğunu ortaya koymuştur.

Astrin vd. (2016) Almanyada yayılış gösteren örümcek ve otbiçenlerin DNA barkodlama yöntemiyle veri tabanının belirlenmesi için yaptıkları çalışmada tek bir gen bölgesi (SOI) kullanmıştır. Elde ettikleri verilere göre bazı türlerin Neighbor-joining soy ağaçında uygun yerleşim göstermediğini tespit etmiştir.

Yapılan çalışmada da 16S rRNA mitokondriyal geninin güvenilirliğinin, SOI geninden daha yüksek olduğu görüldü. 16S rRNA gen bölgesine dayalı moleküler veriler ile yapılan Neighbor joining soy ağacındaki akrabalık ilişkilerinin daha önce Martens (1978) ve Hillyard ve Sankey (1990) tarafından morfolojik verilere göre hazırlanan tayin anahtarındaki veriler ile uyumlu olduğu tespit edildi (Şekil 5.18). Ancak SOI gen bölgesine dayalı oluşturulan soy ağacında, *Mitostoma gracile* türünün sekans okumaları yeterli olduğu halde soy ağacında uygun yerleşmediği görüldü (Şekil 5.19).

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu, türlerin moleküler özellikleri belirlendi. 11 otbiçen türü için SOI gen bölgesine ait 540-1258 bp uzunluğunda diziler elde edilerek analizleri yapıldı. 500 bp'den daha kısa olan diziler değerlendirilmeye alınmadı. 16S rRNA gen bölgesi için ise 15 türe ait 310-343 bp uzunluğunda diziler elde edilerek analizleri yapıldı.

Simon vd. (1994), mitokondriyal gen bölgelerinin, farklı hayvan taksonlarının tanımlanması ve evrimsel süreçlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada mitokondriyal gen bölgelerinin yüksek oranda doğru sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar böcek mitokondriyal genomunda A-T oranının yüksek olduğunu (*Locus*'ta %73; *Apis*'te %81,5, *Drosophila*'da %77-79) olduğunu ortaya koydular. Şenol (2017), afitlerde yaptığı çalışma da A-T oranının yüksek olduğunu (%75,05) ortaya koymuştur. Astrin vd. (2016), örümcek ve otbiçenlerde SOI gen bölgesi için bu oranı %67,5 olarak vermiştir.

Bu çalışmada ise; otbiçen türlerine ait nükleotid sıklıkları SOI gen bölgesi için Tablo 5.4 de verildi. A-T oranının *Opilio parietinus* ve *Histicostoma caucasicum* türleri (%66,9) için en yüksek olduğu; *Phalangium punctipes* (%60,3) türü için ise en düşük

olduğu belirlendi. 16S rRNA gen bölgesi için ise nükleotid sıklıkları Tablo 5.2 de verildi. Bu oran *Vestiferum alatum* türünde (%76,0) en yüksek; *Mitostoma gracile* (%67,0) türü için ise en düşük olduğu belirlendi. Bu veriler, daha önce yapılan çalışmaları (Astrin vd. 2016, Şenol, 2017) destekler niteliktedir.

Genetik uzaklık analizinde, 16S rRNA gen bölgesi için genetik uzaklık değeri 0,041 ile en yakın olan otbiçen türleri *Phalangium opilio* ve *Phalangium punctipes* iken genetik uzaklık değeri 0,353 ile en uzak olan türler ise *Egaenus turcicus* ve *Pyza taurica* ile *Nelima pontica* ve *Pyza taurica* türleridir (Tablo 5.3).

*Nelima pontica* türünde 16S rRNA gen bölgesi için çalışılan 9 bireye ait 5 haplotip belirlendi. Bu haplotipler; Hap\_1 (N1, N2, N6, N9), Hap\_2 (N3), Hap\_3 (N4, N10), Hap\_4(N7), Hap\_5 (N11)'dir (Şekil 5.20). N1, N2, N6, N9 bireylerinin aynı populasyondan toplanmış olabileceği benzerliklerinin yüksek olduğu, zamanla farklılaşmışlar yine N4 ile N10 bireylerinin de birbirine çok yakın ve benzer olduğu, N3, N7 ve N11 bireylerinin ise farklı alanlardan toplanan benzerliği daha az olan bireyler olduğu görüldü. Haplotip çeşitliliği ise 0,8056'dır (Tablo 5.6).

SOI gen bölgesi için ise çalışılan 4 bireye ait 3 haplotip belirlendi. Bu haplotipler; Hap\_1 (N1, N3), Hap\_2 (N2), Hap\_3 (N4)'dir (Şekil 5.21). N1 ve N3 bireylerinin aynı alandan toplanmış yakın bireyler olduğu, N2 ve N4 bireylerinin benzerliğinin daha az olduğu görülmektedir. Haplotip çeşitliliği ise 0,8333'dür (Tablo 5.6).

Örneklerin saklanma süresi ve saklanma koşulları DNA kalitesini ve dizi analizini etkilemektedir. 5 yıldan daha uzun süre müzelerde, oda sıcaklığında %70 etil alkolde muhafaza edilen örümcek örneklerinin DNA konsantrasyonlarının yetersiz olduğu ve DNA da kırılmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durum bazen barkod çalışmaları için gerekli olan baz uzunluğuna erişilemediğinden elde edilen veriler tür tanımlamasında kullanılamamaktadır (Mammadova vd., 2018).

Kuru ortamda muhafaza edilecek örneklerde, DNA kalitesi ve PZR başarısı için ortam sıcaklığı, 40 °C'nin altında olmalıdır. Örneklerin saklanma süresi ile DNA kalitesi arasında, bağlantı olduğuna dair veri yoktur. Ancak örneklerin saklanacağı alkol oranı %95'ten az olmamalıdır. %99'luk alkolde 6 ay oda sıcaklığında muhafaza edilen

örneklerin PZR başarısının yüksek olduğu ve uzun süre saklanacak örneklerin de -20 °C de saklanmasının uygun olduğu belirtilmiştir (Akpınar vd., 2019).

Tez çalışmasında kullanılan otbiçen örnekleri %70'lik etil alkol içesinden uzun süre (3-9 yıl) muhafaza edildi. DNA konsantrasyonları yeterli (>1 ng/ul) ve PZR başarılı olduğu halde tüm örneklerin sekans verilerine tekrar edilmelerine rağmen ulaşılamadı. SOI geni için 17 otbiçen türünde 11 türe ait sekans verisi elde edilirken, 16S rRNA geni için 15 türe ait veri elde edildi. Ayrıca 16S rRNA gen bölgesine ait sekans verilerine, SOI gen bölgesi verilerine göre daha kolay ulaşıldı.

Türkiye'de ilk kez otbiçen türlerinin SOI ve 16S rRNA gen bölgelerinin sekans dizileri belirlenerek NCBI veri sistemine yüklendi ve erişim numaraları alındı. Elde edilen veriler ilk kez veri bankasına yüklenmiş olmasıyla önem arz etmektedir. Daha önce morfolojik karakterlere göre oluşturulmuş olan otbiçen türlerine ait veriler, moleküler taksonomik çalışmalar ile 16S rRNA gen bölgesi için doğrulandı.

Yapılacak çalışmalarda kullanılacak bireyler -20 °C de ya da alkol de saklanacaksa alkol oranı %95 den az olmayacak şekilde muhafaza edilmelidir. Tür seçiminde birbirine daha yakın türler seçilerek (aynı cinse ait) ve seçilen tüm türlere ait sekans verilerinin elde edilmesi sonucu oluşturulacak her iki gen bölgesine ait filogenetik ağaçların birbirini ve morfolojik verileri destekleyip desteklemediği ortaya konulmalıdır. Türlerin diğer gen bölgeleri (12S rRNA, 18S rRNA, 28S rRNA, Sitokrom b, EF-1 $\alpha$ , H3, H4 ve U2 snRNA) ile mevcut çalışmalar desteklenebilir; sistemde verisi olmayan türler için veriler oluşturularak sisteme yüklenmesi yapılabilir. Veri tabanlarında taksonomik gruplara ait ne kadar çok sekans bilgisi var ise sisteme yüklenecek yeni verilerin taksonomideki yeri ve akrabalık ilişkilerini belirlemek için yapılacak filogenetik ağaçlar o kadar güvenilir olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akpınar, A. (2017) “Phylogenetic analysis of the *Alopecosa* spiders (Lycosidae) from Gaziantep based on mitochondrial COI gene sequences”, *Entomological News*, 127(3), 273-282.
- Akpınar, A., Junaid, F., Görmez, V., Kütük, M. ve Can, C. (2019) “Böceklerde farklı muhafaza koşulları ve zamanın mitokondrial DNA kalitesi üzerine etkisi: Bir Diptera (Tephritidae) örneği çalışması”, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22 (Ek Sayı 2), 361-364.
- Arnedo, M.A., Coddington, J., Agnarsson, I. and Gillespie, R.G. (2004) “From a comb to a tree: phylogenetic relationships of the comb-footed spiders (Araneae, Theridiidae) inferred from nuclear and mitochondrial genes”, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 225–245.
- Arslan, D. (2017) “Gaziantep ili *Alopecosa* cinsi (Araneae: Lycosidae) örümceklerin DNA barkod ile moleküler tanımlanması”, Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gaziantep, 6-11.
- Astrin, J.J., Huber, B.A., Misof, B. and Klütsch, C.F.C. (2006) “Molecular taxonomy in Pholcid spiders (Pholcidae, Araneae): evaluation of species identification methods using CO1 and 16S rRNA”, *Zoologica Scripta*, 35(5), 441-457.
- Astrin, J.J. (2016) “Towards a DNA barcode reference database for spiders and harvestmen of Germany”, *Plos One*, 11(9), 2-24.
- Aşçı, F. and Kabak, Ş. (2019) “Molecular analyzing of some water mite species (Acari, Hydrachnidia) using DNA barcodes”, *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12 (2) , 68-81.
- Atlas Biyoteknoloji Laboratuvarı, OSTİM /Ankara.
- Aygün, F. (2006) “*Vicia canescens* populasyonları arasındaki varyasyonunun RAPD ve FAMES ile analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 13-14.
- Bayram, A., Danışman, T., Yeşilyurt, F., Çorak, İ. ve Ünal, M. (2005) “Kırıkkale ilinin araneo-faunası üzerine (Arthropoda: Arachnida)”, *Ekoloji*, 14 (56), 1-8.
- Bayram, A., Çorak, İ. ve Danışman, T. (2007) “Ankara-Soğuksu milli parkı ve çevresinin otbiçen faunasının araştırılması (Arachnida: Opiliones)”, *TÜBİTAK*, TBAG, No: 2437/104T046.
- Bayram, A. and Çorak, İ. (2007) “A new record for the harvest spider fauna of Turkey: *Dicranolasma giljarovi* Silhavy, 1966 (Opilionida, Dicranolasmatidae)”, *Turkish Journal of Zoology*, 31 (1), 9-12.

- Bayram, A., Çorak, İ., Danişman, T., Sancak, Z. and Yigit, N. (2010) “Checklist of the harvestmen of Turkey (Arachnida: Opiliones)”, *Munis Entomology and Zoology*, 5 (2), 563-585.
- Benavides, L.R., Hormiga, G. and Giribet, G. (2019) “Phylogeny, evolution and systematic revision of the mite harvestman family Neogoveidae (Opiliones Cyphophthalmi)”, *Invertebrate Systematics*, 33, 101-108.
- Benjamin, S. P., Dimitrova, D., Gillespie, R.G. and Hormigaa, G. (2007) “Family ties: molecular phylogeny of crab spiders (Araneae: Thomisidae)”, *Cladistics*, 20, 708–722.
- Bisen, P.S. (2014) “Laboratory protocols in applied life sciences”, *CRC Press*, Taylor and Francis Group.
- Blaxter, M. (2003) “Counting angels with DNA”, *Nature*, 421, 122-124.
- Blick, T. and Komposch, C. (2004) “Checklist of the harvestmen of central and northern europe (Arachnida: Opiliones)” [http://www.arages.de/checklist/checklist04\\_species\\_opiliones.html](http://www.arages.de/checklist/checklist04_species_opiliones.html) Son erişim tarihi: 10.05.2019.
- Boyer, S.L., Karamam, I.M. and Giribet, G. (2005) “The genus *Cyphophthalmus* (Arachnida, Opiliones, Cyphophthalmi) in Europe: a phylogenetic approach to Balkan peninsula biogeography”, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36(3), 554-67.
- Boyer, S.L. and Giribet, G. (2007) “A new model gondwanan taxon: systematics and biogeography of the harvestman family Pettalidae (Arachnida, Opiliones, Cyphophthalmi), with a taxonomic revision of genera from australia and New Zealand”, *Cladistics*, 23(4), 337-361.
- Brown, W.M. (1985) “The mitochondrial genome of animals. In: MacIntyre, R.J. Ed.”, *Molecular Evolutionary Genetics*, Plenum, New York, 95-130.
- Brown-Elliott, B.A., Brown, J.M., Conville, P.S. and Wallace, R.J. (2006) “Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taksonomy”, *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 259-282.
- Cameron, S.L., Beckenbach, T.A., Downton, M. and Whiting, F.M. (2006) “Evidence from mitochondrial genomics on interordinal relationships in insects”, *Arthropod Systematics and Phylogeny*, 64 (1), 27-34.
- Cameron, S.L., Lambkin, C.L., Barker, S.C. and Whiting, M.F. (2007) “Utility of mitochondrial genomes as phylogenetic markers forinsect intraordinal relationships-a case study from flies (diptera)”, *Systematic Entomology*, 38 (1), 274-9.

- Chemeris, A.N. and Kovblyuk, M.M. (2005) “A contribution to the knowledge of the harvestman fauna of the crimea (Arachnida: Opiliones)”, *Arthropoda Selecta*, 14 (4), 305-328.
- Chen, L.H., Duan, Q.J., Cai, M.T., Wu, Y.D. and Shang, S.Q. (2009) “Rapid diagnosis of sepsis and bacterial meningitis in children with real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction amplification in the bacterial 16S rRNA gene”, *Clinical Pediatr*, 48, 641-7.
- Chen, S.L. and Shih, H.T. (2017) “Descriptions of three new species of the harvestmen genus *Pseudogagrella* (Opiliones: Sclerosomatidae: Gagrellinae) from Taiwan, supported by morphological and molecular evidence”, *Zootaxa*, 4268, 34-52.
- Chen, S.L. and Shih, H.T. (2018) “A review of the harvestman genus *Metadentobunus* (Opiliones: Sclerosomatidae: Gagrellinae) with a description of a new species from Taiwan”, *Zoological Studies*, 57, 1-16.
- Chevrizov, B.P. (1979) “Краткий определитель сенокосцев (Opiliones) европейкой части СССР [Kratkiy opredelitel' senokostsev (Opiliones) evropeykooy chasti SSSR = A brief key to the harvest-spiders (Opiliones) of the European territory of the USSR]. Fauna i ekologiya paukoobraznykh [The Fauna and Ecology of Arachnida]. Trudy Zoologicheskogo Instituta AN SSSR [Proceedings of the Zoological Institute Academy of Sciences of the USSR], 85, 4-27.
- Cloudsley, J. and Thompson, J.L. (1958) “Spiders, scorpions”, *Centipedes and Mite*, 132-147.
- Clouse and Wheeler (2014) “Descriptions of two new, cryptic species of *Metasiro* (Arachnida: Opiliones: Cyphophthalmi: Neogoveidae) from South Carolina, USA, including a discussion of mitochondrial mutation rates”, *Zootaxa*, 3814 (2), 177-201.
- Cruz-López, J.A., Cruz-Bonilla A. and Francke, O.F. (2019) “Molecules and morphology reveal a new aberrant harvestman genus of Ortholasmatinae (Opiliones, Dyspnoi, Nemastomatidae) From Mexico”, *Systematics and Biodiversity*, 16:7, 714-729.
- Çorak, İ., Bayram, A., Karol, S., Danişman, T., Sancak, Z. and Yigit, N. (2008) “A new record for the harvestmen fauna of Turkey: *Lacinius ehippiatus* (C.L. Koch, 1835) (Opiliones, Phalangiidae)”, *Turkish Journal of Arachnology*, 1 (2), 114-117.
- Çorak, İ. (2010) “Antalya ili otbiçenlerin sistematiği ve biyokolojisi (Arachnida: Opiliones)”, Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kırıkkale.

- Erbaş, A. (2016) “*Pardosa* (Araneae: Lycosidae) cinsi örümceklerde DNA barkod çalışmaları”, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Gaziantep.
- Finch TV. 1.4. [www.geospiza.com/ftvdlinfo.html](http://www.geospiza.com/ftvdlinfo.html) Son erişim tarihi: 20.05.2019
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994) “DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates”, **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 3 (5), 294-299.
- Genbank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tr> Son erişim Tarihi: 01.08.2019
- Giribet, G. (2010) “The genus *Siro* Latreille, 1796 (Opiliones, Cyphophthalmi, Sironidae), in north America with a phylogenetic analysis based on molecular data and the description of four new species”, **Bulletin of The Museum of Comparative Zoology**, 160, 1-33.
- Giribet, G., Boyer, S.L., Baker C.M., Fernandez, R., Sharma, P.P., Bivort, B.L., Daniels S.R., Harvey, M.S. and Griswold, C.E. (2016) “A molecular phylogeny of the temperate gondwanan family Pettalidae (Arachnida, Opiliones, Cyphophthalmi) and the limits of taxonomic sampling”, **Zoological Journal of The Linnean Society**, 178(3), 523-545.
- Giribet, G., Benavides, L.R. and Merino-Sáinz, I. (2017) “The systematics and biogeography of the mite harvestman family Sironidae (Arachnida: Opiliones: Cyphophthalmi) with the description of five new species”, **Invertebrate Systematics**, 31, 456-491.
- Goodfellow, M. and Fiedler, H.P. (2010) “A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics”, **Antonie van Leeuwenhoek**, 98, 119-142.
- Gruber, J. (1966) “Ergebnisse der von dr. o.paget und dr. e.kritscher auf rhodos durchgeführten zoologischen exkursionen, xv. scorpiones und opiliones (2. teil)”, **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, 69, 423-426.
- Gruber, J. (1968) “Ergebnisse zoologischer sammelreisen in der Türkei: *Calathocratus beieri*, ein neuer troglulidae aus Anatolien (Opiliones, Arachnida)”, **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, 72, 435-441.
- Gruber, J. (1969) “Weberknechte der familien sironidae und troglulidae aus der Türkei (Opiliones, Arachnida) (ergebnisse der Osterreichisch-Türkischen Anatolien-expeditionen 9)”, **Revue de la Faculté des Sciences de la Université d'Istanbul**, 34 (1-12), 75-88.
- Gruber, J. (1976) “Ergebnisse zoologischer sammelreisen in der Türkei: zwei neue nemastomatidenarten mit stridulationsorganen, nebst anmerkungen zur



- systematischen gliederung der familie (Opiliones, Arachnida)”, *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 80, 781-801.
- Gruber, J. (1978) “Weberknechte (Opiliones, Arach.) von inseln der ägäis”, *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 81, 567-573.
- Gruber, J. (1979) “Ergebnisse zoologischer sammelreisen in der Türkei. über nemastomatiden-arten aus der verwandschaft von *pyza* aus südwestasien und südosteuroopa (Opiliones, Arachnida)”, *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 82, 599-577.
- Gruber, J. (1998) “Beiträge zur systematik der gattung *Dicranolasma* (Arachnida: Opiliones, Dicranolasmatidae) *Dicranolasma thracium* starega und verwandte formen aus südosteuroopa und südwestasien”, *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 100, 489-537.
- Günay, F. (2015) “Türkiye sivrisinek faunası üzerine DNA barkodlama yöntemiyle moleküler analizler”, Yayınlanmış Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 15-16.
- Halden, C., Nilsson, N.O., Rading, M.I. and Sall, T. (1994) “Evaluation of RFLP and RAPD markers in a comparison of brassica napus breeding lines”, *Theoretical and Applied Genetics*, 88, 123-128.
- Hillyard, P.D. and Sankey, J.H.P. (1990) “Harvestmen: keys and notes for the identification of the species”, *Synopses of the British Fauna* (Linnean Society of London), 120.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. and De Waard J.R. (2003a) “Biological identifications through DNA barcodes”, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. and Dewaard, J.R. (2003b) “Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species”, *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 96-99.
- Hedin, M., Tsurusaki, N., Macías-Ordóñez, R. and Shultz, J.W. (2012) “Molecular systematics of sclerosomatid harvestmen (Opiliones, Phalangioidea, Sclerosomatidae): geography is better than taxonomy in predicting phylogeny”, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 224-236.
- Hedrick, P.W. (2005) “Genetics of Population”, *Jones and Bartlett Publishers*, London UK, 737.
- Jameson, D., Gibson, A.P., Hudelot, C. and Higgs, P.G. (2003) “Ogre: a relational database for comparative analysis of mitochondrial genomes”, *Nucleic Acids Research*, 31, 1, 202-206.

- Jizhou, L., Shaoqiang, W., Yongning, Z., Tianyi, Z., Chunyan, F., Guangle, J. and Xiangmei, L. (2014) "Development of a DNA barcoding system for the Ixodida (Acari:Ixodida)", *Mitochondrial DNA*, 25:2, 142-149.
- Keskin, E. and Atar, H.H. (2013) "DNA barcoding commercially important fish species of Turkey", *Publication History*, 13,788-797.
- 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.
- Kulczyński, W. (1903) "Arachnoidea in Asia minore et ad constantinopolim a dre. f. werner collecta", *Sitzungsberichte der K. Akademie der Wissenschaften*, Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, 112 (7), 627-680.
- Kurt, K. (2005) "Niğde ili ve çevresinde yayılış gösteren opiliones (otbiçen)'in (Familya: Gagrellidae, Phalangiidae, Ischyropsalididae) sistematığı", Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde.
- Kurt, K. (2013) "Gümüşhane ve Bayburt illerinin otbiçen (Arachnida: Opiliones) faunası", Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Kurt, K. (2014) "Updated checklist of harvestmen (Arachnida: Opiliones) in Turkey", *Archives of biological sciences*, 66 (4), 1617-1631.
- Kurt, K. (2015) "Maçka (Trabzon) İlçesi ve Çevresinin Otbiçen (Arachnida: Opiliones) Faunası", *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5 (2), 114-123.
- Kurt, K., Babaşoğlu, A., Seyyar, O., Demir, H. and Topçu, A. (2008a) "New faunistic records for the Turkish harvestmen fauna (Arachnida: Opiliones)", *Munis Entomology and Zoology*, 3(2), 654-660.
- Kurt, K., Demir, H., Seyyar, O. and Topçu, A. (2008b), "Some harvestmen records (Arachnida: Opiliones) from Niğde province of Turkey", *Serket*, 11 (1), 2-6. 133.
- Kurt, K., Erman, Ö.K., Demir, H. and Seyyar, O. (2010) "The Turkish harvestmen (opiliones) with zoogeographical remarks", *Serket*, 12 (2), 33-44.
- Kurt, K., Snegovaya, N., Demir, H. and Seyyar, O. (2011) "New data on the harvestmen (Arachnida, Opiliones) of Turkey", *Acta Zoologica Bulgarica*, 63 (2), 145-150.
- Kurt, K. and Erman, Ö.K. (2011) "The first records of the genus *Odiellus* (Opiliones, Phalangiidae) in Turkey with some SEM studies on its morphology", *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 1265-1271.

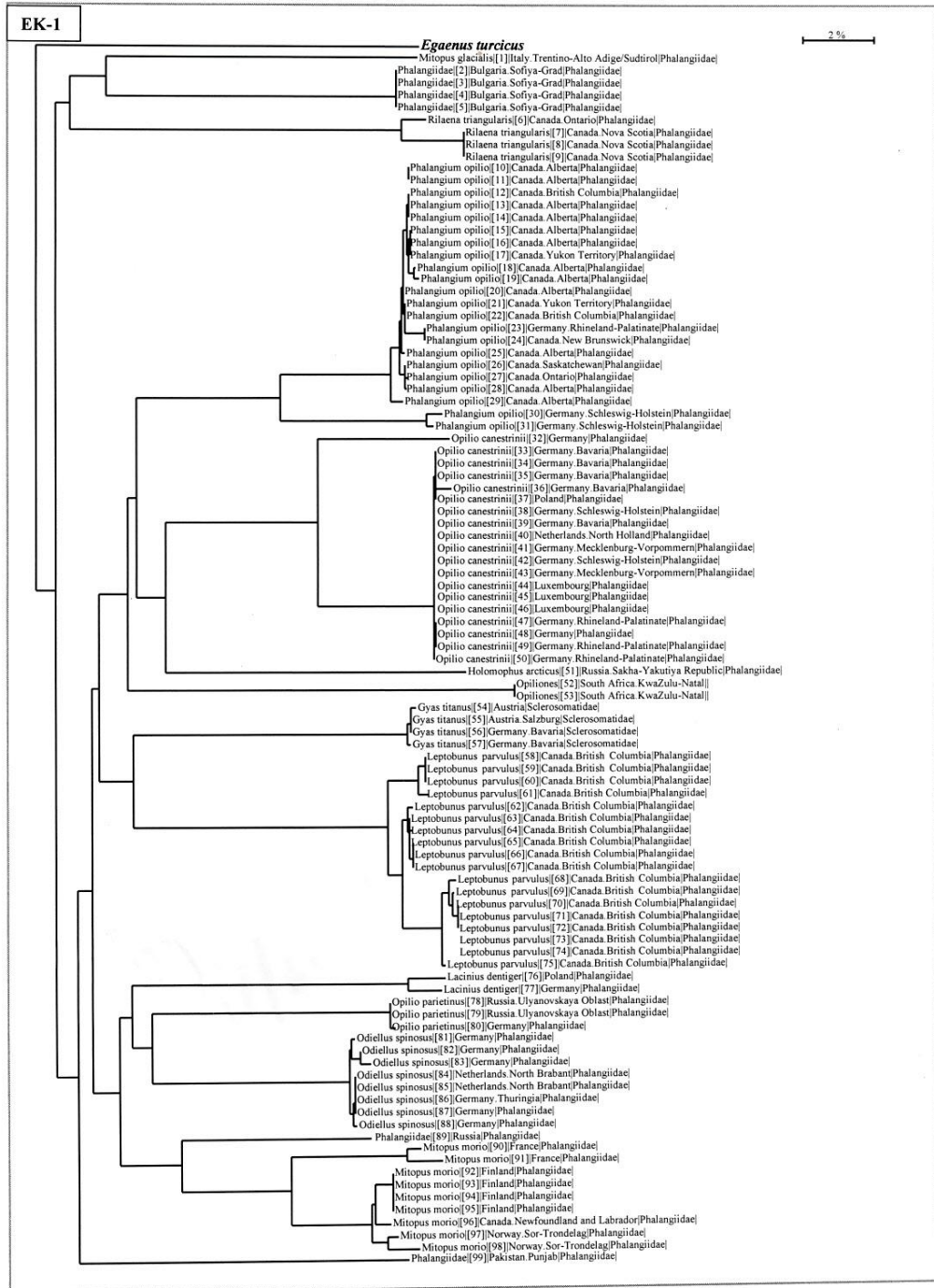
- Kurt, K. and Erman, Ö.K. (2012) “The first record of the species *Lacinius erinaceus* Staręga, 1966 (Opiliones, Phalangiidae) in Turkey with some SEM studies on its morphology”, *Archives of Biological Sciences*, 64 (2), 659-665.
- Kurt, K. ve Yağmur, E.A. (2017) “Türkiye Otbiçen (Arachnida: Opiliones) Faunasına Katkılar, *The Journal of Adyutayam*, 2, 38-49.
- Kury, A.B. (2012) “A synopsis of catalogs and checklists of harvestmen (Arachnida, Opiliones)”, *Zootaxa*, 3184, 35-58.
- Mammadova, R. (2019) “Gaziantep ili *Xysticus* (Thomisidae) cinsi örümceklerin morfolojik ve moleküler (COI ve ITS) yönden araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gaziantep.
- Martens, J. (1978) “Spinnentiere, arachnida: weberknechte, Opiliones”, *Die Tierwelt Deutschlands*, G. Fischer Verlag, Jena, Deutschland, 464.
- Martens, J. (2006) “Weberknechte aus dem Kaukasus (Arachnida, Opiliones, Nemastomatidae) [Harvestmen from the Caucasus (Arachnida, Opiliones, Nemastomatidae)]”, *Senckenbergiana Biologica*, 86 (2), 145-210.
- Meyer, C.P. and Paulay, G. (2005) “DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling”, *Plos Biology*, 3 (12), 422.
- Mkheidze, T.S. (1964) “Mtibavebi (Opiliones). [Opilionidea]. In: Sakartvelos echovelo Samgaro”, 2. *Pechsachsrianebi [Tierwelt in Grusien, 2. Arthropoda]*, 117-126.
- Mishra, U.K., Jacobs, S.E., Doyle, L.W. and Garland, S.M. (2006) “Newer approaches to the diagnosis of early on set neonatal sepsis”, *Archives of Disease in Childhood*, 91, 208-12.
- Mitov, P.G. (2000) “Contribution to the knowledge of the harvestmen (Arachnida: Opiliones) of Albania”, *Ekologia*, 19 (3), 159-170.
- Mitov, P.G. (2012) “Four new harvestmen records from Turkey (Arachnida: Opiliones)”, *Serket*, 13 (1/2), 73-82.
- Murienne, J., Karaman, I. and Giribet, G. (2009) “Explosive evolution of an ancient group of Cyphophthalmi (Arachnida: Opiliones) in the Balkan Peninsula”, *Journal of Biogeography*, 1-12.
- Nosek, A. (1905) “Araneiden, opilionen und chernetiden. in: penther, a., zederbauer, e., ergebnisse einer naturwissenschaftliche reise zum erdschais-dagh (kleinasien)”, *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 20, 114-154.
- Oshaghi M.A., Shemshad, K., Yaghibi-Ershadi, M.R., Pedram, M., Vatandoost, H., Abaie, M.R., Akbarzadeh, K. and Mohtarami, F. (2007) “Genetic structure of the malaria vector *Anopheles superpictus* in Iran using mitochondrial

- cytochrome oxidase (co1 and co11) and morphologic markers: a new species complex”, *Acta Tropica*, 101, 241-248.
- Pavesi, P. (1876) “Atti della società italiana di scienze naturali e del museo civico di storia naturale in milano”, *Gli Aracnidi Turchi*, 19 (1), 1-27.
- Pinto-da-Rocha, R., Machado, G. and Giribet, G. (2007) “Harvestmen: the biology of the Opiliones”, *Harvard University Press*, Cambridge and London, England, 597.
- Pinto-da-Rocha, R., Bragagnolo, C., Marques, F.P.L. and Antunes Junior, M. (2014) “Phylogeny of harvestmen family Gonyleptidae inferred from a multilocus approach (Arachnida: Opiliones)”, *Cladistics*, 30, 519-39.
- Podsiadlowski, L. and Fahren, K. (2010) “The mitochondrial genome of *Opilio parietinus* (Arachnida: Opiliones)”, *Mitochondrial DNA*, 21(5), 149-50
- Ratnasingham, S. and Hebert, P.D.N. (2007) “BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org)”, *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 355-364.
- Redikorzev, V.V. (1936) “Materialy k faune Opiliones SSSR”, *Proceedings of the Zoological*, Institute Akademija Nauk SSSR, 3, 33-57.
- Reesink, H.W., Mohammadi, T., Pietersz, R.N. and Savelkoul, P.H. (2008) “Rapid screening by real-time 16s rDNA PCR for bacterial contamination of blood products”, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 46, 954-62.
- Roewer, C.F. (1911) “Übersicht der genera der subfamilie der phalangiini der opiliones palpatores nebst beschreibung einiger neuer gattungen und arten”, *Archiv für Naturgeschichte*, Berlin, Abt. A, Original-Arbeiten, 77 (2), 1-106.
- Roewer, C.F. (1912) “Revision der Opiliones palpatores (= opiliones plagiostethi). II. Teil: familie der Phalangiidae (Subfamilien: Sclerosomini, Oligolophini, Phalangiini)”, *Abhandlungen aus dem Gebiete der Naturwissenschaften*, Herausgegeben vom Naturwissenschaftlichen Verein in Hamburg, 20 (1), 1-295.
- Roewer, C.F. (1951) “Über Nemastomatiden”, *Weitere Weberknechte XVI. Senckenbergiana*, 32 (1/4), 95-153.
- Roewer, C.F. (1959) “Die araneae, solifuga und opiliones der sammlungen des herrn dr. k. lindberg aus Griechenland, Creta, Anatolien, Iran und Indien, göteborgs kungliga vetenskaps- och vitterhets-samhälles handlingar”, *Senckenbergiana Biologica*, Matematiska och naturvetenskapliga skrifter, 8 (4), 1-47.
- Sachse, K and Frey, J. (2003) “Methods in molecular biology - PCR detection of microbial pathogens”, *Humana Press Inc*, 216, 4-9.
- Savolainen, V. and Chase, M.W. (2003) “A decade of progress in plant molecular phylogenetics”, *Trends Genetics*, 19, 717-724.

- Sharma, P.P. and Giribet, G. (2009a) “Sandokanid phylogeny based on eight molecular markers-the evolution of a southeast asian endemic family of Laniatores (Arachnida, Opiliones)”, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52: 432-447.
- Sharma, P.P. and Giribet, G. (2009b) “The family Troglosironidae (Opiliones: Cyphophthalmi) of new caledonia”, *Memoires du Museum National d'Histoire Naturelle*, 198, 205-245.
- Sharma, P.P., Giribet, G. and Prieto, C.E. (2011) “A new family of Laniatores (Arachnida: Opiliones) from the afrotropics”, *Invertebrate Systematics*, 25, 143-154.
- Shearer, T.L., Oppen, M.J., Romano, S.L. and Wörheide, G. (2002) “Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria)”, *Molecular Ecology*, 11, 475-87.
- Slowik, J. and Blagoev, G. A. (2012) “A survey of spiders (Arachnida: Araneae) of Prince of Wales Island, Alaska; combining morphological and DNA barcode identification techniques”, *Insecta Mundi*, 0251, 1-12.
- Simon, E. (1875) “Liste d'Arachnides recoltés par l'abbé clair a constantinople et description de deux opilionides”, *Annales de la Société Entomologique de France*, 5, 196-198.
- Simon, E. (1878) “Descriptions d'opiliones (faucheurs) nouveaux de la faune circum-méditerranéenne”, *Annales de la Société de Belgique*, 21.
- Snegovaya, N.Y. and Chemeris, A.N. (2005) “A contribution to the knowledge of the harvestman fauna of the zakataly state reserve, Azerbaijan (Arachnida: Opiliones)”, *Arthropoda Selecta*, 13 (4), 263.
- Snegovaya, N.Y. and Marusik, M.Yu. (2012) “New species and collections of Opiliones (Arachnida) from Turkey”, *Acta Arachnologica*, 61(2), 59-70.
- Spoek, G.L. (1963) “The Opilionida (Arachnida) of the Netherlands”, *Zoologische Verhandelingen*, 63, 1-70.
- Starega, W. (1966) “Beitrag zur kenntnis der weberknecht-fauna (Opiliones) der kaukasusländer”, *Annales Zoologici*, 23 (13), 387-411.
- Starega, W. (1973) “Beitrag zur Kenntnis der Weberknechte (Opiliones) des Nahen Ostens”, *Annales Zoologici*, 30 (6), 129-153.
- Starega, W. (1978) “Katalog der weberknechte (Opiliones) der Sowjet-union”, *Fragmenta Faunistica*, 23 (10), 197-241.
- Starega, W. (1984) “Revision der Phalangiidae (Opiliones), III. die afrikanischen gattungen der phalangiinae, nebst katalog aller afrikanischen arten der familie”, *Annales Zoologici*, 38 (1), 1-79.

- Suzuki, S. and Tsurusaki, N. (1983) "Opilionid fauna of hokkaido and its adjacent areas", *Journal of the Faculty of Science Hokkaido University*, Series VI Zoology, 23(2), 195-243.
- Şenol, Ö. (2015) "Afyonkarahisar, Uşak, Kütahya ve Niğde illerinde dağılım gösteren *Hyalopterus* (Hemiptera: Aphidoidea: Aphididae) cinsi üyelerinin morfolojik ve genetik varyasyonlarının belirlenmesi", Ömer Halisdemir Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, Niğde.
- Tindall, J., Rosselló-Móra, R., Busse, H.J., Ludwing, W. and Kampfer, P. (2010) "Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 249-266.
- Vaschetto, L.M., González-Ittig, R.E., Vergara, J. and Acosta, L.E. (2005) "High genetic diversity in the harvestman *Geraecormobius sylvarum* (Arachnida, Opiliones, Gonyleptidae) from subtropical forests in north-eastern Argentina revealed by mitochondrial DNA sequences", *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53(3), 211-218.
- Veri tabanı 1. Boldsystems, <http://www.boldsystems.org>, Son erişim tarihi: 20.10.2019.
- Wang, Z.L., Yang, X.Q., Wang, T.Z. and Yu, X. (2018) "Assessing the effectiveness of mitochondrial COI and 16S rRNA genes for DNA barcoding of farmland spiders in China", *Mitochondrial DNA Part A*, 29 (5), 695-702.
- Wolstenholme, D.R. (1992) "Animal mitochondrial DNA: structure and evolution", *International Review of Cytology*, 141, 173-216.
- Yıldırım, N. (2010) "Çoruh vadisinde yetişen kabarcık (*Vitis vinifera*) çeşidi populasyonları arasındaki genetik ve morfolojik farklılığın belirlenmesi", Atatürk Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, Erzurum.
- Yigit, N., Bayram, A., Çorak, İ. and Danisman, T. (2007) "External morphology of the male harvestman *Phalangium opilio* (Arachnida: Opiliones)", *Annals of the Entomological Society of America*, 100 (4), 574-581.

EKLER

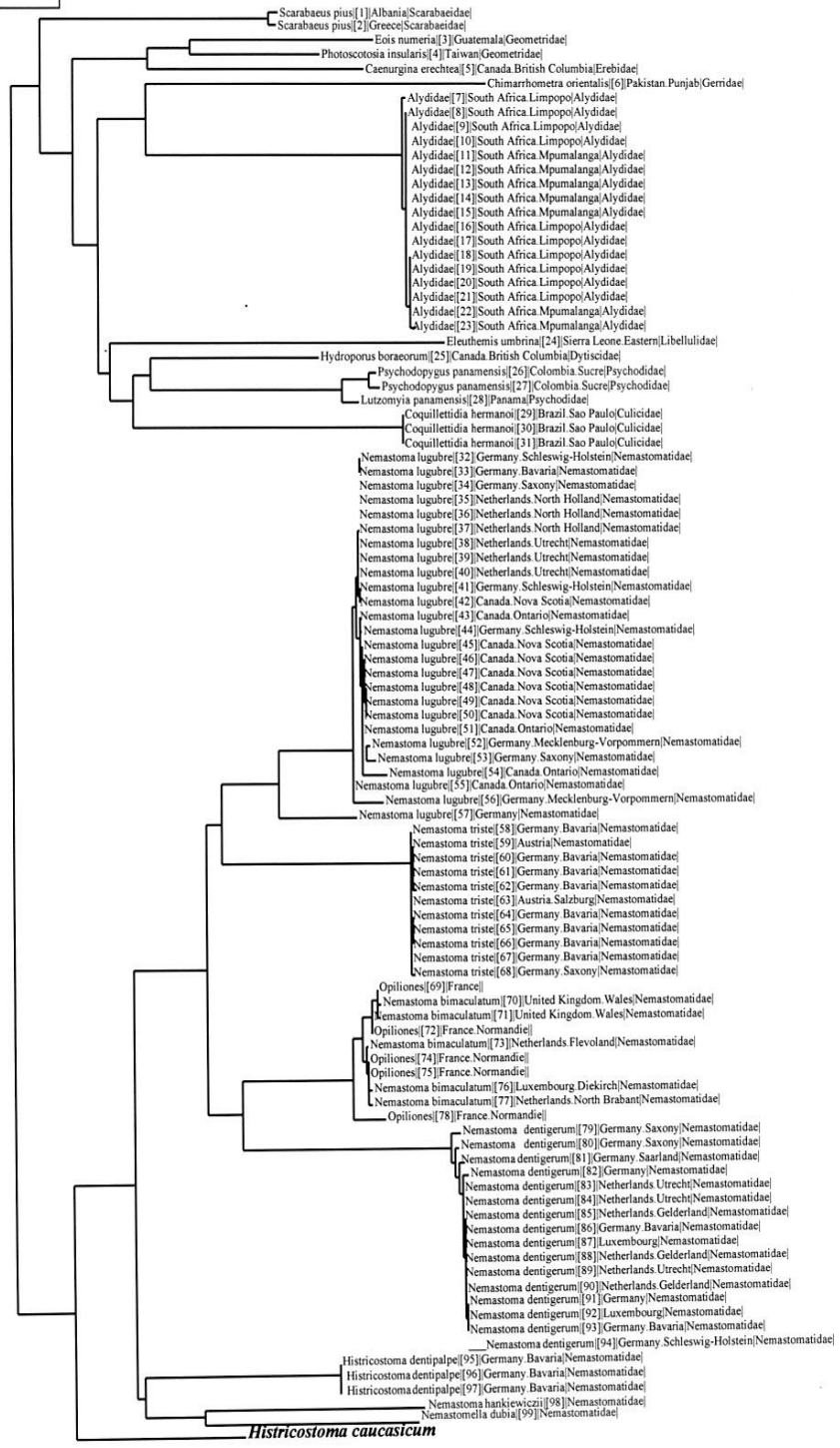






EK-3

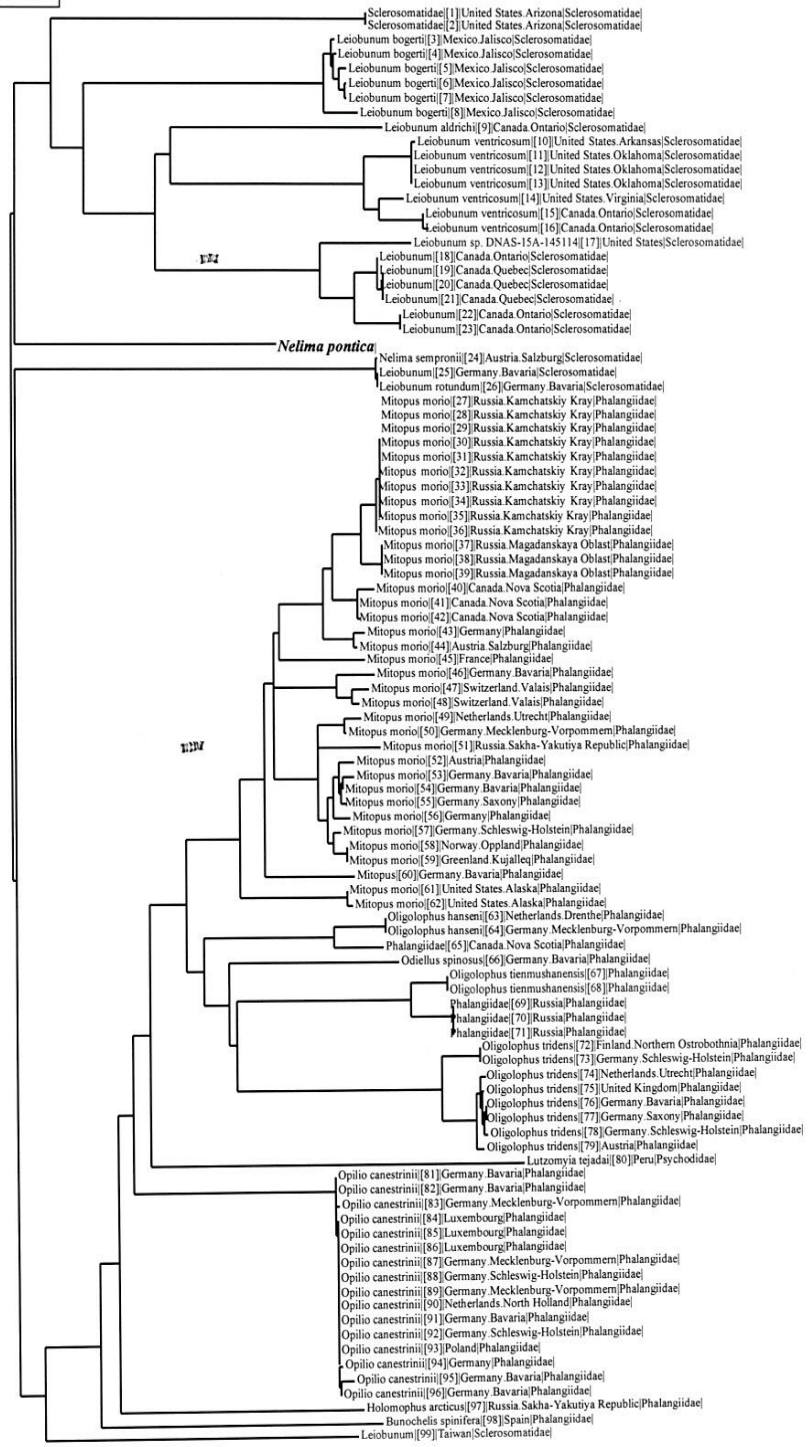
2%





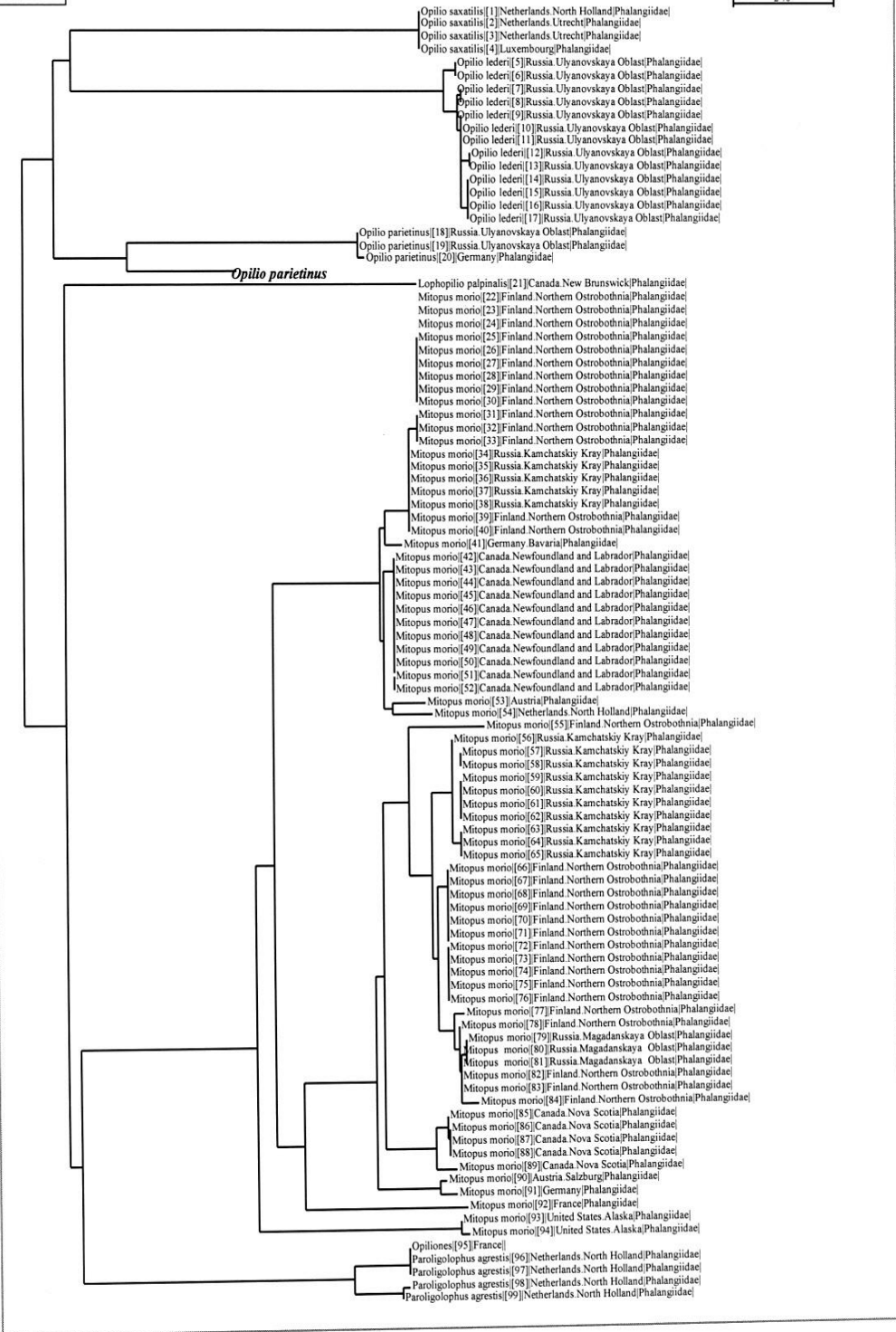
EK-5

2%



100

EK-6







**Ek-9.** Tez Çalışması Süresince Yapılan Akademik Çalışmalar

Yıldırım Doğan, N., Kurt, P. (2020) “Phylogenetic analysis of *Nelima pontica* (Opiliones: Sclerosomatidae) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes”, *Acta Biologica Turcica*, 33(1): 8-11.



## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Gümüşhane’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. 2003 yılında Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda ve Gümüşhane Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Afet Yönetimi Anabilim Dalı’nda yüksek lisansını tamamladı. Gümüşhane Üniversitesi Şiran Mustafa Beyaz Meslek Yüksek Okulu’nda, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü Acil Durum ve Afet Yönetimi programında Öğretim Görevlisi olarak görev yapmakta.

