

***Agelescape levyi* Guseinov, Marusik & Koponen, 2005, (Araneae: Agelenidae) Türünün
Sitogenetik Özelliklerinin Araştırılması[&]**

Şeyma CİVAN^{1*}, Zübeyde KUMBIÇAK², Ümit KUMBIÇAK²

¹Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Nevşehir

²Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir

*Sorumlu yazar: civanseyma34@gmail.com

Geliş Tarihi: 30.03.2020 Düzeltme Geliş Tarihi: 21.01.2021 Kabul Tarihi: 06.04.2021

Öz

Bu çalışmada, Agelenidae familyasına ait *Agelescape levyi* Guseinov, Marusik & Koponen, 2005 türünün karyolojik analizi ilk defa araştırılmıştır. Türe ait diploid kromozom sayısı ve eşey kromozom sistemi tespit edilmiş, kromozom morfolojisi ile birlikte kromozomların mayoz bölünme sırasındaki davranışları incelenmiştir. Kromozom preparatları yayma metodunda bazı değişiklikler yapılarak hazırlanmış ve türe ait karyotip Adobe Photoshop CS3 programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda kromozom morfolojisinin telosentrik tipte olduğu ve kromozomların relatif uzunluklarının kademeli olarak azalış gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca diploid kromozom sayısı ve eşey kromozomu sisteminin $2n \text{♂} = 42, X_1X_2O$ şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Agelenidae, *Agelescape*, kromozom, mayoz

**Investigation of The Cytogenetic Properties of *Agelescape levyi* Guseinov, Marusik &
Koponen, 2005, (Araneae: Agelenidae)**

Abstract

In this study, the karyological analysis of *Agelescape levyi* Guseinov, Marusik & Koponen, 2005 belonging to Agelenidae family was investigated for the first time. Diploid chromosome number and sex chromosome system of the species were determined, and the behavior of chromosomes during meiosis was investigated along with chromosome morphology. Chromosome preparations were made according to the protocol of spreading method and the karyotype of the species was made using Adobe Photoshop CS3 program. As a result of the study, it was determined that the chromosome morphology was of telocentric type and the relative lengths of the chromosomes gradually decreased, the number of diploid chromosomes and the sex chromosome system was $2n \text{♂} = 42, X_1X_2O$.

Key words: Agelenidae, *Agelescape*, chromosome, meiosis

Giriş

Arthropoda şubesinin Arachnida sınıfı içerisinde yer alan örümcekler dâhil oldukları bu sınıfın en büyük takımını oluşturmaktadır (Sebastian ve ark., 2009). Diğer tüm organizma grupları arasında toplam tür çeşitliliğinde yedinci sırada yer alan örümceklerin tanımı yapılmış 4210 cins ve 49267 türü bulunmaktadır (World Spider Catalog, 2021). Bu sayılar muhtemelen gerçek sayıların sadece küçük bir bölümünü

göstermektedir. Özellikle tropik bölgelerde birçok örümcek türünün keşfedilmesiyle tanımı yapılan tür sayısı giderek artmaktadır. Birçok araştırmacı dünya üzerinde 170.000 kadar örümcek türünün var olabileceğini düşünmektedir (Sebastian ve ark., 2009).

Örümcekler takımı, Mesothelae ve Opisthothelae olmak üzere 2 grupta incelenmektedir. Mesothelae üyeleri plesiomorfik segmentli abdomene sahip, örümcekler içinde soyu

tükenmekte olan bir gruptur. Opisthothelae üyeleri ise Mygalomorphae ve Araneomorphae olarak ikiye ayrılmaktadır (Garrison et al., 2016). Mygalomorphae örümcekler 20 yıl ya da daha fazla yaşayabilen örümcekler iken Araneomorphae üyelerinin çoğu bir yıldan az yaşayan, kısa ömürlü örümceklerdir. Dünyada en çok karşılaşılan Araneomorphae örümcekler keliser, palp, örü memeleri gibi karakterlerine ve üreme sistemlerinin farklılıklarına göre Haplogynae ve Entelegynae olarak ayrılmaktadır (Bradley, 2012).

Örümcekler çeşitli davranışları ve av isteklerine göre kendilerine uygun, hemen hemen her habitatta bulunabilmekte, dağlardan, sahil kıyılarına, vadilerden çöllere kadar her yerde yaşayabilmektedir. Örümceklerin çoğu böcekler ve diğer eklembacaklılarla bazen de daha büyük türleri kurbağa, kertenkele ve kemirgenlerle beslenmektedir (Lachlan ve ark., 2002). İnsanlarla da yakın ilişki içerisinde yaşamaya adapte olan bu canlılar, çok sayıda böcek ve eklembacaklının predatörü oldukları için tarla ve bahçelerde zirai anlamda yararlı oldukları düşünülmektedir.

Günümüze kadar çeşitli çalışmalara konu olan örümcekler, sistematik, morfolojik ve ekolojik çalışma alanlarının dışında sitogenetik çalışmalarda da yerini almıştır. Günümüze kadar 79 familyaya ait 796 tür sitogenetik olarak çalışılmış ve karyolojik

özellikleri belirlenmiştir. Agelenidae familyasının ise 7 cinse ait 16 türünün karyolojisi belirlenmiştir. Buna göre erkek örümceklerde diploid kromozom sayısının $2n_{\text{♂}}=18$ (*Eratigena atrica* (C.L. Koch, 1843)) (Carnoy, 1885) ve $2n_{\text{♂}}=52$ (*Agelenopsis naevia* (Walckenaer, 1841)) (Wallace, 1909) arasında değiştiği tespit edilmiştir (Araujo ve ark., 2021).

Bu çalışmada Agelenidae familyasına ait *Agelescape levyi* Guseinov, Marusik & Koponen, 2005, türünün karyolojik özellikleri ilk kez araştırılmıştır. Türün karyotipi hazırlanarak, diploid kromozom sayısı, eşey kromozomu sistemi belirlenmiştir. Ayrıca kromozom morfolojisi ve kromozom davranışları da rapor edilmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan erkek bireyler, doğal yaşam ortamlarında doğrudan toprak üzerinden ya da yaptıkları ağlardan elle, canlı olarak toplanmıştır. Arazi çalışmaları örümceklerin eşeyssel üreme dönemlerinin en aktif olduğu bahar döneminde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1). Laboratuvar ortamına getirilen örnekler diseksiyon yapıncaya kadar haftada iki kez *Drosophila melanogaster* ile beslenerek nemli ortam sağlanmıştır.

Çizelge 1. Türe ait lokalite bilgileri ve toplanma tarihi.

| Tür Adı | Toplam Örnek Sayısı | Lokaliteler | Toplanma Tarihi |
|---|---------------------|--|-----------------|
| <i>Agelescape levyi</i> Guseinov, Marusik & Koponen, 2005 | 4 ♂♂ | Nevşehir, Acıgöl; 38°35'01.01" K ve 34°27'51.29"D | 12.04.2014 |
| | 7 ♂♂ | K.Maraş, Göksun; 38°00'51.39" K ve 36°29'02.89"D | 21.03.2014 |

Türe ait kromozom preparatları, Pekár ve ark. (2001) yayma metoduna göre yapılmıştır. Canlı durumda olan örümcekler, prosoma bölgesinden pens ile sıkılarak öldürülmüş ve stereomikroskop altında fizyolojik tuz çözeltisi içerisinde disekte edilerek gonadları çıkarılmıştır. Gonadlar hipotonik çözeltide 30 dk bekletilerek hücrelerin şişmesi sağlanmıştır. Daha sonra gonadlar Carnoy fiksatifine alınarak 20 ile 30 dk olmak üzere iki kez fikse edilmiştir. Süre sonunda gonadlar lam üzerine alınarak birkaç damla seyreltilmiş asetik asit damlatılmıştır. Dokuların 42°C'lik yüzey ısısına sahip ısıtıcı tabla üzerinde parçalanması ve asetik asit buharlaşınca kadar yayma işlemi uygulanmıştır. Hazırlanan preparatlar faz kontrast mikroskopunda incelenerek, hücre bölünmeleri

açısından kaliteli olan preparatlar seçilmiştir. Preparatlar, fosfat tampon içeren %5'lik (w/w) Giemsa boyası ile 50 dk boyanmıştır. Süre sonunda preparatlar sırasıyla musluk suyu ve distile su ile yıkanarak havada kurumaya bırakılmıştır. Preparatlar özel kutularına konularak buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Preparatların incelenmesi Olympus CX21 mikroskopunda 10X büyütmede gerçekleştirilmiştir. İncelenen preparatlarda hücre bölünmelerine ait metafaz ve mayoz bölünme evrelerinin fotoğrafları BX53 (Olympus) ışık mikroskobu ile 100X büyütmede CellSens (Olympus) programı ile çekilmiştir. Kromozom uzunlukları CellSens (Olympus) programı ile

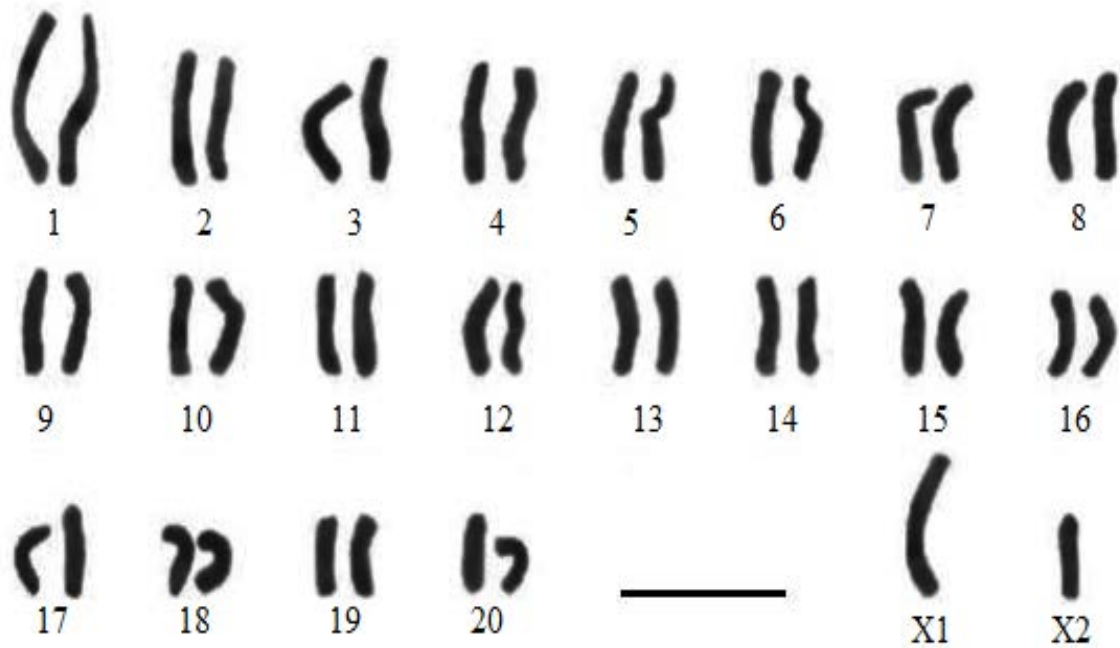
ölçülmüştür. Karyotip ise Adobe Photoshop CS3 programı kullanılarak hazırlanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada Nevşehir ve Kahramanmaraş illeri ve çevresinde yayılış gösteren *Agelescape levyi* Guseinov, Marusik & Koponen, 2005 türünün karyotip ve mayoz bölünme özellikleri ilk kez araştırılmıştır. Tür teşhisi Prof. Dr. Osman Seyyar (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) tarafından yapılmıştır.

Yapılan çalışmada türe ait karyotip formülü $2n\text{♂}=42, X_1X_20$ şeklinde bulunmuştur (Şekil 1).

Tüm kromozomların telosentrik tipte oldukları saptanmıştır. Kromozom uzunluklarının kademeli bir şekilde azalış gösterdiği elde edilmiştir. Otozomal kromozom çiftlerinin relatif uzunlukları $\%11,16 \pm 1,74$ ile $\%5,58 \pm 0,65$ arasında değişirken, X_1 'in relatif uzunluk değeri $\%9,53 \pm 1,50$ ve X_2 'nin relatif uzunluk değeri ise $\%5,45 \pm 0,98$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Otozomal kromozom çiftlerinin relatif uzunluklarının kademeli olarak azalış gösterdiği saptanmıştır. Karyotipte, X_1 kromozomu ikinci otozomal kromozom çiftinden büyük ve X_2 kromozomu en küçük kromozom olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. *Agelescape levyi*'ye ait karyogram ($2n\text{♂}=42, X_1X_20$) (Skala=10 μm).

Mitotik profaz evresinde kromozomların süperspiral yapıda olduğu ve eşey kromozomlarının izopiknotik özellik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 2a). Metafaz evresinde toplam 42 kromozom sayılmıştır. Gonozomlar bu evrede otozomlardan ayırt edilememiştir (Şekil 2b). Mayoz bölünmeye ait profaz I'in diploten ve diyakinez evrelerinde 20 otozomal bivalent ve iki eşey kromozomu saptanmıştır. Bu evrelerde bivalentlerin proksimal, distal, interstitial ve terminal kiyazma oluşturdukları tespit edilmiştir. Diploten (Şekil 2c) ve diyakinez (Şekil 2d) aşamalarında eşey kromozomları pozitif heteropiknotik özellikte olup otozomlardan ayırt edilmiştir.

Profaz II evresinde, kromozomlar süperspiral yapıda olup $n=20$ ve $n=22$ olan iki çekirdek saptanmıştır. Profaz II (Şekil 2e) ve

metafaz II (Şekil 2f) evrelerinde eşey kromozomları izopiknotik özellikte olup otozomlardan ayırt edilememiştir. Mayoz bölünmeye ait evrelerde eşey kromozomları birlikte hareket ederek çekirdek yüzeyinde konumlanmıştır.

Örümcekler sahip oldukları ilginç özellikleriyle günümüze kadar sistematik, ekoloji, biyolojik mücadele gibi çok farklı alanlarda çalışmalara konu olmuştur. Ancak tür çeşitliliğinin zengin olmasına rağmen örümceklerle ilgili sitogenetik çalışmaların sayısı oldukça azdır (Araujo ve ark. 2021).

Örümceklerde sitogenetik çalışmalar, fazla sayıda bölünen hücre sağlamasından dolayı erkek bireyler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bunun yanı sıra mayoz kromozomları ve eşey sisteminin tespitine olanak sağlamaktadır. Erkek örümcek

türlerinin habitat ve besin tercihleri aktif gametogenez dönemlerini etkileyebilmektedir. Genellikle Mart-Mayıs ve Eylül-Ekim aylarında

erkek örümceklerin araziden toplanması ve preparasyon işlemi iyi sonuçlar verebilmektedir.

Çizelge 2. *Agelescape levyi*'ye ait metafaz kromozomlarının mikrometrik ölçüm sonuçları ve kromozom morfolojisi.

| Haploid No | Kısa kol (p) (μm) | Uzun kol (q) (μm) | Kol oranı (q/p) | Oransal boy (%) | Kromozom morfolojisi |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|
| 1 | 0 | 11,16 \pm 1,74 | ∞ | 6,85 | Telosentrik |
| 2 | 0 | 9,47 \pm 0,44 | ∞ | 5,81 | Telosentrik |
| 3 | 0 | 8,84 \pm 0,52 | ∞ | 5,42 | Telosentrik |
| 4 | 0 | 8,41 \pm 0,81 | ∞ | 5,16 | Telosentrik |
| 5 | 0 | 8,09 \pm 0,76 | ∞ | 4,96 | Telosentrik |
| 6 | 0 | 7,90 \pm 0,74 | ∞ | 4,85 | Telosentrik |
| 7 | 0 | 7,72 \pm 0,75 | ∞ | 4,74 | Telosentrik |
| 8 | 0 | 7,52 \pm 0,72 | ∞ | 4,61 | Telosentrik |
| 9 | 0 | 7,30 \pm 0,78 | ∞ | 4,48 | Telosentrik |
| 10 | 0 | 7,21 \pm 0,75 | ∞ | 4,42 | Telosentrik |
| 11 | 0 | 7,07 \pm 0,77 | ∞ | 4,34 | Telosentrik |
| 12 | 0 | 6,97 \pm 0,76 | ∞ | 4,28 | Telosentrik |
| 13 | 0 | 6,80 \pm 0,74 | ∞ | 4,17 | Telosentrik |
| 14 | 0 | 6,70 \pm 0,73 | ∞ | 4,11 | Telosentrik |
| 15 | 0 | 6,56 \pm 0,72 | ∞ | 4,02 | Telosentrik |
| 16 | 0 | 6,41 \pm 0,71 | ∞ | 3,93 | Telosentrik |
| 17 | 0 | 6,29 \pm 0,66 | ∞ | 3,86 | Telosentrik |
| 18 | 0 | 6,05 \pm 0,70 | ∞ | 3,71 | Telosentrik |
| 19 | 0 | 5,93 \pm 0,70 | ∞ | 3,64 | Telosentrik |
| 20 | 0 | 5,58 \pm 0,65 | ∞ | 3,42 | Telosentrik |
| X1 | 0 | 9,53 \pm 1,50 | ∞ | 5,85 | Telosentrik |
| X2 | 0 | 5,45 \pm 0,98 | ∞ | 3,34 | Telosentrik |

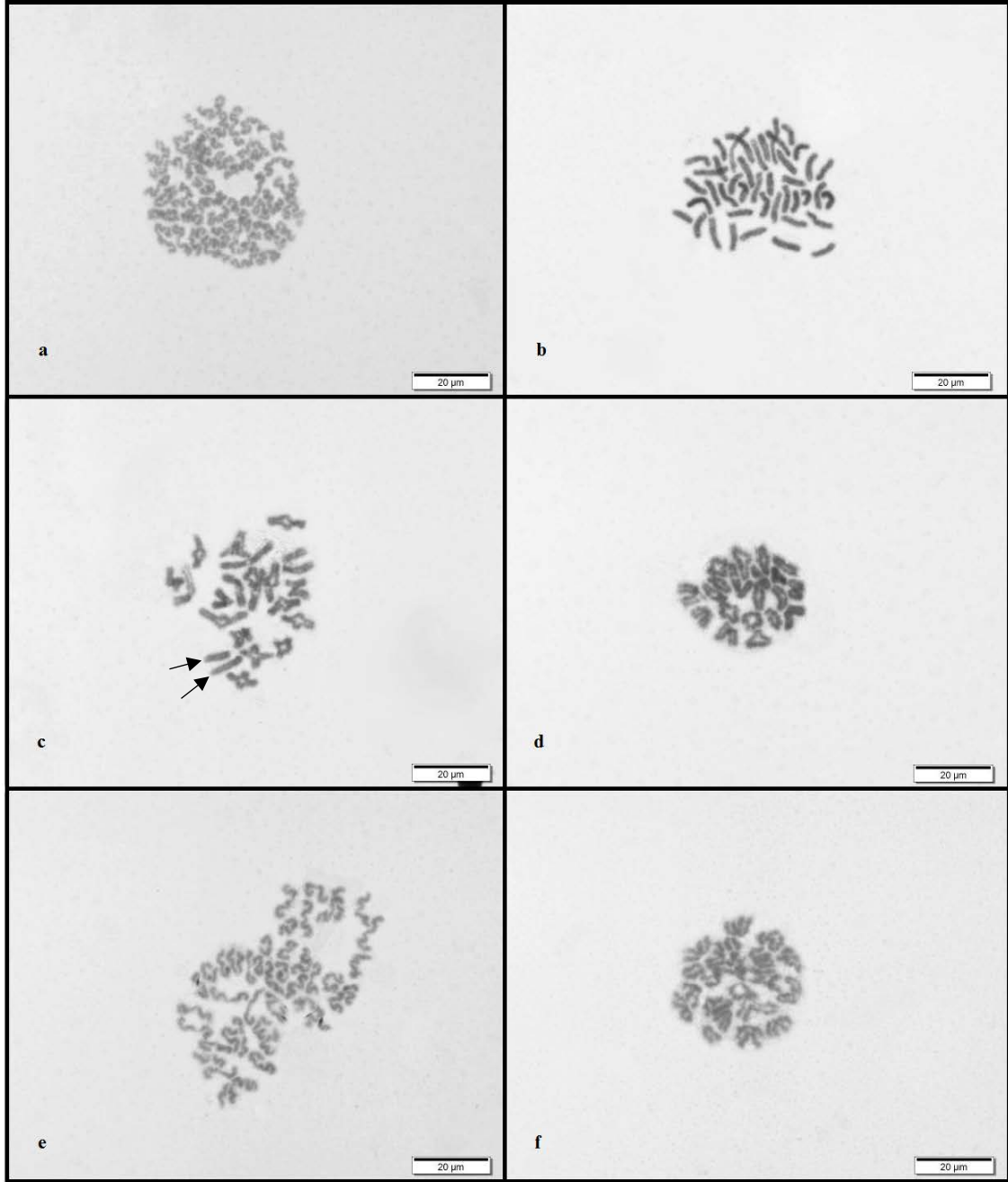
Agelenid örümcekler dünya üzerinde 83 cins ve 1278 tür ile temsil edilen bir örümcek ailesidir (World Spider Catalog, 2021) Bunlardan 13 cins ve 62 tür ise ülkemizde yayılış göstermektedir (Danışman ve ark., 2021). Kendine has birden fazla karakteristik özelliğiyle diğer örümcek ailelerinden ayrılan Agelenidler sitogenetik çalışmalarda da yer almıştır. Sitogenetik olarak 7 cinse ait 16 türün karyolojik verileri saptanmış, kromozom morfolojilerinin genellikle akrosentrik ya da telosentrik tipte olduğu tespit edilmiştir (Araujo ve ark., 2021).

Agelenidae familyası ile yapılan ilk sitogenetik çalışma Carnoy (1885) tarafından

gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Eratigena atrica* (C.L. Koch, 1843)'da diploid kromozom sayısı $2n^{\text{♂}}=18$ olarak belirlenmiş ancak kromozom morfolojileri hakkındaki bilgiler verilmemiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarla da familya üyeleri arasında diploid kromozom sayısının $2n^{\text{♂}}=18$ (*E. atrica* (C.L. Koch, 1843)) (Carnoy, 1885) ile $2n^{\text{♂}}=52$ (*A. naevia* (Walckenaer, 1841)) (Wallace, 1909) arasında olduğu tespit edilmiştir. Ancak tüm veriler değerlendirildiğinde familya içerisinde diploid kromozom sayısının genellikle $2n^{\text{♂}}=42$ ya da $2n^{\text{♂}}=43$ şeklinde olduğu dikkati çekmektedir. Familyanın eşey sistemi ise genellikle erkek bireylerde X_1X_20 ve $X_1X_2X_30$ şeklindedir

(Araujo ve ark. 2021). Bu çalışmada da *Agelescape levyi* türünün diploid kromozom sayısı $2n \text{♂} = 42$ ve eşey kromozom sistemi X_1X_20 olarak elde edildiği için sonuçların familya karakteristikleri ile uyumlu olduğu belirtilmektedir.

Agelenidae familyasına ait sitogenetik olarak çalışılmamış çok sayıda cins ve tür bulunmaktadır. Familya ile ilgili karyolojik çalışmaların artırılması ve elde edilecek verilerle diploid sayı ile eşey kromozomu sisteminin familya içerisinde korunmuş olup olmadığı sonucuna ulaşılması gerektiği önerilmektedir.



Şekil 2. *Agelescape levyi*'ye ait bölünme evreleri a) mitotik profaz, b) metafaz, c) profaz I'in diploten aşaması d) profaz I'in diyakinez aşaması, e) profaz II, f) metafaz II (oklar eşey kromozomlarını işaret etmektedir) (Skala=20 µm).

Teşekkür

Örümceklerin araziden toplanması ve laboratuvar çalışmalarının yürütülmesinde yardımlarından dolayı F. Anıl Sırlıbaş ve Hatice Poyraz'a teşekkür ederim. Çalışma Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Genetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

&: Bu çalışma Şeyma CİVAN'ın "Agelescape levyi Guseinov, Marusik & Koponen, 2005, *Tegenaria hasperi* Chyzer, 1897 ve *Tegenaria argaieica* Nosek, 1905 (Araneae: Agelenidae) Türlerinin Sitogenetik Özelliklerinin Araştırılması" başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

Araujo, D., Schneider, M. C., Neto- Paula, E. ve Cella, D. M., "The Spider Cytogenetic Database", Version: 9.5 (Jan 10, 2021) Erişim tarihi: 04.04.2021 <http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase/index.html>

Bradley, R. A., 'Common Spiders of Ohio', *Ohio Department of Natural Resources Division of Wildlife*, 2012.

Carnoy, J.B. La cytodièrese chez les arthropodes. *La Cellule*, v. 1, p. 191-440, 1885.

Danışman, T., Kunt, K. B. ve Özkütük, R. S., "The Checklist of The Spiders of Turkey. Version 2021", Erişim tarihi: 04.04.2021 <http://www.spidersofturkey.info/index.htm>

Garrison et al. 'Spider Phylogenomics; Untangling The Spider Tree of Life', *Peerj* 4: E1719, Şubat 2016.

Lachlan, D.R., 'Hodgson, W.C., 'Pharmacology and Biochemistry of Spider Venoms', *Toxicon* (40), S. 225-254, 2002.

Pekâr, S., ve Krâl, J., 'A Comparative Study of the Biology and Karyotypes of Two Central European Zodariid Spiders (Araneae, Zodariidae)', *Journal of Arachnology*, 29 (3), 345–353, 2001.

Sebastian, P. A. ve Peter, K. V., 'Spiders of India', Universities Press (India) Privated Limited 2009.

Wallace, L.B. The spermatogenesis of *Agalena naevia*. *Biological Bulletin*, v. 17, p. 120-161, 1909.

World Spider Catalog. (2021). Version 22.0. Natural History Museum Bern. <https://wsc.nmbe.ch/> accessed on {04.04.2021}. doi: 10.24436/