

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURT ÖRÜMCEĞİ *Pardosa proxima* (C.L.KOCH, 1847)'NİN (LYCOSIDAE,
ARANEAE) AFİT TÜRLERİ (APHIDIDAE, HOMOPTERA) ÜZERİNDEN
BESLENMESİNE İLİŞKİN MOLEKÜLER ANALİZLER

Serpil NALBANT

HAZİRAN 2010

Biyoloji Anabilim Dalında Serpil NALBANT tarafından hazırlanan KURT ÖRÜMCEĞİ *Pardosa proxima* (C.L.KOCH, 1847)'NİN (LYCOSIDAE, ARANEAE) AFİT TÜRLERİ (APHIDIDAE, HOMOPTERA) ÜZERİNDEN BESLENMESİNE İLİŞKİN MOLEKÜLER ANALİZLER adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Nazife YİĞİT

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof. Dr. Abdullah BAYRAM _____

Üye (Danışman) :Doç.Dr. Nazife YİĞİT _____

Üye :Yrd. Doç. Dr. Recep Sulhi ÖZKÜTÜK _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Doç. Dr. Burak BİRGÖREN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

KURT ÖRÜMCEĞİ *Pardosa proxima* (C.L.KOCH, 1847)'NİN (LYCOSIDAE, ARANEAE) AFİT TÜRLERİ (APHIDIDAE, HOMOPTERA) ÜZERİNDEN BESLENMESİNE İLİŞKİN MOLEKÜLER ANALİZLER

NALBANT, Serpil

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Nazife Yiğit

Haziran 2010, 68 sayfa

2008-2010 yılları arasında Kırıkkale'de gerçekleştirilen bu çalışmada bağ-bahçe zararlısı olan afitler ile aynı habitatta yer alan kurt örümcekleri arasındaki beslenme ilişkisinin moleküler analizler ile tespit edilmesi ve örümceklerin potansiyel biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirliği incelenmiştir. Bu çalışmada Kırıkkale il sınırları içerisinde yer alan bağ ve bahçeden toplanan afitler ile lokalitede dominant olarak bulunan kurt örümcekleri laboratuvarında aynı beslenme kapları içerisinde birlikte tutularak örümceğin diyet oranı ve şekli ortaya çıkartılmıştır. Avcı olarak *Pardosa proxima* (C. L. Koch, 1847); av olarak ise afitlerden *Aulacorthum solani* (Kaltenbach, 1843) (Biber afiti), *Brevicoryne brassica* (Linnaeus, 1758) (Lahana afiti), *Hyalopterus amygdali* (E. Blanchard, 1840) (Şeftali afiti), *Hyalopterus pruni* (Geoffray, 1762) (Kayısı afiti), *Myzaphis rosarum* (Kalrenbach,

1847) (Gül afiti) seçilmiş ve avcı-av arasındaki beslenme rejimi SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat – Poliakrilamid Jel Elektroforezi) protein analizi ve PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) DNA amplifikasyonu yöntemi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca örümceklerin afitlerle beslenme sıklığı ile tipinin ekolojik etkileri ortaya çıkartılmaya çalışılmıştır. Yapılan SDS-PAGE çalışmaları sonucunda örümcek mide muhtevasında ava ait protein bantlarına rastlanılmıştır. PCR çalışmalarında ise afit üzerinden beslenen örümcekte afite ait 181 bç'lik ortak bir bant görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kırıkkale, Araneae, Aphididae, Kurt örümcek, Afit, PCR, SDS-PAGE.

ABSTRACT

MOLECULAR ANALYSIS ABOUT THE WOLF SPIDER *Pardosa proxima*
(C.L.KOCH, 1847) (LYCOSIDAE, ARANEAE) FEEDING ON THE APHIDS
(APHIDOIDEA, HOMOPTERA) SPECIES

NALBANT, Serpil

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Msc. Thesis

Supervisor: Doç. Dr. Nazife Yiğit

June 2010, 68 pages

In this study, which was done by the years between 2008-2010 in Kırıkkale, the determination of the feeding relationship between the vineyard-garden pest aphids and wolf spiders in the same habitats, using molecular analysis and usability of spiders as potential biological control agent were examined. Aphids which were collected in the vineyards and gardens in Kırıkkale region and wolf spiders located dominantly were couple in the same container in the order to find out the diet proportion and form of wolf spiders.

Pardosa proxima, as of predator, as for prey form aphids, *Aulacorthum solani* (Kaltenbach, 1843), *Brevicoryne brassica* (Linnaeus, 1758), *Hyalopterus amygdali* (E. Blanchard, 1840), *Hyalopterus pruni* (Geoffray, 1762), *Myzaphis rosarum* (Kaltenbach, 1847) were selected and the feeding regime between predator and prey were studied to determine with SDS-PAGE (Sodium Dodecil Sulfat – Polyacrylamide Gel Electrophoresis) protein analysis and PCR (Polymerase Chain Reaction) DNA amplification method. Furthermore, the ecological effects of type

and frequency of spiders feeding on aphids were tried to be find out. In the results of SDS-PAGE studies, protein bands belong to the prey were determinate in the spider gut contents. Although in PCR studies, a common band which was 181 bç, belong to aphid was seen on spider feeding on aphid.

Key words: Kırıkkale, Araneae, Aphididae, Wolf Spider, Aphid, PCR, SDS-PAGE

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında yardımlarını esirgemeyen, araştırmalarım boyunca bana destek olan, tez yöneticisi hocam, Sayın Doç.Dr. Nazife YİĞİT'e, tez çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda daima yardımını gördüğüm hocam Sayın Prof. Dr. Abdullah BAYRAM'a sonsuz teşekkürler.

Çalışmalarımın birçok aşamasında yardımlarını ve desteklerini gördüğüm Yrd.Doç.Dr. Tarık DANIŞMAN, Uzman Biyolog Zafer SANCAK, Biyolog Melek ERDEK'e, büyük fedakarlıklarla bana destek olan Arş. Gör. Abdullah MELEKOĞLU'na teşekkür ederim.

Afitlerin elde edilmesi ve laboratuarda yetiştirilmesi konularında bana yardımcı olan Sayın Doç.Dr. Gazi GÖRÜR'e (Niğde Üniversitesi Öğretim Üyesi), tür teşhisi ve literatür desteğini sağlayan Uzman Biyolog Başak AKYÜREK'e teşekkür ederim.

Ayrıca tezimin birçok aşamasında yardımlarını esirgemeyen, destek olan dostum Dr. Gülpembe ERGİN'e ve sevgili kardeşim Seval NALBANT'a, sağlamış oldukları imkan ve desteklerinden dolayı Sayın Timur Volkan TEKİN'e, Mükerrerem AĞBABA'ya, Hayrettin AKTEPE'ye ve son olarak bana birçok konuda olduğu gibi, çalışmam esnasında da her zaman sabır gösterip destek olan eşime, anneme, dayıma ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Kaynak Özetleri	4
1.1.1. Örümceklerin Vücut Yapısı ve Sindirim Sistemi	4
1.1.2. Afitlerin Vücut Yapısı ve Beslenmesi.....	7
1.1.3. Afitlerin Bitkilere Verdiği Zararlar	13
1.1.4. Örümceklerin Beslenmesi ve Beslenme Ekolojisine İlişkin Çalışmalar	18
1.1.5. Biyolojik Kontrol Açısından Örümceklerin Predatörlük Değeri.....	23
1.1.6. Örümceklerin Zararlı Böcekler Üzerinden Beslenmesine İlişkin Moleküler Çalışmalar.....	28
1.2. Çalışmanın Amacı.....	32
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	33
2.1. Örümcek ve Afitlerin Doğadan Toplanması.....	33
2.2. Araştırmada Kullanılan Kurt Örümceği ve Afit Türleri	33
2.3. Laboratuvarında Av-Avcı Beslenme Çalışmaları	36
2.4. Laboratuvarında Moleküler Analiz Çalışmaları	42
2.4.1. SDS-PAGE Analiz Çalışması	42
2.4.2. PCR Analiz Çalışması.....	43
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	46
3.1. Av-Avcı Beslenme İlişkisinin Laboratuvar Gözlemleri	46
3.2. SDS-PAGE ile Proteinlerin Kıyaslanması.....	46
3.3. PCR Yöntemi İle Beslenme İlişkilerinin Tayini	49

4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR	55
EKLER.....	63
EK-1	63
EK-2	65
EK-3	66
EK-4	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

	<u>Sayfa</u>
3.1. <i>Pardosa proxima</i> 'nın farklı afit türleri üzerinden beslenme miktarları.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Bir örümceğin ventral ve abdominal görünümü.....	5
1.2. Bir örümceğin anatomisi	6
1.3. Örümceklerde emici mide.....	7
1.4. Kanatlı dişi bir afitin dorsalden genel görünümü.....	8
1.5. a- b. <i>Brevicoryne brassica</i> lahanada afitinin unlu görünümü.....	9
1.6. Gül bitkisinde koloni halinde bulunan <i>Myzaphis rosarum</i>	10
1.7. Kanatlı ve kanatsız form görünümündeki <i>Brevicoryne brassica</i>	10
1.8. Lahana yaprağı üzerinde <i>Brevicoryne brassicae</i> kolonisi.....	11
1.9.a. Biber yaprağının alt kısmında <i>Aulacorthum solani</i> kolonisi.....	12
1.9.b. <i>Aulacorthum solani</i> işgal etmiş biber bitkisi.....	12
1.10. Şeftali yaprağındaki <i>Hyalopterus amygdali</i> (şeftal afiti) kolonisi.....	13
1.11. <i>B. brassica</i> 'nın lahanada bitkisine verdiği zarar.....	14
1.12. Meşe üzerinde oluşan yumru ve sararmalar.....	14
1.13. Fumajin olmuş bir armut yaprağı.....	15
1.14. Mısır yaprağındaki <i>Rhopalosiphum maidis</i> 'in neden olduğu is.....	15
1.15. Biber afiti <i>Aulacorthum solani</i> tarafından bırakılan ballık.....	16
2.1. <i>Aulacorthum solani</i> (biber afiti).....	34
2.2. <i>Brevicoryne brassica</i> (lahana afiti).....	35
2.3. <i>Hyalopterus amygdali</i> (kayısı afiti).....	35
2.4. Özel beslenme kabı içinde üç adet <i>Aulacorthum solani</i> (biber afiti) ile beslenmiş <i>Pardosa proxima</i>	36
2.5. Örümcek besleme kapları.....	37

2.6. Biber afiti ile beslenmiş örümcek I. grup.....	38
2.7. Biber afiti ile beslenmiş örümcek II. grup.....	38
2.8. Gül afiti ile beslenmiş örümcek.....	39
2.9. Lahana afiti ile beslenmiş örümcek.....	39
2.10. Kayısı afiti ile beslenmiş örümcek I. grup.....	40
2.11. Kayısı afiti ile beslenmiş örümcek II. grup.....	40
2.12. Şeftali afiti ile beslenmiş örümcek I. grup.....	41
2.13. Şeftali afiti ile beslenmiş örümcek II. grup.....	41
2.14. <i>Pardosa proxima</i> 'nın <i>Brevicoryne brassica</i> 'yı (lahana afiti) yerken.....	42
2.15. Kurt örümceği afiti yerken.....	42
3.10. Biber ve lahana afiti üzerinden beslenen örümcek ile lahana afiti örneklerine ve protein markerına ait bantlar.....	48
3.11. Biber afiti ve biber afiti ile beslenmiş örümceğe ait bantlar.....	48
3.12. Gül afiti ile beslenmiş örümcek ile kayısı afiti ile beslenmiş örümceğe ait bantlar.....	49
3.13. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen bantlar.....	50

1.GİRİŞ

Örümcekler tür zenginliği itibariyle dünyanın en geniş sınıfını oluşturan ve ekonomik değeri yüksek olan böcekler ile yakın ilişkisi olan hayvanlardır. Örümcekler tarımsal ekosistemlerde yani pirinç, buğday, mısır gibi tahıl tarlalarında, pamuk, korunga gibi endüstriyel bitki tarlalarında, elma, şeftali, domates gibi bahçeliklerde büyük popülasyonlar halinde; kışları ise bu arazilerdeki ot yığınları içerisinde yaşamaktadırlar. Örümceklerin böceklerin bulunduğu ortamları tercih etmeleri böcek-örümcek arasında beslenme ilişkisine dayanmaktadır. Kuzey Amerika, Avrupa ve özellikle kalkınması tarıma dayalı Uzakdoğu ülkelerinde örümceklerin böceklerin önemli predatörleri olduklarına dair önemli ekolojik araştırmalar yapılmıştır (Bayram, 1999).

Beslenme ekolojisi alanında yapılan bu araştırmalara bakıldığında, obur örümceklerin tarımsal ekosistemlerde gerçekten önemli avcı oldukları anlaşılmaktadır. Örümceklerin avını öncelikle afitler (bitki bitleri), kapsidler (bitki tahtakuruları), süne, trips, peygamber devesi, sivrisinek ve sıçrar kuyruklu gibi yumuşak vücutlu ve zararlı böcekler oluşturmaktadır (Bayram, 1999; Bayram 1993; Danışman, 2008).

Örümceklerin besin listesinde en sık görülen gruplar Heteroptera, Homoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera ve Lepidoptera grubu böceklerdir. Sinekler, sıçrar kuyruklular ve bitki bitleri örümcek diyetinin büyük bileşenlerini teşkil etmektedirler (Bayram, 2005; Danışman, 2008; Nyffeler ve Benz, 1987; Samu ve Szinetar, 2002; Greenstone ve Sunderland, 1999; Nyffeler ve Benz, 1988a). Örneğin, İngiltere-Sussex tahıl tarlalarında gerçekleştirilen bir araştırmada örümcek diyetinin % 60-90'ını Homoptera (Aphidae), Hemiptera (Scutellidae, Miridae, Rhopalidae), Diptera, Coleoptera, Collembola, Thysanoptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Neuroptera'nın oluşturduğu tespit edilmiştir (Bayram, 1999; Luczak, 1975). Ayrıca Haydarabad'daki Uluslararası Pirinç Araştırma Enstitüsü'ndeki kayıtlara göre, pirinç tarlalarında Homoptera nimflerinin ölümünün %95'i predatörler tarafından olmaktadır. Bu predatörler arasında Lycosidae, Clubionidae, Linyphiidae ve Araneidae grubu örümcekler önemli bir yer tutmaktadır (Bayram, 1999).

Edgar (1979), İskoçya'nın Glasgow Üniversitesi'nde yaptığı bir araştırmada toprakta yaygın olarak bulunan bir kurt örümceği *Pardosa amentata*'nın yaklaşık % 70 oranında Diptera üzerinden beslendiğini, bu türe yakın olan başka bir kurt örümceği *Pardosa lugubris*'in ise %85 oranında Diptera ve Hemiptera grubu böcekler üzerinden beslendiğini ortaya çıkarmıştır. Richert ve Lockly (1984)'nin raporuna göre, bir örümcek tükettiği av sayısının 50 katı kadar av öldürebilir. Persons ve Uetz (1996), kurt örümceklerinin (*Schizocosa ocreata*) doyduklarında dahi yediklerinden daha fazla sayıda cırcır böceklerini öldürdüklerini tespit etmiştir (Maloney vd., 2003).

Çayır ve tarla vejetasyonu örümcekleri öncelikle sinek ve eşkanatlı böceklerin predatörleridir. Ayrıca ağ örücü örümceklerinin besinlerini büyük oranda bal arıları ve çekirgeler teşkil etmektedir. Bu biyotopların zemin zonundaki yer örümcekleri genellikle Diptera, Collembola ve Aphid gibi yumuşak vücutlu böcekleri tercih ederler. Ancak yapılan immunolojik besin analizlerinden bu örümceklerin afit gibi zararlı böcekler üzerinden beslendikleri gibi bal arıları, Chrysophidae ve Coccinellidae gibi faydalı böcekleri de yedikleri anlaşılmıştır (Bayram, 1999).

Ülkemizin önemli bilim adamlarından Prof.Dr. Niyazi Lodos (1986), "Türkiye Entomolojisi" adlı kitap serisinin "Biyolojik Savaş" bölümünde zararlı böcek predatörlerini sıralarken biyolojik savaşta örümceklerin önemini vurgulamaktadır. Örümcekler böcekler üzerinden beslenmesiyle doğal dengenin korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar.

İsrail, Avusturalya, Kanada ve Avrupa'daki meyve bahçelerinde yaşayan örümceklerin zararlı böcek popülasyonunu baskılamasının yanında bu zararlı böceklerden sebep olduğu ürün üzerinde meydana getirdikleri zararı da önemli ölçüde azalttıkları gözlenmiştir (Maloney vd., 2003; Özen 2009).

Zararlı böceklere karşı tüm savaşım (entegre zararlı kontrolü) projelerinin ağırlıklı olarak dünya gündeminde olmasına rağmen, örümcekler gibi zararsız ve önemli predatörler tarımsal alanlarında bilinçsizce kullanılan pestisidlerle zarar görmektedirler (Bayram, 1999; Danışman, 2008). Yoğun ve bilinçsizce pestisit kullanılmasının sonucunda toprak, su, hava ve gıdalarda kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir (Özen, 2009). Hedef olmayan diğer canlılara

ve insanlara etki etmesi, belirli pestisitlerin uzun süreli ve mükerrer kullanılması sonucunda zararlı organizmalarda seleksiyon sonucunda dirençli populasyonların ortaya çıkması, doğal dengenin önemli ölçüde zarar görmesine neden olmaktadır (Bayram, 1999; Danışman, 2008).

Pestisidlerin silinmez etkilerinin ortaya çıkması ile bu kimyasalların giderek azaltılması ve bunların yerini biyolojik kontrol ajanlarının alması dünya gündeminde yer almıştır (Bayram, 1999; Danışman, 2008). İdeal bir biyolojik kontrol ajanı bu sebeple sentetik insektisitlere karşı toleranslı olabilirler. Örümcekler kısmen de olsa oldukça uzun yaşama sürelerinden dolayı insektisitlere karşı böceklerden daha duyarlı olabilirler, bazı örümcekler tolerans gösterebilirler ve hatta bazı pestlere karşı direnç göserebilirler. Kurt örümceği *Pardosa pseudoannulata* gibi örümcekler neem (Tropikal bölgelerde yetişen ve böcek öldürücü madde elde edilen bir ağaç) gibi kimyasal olan botanik insektisitlere karşı yüksek toleranslıdır (Maloney vd., 2003).

Bitki zararlısı olan böcek populasyonlarına karşı doğal predatörlerinin artırılması işlemi olarak tanımlanan biyolojik mücadele, tarımsal ekosistemlerde zararlı yoğunluğunu tamamen yok etmek değil, ekonomik zarar düzeyini düşürmeyi amaçlamıştır (Maloney vd., 2003; Özen 2009). Bitki zararlılarının kontrolünde mikrobiyal patojenler, nematodlar, parazitoid böcekler, örümcekler ve kuş gibi önemli biyolojik mücadele ajanlarından faydalanılmaktadır (Özen, 2009).

Son yıllarda böcekler ve örümcekler arasındaki av-avcı ilişkisi ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), SDS-PAGE (Sodium Dodesil Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis), PCR (Polymerase Chain Reaction), IMS (Immunomagnetic Separation) ve MAb (Monoclonal Antibody) analiz teknikleri ile saptanmış ve örümceklerin ekolojik dengenin korunmasındaki rolleri üzerine ekolojik araştırmalar ve analiz çalışmaları giderek yoğunlaşmıştır (Sunderland vd., 1987; Symondson 2002; Sheppard vd., 2005). Avcıların kusmukları, dışkıları ve mide/bağırsaklarındaki av kalıntılarını ortaya çıkarmak için kullanılan PCR teknikleri arazilerdeki kompleks besinsel etkileşimleri araştırmak için geliştirilmiştir (King vd., 2008).

Türkiye ekonomisinde tarım önemli bir yer tutmaktadır. Tarımsal alanların korunmasıyla birlikte ürün zararlılarıyla mücadelede örümceklerin kullanılmasına

ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Tarımsal ekosistemlerde çok fazla sayıda karşımıza çıkan kurt örümceklerin bağ-bahçe zararlısı olan afitler, afite ait larva ve yumurtalar üzerinden beslendiğini laboratuvarında birebir gözlemleyerek ve SDS-PAGE/PCR analiz yöntemleri kullanılarak ne sıklıkla beslendiği ve bunun ekolojik olarak etkileri bu tezin ana hatlarını ortaya koymaktadır.

1.1.Kaynak Özetleri

1.1.1. Örümceklerin Vücut Yapısı ve Sindirim Sistemi

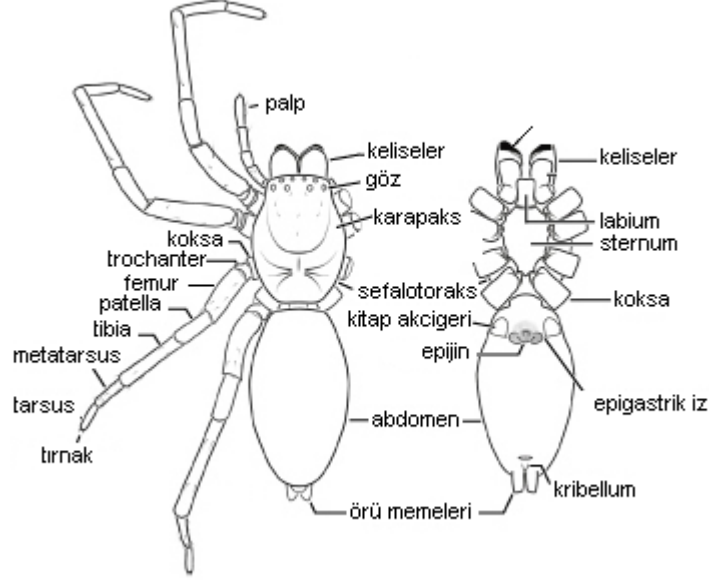
Örümcekler Eklembacaklı'ların Arachnida sınıfı içinde yer alan en kalabalık grubudur. Günümüze kadar 40 binin üzerinde örümcek türü tanımlanmıştır (Bayram, 1999; Bayram 2005).

Bir örümceğin vücudu iki ana kısımdan oluşur. Ön bölüm prosoma ya da cephalotorax (başlıgöğüs) adını alır. Arka kısmı ise opistosoma veya abdomen (karın) adını almaktadır. Ön ve arka kısımları pedisel adı verilen dar bir bel ile birbirine bağlanmaktadır. Prosoma üstten karapaks denilen kalın bir zırh ile alttan ise sternum denen kitinimsi kalın bir plaka ile kaplıdır (Foelix, 1982) (Şekil 1.1).

Gözler başın ön tarafında genelde 2 sıra halinde dizilmiş 8 adet olarak bulunur. Prosomadan çıkan üyeler sırası ile 1 çift keliser, bir çift pedipalpus, 4 çift yürüme bacaklarıdır. Keliserlerin kaide kısmında labium ve maksilla adında ağız parçaları yer alır. Keliserler ağza ve beslenmeye yardımcı olur (Foelix, 1982). Keliserlerde bulunan diken şeklindeki kısaç aslında bir zehir iğnesidir. Örümceklerin birçoğunda bir çift zehir bezi prosomanın ön tarafında yer alır. Zehir kısılcacın çoğunlukla ucuna yakın bir yerden dışarı atılır. Pedipapler 6, yürüme bacakları ise 7 segmentlidir. Familyalara göre bacakların uçlarında tarak şeklinde dikenler bulunur. Genital açıklıklar ve kitap trake stigmaları abdomenin ön orta ventralinde örü (ağ) memeleri ise abdomenin arka uç kısm ventralinde yer alır. Erkek örümceklerde pedipalp üreme fonksiyonu olan bir yapıya dönüşmüştür. Dişi örümceklerde üreme organı açıklığı ön ventralinde yer almaktadır (Foelix, 1982).

Karnivor olan örümcekler avına zehrini enjekte ederek avın iç organlarını paraliz eder. Sonra kuvvetli kaslarla bezenmiş olan emici mide ile tüm sıvı örümceğin bağırsağına nakledilir (Danışman 2008). Bir örümcek bir öğünde kendi vücut

ağırlığının 13 katı kadar böcek yiyebilmektedir. Bu obur hayvanlar, böcek kontrolünde önemli rol oynarlar. Ekolojik dengenin sağlanmasında önemli etkiye sahiptirler (Bayram, 1999).



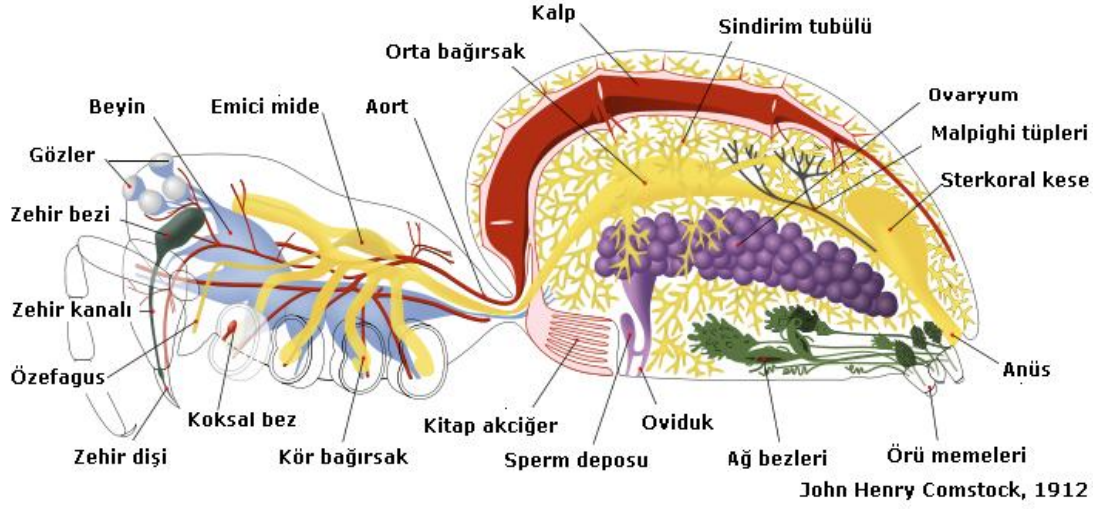
Şekil 1.1. Bir örümceğin ventral ve abdominal görünümü

Örümcekler besinlerini sıvı halde alırlar. Çoğu avlarını önce zehirleyip sonra somurarak beslenirler. Zehir protein, karbonhidrat, yağ ve diğer bileşikleri kısmen yıkmak için yeterli enzimlere sahiptir. Avın özellikle iç organlarını paraliz etmek için kullanırlar. 1µm'den küçük çapta olan besin partikülleri örümceğin yoğun ağız filtre sisteminden geçer. Besin sıvısının hareketi emici midedeki kaslar yardımıyla sağlanır (Danışman, 2008). Emici mideden sonra prosomanın arkasında bağırsak uzanmaktadır (Foelix, 1982).

Örümceklerde sindirim sisteminin ön kısımları prosomada yer almaktadır. Bu yapılar maksilla ve labium arasındaki ağız, farinks (yutak), özefagus (yemek borusu) ve kaslarla desteklenmiş emici midedir (Danışman, 2008).

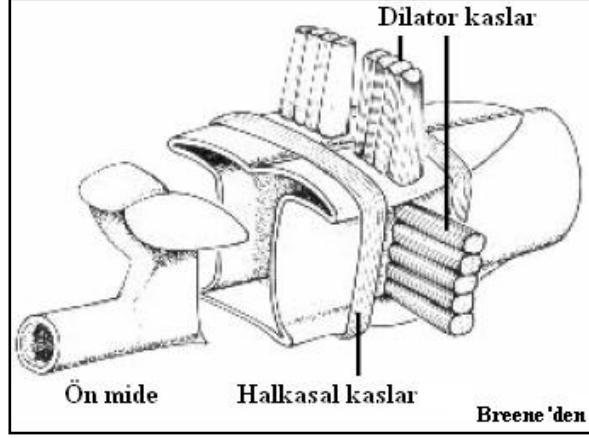
Örümceklerde mide prosomada yer alır. Bunu arkaya ve öne doğru dallanmış bir boru şeklindeki bağırsak izler. Önbağırsak (midgut divertikulum) prosomanın arka tarafında yer alır ve kör bağırsak adını alan kollar ile bacak koksalarına kadar uzanır. Buna benzer bir dallanma opisthosomada da yer alır. Bu kısım ortabağırsak (gut divertikula) olup karnın ortasına doğru giderek genişler sonra daralarak bir boru

şeklini alır (son bağırsak). Ancak şişkin kısma üzüm salkımı şeklinde yan kollar bağlıdır (Foelix, 1982) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Bir örümceğin anatomisi

Örümceklerin emici midesi besin alımı için ana pompa olarak görev yapar (Şekil 1.3). Dar bir özofagusa zıt olarak; mide geniş çaptadır. Tipik olarak çökmüş bir kare şeklindedir. Bu şekli, esnek kutikular duvarlarından almaktadır. Birçok güçlü kas bantları içermektedir. Farinksin tamamı emici mide gibi ince bir kutikular zar ile kaplıdır. Midgutta ise böyle bir zar yoktur. Ve bu yüzden sindirim için tek ve en uygun kısımdır. Kaslar kasıldığında mide lümeni büyük oranda yükselir ve mide bu yüzden emme pompası olarak çalışır. Gelişmiş kaslar içine uzanan birçok halkasal kaslar ise mide lümenini azaltmak için rol oynarlar. İki kas setinin kusursuz bir koordinasyonu ile emici midenin dalgalanma şeklinde kasılmalarına sebep olmaktadır. Bu yüzden küçük bir ağız açılımına rağmen, besin hızlı bir şekilde alınabilmektedir (Foelix, 1982).



Şekil 1.3. Örümceklerde emici mide (Foelix, 1982)

Midenin üst kısmında pediselden gelen bir aort, dallanma yaparak sindirim kanalı organlarına ve merkezi sinir sistemi elemanlarına dağılır (Foelix,1982).

Boşaltım organları olan malpighi tüpleri sonbağırsağa bağlı yan tüpcükler şeklinde bulunmaktadır. Orta bağırsak ve boşaltım kanalının birleştiği yerde yani midgut'ın posterior sonu dışkı odası formunda genişler. Dorsal tarafa uzanmış bu büyükçe keseye “sterkoral kese denilmektedir. Sterkoral torba, kloak fonksiyonu görür. Sterkoral kesede toplanan dışkı periyodik bir şekilde anüsten dışarı doğru atılır (Foelix,1982).

Böyle gelişmiş bir sindirim ve boşaltım sistemi örümceklerin beslenmeden uzun süre nasıl hayatta kaldıklarını kısmen açıklamaktadır.

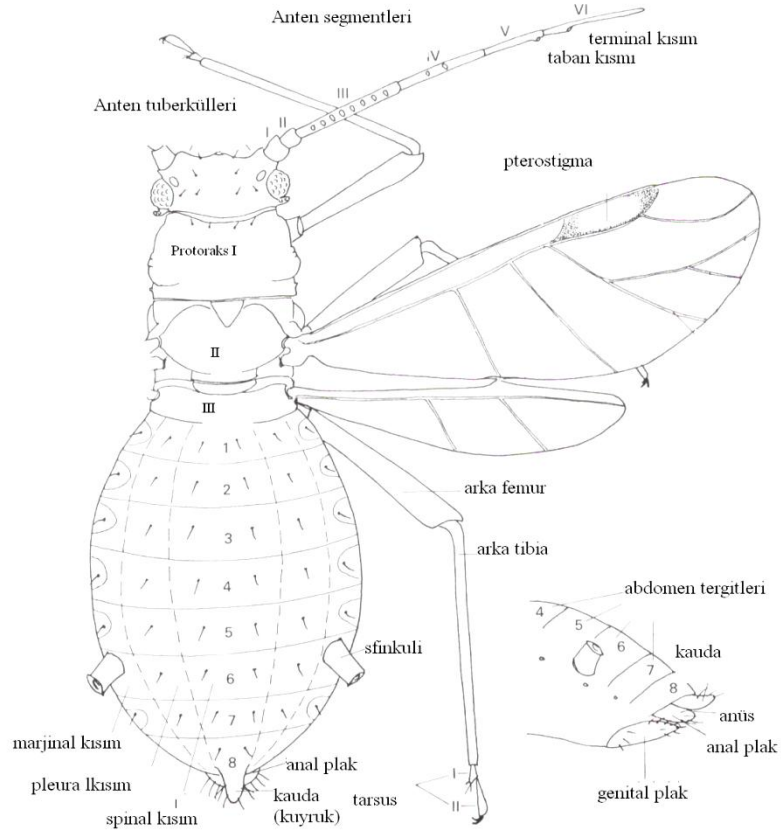
1.1.2. Afitlerin Vücut Yapısı ve Beslenmesi

Afitler (Yaprakbitleri); Homoptera takımı içinde Aphidoidea üstfamilyasını oluşturmaktadır. Afitlerin yeryüzünde bugüne kadar tanımlanmış 4700 türü (Akyürek, 2006; Görür, 2004). Ülkemizde yapılan çalışmalara göre 410 afit türünün dağılış gösterdiği, fakat bu sayının 600'den fazla olabileceği de öne sürülmüştür (Akyürek, 2006).

Afitler karmaşık yaşam döngüleri, polimorfizm göstermeleri, hem eşeyli hem de eşeysiz çoğalabilmeleri, konak bitkilerle olan ilişkileri bakımından ilgi çeken, ayrıca önemli bir zararlı grubudur (Akyürek, 2006; Kaygısız, 1999). Dolayısıyla tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bitkilere verdikleri zararlar neticesinde ekonomik

açından önemli bir böcek grubudur. Genç bir bitkinin yaprak ve sürgünlerinden bitki özsuynunu emerek bitkinin gelişimini engellemesi ayrıca virüs, riketsia ve fungus gibi hastalık etmenlerini de bitkiye bulaştırmasından dolayı dünyada en önemli bitki zararlıları listesinde yer almaktadır (Akyürek, 2006). Örneğin; Amerika Birleşik Devletleri'nde birçok kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemleri uygulanmasına rağmen afitlerin yol açtığı toplam ürün kaybı yaklaşık % 35 oranındadır. Türkiye gibi gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde ise bu oran yaklaşık % 45-50 arasında olduğu kabul edilmektedir (Akyürek, 2006).

Yaprakbitleri genellikle 1-10 mm boyunda küçük ve yumuşak vücutlu böceklerdir. Abdomenleri genellikle şişkin olduğundan vücutları armut şeklindedir (Özen, 2009; Görür, 2004; Akyürek, 2006). Afitlerin vücutu böceklerde olduğu gibi baş (cephalon), göğüs (thoraks) ve karın (abdomen) olmak üzere üç kısımdan meydana gelmiştir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Kanatlı dişi bir afitin dorsalden genel görünümü (Akyürek'den, 2006)

Baş, küçük ve belirgin olabilir. Bazı türlerde baş kısmını göğüs kısmından ayırmak zorken, bazı türlerde kolaydır (Düzgüneş ve Tuatay, 1956; Akyürek, 2006). İp şeklinde kısa veya çok uzun olan antenleri duyu organlarıdır. Çoğunlukla altı segmentlidir ve taksonomik karakter olarak kullanılır (Akyürek, 2006). Ağızları sokucu-emici tiptedir (Düzgüneş ve Tuatay,1956; Akyürek, 2006; Görür, 2004).

Gözler, bileşik olup, kahverenginden kırmızıya kadar değişik renklerde olabilmektedir (Akyürek, 2006).

Göğüs, kanatlı formlarda karından belirgin olarak ayırt edilebilirken, kanatsız bireylerde karın ile birleşmiş gibi görünür. Kanatlar ince, şeffaf ve damarlı olup iki çifttir. Kanatlar vücut üzerinde çatı şeklinde durur, uzunluğu ise vücut ile aynı veya daha uzundur. Bacaklar çoğunlukla tüylü ve ince uzun veya kısa olabilir (Düzgüneş ve Tuatay, 1956; Görür, 2004; Akyürek 2006).

Karın, sekiz veya dokuz segmentli olup kanatsız bireylerde kanatlı bireylerin karınlarına göre daha küçüktür. Mumsu madde salgılayan bir çift borucuk (sfinkuli) yer alır. Afitlerin en karakteristik özelliklerinden birisi karnın 6. halkasında abdomen üzerinde katı mum partikülleri ya da filamentleri oluşturan özelleşmiş mum bezleri bulunur. Bu maddeler afite donuk mumsu bir görüntü kazandırır. Eğer bu madde çok miktarda üretilirse unlu bir görünümde kazanabilirler (Akyürek, 2006) (Şekil 1.5.a-b).

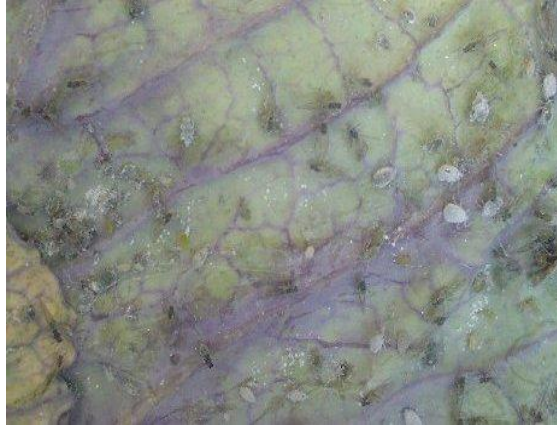


Şekil 1.5.a ve b. *Brevicoryne brassica* (lahana afiti)'nin unlu görünümü

Aphidae üyeleri koloniler halinde bitkilerin taze sürgün, yaprak, dal, gövde, kök, tomurcuk ve meyvelerinde yaşarlar (Şekil 1.6, 1.8, 1.9.a, 1.9.b, 1.10) (Dixon, 1998). Çoğunlukla bitki üzerinde hareketsiz duran afitlerin sıçrama özellikleri yoktur. Kanatlı ve kanatsız formları mevcuttur (Şekil 1.7). Kanatsız formları sadece kısa mesafelere yürüyebilir kanatlı formları ise kısa mesafelere uçabilir (Düzgüneş ve Tuatay, 1956; Çanakçıoğlu, 1975; Görür, 2004; Akyürek, 2006).



Şekil 1.6. Gül bitkisinde koloni halinde bulunan *Myzaphis rosarum* (gül afiti)



Şekil 1.7. Kanatlı ve kanatsız form görünümündeki *Brevicoryne brassica*

Afitler hemolenflerinde bulunan glikozit özellikteki pigmentlerin değişik oranlarda olmasıyla farklı renklerde görünebilirler. Özellikle bitkinin parankima ve floem özsuynunu emerek beslenirler. Bitki özsuynunun içinde azotlu ve bolca karbonhidratlı bileşiklerin bulunmasıyla azot ihtiyaçlarını fazlasıyla karşılarlar. Aldıkları fazla

karbonhidratlı bileşiklerini anüslerinden dışarı verirler. Beslenme artıkları olan bu maddeler balsı yapıda olup "ballık" adını alır (Dixon, 1998; Akyürek 2006). Yumurtaları ise parlak, siyah ve uzunca oval biçiminde olup 0,5 mm uzunluğundadır (Özen, 2009). Kışları döllenmiş yumurta şeklinde asıl konukçukları üzerinde geçirirler. İlkbahar mevsimi geldiğinde yumurtalardan dişiler olarak çıkan nimfler taze sürgün ve yapraklardan beslenmeye başlarlar. Ergin hale geldikten sonra hem partenogenetik (eşsiz) olarak ve hem de canlı doğum yaparak (eşyili) çoğalırlar. Birkaç nesil verdikten sonra meydana gelen kanatlı formlar ara konukçu bitkilere göç eder, sonbaharda tekrar ana konukçularına dönerler. Meydana gelen erkek ve dişi formlar çiftleşir, dişiler döllenmiş yumurtalarını ana konukçuya bırakırlar (Görür, 2004). Afitlerin bazı türleri tüm yaşamını tek bir konak üzerinde geçirirken bazı türleri konak değişimi gösterir (Akyürek 2006).

Afitlerin en önemli özelliklerinden birisi de "teleskopik generasyon" dur. Teleskopik generasyon nesillerin iç içe geçmesi durumudur. Daha nimf safhasında olan afitlerin içlerinde embriyolar gelişebilmektedir. Bu özellikleri sayesinde çok kısa sürede döl vermeleri ve üreme kapasitelerinin çok yüksek olması nedeniyle kısa sürede yoğun populasyonlar oluşturabilirler (Dixon, 1998; Blackman ve Eastop, 2000; Akyürek, 2006). Bazı afit türleri vivipar olup, 30 gün içinde 100 birey verebilmektedirler (Akyürek, 2006).



Şekil 1.8. Lahana yaprağı üzerinde *Brevicoryne brassicae* kolonisi



Şekil 1.9.a. Biber yaprağının alt kısmında *Aulacorthum solani* kolonisi



Şekil 1.9.b. *Aulacorthum solani* işgal etmiş biber bitkisi



Şekil 1.10. Şeftali yaprağındaki *Hyalopterus amygdali* (şeftali afiti) kolonisi

1.1.3. Afitlerin Bitkilere Verdiği Zararlar

Afitler sadece tarımsal ürünlere değil, hemen hemen bütün bitkilere zarar verebilen bir gruptur. Yaprakbitleri tarım ürünlerine ve bitki gruplarına doğrudan ya da dolaylı verdiği zararlar neticesinde önemli bir derecede verim kaybına neden olurlar. Doğrudan; afitlerin gelişim ve üremeleri için gerekli olan besin maddelerini özellikler genç bitki yaprak ve saplarından, gövdesinden, taze sürgün ve meyvelerinden parankima ve floem özsuğunu (bitki özsuğu) emerek sağlarlar (Görür, 2004). Özsuğunu kaybeden genç sürgün ve yapraklar solar, giderek kurumalar olur ve meyveler gelişemez (Şekil 1.11). Böylece bitkinin büyüme ve gelişmesinin durmasına, besin ve kalite kayıplarına neden olurlar (Dixon 1998; Görür, 2004).

Bitki özsuğunu emerek beslenmesi esnasında bitki içine toksik madde salgılamalarıyla bitki metabolizmasında değişikliklere neden olmaktadır (Dixon, 1998; Akyürek, 2006). Bu salgıların etkisiyle yapraklar kıvrılır, kurur; yaprak, sürgün ve meyveleri değişik renk alır ve şekil bozukluklarına neden olur (Şekil 1.11). Ve bitki gövdesinde, organlarında yumru, gal gibi değişik yapı oluşumlarına neden olurlar (Şekil 1.12).



Şekil 1.11. *B. brassica*'nın lahanaya verdiği zarar



Şekil 1.12. Meşe üzerinde oluşan yumru ve sararmalar (Akyürek, 2006)

Ayrıca afitler koloniler halinde yaşadıkları için bitkilerdeki fotosentez, respirasyon ve transpirasyon oranının azaldığı gözlemlenmiştir (Görür, 2004). Yaprakbitlerinin sindirim artıkları olarak çıkardıkları tatlımsı maddelerle yaprak ve sürgünler önce parlaklık kazanır (Şekil 1.15). Sonra bu şekerli madde üzerinde pas mantarlarının yerleşmesine, böylece bitkilerde fumajin'e (is) sebep olurlar (Şekil 1.13, 1.14) (Akyürek, 2006; Görür, 2004; Kaygısız, 1999; Özen, 2009). Yapraklar siyah bir tabakayla örtülür ve yaprakların metabolik faaliyetine engel olurlar.

Virüs taşımaları ve diğer bitkileri de enfekte etmeleriyle çeşitli bitki hastalıklarının yayılmasına neden olurlar (Akyürek, 2006; Özen 2009). Örneğin; yeşil şeftali afiti Orta ve Kuzey Avrupa'da pancarların en önemli zararlısıdır denebilir (Görür, 2002). Özellikle sarılık virüsü olmak üzere pek çok virüsün taşıyıcısıdır. Buna benzer bir başka örnekte, Kahramanmaraş yöresindeki kırmızıbiber üretim alanlarındaki yaprakbitleri ile taşınan altı adet virüs hastalığı da saptanmıştır (Demir, 2005).



Şekil 1.13. Fumajin olmuş bir armut yaprağı



Şekil 1.14. Mısır yaprağındaki *Rhopalosiphum maidis*'in neden olduğu is



Şekil 1.15. Biber afiti *Aulacorthum solani* tarafından bırakılan ballık

Afitlerin; bitkiye ve ürüne verilen zararları tarımda önemli bir sorun teşkil etmektedir. Afitlerin kontrolünde ilk olarak ucuz ve kolay bir yöntem olan afisitlerin kullanılması önemli bir yer tutmuştur. Fakat afitler verdikleri zararı önlemek amacıyla kullanılan kimyasalları zaman içinde aşamalı olarak kimyasalı detoksife edebilecek mekanizmalar geliştirebilmektedir (Görür, 2002; Görür, 2004). Örneğin; Şeftali-patates afiti olan *Myzus persicae* ve erik afidi *Phorodon humuli* gibi birçok afit türü bir ya da birden çok afiside dayanıklılık göstermiştir (Görür, 2002). Direnç kazanma ve detoksife edebilme özellikleriyle birlikte son yıllarda yaprak bitleri birçok ülkede hızla yayılma göstermiştir. Bu zamana kadar yapılan mücadele yöntemlerine karşı afitlerin yayılma alanlarını genişletmeleri ile afitlere karşı başka mücadele yöntemlerinin denenmesine yol açmıştır. Yaprak bitlerinin direnç kazanma özellikleri doğrultusunda biyolojik kontrol yöntemi daha önemli hale gelmiştir. Aynı zamanda biyolojik yöntem kimyasal yöntemle göre birçok avantaja sahiptir. Kimyasallar zararsız diğer canlılara etki etmesi, toksik olması ve yarılanma ömrü uzun olduğundan biyolojik birikim göstererek çevre kirliliğine neden olur. Biyolojik kontrolde ise zararlı canlı üzerindeki etkisi süreklilik arz etmektedir ve toksik değildir. Maaliyetinin yüksek olmasına karşın sonuçları genellikle olumludur (Görür, 2002).

Dünya üzerinde birçok ülkede biyolojik kontrol çalışmaları başarıyla uygulanmaktadır. Bununla birlikte seralarda da biyolojik kontrol çalışmaları uygulanmıştır. Örneğin, yeşil şeftali afiti olan *Myzus persica*'ya karşı *Aphidus matricariae*, *Aphidoletes aphidimyza*, parazitler, predatörler ve mantar (*Verticillium lecanii*) kullanılmıştır (Markkula et al., 1979; Lyon, 1986). İnsana zararlı olmayan

sporları bulunan *Bacillus popillae* ve *Bacillus thuringiensis* bakterileri de biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır (Görür, 2002).

Türkiye’de ise 1960’lı yıllarda başlayan biyolojik mücadele çalışmaları daha çok dış ülkelerden faydalı böcek ithal edilip bahçelere salınmasıyla olmuştur. Ülkemizdeki çalışmalar genellikle doğal düşmanların tespiti, etkileri ve zararlı ile olan biyolojik ilişkilerine yönelik olmuştur (Görür, 2002).

Erkin ve Kalacı (1987), *Acyrtosiphon pisum*’un paraziti olan *Aphidius ervi* ve *Aphidius eady*’i laboratuvar şartlarında yetiştirmeye ve ne kadar etkili olabileceğini belirlemeye çalışmışlardır. Uygun ve Şekeroğlu (1987), ithal edilen bazı biyokontrol ajanların Çukurova bölgesinde kullanılma olasılığını araştırmışlardır. Doğal düşmanların bir kısmının yerleşmeden öldüğünü, bir kısmının ise turunçgil afidine karşı kullanıldığını ve kısmi de olsa başarı elde edildiğini göstermişlerdir. Yurtdışından da faydalı böcek türleri getirilip adaptasyon çalışmaları yapılmıştır. Özkan ve Türkyılmaz (1987), Antalya havzasındaki ceviz afidi populasyonlarının doğal predatörlerini bulmaya çalışmışlar ve birincil parazit olarak *Trioxys angelicae* ve *Diaeretiella rapae*’yi belirlemişlerdir. Orman Bakanlığı (1989), 1979-1981 yıllarında Çukurova bölgesinde 18 Coccinellidae ve 13 Syrphidae türlerini afit predatörleri olarak tespit etmiş ayrıca bazı mantar patojenlerini de bulmuşlardır. Orta Anadolu bölgesinde elma pamuklu biti olan *Erisoma lanigerum*’u paraziti *Aphelinus mali* tarafından kontrol altına alınmaktadır. Sebze yaprak bitlerinde ise ilaçlamaya gerek kalmadan parazitoidleri ve predatörleri tarafında baskı altında tutulduğu görülmüştür. Örneğin; yedi noktalı gelin böceği *C. punctata*, *Syrphus spp.* ve *Afitius spp.* sebze afitlerinde etkilidirler (Görür, 2002).

Yumruktepe ve Uygun (1994) turunçgillerdeki afitlere özgü 39 predatör ve 8 parazitoit tür bulmuştur. Tozlu ve Özbek (2000), Erzurum ilinde mısır bitki afitlerinin predatörü olarak 10 Coccinellid ve 8 Syrphid tür tespit etmişlerdir. Özder ve Toros (1997) tarafından Tekirdağ ilinde buğday afitlerinin doğal düşmanı olarak 24 tür ve 5 parazit bulmuşlardır. Ecevit vd., (1992), 1982-1983 ve 1985-1989 yıllarında Doğu Karadeniz bölgesindeki fındık afiti olan *Myzocallis coryli*’nin doğal düşmanı olan *Phylus coryli*’nin biyolojik özelliklerini araştırmışlar ve 10 gün boyunca günlük ortalama 10 afit tükettiklerini bulmuşlardır. Elmalı ve Toros (1994), Konya ilindeki buğday afitlerinin dağılımını ve doğal düşmanlarını 1989-1990 yılları

arasında belirlemişler ve Coccinellid türlerinden *Adonia variegata* (Goeze), *Schymus spp.* (Goeze) ve *Nephus bipunctatus* (Kugelann)'un, parazitoitlerden *Aphelinus varipes* (Foester)'in biyolojik kontrolde etkili olabileceklerini belirtmişlerdir (Görür, 2002).

1.1.4. Örümceklerin Beslenmesi ve Beslenme Ekolojisine İlişkin Çalışmalar

Örümcekler tarımsal ekosistemlerde önemli predatörlerdir. Bitki zararlısı pek çok böcek, böcek yumurtaları, larva ve erginleri üzerinden beslenmekle doğal dengenin korunmasında önemli rol oynarlar ve besin zincirinde halka oluşturular (Bayram, 1999; Bayram, 2005; Özen, 2009).

Eklembacaklılar (Arthropoda) şubesinin Arachnida sınıfında yer alan örümcekler karnivor hayvanlardır, canlı avlarla beslenirler ve zorunlu predatörlerdir. Örümcek diyetinin büyük çoğunluğunu böcekler ve larvaları oluşturmaktadır (Nyffeler, 1999; Nyffeler vd., 1989; Nyffeler ve Benz, 1988a, 1988b). Araneidae ve Tetragnathidae üyesi örümcekler Homoptera, Diptera ve Orthoptera üzerinden; Linyphiidae, Theridiidae ve Dictynidae üyeleri Diptera, Hemiptera, Homoptera (özellikle afit ve yaprak pireleri) ve bazı Coleopterlerle beslenmektedir (Maloney vd., 2003; Özen, 2009). Atypidae, Agelenidae gibi bazı örümcek familyaları ise Orthoptera, Lepidoptera ve Coleoptera familyalarına ait böceklerle ve Lycosidae, Oxyopidae, Thomisidae ve Salticidae örümcekleri ise Orthoptera, Homoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Thysanoptera, Diptera ile bazı Coleoptera ve Hymenoptera üyelerini sıklıkla yakalamaktadır ve bunlar üzerinden beslenmektedirler (Maloney, 2002; Özen, 2009).

Bayram ve Allahverdi (1999), tarımsal ekosistemlerde örümceklerin habitat tercihleri üzerine yaptıkları çalışmalarda, örümceklerin buldukları habitatlarda önemli predatör olabileceklerini, zararlı böcekler üzerinden beslenmeleriyle doğal dengenin korunmasında önemli rol oynadıklarını ve besin zincirinde ikincil tüketiciler basamağını oluşturduğunu ifade etmişlerdir (Danışman, 2008; Bayram, 1999).

İran'da pamuk zararlılarından *Bemisia tabaci*, *Aphis gossypii*, *Empoasca decipiens* ve *Nezara viridula* tarafından pamuk bitkisinde meydana gelen zararların azaltılmasında *Thyene impeialis*, *Oxyopes salticus* ve *Thanatus formicinus* türü örümceklerin etkili oldukları gözlenmiştir (Ghavami, 2008; Özen, 2009).

Amerika'da yapılan bir laboratuvar çalışmasında Salticidae ve Philodromidae üyelerinin elma bahçelerinde zarara yol açan *Edwardsiana rosae* (Hemiptera: Cicadellidae)'nin ergin ve nimfleri üzerinden önemli bir derecede beslendikleri saptanmıştır (Wisniewska ve Prokopy 1997; Özen, 2009).

Avustralya'da yapılan laboratuvar çalışmasında da Lycosidae, Clubionidae, Oxyopidae, Salticidae ve Thomisidae familyası örümceklerinin soya fasulyesi zararlısı *Helicoverpa spp.* (Lepidoptera: Noctuidae) zararının azaltılmasında etkili olduklarını gözlenmiştir (Pearce, 2004).

Birçok avcı örümcek gündüzcüdür ama bazı örümcekler bilhassa geceleri aktiftirler. Bundan dolayı sadece aktif oldukları zaman süresince karşılaştıkları avı yakalayacaklardır. Örümceklerin genellikle polifag predatör olmalarına rağmen, onların avlanma stratejileri, mikrohabitat tercihleri, av çeşitliliği, total av çokluğu her bir türün özelleşmesine sebep olabilmektedir (Marc ve Canard, 1997; Riechert ve Lawrence, 1997; Marc vd., 1999).

Literatürlere göre, genel olarak avcı örümcekler ağ- örücülere nazaran daha iyi diyet aralığına sahiptirler. Mikrohabitat tercihlerine ek olarak, örümceklerin beslenme tercihleri vardır. Genellikle ve sadece örümcekler kendi ağırlıklarının %50'den %80'e kadar olan avları yerler. Örneğin, ağ- örücüler büyük avları yakalamakta uzmanlaşmışlardır; küçük avlar ise onlar için önemsizdirler (Marc ve Canard, 1997; Marc vd., 1999). Bazı örümcek türleri ise aminoasit ihtiyaçlarını dengelemek için av olarak böcekleri seçerler (Maloney vd., 2003). Örümceklerin polifag predatörler olmalarına rağmen onların avlanma stratejileri ve mikrohabitat tercihleri her bir türde uzman olmalarına sebep olmuştur. Bolas örümceği ve çapraz ağ örücü örümceklerin ağları özellikle ergin Lepidoptera'ları yakalamaya adaptedir. Linyphiidae ve Dictynidae gibi küçük ağ örücü örümcekler yumuşak vücutlu böcekleri yakalarlar. Sıçrayıcı örümcekler karıncalarla beslenmeye davranışsal olarak adapte olmuşlardır. Texas pamuk tarlalarında bulunan Lynx örümceği olan *Oxyopes salticus* Hentz'in dietlerindeki en önemli avları olarak 1 ile 2,9 mm büyüklüğündeki pamuk pireleri bulunmaktadır (Maloney vd., 2003). Zorunlu predatör olmaları, beslenme stratejileri ve sayısal tepkiler, fonksiyonel cevaplar, polifag beslenmeleri, av seçimi, mikrohabitat tercihleri ve tüm detaylı etkilerinden dolayı örümcekler av

populasyonlarını sabitleştirdikleri kadar pest yoğunluklarını azaltabilirler (Danışman, 2008; Maloney vd., 2003).

Young ve Edwards (1990) avcı örümceklerin pest kontrolünde ağ-dokuyucularından daha iyi olabildiklerini ileri sürmüşlerdir. Çünkü avcı örümceklerin birçok türü, av tip ve boyutlarının geniş bir çeşidini yakalama yeteneğine sahiptirler. Örneğin, Nyffeler, 1992, Texas'ın pamuk tarlalarında Lynx örümceği *O. salticus* dokuz takımda ve 21 familyadaki böceklerin enaz 34 böcek türünü tüketmektedir. Halbuki ağ örücü örümcekler daha uzmanlaşmıştır (Maloney vd., 2003). Kınkanatlı böcekleri ve çekirgeleri avlama yeteneğine sahip olmalarına rağmen onlar genellikle sadece afitleri ve sinekleri yakalarlar ve genellikle bitki böcekleri, tırtıllar ve buğday biti üzerinde çok az etkiye sahiptirler (Bayram,1999; Maloney vd., 2003).

Kurt örümcekler, enterasan bir öğrenme tutumu sergilerler. Tercihen son avla alakalı olan özel kimyasal işaretleri algılarlar (Person ve Uetz, 1996). Person ve Uetz (1996) önceden cırcır böcekleriyle beslenen kurt örümceklerinin (*S. ocreata*) cırcır böceklerinin yürüdüğü bir kağıt parçasına göre beyaz bir kağıt parçasında önemli derecede zaman harcadıklarını göstermişlerdir (Maloney vd., 2003). Av arama davranışlarını diğer örümcek sınıflarının varlığıyla geliştirebilirler. Ohio'daki tarımsal arazilerde, tuzak-ağ örücü *Argiope tepidarium* ve dairesel-ağ örücü *Larinioides cornutus* örümcekleri yalnız avlanmalarından çok grup ile avlandıkları zaman örümcek başına daha çok av yakaladıkları görülmüştür (Rypstra, 1997; Maloney vd., 2003). Avın yakalanması karışık tür gruplarında tek tür gruplarından daha yüksektir. Fakat bu karışık tür gruplarında bazı örümcekler arasındaki rekabet av yoğunluğunun azaltılmasındaki verimliliğin kısıtlanmasına neden olabilmektedir (Maloney vd., 2003).

Birçok araştırmacı, av yoğunluğunun azaltılmasında örümcek çeşitlerinin bir araya toplanması tek bir tür örümceğin bulunmasından daha çok etkili olduklarını vurgulamıştır (Rypstra, 1997). Riechert ve Lawrence (1994) örümcek çeşitliliğindeki zenginliğin artması av biomasında bir düşüşe sebep olduğunu göstermek için arazi testleri ve bilgisayar simülasyonları kullanmışlardır. Riechert ve Lawrence (1997) iki kurt örümceği (*Rabidosa robida* (Wallckenar) ve *Pardosa milvina* (Hent)), yuvarlak-ağ örücü (*Argiopa trifaciata*), hamak örücü (*Florinda coccinea* (Hent)) içeren parsellerde bu çeşitlerden sadece birini içeren test bölgelerindekilerden böcek

rakamlarının daha düşük olduğunu bulmuşlardır (Danışman, 2008; Maloney vd., 2003).

Örümcekler genellikle teritoryal'dır (karasal) ve yüksek örümcek yoğunluğunda (aynı arazide bir arada yaşayan örümcek sayısını kısıtlamak için) av ve alan için mücadele ederler. Kannibalizm (kendi cinsini yeme, yamyamlık) özellikle Lycositler için önemli bir mortalite ajanıdır (Guarisco vd., 2003; Özen, 2009; Maloney vd., 2003). Lycositlerin bu tip kendi kendini sınırlayan eğilimleri, av yoğunluğuna karşı sayısal tepkinin azaltılması yoluyla av popülasyonlarındaki artışla sonuçlanabilir. Sayısal tepki, av yoğunluğundaki bir yükselmeden sonra predatör sayısındaki artış ile tanımlanır (Danışman, 2008; Maloney vd., 2003). Bu tepki kümelenme ve üremedeki artış veya her iki formda da olmuştur. Örneğin, huni şeklinde ağ ören türlerden olan *Agelenopsis aperta* (Gertsch) av bolluğu olan alanlarda kümeleşir. Theridiid olan *Parasteatoda tepidariorum* eğer av yoğunluğu yetersizse ağlarını tekrar kurarlar, av sayısının fazla olduğu alanlarda ise bireysel bir gruba bağlanır (Maloney vd., 2003).

Persons ve Uetz' in (1996) raporuna göre yetişkin dişi kurt örümcekleri (*Schizocosa ocreata* (Hentz)) av yoğunluğunu değerlendirmek için görsel ve titreşimsel işaretler kullanırlar ve yüksek av yoğunluğuyla arazi parçalarında daha çok zaman geçirdiklerini belirtmiştir (Maloney vd., 2003).

Tarım ekosistemlerinde genel predatörler olarak örümcekler, zararsız ve faydalı böceklerde dahil olmak üzere diğer böcekleri avlayarak düşük pest periyotlarında popülasyonları koruyabilirler.

Biyokontrolde önemli rol oynayan bazı predatör örümceklerin karşılıklı rekabet ve avlanma stratejileri ile zararlı böcekler üzerinden beslenmelerine karşı zararlı predatörü olan bazı yararlı türler üzerinden de beslenme özelliği göstermektedir. Örneğin; yeşil vaşak örümceği *Peucetia viridans*, Pyralidae, Geometridae ve Noctuidae familyalarından olan pek çok zararlı türlerle beslenmesinin yanında önemli zararlı böcek predatörlerinden Polistes ve Aphiz cinsleri ile Syrphidae ve Tachinidae familyalarından olan bazı yararlı Dipterler üzerinden de beslenebilmektedirler (Randal, 1982; Özen, 2009).

Av üzerinde bir predatörün monofag ya da uzmanlığının bazı derecesi bu özel avın popülasyonunu düşüren predatör için gerekli görülmektedir. Bu varsayımdan dolayı

polifag, genel predatör olan örümcekler genellikle av popülasyonunun kontrolünde yetersiz olarak düşünülür (Riechert ve Lockley, 1984; Maloney vd., 2003). Ancak örümcekler çoğunlukla fark edilen belirli bir av üzerinde daha iyi uzman olabilirler. Örümceklerin av fazlalığına sahip olduğu zaman seçici olmaya başlamaları yaygındır (Riechert ve Harp, 1987; Maloney vd., 2003). Örümceklerin her bir türü tarımsal habitatların belirli bölgesini, yerden ağaçların zirvesine kadar işgal ederler. Farklı av türleride değişik mikrohabitatlarda bile bulunabilirler. Bu yüzden örümceklere göre av uzmanlığı laboratuardakilerin aksine ekosistemlerde bulunan bir nitelik olduğu sonucuna varılabilir (Maloney vd.; 2003).

Güneydoğu Asya'da pirinç tarlarında dominant tür olarak bulunan kurt örümceği *Pardosa pseudoannulata* türü örümcekler pirinç tarlarında önemli bir zararlı olan *Nephotettix virescens* (Hemiptera: Cicadellidae), yaprak pireleri, sinek kurtçukları ve gövde kurdunun en etkili predatörlerindedir (Sigsgaard, 2000; Özen; 2009).

Bazı tarımsal ekosistemlerde örneğin, ticari amacı olmayan yaban mersini bataklıklarında avcı örümcekler toplam örümcek faunasının %87'ini bunun ise %61'ini Lycositler oluşturmaktadır (Maloney, 2002). Bu örümcekler ağırlıklı olarak yaban mersini pesti olmayan küçük Diptera ve Collembola cinslerine ait böcekleri avladıkları belirtilmiştir. Çok az sayıdaki avcı örümceklerse Lepidoptera larvası ve yaban mersini pamuk kurdu gibi pest böceklerini avlamışlardır (Maloney, 2002). Bu örümceklerin birçoğunun mikro habitatları toprak yüzeyinin üstünde veya yakınında bulunurlar. Böylece ağırlıklı olarak toprak yüzeyinde bulunan avlarla beslenirler (Maloney vd., 2003; Nyffeler, 1982; Riechert ve Lockley, 1984).

Biyolojik kontrol ajanları olarak örümcekler, spesifik tarım pestlerini avlamalı ve hasat alanlarında bulunmalıdırlar (Danışman, 2008; Özen 2009). Birçok familyanın örümcekleri genellikle tarım ekosistemlerinde bulunurlar ve çoğu majör ürün pest çeşitlerinin ve familyalarının predatörü olarak bilinmektedir (Maloney vd., 2003). Örümcekler; afitler, yaprak zararlıları, bahçe zararlıları, pireler ve lepidoptera larvası gibi pestlerin önemli mortalite ajanlarıdır (Bayram 1999; Vijayalakshmi, 1996). Örümceklerin av stratejileride, mikrohabitat seçiminde ve aktif periyotlarda değişiklik gösterirler. Bir tarımsal ekosistemde örümceklerin tipik çeşitliliğinden dolayı verilen bir peste saldırarak muhtemelen tek ya da daha fazla tür olacaktır (Maloney vd., 2003).

1.1.5. Biyolojik Kontrol Açısından Örümceklerin Predatörlük Değeri

Karasal ekosistemlerdeki örümcekler; bağ-bahçe ve tahıl tarlalarında önemli bir potansiyel predatör formdur (Nyffeler ve Benz, 1987). Elverişli durumlarda m² ye 1000 üzerindeki maksimum yoğunluğa ulaşabilirler. Bundan dolayı örümcekler bazen, diğer karasal ekosistemleri, orman, su ekosistemlerinde böcek popülasyonlarını düzenleyen ve stabilize eden ajanlar olarak önemli rol oynarlar (Nyffeler ve Benz, 1987; Pearse, 1946; Duffey, 1962).

Orman ekosistemleriyle ilgili olarak; Weidemann (1978) saman yığını altında yaşayan predatörle kombinasyon halinde böceklerin predatörü olarak yerde yaşayan örümceklere önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Nyffeler ve Benz, 1987). Amerikalı bilim adamları da ormanlarda böcek predatörü olarak yerde yaşayan örümceklerin büyük bir rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Buna zıt olarak; yapraklarda yaşayan örümceklerin avcılık önemi hala tartışmalıdır (Nyffeler, 1982; Nyffeler, 2000; Wisniewska ve Prokopy, 1997; Bayram,1993). Bazı arazi çalışmaları göstermiştir ki, vejetasyondaki bazı örümcek türleri lepidoptera zararlılarının popülasyonunu düşürmede az bir etkiye sahiptir. Kayıtlara göre bazı örümcek türleri güve popülasyonunu en fazla % 5'e düşürebilmiştir (Nyffeler ve Benz, 1987; Riechert ve Lockley, 1984).

Ormanlar gibi, bağ-bahçelerde ağaç ekosistemlerine dahildir. Arazi araştırmaları örümceklerin pestisitlere maruz kalmayan bağ-bahçelerde verimli bir preatör grup oluşturduklarını göstermiştir. Birçok araştırmacı bu yüzden pestisite maruz kalmamış bahçeliklerde doğal kontrol ajanı olarak örümceklerin önemli bir rol oynadığını desteklemişlerdir (Chant 1956; Nyffeler ve Benz, 1987). Bununla birlikte; bahçeliklerin, meyveliklerin pestisitle işlem görülmesi örümcek popülasyon sayısında belirgin bir düşüşe öncülük etmiştir. Bu durum pestisitle muameleri bağ-bahçelerdeki örümceklerin avcılık önemini düşürdüğünü belirtir (Nyffeler, 1982; Nyffeler, 2000; Bayram, 1993).

Ekolojik süreklilik ve azaltılmış pestisit kullanımına karşı tarımdaki son trendler, potansiyel biyolojik kontrol ajanı olarak örümcekler üzerindeki ilginin artmasına sebep olmuştur. Çinliler yüzyıllardır pest kontrol stratejisi olarak tarla mahsüllerinde örümcek popülasyonunu yükseltmesine rağmen, Amerika'nın tarımsal

ekosistemlerinde örümceklerin pest popülasyonunu etkili bir şekilde kontrol edip edemeyeceklerine dair birçok tartışma devam etmektedir. Bir avcı olarak etkili ve ekonomik yönden bir pest kontrolü için hem ekonomik başlangıç seviyesinin altına pest yoğunluğunu azaltabilmeli hem de zaman içinde bu pest yoğunluğunu stabilize edebilmelidir. Eğer pest popülasyonu sabit tutamazsa predatör avını bölgesel yok olmaya sürükleyebilir ve sonra kendini birer birer öldürerek ikinci bir kontrolsüz pest potansiyeline neden olur. Örümcekler hem pest azaltımında hem de stabilizasyonunda muktedir olabilirler (Maloney vd., 2003; Nyffeler, 1982).

Heirson vd. (1960)'ne göre, herbivor popülasyonlar rekabetle sınırlandırılmaz. Bu fikir, yeşil bitkilerin bol olmasının gözlemlenmesiyle desteklenebilir. Bu yüzden herbivorların predasyonla sınırlandırılmasının daha doğru olabileceği teorilendirilmiştir (Maloney vd., 2003).

Birçok Avrupa ve Amerika çalışmaları; bozulmamış yeşil alan ekosistemleri ve orman ekosistemleri böceklerinin ve diğer omurgasızların predatörü olarak önemli bir ekolojik rol oynayabildiklerine açıklık sağlamıştır (Vijayalakshmi,1996; Bayram, 1993; Nyffeler ve Benz, 1987). Pestisitlere maruz kalmayan alanlarda bile örümcekler bol predatörler olabilir ki bu alanlar orman ekosistemleri ile karşılaştırılabilir bir öneme sahiptir. Buna zıt olarak, ekili alanlarda bulunan örümceklerin predatörlük önemi hakkındaki fikir tartışmalıdır. Bazı Avrupa çalışmalarının sonuçlarına bakıldığında, ekili alanlarda yaşayan örümcekler düşük popülasyon yoğunluğundan dolayı böceklerin predatörleri içinde en az öneme sahiptirler. Başka bir Avrupa çalışmalarında ise; ekili alanların yerde yaşayan örümcekleri popülasyon yoğunluğuyla dominant predatör bir grup olarak düşünülür, kontrol ajanı olarak ise örümceklerin bu özelliği şimdiye kadar çok az bilinirdi (Nyffeler ve Benz, 1987). Avrupa ve Amerika bataklık ekosistemlerindeki kadar az ya da hiç pestisit kullanılmayan Asya da ki bataklık ekosistemlerindeki örümcekler önemli bir predatör grup olmaktadır (Vijayalakshmi,1996; Nyffeler, 1999; Lee ve Kim, 2001; Nyffeler ve Benz, 1987).

Yerde yaşayan örümcekler, yerde yaşayan yırtıcı Carabidae ve Staphylinidae ile birlikte tahıl tarlalarında önemli bir potansiyel predatör formdur. Bu predatör potansiyeli "Entegre Pest Kontrol Programları" içinde yararlanılmaktadır (Nyffeler ve Benz, 1987). Entegre pest programları, tahıl üretim sisteminin dayanıklılığı, uzun

ömürlülüğü için azaltılmış insektisit kullanımını gerektirir (Chen, 2000). Bu nedenle, suni olarak yetiştirilen *Drosophila* sinekleri pirinç tarlalarına serbest bırakılması ile potansiyel örümcek yoğunluğunun arttırılmasına yönelik denemeler Japonya’da yapılmıştır. Bu ilave yiyecekler daha sonra örümcek birey sayısında artışa neden olmuştur (Kobayashi, 1975). Chinese News Agency Xinhua of August 15, 1979 daki bir rapora göre pirinç pest biyolojik kontrol ajanı olarak birçok örümcek türü Çin’deki çeltik tarlalarına getirilmiştir (Nyffeler ve Benz, 1987).

Biyolojik pest kontrolünde örümceklerin kullanımıyla ilgili bir diğer örnek, Güney Afrika’da rapor edilmiştir. Güney Afrika’da ki evlerde sineklere karşı biyolojik kontrol ajanı olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Steyn (1959), evlere örümceklerin yerleşmesiyle 2,5 ay içinde sinek popülasyonunda %99’a yakın bir azalma ve aynı zamanda bu bölgede yaşayan insanların gastrointestinal enfeksiyonlarında belirgin bir azalma kayıt etmiştir. Çünkü hastalık etkeni vektörler örümcekler sayesinde ortadan kaldırılmıştır (Nyffeler ve Benz, 1987).

Uzun yıllar boyunca birçok arazi çalışmalarında zararlı böceklerin meydana getirdiği hasarın ve pest yoğunluklarının azaltılmasında örümceklerin etkili ajanlar oldukları kanıtlanmıştır (Greenstone ve Sunderland, 1999; Özen 2009). Ayrıca örümcekler insektisitlere karşı *Geocoris sp.*, *Nabis sp.*, Carabidae, Staphylinidae ve Coccinellidae gibi potansiyel predatörlere göre daha az etkilenmektedir (Bogya, 1999). Örümceklerin farklı bir grubu biyolojik kontrolde de etkili olabilirler. Çünkü onlar av stratejilerinde, habitat seçiminde ve aktif periyotlarında değişiklik gösterirler (Maloney vd., 2003). Yılın her mevsimi aktif olan örümcekler özellikle ilkbaharda yeterince aktif olmayan diğer predatörler ve parazitoid böceklere göre kışlayan bazı zararlıların baskılanmasında da önemli bir etkiye sahiptirler (Özen, 2009)

Birçok araştırma gösteriyor ki örümcekler önemli bir şekilde av yoğunluklarını azaltabilmektedir. Long vd. (1999), mısır ürünlerindeki örümcekler yaprak zararlıları (Cicadellidae), tripslerin (Thysanoptera) ve afitlerin (Aphidae) popülasyonunu bastırıldığını bulmuştur (Maloney vd., 2003). Kış ürünlerinde en bol bulunan *Pardosa agrestis* (Westring) ve iki cins Lynphiid laboratuvar çalışmalarında %35-%58 oranında afit popülasyonu düşürmüştür (Marc vd., 1999; Maloney vd., 2003). Hem ağ ören örümcekler hemde avcı örümcekler Tennessee’deki yaşlı tarlalarda Homoptera, Coleoptera ve Diptera gibi bitkilerle beslenenlerin popülasyonunu

sınırlandırmışlardır (Riechert ve Lawrence 1997; Maloney vd., 2003). Örümceklerin (Tortricidae familyasından), *Anthonomus pomorum* (Linnaeus) ve Lepidoptera larvaları gibi elma bahçelerindeki herbivorların etkili predatörleri oldukları kanıtlanmıştır. İşlenmemiş mısır tarlalarındaki kurt örümcekleri *Pseudaletia unipunctata*'ların (Hawort) larval formlarının yoğunluklarını düşürürler. Aynı zamanda kurt örümcekleri tropik çeltik tarlalarındaki Delphacidae ve Cicadellidae gibi emici herbivorların yoğunluğunda düşürmektedirler (Maloney vd., 2003; Fagan vd., 1998).

Örümcekler, bazı tarım ekosistemlerinde besin edinimi ve rekabet ile sınırlandırılmayan herbivorların popülasyonunu azaltmada etkili olabilmektedir (Maloney vd., 2003). Hawaii'de brokoli bitkisinde zararlara yol açan Lepidopteraların biyolojik kontrolünde *Nesticodes rufipens* (Araneae: Theridiidae)'in oldukça etkili olduğu gözlenmiştir (Bogya, 1999).

Örümcekler ayrıca önemli bir top-down etki sarfedebilirler. Herbivor böceklerin bitkiye verdikleri zarar miktarı ortamda örümcek bulunduğu zamanlarda bulunmadığı zamanlara nazaran daha azdır. Buna top-down etki denir (Danışman, 2008; Maloney vd., 2003). Birçok araştırma, böcek popülasyonları, örümcekler tarafından predasyonu ortadan kalktığında önemli bir derecede yükselmektedir. Richer ve Lawrence (1997) raporuna göre, örümceklerin uzaklaştırıldığı eski tarlalardaki parsellerin, örümcek teşkil eden parsellerden daha fazla sayıda herbivor böceğe sahiptirler. Tennessee'de örümceklerin uzaklaştırıldığı sebze bahçelerinde örümcek bulunan bahçelerden daha fazla sayıda pestlere sahiptir (Riechert ve Bishop, 1990; Maloney vd., 2003).

Avcı örümceklerin sığınak ve nem sağlayan saman örtüsü ilavesiyle teşvik edilmesi sebze bahçelerindeki bitki hasarında önemli bir düşüşle sonuçlanmıştır. Synder ve Wise (2000), benekli salatalık böceklerinin, *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Barber), örümceklerden bir ağ çitiyle ayrılmasına rağmen, bir kurt örümceği olan *Hogna helluo* (Walckenaer)'nun bulunduğu zamanda kabak bitkisiyle beslenmeleri azalmıştır. Buna benzer bir şekilde, Rypstra (1995)'da, *H. helluo* yada bir Theridiid olan *Achaearana tepidariorum* (Koch)'un varlığı Meksika fasülyesi böceği olan *Epilachna varivestis* ve Japon böcekleri *Papillia japonica* (Newman) tarafından soyafasülyesi bitkileri ile daha az beslendiklerini bulmuştur (Maloney vd., 2003).

Örümcekler, herbivor böcekler üzerinden beslenmeseler bile buldukları ortamlarda böcekler üzerinde örümcek merkezli bitkiyi terk etme etkisi söz konudur. *Spodeptera litura* (Fabricus) gibi tütün kırkayaklıları (kurtları) tarafından bitkilere verilen zararı önlemek amacıyla Linyphiidae familyasındaki örümceklerin bulunduğu tütünlerde de aynı sonuçlar bulunmuştur. Bu kurtlar örümcekler tarafından işgal edilen bitkileri terk etmişlerdir (Maloney vd., 2003). Örümcek merkezli bitkiyi terk etme davranışı yeşil böcekler, yaprak sinekleri, yaprak zararlıları ve bitki zararlılarında da bilinmektedir (Danışman, 2008; Riechert ve Lockley, 1984).

Özet olarak, örümcekler herbivor böcek pestlerini etkili preatörleri olabilirler. Ve sık sık tükettiklerinden daha fazla böcek yakalayarak önemli bir derecede kontrol uygularlar. Örümceklerin pest popülasyonlarını hem düşürme hem de stabilize etme özelliklerinden dolayı onları mükemmel bir biyolojik kontrol ajanları adayları yaparlar. Örümcekler dünya çapında iki grup ürün ekosistemlerinde biyolojik kontrol ajanı olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Birinci olarak, meyve bahçelerinde özellikle elma bahçelerinde ikinci olarak, pirinç arazilerinde kullanılmıştır (Maloney vd., 2003). Örümceklerin hem majör pest böceklerin popülasyonunu bastırdıkları hem de İsrail, Avrupa, Avustralya ve Kanada'daki elma bahçelerindeki hasata zarar veren böceklerin popülasyonunu önemli derecede düşürdükleri gösterilmiştir (Wisniewska ve Prokopy, 1997). Ayrıca örümcekler birçok turuncgil pestlerinin önemli predatörleridir. Bununla beraber, meyve bahçelerindeki pest kontrol stratejisi azaltılmış pestisit kullanımı yoluyla örümcek popülasyonunun arttırılmasından çok örümceklerin korunmasıdır (Marc ve Canard, 1997; Amalin vd., 2001; Maloney vd., 2003). Asya'daki çeltik arazilerinde yinede örümcekler kasıtlı olarak araziye yerleştirilirler. Çin'de ise çiftçiler örümcekler için bambu ya da kamış barınaklar inşa ederler ve sonra bu barınakları pest patlaması yaşayan diğer çeltik arazilerine taşırlar. Örümcek çoğaltılması metodu pestisit kullanımında %60 azalmaya neden olmuştur (Riechert ve Bishop, 1990; Marc vd., 1999; Maloney vd., 2003). Lycositler gibi yerde yaşayan örümcekler, çeltiklerin yaprak zararlısı ve bitki zararlılarına karşı en önemli predatörlerden biridir. Ve çeltik arazilerinde kurt örümceklerin eklenmesi, insektisit kullanılmasıyla görülen pest popülasyonlarındaki düşüşlere benzeyen düşüşlere sebep olabilirler (Nyffeler, 1982; Ghavami, 2008; Maloney vd., 2003).

1.1.6. Örümceklerin Zararlı Böcekler Üzerinden Beslenmesine İlişkin Moleküler Çalışmalar

Birçok ülkede son yıllarda örümcek ve böcekler arasındaki avcı-av ilişkisinin ekolojik araştırılmasının yanında SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis), ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), PCR (Polymerase Chain Reaction), IMS (Immunomagnetic Separation), Poliklonal antikor ve Monoklonal Antikor (mAb) analiz teknikleri ile saptanmaya yönelmiş ve örümceklerin ekolojik dengenin korunmasındaki rolleri üzerine araştırmalar giderek yoğunlaşmıştır (Danışman, 2008; Sunderland vd., 1987; Titova ve Yegorova, 1978).

Örümcek beslenme hızının tayin edilmesinde önde gelen yöntemlerden birisi midede kalan avın tanınması ve miktarının ölçülmesidir (Sunderland, 1996; Danışman, 2008). Mide muhtevasının açılıp incelenmesi kolay ve ucuz bir yöntemdir ve bazı omurgasız grupların av spektrumunun tayin edilmesinde çoğunlukla tercih edilen bir yöntem olmuştur (Holland ve Thomas, 1997; Triltsch, 1999). Örümcekler sıvı besleniciler olduğundan birkaç diyetten kalan av kalıntılarının eş zamanlı olarak tayin edilmesi zordur. Mide muhtevasının açılması ve avın tanınması tek başına yeterli olmamaktadır ve bu durum aşılması güç teknik problemler meydana getirmektedir (Stuart ve Greenstone, 1990; Danışman, 2008). Bu yüzden mide muhtevası içeriğinin tayininde birçok biyokimyasal ve moleküler tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. Yarı parçalanmış DNA araştırmaları her zaman kolay olmamaktadır (King vd., 2008).

Mide/bağırsak muhtevası analizleri, seroloji, kromatografi, elektroforez ve radyoaktif çekirdeklerin kullanımını kapsamaktadır (Greenstone, 1999).

Radyoaktif çekirdekler yönteminde, Breene vd., (1988) ³²P ile işaretlenmiş sivrisinek larvalarını hem karada hem de suda hareket eden üç örümcek türü üzerindeki kullanılabilirliğini göstermiştir. Ve sivrisinek larvaları ile beslenen örümceklerde saptanan radyoaktiflik kaydedilmiştir (Greenstone, 1999; Danışman, 2008; Breene vd., 1988). Buna benzer çalışmalar, güve yumurtaları ve larvaları üzerine denenmiş ve başarılı olmuştur (Greenstone, 1999; Danışman, 2008; McDaniel ve Sterling, 1979; Godfrey vd., 1989). Fakat radyoaktif çekirdeklerin kullanımıyla çevreye

verdiği zararlardan dolayı bu yaklaşımın kullanımı zorluklarla karşılaşmıştır (Danışman, 2008)

Buna benzer başka bir çalışmada, bazı predatörlerin predatörlük etkinliğinin ve av-avcı arasındaki beslenme etkileşimlerinin analiz edilmesinde kütle spektrometresi ölçümünü kullanan $\delta^{15}\text{N}$ ve $\delta^{13}\text{C}$ kararlı izotopları da kullanılmaktadır (Nienstedt ve Poehling, 1998; Kato vd., 2004; Danışman, 2008).

Putnam (1967), Kanada şeftali bahçelerinde zararlı olan kırmızıörümcekler üzerinden beslenen örümceklerden kırmızıörümcek pigmentlerini tayin etmek için kağıt kromatografi kullanmış ve başarılı olmuştur (Putnam, 1967; Breene vd., 1988; Danışman, 2008).

Örümcek mide muhtevasının tayin edilmesinde yaklaşık 45 yıldır etkili bir şekilde kullanılan diğer bir yöntem ise poliklonal veya monoklonal antikorların kullanıldığı serolojik yöntemdir (Kato vd., 2004; Harwood vd., 2003). Serolojik teknikler öncelikle tercih edilendir. Bu yöntemin en önemli avantajları ucuz olması, basit, güvenilir hassas bir yöntem olması ve antikorların ergin altı bireylerde bile av spesifikliğı sağlamasıdır (Greenstone, 1999; Danışman, 2008).

Greenstone (1996), birçok arthropod predatörlerinin diyetini tayin etmek için poliklonal antikorlar kullanmış ve başarılı olmuştur (Danışman, 2008). Bu teknik, hedef av proteinlerinin bir memeli içerisine (genellikle bir tavşan) enjekte edilerek antikorların toplanmasını içermektedir. Benzer iki veya üç enjeksiyondan sonra antikorlar kan serumundan toplanır. Eğer bir beslenme bağı varsa bu antikorlar alandan toplanan avcılarının mide muhtevası içerisindeki antijenler üzerindeki epitoplara (bağlanma bölgeleri) bağlanacaktır (Sydmondson, 2002). Bağlanma sonrasındaki izleme farklı yöntemlerle saptanır. Çökelti testleri (bir akışkan veya jel arasından geçen antikor ve antijenin birbirlerine pasif olarak difüzyonu) veya immünoelektroforez (elektriksel bir alanda daha hızlı şekilde birbirine bağlanma) yöntemi kullanılabilir. Bu yöntemlerde uygulandığında örnekte beyaz bir çökeltinin oluşması pozitif olarak ifade edilir (Greenstone, 1996; Danışman, 2008). Antijen-antikor ilişkisinin aydınlatılmasında ELISA yöntemi kullanıldığında genellikle 96 kuyucukla çalışılır ve antikora direkt veya indirekt olarak bağlanmış bir enzimin aktivitesi araştırılır. Antijenin var olduğu pozitif durumlarda renksiz bir substrat

renkli bir ürüne dönüşmektedir (Stuart ve Greenstone, 1990; Sunderland, 1988; Sydmonson ve Hemigway, 2000).

Avrupa'da yapılan bir çalışmada, afite özgü olan ve diğer omurgasızlarla çapraz reaksiyon oluşturmayan bir antiafit monoklonal antikor üretilmiştir. Örümceklerde bulunan afit kalıntılarında saptanan antikorların ortaya çıkarmak için ELISA yöntemi kullanılmıştır. Araziden toplanan örümcekler ELISA testine tabi tutulmuştur. Test edilen Linyphiid örümceklerde, %26'sında önemli bir miktarda afit proteinleri içerdiği bulunmuştur (Harwood vd., 2003).

Benzer şekilde yapılan monoklonal antikor uygulaması kullanılan en hassas yöntemdir. Bu antikorlar, myeloma hücreleri (kemik iliği kanserli hücreleri) ile antikor üreten B-lenfositlerinin birleşmesi sonucunda oluşan hibridoma hücrelerinden elde edilmektedirler. Bu hücreler sürekli olarak üretilebilirler ve bu hücrelerden, seçilmiş herhangi bir tek klon monoklonal antikoru sentezlemek üzere izole edilip sürekli olarak çoğaltılabilir. Elde edilen klonların türe spesifik olması bu antikorların en önemli avantajıdır. Antikorlar sadece tek bir epitopa karşı oluşmuştur ve çapraz reaksiyonlara yol açmaz (Köhler ve Milstein, 1975; Danışman, 2008). Yalnız uygun bir klonun elde edilmesi için bir yıldan daha fazla bir zamana ihtiyaç duyulması, diğer yöntemlere nazaran daha pahalı bir yöntem olması ve özelleşmiş doku kültürü imkânlarına ihtiyaç duyulması bu yöntemin dezavantajlarıdır. Bunun yanında bir kere elde edildiği zaman klonun ELISA çalışmaları için uygulanması kolaydır ve çok sayıda numunenin hızlı bir şekilde değerlendirilmesinde etkilidir (Sydmonson, 2002).

Fraser (1982) ve Nyfeller vd. (1982), ELISA yöntemi ile örümceklerin afitler üzerinden beslendiklerini göstermişlerdir. Yeni kayıtlarda, *Milleriana inerrans*, *Oedothorax fuscus*, *Alopecosa pulverulenta*, *Pardosa pullata*, *Theridion bimaculatum* ve Lycosidae ve Tetragnathidae'lerin olgunlaşmamışlarında sonuçlar pozitif çıkmıştır (Harwood vd., 2003).

Amalin vd., (2000) bazı yer örümceklerinin turunçgil yaprak galeri güvesi larvaları üzerinden beslenmesini protein jel elektroforezi kullanarak göstermişlerdir. Bu çalışmada indikatör enzim olarak esteraz seçilmiştir. Çünkü esterazlar çok düşük değerlerde bile olsa substratla ürün oluşturarak bant vermektedirler (Amalin vd.,

2000). Elektroforez yöntemi diğer yöntemlere göre daha ucuzdur ve eğer jel - enzim sistemi düzgün bir şekilde optimize edilirse birçok durumda av-avcı ilişkilerinin tayininde çok avantajlıdır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı türe özgü protein bantların yetersizliği veya tek bir avcının birkaç farklı avla beslendiği durumlarda bantların ayırımının son derece imkânsız olması ve türe spesifik tam bir ayırımın yapılamamasıdır (Danışman, 2008; Walrant ve Loreau, 1995).

Greenstone ve Edwards (1998), örümcek mide içeriğindeki av kalıntılarını tayin etmek için türe özgü DNA dizilerinde çalışan probler kullanmışlardır (Danışman, 2008). Bu çalışmadan sonra ise av-avcı ilişkilerinin tayininde PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) kullanımı dünya çapında tercih edilen bir yöntem olmuştur. PCR, arthropod avcılarının çoğunun kismuklarında, dışkılarında ve mide/bağırsaklarında kalan av kalıntılarının tayininde etkili kullanılan PCR tekniği kompleks besinsel etkileşimleri araştırmak için geliştirilmiştir (Greenstone ve Shufron, 2001; Hoogendoorn ve Heimpel, 2001; Sheppard vd., 2005; King vd., 2008). Bu yöntemde avcılarının mide içeriğindeki av DNA'sının çoğaltılması için türe veya gruba özgü primerler kullanılır (Sydmonson, 2002). Elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütülerek DNA bantları şeklinde izlenmektedir. Predatörler tarafından avların sindirimini izleyen süreçteki araştırma periyotları ve maximum düzeydeki spesifiklik için cazip, alternatif bir yöntemdir. Ve predatörün gut analizi predasyonun data olarak elde edinimindeki en etkili yoldur (Chen vd., 2002; Sydmonson ve Hemingway, 1997; King vd., 2008; Sydmonson, 2002).

1.2. Çalışmanın Amacı

Türkiye ekonomisinin %45-50'sini oluşturan tarım ürünleri nüfusun besin ihtiyacını karşılaması, sanayide hammadde kaynağı olarak kullanılması gibi nedenlerden dolayı büyük önem taşımaktadır. Tarım ürünlerinin çoğunun zararlısı olan afitlerin mücadelesi ve kaliteli tarım ürünlerinin elde edilmesi amacıyla kimyasal mücadele tekniklerinin yerine biyolojik kontrol yöntemlerin kullanılabilirliği önem kazanmıştır. Bu çalışma ile;

Bitkisel üretimde zararlı olan afit popülasyonu üzerinde kurt örümcek predatörünün etkinliğinin araştırılması,

Ülkemizde zararlılara mücadelenin %60- 65'ini kapsayan pestisit tüketimi yerine entegre pest kontrol yöntemi olarak örümceklerin kullanılabilirliği ve bunun moleküler yöntemlerle kanıtlanması,

Av olan afit ile afit üzerinden beslenen avcı örümceğin, sindirim sistemlerindeki ya da feçeslerindeki av kalıntılarının SDS-PAGE Elektroforez ile protein yapılarının karşılaştırılması ve PCR analiz yöntemi ile predasyonun moleküler analizini yapmak ve predasyon oranının saptaması amaçlanmıştır.

Ayrıca bu çalışmada, örümceklerin besinin tüketiminden sonraki farklı zaman aralıklarında DNA deteksiyonlarını incelemek ve predatörlerin yarılanma zamanını (diyetin yarısının yenmesi sonrasındaki zaman “yarılanma zamanı: h”) bulmak amaçlanmıştır. Böylece afit DNA deteksiyonlarının zaman aralıklarının bilinmesi, beslenme süresinin tahmin edilmesinde yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Örümcek ve Afitlerin Doğadan Toplanması

Kırıkkale il sınırları içinde bulunan tarımsal ekosistemlerdeki bağ-bahçelik alanlar ele alınarak çeşitli lokaliteler çalışılmış, zararlıların aktif olduğu dönemler dikkate alınarak buralardan kurt örümceği ve afit türleri toplanmıştır.

Çalışılan bitki grupları;

A- Sebze Bitkileri: Biber (*Capsicum annum L*), Lahana (*Brassica oleracea*) Bitkileri

B- Meyve Bitkileri: Şeftali (*Prunus persica*), Kayısı (*Prunus armeniaca*) Bitkileri

C- Endüstri ve Süs Bitkileri: Gül (*Rosa sp.*)

Yukarıdaki bitki gruplarından ve buldukları arazilerden örümcek örnekleri aspiratör, afit örnekleri ise fırça ve bitkinin yaprak ve sap kısımlarının koparılmasıyla toplanmıştır.

Aspiratör, boy 20-30 cm ve iç çapı 2-3 mm olan kırmızı lastik boruya, daha genişçe ve 5 cm boyunda şeffaf plastikten yapılmış diğer bir borunun eklenmesi ile oluşmuştur. Şeffaf borunun kırmızı boruya geçtiği yerde örümcek ve toz parçacıklarının şeffaf boruya geçmesini engelleyen bir tülbent parçası bulunmaktadır (Danışman, 2008).

Toplanan örümcek ve afit örneklerinin bir kısmı teşhisi için % 70'lik etilalkol içeren özel kaplar içinde bir kısmı da örümcek besleme kapları içine konularak laboratuvara getirilmiştir.

2.2. Araştırmada Kullanılan Kurt Örümceği ve Afrit Türleri

Arazi çalışmalarında toplanan örümcek ve böcek türlerinin bir kısmı teşhis için ayrılmış, etiketlenmiş, % 70'lik etil alkolde muhafaza edilmiş ve stereo mikroskop (SMZ10A) altında tür teşhisleri yapılmıştır. Örümcek teşhisinde Tyschenko (1971)'e ait teşhis anahtarı kullanılmıştır. Afrit türlerinin teşhisinde ise Uzm Biyolog Başak Akyürek (Ondokuz Mayıs Üniversitesi) tarafından yapılmıştır. Teşhisi yapılan afrit türlerinden biber, kayısı ve lahana afritinin fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 2.1, 2.3). Teşhisi yapılan örümcek ve afrit türleri ise örümcek ve böcek arasındaki beslenme

ilişkinin tespiti amacıyla laboratuvar ortamında örümcek besleme kapları içerisine bir araya getirilip gözlenmeye başlanmıştır (Şekil 2.4).

Araştırmada kullanılan örümcek türü:

Familya: Lycosidae (Kurt Örümcekleri)

Pardosa proxima (C.L. Koch)

Araştırmada kullanılan afit ürleri:

1. *Aulacorthum solani* (Kaltenbach, 1843) (Biber afiti, biber yaprakbiti)
2. *Brevicoryne brassica* (Linnaeus, 1758) (Lahana afiti, lahana yaprakbiti)
3. *Hyalopterus amygdali* (E. Blanchard, 1840) (Şeftali afiti, şeftali yaprakbiti)
4. *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762) (Kayısı afiti, kayısı yaprakbiti)
5. *Myzaphis rosarum* (Kalrenbach, 1847) (Gül afiti, gül yaprakbiti)



Şekil 2.1. *Aulacorthum solani* (biber afiti)



Şekil 2.2. *Brevicoryne brassica* (lahana afiti)



Şekil 2.3. *Hyalopterus pruni* (kayısı afiti)



Şekil 2.4. Özel beslenme kabı içinde üç adet *Aulacorthum solani* (biber afiti) ile beslenmiş *Pardosa proxima*

2.3. Laboratuvarda Av-Avcı Beslenme Çalışmaları

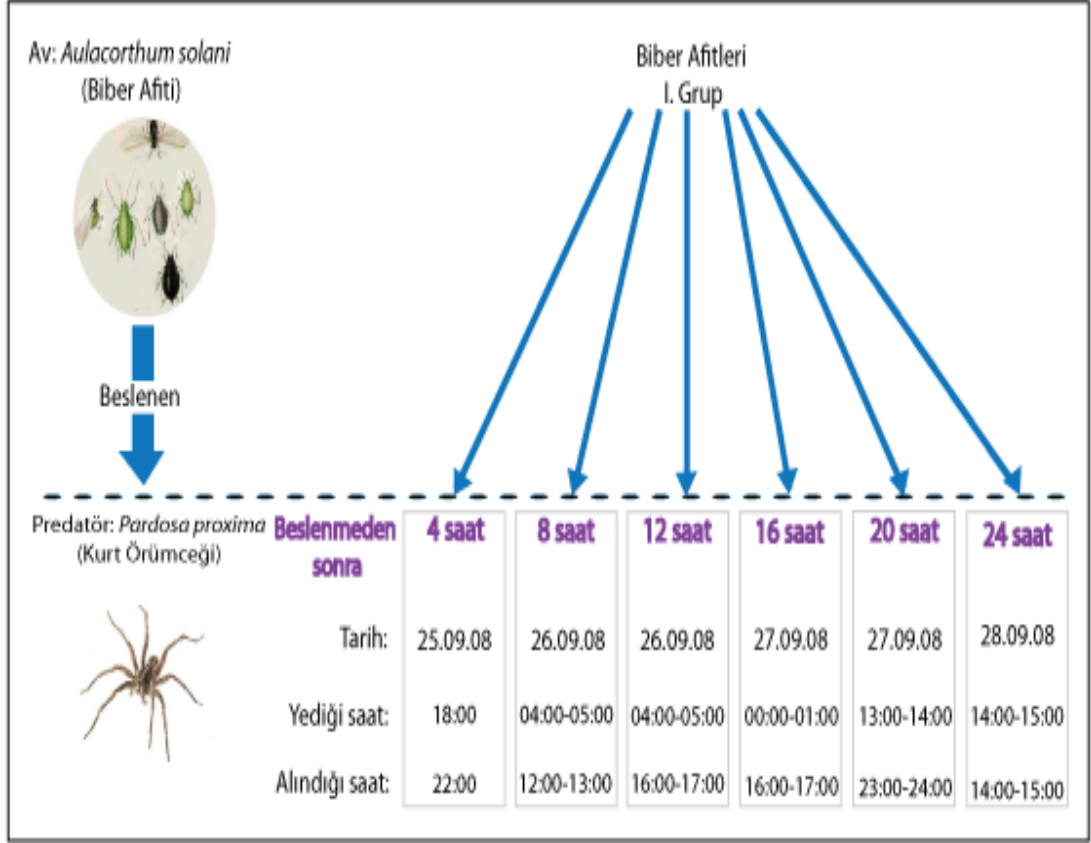
Araziden toplanan örümceklerin zararlı üzerinden beslendiğinin saptanması için örümcek besleme kapları oluşturulmuştur. Örümcek besleme kapları gözenekli hava alabilen bir kapağı olan canlı materyalin beslenme tipinin ve miktarının belirlenmesi gibi deneylerin gerçekleştirilmesi amacıyla kullanılan kaplardır. Zemin maddesi yanmış kömür tozu ve alçı karışımından oluşmaktadır. Zemin maddesinin porlu yapısı sayesinde yeterli miktarda nemi uzun zaman tutabilmektedir (Şekil 2.5).

Araziden toplanan örümcekler beslenme kapları içerisine konularak araştırmamızda kullanılan uygun besin ile beslendikten sonra üç gün boyunca aç bırakılmıştır. Daha sonra örümceklerle birlikte araziden toplanan afit türleri örümcek bulunan besleme kapları içerisine konulmuştur. Deneyde kullanılan beş afit türüne göre örümcekler gruplandırılmıştır. Ve bu gruplarda örümceğin afiti yediği saatlere göre 4, 8, 12, 16, 20 ve 24 saatlik periyotlara ayrılmıştır. Her bir örümceğe kendi grubuna uygun birer afit atılarak afiti yediği saat ve örümceğin alındığı saatler veri olarak kaydedilmiştir (Şekil 2.6, Şekil 2.13). Örümceğin afiti yemesinden 4 saat sonra örümcek kaptan alınarak -80'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (Şekil 2.14, 2.15). Bu şekilde dörder saat arayla beslenen örümcekler alınarak protein ve DNA analizi için

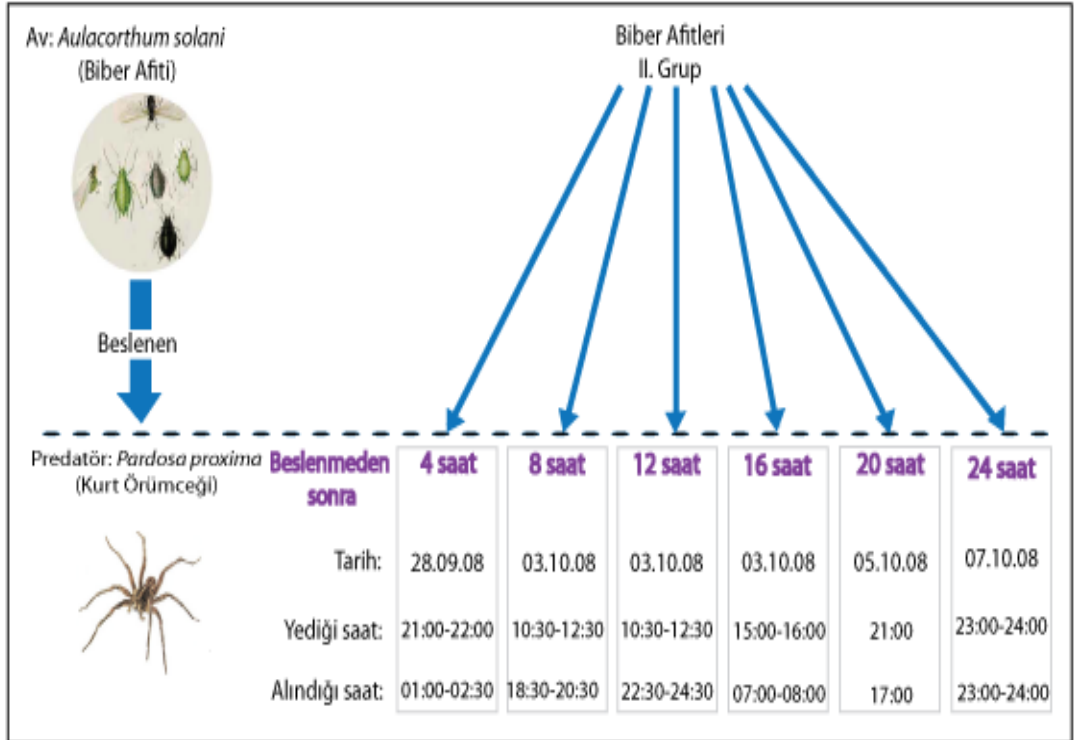
dondurulmuştur. Burada dörder saat arayla alınmasının amacı örümceğin predasyon oranı, optimum deteksiyon zamanları ve oranları belirlemeye çalışmaktır.



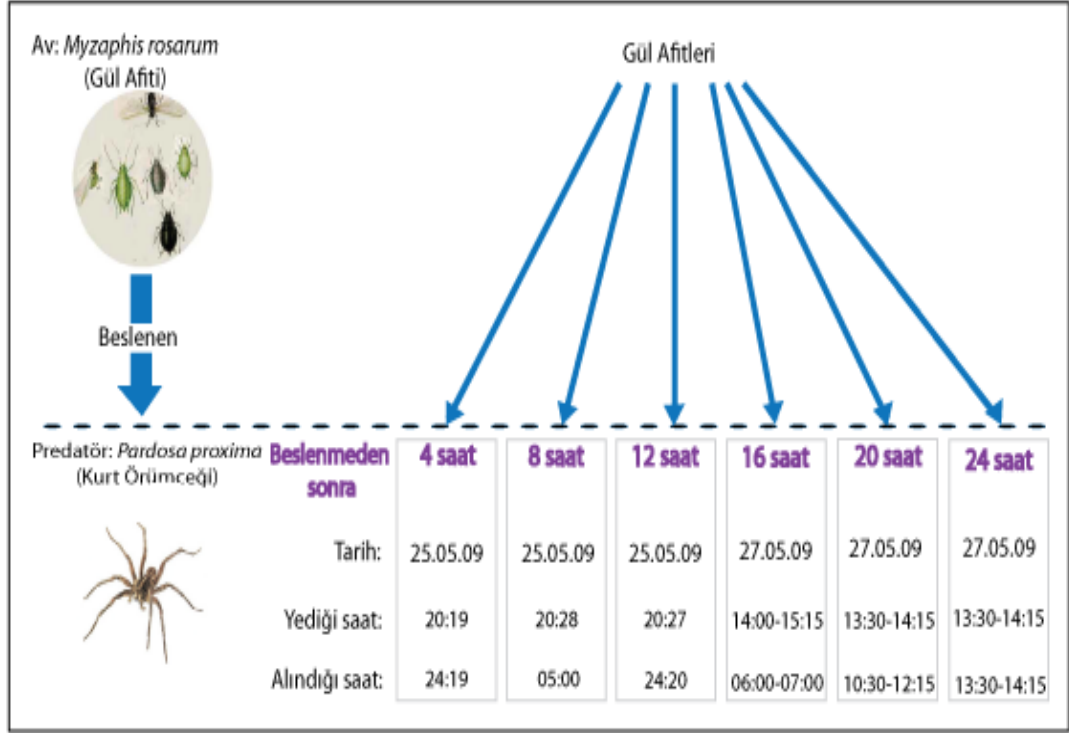
Şekil 2.5. Örümcek besleme kapları



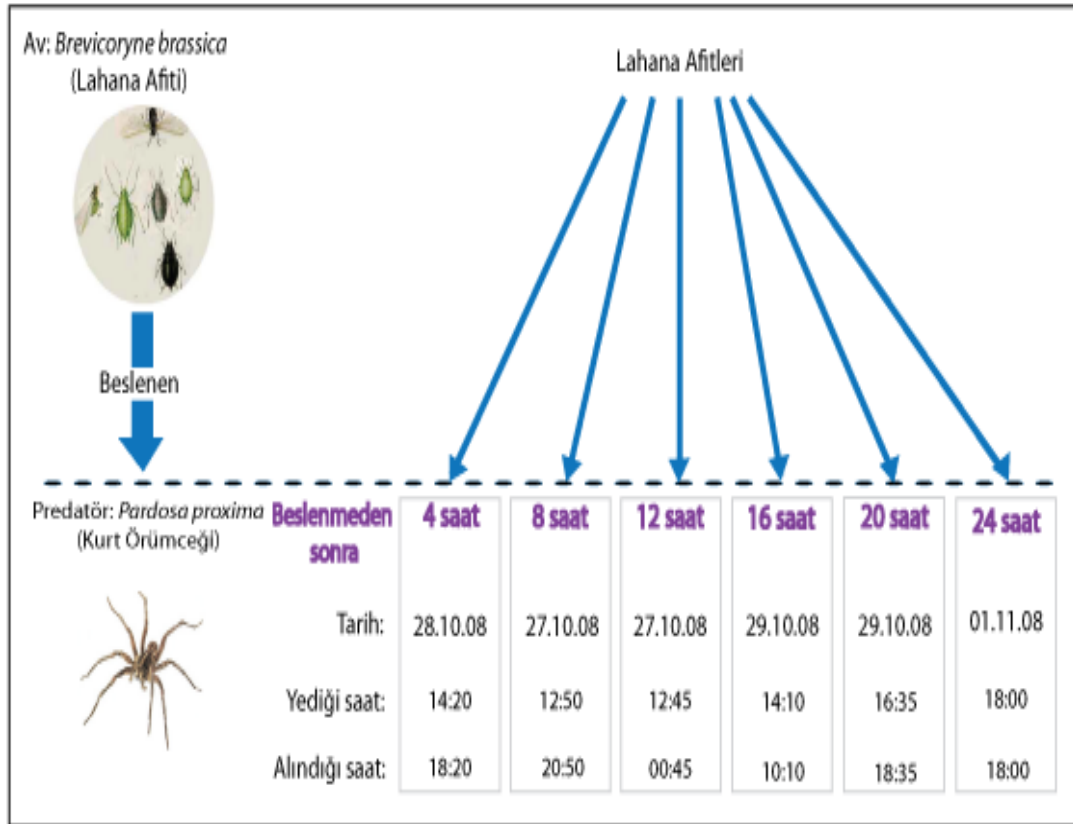
Şekil 2.6. Biber afiti ile beslenmiş örümcek I. grup



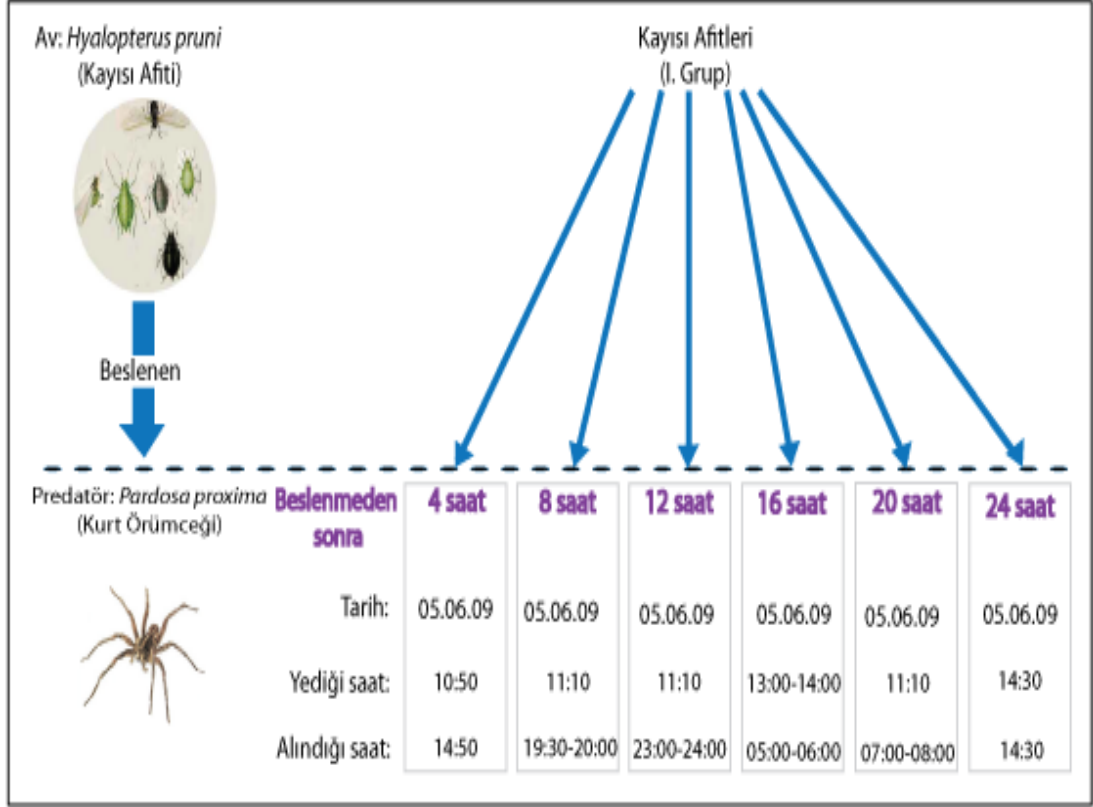
Şekil 2.7. Biber afiti ile beslenmiş örümcek II. grup



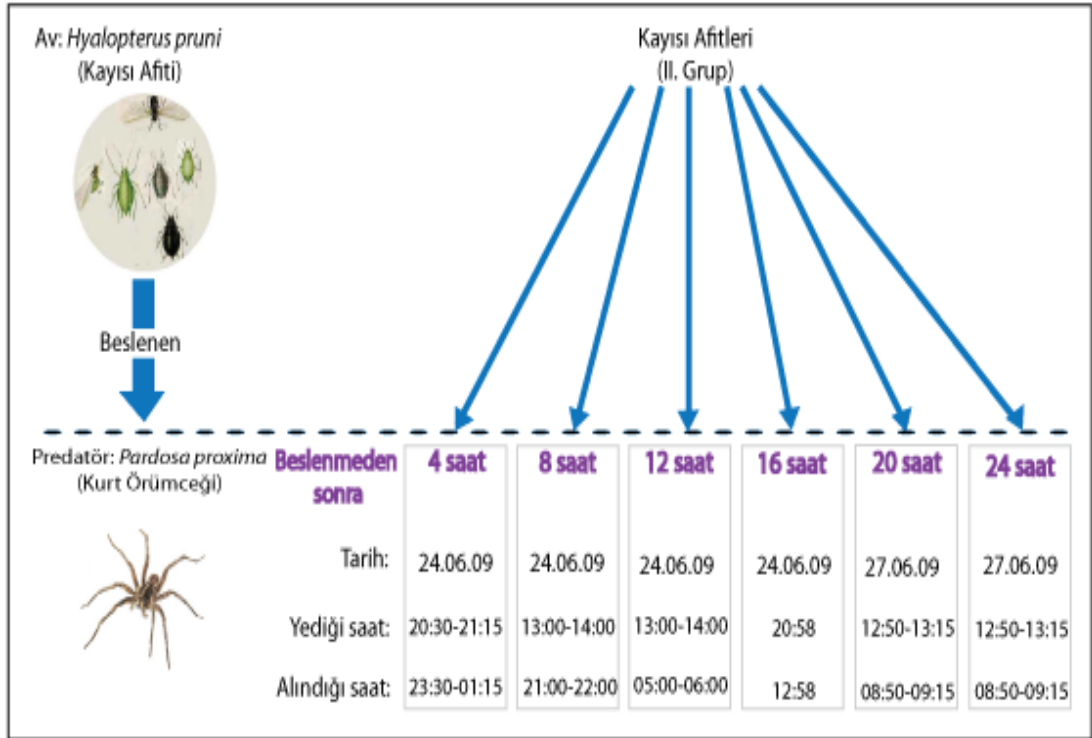
Şekil 2.8. Gül afiti ile beslenmiş örümcek



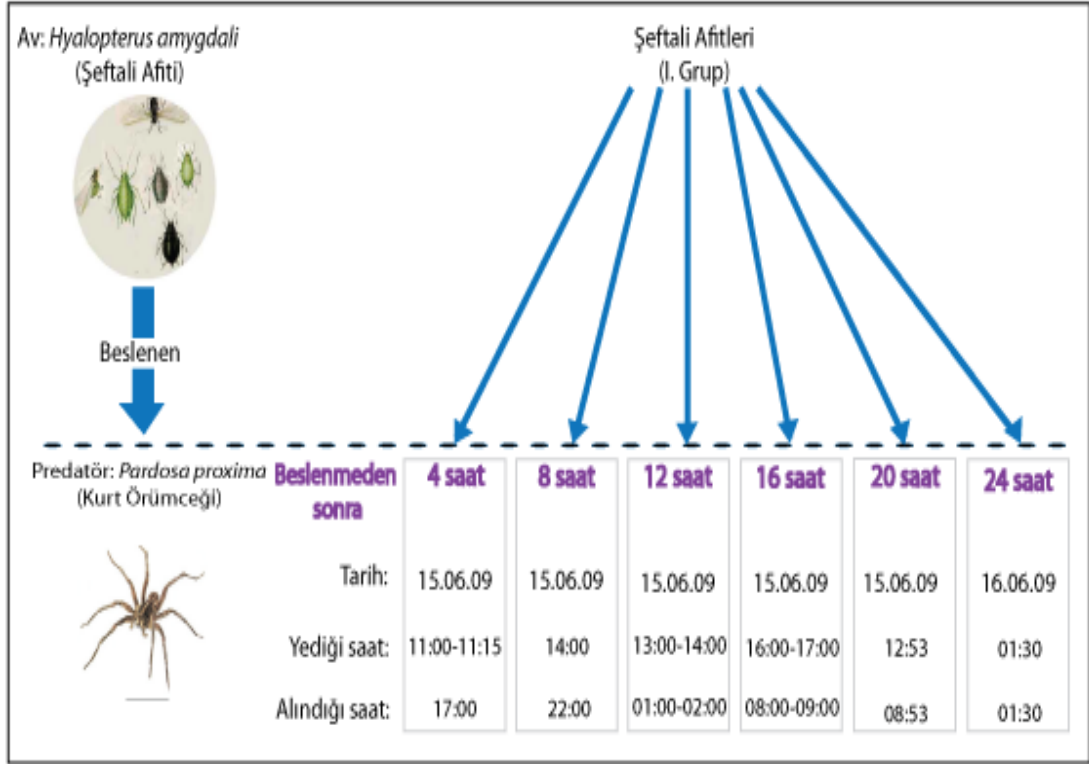
Şekil 2.9. Lahana afiti ile beslenmiş örümcek



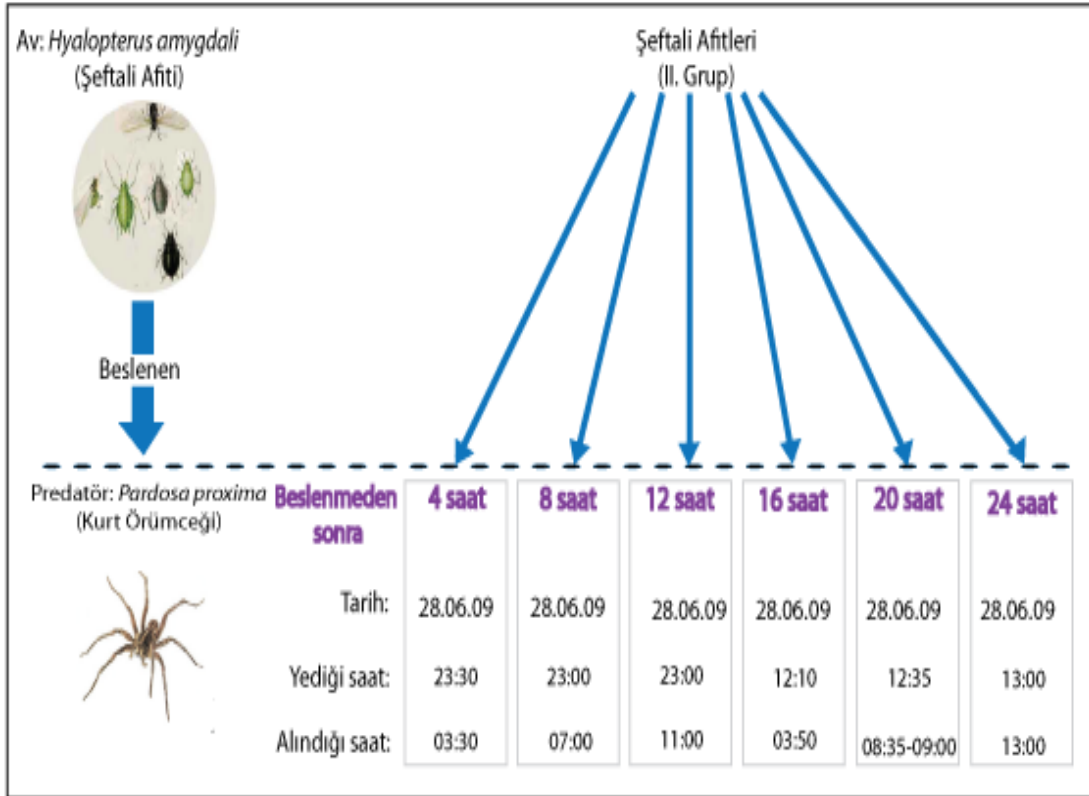
Şekil 2.10. Kayısı afiti ile beslenmiş örümcek I. grup



Şekil 2.11. Kayısı afiti ile beslenmiş örümcek II. grup



Şekil 2.12. Şeftali afiti ile beslenmiş örümcek I. grup



Şekil 2.13. Şeftali afiti ile beslenmiş örümcek II. grup



Şekil 2.14. *Pardosa proxima*'nın *Brevicoryne brassica* 'yı (lahana afiti) yerken



Şekil 2.15. Kurt örümceği afiti yerken (Özen, 2008)

2.4. Laboratuvarında Moleküler Analiz Çalışmaları

2.4.1.SDS-PAGE Analiz Çalışması

Araziden toplanan baskın örümcek türü olan *Pardosa Proxima* laboratuvarında özel olarak hazırlanmış beslenme kapları içinde bitki zararlısı afitler ile beslenmiştir. Bu şekilde örümceklerin beslenme sıklığı direkt gözlenmiş çalışmaları dikkate alınarak, arazide baskın tür olan *Pardosa proxima* ile genel bitki zararlısı afit türleri SDS-PAGE çalışması için eşleştirilmiştir.

Genel avcı olan *Pardosa proxima* ile çalışmada kullanılan lahana afiti *Brevicoryne brassica* (Linnaeus, 1758), biber afiti *Aulacorthum solani* (Kaltenbach, 1843), kayısı afiti *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762) ve gül aftini *Myzaphis rosarum* yedikten 4

saat sonra örümcek besleme kabından alınarak -80°C'deki derin dondurucuya kaldırılmıştır.

Örümceklerde predasyon süresi türe göre değişiklik göstermekle birlikte, bir örümceğin mide muhtevasında av ait protein varlığının tespiti için minimum 1 saat geçmesi gerekir. Optimum gözlem için ise beslenmeden itibaren 4 ile 12 saat geçmelidir (Danışman, 2008).

SDS-PAGE yöntemini uygulamadan önce bir pozitif kontrol olarak BlueStep™ Protein Moleküler Ağırlık Marker'ı kullanılmıştır. Av-avcı beslenme ilişkisinin protein elektroforez yöntemi ile kıyaslanması için numuneler ilk olarak mekanik olarak parçalanmıştır.

Lizis tamponla muamele edilen örnekler arada bir iyice karıştırılarak yarım saat buz üzerinde bekletilmiştir. Daha sonra 15.000 rpm'ge 5 dk +4 °C'de santrifüjlenerek pellet kısmı kalacak şekilde süpernatantı alınmış ve küçük tüplere konulmuştur.

Herbir tüp içine örnek tamponu ekleyip benvari usülü 10 dk kaynatıldı. Spot testi yöntemi ile protein yoğunluklarına bakılarak her bir örnekten yeterli miktarda protein ekstraktı ile protein ağırlık belirteçleri 10 µl %4'lük yığma ve %10'luk ayırma jeli olarak hazırlanan poliakrilamid jel sistemi üzerindeki kuyucuklara yüklenmiştir. Consort E844/ 400V- 400mA markalı cihazda dikey jel elektroforez sisteminde 170 V 40 mA'de 7 saat elektriksel alanda moleküler ağırlıklarına göre ayrımı yapılmıştır.

Elektroforez işleminin bitiminde jel üzerinde ayrımı yapılmış olan protein bantlarının tespiti için bromofenol blue ile hazırlanmış boyama solusyonuna alınan jel 1 gece boyada bekletilmiştir. Ardından proteinleri boyanan jel destaining sonlandırma solusyonunda alınarak yarım saat bekletilmiştir. 3 kez değiştirme yapılarak 15 dk arayla yıkanan jelin fotoğrafı çekilmiştir.

SDS-PAGE için kullanılan stok çözeltiler için Bkz. Ek 2.

2.4.2. PCR Analiz Çalışması

Afite özgü DNA primerleri kullanılarak afite ile beslenmiş örümceğin mide /bağırsak muhtevasındaki afite ait DNA parçalarının PCR kullanılarak çoğaltılması ve bunun agaroz jel elektroforezinde tespit edilmesi işlemine dayanmaktadır. İlk olarak av olan afite ile av üzerinden beslenen predatör örümceğin DNA'sı izole edilmektedir.

Araziden toplanan predatör örümcekler 2 gün süreyle aç bırakıldıktan sonra her bir örümcek beslenme kaplarında avı ile bir araya getirilmiştir. Her bir afit türü gruplara ayrılarak örümceklerle eşleştirilmiştir. Beslenmesini takiben sırasıyla 4, 8, 12, 16 saat sonrasında örümcekler kaplarından ependorflara alınarak predasyon oranı ve afitin DNA'sının yarılanma ömrü süresinin tespiti amacıyla ölüm sonrası bağırsak muhtevası analizi için -80°C'a kaldırılmıştır. Ayrıca pozitif kontrol için sadece afit türleri ile negatif kontrol olarak afit ile beslenmemiş örümcek örnekleride -80°C'a kaldırılmıştır. Çalışmada biber afiti ile beslenmiş örümceklerden 4, 8, 12, 16 saatlik örnekler, şeftali afiti ile beslenmiş örümceklerden 4, 8, 12, 16 saatlik örnekler ve kayısı afiti ile beslenmiş örümceklerden 4, 8, 12, 16 saatlik örnekler kullanılmıştır.

İzolasyonun ilk aşaması için pozitif kontrol, negatif kontrol ve afit ile beslenmiş örümcek örneklerinin her biri 1,5 ml'lik tüplere alınarak üzerine örnek miktarına göre en fazla 180 µl doku lizis tamponu eklenmiştir. Mekanik olarak parçalara ayrılma işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra üzerlerine 20 µl proteinaz K koyup 56°C'de 6 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında hafifce karıştırılmıştır. Elde edilen homojenizatlar E.Z.N.A. Blood DNA Kit (D3392-01) kullanılarak DNA'lar izole edilmiştir. Elde edilen izolatlar küçük hacimli spektrofotometrede A260, A260/280, ng/µl deki ölçümleri yapılarak değerleri kaydedilmiştir (Bkz Ek-3) ve PCR işlemi için -20°C'de saklanmıştır.

Daha önce yapılmış olan PCR çalışmalar göz önüne alınarak kullanılan herbir afit türüne özgü primerler için aşağıdaki diziyeye sahip genel afit primerleri kullanılmıştır.

Aphid F: 5' TTTCCGATTAATTGAAGTAG 3'

Aphid R: 5' ATTCCTGGTCGGTTTTATAAA 3'

PCR işlemi gerçekleştirilmeden önce her bir izolat için toplam hacim 20 µl olacak PCR tüpü hazırlanmıştır. Tüp içindeki reaktanlar; 2,0µl izole edilmiş kalıp DNA, 10× PCR reaksiyon tamponu (100mM Tris-HCl pH 8,3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂), dNTPs (10mM, hazır stoktan 1,25 mM), 0.4 µM her iki primerden (10mM stoktan), 0,2 u/µl, Taq polimeraz enzimi (5 unit/µL stoktan), MgCl₂ (25 mM stoktan) 2,5 mM ve toplam hacim 20µl olacak şekilde ddH₂O bulunur.

Her bir örnek için hazırlanan PCR tüpleri T-Gradient- Biometra® PCR cihazındaki kuyucuklara yerleştirildi. DNA'nın denatürasyonu 94°C'de 45sn, primerlerin

bağlanması 54°C'de 45sn ve polimerizasyon için 72°C'de 2 dk olmak üzere 40 döngüde çoğaltma işlemine tabi tutulmuştur. Son olarakta çoğaltılan DNA'lar amplifikasyondan sonra 72°C'de 2 dk uzatıldı. Elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi için her bir örnekten ve örnek yükleme tamponundan 2:1 oranında alınarak 1,5 ml'lik tüplere konulmuştur. Daha önceden hazırlanan %1,5'lük agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yerleştirilip elektriksel alan sağlayan tank tamponu içerisinde Consort E844/ 400V- 400mA markalı cihazda yatay jel elektroforez sisteminde 100 V'da 45 dk yürütülerek ayrımı yapılmıştır. Elektroforez işlemi sonucunda bantların görülebilir hale gelmesi için Etidium bromür ile boyandıktan sonra UV'de bakılarak fotoğrafı çekilmiştir.

PCR çalışmalarında örnekler üzerinde ikinci bir PCR yöntemi uygulanmıştır. Phire® Animal Tissue Direct PCR Kit (FINNZYMES) kullanılarak, PCR öncesi DNA izolasyonuna gerek olmadan, örümcek ve afidin homojenizasyonu sonrası kit protokolüne uygun olarak: Mikrosantrifüj tüpü içerisindeki örnek (afid ya da örümcek) üzerine 20µL Dilution Buffer ve 0,5µL DNARelease™ Additive eklenerek karıştırılmıştır. 5 dakika oda sıcaklığındaki inkübasyonu takiben kuru ısıtıcı blokta 98°C'de 2 dakika inkübe edildi. Örnek 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve örneğin üst sıvısından 1µL alınarak total PCR hacmi 20µL olacak şekilde ddH₂O, 2x Phire® Animal Tissue PCR Buffer, Forward primer (Genel afid primeri), Reverse primer (Genel afid primeri), Phire® Hot Start II DNA Polymerase ile birlikte thermal cycler cihazına konulmuştur. Başlangıç denatürasyonu 98°C 5 dakika, denatürasyon 98°C 5 saniye, primerlerin bağlanması 52°C 5 saniye ve polimerizasyon için 72°C 20 saniye olmak üzere 40 döngüde çoğaltma işlemi gerçekleştirilmiştir. Son olarakta 72°C 1 dakika amplifikasyon uzatılmıştır. Elde edilen amplifikasyon ürünlerinin agaroz jelde yürütülme işlemine tabi tutulmuştur. Herbir örnek orange G ile muamele edilerek jel kuyucuklarına yüklenmiştir. Hazırlanan elektroforez sisteminde 100 Volt'da 30 dakika yürütülen jel daha sonra Kodak Jel Dökümantasyon görüntüleme sistemi ile UV ışığa maruz bırakılarak fotoğraflandı. Agaroz jel elektroforez stok çözeltileri için Bkz. Ek 4.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Av-Avcı beslenme İlişkisinin Laboratuvar Gözlemleri

Çalışmamızda kullanılan afit türlerinin kurt örümceği *Pardosa proxima* ile oluşturulan av-avcı çiftlerinin beslenme ilişkileri gözlenmiştir. Örümceğin ergin olan afitlerle bir araya getirilmesi sonucunda zararlı böcek üzerinden hangi oranda beslendiği ve günlük tüketim miktarları tespit edilmiştir. *Pardosa proxima*'nın farklı afit türleri üzerinden beslenme rejimleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Yedi gün boyunca günlük 10 afit verilerek örümceğin günlük boyunca tükettiği afit miktarları kaydedilmiştir (Bkz. Ek 5).

Çizelge 3.1. *Pardosa proxima*'nın afit türleri üzerinden beslenme miktarları

Zararlı Türü	Gün Başına Tüketilen Ortalama Afıt Miktarı	Tarih Aralığı	Gün Sayısı
a. <i>Aulacorthum solani</i>	3.85±1.34	26/09/08-02/10/08	7
b. <i>Brevicoryne brassicae</i>	4±1.63	27/10/08-02/11/08	7
c. <i>Hyalopterus amygdali</i>	3±0.81	15/06/09-21/06/09	7
d. <i>Hyalopterus pruni</i>	3.14±1.07	27/06/09-03/07/09	7
e. <i>Myzaphis rosarum</i>	3.43±0.97	24/05/09-30/05/09	7

3.2. SDS-PAGE ile Proteinlerin Kıyaslanması

Av ile avcı arasındaki beslenme ilişkisinin analizi için SDS-PAGE yöntemi kullanılarak avcının mide/bağırsak muhtevasında ava ait protein yapıları tespit edilmeye çalışılmış ve elde edilen veriler karşılaştırılmıştır.

Elektroforez uygulaması *Aulacorthum solani* (Biber Afiti), *Brevicoryne brassicae* (Lahana Afiti), *Hyalopterus pruni* (Kayısı Afiti), *Myzaphis rosarum* (Gül Afiti) ve *Pardosa proxima*'ya uygulanmıştır.

Laboratuvar şartlarında avı ile beslenen predatör örümceğin afit üzerinden beslenmesini takiben 4 saat sonra örümcek kabından alınarak -80°C'de dondurulmuştur. Ölüm sonrası analiz için en iyi dercedeki optimum gözlem beslenmeden sonraki 4 ile 12 saat arasındaki süredir.

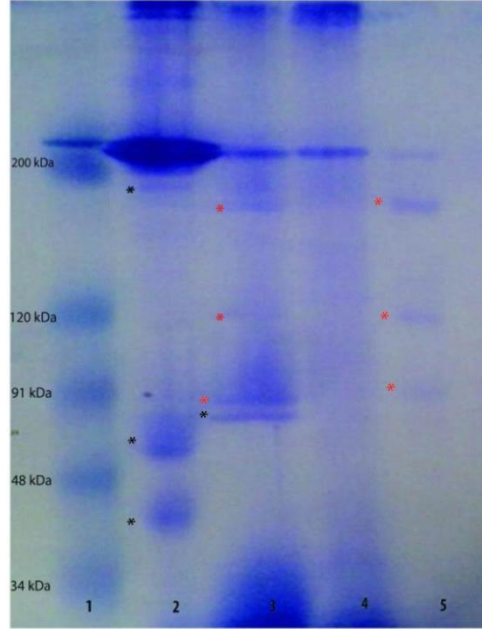
Elektroforez yönteminin başlangıcında afit ile beslenmiş örümceklerin ve afitlerin (pozitif kontrol) proteinleri ekstrakte edilmiştir.

Elde edilen ekstraktlar SDS-PAGE yöntemine göre hazırlanan jel sisteminde elektrik akımında yürütülmüştür. Afite ait protein bantlarının örümceğin protein profilinde bulunması amaçlanmıştır.

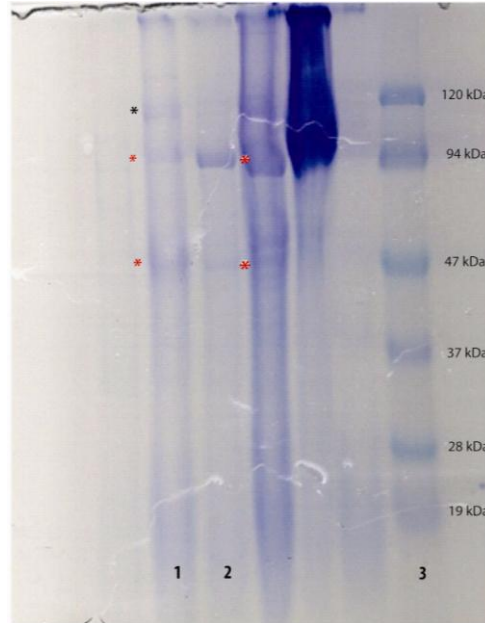
Biber ve lahana afiti üzerinden beslenmiş olan örümceklerinin ve biber ile lahana afitlerinin protein ekstraktlarına uygulanan ilk yapılan elektroforez işlemi sonucunda protein ağırlık belirteci ve afit ile beslenmiş örümceğe ait bantlar görülmüş olup, biber afitine ait protein bantlar görülmemiştir. Lahana afiti örneğinde ise üç bant görülürken lahana afiti ile beslenmiş örümceğe ait dört adet banta, biber afiti ile beslenmiş örümcek örneğinde ise üç adet banta rastlanılmıştır. Lahana afiti ile beslenmiş örümcek ile lahana afiti örneklerinde 3 adet ortak bant gözlenmiştir. (Şekil 3.10).

Biber afiti ile beslenmiş örümcek ve biber afiti örnekleri kullanılarak yapılan ikinci elektroforez uygulamasında ise biber afiti ile beslenmiş örümcek örneğinde üç adet bant, biber afiti ekstraktlarında ise iki adet bant görülmüştür. Böylece biber afiti ve biber afiti üzerinden beslenmiş örümceğe ait örneklerde iki adet ortak bant görülmüştür (Şekil 3.11).

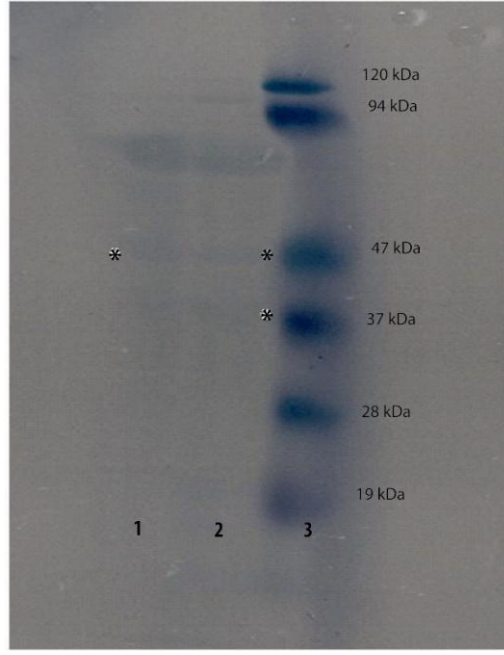
Gül ve kayısı afiti ile beslenmiş örümceğin ve gül afiti ile kayısı afiti örneklerinin protein ekstraktları elde edildikten sonra elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen jelde ise gül afiti ile beslenmiş örümcek örneğinde ve kayısı afiti ile beslenmiş örümcek örneğinde belirgin olmayan afite ait iki bant ile gül afiti ile beslenmiş örümceğe ait net olarak görünmeyen bir adet bant görülmüştür (Şekil 3.12).



Şekil 3.10. Biber ve lahana afiti üzerinden beslenen örümcek ile lahana afiti örneklerine ve protein markerına ait bantlar 1. Protein ağırlık belirteci 2. Biber afiti ile beslenmiş örümcek örneğine ait bantlar 3. Lahana afiti ile beslenmiş örümcek örneğine ait bantlar 4. Biber afiti 5. Lahana afitine ait üç adet bant (*) Ortak Bant (*) Bantlar.



Şekil 3.11. Biber afiti ve Biber afiti ile beslenmiş örümceğe ait bantlar 1. Biber afiti ile beslenmiş örümcek örneğinde görülen bantlar (*) 2. Biber afiti örneğinde görülen bantlar (*) 3. Protein ağırlık belirteci (*) Ortak bant



Şekil 3.12. Gül afiti ile beslenmiş örümcek ile kayısı afiti ile beslenmiş örümceğe ait bantlar 1. Gül afiti ile beslenmiş örümceğe ait bir adet bant 2. Kayısı afiti ile beslenmiş örümcekte görülen iki adet bant 3. Protein ağırlık belirteci (*) Bantlar

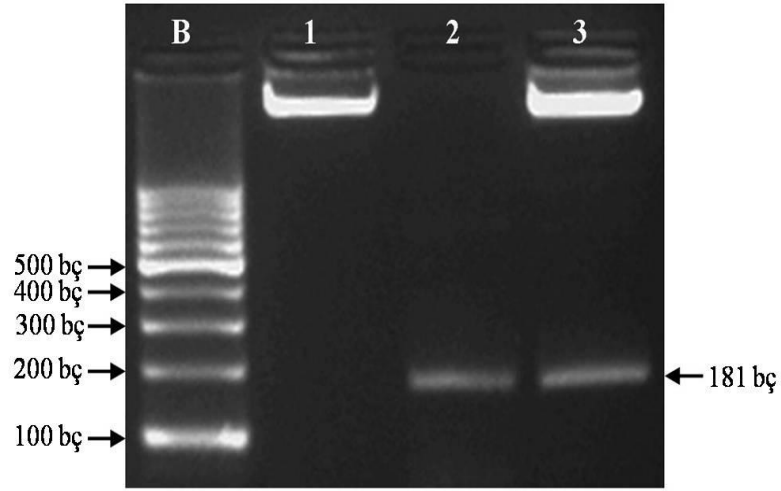
3.3. PCR Yöntemi İle Beslenme İlişkilerinin Tayini

Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemiyle afit üzerinden beslenmiş örümceklerin mide muhtevasında afite özgü DNA parçalarının afit primerleri kullanılarak çoğaltılması ve afit DNA'larının agaroz jel elektroforezinde ayrımı amaçlanmıştır. Çalışmamızda seçilen genel afit primeridir. Bu primer dizisi afitlerde mevcut, fakat örümceklerde mevcut değildir. Bu nedenle afit ile beslenmiş örümcekte DNA izole edildiğinde bu primer ile bir çoğaltma yapılıyorsa o örümcek afit ile beslenmiş anlamı taşıyacaktır. Çünkü normalde bu dizi örümcekte bulunmamaktadır.

Çalışmanın amacına uygun olarak hazırlanan örnekler DNA izolasyon yöntemine göre izole edilip PCR işlemi uygulanmıştır. İlk olarak annealing sıcaklığı 54°C denenmiştir. İşlem sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri agaroz jel elektroforez sisteminde yürütülüp afite özgü DNA bantları aranmıştır. UV ışığı altında bakıldığında hiçbir bant gözlenmemiştir.

PCR yönteminin optimizasyonunun bulmak için birçok denemeler yapılmıştır. İkinci olarak 55°C ve daha sonralarında birçok sıcaklık değerleri denenmiştir. Fakat uygulanan işlemler sonucunda hiçbir banta rastlanamamıştır.

İkinci olarak Phire® Animal Tissue Direct PCR Kit (FINNZYMES) kullanılarak uyguladığımız PCR yönteminde anneleme sıcaklığı 52°C denenmiştir. *Hyalopterus pruni* (kayıslı afiti) üzerinden beslenmesinden 4 saat sonra alınan örümcek ve *Hyalopterus pruni* (kayıslı afiti) örneklerinde afite ait 181 bp'lik ortak bir bant gözlenmiştir. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen amplicon ürünlerinin agaroz jel görüntüsü Şekil 3.13'de gösterilmiştir.



Şekil 3.13. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen bantlar. B. 100 bp'lik DNA moleküler ağırlık belirteci. 1- Afid yedirilmemiş örümceğin genomik DNA'sı (Negatif kontrol). 2. Afide ait 181 bp'lik PCR ürünü (Pozitif kontrol). 3. Afid yedirilmiş örümceğe ait genomik DNA ve afide ait PCR ürünü.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmada örümcek ile belirli sayılarda zararlı ergin böcek türleri bir araya getirilerek zararlı böcek türlerinden hangi oranda ne sıklıkla beslendiği tespit edilmiştir. Her bir örümceğe günde 10 adet afit verilmiş ve gün başına tüketilen böcek sayısı tespit edilmiştir, en fazla tercih edilen ve en az tüketilen afit türleri belirlenmiştir. Bu durumda kurt örümceğinin en fazla tükettiği afit türleri *Aulacorthum solani* (Biber afiti) ve *Brevicoryne brassica* (Lahana afiti) olmuştur. En az tercih ettiği afit türü ise *Hyalopterus amygdali* (Şeftali afiti)'dir. Kurt örümceklerin av tercihinde habitat ve avın biyolojik yapısında göz önünde bulundurulmalıdır. Biber ve lahana fitlerini tercih etmelerindeki neden örümcek ile olan ortak yaşam alanlarıdır. Kurt örümcekleri çoğunlukla toprak zonunda ve yere yakın bitkiler üzerinde avlanırlar. Buna göre lahana ve biber afitleri kurt örümceklerinin habitatı için daha uygun gözükmektedir. Afitlerin biyolojik özelliklerine bakıldığında fazla miktarda balsı madde üretmeleriyle de örümceklerin vesin tercihleri içinde yer almaktadırlar.

Laboratuvarda av avcı beslenme çalışmalarına ek olarak av-avcı arasındaki beslenme ilişkisi moleküler analizlerle desteklenmeye çalışılmıştır.

SDS-PAGE moleküler analiz yöntemiyle avcının mide muhtevastaki ava ait proteinlerin varlığının tespiti ve aynı zamanda protein yapıları mukayese edilip beslenme durumlarına bakılması amaçlanmıştır. SDS-PAGE yönteminde proteinler net yük ve şekillerine göre değil sadece moleküler büyüklüklerine göre birbirinden ayrılırlar. Çalışmada bantların belirgin bir görüntüsünün olmaması, net ve ayrıntılı bir şekilde ayırımın yapılamaması 4 sebebe dayandırılmaktadır.

1. Afitlere ve afit üzerinden beslenen örümcek örneklerine uygulanan protein ekstraksiyon yönteminde proteinlerin tam olarak ekstraksiyonunun yapılamaması.
2. Elde edilen protein ekstraktlarının düşük miktarda olması sebebiyle uygun olan hassas bir boyamanın (10ng protein miktarına kadar duyarlı olan gümüş nitrat boyaması) yapılamaması.

3. Uyguladığımız SDS-PAGE yöntemindeki jel sisteminin net bir ayırım için uygun olmayışı.
4. Yükleme sırasında örnek miktarının yetersiz olması.

Daha hasas bir ayırım için iki boyutlu izoelektrik odaklama (two dimensional isoelectric focusing) yöntemi uygulanabilir (Danışman, 2008). pH gradienti küçük molekül ağırlıklı organik asit ve bazıları içeren bir amfolit ya da amfolin (katyonik/anyonik polistren elektrolitler) çözeltisi inkorpore edilen jelle elektrik alanı uygulanır. pH gradienti oluşturulan jel üzerinde elektroforez yapılarak, proteinlerin pI (izoelektrik noktası) değerleri tayin edilir. İzozimleri ya da özellikleri çok benzeyen proteinleri ayırmak için kullanılır. Birinci boyutta; İzoelektrik Odaklama (IEF): pH gradientinde yük bağımlı ayırma, protein karışımı izoelektrik jelle uygulanıp elektroforez yapıldığında, karışımdaki her protein kendi izoelektrik noktasına kadar jel üzerinde sürüklenir ve durur. Jel üzerinde pH gradienti oluşur. İkinci boyutta; SDS-PAGE: Molekül kütlesine bağımlı bir ayırma metodu. İki boyutlu jel elektroforezi her tip hücre proteinlerinde kullanılabilir (bitki, mikroorganizma, hayvan vs.). Çok daha hassas ve net ayırma yaptığı için bu yöntem daha uygun olabilir.

DNA amplifikasyonu yönteminde en başta kullanılacak olan DNA izolatların saf ve kaliteli DNA'lar içermesi gerekmektedir. Bunun için izolasyon yönteminin çalışmada kullanılan türe göre uygun olması ya da kullanılacak olan kitin örnekler için hazırlanmış olması şarttır. Elde edilen izolatların PCR işleminde kullanılmadan önce spektrofotometrik ölçümlerle A₂₆₀, A_{260/280}, ng/μl deki değerleri bulunarak izolatların saf ve kaliteli olup olmadığını ve DNA'ların miktarlarının öğrenilmelidir. Çünkü kontamine olmuş DNA örnekleri PCR'da çalışmaz. Çalışılması uygun kontamine olmamış DNA izolatlarının A_(260/280) değeri 1.80- 2.00 arasında olmalıdır. A_(260/280)<1.8 ise protein kontaminasyonu, A_(260/280)> 2 ise RNA kontaminasyonu olduğunu göstermektedir. PCR uygulaması kolay olamayan, kullanılacak olan her bir örnek için değişik oranlarda hazırlanan PCR tamponu ve optimizasyon sıcaklıkları değişiklik göstermektedir. Yapılan birçok araştırmada genel afit primerleri olan Aphid F (forward) ve Aphid R (revers) primerleri kullanılmıştır. Örneğin; Chen ve ark. (2000) çalışmalarında *R. maidis* türüne spesifik

primerleri kullanarak 57°C annealing sıcaklığında sırasıyla 198, 246 ve 339 bp uzunluğunda, genel afit primerleri olan Aphid F (forward) ve Aphid R (revers) primerlerini kullanarak da 52°C annealing sıcaklığında 181 bp uzunluğunda ampliconlar elde etmişlerdir (Danışman, 2008; Chen, 2000). Başka bir çalışmada ise, Wallace (2005) bazı afidler ve Carabiidler arasındaki beslenme ilişkilerini incelediği araştırmalarında ise aynı şekilde Aphid F (forward) ve Aphid R (revers) genel afit primerlerini kullanarak 52°C annealing sıcaklığında 181 bp uzunluğunda ampliconlar elde etmiştir (Danışman, 2008; Wallace, 2005). Ancak King vd., (2008)'in belirttiği üzere yarı parçalanmış DNA analizleri kolay olmamaktadır. Bu da bizim çalışmamızı sınırlayan en önemli faktör olmuştur. Midede yarı sindirime uğramış DNA'ların izole edilmesi ve kullanılan primerle tespiti mümkün olmamıştır.

Uygun oranları ve sıcaklıkları bulmak uzun bir uğraş ve zaman gerektirmektedir. Her teknikte olduğu gibi PCR'da da optimizasyon şarttır. Yüksek özgüllüğü ve duyarlılığına rağmen;

- düşük ürün miktarı
- primerlerden kaynaklanabilen non-spesifik ürün eldesi
- kontaminasyon sonucu yalancı pozitif sonuçlar

gibi sorunlar yaşanabilmektedir.

İlk yapılan çalışmamızda ise elde ettiğimiz DNA izolatlarımızın küçük hacimli spektrofotometredeki ölçümleri sonucunda kontamine oldukları ortaya çıkmıştır. Bu nedenle PCR'da çalıştırdığımızda DNA'lar elde edilemedi ve agaroz jel elektroforez işlemi sonucunda hiçbir bant görülemedi. Aynı zamanda örnekler üzerine uyguladığımız izolasyon yönteminin omurgasızlara özgü bir yöntem olmayışından sağlıklı DNA'lar elde edilemedi. Denediğimiz bir çok izolasyon yöntemine rağmen PCR çalışmaları pozitif sonuçlanmamıştır. Laboratuvar şartlarında eşleştirilen örneklerde beslenmenin olduğu görülse bile PCR reaksiyonu neticesinde hiçbir amplicon elde edilememiştir. Bu durum;

1. İzolasyon yönteminin kullanılan örneğe göre uygun olmayışı.
2. İzolasyon işlemi sırasında ortamın yeterli sterililikte olmaması.

3. Uygun optimizasyon sıcaklığının bulunamaması.
4. Örnek miktarının yetersiz olması
5. Ürün miktarının düşük olması
6. Hazırlanan PCR reaksiyon tamponun doğru oranlarda hazırlanmayışı.

Yapmış olduğumuz ilk çalışmalarda istenilen sonuçların elde edilememesinin nedenleri dikkate alınarak bundan sonraki çalışmalarda daha hassas analitik yöntemler kullanılması gerektiği öngörülmüştür. İkinci bir yöntem olarak izolasyonda yaşadığımız sorunlar dikkate alınarak PCR öncesi izolasyona gerek olmadan uygulamış olduğumuz yöntemle elde edilen bantla örümceğin zararlı üzerinden beslendiği ispat edilmiştir. Öncelikli sorununuz olan örneklerin izolasyonu direkt PCR Kit kullanılarak pozitif sonuç elde edilmesiyle ortadan kalkmıştır. Çalışmamıza başladıktan sonra yayımlanan makalelerde de aslında DNA analiz yöntemlerinin bu çalışmalar için uygun olmadığını ve yarı parçalanmış DNA örnekleri ile çalışmanın güçlüğüne belirtmiştir (King vd., 2008). Bunlarda göz önüne alınarak beslenme ilişkilerinin belirlenmesinde monoklonal antikor yönteminin kullanılması ve çok daha hassas analitik yöntemler geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- A., Bayram, Ecological studies on wolf spiders (Lycosidae, Araneae) in a mixed agricultural situation. Doctoral Thesis. University of Newcastle upon Tyne. England, U.K., 1993.
- Amalin, D.M., Peña, J.E. and McSorley, R., Browning, H.W. and Crane, J.H., Comparison of different sampling method and effect of pesticide application on spider populations in lime orchards in South Florida. *Environ. Entomol.* 30, 1021-1027. 2001.
- Amalin, D., Peña, J.E. and McSorley, R., Gut content analysis of species of sac spiders by electrophoresis. *Florida Entomologist.* 83, 489-492, 2000.
- B., Akyürek, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kurupelit Kampüs Alanı Afrit (Homoptera: Aphidoidea) Faunasının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2006.
- Bayram, A. ve Allahverdi, H., Tarımsal ekosistemlerde örümceklerin habitat tercihleri üzerine. *Centr. Ent. Stud. Misc. Papor No: 58*, 1-7, 1999.
- Bayram, A., Kırıkkale ilinin araneo-faunası üzerine (Arthropoda: Arachnida). *Ekoloji Dergisi.* 14, 1-8, 2005.
- Bayram, A., Tarımsal ekosistemlerde örümcekler. *Ekoloji Dergisi.* 8, 3-6, 1999.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., Aphids on the world's crops: An identification and information guide. Second Edition, John Wiley, Chichester, 11-337, 2000
- Breene, R.G., Sweet, M.H. and Olson, J.K., Spider predators of mosquito larvae. *J. Arachnol.* 16, 275-277, 1988.
- Bogya, S., Spiders (Araneae) as polyphagous natural enemies in orchards. Wageningen University, Wau dissertation no. 2603, Holland, 1999.
- Chant, D.A., predaceous spiders in orchards in south-eastern England. *J. Hort. Sci.* 31, 35-46, 1956.
- Chen, Y., Giles, K.L., Payton, M.E. and Greenstone, M.H., Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis. *Molecular Ecology.* 9, 1887-1898, 2000.

- Çanakçıoğlu, H., The *Aphidoidea* of Turkey. İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1975.
- Ç, Özen, Tahıl Zararlısı Olan Böcekler İle Predatör Örümcekler Arasındaki Beslenme İlişkisinin Laboratuvar Şartlarında Gözlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniv., Kırıkkale, 2009
- D., Maloney, The ecology of wolf spiders (Lycosidae) in low bush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) agroecosystems. M.Sc.Thesis. B. A. Cornell University, Maine, 2002.
- Dixon, A.F.G., Aphid Ecology. Chapman and Hall, London, UK. 1998.
- Duffey, E., A population study of spiders in limestone grassland. J. Anim. Ecol. 31, 571-599, 1962.
- Düzgüneş, Z. ve Tuatay, N., Türkiye afitleri. Ziraat Vekaleti, Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü. 4, 63, 1956.
- Fagan, W.F., Hakim, A.L., Ariawan, H. and Yuliyantiningsih, Interactions between biological control efforts and insecticide applications in tropical rice agroecosystem: the potential role of intraguild predation. Biological Control: Theory and Applications in Pest Management. 13, 121-126, 1998.
- Foelix, R.F., Biology of spiders. Internal Digestion. 47-53. Cambridge, Massachusetts and Lond, England, 1982.
- Ghavami, S., The potential of predatory spiders as biological control agents of cotton pests in Tehran provinces of İnan. Asian J. Exp. Sci. 22, 303-306, 2008.
- Godfrey, K.E., Whitcomb, W.H. and Stimac, J.L., Arthropod predators of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), eggs and larvae. Environ. Entomol. 18, 118-123, 1989.
- Görür, G., Yaprakbitlerine (Afitlere) karşı yapılan biyolojik mücadele uygulamalarının prensipleri ve önemi. Tabiat Ve İnsan Dergisi. 4, 23-30, 2002.
- Görür, G., Niğde yöresi afitleri (Insecta: Homoptera: Aphidoidea). Niğde Üniversitesi Yayınları, Niğde, 2004.

- Greenstone, M.H. & Shufran, K.A., Spider predation: Species-specific identification of gut contents by PCR. *Environmental Entomology*. 12, 2001.
- Greenstone, M.H. and Edwards, M.J., DNA hybridization probe for endoparasitism by *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Ann. Entomol. Soc. America*. 91, 415–421, 1998.
- Greenstone, M.H., Serological analysis of arthropod predation: past, present and future. In: *The Ecology of Agricultural Pests: Biochemical Approaches* (eds Symondson WOC, Liddell JE). Chapman and Hall, London, 265–300, 1996.
- Greenstone, M.H. and Sunderland, K.D., Why a symposium on spiders in agroecosystems now? *J. Arachnol.* 27, 267-269, 1999.
- Greenstone, M.H., Spider predation: how and why we study it. *Journal of Arachnology*. 27, 333–342, 1999.
- Guarisco, H., Cutler, B. and Jennings, D.T., Checklist of Cansas crab spiders. *The Cansas School Naturalist*. 1, 2-16, 2003.
- Harwood, J.D., Symondson, W.O.C. and Sunderland, K.D., Use of monoclonal antibodies to monitor spider predation on cereal aphids and the effects of alternative prey. *International Symposium On Biological Control Of Arthropods. Poster Presentations*, 478-479, 2003.
- Holland, J.M. and Thomas, S.R., Assessing the role of beneficial invertebrates in conventional and integrated farming systems during an outbreak of *Sitobion avenae*. *Biol. Agric. Hort.* 15, 73–82, 1997.
- Hoogendoorn, M. and Heimpel, G.E., PCR-based gut content analysis of insect predators: using ribosomal ITS-1 fragments from prey to estimate predation frequency. *Molecular Ecology*. 10, 2059–2067, 2001.
- Kato, C., Iwata, T. and Wada, E., Prey use by web-building spiders: stable isotope analyses of trophic flow at a forest-stream ecotone. *Ecol Res.* 19, 633–643, 2004.
- Kaygısız, H., *Bitkisel Üretimde Zararlı Böcekler*, Hasat Yayıncılık, İstanbul, 1999.

- King, R.A., Read, D.S., Traugott, M., Symondson, W.O.C., Molecular analysis of predation: A review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology*. 17, 947-963, 2008.
- Kobayashi, S., The effect of *Drosophila* release on the spider population in paddy field. *Appl. Ent. Zool*. 10, 268-274, 1975.
- Köhler, G. and Milstein, C., Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 256, 495–497, 1975.
- Lee, J.H. and Kim, S.T., Use of spiders as natural enemies to control rice pests in Korea. Entomology Program, Seoul National University, Korea, 2001.
- Luczak, J., Studies on the crop-field ecosystem. Part1, 10, Spider Communities Of The Crop Fields, *Polish Ecological Studies* 1: 93-110, 1975.
- Lyon, J.P., Use of afitophagous and polyphagous beneficial insects for biological control of afits in greenhouses. In: 1. Hodek (ed.) *Ecology of Afitophaga* Academia, Prague and W. Junk, Dordrecht. 471-474, 1986.
- M., Demir, Kahramanmaraş'ta Yetiştirilen Kırmızı Biberde Yaprakbiti İle Taşınan Virüslerin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Kahramanmaraş, 2005.
- M., Nyffeler, Field studies on the ecological role of the spiders as insect predators in a agroecosystems. Ph.D. Dissertation. Swiss Fed. Inst. Technol. Zurich, 1982.
- Maloney, D., Drummond, F.A. and Alford, R., Spider predation in agroecosystems: Can spiders effectively control pest populations ?. *Technical Bulletin*. 190, 2003.
- McDaniel, S.G. and Sterling, W.S., Predator determination and efficiency on *Heliothis virescens* eggs in cotton by using 32P. *Environ. Entomol.* 8, 1083–1087, 1979.
- Marc, P. and Canard, A., Maintaining spider biodiversity in agroecosystems as atol in pest control. *Agric., Ecosyst. Environ.* 62, 229-235, 1997.
- Marc, P., Canard, A. and Ysnel, F., spiders (Araneae) useful for pest limitation and bioindication. *Agric., ecosyst. Environ.* 74, 229-273, 1999.

- Markkula, M., Tiittanen, K., Hamalainen, M. & Forsberg, A., The afit midge *Afitoletes afitimyza* and its use in biological control of afits. *Annales Entomol. Fennici*, 48, 89-98, 1979.
- Nienstedt, K.M. and Poehling, H.M., Using the stable isotope ^{15}N as marker for analysis of the predatory efficiency of polyphagous predators against cereal aphids. *Bull. IOBC/WPRS*. 21, 125–131, 1998.
- Nyffeler, M., Prey selection of spiders in the field. *The Journal of Arachnology*. 27, 317-324, 1999.
- Nyffeler, M., Ecological impact of spider predation: a critical assessment of Bristowe's and Turnbull's estimates. *Bull. Br. Arachnol. Soc.* 9, 367-373, 2000.
- Nyffeler, M. and Benz, G., Spiders in natural pest control: a review. *J. Appl. Entomol.* 103, 321-33, 1987.
- Nyffeler, M., Dean, D.A. and Sterling, W.L., Prey selection and predatory importance of orbweaving spiders (Araneae: Araneidae, Uloboridae) in Texas cotton. *Environ. Entomol.* 18, 373–380, 1989.
- Nyffeler, M., Dean, D.A. and Sterling, W.L., Feeding ecology of the orb-weaving spider *Argiope aurantia* (Araneae: Araneidae) in a cotton agroecosystem. *Entomophaga*. 32, 367–375, 1987.
- Nyffeler, M., Benz, G., Feeding ecology and predatory importance of wolf spiders (*Pardosa* spp.) (Araneae, Lycosidae) in winter wheat fields. *J. Appl. Ent.* 06, 123-134, 1988a.
- Nyffeler, M. and Benz, G., Prey and predatory importance of micryphantid spiders in winter wheat fields and hay meadows. *J. Appl. Entomol.* 105, 190–197, 1988b.
- Pearce, A., observations on the microfauna of the Duke forest. *Ecol. Monogr.* 16, 127-150, 1946.
- Pearce, S., Hebron, W.M., Raven, R.J., Zalucki M.P. and Hassan, E., Spider fauna of crops in South-east Queensland and their potential as predators of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Arachnology*. 43, 57-65, 2004.

- Persons, M.H. and Uetz, G.W., Wolf spiders vary patch residence of chemical cues from prey (Araneae: Lycosidae). *J. Arachnol.* 24, 76-79, 1996.
- Putnam, W.L., Prevalence of spiders and their importance as predators in Ontario peach orchards. *Canadian Entomol.* 99, 160–170, 1967.
- Riechert, S.E. and Lawrence, K., Test for predation effects of single versus multiple species of generalist predators: spiders and their insect prey. *Entomol. Exp. Appl.* 84, 147-155, 1997.
- Riechert, S.E. and Lockley, T., Spiders as biological control agents. *Annual Review of Entomology.* 29, 299-320, 1984.
- Riechert, S.E. and Bishop, L., Prey control by an assemblage of generalist predators: spiders in garden test systems. *Ecology.* 71, 1441-1450, 1990.
- Riechert, S. and Harp, J., Nutritional ecology of spiders. In *Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders and Related Invertebrates*, New York, 645-672, 1987.
- Rypstra, A.L., Foraging enhanced by the presence of other predators: prey capture of single and mixed species group of spiders. *Bull. Ecol. Soc. Am.* 78 (4): 31, 1997.
- S. K., Wallace, Molecular gut analysis of carabids (Coleoptera: Carabidae) using aphid primers. M.Sc. Thesis. Montana State University, Bozeman, Montana, 2005.
- Samu, F., Szinetar, C., On the nature of agrobiont spiders. *J. Arachnol.* 30, 389–402, 2002.
- Sheppard, S.K., Bell, J., Sunderland, K.D., Fenlon, J., Skervin, D., Symondson, W.O.C., Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators. *Molecular Ecology.* 14, 4461-4468, 2005.
- Sigsgaard, L., Early season natural biological control of insect pests in rice by spiders and some factors in the management of the cropping system that may affect this control. *European Arachnology.* 19, 57-64, 2000.

- Stuart, M.K. and Greenstone, M.H., Beyond ELISA: a rapid, sensitive, specific immunodot assay for identification of predator stomach contents. *Ann. Entomol. Soc. America*. 83, 1101– 1107, 1990.
- Sunderland, K.D., Spiders and cereal aphids in Europe, International Organization For Biological Control. West Palearctic Regional Section Bulletin 1985 /X/1: 82-102, 1987.
- Sunderland, K.D., Crook, N., Stacey, D.L., Fuller, B.J., A study of feeding by polyphagous predators on cereal aphids using ELISA and gut dissection, *J. Appl. Ecol.* 24, 907-933, 1987.
- Sunderland, K.D., Quantitative methods for detecting invertebrate predation occurring in the field, *Annals of Applied Biology*. 112, 201-224, 1988.
- Sunderland, K.D., Progress in quantifying predation using antibody techniques. *The Ecology of Agricultural Pests: Biochemical Approaches* (eds W.O. C Symonds and J. E. Liddell), pp. 419-455. The Systematics Association Special Volume Series, No. 53. Chapman and Hall, London, UK. 1996.
- Symondson, W.O.C., Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular Ecology*. 11, 627-641, 2002.
- Symondson, W.O.C. and Hemingway, J., Biochemical and molecular techniques. In: *Methods in Ecological and Agricultural Entomology* (eds Dent DR, Walton MP), pp. 293–350. CAB International, Oxford (UK), 1997.
- T., Danişman, Antalya Havzası Bazı Zararlı Böcek Predatörü Örümceklerin (Arachnida: Araneae) Biyoekolojisi. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2008.
- Titova, E.V. and Yegorova, N.S., Serological evaluation of the trophic connection between spiders and *Eurygaster integriceps* (Heteroptera, Scutelleridae). *Entomological Review*. 57, 197-201, 1978.
- Triltsch, H., Food remains in the guts of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) adults and larvae. *Eur. J. Entomol.* 96, 355–364, 1999.
- Vijayalakshmi, K., Rearing spiders as biological pest control agents. *Appropriate Technology*. 3, 141-149, 1996.

Walrant, A. and Loreau, M., Comparison of iso-enzyme electrophoresis and gut content examination for determining the natural diets of the groundbeetle species *Abax ater* (Coleoptera: Carabidae). *Entomolgia Generalis*. 19, 253–259, 1995.

Wisniewska, J. and Prokopy, R.J., Do spiders (Araneae) feed on rose leafhopper (*Edwardsiana rosae*; Auchenorrhyncha: Cicadellidae) pests of apple trees?. *Eur. J. Entomol.* 94, 243-251, 1997.

EK 1: SDS-PAGE'nin Yapılması İçin Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

% 10 SDS

SDS	2 g
dH ₂ O	20 ml

20ml dH₂O'da SDS çözülmüş ve oda ısında muhafaza edilmiştir.

Akrilamid+Bisakrilamid Solüsyonu (% 30.8 T, % 2.7 C_{bis})

Akrilamid	14,6 g
Bisakrilamid	0,4 g

Akrilamid ve bisakrilamid 50 ml dH₂O'da çözülmüş,koyu renkli şişede +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Örnek Yükleme Tamponu

0,125 M Tris-HCL pH: 6.8	5,12 ml
% 10 Sodyum dedosil sülfat (SDS)	4,0 ml
Gliserol	5,0 ml
Bromofenol blue (%59)	2,0 mg
2-Merkaptaetanol	1,0 ml

dH₂O ile 20 ml'ye tamamlanır.

Tank Tamponu (Running Buffer)

Tris	1,65 g
Glisin	8 g
SDS	1,4 g
dH ₂ O	1100 ml

pH: 8,3'e ayarlanıp, oda ısında muhafaza edilmiştir.

% 10 Amonyum Persülfat

Amonyum persülfat	0,1 g
dH ₂ O	1 ml

Amonyum Persülfat çözeltisi kullanılacağı zaman taze olarak hazırlanmıştır.

TEMED

Tetra Metil Etilen Diamin +4 °C'de saklanmıştır.

Ayırma Jel Tamponu (Resolving Gel Buffer)(1M Tris-HCL pH:8,8)

Tris	6,05 g
------	--------

Tris 25 ml dH₂O'da çözülmüştür. Çözeltiye pH 8,8 olana kadar HCl ilâve edilmiş ve tüm çözelti hacmi dH₂O ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tampon +4 °C'de saklanmıştır.

Yığıma Jel Tamponu (Stacking Gel Buffer) (0,125 M Tris-HCL pH: 6,8)

Tris 0,757 g

Tris 25 ml dH₂O'da çözülmüştür. Çözeltiye pH 6,8 olana kadar HCl ilâve edilmiş ve tüm çözelti hacmi dH₂O ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tampon +4 °C'de saklanmıştır.

Jel Solüsyonları

Yığıma Jeli (Stacking Gel)

%40 Akrilamid+Bisakrilamid	2,2 ml
Yığıma Jeli Tamponu	2,50 ml
% 10 SDS	0,2 ml
dH ₂ O	14,2 ml
% 10 Amonyum persülfat	125 µl
TEMED	40 µl

Ayırma Jeli (Resolving Gel)

%40 Akrilamid+Bisakrilamid	7,25 ml
Ayırma Jeli Tamponu	5,25 ml
% 10 SDS	0,25 ml
dH ₂ O	9,5 ml
% 10 Amonyum persülfat	125 µl
TEMED	50 µl

Her iki jelde de TEMED'ler jel dökülmeden hemen önce eklenmiştir.

Boyama Solüsyonları

Coomasie Brilliant Blue R-250	1 g
Etanol	182 ml
Glacial Asetik Asit	36 ml
dH ₂ O	182 ml

Sonlandırma Solüsyonu (Destaining)

Etanol	182 ml
Glacial Asetik Asit	36 ml
dH ₂ O	182 ml

Ek 2: DNA İzolatlarının Küçük Hacimli Spektrofotometredeki Ölçümleri

SAMPLE		260 Abs	260/280	Ng/ml
Biber Afiti ile Beslenmiş Örümcek (I.Grup)	4 saat	2,04	1,91	101,92
	8 saat	1,38	1,97	68,85
	12 saat	0,10	1,28	4,78
	16 saat	0,61	1,85	30,32
Biber Afiti ile Beslenmiş Örümcek (II.Grup)	4 saat	0,35	1,56	17,67
	8 saat	1,82	1,40	91,21
	12 saat	0,21	1,66	10,48
	16 saat	0,16	1,74	8,07
Şeftali Afiti ile Beslenmiş Örümcek (I.Grup)	4 saat	1,52	2,01	75,86
	8 saat	1,82	2,06	80,72
	12 saat	2,05	2,05	102,66
	16 saat	2,20	1,97	110,22
Şeftali Afiti ile Beslenmiş Örümcek (II.Grup)	4 saat	0,45	1,74	22,73
	8 saat	0,66	1,82	33,16
	12 saat	0,30	1,55	14,82
	16 saat	0,31	1,57	15,52
Kayısı Afiti ile Beslenmiş Örümcek (I.Grup)	4 saat	1,98	2,03	98,83
	8 saat	3,07	2,04	153,58
	12 saat	3,21	1,93	160,55
	16 saat	2,84	2,10	141,90
Kayısı Afiti ile Beslenmiş Örümcek (II.Grup)	4 saat	0,29	1,59	14,57
	8 saat	0,62	1,88	31,25
	12 saat	0,28	1,46	14,11
	16 saat	1,06	1,78	53,07

Ek 3: Agaroz Jel Elektroforez Çözeltileri ve Hazırlanışı

%1,5'luk Agaroz Jel

Agar	0,3 g
1x TBE	20 ml
Etidyumbromür (EtBr)	2 µl

Agarı ve 1xTBE eklenerek ısıtıcıda kaynatıldı. Hafif sıcaklığı düşünce EtBr eklendi.

Örnek Yükleme Tamponu

Bromofenol Blue	25 mg
150mM Tris-HCl pH: 7,6	3,3 ml
Gliserol	6 ml
dH ₂ O	0,7 ml

Yürütme Tamponu (10X TBE) pH: 8,0

Tris	12,110 g
Borik Asit	6,183 g
EDTA	0,584 g
dH ₂ O	100 ml

150mM Tris-HCL pH: 7,6

Tris	0,1815 g
dH ₂ O	100 ml

Ek 4: *Pardosa proxima*'nın Günlük Olarak Tükettiği Afit Miktarları (A. *Aulacorthum solani*, B. *Brevicoryne brassicae*, C. *Hyalopterus amygdali*, D. *Hyalopterus pruni*, E. *Myzaphis rosarum*)

A. Gün sayısı	Tarih	Gün boyunca tüketilen afit miktarı
1.	26/09/2008	3
2.	27/09/2008	2
3.	28/09/2008	5
4.	29/09/2008	4
5.	30/09/2008	6
6.	01/10/2008	3
7.	02/10/2008	4

B. Gün sayısı	Tarih	Gün boyunca tüketilen afit miktarı
1.	27/10/2008	5
2.	28/10/2008	3
3.	29/10/2008	4
4.	30/10/2008	7
5.	31/10/2008	3
6.	01/11/2008	2
7.	02/11/2008	4

C. Gün sayısı	Tarih	Gün boyunca tüketilen afit miktarı
1.	15/06/2009	2
2.	16/06/2009	3
3.	17/06/2010	3
4.	18/06/2009	4
5.	19/06/2009	2
6.	20/06/2009	3
7.	21/06/2009	4

D. Gün sayısı	Tarih	Gün boyunca tüketilen afit miktarı
1.	27/06/2009	5
2.	28/06/2009	2
3.	29/06/2009	4
4.	30/06/2009	3
5.	01/07/2009	3
6.	02/07/2009	2
7.	03/07/2009	3

E. Gün sayısı	Tarih	Gün boyunca tüketilen afit miktarı
1.	24/05/2009	3
2.	25/05/2009	3
3.	26/05/2009	2
4.	27/05/2009	5
5.	28/05/2009	3
6.	29/05/2009	4
7.	30/05/2009	4