T.C. ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İKİ NOKTALI KIRMIZI ÖRÜMCEK [*TETRANYCHUS URTICAE* (ACARI: ______TETRANYCHIDAE)] AĞININ YAPISAL KARAKTERİZASYONU

Mustafa ÇAĞLAR

Danışman: Prof. Dr. Salih DOĞAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZİNCAN 2017

Her Hakkı Saklıdır

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

Mustafa ÇAĞLAR

Att

"İki Noktalı Kırmızı Örümcek [*Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)] Ağının Yapısal Karakterizasyonu" adlı yüksek lisans tezi, Erzincan Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Salih DOĞAN Danışman

Mustafa ÇAĞLAR Tezi Hazırlayan

24

Prof. Dr. Salih DOĞAN Biyoloji ABD Başkanı Prof. Dr. Salih DOĞAN ve Doç. Dr. Çağrı ÇIRAK danışmanlığında, Mustafa ÇAĞLAR tarafından hazırlanan bu çalışma 06/01/2017 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Ahmet TABAK
Üye	: Prof. Dr. Salih DOĞAN (Danışman)
Üye	: Doç. Dr. Çağrı ÇIRAK (Ortak Danışman)
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Erhan ZEYTUN E-MM

Yukarıdaki sonucu onaylarım 06.../02/2017

Prof. Dr. Paşa YALÇIN Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İKİ NOKTALI KIRMIZI ÖRÜMCEK [*TETRANYCHUS URTICAE* (ACARI: TETRANYCHIDAE)] AĞININ YAPISAL KARAKTERİZASYONU

Mustafa ÇAĞLAR

Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Salih DOĞAN Ortak Danışman: Doç. Dr. Çağrı ÇIRAK

Bu çalışmada, iki noktalı kırmızı örümcek akarı (*Tetranychus urticae*) tarafından üretilen ağ ipliklerinin bazı morfolojik ve yapısal özellikleri atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-Işını spektofotometre (EDX) ve seyreltilmiş toplam yansıma-Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (ATR-FTIR) kullanılarak aydınlatıldı.

AFM görüntülerinden, gerek dişi gerekse erkek akarlar tarafından örülen ağ ipliklerinin şekillerinin benzer ve içbükey silindirik bir yapıya sahip oldukları, genel olarak dişi akarlar tarafından örülen ağ ipliklerinin erkek akarlarınkinden nispeten daha pürüzsüz bir yapıda olduğu gözlendi. Bunun yanında hem dişi hem de erkek ağ ipliklerinin tekli ve ikili yapıda nakşedildikleri anlaşıldı.

Akarların büyüklüğüne bağlı olarak dişi ve erkek bireyler tarafından üretilen ağların boyutlarında önemli farklılıklar tespit edildi. Ancak gerek dişi gerekse erkek akarların vücut ölçüleri ile yaptığı ağların boyutları arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunamadı.

Ağ malzemesinde ağırlıklı olarak C, N ve O elementlerinin bulunduğu ve az miktarlarda ise Al, P, Cl ve K elementlerinin yer aldığı belirlendi. İki noktalı kırmızı örümcek akarı tarafından salgılanan ağ ipliklerinin ATR-FTIR spektrumunda ağın yapısında bulunan rastgele sarım ve β -tabaka konformasyonlarına sahip protein yapısının amid gruplarına ait karakteristik IR bantları gözlendi.

İki noktalı kırmızı örümcek ağının özelliklerinin belirlenmesi; biyomalzeme üretimi ve malzeme bilimleriyle ilgili diğer alanlarda yapılacak araştırmalar için pratik öneme sahip olabilelceği değerlendirildi.

2017, 89 sayfa

Anahtar Kelimeler: Tetranychus urticae, ağ ipliği, AFM, ATR-FTIR, SEM EDX.

ABSTRACT

Master Thesis

STRUCTURAL CHARACTERISATION OF THE SILK OF TWO-SPOTTED SPIDER MITE [*TETRANYCHUS URTICAE* (ACARI: TETRANYCHIDAE)]

Mustafa ÇAĞLAR

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

Supervisor: Prof. Dr. Salih DOĞAN Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Çağrı ÇIRAK

The present investigation was undertaken to obtain information about the structural and morphological properties of the silk of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) by means of the atomic force microscope (AFM), scanning electron microscope (SEM), energy dispersive X-ray spectrophotometer (EDX) and attenuated total reflection Fourier transmission infrared spectroscopy (ATR-FTIR) techniques.

AFM images show that the shapes of silken threads produced by both female and male mites are similar and have concave cylindrical structure. In general, the appearance of silks produced by female mites is smoother than those of the male mites. In addition, it is determined that the silk threads produced by both female and male individuals have single and double stranded structure.

There were obvious differences in the thread dimensions of the female and male which could be depend on the body size of the mites. However, there is no statistically meaningful relation between the body size of the mites and their thread dimensions.

The silk material was found to consist predominantly C, N and O elements and minor fractions of Al, P, Cl and K. The ATR-FTIR spectrum of the silk of two-spotted spider mite exhibited characteristic vibrational modes originating from amid groups, which were attributed to random coil and β -sheet molecular conformation in the protein structure of the silk of two-spotted spider mite.

Understanding the features of the two-spotted spider mite silks may be of practical importance for the future studies related to biomaterial and material science.

2017, 89 pages

Keywords: Tetranychus urticae, silk, AFM, ATR-FTIR, SEM, EDX.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, akademik çalışma azim ve kararlılığı veren, bilimsel çalışma yöntem ve disiplinini öğreten, tezimin başlangıcından sonuçlanmasına kadar katkılarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Salih DOĞAN'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımda öneri ve büyük yardımlarını gördüğüm, özellikle yüzey morfolojisi çalışmalarıyla tezime çok büyük katkılarda bulunan hocam Sayın Doç. Dr. Çağrı ÇIRAK'a şükranlarımı arz ederim.

Çalışmalarımda ağ yapılarının aydınlatılmasında, deneysel verilerinin toplanmasında, değerlendirilmesinde ve yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR, Doç. Dr. Sema ÇAĞLAR, Yrd. Doç. Dr. Erhan ZEYTUN ve Yrd. Doç. Dr Etem OSMA'ya minnettarım.

Tezimin tamamlanabilmesi için FOA-2016-372 nolu projeyle maddi destek sağlayan Erzincan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (EÜBAP) teşekkür ederim.

Tez hazırlama süresince her türlü desteğiyle yanımda olan eşim Beyza ÇAĞLAR ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

Mustafa ÇAĞLAR Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	
ABSTRACT	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR	\
TABLOLAR LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	11
1.1. Genel Bilgiler	11
1.2. Infrared ve ATR Spektroskopisi	17
1.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	27
1.4. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	32
2. KAYNAK ÖZETLERİ	34
3. MATERYAL ve YÖNTEM	4(
3.1. Materyal	40
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	40
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	4(
3.2. Yöntem	41
3.3. Verilerin Analizi	42
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	47
4.1. SEM/EDX Verilerinin Değerlendirilmesi	47
4.2. İki Noktalı Kırmızı Örümcek Ağının ATR-FTIR Verilerinin Değerlendirilmesi	49
4.3. İki Noktalı Kırmızı Örümcek Ağının AFM Verilerinin Değerlendirilmesi	51
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	79
6. KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	89

SİMGELER ve KISALTMALAR

Å	Angstrom (10^{-10} m)			
λ	Dalga Boyu, m			
nm	Nanometre (10 ⁻⁹ m)			
μm	Mikrometre (10^{-6} m)			
ν	Frekans, s ⁻¹			
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared			
TR	Seyreltilmiş Toplam Yansıma			
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu			
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu			
EDX	Enerji Dağılımlı X-Işınları Analizi			

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.3. IR spektroskopisinde gözlenen amid bantlarının (I-III) özellikleri (Peve McLean, 2000; Shang, vd., 2013)	lton, 25
Tablo 1.4. İpek böceğinin (<i>Bombyx mori</i>) ipeğine ait amid I bant bölgesir titreşim bantlarının dalga sayıları ve bunlara karşılık gelen titreşim türleri (Hu 2006)	ideki vd., 26
Tablo 1.5. <i>Bombyx mori</i> 'nin ipeğine ait IR bantları ve karşılık gelen titreşi (Koperska vd., 2014)	mler 26
Tablo 4.1. Tetranychus urticae ipeğinin elementel analiz verileri	48
Tablo 4.2. Tetranychus urticae tarafından salgılanan ipeğin ATR-FTIR titr bantları	eşim 50
Tablo 4.3. Tetranychus urticae erkek ve dişisinin yaptığı tekli ve çiftli arasındaki ilişki	ağlar 53
Tablo 4.4. <i>Tetranychus urticae</i> (Erkek) vücut ölçüleri ile tekli ve çiftli ağı arasır korelasyon	ndaki 54
Tablo 4.5. Tetranychus urticae (Dişi) vücut ölçüleri ile tekli ve çiftli ağı arasır korelasyon	ndaki 55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Tetranychus urticae (Larva)
Şekil 1.2. Tetranychus urticae (Dişi)12
Şekil 1.3. Tetranychus urticae (Erkek)12
Şekil 1.4. (A) Tetranychus urticae (B) Fesleğen bitkisinde oluşturduğu ağ yapısı 13
Şekil 1.5. Tetranychus urticae (Palpler)
Şekil 1.6. Elektromanyetik spektrum
Şekil 1.7. Moleküllerde titreşim türleri (Akar, 2011)
Şekil 1.8. ATR spektroskopisi
Şekil 1.9. Taramalı elektron mikroskobunun şematik gösterimi (Egerton, 2005) 29
Şekil 1.10. Stenopsyche marmorata tarafından yapılan ağların SEM görüntüsü(Tsukada vd., 2010)31
Şekil 1.11. Kırmızı dokumacı karıncalar tarafından üretilen ağ ipliklerin SEM görüntüsü (Siri ve Maensiri, 2010)
Şekil 1.12. AFM'nin şematik gösterimi (Anonim)
Şekil 3.1. Bitki büyütme kabininde yetiştirilmekte olan Ocimum basilicum (fesleğen) 43
Şekil 3.2. T. urticae'nin doğal bir konakçısı olan olan Ocimum basilicum (fesleğen) 44
Şekil 3.3. Tetranychus urticae'nin Ocimum basilicum (fesleğen) yapraklarında oluşturduğu hasar
Şekil 3.4. Ocimum basilicum (fesleğen) üzerinde bir dişi Tetranychus urticae bireyi 45
Şekil 3.5. Tetranychus urticae bireylerinin alındığı cam diskler
Şekil 3.6. <i>Tetranychus urticae</i> bireylerinin 24 saat bekletilerek ağ yapmalarının sağlandığı cam diskler

Şekil 4.1. Tetranychus urticae yumurtası ve ipeğinin SEM görüntüsü
Şekil 4.2. Tetranychus urticae ipeğinin SEM/EDX verileri
Şekil 4.3. Tetranychus urticae tarafından salgılanan ipeğin ATR-FTIR spektrumu. 50
Şekil 4.4. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü 56
Şekil 4.5. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)
Şekil 4.6. <i>Tetranychus urticae</i> (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.7. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.8. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.9. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü 59
Şekil 4.10. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)
Şekil 4.11. <i>Tetranychus urticae</i> (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan) 60
Şekil 4.12. <i>Tetranychus urticae</i> (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (üst)
Şekil 4.13. <i>Tetranychus urticae</i> (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.14. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü. 62
Şekil 4.15. <i>Tetranychus urticae</i> (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (üst)
Şekil 4.16. <i>Tetranychus urticae</i> (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.17. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.18. <i>Tetranychus urticae</i> (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)

Şekil 4.19. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü. 65
Şekil 4.20. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)
Şekil 4.21. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.22. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.23. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)
Şekil 4.24. Tetranychus urticae (Dişi). Vücut uzunluğuna ait değerler
Şekil 4.25. Tetranychus urticae (Dişi). Vücut genişliğine ait değerler
Şekil 4.26. Tetranychus urticae (Dişi). Vücudun uzunluk/genişlik değerleri 69
Şekil 4.27. Tetranychus urticae (Dişi). Gnathosomanın uzunluk değerleri
Şekil 4.28. Tetranychus urticae (Dişi). Palpin uzunluk değerleri
Şekil 4.29. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin yükseklik değerleri
Şekil 4.30. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin genişlik değerleri
Şekil 4.31. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri 71
Şekil 4.32. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin yükseklik değerleri
Şekil 4.33. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin genişlik değerleri
Şekil 4.34. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri 73
Şekil 4.35. Tetranychus urticae (Erkek). Vücut uzunluğuna ait değerler
Şekil 4.36. Tetranychus urticae (Erkek). Vücut genişliğine ait değerler
Şekil 4.37. Tetranychus urticae (Erkek). Vücudun uzunluk/genişlik değerleri 74
Şekil 4.38. Tetranychus urticae (Erkek). Gnathosomanın uzunluk değerleri
Şekil 4.39. Tetranychus urticae (Erkek). Palpin uzunluk değerleri

Şekil 4.40. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin yükseklik değerleri	6
Şekil 4.41. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin genişlik değerleri	6
Şekil 4.42. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri. 7	7
Şekil 4.43. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin yükseklik değerleri	7
Şekil 4.44. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin genişlik değerleri	8
Sekil 4.45. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri. 7	8



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Kültür bitkilerinin verim ve kalitesini azaltan biyotik etkenler arasında zararlılar olarak bilinen hayvanlar böcekler, akarlar, nematodlar, salyangozlar, kemirgenler, memeliler ve kuşlardır. Bu organizmalar kültür bitkileri ve ürünlerini kemirip yemek, bitki öz suyunu emmek, bitki dokularını çürütmek, bitki hastalık etmenlerini sağlıklı bitkilere taşımak, salgıları ve diğer çıkartıları ile ürünleri kirletmek ve kaliteyi düşürmek suretiyle ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bunlar arasında fitofag akarlar, kültür bitkilerinin verim ve kalitesini azaltan organizmaların başında gelmektedir. Akarlardan özellikle iki noktalı kırmızı örümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (Şekil 1.1-3) dünyanın diğer tarımsal bölgelerinde olduğu gibi, ülkemizde de hemen hemen tüm tarımsal alanlarda bulunmaktadır (Özbek vd., 1998; Özbek ve Hayat 2003; Seeman ve Beard, 2005).



Şekil 1.1. Tetranychus urticae (Larva)



Şekil 1.2. Tetranychus urticae (Dişi)



T. urticae iklim koşullarının uygun olduğu yerlerde kış aylarında da faaliyetini sürdürür. Soğuk yörelerde ise kışı döllenmiş dişi halinde ağaç ve çalıların gövde ve dallarındaki gizlenebileceği yerlerde, yaprak ve bitki kırıntıları arasında geçirir. İlkbaharda havaların ısınmasıyla aktivitelerini artıran ve kışlama yerlerinden çıkan akarlar yabancı otlardan kültür bitkilerine geçer. Yaprakların alt yüzeylerinde ağ örer ve yumurtalarını bu ağ içerisine bırakırlar (Şekil 1.4). Beslenmek için bitkinin körpe kısımlarını tercih etmekle birlikte, popülasyon yoğunluğu arttığında yaşlı yaprakları da tercih etmektedirler (Özbek vd., 1998; Özbek ve Hayat 2003; Zhang, 2003; Gerson ve Weintraub, 2007).



Şekil 1.4. (A) Tetranychus urticae (B) Fesleğen bitkisinde oluşturduğu ağ yapısı

T. urticae beslendiği bitkide bitki öz suyunu emdiği için yaprağın rengi sararır ve bitkinin klorofil miktarı azaldığı için fotosentez hızı azalır. Bu yapraklar kıvrılarak dökülür ve sonuç olarak zararlının beslendiği bitkide büyük verim kayıpları görülür. Bu zararlarının yanında *T. urticae*'nin birçok bitki virüs hastalıklarına vektörlük ettiği de belirtilmektedir. *T. urticae*; kültür bitkilerinden domates, kavun, karpuz, hıyar, kabak, patlıcan, fasulye, bezelye, börülce, pamuk, çilek, yer fistiği ve ayçiçeğinde ayrıca süs bitkileri ve meyve ağaçlarında beslenen polifag bir zararlı akar türüdür (Özbek vd., 1998; Özbek ve Hayat 2003). Hemen hemen tüm dünyada bahçe ve tarla bitkilerinde zarar oluşturduğu rapor edilmiştir (Zhang vd., 2002; Zhang, 2003).

Zararlının yaprak hücresini delmesiyle enzim salgılar ve klorofili eritir, sonra içeriğini emer. Sonuçta yaprakta soluk bir leke oluşur, hücre kurur, bitişikteki hücreler zarar görür. Bu akar çeşidinin en karakteristik özelliklerinden birisi ağ örmeleridir (Şekil 1.4). Akarlar pedipalpleri sayesinde hareket ettikçe ağlarını ağaç gövdeleri ve yaprakların üzerine örmektedir. Zararlının yoğun olduğu bitkilerde, yaprakların kuruyup düşmelerine ve ağ ile kaplanıp erken ölmelerine sebep olmaktadır (Zhang, 2003).

Ağ yapma yeteneği hayvanlar içerisinde eklembacaklılara (Arthropoda) özgüdür (Le Goff vd., 2011). *T. urticae*, örümcekler gibi ağ üretme yeteneğine sahiptir. Bu hayvanlar için kullanılan "örümcek akarı" tabiri bu özelliklerinden kaynaklanır. Akarlar (Acari) arasında ağ üretme yeteneği Bdellidae, Eriophyidae, Erythraeidae, Camerobiidae, Cheyletidae, Cunaxidae, Hydrachnidia, Tetranychidae ve Trombidiidae üyelerinde bilinmektedir (Shatrov, 2014; Ray ve Hoy, 2014). Akarlardan başka ağ yapma, Lepidoptera ve Hymenoptera grubu böceklerde, örümcek (Araneae) ve yalancıakrep (Pseudoscorpionida) gibi bazı Arachnida üyelerinde de görülür (Clotuche vd., 2012, 2013a).

Örümcek akarının ağ ipliği, ikinci çift üyeleri olan palp tarsusundaki birer büyük yapılı öpathidiyum tarafından salgılanır (Şekil 1.5). Farklılaşmış tükrük bezleri olarak kabul edilen bu terminal organ sayesinde iplik üretimi gerçekleşir. Akar hareket ederken palplerini substrata değdirerek ağ ipliğini salgılar (Saitô, 1977a,b; Zhang vd., 2002; Le Goff, 2011).



Şekil 1.5. Tetranychus urticae (Palpler)

T. urticae ağının birincil işlevi, yumurtaları ve koloninin hayvanın yırtıcı avcıları ve rakipleri gibi biyotik etkenlerden, aşırı sıcaklık ve nem koşulları, yağmur, rüzgâr ve akarisid gibi abiyotik etkenlerden korumaktır. İplik; hayvanın hareketi, dağılımı ve mikrohabitat seçimine de hizmet eder. Aynı zamanda da eşey feromonlarına substrat teşkil eder (McGregor, 1950; Saitô, 1977a, 1979; Sabelis, 1985; Sabelis ve Bakker, 1992; Zhang vd., 2002; Yano, 2008; Tienvd., 2009; Clotuche vd., 2009, 2011, 2012, 2013a,b, 2014; Le Goff, 2011; Le Goff vd., 2011).

Bitki paraziti olan iki noktalı kırmızı örümcek akarının sağlıklı bir bitkiye bulaşmasında ağın önemi büyüktür. Sağlıklı bir konakçı bitkiye ulaşan akar, önce yaprağın alt yüzeyine ağ örer, sonrasında bu ağın altına yumurtalarını bırakır. Ağ ipliğinin yukarıda belirtilen fonksiyonlarının yanında hayvanın taşınımında da önemi büyüktür. Küçük yapılı olan akarların rüzgârın etkisiyle taşınması söz konusudur. Tetranychidae üyelerinin de hava akımıyla taşınımı gözlenmiştir (Clotuche vd., 2011, 2013b, Doğan, 2012).

Hayvanlar tarafından üretilen ağ ipliği sağlam yapıya sahip olduğundan dolayı uzun süredir tekstil ürünlerinde ve son zamanlarda dikiş malzemelerinde kullanılmaktadır (Asakura vd., 2013; Hudson vd., 2013). Ağın yakın zamanda biyomalzeme olarak kullanımı umut verici görünmektedir (Vepari ve Kaplan, 2007; Siri ve Maensiri, 2010; Zhang vd., 2012). Bu nedenle hayvanlar tarafından üretilen çeşitli ağ ipliklerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin bilinmesi konusunda bilim camiasında büyük bir ilginin olduğu söylenebilir.

Günümüze kadar iki noktalı kırmızı örümceğin biyolojisi ve kontrolü üzerine yoğun calısmalar yapılmıştır. Bunun yanında kırmızı örümcek ağının fonksiyonları üzerine de çalışmalar bulunmasına rağmen, ağın fiziksel ve kimyasal özellikleri ilgili sadece AFM kullanılarak ağın morfolojik özellikleri üzerine sınırlı calısma bulunmaktadır (Clotuche vd., 2009; Grbić vd., 2011; Hudson vd., 2013). Yukarıda belirtildiği üzere ağın sağlıklı bitkilere bulaşmada ve koloninin korunmasında önemli fonksiyonu olduğundan, yapısal özelliklerinin ortaya konması önemlidir. Zira bitkilere bulaşmada önemli rolü olan ağın mukavemeti ve elastikiyeti ölçülmek suretiyle dayanıklılığının belirlenmesi gelecek adına umut vaat edebilir ve yapılacak deneysel calısmalarla ağın mukavemetinin azaltılması bu zararlıya karşı alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine kapı aralayabilir. Modern tarımda artık önemli bir sorun olarak algılan bu akarların mücadelesinde yoğun olarak kimyasallar kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçlara karşı dayanıklılığın ortaya çıkması ve ayrıca kimyasalların insan ve çevre sağlığı açısından olumsuz yönleri göz önüne alındığında, örümcek akarlarının mücadelesinde alternatif olabilecek yöntemlerin geliştirilme zorunluluğu ortaya çıkarmıştır (Seeman ve Beard, 2005, 2011). Özellikle son yıllarda akarisitlere karşı kırılması zor çapraz dayanıklılık gelişimi (Kim vd., 1994, 1995; Stumpf ve Nauen, 2001; Van Leeuwen vd., 2004; Ay, 2006; Yorulmaz Salman ve Sarıtaş, 2014), alternatif kontrol yöntemlerine yönelmeyi ve bunları bir sistem içerisinde uygulamayı zorunlu kılmaktadır.

Bu çalışmada, iki noktalı kırmızı örümcek akarı *Tetranychus urticae* tarafından salgılan ağ ipliklerinin bazı morfolojik ve yapısal özellikleri atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-Işını spektofotometre (EDX) ve seyreltilmiş toplam yansıma-Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (ATR-FTIR) teknikleri yardımıyla incelenmiştir. Çalışma ile ilgili literatür değerlendirmesinde, bu alanda benzeri kapsamlı bir çalışma yapılmamış olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın neticesinde, bu hayvanlar hakkındaki bilgilerimize katkı sağlamak suretiyle, çalışmanın literatürdeki ilgili boşluğu nispeten doldurabileceği ve ileriki çalışmalara öncülük ve kaynaklık edebileceği de ümit edilmektedir. Ayrıca bu konuda oldukça sınırlı ve ender araştırmaların bulunması tez konusunu anlamlı ve değerli kılmaktadır.

Aşağıda iki noktalı kırmızı örümcek ipeğinin karakterizasyonunda kullanılan yöntem ve teknikler konusunda aydınlatıcı bilgiler verilmektedir.

1.2. Infrared ve ATR Spektroskopisi

Spektroskopi, farklı türdeki elektromanyetik ışımaların madde (atom, iyon veya moleküller) ile etkileşmesi neticesinde madde tarafından soğurulan (absorpsiyon) veya yayınlanan (emisyon) fotonları inceleyerek madde ile ilgili bilgi edinmemizi sağlayan bilim dalıdır. Maddelerin elektromanyetik ışımaları soğurmasını inceleyen spektroskopi dalına absorpsiyon (soğurma) spektroskopisi, yaymasını inceleyen spektroskopi dalına ise emisyon (yayınma) spektroskopisi denir. Ayrıca elektromanyetik ışımanın moleküller ile etkileşmesini inceleyen spektroskopi spektroskopi, atomlar ile etkileşmesini inceleyen spektroskopi ise atomik spektroskopi şeklinde adlandırılır (Skoog vd., 1998; Erdik, 1998).

Günümüzde temel bilimlerde yaygın olarak kullanılan spektroskopi çeşitleri şunlardır (Banwell ve McCash, 1996; Akar, 2011).

- 1. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)
- 2. Atomik emisyon ve atomik floresans spektroskopisi,

- 3. Ultraviyole-görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi (UV-Vis.)
- 4. Floresans ve fosforesans spektroskopisi
- 5. İnfrared spektroskopisi (IR) ve Raman spektroskopisi
- 6. Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR)
- 7. Moleküler kütle spektroskopisi
- 8. X-ışını spektroskopisi (XRD)
- 9. Gama ışını spektroskopisi

Özellikle temel bilimler alanında bu yöntemlerden biri veya birkaçı kullanılarak maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi, reaksiyon kinetiği, moleküler yapılarının ve stereokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, denge sabitlerinin bulunması ve saflık miktarlarının tespiti yapılabilmektedir.

İnfrared spektroskopisi (kırmızı ötesi spektroskopisi) organik, inorganik ve biyokimyasal maddelerin yapılarının aydınlatılmasında kullanılan önemli bir tekniktir (Skoog vd., 1998). Bu teknik, moleküllerin veya molekül içi grupların infrared bölgesindeki bütün frekansları içeren elektromanyetik ışımaları soğurmasının ölçümünü temel alan bir yöntemdir. İnfrared ışıması, Şekil 1.6.'da gösterildiği gibi elektromanyetik spektrumda görünür bölge ile mikrodalga bölgesi arasında yer almaktadır. IR ışınları dalga boyu 0,78-500 µm, dalga sayısı biriminden ifade edecek olursak 12500-20 cm⁻¹ aralığında yer alan ışınlardır. IR spektroskopisi uygulamaları yakın IR bölgesi (12500-4000 cm⁻¹), orta IR bölgesi (4000-400 cm⁻¹) ve uzak IR bölgesi (400-20 cm⁻¹) olmak üzere başlıca üç bölgede yapılır. Yakın IR bölgesinde molekül titreşimlerinin üst ton (overton) ve harmonikleri gözlenir ve ayrıca kükürt, karbon dioksit, su, düşük molekül kütleli hidrokarbonlar ve amin tuzları gibi basit maddelerin kantitatif tayini gerçekleştirilir. Uzak IR bölgesinde ise daha çok inorganik ve metal-inorganik gibi ağır atomların titreşimleri ile örgü titreşimlerinin incelenir (Skoog vd., 1998). Organik ve bazı biyokimyasal bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ise moleküllerin hemen hemen bütün titreşimlerin gözlendiği orta IR bölgesinde gerçekleştirilir (Skoog vd., 1998; Erdik, 1998). IR spektroskopisi ile bir molekülün yapısında hangi fonksiyonel grupların bulunduğu,

iki bilesiğin aynı olup olmadığı ve bazı numunelerdeki bir maddenin kantitatif tayini yapılabilir (Skoog vd., 1998; Erdik, 1998). Bütün spektroskopik tekniklerde olduğu gibi IR spektroskopisi de moleküllerin elektromanyetik ışımalar ile etkileşmesi temeline dayanır. Numune IR bölgesinde yer alan tüm frekanslardaki elektromanyetik ışımalara maruz bırakılarak geçen veya soğrulan ışıma incelenir. Soğurulan IR ışınları moleküldeki atomlar arasındaki bağları kırmaya ve molekülde elektronik uyarılmayı gerçekleştirecek enerjiye sahip olmadığından sadece moleküllerin titreşim ve dönme enerji düzeylerini uyarabilir. Ancak bu geçişlerin gerçekleşebilmesi ve dolayısıyla IR spektroskopisinde gözlenebilmesi için titreşim esnasında molekülde net bir dipol moment değişikliği meydana gelmelidir ve bu dipol moment değişimi de titreşimin frekansıyla uyumlu olmalıdır. IR ışınları O2, N2, Cl₂ gibi tek cins atomlu (homonükleer) moleküllerde dipol moment değişikliği yapmadığından ötürü bu moleküller IR ışınlarını absorplamazlar ve IR cihazında kaydı mümkün olmaz. Bu gibi dipol moment değişikliği göstermeyen moleküllerin (IR inaktif moleküllerin) titreşimlerinin incelenmesi için Raman spektroskopisi kullanılır.



Şekil 1.6. Elektromanyetik spektrum

Molekülleri oluşturan atomlar sürekli hareket halinde olduklarından ötürü moleküller ötelenme, dönme ve titreşim hareketleri yapmaktadırlar. Bu hareketleri üç boyutlu uzayda tam olarak tanımlayabilmek için serbestlik derecesi kullanılır. n tane atom bulunan bir molekül için, her atom üç eksen (x, y ve z ekseni) boyunca hareket edeceğinden serbestlik derecesi 3n'dir. Eğer molekül açılı bir yapıya sahipse (çizgisel değilse) bu hareketlerden 3'ü ötelenme, 3'ü dönme ve 3n-6 tanesi de titreşim hareketlerine aittir. Eğer molekül çizgisel (doğrusal) ise bu hareketlerden 3'ü ötelenme, molekülün dönmesi için iki eksen olacağından 2'si dönme ve 3n-5 tanesi de titreşim hareketi için olacaktır. Böylece çok atom bulunduran moleküller için temel IR absorpsiyon piklerinin sayısı, titreşim hareketleri sayısı kadar olmaktadır. Bir kimyasal bağın uzunluğunun periyodik olarak azalıp çoğalmasına veya moleküldeki açıların periyodik olarak değişmesine neden olan titreşim hareketleri;

- 1- Gerilme titreşimleri
- a) Simetrik Gerilme b) Asimetrik Gerilme
- 2- Eğilme titreşimleri
- a) Düzlemiçi Eğilme b) Düzlemdışı Eğilme

olmak üzere iki ana başlık altında toplanır (Skoog vd., 1998; Erdik, 1998).

Gerilme titreşimleri; bağ ekseni boyunca iki atom arasındaki mesafenin yani bağın uzayıp kısalmasıyla ilişkilidir. Simetrik gerilmede; bağ atomları aynı anda birbirinden uzaklaşır veya yakınlaşırken asimetrik gerilmede ise iki tarafta bulanan atomların yaptığı bağlardan biri uzarken diğeri kısalır (Şekil 1.7.). Eğilme titreşimleri ise bağ açılarının periyodik olarak değiştiği titreşimlerdir. Şekil 1.7'de gösterildiği gibi yedi farklı eğilme titreşimi bulunmaktadır (Akar, 2011). Gerilme titreşimlerinin enerjileri eğilme titreşimin enerjilerinden daha büyüktür. Dolayısıyla gerilme titreşimleri eğilme titreşimlerine nispeten daha büyük frekansta ve dalga sayısında gözlenir. Çok atomlu moleküllerde gözlenen bu titreşimler bazı durumlarda birbirini etkileyerek tahmin edilen titreşim miktarından az veya çok sayıda titreşimler de gözlenebilir (kapling, overton veya Fermi rezonans bantı gibi). IR spektroskopisinde 4000-1500 cm⁻¹ arasındaki bölgede numunedeki fonksiyonel gruplara ait absorpsiyon bantları gözlendiğinden ötürü bu kısma fonksiyonel grup bölgesi, 1500-400 cm⁻¹ arasındaki bölgede ise moleküle özgü titreşimlerin olduğu ve her bir molekül için farklı IR bantlarının elde edildiği bu kısma ise parmak izi bölgesi denir.



Şekil 1.7. Moleküllerde titreşim türleri (Akar, 2011)

IR spektroskopisinde en çok kullanılan numune hazırlama tekniği KBr ile pelet (disk) hazırlamadır. Bu teknikte ilk olarak katı numune ile KBr belirli oranlarda karıştırılır ve homojenlik sağlana kadar öğütülür. Ardından bu karışım yaklaşık 10000 psi'lik bir basınç altında sıkıştırılarak saydam bir disk hazırlanır. Elde edilen bu disk nemden uzak tutularak spektroskopi cihazında ölçümleri alınır. IR spektroskopisinde son zamanlarda kullanılan diğer önemli bir teknik ise KBr ile pelet hazırlamaya gerek duyulmayan ATR (seyreltilmiş toplam yansıma) tekniğidir. ATR-FTIR tekniğinde IR ışının elmas veya ZnSe gibi yüksek kırılma indisli IR geçirgen bir kristal boyunca geçişine izin verilerek ışının burada birkaç defa yansıtılması sağlanır (Çağlar, 2008). Bu kristal yüzeyinde sıkıştırılmış durumda yerleştirilen numune içerisine yansıtılan ışının belirli bir kısmı nüfuz eder ve her yansımada bu tekrarlanır ve sonunda saçılan ışın kristalden çıkarak spektrometredeki normal ışın yoluna girer (Şekil 1.8.). Örnek içerisine nüfuz eden ışını kaybolan dalga ya da

kaybolan alan olarak ifade edilir (Çağlar, 2008). ATR tekniğinde ışının kırınımını elde etmek için gelen ışın açısının daima kritik açıdan büyük olması gereklidir. ATR tekniği malzeme, polimer, boya ve tekstil endüstrisinde çözünürlüğü az olan katılar, köpükler, filmler, yapıştırıcılar, lifler, tozlar, kaplamalar ve yumuşak maddelerin analizinde sıklıkla kullanılan önemli ve yaygın bir tekniktir.





Son yıllarda örümcek ağları gibi biyolojik materyallerden tekstil ürünleri ve biyomalzeme üretiminin gitgide önem kazandığı görülmektedir. Hem bu biyomalzemelerin hem de sadece örümcek ağlarının moleküler düzeyde yapısını incelemek için büyük öneme sahip olan gerek FTIR gerekse ATR-FTIR spektroskopisi atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) gibi yüzey analiz teknikleri ve nükleer manyetik rezonans (NMR), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi diğer tekniklerle birlikte kullanıldığında yapı analizlerinde çok faydalı olmaktadır. Örümcek ağı temel yapısında başlıca glisin, alanin, serin, tirosin, valin ve az miktarda aspartik asit, lösin, glutamik asit, treonin, arginin, prolin, fenilalanin, lizin, sistein, histidin ve triptofan gibi aminoasitlerden oluşmuş bir proteindir. (Tablo 1.1'de Bombyx mori, S.c.ricini, A. pernyi ve A. yamamai; Tablo 1.2'de ise Gonometa rufobrunnea, Gonometa rufobrunnea, B. mori ve Gonometa postica ağ ipliklerinde bulunan aminoasit yüzdeleri gösterilmiştir (Zhao ve Asakura, 2001; Mhuka vd., 2013). Özellikle bu protein yapısının nitel teşhisi ve sahip olduğu moleküler konformasyonlarının belirlenmesi çok iyi tanımlanmış tipik IR pikleriyle mümkündür. Literatürde belirtildiği gibi proteinlerin amid bantları için azalan frekans sırasına göre A, B ve I-VII şeklinde olmak üzere dokuz adet IR banti mevcuttur. Bu IR bantlarından genellikle amid I, II ve III bantları protein yapılarını ayırt etmek için kullanılır. Tablo 1.3'de IR spektrumunda gözlenen bu üç amid bantı ile ilgili genel bilgiler yer almaktadır. Proteinlerin amid I bantı diğer bantlar ile üst üste çakışma şansı çok az olduğundan yapı tayinlerinde öncelikli olarak kullanılır. İpek böceğinin (Bombyx mori) ipeğine ait amid I bantı bölgesindeki titreşim bantlarının dalga sayıları ve bunlara karşılık gelen titreşim türleri Tablo 1.4.'de

gösterilmiştir. Bazı durumlarda ise ağ proteinlerinin konformasyon geçiş değerlendirme sürecini basitleştirmek için α -sarmal (α -helical) ve rastgele sarım (random coil) yapılarının her ikisi ağ I yapısı, β -tabaka (β -sheet) konformasyonal yapısı ise ağ II yapısı olarak adlandırılmaktadır. Tablo 1.5.'de ise *B. mori* ağ fibroinlerine ait IR bantları ve bu bantlara karşılık gelen titreşim türleri gösterilmiştir.



Tablo 1.1. *B. mori, S.c. ricini, A. pernyi* ve *A. yamamai* ağ fiberlerinde NMR analizi ile bulunan aminoaist yüzdeleri gösterilmiştir (Zhao ve Asakura, 2001)

	0	···· ;· (···)
Aminoasit	B. mori	S.c. ricini	A. pernyi	A. yamamai
Glycine	42,9	33,2	26,70	26,10
Alanine	30,0	48,4	48,10	48,10
Serine	12,2	5,50	9,10	9,00
Tyrosine	4,80	4,50	4,10	3,90
Aspartic acid	1,90	2,70	4,20	4,50
Arganine	0,50	1,70	2,90	3,50
Histidine	0,20	1,00	0,80	0,80

Glutamic acid	1,40	0,70	0,80	0,70
Lysine	0,40	0,20	0,20	0,10
Valine	2,50	0,40	0,70	0,70
Leucine	0,60	0,30	0,30	0,30
Isoleucine	0,60	0,40	0,40	0,40
Phenylalanine	0,70	0,20	0,30	0,20
Proline	0,50	0,40	0,30	0,40
Threonine	0,90	0,50	0,50	0,60
Methionine	0,10	İz miktar	İz miktar	İz miktar
Cysteine	İz miktar	İz miktar	İz miktar	İz miktar
Tryptophan		0,30	0,60	0,70

Tablo 1.2. Gonometa postica, G. rufobrunnea ve Bombyx mori ağ ipliklerinde misel
elektrokinetik kılcal kromatografisi analiziyle belirlenen aminoaist yüzdeleri

Aminoasit	Gonometa postica	G. rufobrunnea	B. mori
Polar olmayan			
Glycine	36,89	33,15	44,94
Alanine	28,14	26,02	29,15
Proline	2,54	2,30	0,53
Valine	1,60	1,42	2,44
Leucine	1,47	1,24	0,71
Isoleucine	0,82	0,71	0,36
Methionine	0,31	0,30	0,22

Polar			
Serine	12,10	13,10	9,60
Threonine	0,87	0,66	0,33
Cysteine	0,08	0,08	0,09
Asidik			
Aspartic acid	4,22	2,96	0,30
Glutamic acid	1,16	1,15	0,60
Bazik			
Arganine	6,54	5,91	0,20
Lysine	1,06	0,92	0,63
Histidine	0,23	0,25	0,20
Aromatik			
Tyrosine	8,29	9,17	9,62
Phenylalanine	0,77	0,65	0,72
Tryptophan			
Gly/Ala oranı	1,31	1,27	1,54
UZA/KZA oranı	0,30	0,38	0,19

UZA: uzun zincirli aminoasitler, KZA: kısa zincirli aminoasitler

Tablo 1.3. IR spektroskopisinde gözlenen amid bantlarının (I-III) özellikleri (Pelton, ve McLean, 2000; Shang, vd., 2013)

Bant türü	Özellikleri	
Amid I	α-sarmal konformasyonuna sahip proteinler 1650 ve 1655 cm ⁻¹ arasında kuvvetli bir amid I bantına sahiptirler. β-tabaka hidrojen bağlayıcı kuvvetleri nedeniyle esneklik ve büküm eğilimine daha değişkendir. 1612 ve 1640 cm ⁻¹ arasında kuvvetli bir bant ve 1685 cm ⁻¹ civarında zayıf bir bant β-tabaka konformasyonu için karakteristiktir.	
Amid II	Amid II bantı kuvvetli olarak 1510-1525 cm ⁻¹ aralığında ve zayıf bir omuz şeklinde 1540-1550 cm ⁻¹ aralığında gözlenir. Antiparalel β -tabaka yapılı peptidler ve proteinler 1510-1530 cm ⁻¹ aralığında güçlü bir amid II bantına sahiptirler. Paralel β -tabaka yapılı peptidler ve proteinler ise biraz daha yüksek frekanslarda (1530-1550 cm ⁻¹)	

	titreșim bantına sahiptirler.
Amid III	Amid III bantı oldukça zayıftır ve protein yapısı ile ilişkili olmayan titreşimlerin (CH eğilme, tirozin ve fenilalanın halka titreşimleri) bölgesinde gözlenir.

Tablo 1.4. İpek böceğinin (*Bombyx mori*) ipeğine ait amid I bant bölgesindeki titreşim bantlarının dalga sayıları ve bunlara karşılık gelen titreşim türleri (Hu vd., 2006)

Dalgasayısı aralığı (cm ⁻¹)	Karşılık gelen titreşimler
1605-1615	Tyrosine yan zinciri ve yığın kıyıları
1616-1621	Yığın β-kıyıları/ β-tabaka
1622-1627	Moleküller arası β-tabaka (güçlü pik)
1628-1637	Moleküller içi β-tabaka (güçlü pik)
1638-1646	Rastgele sarım (random coil)
1647-1655	Rastgele sarım (random coil)
1656-1662	α -sarmal (α -helical)
1663-1670	Dönmeler, sarımlar
1671-1685	Dönmeler, sarımlar
1686-1696	Dönmeler, sarımlar
1697-1703	β-tabaka (zayıf pik)

Tablo 1.5. *Bombyx mori*'nin ipeğine ait IR bantları ve karşılık gelen titreşimler (Koperska vd., 2014)

Dalgasayısı (cm ⁻¹)	Karşılık gelen titreşimler	
1699	Amid I (peptit bağı %80 C=O gerilmesi, %10 C-N gerilmesi ve %10 N-H eğilmesi)	
1165	Amid I (antiparalel β -tabaka konformasyonu)	
1656	Amid I (rastgele sarım ve α -sarmal konformasyonu)	
1620	Amid I (paralel β-tabaka konformasyonu)	
1595	Tryptophan'dan kaynaklanan C=C-C gerilmesi	
1524	Amid II (peptit bağı %60 N-H eğilmesi ve %40 C-N eğilmesi)	
1442	Alanine'deki CH2 ve CH3 eğilmeleri	

1405	Aspargine'deki CH2 eğilmesi
1367	C-H eğilmesi
1334	Fenilalanin'deki C-H eğilmesi
1261	β-tabaka konformasyonuna sahip Amid III (peptit bağı %30 C-N gerilmesi, %30 N-H, %10 C=O gerilmesi, %10 N-C=O eğilmesi ve % 20 diğer)
1230	Rastgele sarım konformasyonuna sahip Amid III
1164	Tyrosine'deki C-N gerilmesi
1083	CH ₃ bükülme + C-N gerilme
1065	Fenilalanin'deki C-N gerilmesi
997	Glycine - Alanine' deki CH3 bükülme
977	Glycine–Glycine ve Glycine-Alanine'deki iskelet gerilmesi
880	C-C iskelet gerilmesi, Tryptophanın aromatik halkasına ait =C-H düzlemdışı eğilmesi

IR tekniği ile ağların konformasyonal biçimi ve kalitatif tayini yukarıda belirtilen karakteristik bantların yorumlanmasıyla yapılabilir. Ayrıca bu piklerin ölçülen şiddetinden veya pik alanından da kantitatif tayini mümkündür. Ancak yarı-nicel bir teknik olan IR spektroskopisinde çeşitli faktörleri ayarlamak ve eksiklikleri telafi etmek oldukça güçtür. Bu sebepten ötürü birçok durumda güvenli nicel tayinler için termik analiz verileri, SEM-EDX ölçümleri, NMR analizi, kromotografik teknikler ve diğer kimyasal metotlarla ulaşılacak sonuçlarla birlikte değerlendirilmelidir.

1.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Her geçen gün gelişen bilim ve teknoloji ile birlikte biyoloji, tıp, malzeme bilimi ve diğer bilimsel alanlarda mikrometre düzeyinde veya daha küçük boyutlardaki cisimlerin yüzey yapılarının incelenmesi önem arz etmektedir. Işık mikroskoplarında görüntü elde etmek için aydınlatma kaynağı olarak kullanılan ışığın sınırlı dalga boylarına sahip olmasından ötürü atom ve atom boyutuna sahip maddeleri görmemizi sağlayacak olan yüksek büyütmeler elde edilemez. Bu sebepten dolayı bilim adamları ışık yerine vakum ortamında elektromanyetik lenslerle odaklanmış hızlandırılmış elektron demeti kullanarak malzeme hakkında bilgi edinmeye imkân sağlayan ayrıntılı görüntüler veren farklı bir mikroskop türü geliştirmişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) adı verilen bu cihaz; tungsten, lantan hekza borit veya alan emisyonlu tabancadan (FEG) çıkan küçük dalga boylu elektronların analiz edilecek malzeme yüzeyine gönderilerek malzemenin yapısı, şekli, biçimi ve diğer morfolojik özellikleriyle beraber kimyasal bileşimleri hakkında ayrıntılı bilgi edinmemizi sağlar (Şekil 1.9.). Işık mikroskoplarına nispeten yüksek büyütme, büyük alan derinliği, yüksek ayrım gücü, üç boyutlu görüntü, net görme oranı ve net görüntü kalitesi gibi önemli avantajlara sahip olan elektron mikroskoplarındaki görüntü; esas olarak yüksek enerjili elektron demetinin numune yüzeyi ile yaptığı etkileşimler (elastik, elastik olmayan ve diğer etkileşmeler) sonucu meydana gelen fotonların detektörler tarafından toplanması ve kaydedilmesiyle elde edilir. Hızlandırılmış elektron demeti (birincil elektronlar) numune yüzeyine çarptığında meydana gelen sinyaller; geri saçılan elektronlar, ikincil elektronlar, Auger elektronları, karakteristik X-ışınları flüoresans ve farklı enerji seviyelerine sahip fotonlardır. SEM görüntüsü oluşturmak için meydana gelen bu sinyallerden en çok ikincil elektronlar kullanılmakla beraber geri saçılan elektronlarda taramalı elektron mikroskopi tekniğinin temelinde yer almaktadır. İkincil elektronlar, elektron demetindeki elektronların (birincil elektronların) numunedeki atomlarla yaptığı elastik olmayan çarpışma (birincil elektronlar enerjilerini numune yüzeyindeki atomların elektronlarına aktarırlar) neticesinde oluşurlar. Enerjileri düşük olan (yaklaşık 50eV) ve numune tarafından kolaylıkla soğurulan ikincil elektronlar numune yüzeyinin yaklaşık 2-10 nm derinliğinde oluşurlar. Malzemeden gelen bu ikincil elektronlar foto çoğaltıcı tüp vasıtasıyla toplanıp, numunenin tarama sinyali konumuyla ilişkilendirilerek numunenin yüksek çözünürlüklü topografik görüntüsü elde edilir (Çırak, 2005). Gelen elektron demeti (birincil elektronlar) numune arasında meydana gelen elastik etkileşmeler sonucunda oluşan diğer bir elektron grubu ise geri saçılan elektronlardır. Enerjileri ve hızları değişmeyen bu elektronların yönleri değişir ve gelen elektron demetiyle yaklaşık 180 lik açı oluşturacak şekilde saçılırlar. Numune yüzeyine gelen birincil elektronların saçılma oranı yüzeydeki atomların ağırlıklarına bağlıdır ve atom numarası arttıkça bu oran artmaktadır. Auger

elektronları ise gelen elektron demetinin numunedeki atomların iç tabaka elektronları ile yaptıkları elastik olmayan etkileşimler sonucunda ortaya çıkan düşük enerjili elektronlardır ve malzeme bileşimi hallında bilgi veren Auger spektroskopisinin temel çalışma ilkesini oluşturur. Yüksek enerjili birincil elektronların numune yüzeyine çarptığında oluşan diğer bir etkileşim ise karakteristik X-ışınlarının oluştuğu durumdur. Gelen elektron numunede bulunan atomun iç tabakasından bir elektron koparır, elektron eksikliği olan bu tabakaya bir üst tabakalardan elektron geçer ve böylece bu iki tabaka enerji seviyesi arasındaki enerji farkı miktarına sahip X-ışınları yayılır. Her element ve her kabuk için karakteristik enerji ve dalga boyuna sahip olan bu X-ışınları, numune yüzeyinin nitel ve nicel analizlerinde kullanılmaktadır (Enerji dağılımlı X-ısını (EDX) spektrometresi).



Şekil 1.9. Taramalı elektron mikroskobunun şematik gösterimi (Egerton, 2005)

Taramalı elektron mikroskobu hem örümcek ağlarının hem de bu ağlardan yapılan malzemelerin yüzey morfolojik özelliklerini incelemek için kullanılan en önemli cihazlardan biridir. Bu cihazla elde edilen görüntülerle ağların şekli, biçimi, kalınlığı, hem de ağ yapısında bulunan kirlilikler gibi konularda önemli bilgiler edinilebilir. Şekil 1.10. ve Şekil 1.11.'de çeşitli ipeklerin SEM görüntüleri verilmiştir.





Şekil 1.10. Stenopsyche marmorata tarafından yapılan ağların SEM görüntüsü (Tsukada vd., 2010)



Şekil 1.11. Kırmızı dokumacı karıncalar tarafından üretilen ağ ipliklerin SEM görüntüsü (Siri ve Maensiri, 2010)

1.4. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Taramalı uç mikroskobu ailesinden olan atomik kuvvet mikroskobu (AFM) taramalı kuvvet mikroskobu olarakta adlandırılmaktadır. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) elektronik, iletisim, biyoloji, kimya, otomotiv, uzay ve enerji endüstrilerinde malzemelerin yüzey morfolojilerinin incelenmesinde kullanılan ileri araştırma cihazlarından en önemlilerinden birisidir. AFM ile malzeme yüzeylerin iki veya üç boyutlu topografyasını angström seviyesinden 100 mikron seviyesine kadar göstermek mümkündür. AFM cihazlarında görüntü, incelenen malzeme yüzeyinde bulunan atomların bu malzeme yüzeyinde hareket ettirilen atomik boyuta sahip çok hassas sivri bir iğneye (uca) uyguladıkları kuvvetinin (nano Newton büyüklüğünde) algılanmasıyla elde edilir. Numune yüzeyine yaklaştırılan iğnenin numune yüzeyindeki farklı bölgelerdeki (girinti ve çıkıntı) aşağı veya yukarı hareketlerinden elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılır ve akabinde bilgisayarda kullanılan mikroskop yazılım aracılığı ile malzeme yüzeyinin yüksek çözünürlüğe sahip üç boyutlu görüntüsü elde edilir. Burada gezici iğne ucu numune üzerinde gezdirilirken dikey doğrultuda yapılan hareketler bu iğne ucuna bağlı desteğin ters tarafına gönderilen bir lazer ışını yardımıyla ölçülür (Şekil 1.12.). Gezici iğne ucu genellikle silikon, silikon oksit veya silikon nitrit malzemelerinden yapılır. AFM tekniğinde temaslı, temassız ve vurma olmak üzere üç farklı yöntem kullanılır. Temaslı (çekici mod) yöntemde kullanılan iğne (uc) incelenen yüzeye temas ederken, temassız (itici mod) ise iğnenin yüzeye temas etmemektedir (değmemektedir, dokunmamaktadır). İğnenin incelenen yüzeye vurularak (dokunup-çekilir) uygulandığı yönteme ise vurma (tıklatma modu) yöntemi olarak adlandırılır. Temaslı yöntemde daha yüksek çözünürlüğe sahip görüntüler elde edilir ama numunede yüzey hasarları oluşabilir. Temassız yöntemde ise iğne ucu malzeme yüzeyine değmediğinden bazı yumuşak biyolojik numunelerin incelenmesinde bu yöntem tercih edilir. Tıklatma yönteminde ise yüzey hasarları aza indirilir ve yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilir. AFM tekniği yüzeylerin topografik görüntülerini oluşturmanın yanı sıra malzemenin elektrik, iletkenlik ve manyetik gibi bazı karakteristik özellikleri hakkında bilgi elde etme, yüzeyde bazı atomların olup olmadığını tespit etme ve yüzeydeki atomların yerlerini değiştirme gibi amaçlar içinde kullanılmaktadır. AFM kullanım kolaylığı ve
incelenen malzemeye zarar vermemesinden ötürü SEM tekniğine nispeten oldukça tercih edilen yüzey analiz tekniğidir. Ayrıca, numuneyi vakum ortamında incelemek zorunluluğunun olmaması, iletken olmayan numunelerin de yüzey özelliklerinin incelenebilmesi ve ucuz olması diğer avantajlarıdır.



Şekil 1.12. AFM'nin şematik gösterimi (Anonim)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Hayvanlar tarafından üretilen ipek sağlam yapıya sahip olduğundan dolayı uzun süredir tekstil ürünlerinde ve son zamanlarda dikiş malzemelerinde kullanılmaktadır (Asakura vd., 2013; Hudson vd., 2013). İpeğin yakın zamanda biyomalzeme olarak kullanımı umut verici görünmektedir (Siri ve Maensiri, 2010; Zhang vd., 2012). Bu nedenle hayvanlar tarafından üretilen çeşitli ağ ipliklerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin bilinmesi konusunda bilim camiasında büyük bir ilginin olduğu söylenebilir.

Shao vd. (1999), dört farklı tür örümcek (*Araneus diadematus, Nephila edulis, Latrodectus mactans* ve *Euprosthenops* sp.) tarafından yapılan ağ ipliklerinin floresan - Raman spektrumlarını *Bombyx mori* ağının spektrumluyla karşılaştırılmalı olarak ayrıntılı bir şekilde inceleyerek elde edilen spektrumlar vasıtasıyla ağ ipliklerinin konformasyonal yapısını belirlemişlerdir. Diğer bütün örümcek ağlarının *Bombyx mori*'nin ağ ipliğine nispeten daha az β -tabaka ve daha çok rastgele sarım ve/veya α -sarmal malzemesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Polarize spektrumları örümcek ağ ipliği moleküler zincirlerinin, fiberin eksenine paralel hizalanmış olduğunu göstermiştir. Doğal ve bazı çözücülerle modifiye edilmiş ağ ipliklerinin mekanik özelliklerindeki farklılıklar β -tabaka içeriğine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir. Örümcek ağ ipliklerinin çözücüler içerisindeki kasılma (daralma, incelme) mekanizması ile ağların supramoleküler yapısındaki konformasyonal değişikliklerle ilişkili olduğu ifade edilmiştir.

Tsukada vd. (2010), bir Japon nehrinde yaşayan *Stenopsyche marmorata* larvanın yuvasından toplanan ipek bezlerinden ipek lifleri hazırlamışlar ve elde edilen bu liflerin fiziksel özelliklerini SEM, WAXRD, FTIR, DSC, DMTA, TMA teknikleri ile incelemişlerdir. Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi ve X-ışınları kırınım ölçümleriyle ipek liflerinde rastgele sarım ve az miktarda β-tabaka yapıların olduğu belirtilmiştir. Numunelerin diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) verilerinde 230 ve 320 °C'de ağın termik bozunmasından kaynaklanan iki adet yayvan endotermik

piklerin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kuru ve ıslak haldeki ipek protein ipliklerinin gerilme mukavemetinde dikkate değer farklılıklar olmadığı ifade edilmiştir.

Siri ve Maensiri (2010), *Oecophylla smaragdina* dokumacı karıncaları tarafından yapılan doğal ipek iplikleinin bazı özelliklerini araştırmışlar ve bunların hücre matrisi olarak uygulamaları üzerine çalışma yapmışlardır. Dokumacı karınca elyafının 266 ile 3056 nm arasında değişen çaplarda dokunmamış örgü ihtiva ettiğini tespit etmişlerdir. Elyafların ortalama çapını, kalınlığını, kütlesini ve yoğunluğunu sırasıyla 766 ± 326 nm; 39,0 ± 9,8 m, 0,8 ± 0,1 mg/cm² ve 0,22 ± 0,03 g/cm³ olarak belirlemişlerdir. Su temas açısı analizi ile yapılan ölçümlerde yeni yapılan ipliklerin oldukça hidrofilik, daha eski liflerin ise hidrofobik olduğu gözlenmiştir. TG-DTA analiz ölçümleri başlıca kütle kaybının ipek böceği fibroinine benzer şekilde 260 ile 360 °C sıcaklık aralığında olduğu belirtilmiştir. Numunenin FTIR spektrumunda, dokumacı karınca lifinin protein yapısındaki rastgele sarım ve β -tabaka konformasyonlarına ait amid I, amid II, amid III, C–H ve C–O piklerinin olduğun belirtilmiştir.

Kino vd. (2007), *Bombyx mori* ipeğinin havada kurutulması SF (silk fibroin) filmler ve metanolle muamele edilmiş SF filmlerin kütlece % 5'den fazla CaCl₂ ihtiva eden ve standarttan 1,5 kat daha fazla iyon konsantrasyonuna sahip bir yapay vücut sıvısı içinde bekletilmesiyle de Hidroksiapatit (HAp) içeren çok tabakalı HAp-SF filmler hazırlamıştır. Çalışmada çok katmanlı HAp/SF filmlerinin yaklaşık kalınlığı 3-5 µm olan HAp katmanlarına ve yaklaşık kalınlığı 40-70 µm olan SF katmanlarına sahip olduğunu tespit ediltmiştir. Maksimum T-sıyrılma kuvveti ve β-tabaka içeriğini elde etmek için en iyi şartların 4 dakika boyunca 130 °C olduğu belirtilmiştir. Ayrıca HAp-SF ve SF filmlerinin aynı hücre yapışmasını ve aynı alkalin fosfataz aktivitelerini gösterdikleri vurgulanmıştır.

Mehta ve Hede (2005), *Pholcus phalangoides* örümceği tarafından örülmüş ağların esneklik ve mekanik mukavemet gibi özelliklerini anlamak için örümcek ağı üzerinde kalsit kristallerinin büyütülmesiyle oluşan organik-inorganik

kompozitlerinin incelenmesine dair basit ve ekonomik bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemle elde edilen kompozit malzemenin kalsiyum karbonatın (kalsit polimorf) biyo-mineral özellikleriyle örümcek ağının mekanik özelliklerinin kombinasyonunu içerdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca bir kemik gibi sert ve bir bağ dokusu gibi esnek özelliğe sahip bu ideal kompozitin yapay eklemler ve protez sektöründe büyük umut vaat edebileceği belirtilmiştir.

Nimmen, vd. (2008), Araneus diadematus, A. pernyi ve Bombyx mori ipeklerinin ikincil yapısını araştırmak için FT-IR spektroskopik tekniklerinin uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Ağ proteinlerini hem geçirgen (KBr disk yöntemi ve geçirgen mikroskopi) hem de yansıma yöntemleri (dağınık yansıtımlı ve seyreltilmiş toplam yansıma) ile incelemişlerdir. Geçirgen (KBr disk yöntemi ve geçirgen mikroskopi) yöntemleriyle zayıf kaliteli spektrumların kaydedildiği belirtilmiştir. Dağınık yansıtımlı infrared sepektroskopisi (DRIFT) ve seyreltilmiş toplam yansıma (ATR) yöntemleriyle alınan spektrumların ise daha iyi kalitede olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber en iyi tekniğin dağınık yansıtımlı infrared sepektroskopisi (DRIFT) olduğu vurgulanmış ve bu teknik ile ağların konformasyonal yapıları detaylı şekilde incelenmiştir.

Zhang vd. (2015), ipekböceği ve bazı örümcek türleri tarafından üretilen ipeklerin mekanik özelliklerini anlamak için ılımlı koşulların belirlenmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Bu sebeple, çalışmada CaCl₂–formik asit çözeltisi içinde yüksek kaliteli liflerin korunabileceği yeni bir çözünme davranışını rapor etmişlerdir. İpek atıklarının geri dönüşümü ve ipek tabanlı fonksiyonel malzemelerin üretimi için bu işlemin basit, yüksek verimli, düşük maliyetli, çevresel uyumlu ve büyük ölçekli sanayileşme potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Khan vd. (2007) *B. mori* ipek ipliklerini iyot çözeltisiyle muamele ederek karbon fiberler hazırlamışlar ve bunların karbon verimi, fiber morfolojisi, yapısı ve mekanik özelliklerini araştırmışlardır. Bu malzemelerin hazırlanması için tek veya çok aşamalı karbonizasyon proseslerinin kullanıldığı ifade edilmiştir. Tek aşamalı işlemde ağ liflerinin 25-800 °C sıcaklık aralığında ısıtma hızı 5 °C/dakika olacak şekilde argon atmosferinde ısıtıldığı belirtilmiştir. Bu işlemde elde edilen karbon liflerinin kısmen eridiği ve çok kırılgan olduğu belirlenmiştir. Çok aşamalı işlemde ise ilk olarak ağ liflerinin 100 °C'de 12 saat boyunca iyot buharına maruz bırakıldığı ve ardından 25-800 °C sıcaklık aralığında argon atmosferinde ısıtıldığı belirtilmiştir. Bu çok aşamalı işlemde elde edilen karbon liflerinin yapısal olarak sağlam ve kararlı bir görünümde ve daha iyi mekanik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen her iki malzemenin amorf bir yapıda olduğu vurgulanmıştır.

Wang vd. (2014), farklı bir yöntemle ipekböceğini besleyerek karbon nanotüp içeren yüksek mukavemetli ağ lifleri elde etmiştir. Çalışmada elde edilen lifler XRD ve IR teknikleri ile incelemiştir. IR spektrumlarında amid I ve amid III yapılarının arttığını, amid II yapısının ise azaldığı gözlenmiştir. Karbon nanotüp içeren ağların hem termik kararlılığının hem de elektriksel özelliklerinin saf ağlara nispeten önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Doğan vd. (2016) bir örümcek türü olan *Steatoda paykulliana*'nın ürettiği ağın bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini atomik kuvvet mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu, enerji dağılımlı X-Işını spektofotometre ve seyreltilmiş toplam yansıma-Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi kullanılarak aydınlatmışlardır.

Normandeau vd. (2014), FTIR ve STXM teknikleri ile siyah ve sarı Bahçe Örümceği (*Argiope aurantia*) ve Kara Dul (*Latrodectus hesperus*) ağlarının protein yapısını analiz etmişlerdir. Orta IR bölgesinde bütün örümcek ağlarının benzer spektrumlara sahip olduğu ve aynı amid I ve amid II protein bantlarını gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu ağların hem su hem de 0,001M sülfürik asit çözeltisindeki yapılarını araştırmışlar ve ağ proteinleri yapısına asit yağmurunun kesin bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Mhuka vd (2013), tarafından Gonometa postica ve Gonometa rufobrunnea ipliklerininn kimyasal, yapısal ve termik özellikleri Bombyx mori iplikleri ile karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. G. postica ve G. rufobrunnea ipliklerinin benzer özelliklere sahip olduğu ancak B. mori ipliklerinin bu ikisinden farklı özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. İpek ipliklerinin aminoasit analizlerinde hepsinde toplam aminoasit içeriğinin %70'den fazlasını gilisin, alanin ve serinin oluşturduğu belirtilmiştir. G. postica fibroinlerindeki polar amino asitlerin miktarı B. mori fibroinlerinkinden dikkate değer ölçüde fazla olduğu ve bununda kimyasal aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten, G. postica fibroinlerinde bazik aminoasitlerin varlığının bunların hücre ve doku kültürü içinde potansiyel biyomateryal olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca TGA ve DSC verileriyle G. postica ipliğinin kendi yapısal farklılıklar sebebiyle B. mori ipek ipliğinden daha yüksek termik kararlılığa sahip olduğu ifade edilmiştir.

Clotuche vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada iki farklı evredeki (yetişkin dişi ve larva) *Tetranychus urticae* tarafından örülmüş ağ ipliği çapının bireylerin vücut büyüklüğü ile ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Larvalar tarafından salgılanan ağ çaplarının 0,021 ile 0,113 µm arasında, yetişkin dişi akarlar tarafından salgılanan ağ çaplarının ise 0,042 den 0,207 µm arasında değiştiği ve ağ ipliklerin çapı ile akarların vücut büyüklüğü arasında bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir.

Hudson vd. (2013), yetişkin ve larva *Tetranychus urticae* ağ ipliklerinin mekanik özelliklerini atomik kuvvet mikroskobu ile üç noktalı eğilme testi uygulayarak tespit etmişlerdir. Çalışmada larvalar tarafından örülen ağ iplik çaplarının diğer yetişkinlere nispeten daha küçük olduğunu belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde, bu ölçekte kapsamlı bir çalışma şu ana kadar yapılmadığı söylenebilir. Önceki sınırlı çalışmalarda (Clotuche vd., 2009; Grbić vd., 2011) AFM kullanışmış olsa da, farklı cinsiyetteki bireyler tarafından yapılan ipeğin yüzey morfolojilerinde farklılıkların olup olmadığının ilk defa aydınlatılmış olması çalışmaya değer katmakta ve görece özgünlük kazandırmaktadır. Ayrıca ilk defa bu

çalışmada EDX ve ATR-FTIR yöntemleri kullanılarak ağ yapısının aydınlatılması amaçlanmıştır. Özetle çalışma, *T. urticae* ağının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini ortaya koyma potansiyeli taşımaktadır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın esas materyalini *Tetranychus urticae* ipeği oluşturmaktadır. Çalışma süresince kullanılan malzemelere aşağıda değinilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Akar örneklerinin ağartılması ve temizlenmesinde % 60'lık laktik asit çözeltisi kullanıldı. Akarların daimi preparatları Hoyer (200 g kloralhidrat, 30 g kristalin arap zamkı, 20 ml gliserin, 50 ml saf su) ortamında yapıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- 1. Akarların konakçı bitkisi 960 C, JRS büyütme kabinine yetiştirildi.
- 2. Mikroskobik imcelemeler ve vücut ölçümleri Leica EZ4 stereo mikroskop ve DM 4000 B model faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobunda gerçekleştirildi.
- İpeğin yüzey morfolojisi ve boyutları XE-150 Park Systems atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve Quanta FEG 450-FEI alan emisyon kaynaklı taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla kaydedildi.
- Numunelerin element analizleri enerji dağılımlı X-Işını spektofotometresiyle (EDX) belirlendi.
- 5. İpeğin ATR-FTIR spektrumları ThermoNicolet 6700 spektrometresiyle kaydedildi.

 Karıştırma ve tartım işlemlerinde sırasıyla Elektro-mag ve Cat/M ısı kontrollü manyetik karıştırıcılar ve Chyo ve Avery Berkel 0,0001g duyarlıklı teraziler kullanıldı.

3.2. Yöntem

Tetranychus urticae ipeğini üretmek için aromatik özellikteki *Ocimum basilicum* (fesleğen) bitkisi kullanıldı. Fesleğen, *T. urticae*'nin doğal bir konakçısı olup baharat olarak kullanımı nedeniyle geniş çaplı tarımı yapılan bir bitkidir. Fesleğen tohumlarının ekimi yapılarak 960 C, JRS yetiştirme kabininde L16:D8, 25/18 °C sıcaklık ve % 60 nem şartlarında 6 hafta büyümesi sağlandı (Şekil 3.1 ve 3.2). Daha sonra Erzincan Üniversitesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'ndan temin edilen akar örnekleri 0 numara fırça yardımıyla bitki yapraklarına aktarıldı. 2 hafta süreyle akarların konakçı bitki üzerinde ağ yapması sağlandıktan sonra (Şekil 3.3 ve 3.4) farklı cinsiyetteki (dişi ve erkek) bireyler 00 numaralı iğne yardımıyla stereo mikroskop altında ayrı ayrı cam disklere alındı (Şekil 3.5). Diskler 24 saat bekletilerek, akarların üzerine ağ yapmaları sağlandı (Şekil 3.6) ve bu süre sonunda akarlar uzaklaştırılarak cam disklerindeki ağ örnekleri inceleme ve analiz işlemleri için muhafaza edildi.

Akarların vücut uzunluğu, vücut genişliği, gnatozoma uzunluğu ve palp büyüklüğü Leica DM 4000 B model faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobuna entegre görüntüleme sistemine ait LAS V 3,8 programı yardımıyla, tekli ve çiftli ağ ipliklerinin yüksekliği ve genişliği ise XE-150 Park Systems atomik kuvvet mikroskobu (AFM) yardımıyla µm cinsinden ölçüldü.

Ağın yüzey morfolojisi ve ağ boyutları AFM ile temassız modda (non-contact) ve 5kV hızlandırma gerilimi altında, Quanta FEG 450-FEI alan emisyon kaynaklı taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla incelendi (Liao, vd., 2011; Humenic vd., 2014). Numunelerinin kimyasal bileşimleri elementel analiz cihazı ve enerji dağılımlı X-Işını spektofotometresiyle (EDX) belirlendi (Zhou vd., 2015). ATR- FTIR spektrumları KBr ile disk hazırlamadan, numunenin elmas kristal üzerine yerleştirilip sıkıştırma kelepçesiyle preslenmiş hali kullanılan ATR tekniğiyle Thermo Nicolet 6700 spektrometresinde 4000-400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında kaydedilerek ağların bazı yapısal özellikleri incelendi (Nimmen vd., 2008; Caglar vd., 2009).

3.3. Verilerin Analizi

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows version 20.0 (Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalar yapılırken dağılımı bozuk veriler için nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizinde parametrik veriler için Pearson Korelasyon testi kullanıldı. *P* değerinin 0,05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 3.1. Bitki büyütme kabininde yetiştirilmekte olan *Ocimum basilicum* (fesleğen)



Şekil 3.2. T. urticae'nin doğal bir konakçısı olan olan Ocimum basilicum (fesleğen)



Şekil 3.3. Tetranychus urticae'nin Ocimum basilicum (fesleğen) yapraklarında oluşturduğu hasar



Şekil 3.4. Ocimum basilicum (fesleğen) üzerinde bir dişi Tetranychus urticae bireyi



Şekil 3.5. Tetranychus urticae bireylerinin alındığı cam diskler



Şekil 3.6. Tetranychus urticae bireylerinin 24 saat bekletilerek ağ yapmalarının sağlandığı cam diskler

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. SEM/EDX Verilerinin Değerlendirilmesi

İki noktalı kırmızı örümcek akarı (*Tetranychus urticae*) tarafından salgılanan ipeğin SEM/EDX deseni Şekil 4.1. ve 4.2'de ve kütlece element yüzdeleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Buna göre, ipeğin yapısında ağırlıklı olarak C, N ve O elementlerinin bulunduğu ve az miktarlarda ise Al, P, Cl ve K elementlerinin yer aldığı görülmektedir. C, N ve O miktarlarının dikkate değer ölçüde fazla olması iki noktalı kırmızı örümcek tarafından salgılan ipeğin protein yapısında olmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, ATR-FTIR spektrumunda ağ ipliğindeki protein bileşenlerinden kaynaklanan piklerin gözlenmesiyle de desteklenmektedir. Ağ yapısında Al, P, Cl ve K elementlerinin az miktarda olması, ağ örgüsünde bulunan yumurta, ölü akarlar, deri parçaları ve akarların dışkı ürünlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışma kapsamında elde edilen element analiz verilerinin literatürde yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir (Clotuche vd., 2009; Grbić vd., 2011, Mhuka vd., 2013).



Şekil 4.1. Tetranychus urticae yumurtası ve ipeğinin SEM görüntüsü

Tablo	4.1.	Tetranychus	urticae	ipeğinin	elementel	analiz	verileri
		-		1 0			

	С	N	0	Al	Р	Cl	K
Kütle (%)	69,82	8,55	17,51	0,37	0,76	0,90	2,10
Kütlece Atom (%)	76,14	7,99	14,34	0,18	0,32	0,33	0,70



Lsec: 83.8 0 Cnts 0.000 keV Det: Octane Plus Det

Şekil 4.2. Tetranychus urticae ipeğinin SEM/EDX verileri

4.2. İki Noktalı Kırmızı Örümcek Ağının ATR-FTIR Verilerinin Değerlendirilmesi

İki noktalı kırmızı örümcek akarı tarafından salgılanan ipeğin ATR-FTIR spektrumu Şekil 4.2'de, önemli karakteristik titreşim bantları ve dalga sayıları ise Tablo 4.2'de gösterilmiştir. İnfrared spektroskopisi örümcek ve ipekböceği ağlarındaki protein yapılarının moleküler konformasyonunu araştırmak için kullanılan en önemli tekniklerden birisidir (Shao vd., 1999; Nimmen vd., 2008). Moleküler konformasyonun tayininde protein yapısında bulunan amid grubuna ait amid I, amid II ve amid III bantları olarak adlandırılan ve 1200-1700 cm⁻¹ aralığında gelen titreşim pikleri temel alınır. Amid I bantları C=O gerilmesinden kaynaklanır ve genellikle 1590-1700 cm⁻¹ aralığında gözlenmektedir. Bu bantlar protein yapısındaki farklı moleküler konformasyonlardan en fazla derecede etkilenir. Amid II bantları ise N-H eğilme titreşimleri ve C-N eğilme titreşimlerinden doğmaktadır ve 1460-1590 cm⁻¹ aralığında gelmektedir. 1190-1280 cm⁻¹ aralığında gözlenen amid III bantları ise NH eğilme ve O-C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Tsukada vd., 2010; Koperska vd., 2014). Özellikle amid I bantının pozisyonu ve şekli moleküler konformasyonu belirlemede sıklıkla kullanılır. 1618-1640 cm⁻¹ aralığında gelen amid I bantları β-tabaka (β-sheet) konformasyona karşılık gelir. Rastgele sarım (random coil) konforformasyonu belirleyici amid I bantları ise 1640-1650 cm⁻¹ aralığında gözlenir. 1650-1660 cm⁻¹ aralığındaki amid I bantları da α -sarmal (α -helical) konformasyon icin belirlevicidir (Siri ve Maensiri, 2010; Tsukada vd., 2010; Koperska vd., 2014).

İki noktalı kırmızı örümcek ipeğinin ATR-FTIR spektrumunda 3282, 2970, 2940, 1642, 1632, 1524, 1415, 1371, 1230 ve 1059 cm⁻¹'de pikler gözlenmiştir. 3282 cm⁻¹'de gözlenen geniş ve yayvan pik protein yapısındaki N-H gerilme titreşiminden kaynaklanırken, 2970 ve 2930 cm⁻¹'deki pikler ise sırasıyla antisimetrik ve simetrik C-H gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 1642 ve 1632 cm⁻¹'deki gözlenen amid I bantları, ağ yapısında sırasıyla rastgele sarım ve β -tabaka konformasyonlarının varlığını göstermektedir (Shao vd., 1999; Siri ve Maensiri, 2010; Tsukada vd., 2010; Koperska vd., 2014). 1524 ve 1230 cm⁻¹'deki sırasıyla amid II ve amid III bantlarından kaynaklanırken, rastgele sarım konformasyonun

olduğunu işaret etmektedir. Bunlara ilaveten 1415, 1371 ve 1059 cm⁻¹'de sırasıyla antisimetrik C-H eğilme, simetrik C-H eğilme ve C-N gerilme pikleri mevcuttur.



Şekil 4.3. Tetranychus urticae tarafından salgılanan ipeğin ATR-FTIR spektrumu

Dalga sayısı (cm ⁻¹)	Titreşim Türü
3282	N-H gerilme
2970	Antisimetrik C-H gerilme
2940	Simetrik C-H gerilme
1642	Amid I bantı (C=O gerilme, rastgele sarım
	konformasyonuna ait)
1632	Amid I bantı (C=O gerilme, β-tabaka
	konformasyonuna ait)
1524	Amid II bantı (N-H eğilme ve C-N eğilme)
1415	Antisimetrik C-H eğilme
1371	Simetrik C-H eğilme
1230	Amid III bantı (N-H eğilme ve O-C-N gerilme,
	rastgele sarım konformasyonuna ait)
1059	C-N gerilme

Tablo 4.2. Tetranychus urticae tarafından salgılanan ipeğin ATR-FTIR titreşim bantları

4.3. İki Noktalı Kırmızı Örümcek Ağının AFM Verilerinin Değerlendirilmesi

Dişi ve erkek *Tetranychus urticae* tarafından yapılan ağ ipliklerinin yüzey morfolojisi ve boyutları AFM tekniğiyle tespit edilmiştir. Bu ağların iki boyutlu ve farklı açılardaki üç boyutlu AFM görüntüleri Şekil 4.4 ve 4.23 aralığında verilmiştir. AFM görüntülerinden, gerek dişi gerekse erkek akarlar tarafından örülen ağ ipliklerinin şekillerinin benzer ve içbükey silindirik bir yapıya sahip oldukları gözlenmiştir. Genel olarak, dişi akarlar tarafından örülen ağ iplikleri erkek akarlar tarafından örülen ipliklere nispeten daha pürüzsüz bir yapıdadır. Bununla beraber hem dişi hem de erkek ağ ipliklerinin tekli ve ikili yapıda nakşedildikleri tespit edilmiştir. Bu durum ağ ipliklerinin boyutsal analizlerinde çok değişkenliğe sebep olacağından ötürü dişi-tekli, dişi-çiftli, erkek-tekli ve erkek-çiftli ağ iplikleri başlıkları altında incelenmiştir.

Dişi-tekli ağ ipliklerinin yükseklikleri, genişlikleri ve yükseklik/genişlik değerleri sırasıyla 0,040-0,139 µm, 0,408-0,582 µm ve 0,070-0,340 aralığında; ortalama değerler ise sırasıyla $0,100\pm0,029$ µm, $0,490\pm0,055$ µm ve $0,242\pm0,074$ olarak ölçülmüstür (Tablo 4.3.-5, Sekil 4.24-45). Dişi-çiftli ağ iplikleri için yükseklik, genişlik ve yükseklik/genişlik değerleri sırasıyla 0,062-0,186 µm, 0,746-1,078 µm ve 0,069-0,210 aralığında yer alırken; ortalama değerler ise sırasıyla 0,112±0,033 μm, 0,904±0,100 µm ve 0,126±0,039 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3.-5, Sekil 4.24-45). Dişi-tekli ve çiftli ağ ipliklerinin ölçüm değerleri kıyaslandığında yükseklik değerlerinde önemli bir değişme gözlenmezken, çiftli ağ ipliklerinin genişlik değerlerinin tekli ağ ipliklerine göre yaklaşık iki katı olduğu tespit edilmiştir. Erkektekli ağ ipliklerinin yükseklik, genişlik ve yükseklik/genişlik değerleri sırasıyla 0,031-0,061 µm, 0,365-0,693 µm ve 0,052-0,118 aralığında; ortalama değerleri ise sırasıyla 0,044±0,075 µm, 0,544±0,115 µm ve 0,083±0,017 olarak ölçülmüştür (Tablo 4.3.-5, Şekil 4.24-45). Erkek-çiftli ağ iplikleri için yükseklik, genişlik ve yükseklik/genişlik değerleri ise sırasıyla 0,035-0,070 µm, 0,708-1,118 µm ve 0,032-0,072 aralığında yer alırken; ortalama değerleri ise sırasıyla 0,051±0,001, 0,880±0,156 µm ve 0,059±0,012 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3.-5, Sekil 4.24-45).

Erkek ağ ipliklerinde de dişi ağ ipliklerinde olduğu gibi bariz değişiklik, ipeğin genişlik değerlerinde gözlenmiştir.

Dişi akarın vücut uzunluğu, genişliği, uzunluk/genişlik oranı, gnathozoma uzunluğu ve palp genişliği değerleri sırasıyla 499-582 μ m, 299-378 μ m, 1,480-1,735, 103-120 ve 80-95 μ m aralığında; ortalama değerleri ise sırasıyla 538±25,43 μ m, 336±22,64 μ m, 1,602±0,069, 112±4,402 μ m ve 87,97±3,624 μ m olarak ölçülmüştür. Erkek akarlar için bu vücut büyüklükleri sırasıyla 276-362 μ m, 165-209 μ m, 1,594-2,084, 72-92 μ m ve 57-68 μ m aralığında; ortalama değerleri ise sırasıyla 323±22,26 μ m, 180±10,84 μ m, 1,798±0,099, 79,70±4,76 μ m ve 61,20±2,82 μ m olarak tespit edilmiştir. Hem dişi hem de erkek akarların yaptığı ağ ipliklerinin boyutları kendi grupları (dişi tekli-erkek tekli ve dişi çiftli-erkek çiftli) arasında, akarların vücut büyüklükleri ile istatiksel olarak karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Erkek ve dişi akarlara ait gerek tekli ve gerekse çiftli ağlar kendi aralarında karşılaştırıldığında; hem tekli hem de çiftli ağların yüksekliği, yükseklik/genişlik oranları arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p < 0.001). Ancak nakşedilen bu ağların genişlikleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamanıştır (p > 0.05) (Tablo 4.3).

Dişi akarlar tarafından örülen ağ ipliklerinin yüksekliği, yükseklik/genişlik oranları erkek akarlar tarafından örülen ipliklere nispeten daha büyüktür. Bu durum, ağ örmede fonksiyon gören palp büyüklüğü ile ilişkilendirilebileceği gibi vücut büyüklüğü de ilişkilendirilebir. Akarlar ve ağ yapan diğer canlılar, kendilerini taşıyabilecek ve düşmanlarından korunabilecek kadar sağlam ağ iplikleri yapmaktadırlar (Clotuche vd., 2012).

Bunlara ilaveten yapılan istatiksel değerlendirmede hem erkek akarların vücut ölçüleri ile yaptığı ağların (tekli veya çiftli) boyutları arasında hem de dişi akarların vücut ölçüleri ile yaptığı ağların (tekli veya çiftli) boyutları arasında bir anlam bulunamamıştır. Bu durum, hayvanın ağ örme hızı, beslenme durumu, stresi, bulunduğu ortam yüzeyi, ortam sıcaklığı ve nemi gibi faktörlerle de ilişkili olabilir.

Ağın Yüksekliği				Ağın Genişliği			Ağın Yükseklik / Genişlik Oranı					
	Tekli Ağ (Ort- Std.Sap)	Р*	Çiftli Ağ (Ort- Std.Sap)	Р*	Tekli Ağ (Ort- Std.Sap)	Р*	Çiftli Ağ (Ort- Std.Sap)	P*	Tekli Ağ (Ort- Std.Sap)	Р*	Çiftli Ağ (Ort- Std.Sap)	Р*
Erkek	0,043 - 0,007		0,051 - 0,009		0,543 - 0,114		0,880 - 0,155		0,083 - 0,017		0,059 - 0,012	
Dişi	0,100 - 0,029	< 0,001	0,112 - 0,033	< 0,001	0,490 - 0,055	> 0,05	0,904 - 0,102	> 0,05	0,210 - 0,074	< 0,001	0,125 - 0,038	< 0,001

Tablo 4.3. Tetranychus urticae erkek ve dişisinin yaptığı tekli ve çiftli ağlar arasındaki ilişki

P* : Mann Whitney-U testi; Ort: Ortalama; Std. Sap: Standart Sapma

	Tekli Ağ		Çiftli Ağ		
Ölçüm Değerleri (µm)	Ortalama-Standart sapma	P (Rs)	Ortalama-Standart sapma	P (Rs)	
Uzunluk/Genişlik Oranı	1,798 – 0,099	1,798 – 0,099 > 0,05		> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,083 - 0,017	(- 0,002)	0,059 - 0,012	(-0,152)	
Gnatozoma	79,70 - 4,764	> 0,05	79,70 - 4,764	> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,083 - 0,017	(0,375)	0,059 - 0,012	(-0,119)	
Palp	61,20 – 2,821	> 0,05	61,20 - 2,821	> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,083 - 0,017	(0,488)	0,059 - 0,012	(0,023)	

Tablo 4.4. Tetranychus urticae (Erkek) vücut ölçüleri ile tekli ve çiftli ağı arasındaki korelasyon

* Pearson korelasyon test; R_s: Korelasyon katsayısı

	Tekli Ağ		Çiftli Ağ		
Ölçüm Değerleri (µm)	Ortalama-Standart sapma	P (R _s)	Ortalama-Standart sapma	P (Rs)	
Uzunluk/Genişlik Oranı	1,602 – 0,069 > 0,05		1,602 - 0,069	> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,210 - 0,074	(0,073)	0,125 - 0,038	(- 0,290)	
Gnatozoma	112,00 - 4,402	> 0,05	112,00 - 4,402	> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,210 - 0.074	(- 0,162)	0,125 - 0,038	(0,127)	
Palp	87,97 - 3,624	> 0,774	87,97 - 3,624	> 0,05	
Ağın Yükseklik/Genişlik Oranı	0,210 - 0,074	(- 0,061)	0,125 - 0,038	(0,110)	

Tablo 4.5. Tetranychus urticae (Diși) vücut ölçüleri ile tekli ve çiftli ağı arasındaki korelasyon

* Pearson korelasyon test; Rs: Korelasyon katsayısı



Şekil 4.4. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.5. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)



Şekil 4.6. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.7. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.8. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.9. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.10. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)



Şekil 4.11. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.12. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (üst)



Şekil 4.13. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.14. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin iki boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.15. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (üst)



Şekil 4.16. *Tetranychus urticae* (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.17. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.18. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)





Şekil 4.20. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (ön)



Şekil 4.21. *Tetranychus urticae* (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.22. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.23. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin üç boyutlu AFM görüntüsü (yan)



Şekil 4.24. Tetranychus urticae (Dişi). Vücut uzunluğuna ait değerler



Şekil 4.25. Tetranychus urticae (Dişi). Vücut genişliğine ait değerler


Şekil 4.26. Tetranychus urticae (Dişi). Vücudun uzunluk/genişlik değerleri



Şekil 4.27. Tetranychus urticae (Dişi). Gnathosomanın uzunluk değerleri



Şekil 4.28. Tetranychus urticae (Dişi). Palpin uzunluk değerleri



Şekil 4.29. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin yükseklik değerleri







Şekil 4.31. Tetranychus urticae (Dişi). Tekli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri



Şekil 4.32. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin yükseklik değerleri



Şekil 4.33. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin genişlik değerleri



Şekil 4.34. Tetranychus urticae (Dişi). Çiftli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri



Şekil 4.35. Tetranychus urticae (Erkek). Vücut uzunluğuna ait değerler



Şekil 4.36. Tetranychus urticae (Erkek). Vücut genişliğine ait değerler



Şekil 4.37. Tetranychus urticae (Erkek). Vücudun uzunluk/genişlik değerleri



Şekil 4.38. Tetranychus urticae (Erkek). Gnathosomanın uzunluk değerleri



Şekil 4.39. Tetranychus urticae (Erkek). Palpin uzunluk değerleri



Şekil 4.40. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin yükseklik değerleri



Şekil 4.41. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin genişlik değerleri



Şekil 4.42. Tetranychus urticae (Erkek). Tekli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri



Şekil 4.43. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin yükseklik değerleri







Şekil 4.45. Tetranychus urticae (Erkek). Çiftli ipliğin yükseklik/genişlik değerleri

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada iki noktalı kırmızı örümcek ipeğinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektofotometre (EDX) ve seyreltilmiş toplam yansıma-Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (ATR-FTIR) kullanılarak ortaya çılışılmıştır.

Çalışma tasarlanırken hedefleri şu şekilde belirlenmiş idi;

- 1. İki noktalı kırmızı örümcek ağının elementel özelliklerinin tayini,
- 2. Ağın yüzey morfolojisinin aydınlatılması,
- 3. Farklı cinsiyetteki akarların ürettiği iplikler arasında morfolojik farklılıkların olup olmadığının aydınlatılması,
- Vücut ve ağız parçalarının (gnatozoma ve palp) büyüklüğü ile tekli ve çiftli ağ ipliğinin boyutları (genişlik ve yükseklik) arasındaki ilişkinin istatistiksel bakımdan karşılaştırılarak ortaya konulması,
- 5. Tekli ve çiftli ağ ipliklerinin AFM görüntüleri ve ölçüm verilerine dayanarak, hayvanın ağ örme şekilleri hakkında çıkarımların yapılması.

Çalışmanın bu haliyle hedeflerine ulaştığı söylenebilir. Araştırma sonucunda; iki noktalı kırmızı örümcek akarı tarafından üretilen ipeğin hem rastgele sarım hem de β-tabaka konformasyonlarından oluşan protein yapısına sahip olduğu, ipeğin yüzey morfolojisinin içbükey silindirik bir yapıda olduğu ortaya çıkmıştır. Cinsiyete göre ağ ipliklerinin boyutları arasında yapılan istatiksel analizde hem tekli hem de çiftli ağların yüksekliği, yükseklik/genişlik oranları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Fakat bu ağların genişlikleri arasında farklılıklar bulunsa da bu farklılığın istatistiki olarak anlamlı olmadığı anlaşılmıştır. Ayrıca gerek dişi gerekse erkek akarların vücut ölçüleri ile yaptığı ağların boyutları arasında bir anlam bulunamamıştır.

Alanyazın incelendiğinde, iki noktalı kırmızı örümcek ağının fonksiyonları üzerine bazı çalışmalar bulunmasına rağmen, ağın fiziksel özellikleri sınırlı ölçüde bilindiği anlaşılmaktadır (Clotuche vd., 2009; Grbić vd., 2011; Hudson vd., 2013). Özellikle ağın mimarisi hâlâ keşfedilmiş durumda değildir. Grbić vd. (2011) esas olarak *T. urticae* genomunu ortaya koyduğu çalışmada, ağın SEM ve AFM ile genel bir görüntüsünü alarak AFM yardımıyla mekanik testler yaptığı, Hudson vd. (2013)'ün yine ağın mekanik özelliklerini AFM ile belirlemeye çalıştığı, Clotuche vd. (2009)'un ise yeni bir protokol geliştirmek suretiyle floresan mikroskopta *T. urticae* ağının genel görüntüsünü ortaya koyduğu söylenebilir.

Tez çalışması ile biyoinspired materyallerin tasarımı ve üretimi açısından temel bilgiler ortya konduğu söylenebilir. Medikal ve farmakolojik değeri yüksek olarak bilinen bu gibi biyomateryallerin incelenmesinin endüstriye katkı sağlaması muhtemeldir. Elde edilen veriler bu alanda ve temel bilimler düzeyinde literatür eksiğini bir ölçüde giderecek ve katkı sağlayacak niteliktedir. Tez konusu ayrıca interdisipliner araştırmanın güzel bir örneğini sergilemektedir.

Çalışmada kullanılan yöntemler ipeğin görüntüleme ve moleküler analizleriyle sınırlıdır. İpeklerinin karakteristik farklılıklarını veren en önemli yapısal parametreler nanoskalada belirlenen alanınce zengin 3D kristalın oluşumlar ile glisince zengin plaka şeklindeki nano oluşumlardır. Malzemeye mekanik özellikler (esneklik ve sağlamlık) kazandıran yapı bu oluşumlar ile karakterize edilebilir. Bunların analizleri için ortalama kristalit büyüklüğünü belirlemede XRD yöntemi kullanılabilir. En ayrıntılı analizler ise geniş skalada SAXS (1-100 nm)ve WAXS (1-10 Å) yöntemleri ile yapılabilir. Buna ragmen çalışılacak deneysel yöntemlerle de optimum karakterizasyonların yapılabileceği açıktır. Özellikle rezolusyonu yüksek SEM analizleriyle nanoskalada tamamlayıcı bilgilere ulaşılabilir.

İpek iplikleri ikincil yapılar olup ağı örmek için öncül protein ve tuz karışımından oluşan bir yapıştırıcı sıvıdan oluşmaktadır. Bu nedenle çoğunlukla amorf yapılı organik proteinleri içerdiğinden tez süresince yürütülen çalışmalar yapıyı aydınlatmada yetersiz sayılabilir. XRD, elemental analiz gibi yöntemler spesifik türlerin neler olabileceği konusunda karmaşık bilgiler sunmaktadır. Organik yapının inorganik içerikten ayrılması analizde daha doğru bir yaklaşım olacağı düşünülmektedir. Özellikle protein yapının analizi "nondestructive" analizlerle tamamlanamayacak ve pek çok analiz sadece yapılmış olmakla kalacaktır. İleride bu yönde çalışmalar yapıldığı takdirde daha anlamlı olacaktır.

Çalışmamızda, konakçı bitki olarak fesleğen kullanılmıştır. Farklı konakçı bitkiler kullanılarak bitki değişikliliğinin ağın yapısal ve morfolojik özellikleri üzerine etkisinin olup olmadığı araştırılabilir. Bilhassa, alifatik ve aromatik konakçı bitkilerde örülen ağların özellikleri incelenebilir.

Başta ziraatçiler olmak üzere diğer alanlardaki araştırmacılarla disiplinlerarası çalışmalar yaparak doğal ve kimyasal mücadele ortamında örülen ağların özellikleri ayrıntılı olarak araştırılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim. Atomic force microscopy. Erişim adresi: https://en.wikipedia.org/wiki/Atomic-force_microscopy; erişim tarihi: Kasım 2016.
- Akar, İ., "Teorik ve deneysel titreşim spektroskopisi yardımıyla 5-kloro-8hidroksikinolin ve Zn ve Mn komplekslerinin incelenmesi" Yüksek Lisans Tezi, *Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kilis, 7-14 (2011).
- Asakura, T., Suzuki, Y., Nakazawa, Y., Yazawa, K., Holland, G.P., Yarger, J.L. "Silk structure studied with nuclear magnetic resonance", *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 69: 23-68 (2013).
- Ay, R., "Antalya ili örtüaltı sebze üretim alanlarında zararlı olan *Tetranychus urticae* Koch populasyonlarının bazı akarisitlere karşı tepkileri", *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(3): 301-306 (2006).
- Banwell, C.N., McCash, E.M., "Fundamentals of Molecular Spectroscopy", *Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited*, New Delhi, 308 (1996).
- Caglar, B., Afsin, B., Tabak, A., Eren, E., "Characterization of the cation-exchanged bentonites by XRPD, ATR, DTA/TG analyses and BET measurement", *Chemical Engineering Journal*, 149: 242-248 (2009).
- Çağlar, B., "Asit aktifleştirilmiş-, metal- ve karışık metal-işli bentonitlerin Bronsted ve Lewis asitliklerinin çeşitli yüzey analiz teknikleriyle incelenmesi", Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 14-15 (2008).
- Clotuche, G., Goff, G.L., Mailleux, A.-C., Deneubourg, J.-L., Detrain, C., Hance, T. "How to visualize the spider mite silk?", *Microscopy Research and Technique*, 72: 659-664 (2009).
- Clotuche, G., Mailleux, A.-C., Astudillo Fernández, A., Deneubourg, J.-L., Detrain, C., Hance, T., "The formation of collective silk balls in the spider mite *Tetranychus urticae* Koch", *Plos one*, 6 (4): 1-9 (2011).

- Clotuche, G., Mailleux, A.-C., Deneubourg, J.-L., Detrain, C., Hance, T., "The silk road of *Tetranychus urticae*: is it a single or a double lane", *Experimental and Applied Acarology*, 56: 345-354 (2012).
- Clotuche, G., Mailleux, A.-C., Yano, S., Detrain, C., Deneubourg, J.-L., Hance, T., "Settlement decisions by the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*", *Comptes Rendus Biologies*, 336: 93-101 (2013a).
- Clotuche, G., Navajas, M., Mailleux, A.-C., Hance, T., "Reaching the ball or missing the flight? Collective dispersal in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*", *Plos one*, 8 (10): 1-9 (2013b).
- Clotuche, G., Yano, S., Akino, T., Amano, H., "Chemical investigation of aggregation behaviour in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*", *Experimental and Applied Acarology*, 63: 377-387 (2014).
- Çırak, Ç., "Taramalı tünelleme elektron mikroskop yapımı ve temel bilimlere uygulamaları", Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 4-10 (2005).
- Doğan, S., "Akaroloji", Ders notları, Erzincan, (2012).
- Doğan, S., Çağlar, B., Çırak, Ç., Çağlar, M., Buğa, E., Elverici, M., "Structural and morphological characterization of the silk of *Steatoda paykulliana* (Araneae: Theridiidae) by AFM, FTIR, EDX and SEM analyses", International Physics Conference at the Anatolian Peak (IPCAP), Erzurum, 25-27 Şubat 2016, p. 290.
- Egerton, R.F., "Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM", *Springer*, New York, (2005).
- Erdik, E., "Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler", Gazi Büro Kitapevi yayını, Ankara, 531 (1998).
- Gerson, U., Weintraub, P.G., "Mites of the control of pests in protected cultivation", *Pest Management Science*, 63: 658-676 (2007).
- Grbić, M., Van Leeuwen T., Clark, R.M., Rombauts, S., Rouzé, P., Grbić, V., Osborne, E.J., Dermauw, W., Ngoc, P.C.T., Ortego, F., Hernández-Crespo, P., Diaz, I., Martinez, M., Navajas, M., Sucena, É., Magalhães, S., Nagy, L., Pace, R., Djuranović, S., Smagghe, G., Iga, M., Christiaens, O., Veenstra, J.A., Ewer, J., Villalobos, R.M., Hutter, J.L., Hudson, S.D., Velez, M., Yi, S.V., Zeng, J., Pires-da Silva, A., Roch, F., Cazaux, M., Navarro, M., Zhurov, V., Acevedo, G., Bjelica, A., Fawcett, J.A., Bonnet, E., Martens, C., Baele, G., Wissler, L., Sanchez-Rodriguez, A., Tirry, L., Blais, C., Demeestere, K., Henz, S.R., Gregory, T.R., Mathieu, J., Verdon, L., Farinelli, L., Schmutz, J.,

Lindquist, E., Feyereisen, R., Van de Peer, Y., "The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations", *Nature*, 479: 487-492 (2011).

- Hudson, S.D., Zhurov, V., Grbić, V., Grbić, M., Hutter, J.L., "Measurement of the elastic modulus of spider mite silk fibers using atomic force microscopy", *Journal of Applied Physics*, 113 (154307): 1-7 (2013).
- Humenik, M., Magdeburg, M., Scheibel, T., "Influence of repeat numbers on selfassembly rates of repetitive recombinant spider silk proteins", *Journal of Structural Biology*, 186: 431-437 (2014).
- Hu, X., Kaplan, D., Cebe, P., "Determining beta-sheet crystallinity in fibrous proteins by thermal analysis and infrared spectroscopy", *Macromolecules*, 39(18): 6161–6170 (2006).
- Khan, M.R., Gotoh, Y., Morikawa, H., Miura, M., Fujimori, Y., Nagura, M., "Carbon fiber from natural biopolymer Bombyx mori silk fibroin with iodine treatment", *Carbon*, 45: 1035-1042 (2007).
- Kim, G.H., Song, C., Park, N.J., Cho, K.Y., "Inheritance of tesistance in dicofolselected strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), and its coss resistance", *Korean Journal of Applied Entomology*, 33: 230-236 (1994).
- Kim, G.H., Song, C., Chang, B.Y., Park, N.J., Cho, K.Y., "Stability of dicofol resistance of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)", *Korean Journal of Applied Entomology*, 34: 61-64 (1995).
- Kino, R., Ikoma, T., Yunoki S., Nagai N., Tanaka J., Asakura T., Munekata M., "Preparation and Characterization of Multilayered Hydroxyapatite/Silk Fibroin Film", *J. Biosci. Bioeng*, 103(6): 514–520 (2007).
- Koperska, M.A., Pawcenis, D., Bagniuk, J., Zaitz, M.M., Missori, M., qojewski, T., qojewska, J., "Degradation markers of fibroin in silk through infrared spectroscopy", *Polymer Degradation and Stability*, 105: 185-196 (2014).
- Le Goff, G., "Benefits of aggregation in *Tetranychus urticae*", Université catholique de Louvain (UCL), Faculté des sciences, Biodiversity research centre, Earth and life institute, PhD thesis, (2011).
- Le Goff, G.J., Hance, T., Detrain, C., Deneubourg, J.-L., Clotuche, G., Mailleux, A.-C., "Impact of starvation on the silk attractiveness in a weaving mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)", *Journal of Ethology*, 30: 125-132 (2011).

- Liao, X., Yin, G., Huang, Z., Yao, Y., Gu, J., Han, D., "Supercontraction on cribellate spider spiral silk with wet-rebuilt micro-structure", *Materials Science and Engineering C*, 31: 128-133 (2011).
- McGregor, E.A., "Mites of the family Tetranychidae", *The American Midland Naturalist*, 44 (2): 257-420 (1950).
- Mehta, N., Hede, S., "Spider Silk Calcite Composite", *Hypothesis*, 3(2),:21-25 (2005).
- Mhuka, V., Dube, S., Nindi, M.M., "Chemical, structural and thermal properties of Gonometa postica silk fibroin, a potential biomaterial", *International Journal of Biological Macromolecules*, 52: 305-311 (2013).
- Nimmen, E.V., Clerck, K.D., Verschuren, J., Gellynck, K., Gheysens, T., Mertens, J., Langenhove, L.V., "FT-IR spectroscopy of spider and silkworm silks Part I. Different sampling techniques", *Vibrational Spectroscopy*, 46: 63-68 (2008).
- Normandeau, J., Van Kessel, C., Nicholson, D., Routledge, B.R., Fawcett, A., Lim-Cole, L., Condy, C., Sylvain, N., Walker, T. and Borondics, F., "Spider silk protein structure analysis by FTIR and STXM spectromicroscopy techniques", *Canadian Young Scientist Journal*, 2014(1): 35-42 (2014).
- Özbek, H., Hayat, R., "Tahıl, Sebze, Yem ve Endüstri Bitkileri Zararlıları", *Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları*, 340: (2003).
- Özbek, H, Güçlü, Ş., Hayat, R., Yıldırım, E., "Meyve Bal ve Bazı Süs Bitkileri Zararlıları", *Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları*, 323: (1998).
- Ray, H.A., Hoy, M.A., "Role of silk webbing in the biology of *Hemicheyletia* wellsina (Acari: Cheyletidae)", *International Journal of Acarology*, 40: 577-581 (2014).
- Sabelis, M.W., "Predation on spider mites. World Crop Pests: Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control", (ed. by W Helle and MW Sabelis), *Elsevier*, Amsterdam the Netherlands, 103-130 (1985).
- Sabelis, M.W., Bakker, F.M., "How predatory mites cope with the web of their tetranychid prey: a functional view on dorsal chaetotaxy in the Phytoseiidae", *Experimental and Applied Acarology*, 16: 203-225 (1992).
- Saitô, Y., "Study on the spinning behavior of the spider mite (Acarina: Tetranychidae). I. Method for quantitative evaluation of mite webbing and the relationship between webbing and walking", *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 21: 27-34. (1977).
- Saitô, Y., "Study on the spinning behavior of the spider mite (Acarina; Tetranychidae). II. The process of silk secretion and the webbing on the

various stages of *Tetranychus urticae* Koch under different environmental conditions", *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 21: 150-157 (1977).

- Saitô, Y., "Study on the spinning behavior of spider mites. III. Responses of mites to webbing residues and their preferences for particular physical conditions of leaf surfaces (Acarina: Tetranychidae)", Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, 23: 82-91 (1979).
- Seeman, O., Beard, J.J., "National diagnostic standards for *Tetranychus* spider mites", *Plant Health Australia*, *National Diagnostic Standards Development*, Canberra, (2005).
- Seeman, O.D., Beard, J.J., Identification of exotic pest and Australian native and naturalised species of *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae)", *Zootaxa*, 2961: 1-72 (2011).
- Shang, S., Zhu, L., Fan, J., "Intermolecular interactions between natural polysaccharides and silk fibroin protein", *Carbohydrate Polymers*, 93: 561-573 (2013).
- Shao, Z., Vollrath, F., Sirichaisit J., Young, R.J., "Analysis of spider silk in native and supercontracted states using Raman spectroscopy", *Polymer*, 40: 2493-2500 (1999).
- Shatrov, A.B., "Phenomenon of silk production in water mites (Acariformes, Hydrachnidia)", in: Microscopy: advances in scientific research and education, Méndez-Vilas, A. (Ed.)., *Formatex*, 538-544 (2014).
- Siri, S., Maensiri, S., "Alternative biomaterials: Natural, non-woven, fibroin-based silk nanofibers of weaver ants (*Oecophylla smaragdina*)", *International Journal of Biological Macromolecules*, 46: 529-534 (2010).
- Skoog. D. A., Holler, F. J. and Nieman, T.A., "Enstrümentel analizin ilkeleri.(Çev E.Kılıç, F. Köseoglu, H. Yılmaz)", *Bilim Yayıncılık,* İstanbul, 846 (1998).
- Stumpf, N., Nauen, R., "Crossresistance, Inheritance and Biochemistry of Mitochondrial Electron Transport Inhibitor Acaricide Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)", *Journal of Economic Entomology*, 94: 1577-1583 (2001).
- Pelton, J. T., & McLean, L. R., "Spectroscopic methods for analysis of protein secondary structure", *Analytical Biochemistry*, 277(2): 167–176 (2000).
- Tien, N.S.H., Sabelis, M.W., Egas, M., "Heritability of defence and life-history traits in the two-spotted spider mite", *Evolutionary Ecology Research*, 11: 1271-1281 (2009).

- Tsukada, M., Khan, M.R., Inoue, E., Kimura, G., Hun, J.Y., Mishima, M., Hirabayashi, K., "Physical properties and structure of aquatic silk fiber from Stenopsyche marmorata", *International Journal of Biological Macromolecules*, 46: 54-58 (2010).
- Van Leeuwen, T., Stillatus, V., Tirry, L., "Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae)", *Experimental & Applied Acarology*, 32: 249-261 (2004).
- Vepari, C., Kaplan, D.L., "Silk as a biomaterial", *Progress in Polymer Science*, 32: 991-1007 (2007).
- Wang, J.T., Li, L.L., Zhang, M.Y., Liu, S.L., Jiang, L.H., Shen, Q., "Directly obtaining high strength silk fiber from silkworm by feding carbon nanotubes", *Materials Science and Engineering C*, 34: 417-421 (2014).
- Yano, S., "Collective and solitary behaviors of twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) are induced by trail following", *Annals of the Entomological Society of America*, 10: 247-252 (2008).
- Yorulmaz Salman, S., Sarıtaş, E., "Acequinocyl resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): inheritance, synergists, cross-resistance and biochemical resistance mechanisms", *International Journal of Acarology*, 40(6): 428-435 (2014).
- Zhang, Z.-Q., "Mites of greenhouses: Identification, biology, and control", *UK: CAB International Publishing*, (2003).
- Zhang, Z.-Q., Henderson, R., Flynn, A., Martin, N.A., "Key to Tetranychidae of New Zealand", *Landcare Research Contract Report*, 62: 102-144 (2002).
- Zhang, F., Lu, Q., Yue, X., Zuo, B., Qin, M., Li, F., Kaplan, D.L., Zhang, X., "Regeneration of high-quality silk fibroin fiber by wet spinning from CaCl₂formic acid solvent", *Acta Biomaterialia*, 12: 139-145 (2015).
- Zhang, H., Li, L.-L., Dai, F.-Y., Zhang, H.-H., Ni, B., Zhou, W., Yang, X., Wu, Y.-Z., "Preparation and characterization of silk fibroin as a biomaterial with potential for drug delivery", *Journal of Translational Medicine*, 10 (117): 1-9 (2012).
- Zhao, C., Asakura, T., "Structure of Silk studied with NMR", *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 39: 301-352 (2001).

Zhou, S., Huang, W., Belton, D-J., Simmons, L-O., Perry, C-C, Wang, X., Kaplan, D-L., "Control of silicification by genetically engineered fusion proteins: Silk–silica binding peptides", *Acta Biomaterialia*, 15: 173-180 (2015).



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Mustafa ÇAĞLARDoğum Yeri ve Yılı: Samsun, 1983E-Posta: mustafacaglar557@gmail.com

<u>Eğitim Bilgileri</u>

Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2003-2010)

Yüksek Lisans (Tezli): Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (2013-2017)

<u>Yayınları</u>

- Doğan, S., Çırak, Ç., Çağlar, M., Çağlar, B. "Structural characterisation of the silk of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)", Microscopy Conference (MC2015), GOTTINGEN, GERMANY, 6-11 September 2015, pp. 797-799.
- Doğan, S., Çağlar, B., Çırak, Ç., Çağlar, M., Buğa, E., Elverici, M., "Structural and morphological characterization of the silk of *Steatoda paykulliana* (Araneae: Theridiidae) by AFM, FTIR, EDX and SEM analyses", International Physics Conference at the Anatolian Peak (IPCAP), ERZURUM, TÜRKİYE, 25-27 Şubat 2016, p. 290.
- Çağlar, B., Topcu, C., Çağlar, S., Çağlar, M., Doğan, S., "Structural, morphological and thermal characterization of trimethyloctadecylammonium-bentonite composites", International Physics Conference at the Anatolian Peak (IPCAP), ERZURUM, TÜRKİYE, 25-27 Şubat 2016, pp. 240-240.