

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI BAMBUL ARI, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae),
POPULASYONLARINDA YENİ NESİL DİZİLEME TABANLI SNP MARKIR
GELİŞTİRME VE POPULASYON YAPISININ BELİRLENMESİ**

Aslı HÜRRİYET
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MAYIS 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI BAMBUL ARI, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae),
POPULASYONLARINDA YENİ NESİL DİZİLEME TABANLI SNP MARKIR
GELİŞTİRME VE POPULASYON YAPISININ BELİRLENMESİ**

Aslı HÜRRİYET
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MAYIS 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BAMBUL ARI, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae),
POPULASYONLARINDA YENİ NESİL DİZİLEME TABANLI SNP MARKIR
GELİŞTİRME VE POPULASYON YAPISININ BELİRLENMESİ**

AŞI HÜRRİYET
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 21/05/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cengiz İKTEN
Prof. Dr. Fedai ERLER
Prof. Dr. Sibel YORULMAZ

ÖZET

FARKLI BAMBUL ARI, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae), POPULASYONLARINDA YENİ NESİL DİZİLEME TABANLI SNP MARKIR GELİŞTİRME VE POPULASYON YAPISININ BELİRLENMESİ

Aslı HÜRRİYET

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Mayıs 2024; 39 sayfa

Bu çalışmada Antalya ilinin Kumluca, Demre, Kaş, Karatepe, Aksu, Serik ve Manavgat ilçelerinden, Burdur'un güneyi ve Isparta ilinde bulunan Karacaören Gölü'nün çevresinden toplanan ticari kovan ve doğal *Bombus terrestris* (L.) bireylerinin popülasyon yapısı ve genetik çeşitliliği incelenmiştir. Popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin ve polimorfizmlerin belirlenmesi için bireylerden kalitesi yüksek DNA elde etmek amacıyla özel modifiye edilmiş CTAB yöntemi ile izole edilen DNA'lar aracılığıyla yeni nesil sekanslama kütüphaneleri hazırlanarak genom dizileri elde edilmiştir. Moleküler çalışmalarımızda, kromozom seviyesinde birleşme ve dolayısıyla SNP'lerin genomdaki konumunun belirlenmesine izin veren yüksek doğruluk saptanmıştır. *Fst* analizleri için ek olarak filtrelenmiş bir veri seti oluşturulmuştur. Tassel programı ile Distance Matrix, PCoA ve numerik genotip değerleri elde edilmiştir. Bu numerik genotip değerleri "Structure" programı ile çalıştırılmış, popülasyonların kendi içerisinde 5 farklı alt popülasyona ayrıldığı saptanmıştır ($\Delta K=5$). Numerik genotip değerleri kullanılarak PAST programı ile ANOVA istatistiksel işlemi gerçekleştirilmiş ve popülasyonun istatistiki değerleri belirlenmiştir. Elde edilen Distance Matrix verileri ile MEGA 11 programında sekans temelli filogenetik ağaç UPGMA metodu ve ilgili parametreler kullanılarak oluşturulmuştur. Structure programından elde edilen verilerle ayrıştırılan alt popülasyonlar, Structure Harvester ve Clumpak web ara yüzleri ile görselleştirilmiş ve standart sapma grafikleri elde edilmiştir. Tassel'de elde edilen PCoA değerleri ile elde edilen veriler R Studio istatistik programında grafikler haline getirilmiştir.

Sonuç olarak, tamamı *Bombus terrestris* (L.) bireylerinden oluşan farklı popülasyonlar elde etmek amacıyla dokuz farklı ticari ve doğal lokasyondan 113 adet birey örneklenmiştir. Yeni nesil sekanslama çalışmaları, ddRAD tekniği ve biyoinformatik analizler sonucu ortaya konulan 31.556 adet SNP verisi tüm kromozomları temsil edecek şekilde 463 adet SNP'e indirgenmiş ve bu SNP lokusları kullanılarak 10.000 burning periyod ve 10.000 MCMC parametreleri aralığında alt popülasyon taramaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda bireylerin 13.43 belirlenen K değeri ile 5 ayrı alt popülasyona ayrıldığı ve bu popülasyonlar arasında düşük-orta seviyede ($p=1.7$) genetik farklılık gözlemlendiği bulunmuştur. Doğadan toplanan türler orta-güçlü oranda farklılık gözlenmiş fakat özellikle ticari koloniler arasında beklenen düzeyde yüksek farklılıklar gözlenmemiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Aphidae, Bambul, NGS, SNP

JÜRİ: Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Fedai ERLER

Prof. Dr. Sibel YORULMAZ



ABSTRACT

DEVELOPMENT OF NEW GENERATION SEQUENCE-BASED SNP MARKERS AND DETERMINATION OF POPULATION STRUCTURE IN DIFFERENT BUMBLEBEE, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae), POPULATIONS

Asli HÜRRİYET

MSc Thesis in Plant Protection

Supervisor: Associate Professor Dr. Cengiz İKTEN

May 2024; 39 pages

This study examines the population structure and genetic diversity of commercial hives collected from the districts of Kumluca, Demre, Kaş, Karatepe, Aksu, Serik, and Manavgat in the Antalya province, as well as natural areas around Karacaören Lake in the southern part of Burdur and in Isparta province, along with natural *Bombus terrestris* (L.) individuals. In the study, high-quality DNA was obtained from individuals using a modified CTAB method specific to the study to isolate DNA, and next-generation sequencing libraries were prepared to obtain genome sequences to determine the inter-population genetic diversity and the presence of polymorphisms. In molecular studies, high accuracy allowing chromosomal-level assembly and thus determination of the genomic location of SNPs has been detected. Additionally, a filtered dataset was created for *Fst* analyses. Distance Matrix, PCoA values, and numerical genotype values were obtained using the TASSEL program. These numerical genotype values were used to conduct ANOVA statistical analysis using the PAST program to determine the statistical values of the population. Sequence-based phylogenetic trees were made in MEGA 11 program using the obtained Distance Matrix data with the UPGMA method and relevant parameters. Data obtained from the Structure program were visualized using Structure Harvester and Clumpak web interfaces, and standard deviation graphs were obtained. PCoA values obtained in TASSEL were converted into graphics in R Studio statistical program.

As a result of the study, a total of 113 individuals were sampled from nine different commercial and natural locations with the aim of obtaining distinct populations consisting entirely of *Bombus terrestris* (L.) individuals. Next-generation sequencing applications, utilizing the ddRAD technique and bioinformatics analyses, reduced the initial dataset of 31,556 SNP markers representing all chromosomes to 463 SNP loci. Subpopulation scanings were conducted using 10,000 burning periods and 10,000 MCMC parameters. Resulting in the identification of five distinct subpopulations among the individuals with a determined K value of 13.43. Genetic differentiation was observed a low to moderate level ($p=1.7$) among these populations. Wild species collected from natural habitats exhibited moderate to strong differentiation, notably high differentiations expected among commercial colonies were not observed.

KEYWORDS: Aphidae, Bombus, NGS, SNP

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Fedai ERLER

Prof. Dr. Sibel YORULMAZ



ÖNSÖZ

Öncelikle bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde; fikir aşamasında yenilikçi fikirleri ile, planlanmasında çok değerli deneyimleri veengin bilgisi ile yanımda olan, kıymetli zamanını ne zaman ihtiyaç duysam benimle paylaşan, her zaman yanına çekinmeden gidebildiğim insanlığı ve duyarlılığı ile danışman hoca statüsünün çok ötesinde yoluma ışık tutan değerli bilim insanı hocam Doç. Dr. Cengiz İkten'e çok derinden bir teşekkürü borç biliyorum.

Çalışkanlığı ile her zaman bizlere örnek olmuş, çok değerli tavsiyeleri ve çalışmalarına temalar, kaynaklar ve yöntemler açısından her zaman zenginleştirici fikirleriyle destek veren, mesai saatlerinin dışında dahi akademiye katkı sağlayan asla yılmadan her şeyin olabileceğine bizi inandıran çok değerli hem öğretmenim hem arkadaşım Arş. Gör. Dr. Hilal Şule Tosun'a özel teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca akademik hayatımın bu döneminde değerli zamanını, desteğini ve yapıcı önerilerini asla esirgemeyen değerli eşim Uzm. Dr. Özkan Bozdağ'a ve aileme kıymetli varlıklarından ötürü teşekkür ederim.

Son olarak sizler olmasaydınız böyle bir çalışmanın var olmayacağını bildiğimi, bu süreçte akademik ve kişisel gelişimimin oldukça zenginleştiğini ve hayatımın bir sonraki adımına daha öz güvenli adım atmam için yoluma ışık tuttuğunuzu bilmenizi isterim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	6
2.1 Bambul Arılarının Moleküler Karakterizasyonu ile İlgili Bilgiler	6
2.2 Yeni Nesil Dizileme Çalışmaları ve Bambul Arılarında Yapılan Çalışmalar	7
2.2.1. DNA keşfinden günümüz araştırma araçlarına dizileme teknolojileri	7
2.2.2. Bambul arılarında yeni nesil dizileme teknolojisi (NGS) ile yapılan çalışmalar	7
3. MATERYAL VE METOT	10
3.1 Materyal	10
3.2 Metot	11
3.2.1 Saha çalışmaları	11
3.2.2. İzolasyon materyali elde etmek için ön çalışmalar	12
3.2.3. Homojenizasyon ve DNA izolasyonu	12
3.2.4. DNA kalitesinin ölçülmesi	15
3.2.5. Yeni nesil dizileme kütüphanesinin oluşturulması	15
3.2.6. Yeni nesil dizileme kütüphanesinde kullanılan ddRAD yöntemi	16
3.2.7. Biyoinformatik analiz sonuçlarının elde edilmesi	18
4. BULGULAR	19
4.1. Biyoinformatik Analiz Bulguları	22
4.1.1. Verilerin analizi ve ANOVA	22
4.1.2. F İstatistiklerinden F_{ST} Değerleri ve Ortalaması	23
4.1.3. Popülasyon genetiği analizi	23
4.1.4. PCoA (Principal Component Analysis) temel bileşenler analizi tamamlayıcı çalışmaların sonuçları	32
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇLAR	38
7. KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “FARKLI BAMBUL ARI, *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Aphidae), POPULASYONLARINDA YENİ NESİL DİZİLEME TABANLI SNP MARKIR GELİŞTİRME VE POPULASYON YAPISININ BELİRLENMESİ” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21/05/2024

Aslı Hürriyet

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde

& : ve

°C : Santigrat derece

µl : Mikrolitre

3' : Üç üssü

+4 : Artı dört

5' : Beş üssü

H : A/C/T nükleotitlerinden herhangi birisi

D : A/G/T nükleotitlerinden herhangi birisi

R : A/G nükleotitlerinden herhangi birisi

W : A/T nükleotitlerinden herhangi birisi

Y : C/T nükleotitlerinden herhangi birisi

Kisaltmalar

bç : Baz çifti

COI : Sitokrom oksidaz I

CTAB : Cetyltrimethyl-ammonium bromide

DNA : Deoksiribo nükleik asit

dNTP : Deoxynucleotide

EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit

EtBr : Ethidium bromide

F : Forward

g : Gram

L : Litre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Bombus terrestris</i> 'in Türkiye'deki Dağılımı	4
Şekil 3.1. a) Entomoloji 2 laboratuvar genel görünüm	
b-c) Moleküler çalışmalarda kullanılan PCR cihazı	11
Şekil 3.2. Yeni nesil dizileme kütüphanesinde kullanılan DNA örneklerinin jel elektroforezdeki görüntüsü	15
Şekil 4.1. 31.556 SNP'nin <i>Bombus terrestris</i> genomundaki 18 kromozomu üzerindeki dağılışı	19
Şekil 4.2. 31.556 adet seçilen SNP'lerin kromozomlar üzerinde doğrusal ve homojen dağılım grafiği	20
Şekil 4.3. Normalize edilen 463 SNP'nin <i>Bombus terrestris</i> genomundaki 18 kromozomu üzerindeki dağılışı	21
Şekil 4.4. Normalize edilen 463 adet SNP'nin kromozomlar üzerinde doğrusal ve homojen dağılım grafiği	21
Şekil 4.5. Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen ΔK Delta değerine ait olasılık grafiği	24
Şekil 4.6. Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen 5 alt popülasyon olarak elde edilen genetik yapı analizi ve değerleri karşılaştırmalı gen alışverişi dağılımı	25
Şekil 4.7. Sadece doğadan toplanan bireylerden elde edilen verilerin Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen (ΔK) delta K değerine ait olasılık grafiği	30
Şekil 4.8. Sadece ticari kovanlardan alınan bireylerden elde edilen verilerin Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen (ΔK) delta K değerine ait olasılık grafiği	30
Şekil 4.9. Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen verilen standart sapma grafiği	31
Şekil 4.10. Tüm bireylerin lokasyonlara göre karşılaştırmalı PCoA grafiği	32
Şekil 4.11. Ticari firmaların ve doğa popülasyonlarının karşılaştırıldığı PCoA grafiği	33
Şekil 4.12. Kaş Lokasyonundan Doğadan toplanan örneklerin kendi içerisinde gruplandırılması sonucu elde edilen PCoA grafiği görseli	34
Şekil 4.13. Antalya'nın Batı kıyı bölgelerinden (Demre, Kaş, Kumluca) toplanan bazı örneklerin filogenetik ağaç şeması üzerinde gösterimi	34
Şekil 4.14. MEGA11 Programı ile çizilen tüm alt popülasyonların içerisinde bulunduğu <i>Bombus terrestris</i> örneklerini temsil eden filogenetik ağaç görseli	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>Bombus terrestris</i> taksonomik sınıflandırması	2
Çizelge 1.2. Türkiye’de tespit edilen Bambul arısı türleri	2
Çizelge 3.1. Lokasyonlara göre doğa ve ticari firma kovanlarından toplanan örneklerin dağılımı	10
Çizelge 3.2. DNA izolasyonunda kullanılan CTAB solüsyonunun içeriği ve oranları ..	13
Çizelge 3.3. Restriksiyon enzimleri ile kesim aşamasında kullanılmış olan MasterMix karışımının içeriği ve inkübasyon süresi	16
Çizelge 3.4. Ligasyon aşamasında kullanılmış olan MasterMix karışımının içeriği ve inkübasyon süresi	16
Çizelge 3.5. ddRAD protokolünde kullanılan Adaptör P1 ve Adaptör P2 dizilimleri ...	17
Çizelge 3.6. PCR adımında kullanılan MasterMix Karışımı	17
Çizelge 4.1. 31.556 adet seçilen SNP’nin tüm genomu temsil yüzde oranları.	20
Çizelge 4.2. PAST programına göre genetik veri setinin ANOVA analiz sonuçları	22
Çizelge 4.3. Alt popülasyonlara ait F_{ST} değerleri	23
Çizelge 4.4. “Structure” programından elde edilen K değeri tahminine yönelik veriler	24
Çizelge 4.5. Tüm bireylerin ait oldukları alt popülasyonlara göre üyelik değerleri dağılımı	25
Çizelge 4.6. 3 alt popülasyona ayrılan ticari firmalardan toplanan bireylerin alt popülasyonlara ait üyelik değerleri	31

1. GİRİŞ

Bambul arılarının, *Bombus terrestris* (Linnaeus 1758), doğada kültür tarımı yapılan veya doğal olarak yetişen bitkilerin tozlaşmasındaki rolü uzun zamandır bilinmektedir. Ülkemizde bulunan Bambul arısı, Hymenoptera takımının Apidae familyasına aittir. Son yıllarda bu arıların seracılıkta tozlayıcı olarak kullanılmasına ve bu amaçla endüstriyel olarak üretiminin yapılmasına ilgi artmaktadır. Bu konuyla ilgili en detaylı araştırmalar Hollanda başta olmak üzere Kuzey Avrupa ülkelerinde gerek üniversitelerde gerekse ticari firmaların araştırma ve geliştirme departmanlarında sürdürülmektedir.

Örtü altı seralarda üretimi yapılan ve her mevsim tüketilen kültür bitkileri tarımında tozlaşma sağlanması amaçlı ticari olarak satın alınan bambul arısı kolonilerinin kullanımı, vibrasyon ile tozlama ve eski geleneksel usulde el ile tozlamaya alternatif olarak hızla popülerlik kazanmaktadır. Tozlamamanın başka bir alternatifi olan hormon kullanımı ise giderek azalmaktadır. Günümüzde hormon kullanımının azalması ve katkı kalıntı değerleri düşük üretimin daha çok tercih edilmesi de bambul arılarına olan ihtiyacı arttıran parametrelerden biridir.

Evrin alanında çalışmaları ile ünlü bilim insanı Darwin, Bambul arılarının orkidelerin tozlaşması üzerindeki etkisini ilk kez bilimsel olarak araştırmış ve bu konuda çeşitli çalışmalar yaparak bambul arılarının tozlaşmadaki önemini vurgulamıştır (Darwin 1886). İlerleyen yıllarda bu konuya ilgi artmış ve bambul arılarının birçok yem bitkisinin doğal tozlayıcıları olduğu anlaşılmıştır. Doğadaki yem bitkilerinin tozlaşması da hayvancılığın sürdürülmesi açısından önemlidir ve bambul arılarının gelecekteki olası gıda krizleri için hayati öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

Hymenoptera takımının Apidae familyasında bulunan *Bombus terrestris*, bal arısı olarak tanıdığımız *Apis mellifera* (Linnaeus 1758) ile aynı gruptan gelmektedir. *Apis mellifera*, uçuş mesafelerinin kısa olması, bal yapma eğilimleri, koloni yapılarının bambullara göre sosyal olarak çok farklı olması gibi daha birçok sebepten tozlayıcı olarak kullanılmamaktadır. Günümüzde tarımsal üretimin arttırılması için ne yazık ki kimyasal uygulamalar yaygın olarak yapılmaktadır. Bu kimyasal uygulamaların, doğadaki her canlı gibi bambul popülasyonları üzerinde de ciddi negatif etkileri bulunmaktadır.

1988'den 1989'a kadar Avrupa'daki gelişmeyle birlikte ülkemizde de bambul arılarının tozlamaya olan etkisi önemi anlaşılmaya başlanmıştı. Ülkemizde tarım ve arıcılıktaki gelişmelere rağmen, arı türlerinin bitkisel üretimin kilit noktalarından biri olan tozlaşmadaki işlevi tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle farklı arı türlerinin tozlaştırıcı olarak etkin kullanımı tarım teknolojimize entegre edilememiştir. Ülkemizde tespit edilmiş bambul arısı türleri Çizelge 1.2. de verilmiştir. Ancak Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Japonya ve Avrupa ülkelerinde bal arılarının yanı sıra bireysel veya sosyal yaşamı olan çeşitli arı türleri de uzun yıllardır bitkisel üretim alanında tozlaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda son yıllarda özellikle sera koşullarındaki bitkisel üretimde tozlaştırıcı olarak kullanılabilmesi amacıyla arı türlerinin laboratuvar koşullarında yetiştirilmesi mümkün hale gelmiştir (Öztürk 1996).

Bambul arılarının çoğu ılıman iklimlerde yaşar, ancak yalnızca birkaçı tropik bölgelerde yaşar. Bambul türünün taksonomik sınıflandırmadaki konumu Çizelge 1.1 'de gösterilmektedir.

Çizelge 1.1. *Bombus terrestris* taksonomik sınıflandırması

Âlem:	Hayvanlar
Şube:	Eklembacaklılar
Sınıf:	Böcekler
Takım:	Hymenoptera
Familya:	Apidae
Oymak:	Bombini
Cins:	Bombus
Tür:	<i>Bombus terrestris</i> L.

Bambul arıları, dünya çapında gıda üretimi ve doğal ekosistemlerdeki tarım için önemli tozlayıcılardan oluşan çok çeşitli bir gruptur. Bu tozlayıcıların sosyal evrimi, davranışı ve ekolojisini keşfetmek önemlidir çünkü hem sosyal hem de yalnız yaşam döngüsü aşamalarına sahiptirler. Son zamanlarda ne yazık ki türlerin azaldığına dair çok sayıda rapor mevcuttur.

Patojen yayılımı, habitat kaybı, pestisit kullanımı ve küresel sıcaklık değişimi bu türü tehdit eden tehlikelerin başını çekmektedir. Ülkemizde tespit edilen bambul arısı türleri Çizelge 1.2’de gösterilmektedir ve türlerin ve popülasyonların yapısını ele alan çalışmalar ne yazık ki yeterince fazla sayıda değildir. Belirtilen tehditler yüzünden yok olma tehlikesine girmiş türler hakkında güvenli veri üreten moleküler karakterizasyon araçları ile araştırmalar yapılmalıdır. Bizim çalışmamızda da yeni nesil dizileme tekniklerinden (NGS) faydalanarak genetik çeşitlilik hakkında bilgi sahibi olmak ve güncel sorunlara çözüm bulabilmek için veri oluşturmak amaçlanmıştır.

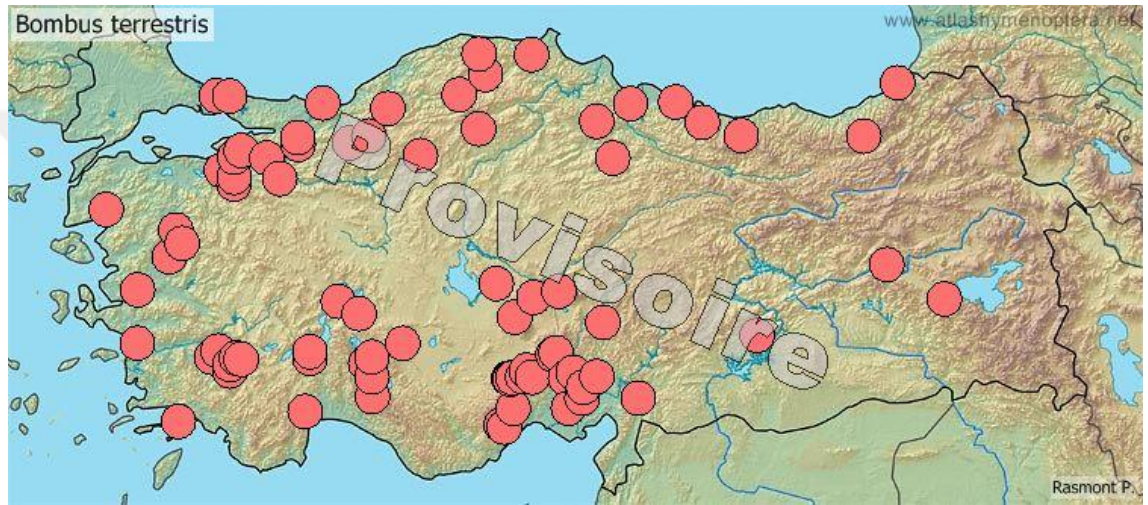
Çizelge 1.2. Türkiye’de tespit edilen Bambul arısı türleri

Tür	Referanslar
<i>Bombus (Alpigenobombus) wurflenii</i> Radoszkowski 1859	Özbek 1997
<i>Bombus (Bombus) cryptarum</i> (Fabricius, 1775)	Özbek 1997
<i>Bombus (Bombus) lucorum</i> (L., 1761)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Bombus) terrestris</i> (L., 1758)	Özbek 1997
<i>Bombus (Cullumanobombus) apollineus</i> Skorikov, 1910	Özbek 1983
<i>Bombus (Cullumanobombus) serratissima</i> Morawitz, 1888	Özbek 1998
<i>Bombus (Kallobombus) soroeensis</i> (Fabricius, 1777)	Özbek 1988
<i>Bombus (Megabombus) argillaceus</i> (Scopoli, 1805)	Özbek 1983
<i>Bombus (Megabombus) hortorum</i> (L., 1761)	Aytekin ve Çağatay 2003

<i>Bombus (Megabombus) portschinsky</i> Radoszkowski, 1883	Özbek 1983
<i>Bombus (Melanobombus) alagesianus</i> Reinig, 1930	Özbek 1998
<i>Bombus (Melanobombus) erzurumensis</i> Özbek, 1990	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Melanobombus) incertus</i> Morawitz, 1881	Reinig 1971
<i>Bombus (Melanobombus) lapidarius</i> (L., 1761)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Melanobombus) sichelii</i> Radoszkowski, 1859	Özbek 1990b
<i>Bombus (Mendacibombus) handlirschianus</i> Vogt, 1909	Reinig 1971
<i>Bombus (Mendacibombus) shaposhnikovii</i> Skorikov, 1910	Özbek, 1997
<i>Bombus (Psithyrus) barbutellus</i> (Kirby, 1802)	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) bohemicus</i> Seidl, 1837	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) campestris</i> (Panzer, 1801)	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) maxillosus</i> Klug, 1817	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Psithyrus) quadricolor</i> (Lepeletier, 1832)	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) rupestris</i> (Fabricius, 1793)	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) sylvestris</i> (Lepeletier, 1832)	Löken, 1984
<i>Bombus (Psithyrus) vestalis</i> (Fourcroy, 1785)	Löken 1984
<i>Bombus (Pyrobombus) brodmannicus</i> Vogt, 1909	Özbek 1998
<i>Bombus (Pyrobombus) haematurus</i> Kriechbaumer, 1870	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Pyrobombus) pratorum</i> (L., 1761)	Özbek 1998
<i>Bombus (Sibiricobombus) niveatus</i> Kriechbaumer, 1870	Rasmont vd. 2005
<i>Bombus (Sibiricobombus) sulfureus</i> Friese, 1905	Reinig 1971
<i>Bombus (Subterraneobombus) fragrans</i> (Pallas, 1771)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Subterraneobombus) melanurus</i> Lepeletier 1836	Özbek 1983
<i>Bombus (Subterraneobombus) subterraneus</i> (L., 1758)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) armeniacus</i> Radoszkowski, 1877	Özbek 1983
<i>Bombus (Thoracobombus) brodmanni</i> Vogt, 1911	Tkalcu 1994
<i>Bombus (Thoracobombus) humilis</i> Illiger, 1806	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) laesus</i> Morawitz, 1875	Özbek 1983
<i>Bombus (Thoracobombus) mesomelas</i> Gerstaecker, 1869	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) mlokosievitzii</i> Radoszkowski, 1877	Reinig 1971
<i>Bombus (Thoracobombus) muscorum</i> (L., 1758)	Özbek 2000
<i>Bombus (Thoracobombus) pascuorum</i> (Scopoli, 1763)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) persicus</i> Radoszkowski, 1881	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) pomorum</i> (Panzer, 1805)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) ruderarius</i> (Muller, 1776)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) sylvorum</i> (L., 1761)	Reinig 1971
<i>Bombus (Thoracobombus) velox</i> (Skorikov, 1914)	Rasmont ve Flagothier 1996
<i>Bombus (Thoracobombus) zonatus</i> Smith, 1854	Özbek 2000

Bambul arıları Kuzey Kutbu'ndan Güney Amerika' ya kadar geniş bir coğrafyada yaşayabilmektedir. Dünya üzerinde 240 bambul türü tanımlanmıştır

(Williams 1998; Benton 2000; Cameron 2007). Türkiye’de ise 50’ye yakın tür bulunmaktadır. Türkiye’nin ticari üretim yapan firmalar dahil dünya üzerinde yayılım gösteren bambul kolonileri içerisinde çok önemli bir gen kaynağı merkezi olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda, 2009 yılında, dağılım çalışmaları kapsamlı online bir atlas haline getirilmiştir. NATO SfS Programı TU-POLLINATION Projesi çerçevesinde Çukurova Üniversitesi (Adana, Türkiye) ve Mons-Hainaut Üniversitesi (Belçika) arasında 1994 de yapılan bir protokol ile başlamıştır. Daha sonraki yıllarda TÜBİTAK (Türkiye), FRFC (Belçika) ve Hacettepe Üniversitesi (Ankara, Türkiye) destekleri ile iş birliği devam ettirilmiştir. Sürekli güncellenen ve haritalar ile lokasyonların işaretlendiği bir atlas haline getirilmiştir.



Şekil 1.1. *Bombus terrestris*’in Türkiye’deki Dağılımı

B. terrestris Avrupa’nın büyük bir kısmında yaygındır ve 1987’den bu yana başarıyla domestik hale getirilmiştir. Bu nedenle birçok yayında ele alınmış bu çalışmalar ile ilgili Rasmont ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir derleme mevcuttur (Rasmont vd. 2008). *B. terrestris* Batı Avrupa’da birçok alt türe ayrılırken; dağılımının doğu kısmında çok daha az polimorfiktir. Balkanlar, Küçük Asya, Urallar ve Orta Asya dağlarındaki popülasyonlar arasında gözle görülür bir fark yoktur: hepsi *Bombus dalmatinus* alt türüne aittir (Aytekin vd. 2003; Rasmont vd. 2008). *Bombus terrestris* aynı alt cinsin diğer türleriyle kolayca karıştırılabilir. Ancak kraliçeler oldukça kolay tanınırlar: kürkleri *B. lucorum*, *B. cryptarum*’a göre daha kısadır ve sarı çizgileri daha koyudur.

Tüm Akdeniz’de olduğu gibi Türkiye’de de kışın yaşayabilen tek yaban arısı *B. terrestris*’tir. Güney Fransa’da 2 veya 3 kuşak gösterirken (Rasmont vd. 2008), Antalya’da sadece bir kuşak bulunmaktadır (Güler vd. 2008). Ancak Akçakoca civarında (Bolu bölgesi) yeni kurucu kraliçelerin ve bir önceki neslin işçilerinin şubat ayı sonlarında birlikte yiyecek aramaya başladıkları tespit edilmiş ve bu nedenle Karadeniz kıyılarında 2 nesil olabileceği düşünülmüştür. Anadolu’da, *B. terrestris*’in 0 ila 2200 m arasında yaşadığı ve %80’inin 2 ila 1510 m arasında bulunduğu tespit edilmiştir (Rasmont ve Flagothier 1996). Toros dağlarının ise 500 m’nin altındaki tüm

bambul arısı örneklerinin %75'ine ev sahipliği yaptığı düşünülmektedir (Kaftanoğlu 2000).

Bombus terrestris, yüzlerce farklı çiçek türünden polen toplayan oldukça polilektik bir yaban arısıdır (Özbek 1997). Özbek çalışmalarında aralarında *Vitex agnus-castus* L.'nin olduğu tüm Ege bölgesinde 62 favori bitki taksonundan bahsetmektedir. Anadolu'da başta *Symphytum asperum* Lepechin , *Anchusa officinalis* L. ve *Echinops orientalis* Trautv olmak üzere 29 bitki türünün ziyaret edildiği gözlemlenmiştir. Kış jenerasyonu için ana tercihi çeşitli Akdeniz ülkelerinde açıkça *Arbutus unedo*'dur. Ege adalarının çoğunda bu bitkiyle ilgili binlerce kış gözlemi yapılmıştır (Güler vd. 2008). *Arbutus andrachne*, *Eriobotrya japonica* ve *Clematis cirrhosa* kışlık ana bitkiler olarak çalışmalarda yer almıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1 Bambul Arılarının Moleküler Karakterizasyonu ile İlgili Bilgiler

Bambul arılarının farklı iklim ve coğrafi özelliklere yüksek adaptasyon sağlama yeteneği ve geniş koloni oluşturma kabiliyeti, kullanıldıkları örtü altı tarım alanlarından uzaklaşıp serbest doğada koloni oluşturabilmelerine olanak sağlayarak özellikle Akdeniz bölgesindeki bambul türlerinin ülkemizin diğer bölgelerine göre daha hızlı genetik olarak farklılaştığının düşünülmesine neden olmuştur (Gösterit ve Gürel 2005; Gürel vd. 2008). 80'li yıllardan 2000'lerin başına kadar bu genetik farklılaşma morfolojik özellikler bakımından incelenmiş, yayılma alanları ve konukçu oldukları bitki tercihlerine göre kategorize edilmeye çalışılmıştır (Özbek 1979; 1983; 1990; 1997).

Ülkemizde moleküler yöntemlerin ivme kazandığı dönemde yapılan ilk çalışmada AFLP yöntemi kullanılarak Akdeniz bölgesinin batısı ve Ege bölgesindeki türlerin karakterizasyonu amaçlanmış ve çalışılan primeler ile popülasyonlar içerisinde yeterli miktarda polimorfizm saptanamamıştır (Gürel ve Basım 2003). Türkiye ve Kıbrıs'tan yapılan örneklemeler ile popülasyonlar içerisindeki heterozigotluk tespiti için yapılan baş bir çalışmada ise 4 adet mikrosatelit lokus kullanılarak poliakrilamid jel üzerinde tespit çalışması hedeflenmiştir (Beton 2004).

Bambul arıları içinde yer alan *Bombus terrestris*, *Bombus lucorum*, *Bombus ignitus* ve *Bombus occidentalis* türlerinin ticari yetiştiriciliği yapılmaktadır. Koloni popülasyonunun daha kalabalık ve yetiştiriciliğinin daha kolay olması sebebiyle bambul türleri içerisinde *Bombus terrestris*'in ticari yetiştiriciliği öne çıkmıştır. Ülkemizde de ticari firmalardan alınan fakat resmi olmayan verilere göre sadece *B. terrestris* üretimi yapıldığı saptanmıştır. Bu veri güvenilir değildir çünkü ticari firmalarda damızlık üretimlerinin yapıldığı birimlerde tür tespiti yapabilecek yetişmiş personel çalışmamakta, kalite kontrol ve üretim parametreleri daha çok verime yönelik olarak belirlenmektedir.

Dünyadaki eğilime paralel olarak Türkiye'de de son 20 yıl içerisinde bambul kullanımının artması ve seracılık sektöründe ilerleme sağlanması önemli bir gelişmedir. Türkiye'de üretilen ticari bambulların kullanımı 1997-1998 yıllarında başlamıştır. Özellikle örtü altı yetiştiriciliğin yoğun olarak gerçekleştiği Akdeniz sahil bölgesinde tozlama amaçlı bambul kullanımında ciddi şekilde artışlar gözlemlenmiştir. 2020- 2021 sera üretim döneminde yaklaşık 500.000 adet ticari bambul kolonisinin kullanıldığı tahmin edilmektedir. Koloniler Hollanda, İsrail, Belçika ve İspanya gibi ülkelerde ticari üretim yapan uluslararası firmalarla ortaklık kuran firmalar tarafından sağlanmaktadır. Talep edilmeleri durumunda koloniler firmalar tarafından farklı illere veya bölgelere pazarlanabilmektedirler.

Ticari olarak üretilen bu kolonilerde işçi arıların yaşam süresi 1 ayı bulmaktadır ve üretilen bitkiye göre ortalama 1500 – 2000 m² alanı 40 – 45 gün tozlayabilmektedirler. Bu süre sonunda koloni içinde erkek ve ana arı üretimi başlayıp koloni ömrü azaldığından dolayı tozlaşmanın devamı için yeni bir koloniye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple koloninin satışa sunulduğu andaki kalite parametreleri tozlaşmanın etkinliğini ve süresini belirlemektedir. Ticari olarak aynı firma tarafından üretilen kolonilerde dahi, planlamalardaki aksaklıklar ve öngörülemeyen yoğun

taleplerden dolayı tozlaşma kalitesinde farklılıklar gözlenebilmektedirler (Gösterit 2016).

2.2 Yeni Nesil Dizileme Çalışmaları ve Bambul Arılarında Yapılan Çalışmalar

2.2.1. DNA Keşfinden Günümüz Araştırma Araçlarına Dizileme Teknolojileri

Biyolojik örneklerde nükleik asit kalıntılarının diziliminin belirlenmesi, çeşitli araştırma uygulamalarının önemli bir bileşenidir çünkü bizlere yeryüzündeki yaşamın kalıtsal ve biyokimyasal özellikleri hakkında bilgi sağlar. DNA dizileme, yaşam formlarını tanımlandığı ve birbirinden ayırttığı için önemli bir role sahiptir (Heather ve Chain 2016).

Geçtiğimiz yarım yüzyıl boyunca, birçok araştırmacı DNA dizileme teknolojilerinin geliştirilmesine ve iyileştirilmesine büyük bir zaman ve kaynak harcamıştır. Bu nedenle, tüm bu yıllar boyunca kısa dizilerin (gen skalası) dizilemesinden milyonlarca bazın (tüm genom skalası) sıralanmasına kadar büyük zorluklarla karşılaşmıştır. (Heather ve Chain 2016). Bu nedenle, DNA dizilemenin evrimi, kendi doğası ve dizileme yoluyla üretilen çıktı ile karakterize edilebilen, nesillerdir gelişen bir teknoloji ile zengin bir hikâyeye sahiptir (McGinn ve Gut 2013).

Yeni nesil dizileme'nin (NGS), diğer bir deyişle yüksek verimli dizileme (HTS) tekniklerinin, tarihçesi 1953'te çift sarmal DNA yapısının keşfine dayanmaktadır (Watson ve Crick 1953). Birkaç yıl sonra, Robert Holley ve meslektaşları, *Saccharomyces cerevisiae*'nin alanin tRNA'sının 77 ribonükleotidlik tam nükleik asit dizisini ve yapısını üretebilmiştir. Bu, sadece diğer RNA'ların değil, aynı zamanda DNA'nın dizisini belirlemek için başkalarına kapı açan bir buluş olmuştur (Holley Madison ve Zamir 1964; Holley vd. 1965).

1977'de Frederick Sanger, bakteriyofaj X 174'ün tam DNA genomunu dizileyen ilk kişi olmuş ve böylece bilinen ilk dizileme tekniği olan Sanger yönteminin öncüsü konumuna gelmiştir (Sanger vd. 1977a; Sanger ve Coulson 1977b). Frederick Sanger'in (2016) genom dizilemenin biyolojik çalışmalardaki önemini vurgulayan açıklaması şöyledir:

“Dizilerin bilgisi, yaşayan madde anlayışımıza çok katkıda bulunabilir”

Yeni Nesil Dizileme, 1977'de ilk kez ortaya çıkan Sanger dizileme yönteminden sonraki geliştirilen derin, yüksek verimli DNA dizileme teknolojilerini ifade etmektedir (Sanger vd. 1977a). Aynı zamanda Sanger DNA zincir-sonlandırma yöntemi veya dideoxi yöntemi olarak da adlandırılan bu yöntem, 30 yıl boyunca en sık kullanılan DNA dizileme teknolojisi olmuştur (McGinn ve Gut 2013).

2.2.2. Bambul Arılarında Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi (NGS) ile Yapılan Çalışmalar

Bambul arıları üzerinde yapılan yeni nesil dizileme çalışmaları, bu türlerin genetik yapısını ve çeşitliliğini daha detaylı bir şekilde anlamak için önemli bir araç haline

gelmiştir. Bu çalışmalar, Bambul arılarının genomlarını dizileyerek, türler arasındaki genetik farklılıkları belirlemeyi, popülasyon yapısını analiz etmeyi ve adaptasyon yeteneklerini araştırmayı amaçlamaktadır.

Yeni nesil dizileme teknolojileri, genetik bilgiyi daha hızlı ve daha ekonomik bir şekilde elde etmeyi sağlamaktadır. Bu teknolojiler sayesinde, farklı Bambul türleri arasındaki genetik farklılıkların yanı sıra, popülasyon içindeki genetik çeşitlilik de daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilir hale gelmiştir. Bu çalışmalar, türlerin korunması, habitat kaybı ve iklim değişikliği gibi tehditlerle başa çıkma stratejilerinin geliştirilmesi için de önemli bir temel oluşturabilmektedir.

Michel vd. (2007) arılarda yapılan ilk genetik haritaların çoğu RAPD, AFLP, izozimler veya mutant fenotipler gibi belirteçlere dayalıyken, genetik bağlantı haritaları artık giderek artan şekilde polimorfik basit dizi tekrarları (SSR, mikrosatellitler) veya tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ile oluşturulmaktadır.

Brondani vd. (2006), çalışmasında gördüğümüz üzere bu belirteçler aynı zamanda potansiyel olarak korunmuş diğer bölgelerin dizi bilgisini de içerdiğinden, genom düzeneklerinin sabitlenmesine ve türler arasında karşılaştırma yapılmasına olanak sağlamaktadır.

Wilfert vd. (2009), *Bombus terrestris* için iki genetik bağlantı haritası mevcuttur; RAPD ve SSR yöntemlerini temel alan bu haritalar 2008 ve 2009 yılları arasında Almanya’da gerçekleştirilmiş ve oluşturulan kütüphaneler günümüze kadar Bambul arılarında moleküler çalışmalara oldukça ışık tutmuşlardır.

Stolle vd. (2011), yeni nesil dizileme tekniği kullanılmış (NGS) ve sonuç olarak hem *A. mellifera* hem de *B. terrestris*’in çok yüksek rekombinasyon oranlarına ve yaklaşık 100 milyon yıllık uzun bir ayrılma süresine rağmen, genomların genetik mimarisinin yüksek oranda korunduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma arılarda yavaş bir genom evrimini yansıtmaktadır ve arı genomunun evrimsel bakış açısıyla ve bal arısı ile karşılaştırılmalı yapılan ilk çalışma olmaktadır. Genom organizasyonu ve korunmuş moleküler belirteçler hakkındaki verilerin, karşılaştırmalı genomik ve evrimsel çalışmalar için güçlü bir araç olarak kullanılabileceğini ve Apidae familyasında yeni araştırma yolları açabileceğini göstermişlerdir.

Kapheim vd. (2015), Bambul arılarının sosyal yaşam tarzlarındaki evrimsel geçişlerin genetik temelleri ve yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanımını araştıran araştırmacılar Bambul arılarının genomlarını dizileyerek sosyal davranışlar ve koloni organizasyonu ile ilişkilendirilen genetik faktörleri belirlemeye çalışmışlardır. 10 ayrı Bambul türü üzerinde yapılan bu çalışma Bambul arılarının sosyal evrimini anlamak için genetik verilerin nasıl kullanılabileceği konusunda önemli bir katkı sağlamıştır.

Hart vd. (2022), son olarak 2022 yılında Avrupa’nın tamamını temsil edecek şekilde 97 bölgeden yapılan örneklem üzerinde RADSeq yöntemi ile yeni nesil dizileme çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen SNP’lerden yapılan genom anotasyonlarında nörolojik gelişim, kas yapısı ve detoksifikasyon proteinleri ile teşhis yöntemleri geliştirmişlerdir. Bulunan verilerde bambul arılarının kültür tarımının getirdiği streslere

adaptasyon sağladığına dair sinyaller elde etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada geniş örneklem ve detaylı veri elde ederek popülasyon yapısına da değinilmiştir.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada ana materyal olarak, 2022-2023 yılları arasında toplanan *Bombus terrestris* işçi bireylerden elde edilen DNA örnekleri kullanılmıştır. Bu örnekler Antalya ilinin Kumluca, Demre, Kaş, Karatepe, Aksu, Serik ve Manavgat ilçelerinden, Burdur'un güneyi ve Isparta ilinde bulunan Karacaören Gölü'nün çevresinden, ticari ve doğal *Bombus terrestris* (L.) bireylerinin popülasyon yapısı ve genetik çeşitliliğini incelenmek amacıyla toplanmıştır. Lokasyonlardan toplanan ticari ve doğal popülasyonlardaki bireylerin adedi ve dağılımı Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Lokasyonlara göre doğa ve ticari firma kovanlarından toplanan örneklerin dağılımı

Lokasyon	Kovan Markası	Kovan Adedi	Kovandan Alınan Örnek Adedi
Kumluca	Biz bio	1	5
	Agro bio	1	4
	Koppert	1	5
	Biobest	1	5
	Doğa	0	5
Demre	Baş Arı	1	5
	Agro Bio	1	4
	Doğa	0	5
Karatepe	Koppert	6	18
	Biobest	1	5
	Agrobio	1	5
	Doğa	0	5
Aksu	Koppert	1	5
	Biobest	1	5
	Doğa	0	5
Serik	Agrobio	1	5
	Doğa	0	5
Manavgat	Agrobio	1	5
Burdur	Doğa	0	5
Karacaören Kaş	Doğa	0	5
	Doğa	0	2

Örnek toplama aşamasında; buz kutusu ve buz kasetleri, çeşitli boylarda pensetler, ISOLAB marka 15 ml ve 50 ml steril Falcon tüpler, hafta ve lokasyon belirten yapışkan etiketler, Edding marka kalemler kullanılmıştır. Toplanan bireylerin *B. terrestris* türüne ait olduğu Nikon marka stereo mikroskop ile tespit edilmiştir. Diseksiyon işlemi esnasında kullanılmak için Greiner marka petri kaplarının içerisine eritilmiş parafin dökülüp donduktan sonra kullanıma alınmıştır. Diseksiyon işlemi esnasında Dupont marka cerrahi makas, Isolab marka 0,6 – 0,4 mm genişliğinde spatül ve 3-4 numara böcek iğnesi kullanılmıştır.

Diseksiyon ile alınan dokunun DNA izolasyonu öncesinde saklanması için Sigma marka 10X PBS solüsyonu ve 1 ml lik Eppendorf marka tüpler kullanılmıştır. DNA izolasyonu basamağında; CTAB (Cetyldimethylethyl Ammonium Bromide), isopropanol ve izoamil alkol kimyasalları “Merck” firmasından; NaCl, Trisma base, kloroform, EDTA, etanol kimyasalları “Sigma-Aldrich” firmasından temin edilmiştir. DNA izolasyonunun inkübasyon basamağı için gerekli “Boeco Bio TDB-100” ısıtma bloğu ve PCR için “Blue-Ray Biotech” ve “PeqLab primus 96” cihazları kullanılmıştır.



Şekil 3.1. a) Entomoloji 2 laboratuvar genel görünüm **b-c)** Moleküler çalışmalarda kullanılan PCR cihazı

3.2 Metot

3.2.1 Saha çalışmaları

Çalışma, 2022 ve 2023 yıllarının yaz ve sonbahar aylarında, farklı haftalarda, Antalya bölgesinin tamamını temsil edecek merkez ve ilçelerden (Kumluca, Demre, Kaş, Karatepe, Aksu, Serik, Manavgat) ayrıca Burdur’un güneyini kapsayacak şekilde (Burdur ve Karacaören), konukçu bitki ayırt edilmeksizin farklı firmaların ticari kovanlarından ve doğa popülasyonlarından örnekler toplanmıştır.

Ticari kovanlardan toplanan örneklerin tamamı konukçu ayırt etmeksizin seralardan toplanmış; kovanların yaşam bütünlüğü ve popülasyon gelişimini olumsuz

yönde etkilememek için her kovandan 5 ayrı birey alınmıştır. Doğadan toplanan örneklerde ise şeker şurubu ile tuzak kurma yöntemi kullanılmıştır.

Diseksiyon işlemi öncesinde laboratuvara getirilen tüm örnekler, 2-4 saat -18 derece ya da 8-10 saat +4 derecede saklanmış, Bambul bireylerinin uyku haline geçmesi beklenmiştir. Bu sayede nekrotikleşme olmadan DNA izolasyonu için gerekli doku parçaları elde edilmiştir.

3.2.2. İzolasyon materyali elde etmek için ön çalışmalar

Dizilem çalışmaları için yüksek kaliteli DNA izole etme protokolü oluşturulmuştur. Bu sebeple örnekleme için canlı bireylerden yapılması uygun görülmüştür. Araziden vücut bütünlüğü bozulmadan yakalanan Bambul arılarının tüy, kitin doku ve araziden gelen bitki doku parçaları ile kontamine olmadan saf ve temiz bir DNA elde etmek için diseksiyon öncesinde soğuk uygulama etkisinde uyku haline geçmiş bireyler olması tercih edilmiştir.

Laboratuvara getirildikten sonra buzdolabında +4 derecede bekletilerek uyku haline getirilen bireyler penset ile tutularak prothroax ile baş kısmı arasına kesik atılıp, prothroax 4 numara böcek iğnesi ile gövdenin dorsal kısmı petri içerisindeki parafilm üst yüzeyine temas edecek şekilde sabitlenmiştir. Abdomenin proksimal kısmından ikinci bir 4 numara iğne ile gerilerek gövde petriye sabitlenmiş, rahat çalışma açısından bacaklar önceden kesip çıkarılmıştır. Abdomenin iki yanındaki süturlardan kesilerek yağ doku, midgut, hindgut ve malpigi tüpleri ile diğer iç organlar çıkarılmıştır. 0,4 mm genişliğindeki spatül ile iç organlar ve yağ doku içerisinde 100 µl PBS (10X) eklenmiş ve steril DNA / RNA içermeyen 2 ml lik Eppendorf tüplere aktararak ertesi gün DNA izolasyonuna başlamak için 1 gece +4 derecede bekletilmiştir.

3.2.3. Homojenizasyon ve DNA izolasyonu

DNA izolasyonu sırasında sırasıyla şu basamaklar izlenmiştir:

1. Elde edilen homojenatlar 1 gece bekletildikten sonra CTAB yöntemi ile DNA izolasyonu sürecine alınmıştır. Bu süre için CTAB solüsyonu hazırlanırken Doyle ve Doyle'un klasik protokolü (1987) bu çalışma için uygun şekilde modifiye edilmiştir. Polen kaynaklı fenoliklerin parçalanması için PVP ve protein denatürasyonu için SDS ve 0.3% 2-β-Mercaptoethanol eklenmiştir (Sigma).

Çizelge 3.2. DNA izolasyonunda kullanılan CTAB solüsyonunun içeriği ve oranları

CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide)	2% (w/v)
Tris HCL (pH 8.0)	100 mM
EDTA	20 mM
NaCl	1.5 M
PVP	2% (w/v)
Beta-mercaptoethanol	0.3%
SDS (Sodium dodecyl sulfate)	0.5 %

2. Örnekler homojenize edilmek üzere ezilirken Nüve marka inkübatör 65 °C'ye ayarlanmıştır. CTAB solüsyonunun inkübatör içerisinde 65 °C'ye kadar ısıtılmış ve DNA izolasyonu sürecine bu şekilde başlanılmıştır. Homojenizatörde yumuşak dokulara zarar vermemek için seramik boncuk kullanılmıştır.

3. Ardından ezilen homojenatın üzerine 350 µl CTAB solüsyonu eklenerek, DNA'nın bu çözeltiye geçmesi için önceden 65 °C'ye ayarlanan inkübatörde 3 saat inkübe edilmiştir.

4. İnkübasyon süreci biten örneklerin üzerine proteinleri uzaklaştırılabilmesi için 500 µl kloroform- izoamil alkol (24:1 oranında) ilave edilip tüpler iyice çalkalanmıştır. Çalkalanan tüpler 14.000 rpm'de 20 dakika santrifüje konulmuş ve 2 faza ayrılması beklenilmiştir. Üst kısımda temiz faz birikmeyen tüpler yine aynı adımlarla 14.000 rpm'de bu kez 5 dakika olarak santrifüj aşamasından geçirilmiştir.

5. Santrifüjden alınan tüplerin alt kısmında kloroform ile çökelen protein ve doku kalıntıları, üst kısmında ise DNA'nın bulunduğu süpernatant kısmı olmak üzere (temiz faz), iki faza ayrılmıştır. Üst fazdan yaklaşık 400-500 µl alınıp, 1.5 mL'lik yeni tüpe aktarılmıştır. Üzerine yeniden 400 µl kloroform- izoamil alkol ilave edilip ikinci bir yıkama gerçekleştirilerek tüpler iyice çalkalanmış ve çalkalanan tüpler 14.000 rpm'de 20 dakika santrifüje konulmuştur.

6. Santrifüjden alınan örneklerden yeni 1.5 ml'lik tüplere olacak şekilde üst ve temiz fazdan 300 µl alınmış, DNA'yı çöktürmek için üzerine 300 µl (1:1 oranında) -18 derece de bekletilen soğuk izopropanol eklenmiştir. 10-15 kez elin çevresinde bileğin döndürülme hareketi ile DNA sarmalının güvenli bir şekilde kırık oluşturmada soğuk izopropanol solüsyon içerisinde çökmesi sağlanmıştır. DNA pelletinin çökmesinden emin olmak için soğuk inkübasyon adımına geçilmiştir ve bunun için örnekler tüplere uygun racklar içerisinde buzdolabının dondurucu kısmında -20 °C'de bir gece bekletilmiştir.

7. 16 saat sonra -20 dereceden alınan örnekler 20 dakika boyunca santrifüj cihazında 14.000 rpm de santrifüj işlemine alınmıştır. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin alt uç kısmında opak renkli DNA peletlerinin çökelmiş olması kontrol edilmiş ve çökme gerçekleşmedi ise son santrifüj adımı tekrar edilmiştir.

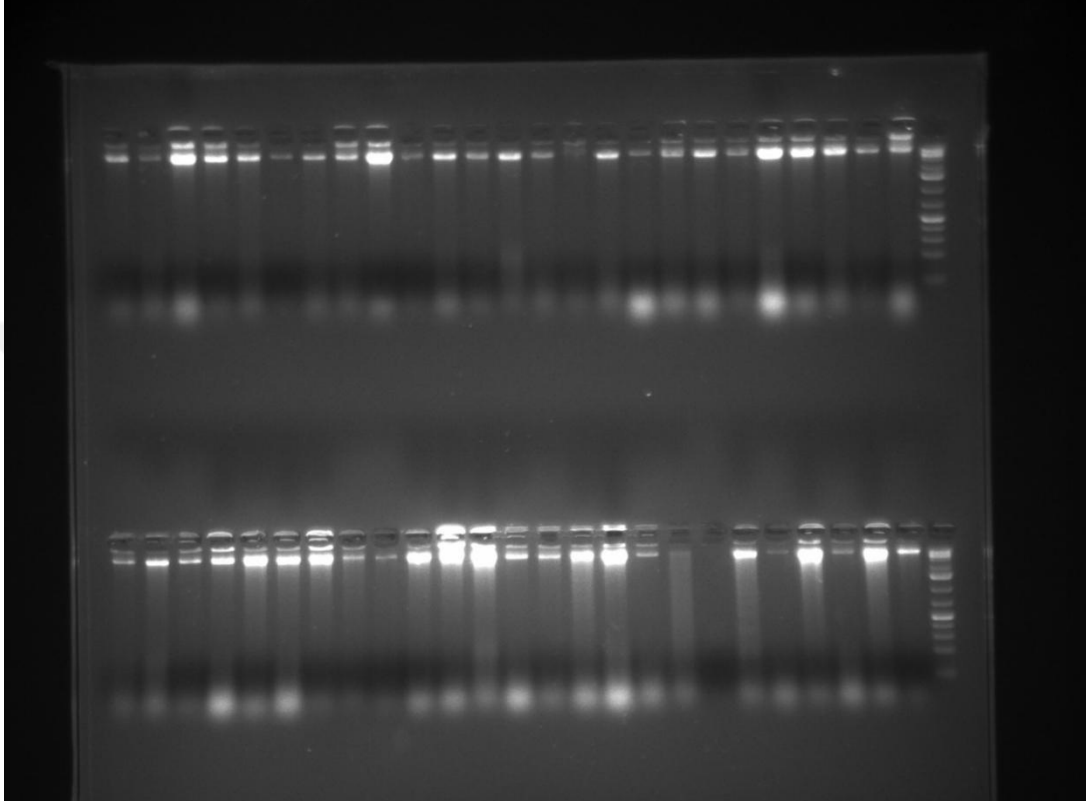
8. Tüpün tabanında çökerek oluşan peletin aksi yönünde, peletin tüpün alt kısmından hareket etmesine izin vermeden üst fazdaki isopropanol uzaklaştırılmıştır. Son temizleme aşaması için üzerine 500 µl soğuk %70'lik etanol ilave edilip, 5 dakika 10.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.

9. Bazı tüplerde gerekli olduğu hallerde yani opak DNA peletinin renginde gözle görülür beyazlaşma elde edilmemesi halinde, son temizleme işlemi tekrar edilmiştir bunun için yukarıda açıklandığı şekilde peletin aksi yönünde etanol sıvısı dökülmüştür.

10. Etanol sıvısı uzaklaştırılan tüplerin içerisindeki DNA peletleri ile birlikte tüpler yatay halde kapakları açık olarak 3 saat boyunca kaba kurutma kâğıdı üzerinde oda sıcaklığında etanolün uçması için kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutulmuş peletlerde etanol kalıntısı olmadığı kontrol edildikten sonra DNA peletinin çözünmesi için her bir tüpe 100 µl TE Buffer eklenmiştir (Tris-HCL pH 7.4-8.0 10mM, EDTA pH 8.0 1 mM). Peletin sağlıklı şekilde çözünmesi için +4 derecede 1 gün bekletildikten sonra tüpler - 20 derecede dondurularak saklanmıştır.

3.2.4. DNA kalitesinin ölçülmesi

Kütüphane hazırlamakta kullanılan DNA örneklerinin kalitesinin ölçülmesi için %1 lik agaroz jele yüklenen DNA örnekleri 70 voltta 45 dakika boyunca jel elektroforez cihazında koşturulmuştur.



Şekil 3.2. Yeni nesil dizileme kütüphanesinde kullanılan DNA örneklerinin jel elektroforezdeki görüntüsü

3.2.5. Yeni nesil dizileme kütüphanesinin oluşturulması

Yeni nesil dizileme kütüphanelerinin oluşturulmasında sırasıyla şu 7 temel adım izlenmiştir:

- Adaptör hazırlığı ve bağlama
- Restrüksiyon enzimleri ile kesim
- Adaptör ligasyonu
- İlk saflaştırma aşaması (kısa fragmentlerin ayrıştırılması)
- PCR amplifikasyonu
- İkincil saflaştırma (boyut seçilimi)
- Boyut seçilimi ve ddRAD

3.2.6. Yeni nesil dizileme kütüphanesinde kullanılan ddRAD yöntemi

Kütüphane oluşturmak için SNP tanılaması ve genotipleme için kullanılan RAD sekanslama protokollerinin bir varyasyonu olan ddRAD yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde, genomik DNA ilk önce bir restriksiyon enzimi (Çizelge 3.3.) ve fragmanlara bağlanan barkodlu bir P1 adaptörü (Çizelge 3.4) ile ligaz edilmiştir. Farklı örneklerden adaptörle bağlanan fragmanlar mültipleks edilip birleştirilmiş ve DNA, ikinci bir restriksiyon enzimi tarafından ligasyon aşamasına alınmıştır. Ligasyon aşamasında kullanılan reaksiyon karışımı (Çizelge 3.4.) paylaşılmıştır.

Çizelge 3.3. Restriksiyon enzimleri ile kesim aşamasında kullanılmış olan MasterMix karışımının içeriği ve inkübasyon süresi

Reaksiyon Karışımı	1x	İnkübasyon Süresi
<i>Vsp I</i> (10 U/ μ L) (Katalog Numarası ER0912)	1 μ l	37 °C' de 2 saat inkübasyon
<i>Msp I</i> (10 U/ μ L) (Katalog Numarası ER0541)	1 μ l	
Tango Buffer	3 μ l	
H ₂ O	12 μ l	
DNA (100-200 ng DNA)	9 μ l	

Çizelge 3.4. Ligasyon aşamasında kullanılmış olan MasterMix karışımının içeriği ve inkübasyon süresi

Reaksiyon Karışımı	1x	İnkübasyon Süresi
T4 DNA Ligaz Buffer	3 μ l	37 °C 1 saat inkübasyon
T4 DNA Ligase (5 U/ μ L) (Catalog number EL0011)	0.3 μ l	
H ₂ O	1.5 μ l	
Adaptör P2 (0.5 pmol/ μ l)	2 μ l	
Adaptor P1 (farklı barkodlanmış adaptör her bir örnek için) (0.5 pmol/ μ l).	2 μ l	

Çizelge 3.5. ddRAD protokolünde kullanılan Adaptör P1 ve Adaptör P2 dizilimleri

Adaptör P1	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTATTACGATGTGAG AAA GGGATGTGCTGCGAGAAGGCTAGATAATGCTAT
Adaptör P2	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTTCC TTGATGTGAGAA AGGGATGTGCTGCGAGAAGGCTAGAAGGAAGTAT
Adaptör Dizilimleri	

Ligasyon aşamasından alınan örnekler boyuta göre seçilmiş ve saflaştırılmıştır. Daha sonra P2 primerleri bağlanmıştır. Örnekler 2 saat boyunca 37 °C’de inkübe edilmiş ve sonrasında inkübasyondan çıkartılıp buz üzerinde soğutmaya alınmış ve bir sonraki aşamada son temizlik prosedürü başlatılmıştır. Her bir hacimdeki örnekler (35 µl) için 1,2 katı hacimde manyetik boncuk eklenmiştir (42 µl boncuk). Numuneleri temizledikten sonra amplifikasyon için PCR adımına geçilmiştir. Her numune için kullanılan MasterMix karışımı Çizelge 3.6.’da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. PCR adımında kullanılan MasterMix karışımı

Master Mix	1x
25 mM MgCl ₂	2.4 µl
Taq Buffer	3 µl
8 mM dNTP	1.25 µl
DNA polymerase (High fidelity Polymerase)	0.3 µl
H ₂ O	1 µl
P5 primer (10 pmol/µl)	0.35 µl
P7 primer (10 pmol/µl)	0.35 µl
Template DNA	5 µl

Çizelge 3.7. Amplifikasyona ait PCR aşamaları

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	60 °C	5 Dakika	
Ön Denatürasyon	72 °C	2 dakika	
Denatürasyon	95 °C	1 dakika	
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	25 Döngü
Bağlanma	60 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	30 saniye	
Son Uzama	72 °C	5 dakika	

3.2.7. Biyoinformatik analiz sonuçlarının elde edilmesi

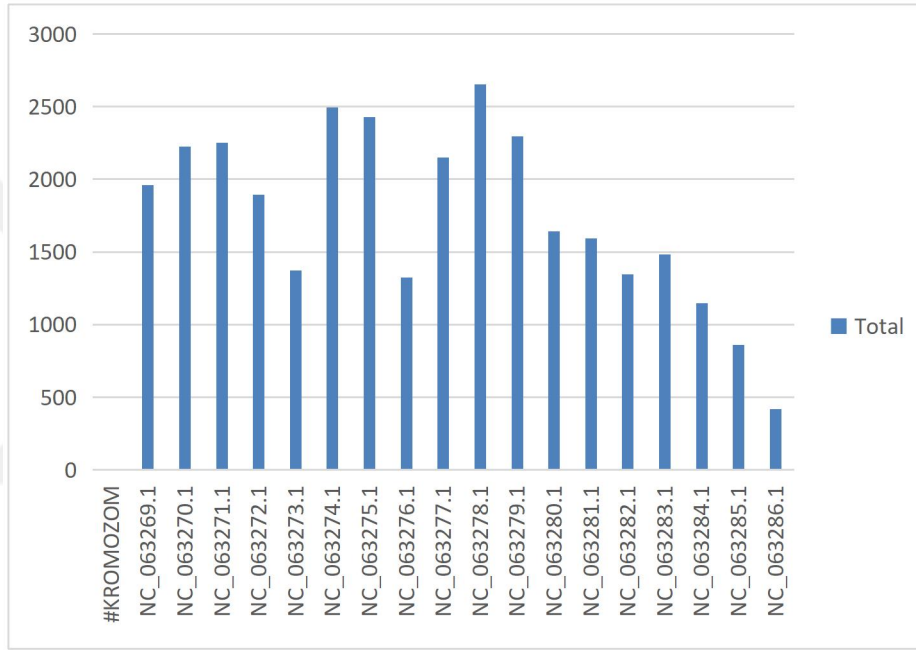
Okuma sonucu oluşan fastq dosyası öncelikle “je demultiplex” programı kullanılarak her bir örneğe ait bireysel fastq dosyaları elde edilmiştir. Daha sonra, bireysel fastq dosyalarından adaptörler ve düşük kalitedeki okumalar “fastp” ve “trim galore” programları kullanılarak temizlenmiştir. Temizlenen okumalar referans olarak NCBI’den indirilen *Bombus terrestris* genomuna “bwa” programı kullanılarak hizalanmıştır. Hizalanan okumalardaki SNP bölgeleri “freebayes” programı 20X coverage değeri kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen Vcf dosyası TASSEL 5 programına yüklenmiş ve bu program yardımı ile; Distance Matrix, PCoA Değerleri ve Numerik Genotip Dosyası elde edilmiştir.

Distance Matrix dosyası kullanılarak R programlama dilinde adegenet kütüphanesi ile inbreeding katsayısı (F) değerleri yaklaşık olarak hesaplanmıştır. Ardından, TASSEL ile elde edilen PCoA değerleri R ortamına aktararak “adegenet” özel bir R kodu ile görselleştirilmiştir (Jombart, 2008). Numerik genotip dosyası “Structure” programına yüklenmiş ve bu program çalıştırılmıştır. “Structure” programının sonuçlarını görselleştirmek için “Structure” Harvester sunucusu kullanılmıştır. PAST programına aktarılan Vcf dosyaları ile ANOVA, KRUSKAL vb. istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir (Hammer, 2001). Filogenetik ağaçların çizimi için Distance Matrix dosyası MEGA11 programına yüklenmiş ve UPGMA ağacı çizilmiştir. Ağacın görselleştirmesi ve düzenlemesi MEGA11 arayüzünde yapılmıştır (Kumar, 2021).

4. BULGULAR

Bu çalışmada Antalya ili ağırlıklı olmak üzere Akdeniz bölgesinde 9 ayrı bölgeden (Kumluca, Demre, Kaş, Karatepe, Aksu, Serik, Manavgat, Burdur, Karacaören) farklı lokasyonlarda bulunan kovanlardan, 113 adet birey toplanmış ve bu bireylerden elde edilen DNA örnekleri elde edilmiştir. Bu örneklerden 76 adet birey 4 farklı ticari markanın (Biobest, Koppert, Agrobio, Bizbio) kovanlarından; kalan 37 birey ise doğal ortamlarından toplanan bireylerden izole edilmiştir.

Çalışmada ddRAD tekniği ve biyoinformatik analizler sonucunda 31.556 adet SNP verisi elde edilmiştir. Bu SNP'lerin *Bombus terrestris* genomunda bulunan 18 kromozom üzerindeki dağılışı Şekil 4.1. de gösterilmiştir.

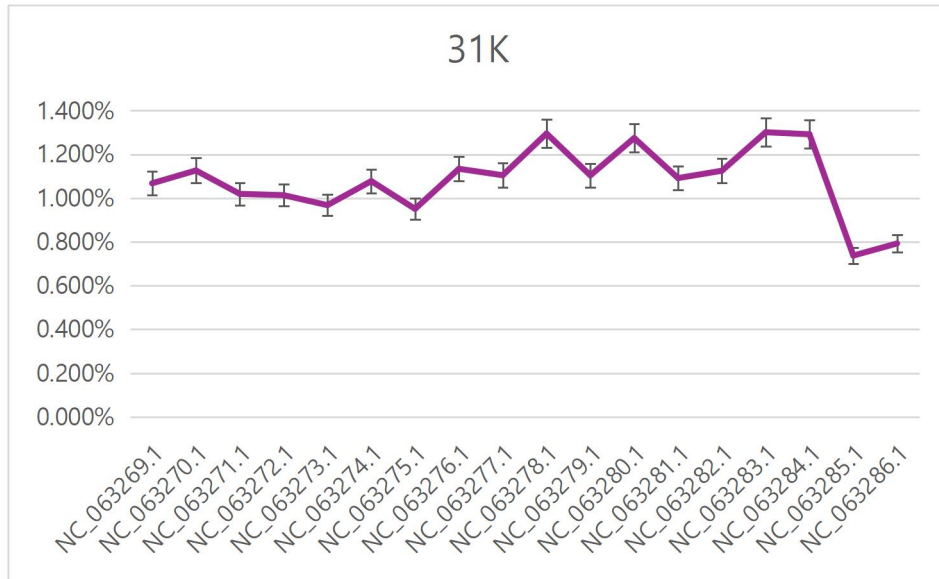


Şekil 4.1. 31.556 SNP'nin *Bombus terrestris* genomundaki 18 kromozomu üzerindeki dağılışı

Yeni Nesil dizileme çalışmalarında literatüre baktığımız zaman SNP'lerin filtrelenmesinde genellikle belirli birkaç kromozom üzerinden yapıldığı, tüm genomu eşit oranda temsil etmediği görülmektedir. Bu çalışmada her bir kromozomun boyutu göz önüne alınarak SNP'ler homojen olarak dağıtılmış ve rastgele şekilde seçilerek gerçek bir temsiliyet portresi oluşturulmuştur. 31.556 adet elde edilen ve seçilen SNP'lerin Bambul arısının tüm genomuna hizalandığında her bir kromozomu temsil eden SNP'lerin temsiliyet yüzdesi % 98.54 ortalama ile oldukça yüksek elde edilmiştir (Çizelge 4.1.). Bu dağılım standart sapması hesaplandığında doğrusal bir dağılım gözlenmektedir (Şekil 4.2.).

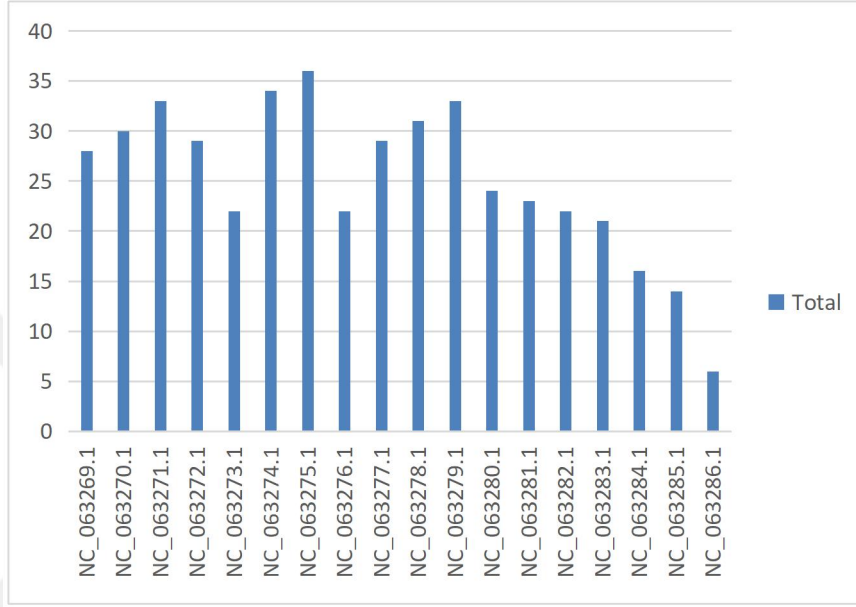
Çizelge 4.1. 31.556 adet seçilen SNP'nin tüm genomu temsil yüzde oranları.

Kromozom	31K	Temsil Yüzdesi (%)	Boyut (Bç)	31K (SNP/Mbç)
NC_063269.1	1962	98.573	18,372,659	1.06
NC_063270.1	2223	98.650	19,735,706	1.12
NC_063271.1	2253	98.535	22,099,476	1.01
NC_063272.1	1892	98.467	18,668,021	1.01
NC_063273.1	1374	98.399	14,194,883	0.96
NC_063274.1	2493	98.636	23,129,593	1.07
NC_063275.1	2427	98.517	25,524,254	0.95
NC_063276.1	1322	98.336	11,657,431	1.13
NC_063277.1	2148	98.650	19,446,242	1.10
NC_063278.1	2654	98.832	20,491,647	1.29
NC_063279.1	2294	98.561	20,781,255	1.10
NC_063280.1	1644	98.540	12,897,853	1.27
NC_063281.1	1593	98.556	14,593,050	1.09
NC_063282.1	1346	98.366	11,964,351	1.12
NC_063283.1	1485	98.586	11,413,514	1.30
NC_063284.1	1148	98.606	8,887,048	1.29
NC_063285.1	859	98.370	11,646,943	0.73
NC_063286.1	418	98.565	5,271,557	0.79

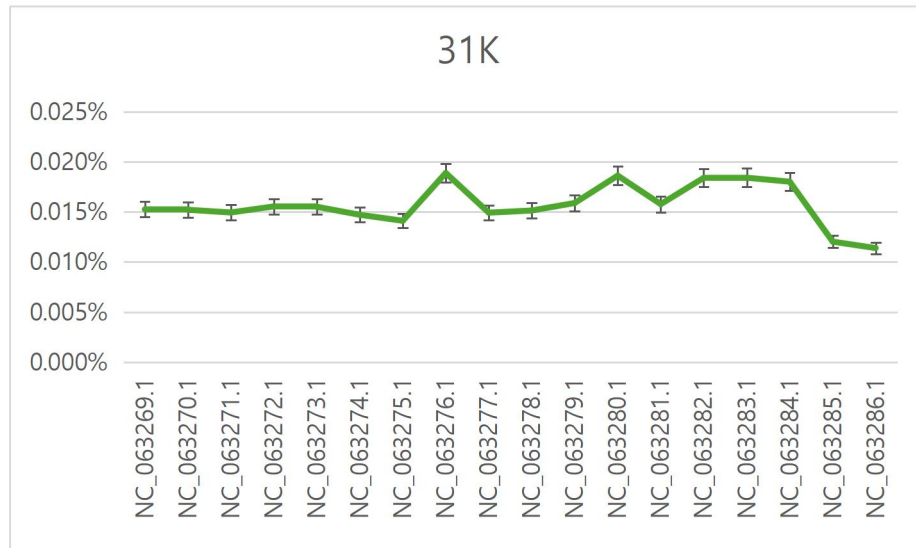


Şekil 4.2. 31.556 adet seçilen SNP'lerin kromozomlar üzerinde doğrusal ve homojen dağılım grafiği

Çalışmada elde edilen 31.556 adet filtrelenmiş SNP'den oluşan data setinin büyüklüğünün getirdiği teknik zorlukları elimine etmek için data seti normalize edilerek 463 adet SNP'ye indirgenmiştir. Bu şekilde 463 adet SNP ile Structure programında 10.000 burning periyod ve 10.000 MCMC parametreleri aralığında çalışmak teknik olarak daha mümkün hale getirilmiştir. Bu indirgenme esnasında dağılım ve genom temsiliyetinin 31.556 adet SNP ile aynı temsiliyetin sağlamasına dikkat edilmiştir (Şekil 4.3.). Homojen ve rastgele olacak şekilde her bir kromozom üzerinde eşit aralıklarla büyüklüğüne bağlı olacak şekilde yine doğrusal bir dağılım ile seçilmiştir (Şekil 4.4.).



Şekil 4.3. Normalize edilen 463 SNP'nin *Bombus terrestris* genomundaki 18 kromozomu üzerindeki dağılışı



Şekil 4.4. Normalize edilen 463 adet SNP'nin kromozomlar üzerinde doğrusal ve homojen dağılım grafiği

AFLP ve RFLP gibi tekniklerle belirlenen SNP’lerde konum bilgisi öngörülemediği için SNP seçimlerinde bu çalışmada doğrulanmış olan doğrusallığı gözlemlemek mümkün değildir. Fakat GBS ve Yeni Nesil Dizileme yöntemleri bu anlamda çok güvenilir veri seti oluşturmaya imkân sağlamaktadır. SNP verileri normalize edilirken de aynı doğrusal dağılımı koruyacak şekilde çalışılmıştır.

4.1. Biyoinformatik Analiz Bulguları

4.1.1. Verilerin analizi ve ANOVA

Varyans analizlerinde p değeri 0,05 değerinden küçük olması durumunda “istatistiksel olarak anlamlı” yani populasyonlar arası belirgin bir fark var olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmada yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre populasyonlar arası belirgin bir genetik farklılık olmadığı çıkan ANOVA sonuçlarından anlaşılabilmektedir (Çizelge 4.2.) ($p=1.7$). ANOVA sonuçlarında çıkan p değeri genetik yapı analizlerinde ortaya konan F_{ST} değerleri ile örtüştüğü görülmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge. 4.2. PAST programına göre genetik veri setinin ANOVA analiz sonuçları

Eşit ortalamalar için ANOVA					
	Karelerin Toplamı	df	Ortalama kare	F	p (same)
Gruplar arasında:	0.738788	112	0.00659632	7.649	1.79E-110
Gruplar içinde:	10.9149	12656	0.000862426	Permutation p (n=99999)	
Toplam:	11.6537	12768	1.00E-05		
Varyans bileşenleri (yalnızca rastgele etkiler için):					
Var(grup):	5.07E-05	Var(hata)	0.000862426	ICC:	0.0555674
		:		6	
omega2:	0.0551				
Araçlardan varyansın homojenliği için Levene testi	p (same):	1			
Medyanlardan Levene testi	p (same):	1			
Eşit olmayan varyanslar durumunda Welch F testi: $F=7,476$, $df=4294$, $p=1,256E-99$					
Bayes faktör: 1,43E103 (eşit olmayan araçlara dair kesin kanıt)					

4.1.2. F İstatistiklerinden F_{ST} Değerleri ve Ortalaması

Genetik yapı analizleri için kullanılan “Structure” programından elde edilen F_{ST} değerleri ve K değerinin belirttiği 5 alt popülasyon bulgusu ile uyum göstermektedir. Bu bağlamda popülasyon yapısına bakılacak olursa 5 alt popülasyondan birer adet alt popülasyonda, güçlü (0.15- 0.25) ve çok güçlü düzeyde (0.25>) bir genetik farklılaşma olabileceği bulgusuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.7). Örneklem grubu F_{ST} değerleri açısından 0.1285 ortalama sonuç ile küçük-orta düzeyde bir genetik farklılaşma olabileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.3. Alt popülasyonlara ait F_{ST} değerleri

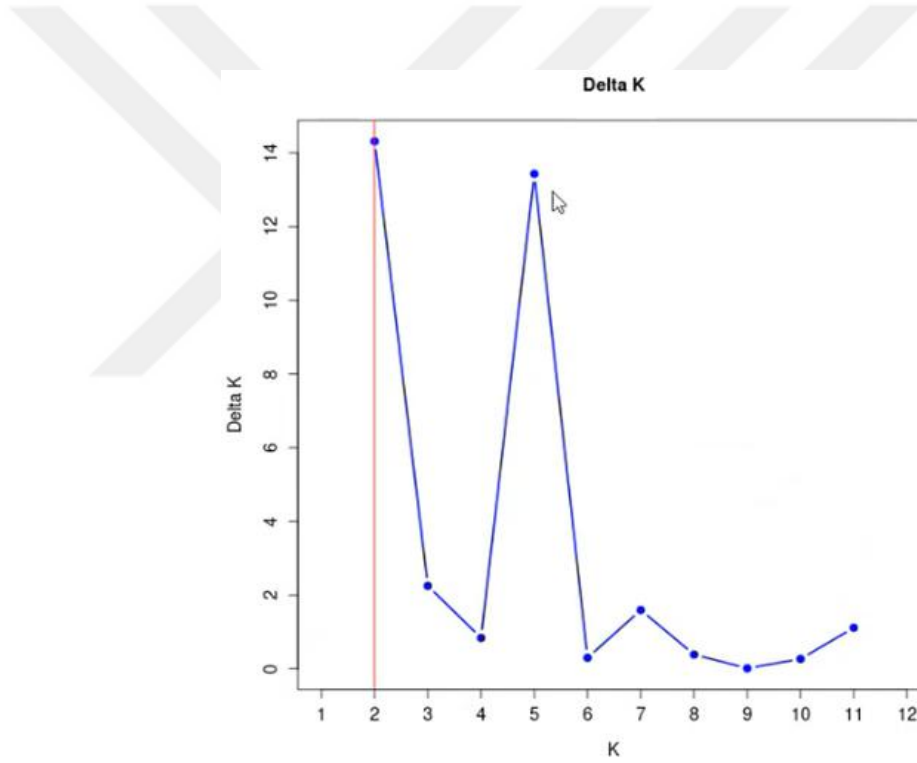
Alt Populasyon Grupları	Ortalama Değer
F_{ST_1}	0.4740
F_{ST_2}	0.0322
F_{ST_3}	0.004
F_{ST_4}	0.2496
F_{ST_5}	0.007
Alt Popülasyonların Ortalaması	0.128466667

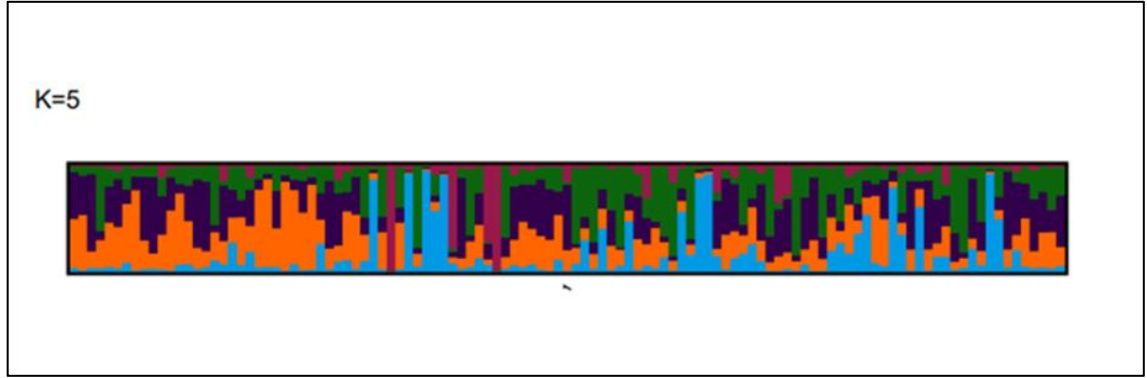
4.1.3. Popülasyon genetiği analizi

Data analizinin ilk aşamasında elde edilen vcf formatındaki SNP verileri ile “Structure” programında yapılan analizlerde ilk adım olarak popülasyon yapısını ortaya koyacak Evanno değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler arasında popülasyonlar arasındaki en büyük farklılık (ΔK) delta K değerini bularak mevcut Bambul arısı örneklerinin kaç adet alt popülasyonda incelenmesi gerektiği ortaya çıkarılmıştır. Analiz için ilk aşamada ddRAD tekniği ve biyoinformatik analizler sonucu ortaya konulan 31.556 adet SNP verisi tüm kromozomları temsil edecek şekilde 463 adet SNP’e indirgenmiş ve bu SNP lokusları kullanılarak 10.000 burning periyod ve 10.000 MCMC parametreleri aralığında alt popülasyon taramaları yapılmıştır. Bu analizler sonucunda elde edilen değer “Structure Harvester” web ara yüzüne yüklenmiş ve bu analiz ile yapılan hesaplamalar sonucunda aşağıda belirtilen çizelge değerlerine ulaşılmıştır (Çizelge 4.4). K değerleri 2-12 (Popülasyonların en iyi ifade edildiği gruplandırma) arasında test edildiğinde ΔK değerinin 13.43 ile en yüksek çıktığı değer 5 alt popülasyon varsayıldığında elde edilmiştir (Çizelge 4.4). ΔK değerine ait Şekil 4.5’deki olasılık grafiği ve Şekil 4.9.’daki standart sapma değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. “Structure” programından elde edilen K değeri tahminine yönelik veriler

K	Reps	Mean	Lnp(k)	Stdev Ln'(K)	[Ln'(K)]	Delta K
2	10	47789.72000	44.04906	NA	NA	NA
3	10	48400.49000	2479.00819	-610.77000	5579.70000	2.25078
4	10	54590.96000	14972.81486	-6190.47000	12581.23000	0.84027
5	10	48200.20000	755.57974	6390.76000	10149.88000	13.43323
6	10	51959.32000	4891.78743	-3759.12000	1470.77000	0.30066
7	10	54247.67000	8625.81199	-2288.35000	13769.16000	1.59627
8	10	0305.18000	30707.23349	-16057.51000	11906.97000	0.38776
9	10	74455.72000	38977.35828	-4150.54000	555.49000	0.01425
10	10	79161.75000	49105.13443	-4706.03000	13197.34000	0.26876
11	10	97065.12000	38554.50224	-17903.37000	42988.13000	1.11500
12	10	71980.36000	30787.68471	25084.76000	NA	NA

**Şekil 4.5.** Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen ΔK Delta değerine ait olasılık grafiği



Şekil 4.6. Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen 5 alt popülasyon olarak elde edilen genetik yapı analizi ve değerleri karşılaştırmalı gen alışverişi dağılımı

Bu çalışmada genetik olarak açık bir havuzdan gelen bireyler ile oluşturulmuş bir popülasyon yapısı incelenmiştir. Structure programının algoritması bu yapıyı yeniden değerlendirmiş, popülasyonları bulundukları lokasyonlardan bağımsız şekilde kendi içerisinde 5 alt popülasyon olacak şekilde gruplamıştır (Şekil 4.10.). Program algoritması bu ΔK Delta değerini SNP belirteçlerinin tekabül ettiği kromozom bölgelerine göre öne çıkarmıştır (Evanno 2005). Bu alt popülasyonların üyelik değerlerini tanılamak mümkündür (Çizelge 4.4.) yani alt popülasyonları oluşturan bireylerin üyelik frekanslarını ve konumlarını analiz ederek gruplanmayı anlamlandırmak mümkündür (Zavinson 2020).

Çizelge 4.5. Tüm bireylerin ait oldukları alt popülasyonlara göre üyelik değerleri dağılımı

Birey	Firma	Lokasyon	Alt Pop_1	Alt Pop_2	Alt Pop_3	Alt Pop_4	Alt Pop_5	Max	Üyelik Alt Pop.
131	Biobest	Aksu	0.0405	0.4548	0.4404	0.0553	0.009	0.4548	Alt Pop_2
132	Biobest	Aksu	0.0178	0.5172	0.3636	0.0887	0.0127	0.5172	Alt Pop_2
133	Biobest	Aksu	0.039	0.1541	0.721	0.0741	0.0118	0.721	Alt Pop_3
134	Biobest	Aksu	0.0353	0.2639	0.0822	0.6072	0.0113	0.6072	Alt Pop_4
135	Biobest	Aksu	0.047	0.4143	0.3376	0.1723	0.0288	0.4143	Alt Pop_2
151	Doga	Aksu	0.0337	0.3874	0.4472	0.0751	0.0567	0.4472	Alt Pop_3
152	Doga	Aksu	0.0886	0.5478	0.1345	0.2201	0.009	0.5478	Alt Pop_2
153	Doga	Aksu	0.0155	0.7493	0.1275	0.0762	0.0315	0.7493	Alt Pop_2
154	Doga	Aksu	0.028	0.2682	0.5933	0.097	0.0135	0.5933	Alt Pop_3
155	Doga	Aksu	0.0317	0.1419	0.7126	0.1057	0.0082	0.7126	Alt Pop_3
161	Koppert	Aksu	0.0253	0.3245	0.3568	0.1765	0.1169	0.3568	Alt Pop_3

162	Koppert	Aksu	0.0152	0.5602	0.309	0.0836	0.032	0.5602	Alt Pop_2
-----	---------	------	--------	--------	-------	--------	-------	--------	-----------

Çizelge 4.5. devamı

163	Koppert	Aksu	0.072	0.6635	0.0863	0.1646	0.0137	0.6635	Alt Pop_2
164	Koppert	Aksu	0.0723	0.4029	0.3297	0.1832	0.0118	0.4029	Alt Pop_2
165	Koppert	Aksu	0.0313	0.1965	0.637	0.118	0.0172	0.637	Alt Pop_3
251	Doga	Burdur	0.0457	0.1509	0.65	0.1447	0.0088	0.65	Alt Pop_3
252	Doga	Burdur	0.1102	0.2634	0.0655	0.5547	0.0062	0.5547	Alt Pop_4
253	Doga	Burdur	0.07	0.2202	0.5182	0.0405	0.1512	0.5182	Alt Pop_3
254	Doga	Burdur	0.2747	0.2352	0.2589	0.2199	0.0113	0.2747	Alt Pop_1
255	Doga	Burdur	0.0625	0.4493	0.1597	0.317	0.0115	0.4493	Alt Pop_2
311	Agro-Bio	Demre	0.1882	0.2418	0.336	0.1157	0.1183	0.336	Alt Pop_3
312	Agro-Bio	Demre	0.044	0.724	0.0978	0.1238	0.0103	0.724	Alt Pop_2
313	Agro-Bio	Demre	0.0495	0.818	0.0469	0.0746	0.011	0.818	Alt Pop_2
314	Agro-Bio	Demre	0.0475	0.3629	0.3475	0.2345	0.0077	0.3629	Alt Pop_2
315	Agro-Bio	Demre	0.0137	0.8296	0.0598	0.0873	0.0097	0.8296	Alt Pop_2
321	Bas-Arı	Demre	0.0723	0.6949	0.0959	0.1206	0.0162	0.6949	Alt Pop_2
322	Bas-Arı	Demre	0.0178	0.5383	0.2957	0.1046	0.0435	0.5383	Alt Pop_2
323	Bas-Arı	Demre	0.0258	0.7905	0.0687	0.1042	0.0108	0.7905	Alt Pop_2
324	Bas-Arı	Demre	0.264	0.2267	0.2457	0.2502	0.0133	0.264	Alt Pop_1
325	Bas-Arı	Demre	0.0281	0.1907	0.631	0.1394	0.0108	0.631	Alt Pop_3
351	Doga	Demre	0.098	0.1514	0.4856	0.126	0.1389	0.4856	Alt Pop_3
352	Doga	Demre	0.1108	0.4568	0.1764	0.1965	0.0595	0.4568	Alt Pop_2
353	Doga	Demre	0.0293	0.5078	0.3491	0.0946	0.0192	0.5078	Alt Pop_2
354	Doga	Demre	0.1037	0.2447	0.1614	0.4766	0.0137	0.4766	Alt Pop_4
355	Doga	Demre	0.8654	0.0595	0.0282	0.0347	0.0123	0.8654	Alt Pop_1
451	Doga	Karacaoren	0.0268	0.3456	0.1435	0.4739	0.0102	0.4739	Alt Pop_4
452	Doga	Karacaoren	0.0035	0.0042	0.0048	0.0035	0.984	0.984	Alt Pop_5
453	Doga	Karacaoren	0.0295	0.433	0.1395	0.3783	0.0197	0.433	Alt Pop_2
454	Doga	Karacaoren	0.9205	0.0103	0.0115	0.0113	0.0464	0.9205	Alt Pop_1

455	Doga	Karacaoren	0.0505	0.12	0.0537	0.7702	0.0057	0.7702	Alt Pop_4
-----	------	------------	--------	------	--------	--------	--------	--------	-----------

Çizelge 4.5. devamı

511	Agro-Bio	Karatepe	0.9467	0.015	0.015	0.0183	0.005	0.9467	Alt Pop_1
512	Agro-Bio	Karatepe	0.5706	0.0865	0.0578	0.1936	0.0915	0.5706	Alt Pop_1
513	Agro-Bio	Karatepe	0.9027	0.0138	0.0127	0.0147	0.0562	0.9027	Alt Pop_1
514	Agro-Bio	Karatepe	0.0804	0.0584	0.0469	0.0344	0.7801	0.7801	Alt Pop_5
515	Agro-Bio	Karatepe	0.0305	0.098	0.7499	0.0908	0.0308	0.7499	Alt Pop_3
531	Biobest	Karatepe	0.046	0.241	0.0538	0.6202	0.039	0.6202	Alt Pop_4
532	Biobest	Karatepe	0.1279	0.3129	0.2951	0.2474	0.0168	0.3129	Alt Pop_2
533	Biobest	Karatepe	0.065	0.0528	0.1458	0.0168	0.7195	0.7195	Alt Pop_5
534	Biobest	Karatepe	0.0035	0.0045	0.0037	0.004	0.9843	0.9843	Alt Pop_5
535	Biobest	Karatepe	0.0332	0.1073	0.1834	0.668	0.0082	0.668	Alt Pop_4
551	Doga	Karatepe	0.0643	0.2358	0.4974	0.1085	0.094	0.4974	Alt Pop_3
552	Doga	Karatepe	0.0448	0.4244	0.349	0.143	0.0388	0.4244	Alt Pop_2
553	Doga	Karatepe	0.0708	0.3336	0.4112	0.134	0.0503	0.4112	Alt Pop_3
554	Doga	Karatepe	0.0252	0.311	0.5292	0.1155	0.0192	0.5292	Alt Pop_3
555	Doga	Karatepe	0.0143	0.2874	0.4712	0.2134	0.0137	0.4712	Alt Pop_3
5611	Koppert	Karatepe	0.1146	0.4201	0.2185	0.227	0.0198	0.4201	Alt Pop_2
5612	Koppert	Karatepe	0.0107	0.1936	0.6116	0.0278	0.1563	0.6116	Alt Pop_3
5613	Koppert	Karatepe	0.0748	0.1518	0.0327	0.7109	0.0298	0.7109	Alt Pop_4
5621	Koppert	Karatepe	0.2994	0.1106	0.1035	0.4576	0.0288	0.4576	Alt Pop_4
5622	Koppert	Karatepe	0.0327	0.1361	0.108	0.7164	0.0068	0.7164	Alt Pop_4
5623	Koppert	Karatepe	0.4058	0.187	0.1822	0.2181	0.007	0.4058	Alt Pop_1
5631	Koppert	Karatepe	0.021	0.2254	0.3306	0.3871	0.0358	0.3871	Alt Pop_4
5632	Koppert	Karatepe	0.0585	0.1506	0.0197	0.7544	0.0168	0.7544	Alt Pop_4
5633	Koppert	Karatepe	0.4751	0.099	0.1583	0.2546	0.013	0.4751	Alt Pop_1
5641	Koppert	Karatepe	0.0198	0.2896	0.3956	0.213	0.082	0.3956	Alt Pop_3
5642	Koppert	Karatepe	0.0602	0.1993	0.2467	0.1819	0.3119	0.3119	Alt Pop_5
5643	Koppert	Karatepe	0.0383	0.3741	0.0557	0.5182	0.0137	0.5182	Alt Pop_4

5651	Koppert	Karatepe	0.1373	0.1413	0.0535	0.6539	0.014	0.6539	Alt Pop_4
------	---------	----------	--------	--------	--------	--------	-------	--------	-----------

Çizelge 4.5. devamı

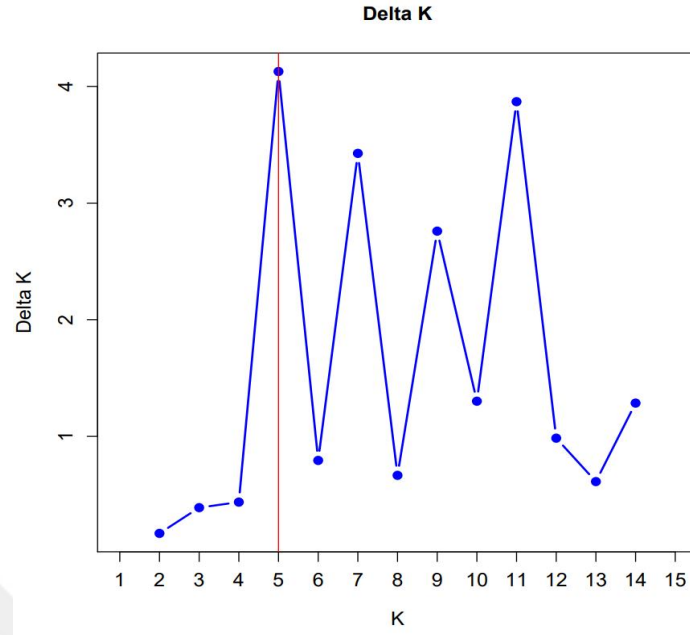
5652	Koppert	Karatepe	0.0157	0.0908	0.0405	0.6867	0.1663	0.6867	Alt Pop_4
5653	Koppert	Karatepe	0.562	0.1007	0.1194	0.1875	0.0305	0.562	Alt Pop_1
5661	Koppert	Karatepe	0.1601	0.0979	0.0515	0.6811	0.0093	0.6811	Alt Pop_4
5662	Koppert	Karatepe	0.8788	0.0487	0.0275	0.0315	0.0135	0.8788	Alt Pop_1
651	Doga	Kas	0.9161	0.0237	0.0273	0.0237	0.0092	0.9161	Alt Pop_1
652	Doga	Kas	0.1481	0.0683	0.4506	0.0736	0.2593	0.4506	Alt Pop_3
712	Agro-Bio	Kumluca	0.024	0.3241	0.5227	0.0831	0.0462	0.5227	Alt Pop_3
713	Agro-Bio	Kumluca	0.1308	0.2504	0.4401	0.06	0.1188	0.4401	Alt Pop_3
714	Agro-Bio	Kumluca	0.1729	0.1705	0.0968	0.5492	0.0107	0.5492	Alt Pop_4
715	Agro-Bio	Kumluca	0.2618	0.3432	0.0837	0.2758	0.0355	0.3432	Alt Pop_2
731	Biobest	Kumluca	0.1029	0.1906	0.525	0.1035	0.078	0.525	Alt Pop_3
732	Biobest	Kumluca	0.0102	0.0831	0.2388	0.6467	0.0212	0.6467	Alt Pop_4
733	Biobest	Kumluca	0.0118	0.136	0.4368	0.0602	0.3552	0.4368	Alt Pop_3
734	Biobest	Kumluca	0.0302	0.1539	0.4968	0.0343	0.2848	0.4968	Alt Pop_3
735	Biobest	Kumluca	0.0143	0.0884	0.051	0.8346	0.0117	0.8346	Alt Pop_4
741	Biz-Bio	Kumluca	0.0675	0.1458	0.4832	0.277	0.0265	0.4832	Alt Pop_3
742	Biz-Bio	Kumluca	0.0087	0.2904	0.5836	0.097	0.0203	0.5836	Alt Pop_3
743	Biz-Bio	Kumluca	0.0137	0.1089	0.2009	0.6597	0.0168	0.6597	Alt Pop_4
744	Biz-Bio	Kumluca	0.1982	0.3106	0.2203	0.2409	0.03	0.3106	Alt Pop_2
745	Biz-Bio	Kumluca	0.2717	0.1145	0.0888	0.5143	0.0107	0.5143	Alt Pop_4
751	Doga	Kumluca	0.1725	0.4572	0.1567	0.0998	0.1138	0.4572	Alt Pop_2
752	Doga	Kumluca	0.3591	0.125	0.1541	0.302	0.0598	0.3591	Alt Pop_1
753	Doga	Kumluca	0.5371	0.161	0.1559	0.1219	0.0242	0.5371	Alt Pop_1
754	Doga	Kumluca	0.082	0.629	0.108	0.17	0.011	0.629	Alt Pop_2
755	Doga	Kumluca	0.0532	0.4413	0.3654	0.1061	0.034	0.4413	Alt Pop_2
761	Koppert	Kumluca	0.7918	0.0533	0.101	0.0467	0.0072	0.7918	Alt Pop_1
762	Koppert	Kumluca	0.3489	0.113	0.0892	0.3781	0.0708	0.3781	Alt Pop_4

763	Koppert	Kumluca	0.0163	0.197	0.6384	0.1295	0.0188	0.6384	Alt Pop_3
-----	---------	---------	--------	-------	--------	--------	--------	--------	-----------

Çizelge 4.5. devamı

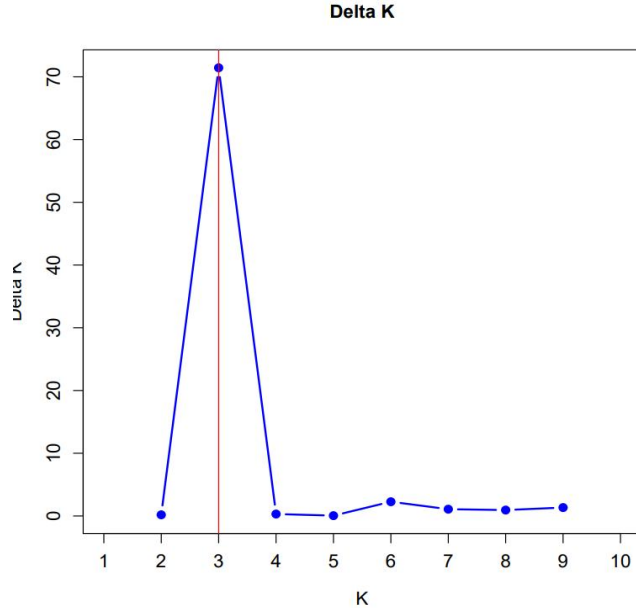
764	Koppert	Kumluca	0.6089	0.168	0.0718	0.0705	0.0808	0.6089	Alt Pop_1
765	Koppert	Kumluca	0.0153	0.1974	0.6418	0.0788	0.0666	0.6418	Alt Pop_3
811	Agro-Bio	Manavgat	0.1457	0.1235	0.4091	0.3147	0.007	0.4091	Alt Pop_3
812	Agro-Bio	Manavgat	0.1433	0.2846	0.2865	0.1025	0.1831	0.2865	Alt Pop_3
813	Agro-Bio	Manavgat	0.02	0.0772	0.2661	0.6287	0.008	0.6287	Alt Pop_4
814	Agro-Bio	Manavgat	0.0393	0.0926	0.0498	0.7905	0.0278	0.7905	Alt Pop_4
815	Agro-Bio	Manavgat	0.2181	0.0962	0.5583	0.1224	0.005	0.5583	Alt Pop_3
911	Agro-Bio	Serik	0.0638	0.135	0.2693	0.5145	0.0173	0.5145	Alt Pop_4
912	Agro-Bio	Serik	0.9188	0.0217	0.0163	0.0347	0.0085	0.9188	Alt Pop_1
913	Agro-Bio	Serik	0.4932	0.0873	0.1226	0.2781	0.0188	0.4932	Alt Pop_1
914	Agro-Bio	Serik	0.0453	0.1665	0.727	0.0372	0.024	0.727	Alt Pop_3
915	Agro-Bio	Serik	0.2051	0.1422	0.4926	0.0967	0.0634	0.4926	Alt Pop_3
951	Doga	Serik	0.0523	0.4503	0.3243	0.156	0.017	0.4503	Alt Pop_2
952	Doga	Serik	0.037	0.158	0.4844	0.2722	0.0483	0.4844	Alt Pop_3
953	Doga	Serik	0.0452	0.326	0.3771	0.2406	0.0112	0.3771	Alt Pop_3
954	Doga	Serik	0.0358	0.3378	0.2055	0.4024	0.0185	0.4024	Alt Pop_4
955	Doga	Serik	0.0575	0.1757	0.4812	0.2691	0.0165	0.4812	Alt Pop_3

Tüm poplasyonlar arasından sadece doğadan toplanan bireyler ile çalıştırılan Structure programından elde edilen veriler Harvester web ara yüzüne yüklenip çalıştırıldığında ise en büyük farklılık (ΔK) delta K değerini 5 bulunarak doğal Bambul arısı örneklerinin kaç adet alt popülasyonda incelenmesi gerektiği ortaya çıkarılmıştır (Şekil 4.7.). Fakat Structure'dan elde edilen bu delta K grafiğinde $K = 5$ değeri sonrasında çizelgenin bir plato oluşturmaması ve doğrusal bir düzlemde ilerlememesi doğa popülasyonları arasında seralarda bulunan ticari kovanlardan kaçmış bireyler olma olasılığı ihtimalini de göz önünde bulundurmamak gerektiğini bir kez daha göstermektedir.



Şekil 4.7. Sadece doğadan toplanan bireylerden elde edilen verilerin Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen (ΔK) delta K değerine ait olasılık grafiği

Her lokasyondan toplanan ticari firmalardan elde edilen 76 adet birey arasında da ayrıca çalıştırılan Structure programı bu örnekler için en büyük farklılık (ΔK) delta K değerini 3 bulunarak ticari kökenli Bambul arısı örneklerinin 3 adet alt popülasyonda incelenmesi gerektiği ortaya çıkarılmıştır (Şekil 4.8.).



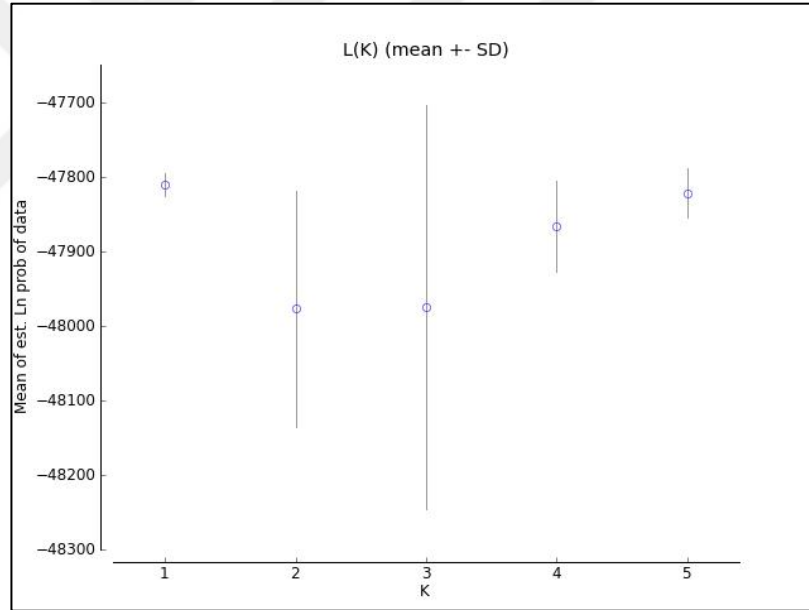
Şekil 4.8. Sadece ticari kovanlardan alınan bireylerden elde edilen verilerin Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen (ΔK) delta K değerine ait olasılık grafiği

Ticari firmalardan alınan örnekler 3 alt popülasyona ayrıldıktan sonra;

Agro-Bio, Biobest ve Biz-Bio firması kendi içerisinde benzerlik göstermiş ve Alt Popülasyon_1'i oluşturmuş. Koppert firması kendi içerisinde benzerlik göstermiş ve Alt Popülasyon_2'yi oluşturmuş Baş-Arı firması ise diğer alt popülasyonlardan sıyrılarak Alt Popülasyon_3 olarak ayrışma göstermiştir (Çizelge 4.6.)

Çizelge 4.6. 3 alt popülasyona ayrılan ticari firmalardan toplanan bireylerin alt popülasyonlara ait üyelik değerleri

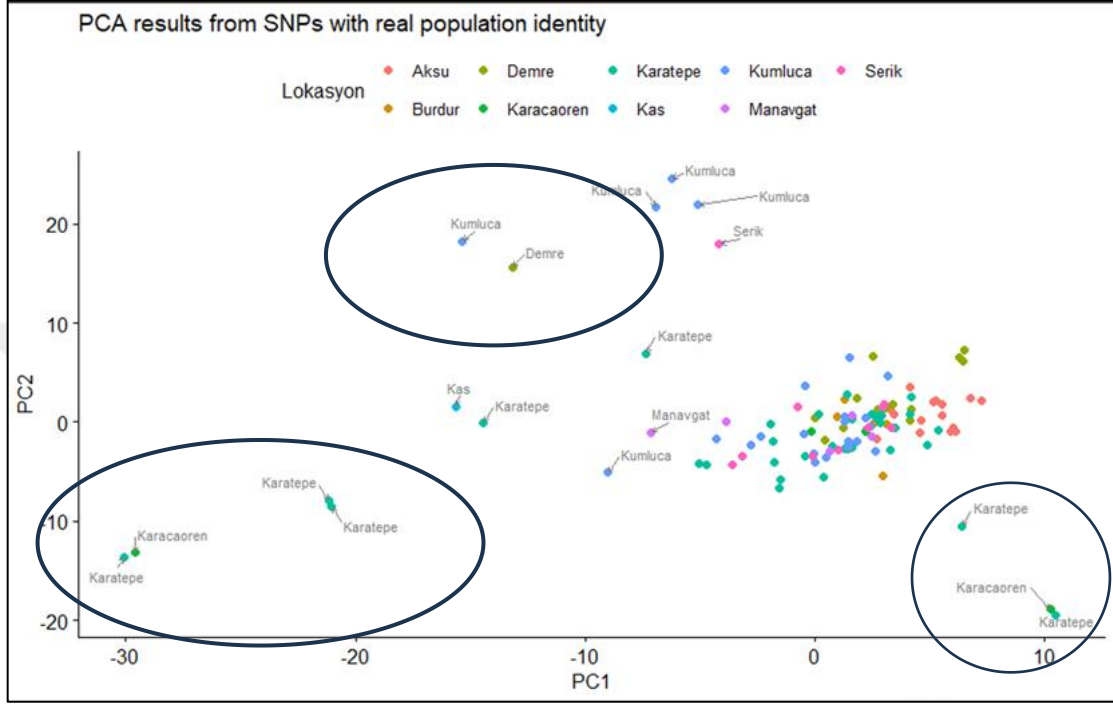
Firmalar	Alt Popülasyon 1	Alt Popülasyon 2	Alt Popülasyon 3	% Üyelik Değeri	Ait Olduğu Alt Popülasyon
Agro-Bio	8.2027	6.466	9.3312	62%	Alt Populasyon 1
Bas-Arı	1.8182	1.1126	2.0692	82%	Alt Populasyon 3
Biobest	5.2652	6.4174	3.3175	69%	Alt Populasyon 1
Biz-Bio	2.3092	1.6594	1.0314	75%	Alt Populasyon 1
Koppert	10.8681	6.6723	10.4595	60%	Alt Populasyon 2



Şekil 4.9. Structure Harvester web ara yüzünden elde edilen verilen standart sapma grafiği

4.1.4 PCoA (Principal Component Analysis) temel bileşenler analizi tamamlayıcı çalışmaların sonuçları

PCoA grafikleri 2 boyutta değerlendirildiğinde dikey düzlemde düşen uzaklıklar daha anlamlı hale gelmektedir. Çalışmamızda da dikey düzlemdeki uzaklıklar ele alınarak analizler değerlendirilmiştir (Jackson 2005).

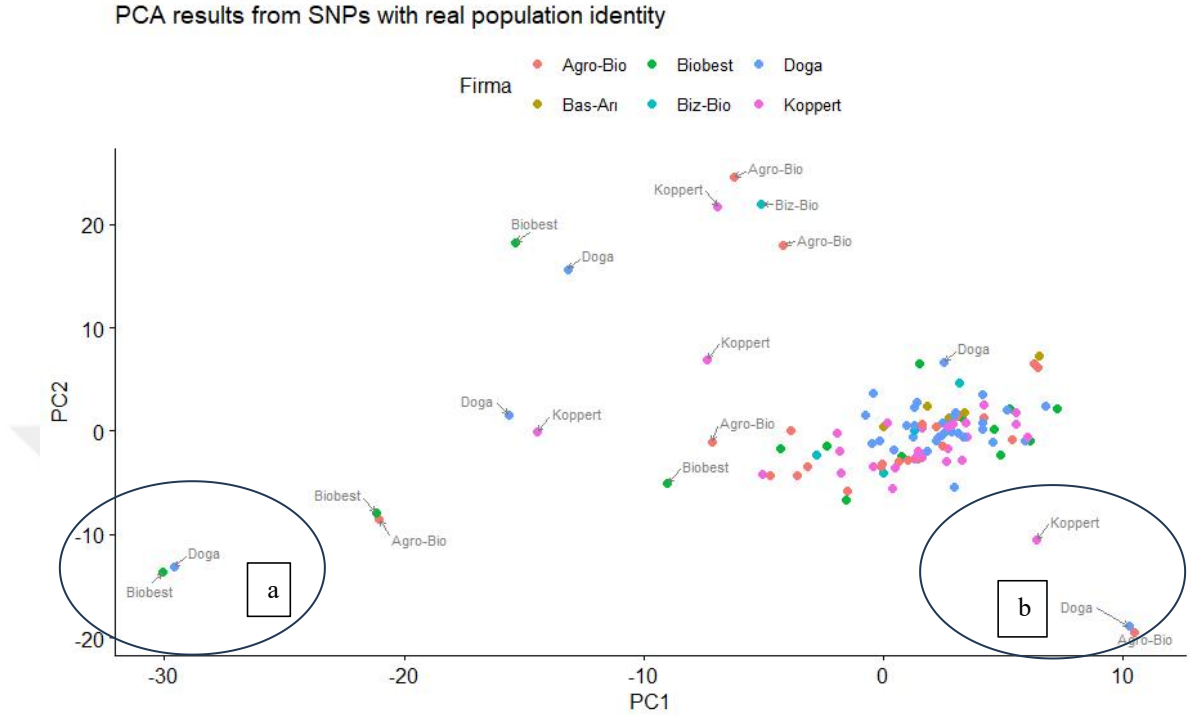


Şekil 4.10. Tüm bireylerin lokasyonlara göre karşılaştırmalı PCoA grafiği

Lokasyonların karşılaştırmalı olarak gösterildiği PCoA grafiğinde Popların yoğun gen alışverişinin ve benzerliğinin olduğu bölge değerlendirme dışında tutularak yorumlandığında; Şekil 4.10'da 3 ayrı alt bölgede en yüksek genetik uzaklıkların öne çıktığı görülmektedir. Bu bölgeler Karacaören, Karatepe ve Demre - Kumluca bölgeleridir. Karatepe'nin yayla yani yüksek rakımlı kısmından toplanan doğa örnekleri, Karacaören bölgesinin Antalya şehir merkezine uzaklığı ve Kumluca - Demre'nin ise birbirine olan yakınlığı fakat yine Antalya'nın merkez ilçelerine olan uzaklığı ile coğrafi olarak en uzak bölgelerin genetik olarak en çok farklılık gösteren bölgeler olması anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Yüksek rakım ve yüzey şekilleri olarak korunmuş ve Antalya'nın düz-ova kısmından uzak olan bu bölgelerde belirgin farklı alt popülasyonlar çıkması; yüzey şekillerinin genetik olarak farklı popülasyonlar oluşturduğu, buzul veya çöl gibi daha izole bölgelerde nispeten korunmuş türlere rastlandığı daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Silvia vd. 2019). İber yarımadasında yapılan bir çalışmada, *Bombus terrestris* türünü analiz etmek için RADseq kullanılmış ve genetik olarak daha önce tanımlanmamış farklılaşmalar saptanmıştır. Çalışmanın devamında bu farklılığın İberya ile Kuzey Afrika arasındaki coğrafi engellerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Aynı çalışma adada tür içi genetik varyasyonun büyük bir kısmını barındırdığını ortaya

çıkarmış, sonuçlar Avrupa'daki herhangi bir bölge ile karşılaştırıldığında en yüksek sayıda mitokondriyal haplotipe rastlanmıştır.

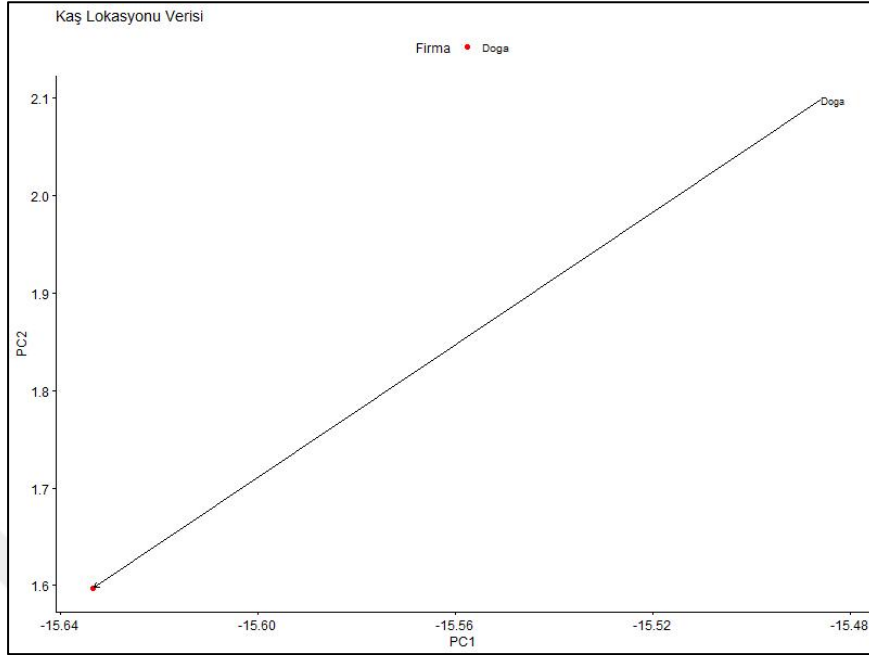


Şekil 4.11. Ticari firmaların ve doğa popülasyonlarının karşılaştırıldığı PCoA grafiği

Çalışmada ticari firmaların kovanlarından elde edilen ve doğa popülasyonları Şekil 4.11'de görüldüğü üzere yoğun olarak toplandığı gruplaşmalar dışında kalan kümelerde doğadan toplanan örneklerin bulunması (Şekil 4.10.) beklenen bir sonuç olarak yorumlanmıştır. Ancak, farklı kümeleşmiş doğa örneklerine genetik olarak çok yakın bulunan bazı ticari firma örnekleri de gözlemlenmiştir. Bu örneklerin ait oldukları ticari gruplardan ayrılarak varyasyon göstermesi, örnekleme aşamasında bazı doğa örneklerinin kovanlardan kaçan ve açık sahada doğa popülasyonuna ait bireylermiş gibi toplanmış olabileceği ihtimalini akla getirmektedir. Benzer şekilde; bazı kovanlardan alınan örneklerin bulundukları kovana ait diğer bireylerden çok farklı bir genetik yapıya sahip olması ve farklı yerde konumlanması, kovandan alınan bazı örneklerin doğada bulunan bireyin kovandaki şurup, polen ve besin gibi avantajlardan yararlanmak adına istilacı olarak kovanda bulunduğunu düşündürmektedir. Ticari firmaların üretim hızı ve çalışmamızdaki örneklerin farklı haftalarda toplandığı göz önüne alındığında; firmaların doğadan kontrolsüz kraliçe damızlık kullanarak kovan varyasyonunu arttırmak ve kendileme stresini azaltmak için aşılama yapması ihtimalinin de düşünülmesi gerekmektedir.

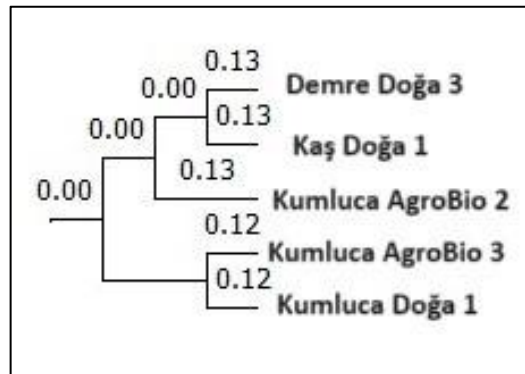
Kaş bölgesinde tarım alanlarından uzak park ve bahçelerdeki peyzaj alanlarından aynı gün toplanmış 2 adet örneğin, PcoA grafikleri ve filogenetik ağaç üzerindeki bağlantılardan yola çıkarak farklı 2 grupta toplandığı görülmektedir (Şekil 4.11.a) ve (Şekil 4.11.b.). Grafikte sol altta yer alan birey popülasyonun diğer bireyleriyle karşılaştırıldığında doğadan toplanan örnekler ile aynı gruba düşerken (Şekil 4.11.)

diğer örnek ticari popülasyonların toplandığı grubun içerisine yakın konumlandığı görülmektedir.

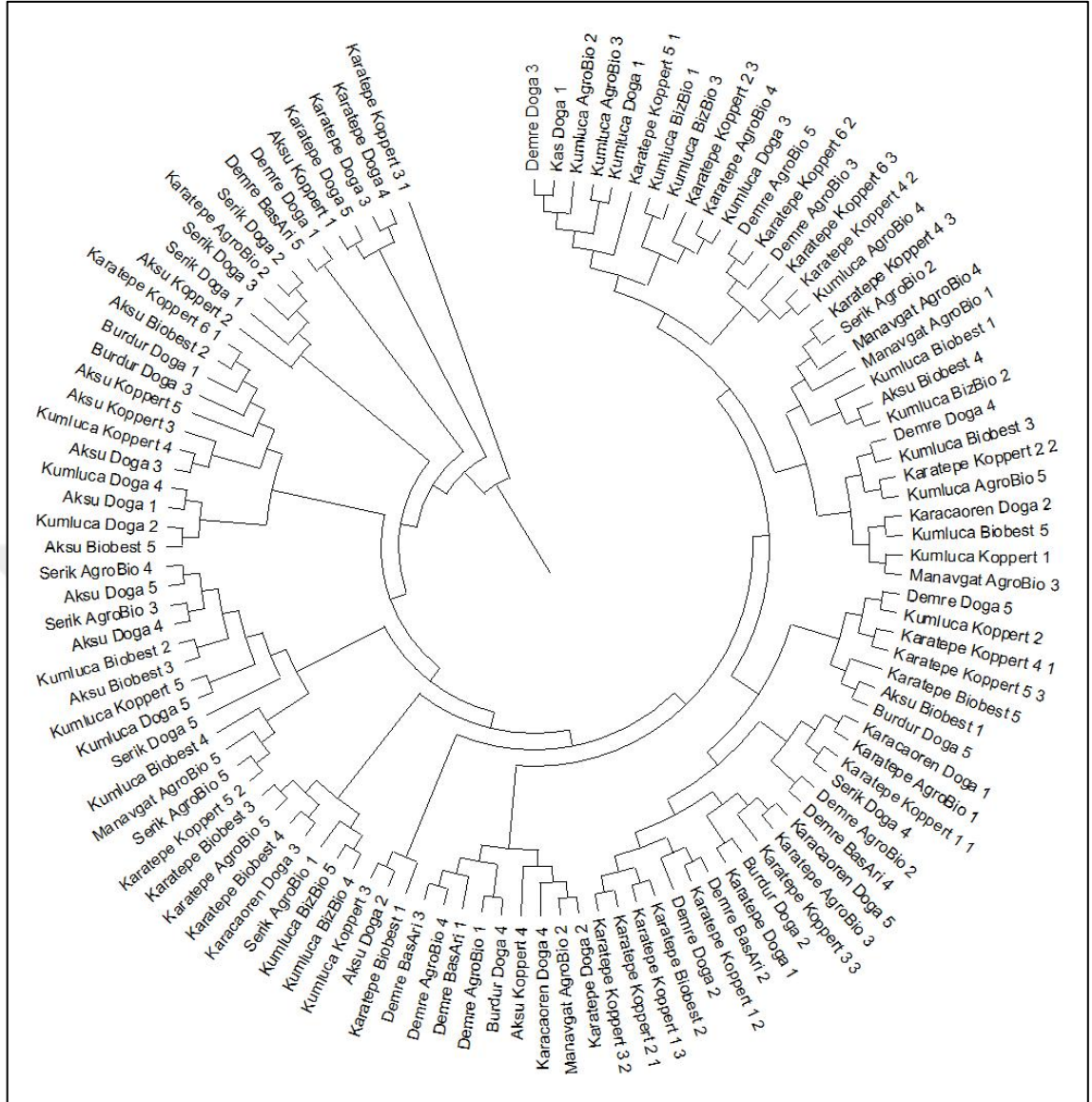


Şekil 4.12. Kaş Lokasyonundan Doğadan toplanan örneklerin kendi içerisinde gruplandırılması sonucu elde edilen PCoA grafiği görseli

Kaş, Kumluca ve Demre’den toplanan ve birbirine oldukça yakın çıkan bu Doğa popülasyonları filogenetik ağaç ile ilişkilendirdiğinde; yine Kumluca’dan toplanan AgroBio firmasının kovan örnekleri ile yüksek oranda genetik benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Antalya’nın Batı kıyı bölgelerinden (Demre, Kaş, Kumluca) toplanan bazı örneklerin filogenetik ağaç şeması üzerinde gösterimi



Şekil 4.14. MEGA11 Programı ile çizilen tüm alt popülasyonların içerisinde bulunduğu *Bombus terrestris* örneklerini temsil eden filogenetik ağaç görseli

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında Antalya ve 8 farklı bölgesinden toplanan örnekler ile Bambul arısı popülasyonlarının genetik yapısı ve popülasyonlar arasında gen alışverişinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Yapılan analizler ve genetik yapı çalışmaları sonucunda doğa popülasyonlarından bazı bireyler hariç firmalar arası ve lokasyonlar arası bariz bir genetik farklılık görülmemiştir.

Bu konuda literatür incelendiğinde Dünya'nın farklı bölgelerinde tozlama ajanı olarak kullanılan ve ticari üretimi yapılan Bambul türlerinin Dünya genelinde çok ciddi düşük genetik çeşitlilik gösterdiği ve tehlike altındaki türler grubunda bulundurulabileceğine dair yayınlar ile karşılaşmıştır. Karslı (2018), Türkiye'de daha önce aynı bölgeden yani Antalya bölgesinde yapılan farklı bir çalışmada benzer sonuçları gözlenlenmiş ve hatta bu çalışmada aradan geçen 6 yılda popülasyon çeşitliliğinde azalmanın arttığı gözlemlenmiştir.

Darvill vd. (2008) omurgasız popülasyonlarında koruma çalışmaları yapılmadığı ve bu çalışmaların öneminin Bambul arıları popülasyonlarındaki öneminin yeterince anlaşılmadığına değinmiştir. Mikrosatelit yöntemine dayalı yaptığı bu çalışmada 10 km'den uzakta bulunan bölgelerdeki gruplarda genetik farklılık ($q=0.12$) ayrıca adalarda ve ana karadaki gruplarında farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Fakat yüzey şekilleri bakımından izole olarak ifade edilen bölgelerde ise çalışmadaki 16 popülasyonun 10 tanesinde olası bir darboğazın varlığını gözlemlenmişlerdir. Sonuç olarak bu çalışma coğrafi şekiller bakımından akraba çiftleşmesi gösteren popülasyonların genetik farklılıklar açısından bir dar boğazda olduğu ve koruma çalışmalarının gündeme gelmesi gerektiğini belirtmiştir. Bu açıdan mevcut çalışmada Antalya'nın Batı kıyıları ve Doğu kıyılarından toplanan popülasyonların kendi içerisinde daha yüksek benzerlik göstermesi hem mesafe hem de yer şekillerinin genetik farklılaşma için etkin olduğunu destekler niteliktedir. Ayrıca örneklem yapılan 9 bölgenin tamamının denize kıyı uzanan dağlar ile kendi içerisinde bir ada ekolojisine benzer yer şekilleri göstermesi de bunun sonucu olabilir.

İnsan faktörünün habitatları parçalaması popülasyonların hayatta kalmasını olumsuz etkilemekte, bunun birey sayısı değil, popülasyon başına yuva sayısı popülasyon büyüklüğünü temsil ettiğini, dolayısıyla genetik çeşitlilik kaybına özellikle yatkın olabileceği belirtilmiştir (Ellis vd. 2006). Bambul arıları (*Bombus* spp.) gibi sosyal Hymenoptera türleri arasında genetik çeşitliliğin aşınması özellikle önemli olmaktadır. Çalışmadan izole gruplar arasındaki genetik çeşitliliği “yüksek derecede düşük” ifadesi ile belirtilmiş ve gelecekteki olası popülasyon kayıplarına birçok kez dikkat çekilmiştir. Bambul arılarında akrabalı yetiştirmenin neden olduğu hassasiyetlerin bu düşük popülasyon çeşitliliğine sebep olduğuna değinilmiştir. Silve vd. (2019) ise çalışmasında buzul bir sığınakta tamamen izole şekilde bulunan yaşam alanlarından elde edilmiş bireylerde yüksek genetik çeşitliliğe sahip fakat şekillenmemiş genetik yapıya sahip bir *Bombus terrestris* türü tespit etmiştir.

Bu çalışmadan edinilen deneyim ve bulgular ışığında gelecek çalışmalar için ticari firmaların üretim alanlarından direk alınan örnekler üzerinden çalışılması örneklerin aidiyeti konusundaki soru işaretlerini ortadan kaldıracaktır. Böylelikle ticari Bambul arısı üretimlerindeki olası kendileme stresi etkileri veya istilacı türlerin ticari pazarlar aracılığıyla doğadaki türleri tehdit altında bırakıp bırakmadıkları daha net bir şekilde ortaya çıkarılabilir. Sonuçlar doğal tozlayıcılar olan Bambul arılarının kontrolsüz ve genetik açılıma yatkın şekilde akraba temelli ticari üretiminin çok dar bir alanda büyük coğrafik sınırlamalar içerisinde (deniz, yüksek sıra dağlar, kıyı şeridi boyunca uzanan yerleşik hayat) olan Antalya bölgesinde yapılan üretilmi ve yüksek oranda ticari kovan şeklinde tek yönlü kullanımı ve doğal alanlar oluşturulmaması Bambul arılarının doğal yaşam alanlarını da baskılayarak genetik erozyon olasılığını artırabilir.



6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında Bambul arısı popülasyonlarının ticari kitle üretiminde oluşacak güncel sorunlara ışık tutmak ve çözüm bulmak hedeflenmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalar göstermiştir ki toplanan örneklerden elde edilen 5 alt popülasyon düşük-orta derecede genetik farklılık göstermiş fakat özellikle ticari koloniler arasında beklenen düzeyde yüksek farklılıklar gözlenmemiştir. Ticari firmaların yabancı kaynaklı damızlık kraliçe satın alması, 20 yıl gibi bir süredir özellikle Akdeniz bölgesinden toplanan kraliçelerin Belçika, Slovenya gibi ülkelerde ticari firmaların üretim tesislerine götürülmesi ve kesintisiz akrabalı üretim yapılmasının Antalya ilinde bulunan doğal popülasyonların genetik çeşitliliğine negatif etkisi olduğu gözlenmiştir. Genetik çeşitlilikte yaşanan bu stres dolayısıyla zaman içerisinde negatif etkilenen kitle üretimi içerisinde de akrabalı yetiştirme stresi etkileri gözlemlenmiştir. Buna çözüm olarak yine yıllar içerisinde ticari firmalar tarafından bilinçsizce doğadan toplanan yuva arayan kraliçelerin alt türlerine bakılmaksızın kitle üretimine sokulması ticari firma üretimlerinde kalite sorunlarına yol açtığı rapor edilmiştir (Sarro vd. 2022). Bu çalışma sayesinde bölgedeki ticari kovanlardaki Bambul arılarının genetik çeşitliliği hakkında bilgi sahibi olmak, ayrıca doğadan toplanan taksonlarda genetik ve fenotipik çeşitlilik ve farklılaşma modellerini ortaya koymak ve gelecekteki özellikle akrabalı üretim stresine karşı yapılacak çalışmalara ışık tutmak amaçlı veri setleri oluşturulmuştur.

Bölgelerden bağımsız ticari popülasyonlarda kendi içlerinde belirgin bir kümelenme gözlenmektedir. Bu kümelenme beklenildiği gibi ticari firmalar arasında belirgin bir genetik farklılık olmadığını ortaya koymaktadır. Doğadan toplanan bazı bireylerin özellikle yüksek rakım ve Antalya'nın Batı kıyılarındaki ilçelerden alınan bireylerin alt popülasyonların kalanları ile arasında orta seviyede genetik farklılıklar gözlenmiştir.

Doğadan toplanan örneklerde kolonilerin geniş yapısı fazla birey içermesi fakat doğal kovanların bulunabilecekleri alanlardaki rekabet nedeni ile birbirine çok uzak alanda kovan kurabilen toplulukların kendi içerisinde farklı olabileceği hipotezini destekler sonuçlar alınmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G., and Hohenlohe, P. A. 2016. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *National Review of Genetics*, 17(2), 81–92.
- Ashton, P. M., Nair, S., Dallman, T., Rubino, S., Rabsch, W., Mwaigwisya, S., Wain, J., O’Grady, J. 2014. MinION nanopore sequencing identifies the position and structure of a bacterial antibiotic resistance island. *Nature Biotechnology*, 33, 296.
- Asmann, Y. W., Wallace, M. B., ve Thompson, E. A. (2008). Transcriptome Profiling Using NextGeneration Sequencing. *Gastroenterology*, 135(5), 1466–1468.
- Aytekin, A. M., Rasmont P. ve Çagatay, N., 2003. Molecular and Morphometric Variation in *Bombus terrestris* lucoformis Krüger and *Bombus terrestris* dalmatinus Dalla Torre (Hymenoptera: Apidae). *Mellifera*. Vol. 3 No: 6. 34-40.
- Baird, N. A., Etter, P. D., Atwood, T. S., Currey, M. C., Shiver, A. L., Lewis, Z. A., Selker, E. U., Cresko, W. A., Johnson, E. A. (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PloS One*, 3(10), e3376.
- Balasubramanian, S. 2011. Sequencing nucleic acids: from chemistry to medicine. *Chemical Communications* (Cambridge, England), 47(26), 7281–7286.
- Barba, M., Czosnek, H., ve Hadidi, A. 2013. Historical perspective, development and applications of next-generation sequencing in plant virology. *Viruses*, 6(1), 106–136.
- Bayley, H. 2006. Sequencing single molecules of DNA. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10(6), 628–637.
- Bentley, D. R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H. P., Smith, G. P., Milton, J., Brown, C. G., Hall, K. P., Evers, D. J., Barnes, C. L., Bignell, H. R., Boutell, J. M., Bryant, J., Carter, R. J., Cheetham, R. K., Cox, A. J., Ellis, D. J., Flatbush, M. R., Gormley, N. A., (2008). Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*, 456, 53.
- Benton, T. 2000. The bumblebees of Essex. *The Nature of Essex Series*, No: 4, Loginga Books, Essex, Pp 179.
- Beton D 2004: Morphometric and genetic differentiation between Anatolia and Cyprus *Bombus terrestris* (L. 1758) populations. Msc thesis, Middle East Technical University, Turkey, Pp 86.
- Bradbury, Peter J., vd. 2007: "TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples." *Bioinformatics* 23.19 2633-2635.
- Branton, D., Deamer, D. W., Marziali, A., Bayley, H., Benner, S. A., Butler, T., Di Ventra, M., Garaj, S., Hibbs, A., Huang, X., Jovanovich, S. B., Krstic, P. S., Lindsay, S., Ling, X. S., Mastrangelo, C. H., Meller, A., Oliver, J. S., Pershin, Y. V., Ramsey, J. M., Riehn, R., Soni, G. V., Tabard-Cossa, V., Wanunu, M., Wiggins, M., Schloss, J. A. 2008 The potential and challenges of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology*, 26, 1146.

- Catchen, J. M., Amores, A., Hohenlohe, P., Cresko, W., ve Postlethwait, J. H. 2011. Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 1(3), 171–182.
- Chidgeavadze, Z. G., Beabealashvili, R. S., Atrazhev, A. M., Kukhanova, M. K., Azhayev, A. V, ve Krayevsky, A. A. 1984. 2',3'-Dideoxy-3' aminonucleoside 5'-triphosphates are the terminators of DNA synthesis catalyzed by DNA polymerases. *Nucleic Acids Research*, 12(3), 1671–1686.
- Chong, Z., Ruan, J., ve Wu, C.-I. 2012. Rainbow: an integrated tool for efficient clustering and assembling RAD-seq reads. *Bioinformatics*, 28(21), 2732–2737.
- Clarke, J., Wu, H.-C., Jayasinghe, L., Patel, A., Reid, S., ve Bayley, H. 2009. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing. *Nature Nanotechnology*, 4, 265.
- Consortium, I. H. G. S. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860.
- Consortium, I. H. G. S. 2004. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431, 931.
- Cronn, R., Knaus, B. J., Liston, A., Maughan, P. J., Parks, M., Syring, J. V, ve Udall, J. 2012. Targeted enrichment strategies for next-generation plant biology. *American Journal of Botany*, 99(2), 291–311.
- Curto, M., Puppo, P., Kratschmer, S., ve Meimberg, H. 2017. Genetic diversity and differentiation 57 patterns in *Micromeria* from the Canary Islands are congruent with multiple colonization dynamics and the establishment of species syngameons. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 198.
- Curto, M., Schachtler, C., Puppo, P., ve Meimberg, H. (2017). Using a new RAD-sequencing approach to study the evolution of *Micromeria* in the Canary islands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 119(November 2017), 160–169.
- Darwin, C., 1986. Über die Wege der Hummelmännchen, pp. 84-88, in E. Krause (ed.). *Gesammelte Schriften von Charles Darwin*, Vol. 2. Leipzig.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., ve Blaxter, M. L. 2011. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12(7), 499.
- Deng, M., Jiang, X. L., Hipp, A. L., Manos, P. S., ve Hahn, M. 2018. Phylogeny and biogeography of East Asian evergreen oaks (*Quercus* section *Cyclobalanopsis*; Fagaceae): Insights into the Cenozoic history of evergreen broad-leaved forests in subtropical Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 119(November 2017), 170–181.
- Deng, M., Zhou, Z.-K., ve Li, Q. 2013. Taxonomy and systematics of *Quercus* subgenus *Cyclobalanopsis*. *International Oaks (the Journal of the International Oak Society)* (Vol. 24).
- Denk, T., ve Grimm, G. W. 2010. The oaks of western Eurasia: traditional classifications and evidence from two nuclear markers. *Taxon*, 59(2), 351–366.

- Derrington, I. M., Butler, T. Z., Collins, M. D., Manrao, E., Pavlenok, M., Niederweis, M., ve Gundlach, J. H. 2010. Nanopore DNA sequencing with MspA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(37), 16060–16065.
- Després, L., Pettex, E., Plaisance, V., ve Pompanon, F. 2002. Speciation in the globeflower fly *Chiastocheta* spp.(Diptera: Anthomyiidae) in relation to host plant species, biogeography, and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22(2), 258–268.
- Dohm, J. C., Lottaz, C., Borodina, T., ve Himmelbauer, H. 2008. Substantial biases in ultra-short read data sets from high-throughput DNA sequencing. *Nucleic Acids Research*, 36(16), e105–e105.
- Eaton, D. 2014. PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 30(13), 1844–1849.
- Eaton, D. A. R., ve Ree, R. H. 2013. Inferring Phylogeny and Introgression using RADseq Data: An Example from Flowering Plants (*Pedicularis*: Orobanchaceae), 62(5), 689–706.
- Eid, J., Fehr, A., Gray, J., Luong, K., Lyle, J., Otto, G., Peluso, P., Rank, D., Baybayan, P., Bettman, B. 2008. Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules. *Science*
- Eisenstein, M. 2012. Oxford Nanopore announcement sets sequencing sector abuzz. *Nature Biotechnology*, 30, 295.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., ve Mitchell, S. E. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS One*, 6(5), e19379.
- Emerson, K. J., Merz, C. R., Catchen, J. M., Hohenlohe, P. A., Cresko, W. A., Bradshaw, W. E., ve Holzapfel, C. M. 2010. Resolving postglacial phylogeography using high-throughput sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201006538.
- English, A. C., Richards, S., Han, Y., Wang, M., Vee, V., Qu, J., Qin, X., Muzny, D. M., Reid, J. G., Worley, K. C., Gibbs, R. A. 2012. Mind the Gap: Upgrading Genomes with Pacific Biosciences RS Long-Read Sequencing Technology. *PLoS ONE*, 7(11), e47768.
- Erica Sarro, Amber Tripodi, S Hollis Woodard, 2022, Bumble Bee (*Bombus vosnesenskii*) Queen Nest Searching Occurs Independent of Ovary Developmental Status, Integrative Organismal Biology, Volume 4, Issue 1, obac007, <https://doi.org/10.1093/iob/obac007>
- Espíndola, A., Buerki, S., ve Alvarez, N. 2012. Ecological and historical drivers of diversification in the fly genus *Chiastocheta* Pokorny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2), 466–474.
- Etter, P. D., Bassham, S., Hohenlohe, P. A., Johnson, E. A., ve Cresko, W. A. 2011a. *Molecular Methods for Evolutionary Genetics*, 772(2), 1–19.

- Etter, P. D., Preston, J. L., Bassham, S., Cresko, W. A., ve Johnson, E. A. 2011b. Local De Novo 58 Assembly of RAD Paired-End Contigs Using Short Sequencing Reads. *PLoS ONE*, 6(4), e18561.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005 Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol. Jul;14(8):2611-20*. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x. PMID: 15969739
- Fedurco, M., Romieu, A., Williams, S., Lawrence, I., ve Turcatti, G. 2006. BTA, a novel reagent for DNA attachment on glass and efficient generation of solid-phase amplified DNA colonies. *Nucleic Acids Research*, 34(3), e22–e22.
- Gompert, Z., Lucas, L. K., Fordyce, J. A., Forister, M. L., ve Nice, C. C. (201). Secondary contact between *Lycaeides idas* and *L. melissa* in the Rocky Mountains: extensive admixture and a patchy hybrid zone. 19(15), 3171–3192.
- Gösterit A., Başkar V. C. 2016. Impacts of commercialization on the developmental characteristics of native *Bombus terrestris* L colonies. *Insectes Sociaux*, 63, 609-614
- Gut, I. G. 2013. New sequencing technologies. *Clinical and Translational Oncology*, 15(11), 879– 881.
- Gürel, F., Gösterit A., Eren O. 2008. Life cycle and foraging patterns of native *Bombus terrestris* (L.). (Hymenoptera: Apidae) in the Mediterranean region. *Insectes Sociaux*.
- Hall, N. 2007. Advanced sequencing technologies and their wider impact in microbiology. *Journal of Experimental Biology*, 210(9), 1518 LP-1525.
- Hammer, Øyvind, and David AT Harper. "Past: paleontological statistics software package for education and data analysis." *Palaeontologia electronica* 4.1 2001: 1.
- Heather, J. M., ve Chain, B. 2016. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1–8.
- Hipp, A. L., Eaton, D. A. R., Cavender-Bares, J., Fitzek, E., Nipper, R., ve Manos, P. S. 2014. A framework phylogeny of the American oak clade based on sequenced RAD data. *PLoS One*, 9(4), e93975.
- Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Etter, P. D., Stiffler, N., Johnson, E. A., ve Cresko, W. A. 2010. Population genomics of parallel adaptation in threespine stickleback using sequenced RAD tags. *PLoS Genetics*, 6(2), e1000862.
- Holley, R. H., Apgar, J., A. Everett, G., T. Madison, J., Marquisee, M., H. Merrill, S., Penswick, J. R., Zamir, A. 1965. *Structure of a Ribonucleic Acid*. *Science* (New York, N.Y.) (Vol. 147).
- Holley, R. W., Madison, J. T., ve Zamir, A. 1964. A new method for sequence determination of large oligonucleotides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 17(4), 389–394.
- Jain, M., Fiddes, I., Miga, K. H., Olsen, H. E., Paten, B., ve Akeson, M. 2015. Improved data analysis for the MinION nanopore sequencer. *Nature Methods*, 12(4), 351–356.

- Jombart, Thibaut. "adeqnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers." *Bioinformatics* 24.11 2008: 1403-1405.
- Kaftanoglu, O. 2000. The diversity and faunistics of bumblebees for pollination in greenhouses.. pp. 73-81 in Sommeijer M.J. ve De Ruijter A. (ed.) Insect pollination in Greenhouses: proceedings of the specialists' Meeting held in Soesterberg, The Netherlands, 30 September to 2 October 1999. Universiteit Utrecht, Utrecht, 220 pp.
- Kulski, J. K. 2016. Next-Generation Sequencing—An Overview of the History, Tools, and “Omic” Applications. In Next Generation Sequencing-Advances, Applications and Challenges. Intech.
- Levene, M. J., Korlach, J., Turner, S. W., Foquet, M., Craighead, H. G., ve Webb, W. W. 2003. Zeromode waveguides for single-molecule analysis at high concentrations. *Science*, 299(5607), 682– 686.
- Lim, H. C., Zou, F., Taylor, S. S., Marks, B. D., Moyle, R. G., Voelker, G., ve Sheldon, F. H. 2010. Phylogeny of magpie-robins and shamas (Aves: Turdidae: Copsychus and Trichixos): implications for island biogeography in Southeast Asia. *Journal of Biogeography*, 37(10), 1894–1906.
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L., Law, M. 2012. Comparison of nextgeneration sequencing systems. *BioMed Research International*, 2012.
- Loman, N. J., Misra, R. V, Dallman, T. J., Constantinidou, C., Gharbia, S. E., Wain, J., ve Pallen, M. J. 2012. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nature Biotechnology*, 30, 434.
- Loman, N. J., Quick, J., ve Simpson, J. T. 2015. A complete bacterial genome assembled de novo using only nanopore sequencing data. *Nature Methods*, 12, 733.
- Loman, N. J., ve Quinlan, A. R. 2014. Poretools: a toolkit for analyzing nanopore sequence data. *Bioinformatics*, 30(23), 3399–3401.
- Loomis, E. W., Eid, J. S., Peluso, P., Yin, J., Hickey, L., Rank, D., McCalmon, S., Hagerman, R. J., Tassone, F., Hagerman, P. J. 2013. Sequencing the unsequenceable: Expanded CGG-repeat
- Luikart, G., England, P. R., Tallmon, D., Jordan, S., ve Taberlet, P. 2003. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nature Reviews Genetics*, 4(12), 981.
- Mardis, E. R. 2008. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 9, 387–402.
- Marguerat, S., Wilhelm, B. T., ve Bähler, J. 2008. Next-generation sequencing: applications beyond genomes. Portland Press Limited.
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bemben, L. A., Berka, J., Braverman, M. S., Chen, Y., Chen, Z., Dewell, S. B., Du, L., Fierro, J. M., Gomes, X. V., Godwin, B. C., He, W., Helgesen, H., Ho, C. H., Irzyk, G. P., Jando, S. C., Alenquer, M. L., Jarvie, T. P., Jirage, K. B., Kim, J., Knight, J. R., Lanza, J. R., Leamon, J. H., Lefkowitz, S. M., Lei, M., Li, J., Lohman, K. L., Lu,

- H., Makhijani, V. B., McDade, K. E., McKenna, M. P., Myers, E. W., Nickerson, E., Nobile, J. R., Plant, R., Puc, B. P., Ronan, M. T., Roth, G. T., Sarkis, G. J., Simons, J. F., Simpson, J. W., Srinivasan, M., Tartaro, K. R., Tomasz, A., Vogt, K. A., Volkmer, G. A., Wang, S. H., Wang, Y., Weiner, M. P., Yu, P., Begley, R. F., Rothberg, J. M. 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437, 376.
- McGinn, S., ve Gut, I. G. 2013. DNA sequencing - spanning the generations. *New Biotechnology*, 30(4), 366–372.
- McKernan, K. J., Peckham, H. E., Costa, G. L., McLaughlin, S. F., Fu, Y., Tsung, E. F., Clouser, C. R., Dunca, C., Ichikawa, J. F., Lee, C. C., Zhang, Z., Ranade, S. S., Dimalanta, E. T., Hyland, F. C., Sokolsky, T. D., Zhang, L., Sheridan, A., Fu, H., Hendrickson, C. L., Li, B., Kotler, L., Stuart, J. R., Malek, J. A., Manning, J. M., Antipova, A. A., Perez, D. S., Moore, M. P., Hayashibara, K. C., Lyons, M. R., Beaudoin, R. E., Coleman, B. E., Laptewicz, M. W., Sannicandro, A. E., Rhodes, M. D., Gottimukkala, R. K., Yang, S., Bafna, V., Bashir, A., MacBride, A., Alkan, C., Kidd, J. M., Eichler, E. E., Reese, M. G., De La Vega, F. M., Blanchard, A. P. 2009. Sequence and structural variation in a human genome uncovered by short-read, massively parallel ligation sequencing using two-base encoding. *Genome Research*, 19(9), 1527–1541.
- Mellmann, A., Harmsen, D., Cummings, C. A., Zentz, E. B., Leopold, S. R., Rico, A., Prior, K., Szczepanowski, R., Ji, Y., Zhang, W., McLaughlin, S. F., Henkhaus, J. K., Leopold, B., Bielaszewska, M., Prager, R., Brzoska, P. M., Moore, R. L., Guenther, S., Rothberg, J. M., Karch, H. 2011. Prospective Genomic Characterization of the German Enterohemorrhagic Escherichia coli O104:H4 Outbreak by Rapid Next Generation Sequencing Technology. *PLoS ONE*, 6(7), e22751.
- Metzker, M. L. 2009. Sequencing technologies — the next generation. *Nature Reviews Genetics*, 11, 31.
- Morozova, O., ve Marra, M. A. 2008. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics*, 92(5), 255–264.
- Mortazavi, A., Williams, B. A., McCue, K., Schaeffer, L., ve Wold, B. 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature Methods*, 5(7), 621.
- Ng, E. Y. X., Garg, K. M., Low, G. W., Chattopadhyay, B., Oh, R. R. Y., Lee, J. G. H., ve Rheindt, F. E. 2017. Conservation genomics identifies impact of trade in a threatened songbird. *Biological Conservation*, 214(July), 101–108.
- Niedringhaus, T. P., Milanova, D., Kerby, M. B., Snyder, M. P., ve Barron, A. E. 2011. Landscape of Next-Generation Sequencing Technologies. *Analytical Chemistry*, 83(12), 4327–4341.
- Nyrén, P. 1987. Enzymatic method for continuous monitoring of DNA polymerase activity. *Analytical Biochemistry*, 167(2), 235–238.
- Ozbek, H. 1978. Dogu Anadolu'nun bazı yörelerinde elma ağaçlarında tozlasma yapan arılar (Hymenoptera: Apoidea). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi Cilt:9 Sayı:4 (Ayri Baskı):73-83.

- Ozbek, H. 1983. Dogu Anadolu'nun bazı yörelerindeki Bombinae (Hymenoptera; Apoidea, Bombidae) türleri üzerinde taksonomik ve bazı biyolojik çalışmalar. Atatürk Üniversitesi Basimevi, Erzurum 70 pp.
- Ozbek, H. 1990. Palandöken ve Kargapazari Dağları arı (Hymenoptera: Apoidea) faunası. X. Ulusal Biyoloji Kongresi 18-20 Temmuz 1990. Erzurum. 153-162.
- Ozbek, H. 1997. Bumblebees fauna of Turkey with distribution maps (Hymenoptera: Apidae: Bombinae) Part1: *Alpigenobombus* Skorikov, *Bombias* Robertson and *Bombus* Latreille. *Türkiye Entomoloji Dergisi* 21(1):37-56.
- Öztürk, A.İ., 1996. Bambul arıları (Apidae: Bombinae) ve örtü altı tarımında tozlayıcı olarak kullanıma olanakları. *Hayvancılık 96 Ulusal kongresi Bildirileri* (18-20 Eylül 1996). Cilt 1. İzmir.
- Paul H. Williams, Sydney A. Cameron, Heather M. Hines, Bjorn Cederberg and Pierre Rasmont., 2008. A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*). *Apidologie*, 39 1 (2008) 46-74
- Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., ve Hoekstra, H. E. 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and nonmodel species. *PloS One*, 7(5), e37135.
- Porras-Hurtado, Liliana, et al. 2013 "An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software." *Frontiers in genetics* 4: 98.
- Puppo, P., Curto, M., ve Meimberg, H. 2016. Genetic structure of *Micromeria* (Lamiaceae) in Tenerife, the imprint of geological history and hybridization on within-island diversification. *Ecology and Evolution*, 6(11), 3443-3460.
- Quail, M. A., Smith, M., Coupland, P., Otto, T. D., Harris, S. R., Connor, T. R., Bertoni, A., Swerdlow, H. P., Gu, Y. (201. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. 13, 341.
- Quick, J., Quinlan, A. R., ve Loman, N. J. 2014. A reference bacterial genome dataset generated on the MinION™ portable single-molecule nanopore sequencer. *GigaScience*, 3, 22.
- Rasmont, P. ve Flagothier D. 1996. Biogéographie et choix floraux des bourdons (Hymenoptera, Apidae) de la Turquie. N.A.T.O.-O.T.A.N. TU-Pollination project, rapport préliminaire, Université de Mons-Hainaut, Adana Çukurova Üniversitesi, 69 + 3 pp. (aussi comme mémoire de fin d'étude avec comme auteur Flagothier D.
- Rasmont, P., Aytekin A., M., Kaçar, M., S. 2008. Ousting of the Common Redstart (Aves: Turdidae: *Phoenicurus phoenicurus*) From Its Nests by the Bumblebee *Bombus niveatus vorticatus* (Hymenoptera: Apidae). *Annales de la Société Entomologique de France*. 44 (2): 251-255.
- Rasmont, P., Coppée A., Michez D. ve De Meulemeester T. 2008. An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annales de la Société entomologique de France* (n. s.), 44 (2): 243-250.
- Razkin, O., Sonet, G., Breugelmans, K., Madeira, M. J., Gómez-Moliner, B. J., ve Backeljau, T. 2016. Species limits, interspecific hybridization and phylogeny in

- the cryptic land snail complex *Pyramidula*: The power of RADseq data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 101, 267–278.
- Reuter, J. A., Spacek, D. V., ve Snyder, M. P. 2015. High-Throughput Sequencing Technologies. *Molecular Cell*, 58(4), 586–597.
- Rokas, A., ve Abbot, P. 2009. Harnessing genomics for evolutionary insights. *Trends in Ecology ve Evolution*, 24(4), 192–200.
- Ronaghi, M., Karamohamed, S., Pettersson, B., Uhlén, M., ve Nyrén, P. 1996. Real-Time DNA Sequencing Using Detection of Pyrophosphate Release. *Analytical Biochemistry*, 242(1), 84–89.
- Ronaghi, M., Uhlén, M., ve Nyrén, P. 1998. A Sequencing Method Based on Real-Time Pyrophosphate. *Science*, 281(5375), 363 LP-365.
- Rothberg, J. M., vd. 2011. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*, 475, 348.
- S. A. Cameron, H. M. Hines, P. H. Williams., 2007. A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). *The Linnean Society of London, Biological Journal of the Linnean Society*, 2007, 91, 161–188.
- Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, J. C., Hutchison, C. A., Slocombe, P. M., Smith, M. (1977. Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. *Nature*, 265, 687.
- Sanger, F., Nicklen, S., ve Coulson, A. R. (1977b). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463– 5467.
- Schadt, E. E., Turner, S., ve Kasarskis, A. 2010. A window into third-generation sequencing. *Human Molecular Genetics*, 19(R2), 227–240.
- Shendure, J., Porreca, G. J., Reppas, N. B., Lin, X., McCutcheon, J. P., Rosenbaum, A. M., Wang, M. D., Zhang, K., Mitra, R. D., Church, G. M. 2005. Accurate Multiplex Polony Sequencing of an Evolved Bacterial Genome. *Science*, 309(5741), 1728 LP-1732.
- Smith, L. M., Sanders, J. Z., Kaiser, R. J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, C. R., Heiner, C., Kent, S. B. H., Hood, L. E. 1986. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature*, 321, 674.
- Solignac, M., Mougél, F., Vautrin, D., Monnerot, M., ve Cornuet, J. M. 2007. A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. *Genome biology*, 8, 1-14.
- Stolle, E., Wilfert, L., Schmid-Hempel, R. et al. A second generation genetic map of the bumblebee *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) reveals slow genome and chromosome evolution in the Apidae. *BMC Genomics* 12, 48 (2011). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-48>
- Suchan, T., Espíndola, A., Rutschmann, S., Emerson, B. C., Gori, K., Dessimoz, C., Arrigo, N., Ronikier, N., Alvarez, N. 2017. Assessing the potential of RAD-sequencing to resolve phylogenetic relationships within species radiations: The

- fly genus *Chiastocheta* (Diptera: Anthomyiidae) as a case study. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 114, 189–198.
- Tamura, Koichiro, Glen Stecher, and Sudhir Kumar. "MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11." *Molecular biology and evolution* 38.7 (2021): 3022-3027.
- Tawfik, D. S., ve Griffiths, A. D. 1998. Man-made cell-like compartments for molecular evolution. *Nature Biotechnology*, 16, 652.
- Turcatti, G., Romieu, A., Fedurco, M., ve Tairi, A.-P. 2008. A new class of cleavable fluorescent nucleotides: synthesis and optimization as reversible terminators for DNA sequencing by synthesis. *Nucleic Acids Research*, 36(4), e25–e25.
- Van Tassell, C. P., Smith, T. P. L., Matukumalli, L. K., Taylor, J. F., Schnabel, R. D., Lawley, C. T., 63 Haudenschild, C. D., Moore, S., Warren, W., Sonstegard, T. S. 2008. SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. *Nature Methods*, 5(3), 247.
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., Holt, R. A. 2001. The sequence of the human genome. *Science*, 291(5507), 1304–1351.
- Voelkerding, K. V, Dames, S. A., ve Durtschi, J. D. 2009. Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. *Clinical Chemistry*, 55(4), 641 LP-658.
- Watson, J. D., ve Crick, F. H. C. 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171, 737.
- Wilding, C. S., Grahame, J., ve Mill, P. J. 2000. Mitochondrial DNA CoI haplotype variation in sibling species of rough periwinkles. *Heredity*, 85(1), 62.
- Zavinon, F.; Adoukonou-Sagbadja, H.; Keilwagen, J.; Leinert, H.; Ordon, F.; Perovic, D. 2020. Genetic diversity and population structure in Beninese pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Huth] landraces collection revealed by SSR and genome wide SNP markers. *Genet. Res. Crop. Evol.* 2020, 67, 191–208.

ÖZGEÇMİŞ

ASLI HÜRRİYET

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2020-2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Ege Üniversitesi
2014-2018	Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Biyoteknoloji Departman Müdürü	ENZA ZADEN Tarım AR&GE LTD. ŞTİ.
2021-Devam Ediyor	
Moleküler Entomoloji Laboratuvar Yöneticisi	BİOBEST Biyolojik Mücadele LTD. ŞTİ.
2019-2021	

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Hürriyet, A.; Pijnakker, J.; Petit, C.; Vangansbeke, D.; Duarte, M.V.A.; Arijs, Y.; Moerkens, R.; Sutter, L.; Maret, D.; Wäckers, F. Evaluation of Phytoseiid and Iolinid Mites for Biological Control of the Tomato Russet Mite *Aculops lycopersici* (Acari: Eriophyidae).

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- N. Gürbüz Çolak, A. Hürriyet Bozdağ, AN IN-SILICO APPROACH TO IDENTIFY POTENTIAL NATURAL COMPOUNDS AS PESTICIDES AGAINST TOMATO MOSAIC VIRUS, Conference: Conference: 3rd International Natural Science, Engineering and Materials Technology Conference Sep 21-23, 2023, Turkish Republic of Northern Cyprus (Konuşmacı/Full text)
2. A. Hürriyet, S. Sargın, TOMATO RESISTANCE GENES MI AGAINST TO THE ROOT KNOT NEMATODE (MELOIDOGYNE SPP.) AND MOLECULAR APPROACHES. Conference: V. International Agricultural, Biological & Life Science Conference, Edirne, Turkey, 18-20 September 2023 (Konuşmacı / Full Text)
3. Asli Hurriyet, Juliette Pijnakker, Diana Overgaag, Clément Petit, Dominiek Vangansbeke, Marcus Duarte, Rob Moerkens, Felix Wäckers. Crowd control: well established predator populations can reduce damage by tomato russet mite *Aculops lycopersici* (Acari: Eriophyidae) Conference: Integrated Control of Plant-Feeding Mites At: Vienna (Konuşmacı/ Full text), 2020.
4. Conference: Juliette Pijnakker, Asli Hürriyet, 14th meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate", Portugal, 2018.