T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ BÖLGESİ DOĞAL *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APİDAE) POPULASYONLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MİKROSATELİT MARKERLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

2011

AKDENİZ BÖLGESİ DOĞAL *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APİDAE) POPULASYONLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MİKROSATELİT MARKERLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2010.02.0121.042 proje numarası ile desteklenmiştir.

2011

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ BÖLGESİ DOĞAL *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APİDAE) POPULASYONLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MİKROSATELİT MARKERLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu tez 26/12/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (95) not takdir edilerek oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fehmi GÜREL (Danışman).....

Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU.....

Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ.....

ÖZET

AKDENİZ BÖLGESİ DOĞAL *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APİDAE) POPULASYONLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MİKROSATELİT MARKERLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar Argun KARSLI

Yüksek Lisans Tezi, Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Fehmi GÜREL
Aralık 2011, 66 sayfa

Bu çalışmada, Antalya - Kemer (n = 40), Antalya - Termesos (n = 37) ve Adana (n = 30) doğal *Bombus terrestris* populasyonlarını temsil eden toplam 107 adet işçi arı örneği BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126 mikrosatelit lokusları bakımından tanımlanmıştır. Antalya - Kemer, Antalya - Termesos ve Adana populasyonlarında sırasıyla gözlenen allel sayısı (Na), 10.3, 9.8 ve 9.2, etkili allel sayısı (Ne), 6.4, 5.7 ve 5.8, gözlenen heterezigotluk (Ho) 0.73, 0.71 ve 0.70 ve beklenen heterozigotluk (He) değerleri, 0.75, 0.72 ve 0.74 olarak belirlenmiştir. Antalya - Kemer, Antalya - Termesos ve Adana populasyonlarının incelenen on mikrosatelit lokus bakımından Hardy - Weinberg genetik dengesinde oldukları tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen genetik veriler incelenen on mikrosatelit lokusun *B. terrestris* türünün ekotip düzeyindeki farklılıklarını belirlemede etkin markerler olmadığını göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Bombus arısı, *Bombus terrestris*, genetik çeşitlilik, mikrosatelit, yerel *B. terrestris* populasyonu

JÜRİ: Prof. Dr. Fehmi GÜREL (Danışman)……
Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU……
Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ……

ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY OF NATIVE *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE) POPULATIONS IN THE MEDITERRANEAN REGION BY MICROSATELLITE MARKERS

Bahar Argun KARSLI

M.Sc. Thesis in Animal Science
Adviser: Prof. Dr. Fehmi GÜREL
December 2011, 66 pages

A total of 107 worker bee samples were collected from 3 native *B. terrestris* populations (Antalya-Kemer, Antalya-Termesos and Adana). The genetic structure of the native *Bombus terrestris* populations was investigated by using ten microsatellite markers (BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 and B126). The mean number of alleles (Na), effective number of alleles (Ne), observed heterozygosity (Ho) and expected heterozygosity (He) values for the Antalya - Kemer, Antalya - Termesos and Adana populations were estimated as Na = 10.3, 9.8 and 9.2, Ne = 6.4, 5.7 and 5.8, Ho = 0.73, 0.71 and 0.70 and He = 0.75, 0.72 and 0.74 respectively. There was not significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in the population. Genetic data generated in the present study showed that examined mikrosatelit loci were not effective markers to distinguish of *B. terrestris* ecotypes.

KEY WORDS: Bumble bee, *Bombus terrestris*, genetic variation, microsatellite, native *B. terrestris* population

COMMITTEE: Prof. Dr. Fehmi Gürel (Adviser)……..
Prof. Dr.Murat Soner BALCIOĞLU……
Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ…….

ÖNSÖZ

Bombus arıları, Türkiye biyolojik zenginliğinin önemli bir parçasıdır. Türkiye' de farklı iklim ve floraya uyum sağlamış çok sayıda bombus türü, alttürü ve ekotipi bulunmaktadır. Az sayıda yapılan çalışma ile yaklaşık 50 adet bombus türü tanımlanmıştır. Ancak Türkiye' deki bombus türlerinin mevcut durumu, ülke genelindeki dağılımı ve populasyon yoğunlukları bilinmemektedir. Doğal ekosistemin giderek bozulması arı populasyonları üzerinde büyük bir baskı yaratmaktadır. Özellikle küçük, izole populasyonlar yok olma tehdidi ile karşı karşıyadır. Çevre faktörlerinin yanı sıra populasyonların genetik yapıları da bu süreci hızlandırmaktadır.

Bombus terrestris, Türkiye doğasında ve Akdeniz Bölgesi' nde bulunan en yaygın bombus türüdür. Ancak farklı damızlık stoklardan üretilen ve tozlaşma amacıyla seracılık sektöründe kullanılan *B. terrestris* kolonilerinde çok sayıda ana arı ve erkek arı üretilmektedir. Bu ana ve erkek arılar sera dışına çıkabilmekte, doğal populasyonlara ait ana ve erkek arılarla çiftleşebilmekte ve koloni oluşturabilmektedir. Her yıl Akdeniz Bölgesi' nde yaklaşık yüz bin adet ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır. Özellikle bu bölgedeki doğal populasyonların genetik yapılarında açılma olma olasılığı oldukça yüksektir. Bu nedenle, bölgedeki doğal populasyonların genetik yapısının incelenmesi ve korunması gerekmektedir. Bu çalışmada DNA markerleri kullanarak Akdeniz Bölgesi yerel *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapılarının saptanması amaçlanmıştır.

Bu konuda çalışma fırsatı sunan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Fehmi Gürel' e, laboratuar olanaklarını esirgemeyen ve çok değerli katkıları bulunan Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali Yıldız' a ve Sayın Prof. Dr. M. Soner Balcıoğlu' na, maddi destek sağlayan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne ve Türkiye Bilimsel Araştırma Kurumu' na (TOVAG - 109O342 nolu proje çerçevesinde) teşekkür ederim. Ayrıca her zaman yanımda olan ve sürekli desteğini gördüğüm eşim Taki Karslı' ya çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET…….. i
ABSTRACT……... ii
ÖNSÖZ…….. iii
İÇİNDEKİLER……... iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ……... vi
ŞEKİLLER DİZİNİ…… viii
ÇİZELGELER DİZİNİ…….. ix
1. GİRİŞ……. 1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI…….. 5
2.1. *Bombus terrestris'* in Genel Özellikleri ve Yaşam Döngüsü……..…… 5
2.2. Türkiye' de Bombus Taksonomisi Konusunda Yapılan Çalışmalar…… 9
2.3. Dünyada Bombus Arılarında Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Çalışmalar……... 12
3. MATERYAL VE METOT…… 17
3.1. Materyal……... 17
3.1.1. Canlı materyal ve örnekleme……..... 17
3.1.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler……... 18
3.1.3. Tampon çözeltiler…….. 19
3.2. Metot…… 20
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu…… 20
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)……. 21
3.2.3. PCR için mikrosatelit primerlerin belirlenmesi…… 23
3.2.4. Agaroz jel elektroforezi……. 24
3.2.4.1 Elektroforez çözeltisi……... 24
3.2.4.2. Agaroz jellerin hazırlanması…….. 24
3.2.4.3. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve fotoğraflarının çekilmesi….. 25
3.2.5. PCR sonuçları……... 25
3.2.6. Genotiplerin belirlenmesi…… 26
3.2.7. İstatistik analizler……. 26
3.2.7.1. Gen frekansları……..... 27

3.2.7.2. Heterozigotluk değerleri……. 27
3.2.7.3. Allel genişliği (AG)…… 27
3.2.7.4. Allel sayısı (Na)……. 27
3.2.7.5. Etkili allel sayısı (Ne)……. 28
3.2.7.6. Gözlenen heterozigotluk (Ho)…… 28
3.2.7.7. Beklenen heterozigotluk (He)…… 28
3.2.7.8 Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)……... 28
3.2.8. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) ve F-istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST}) 28
3.2.8.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis)……. 28
3.2.8.2. F istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})…… 29
3.2.9. Genetik farklılıklar…… 31
3.2.9.1. İkişerli F_{ST} değerleri……... 31
3.2.9.2. Genetik mesafe (D)…… 31
4. BULGULAR…….. 32
4.1. Gen Frekansları…… 32
4.2. Heterozigotluk Değerleri…….. 43
4.2.1. Allel genişlikleri (AG)…….. 45
4.2.2. Allel sayısı (Na)…… 45
4.2.3. Etkili allel sayısı (Ne)…… 45
4.2.4. Gözlenen heterozigotluk (Ho)……... 46
4.2.5. Beklenen heterozigotluk (He)……... 46
4.2.6. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)……. 47
4.3. Akrabalı Yetiştirme Katsayısı (Fis) ve F-İstatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})….. 47
4.3.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis)…… 47
4.3.2. F istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})……... 48
4.4. Genetik Farklılıklar…….. 50
4.4.1. İkişerli F_{ST} değerleri…….. 50
4.4.2.Genetik mesafe (D)…… 51
5. TARTIŞMA……... 52
6. SONUÇ…….. 57
7. KAYNAKLAR……... 59
ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

AG	Allel genişliği
bç	Baz çifti
^{o}C	Santigrat derece
CO_2	Karbondioksit
ddH_2O	Deyonize su
E	East
F	Forward
Fis	Akrabalı yetiştirme katsayısı
F_{IS}	Alt populasyonlardaki ortalama akrabalık katsayısı
F_{IT}	Tüm populasyonlar için fiksasyon indeksi
F_{ST}	Alt populasyonlar arası genetik farklılık
g	Gram
H_e	Beklenen heterozigotluk
H_o	Gözlenen heterozigotluk
km	Kilometre
M	Molar
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
^{O}N	North
N_a	Allel sayısı
N_e	Etkili allel sayısı
N_m	Gen akışı
NaCl	Sodyum klorür
ng	Nanogram
R	Reverse
^{O}S	South

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length P^{o}lymorphism
B.t	Bombus terrestris
CO II	Cytochrome oxidase II
Cytb	Cytochrome b
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	di Nucleotide Tri Phosphate
EDTA	Ethylene Daimin Tetra Acetic acid
FAM	Family – 6
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribo Nükleik Asit
ODTÜ	Orta Doğu Teknik Üniversitesi
PAGE	Poliakrilamid Gel Electrophesis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIC	Polimorfizm Bilgi İçeriği
Prof. Dr.	Profesör Doktor
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
s. str	Sensu stricto
SSR	Single strand repeats
St. Sap.	Standart sapma
TEN	Tris - EDTA Sodyum
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
U	Unite
UV	Ultra Viole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. BT09 lokusu bakımından meydana gelen bant modelleri ……... 26

Şekil 3.2. B126 lokusu bakımından meydana gelen bant modelleri ……..….. 26

Şekil 4.1. Genetik mesafe değerlerine göre çizilen dendogram……... 51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Örneklerin toplandığı bölgeler, sayıları, koordinatları……..…… 17

Çizelge 3.2. Genetik laboratuarında bulunan araç ve gereçlerin listesi……..…….. 18

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi/miktarı ve içerikleri..... 19

Çizelge 3.4. PCR tüplerine konulan sarf malzemeleri ve miktarları……..…… 22

Çizelge 3.5. Uygulanan PCR programı……..…..... 22

Çizelge 3.6. Çalışılan mikrosatelit lokuslar ve özellikleri…….…..... 23

Çizelge 4.1. Bombus arısı populasyonlarında BT20 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 32

Çizelge 4.2. Bombus arısı populasyonlarında B116 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 33

Çizelge 4.3. Bombus arısı populasyonlarında B121 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 33

Çizelge 4.4. Bombus arısı populasyonlarında B100 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 34

Çizelge 4.5. Bombus arısı populasyonlarında B119 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 35

Çizelge 4.6. Bombus arısı populasyonlarında B126 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 36

Çizelge 4.7. Bombus arısı populasyonlarında BT06 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 37

Çizelge 4.8. Bombus arısı populasyonlarında B124 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 38

Çizelge 4.9. Bombus arısı populasyonlarında BT09 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 39

Çizelge 4.10. Bombus arısı populasyonlarında B118 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…… 40

Çizelge 4.11. Kemer bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…….. 41

Çizelge 4.12. Termesos bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…….. 42

Çizelge 4.13. Adana bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…….. 43

Çizelge 4.14. Bombus arısı populasyonlarında çalışılan 10 mikrosatelit lokusun tanıtıcı istatistikleri. Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri…….. 44

Çizelge 4.15. Bombus arısı populasyonlarında çalışılan 10 mikrosatelit lokus bakımından tanıtıcı istatistikler. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar, PIC ve Wright'ın Akrabalı Yetişme Katsayıları (Fis) ve Fis' nin Bootstrap Güven Aralıkları……... 44

Çizelge 4.16. Çalışılan bombus arısı populasyonlarında F – istatistikleri (F_{IS}, F_{IT}, F_{ST})…….. 49

Çizelge 4.17. Çizelge 4.17. Türkiye *B.terrestris* populasyonları arasındaki ikişerli Fst değerleri (köşegen altı) ve Fst değerlerine ait istatistik önem kontrolleri (p) (köşegen üstü)……... 50

Çizelge 4.18. *B. terrestris* populasyonları arasındaki standart genetik mesafe (D) değerleri…… 51

1. GİRİŞ

Türkiye, sahip olduğu farklı iklim ve vejetasyon tipleri, jeolojik yapısı, zengin su kaynakları ve coğrafi konumundan dolayı biyolojik çeşitlilik bakımından önemli bir gen merkezidir. Türkiye' de 9.000' den fazla bitki türü, 2.000' den fazla arı türü bulunmaktadır. Türkiye' de yaklaşık olarak 50 bombus türü tanımlanmıştır (Özbek 1979, 1983, 1990). Apidae familyası içinde yer alan bombus arıları özellikle ılıman iklim kuşağındaki bitkilerin en önemli tozlaştırıcıları arasında yer almaktadır. Bombus arılarının tozlaştırıcı olarak önemleri 1900' lü yılların başında anlaşılmış ve birçok yem bitkisi tohumunun üretiminde bombus arıları etkin olarak kullanılmıştır (Heinrich 1979). Ancak, bombus arılarının kitlesel üretimi 1980' li yılların sonunda Hollanda ve Belçika' daki birkaç ticari firma tarafından gerçekleştirilmiştir. Bombus arılarının örtü altı yetiştiricilikte verim ve kaliteyi arttırıcı etkilerinin belirlenmesi ile birlikte ticari üretilmiş bombus kolonileri tozlaşma amacıyla Türkiye dahil birçok ülkede yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bombus arıları ticari olarak günümüzde de az sayıda firma tarafından üretilmektedir. Yılda bir milyondan fazla bombus kolonisi üreten bu firmalar kolonileri direk ihraç ederek ya da çeşitli ülkelerde kurdukları ortaklıklarla pazarlamaktadırlar.

Özellikle kitlesel üretiminin daha kolay olması nedeniyle bombus arıları içinde yetiştiriciliği en fazla yapılan ve tozlaşma amacıyla en yoğun kullanılan tür *Bombus terrestris* L. türüdür (Velthuis ve Doorn 2006). *B. terrestris,* Türkiye ve Akdeniz Bölgesi doğal faunasında da en yaygın bulunan bombus türüdür. Bu tür, çok geniş bir habitatta önemli vejetasyon tiplerinde görülmektedir (Özbek 1997). Türkiye' de *B. terrestris* türünün muhtemelen birkaç ekotip ve alttürünün bulunduğu ve bunların her birinin kıyı bölgelerinden yüksek dağlık alanlara kadar özel ekolojik koşullara uyum sağladığı tahmin edilmektedir. Ege ve Akdeniz kıyı bölgelerinde yerel *B. terrestris* ana arıları diyapozdan sonbaharda çıkarken, (doğada sonbahar - ilkbahar arasında görülmekte) iç bölgelerde ve Avrupa' da ilkbaharda çıkmaktadırlar (doğada ilkbahar - sonbahar arasında görülmektedir). Ayrıca farklı bölgelerden toplanan yerel *B. terrestris* ana arılarının koloni gelişim özelliklerinde de farklılıklar saptanmıştır (Yeninar vd 2000, Gürel vd 2008). Ek olarak, farklı bombus alttür ve ekotiplerinin hastalık, zararlı

ve parazitlere direnç bakımından farklılık gösterebileceği de bilinmektedir. Ticari *B. terrestris* kolonilerinin tozlaşma amacıyla yoğun kullanımı sonucunda populasyonlarının artması ve yayılmasının besin kaynakları ve yuva yeri için yerel tozlaştırıcılarla rekabet, parazit ve patojenlerin taşınması ve yerel genotiplerle melezlenme gibi bazı sorunlara yol açabileceği belirtilmekte ve bu arıların ekoloji üzerine yapabilecekleri olası zararlı etkiler tüm ülkelerde dikkatle izlenmektedir (Dafni 1998, Goka vd 2001).

Son yıllarda birçok ülkede olduğu gibi Türkiye seracılık sektöründe de tozlaşma amacıyla *B. terrestris* arısının kullanımı yaygınlaşmaktadır. Akdeniz sahil kesiminde her yıl yaklaşık olarak yüz bin adet ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi örtü altı yetiştiricilikte tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır (Gürel ve Gösterit 2007). *B. terrestris* türü bombus türleri içinde uyum yeteneği en iyi olan yayılmacı bir türdür. Tozlaşma amacıyla kullanılan kolonilerde çok sayıda ana ve erkek arı üretilmekte, bu ana ve erkek arılar doğadaki yerel populasyonlara ait ana ve erkek arılar ile çiftleşebilmekte ve sera dışında koloni oluşturabilmektedir.

Türkiye' de ticari olarak kullanılan *B. terrestris* kolonileri yabancı firmalardan sağlanan ana arılardan üretilmektedir ve bu ana arıların genetik kökeni bilinmemektedir. Bu nedenle, zaman içinde Türkiye yerel *B. terrestris* genotiplerinin ticari kolonilerde üretilen ana arı ve erkek arılarla çiftleşmesi ve melezlenmesinin kaçınılmaz olacağı ve bunun sonucu olarak da yerel *B. terrestris* populasyonlarının doğal genetik yapısının farklılaşacağı beklenmektedir. Bu istenmeyen durumun önlenmesi amacıyla birçok ülke, yalnız kendi doğalarında bulunan bombus tür veya alttürlerinin ticari üretimde kullanılmasına izin vermektedir.

Dünyada ve Türkiye' de *B. terrestris* populasyonlarının genetik çeşitliliği tanımlanmadan kaybolma tehlikesi altındadır. Yerel *B. terrestris* populasyonlarına yönelik genetik çalışmalarla genetik çeşitliliğin tespit edilmesi ve bu çeşitlilikten gen kaynağı olarak koruma stratejilerinde faydalanılması oldukça önemlidir. Tezde, bu türün doğal populasyonlarının yaygın olarak bulunduğu ve tozlaşma amacıyla üretilmiş ticari kolonilerin en yoğun kullanıldığı Akdeniz Bölgesi seçilerek, bu önemli gen

kaynağının bölgede tespiti ve korunması için bilimsel veri elde edilmesi amaçlanmıştır. *B. terrestris* türünün renk yapısı, büyük ölçüde sabittir ve bal arılarının ayrımında kullanılan morfolojik özellikler bombus arılarının alttür ve ekotipleri içinde çevre koşullarına göre büyük farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle bombus arılarının alttür ve ekotip düzeyindeki tanımlamalarında yalnız morfolojik özellikleri kullanmak yeterli olmamaktadır.

Bombus arılarında türler arası ve tür içi farklılıkların belirlenmesinde son yıllarda başvurulan en etkin yöntemlerden birisi de mikrosatelit lokuslardan yararlanmaktır. Mikrosatelit lokuslar diğer DNA tabanlı yöntemlere oranla daha duyarlı bir yöntem olup bombus türlerinin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla son yıllarda çok sayıda mikrosatelit lokus üzerinde durulmaktadır (Estoup vd 1993, 1995, 1996, Funk vd 2006). Şimdiye kadar geliştirilmiş olan çok sayıdaki mikrosatelit lokus arasında yaygın olarak kullanılan lokuslar B10, B11, B96, B100, B101, B116, B118, B119, B121, B124, B126, B131, B132, BT06, BT09 ve BT20 markerleridir.

DNA seviyesinde, Türkiye *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasına yönelik öncü araştırma Gürel ve Basım (2003) tarafından yürütülen bir TÜBİTAK (TOGTAG - TARP 2575 – 2) projesidir. Araştırmada, 25 farklı AFLP markerleri üzerinde durularak Batı Akdeniz ve Ege bölgesindeki yerel *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasına çalışılmıştır. Araştırma sonucunda, AFLP markeri bakımından çalışılan populasyonların birbirlerinden olan farklılıklarının ortaya konmasına olanak sağlayacak yeterli genetik varyasyonun elde edilemediği bildirilmiştir.

Türkiye *B. terrestris* populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik yapılan bir diğer araştırma Beton (2004) tarafından yapılmış olan bir Yüksek Lisans Tez çalışmasıdır. Türkiye ve Kuzey Kıbrıs' tan örneklenen sınırlı sayıdaki *B. terrestris* örneklerinin kullanıldığı tez çalışmasında, sadece 4 adet mikrosatelit lokusu üzerinde durularak populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ortaya konulmasına çalışılmıştır. Tez çalışması sonucunda, 4 lokus bakımından ortalama heterozigotluk değeri Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla 0.677 ve 0.848 olarak hesaplanmıştır.

Türkiye *B. terrestris* populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik yukarıda özetlenen iki araştırma dışında herhangi bir yayına rastlanılmamıştır. Heriki araştırmada da az sayıda populasyon üzerinde çalışılmış ve yine az sayıda örnek materyal olarak kullanılmıştır. Belirtilen bu nitelikleri nedeniyle adı geçen projelerden üretilen bilgi birikimi son derece sınırlı seviyede kalmıştır.

Bu araştırmada, Antalya - Kemer, Antalya - Termesos ve Adana doğal *B. terrestris* populasyonları BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126 mikrosatelit lokusları bakımından tanımlanmıştır. Bu amaçla, populasyon seviyesinde çalışılan lokuslar bakımından gen frekansları (Xi) tahmin edilmiş, gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri, polimorfizm bilgi içeriği (PIC) ve akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) istatistikleri üzerinde durulmuştur. Genetik uzaklık (D) ve ikişerli F_{ST} değerlerinden yararlanılarak Antalya - Kemer, Antalya - Termesos ve Adana doğal *B. terrestris* populasyonları arasındaki genetik farklılıkların ya da benzerliklerin ortaya konulmasına çalışılmış ve incelenen 10 mikrosatelit lokusun ekotip düzeyindeki bu farklılıkları belirlemedeki etkinliği tartışılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. *Bombus terrestris*' in Genel Özellikleri ve Yaşam Döngüsü

Bombus arıları Hymenoptera (zar kanatlılar) sınıfı, Apidae familyası ve Bombinae alt familyası içinde önemli bir grubu oluşturur. Dünyada 239 bombus türü tanımlanmıştır. Almanya' da 36, İngiltere' de 25, Kuzey Amerika' da 30 (Williams 1998, Benton 2000, Michener 2000, Cameron 2007), Türkiye' de ise yaklaşık olarak 50 bombus türü (Özbek 1979, 1983, 1990) tanımlanmıştır. Bombus arıları içinde ticari yetiştiriciliği en çok yapılan ve doğada en yaygın görülen tür *B. terrestris*' tir. Bu tür kitlesel olarak yetiştirilmesinden ve doğada yaygın bulunmasından dolayı üzerinde en fazla bilimsel çalışma yapılan bombus türü olmuştur. Doğal olarak Avrasya' da koloni oluşturan *B. terrestris* arısı bütün kıta Avrupa' da, kuzeyde İskoçya' ya ve İskandinavya' nın güneyine kadar (58 ^{O}N) güneyde ise Akdeniz' in güneyi, İtalya, Malta, Türkiye ve İspanya' ya kadar (28 – 37 ^{O}S) geniş bir alana yayılmıştır. Kuzey Afrika ve Atlantik adalarında da koloni oluşturduğu bilinmektedir (Wildmer vd 1998, Goka vd 2001, Hingston vd 2002).

B. terrestris türünün doğal olarak çok geniş bir coğrafyada bulunması, büyük ölçeklerde kitlesel olarak üretilmesi, birçok ülkede tozlaşma amacıyla kullanılması ve moleküler tekniklerdeki gelişmeler alttürlerine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu türün *B.t. dalmatinus* (Balkanlar, Türkiye ve Asya), *B.t. terrestris* (Orta ve Batı Avrupa), *B.t. audax* (İngiltere), *B.t. lusitanicus* (İspanya), *B.t. canariensis* (Kanarya Adalar), *B.t. africanus* (Kuzey Afrika), *B.t. xanthopus* (Korsika Adası), *B.t. sassaricus* (Sardunya Adası) ve *B.t. calabricus* (Sicilya - İtalya) olmak üzere çok sayıda alttürü tanımlanmıştır (Velthuis ve Doorn 2006, Rasmont vd 2008). Bu alttürlerden *B.t. canariensis, xanthopus* ve *sassaricus'* un daha saldırgan, *sassaricus, lusitanicus* ve *dalmatinus'* un daha büyük koloni oluşturma *canariensis'* in ise daha hızlı nektar toplama özelliğinin olduğu bildirilmektedir. Bu alttürlerden birçoğu ticari üretimin ilk yıllarında kullanılmıştır. Ancak Türkiye' de de yaygın olarak bulunan *B.t. dalmatinus* alttürü koloni oluşturma oranının yüksek, koloni populasyonunun daha büyük olması gibi ticari yetiştiricilik açısından üstün özelliklere sahip olduğu anlaşıldıktan sonra

kitlesel üretim için en çok tercih edilen alttür olmuştur (Chittka vd 2004, Velthuis ve Doorn 2006, Rasmont vd 2008).

Türkiye' de muhtemelen birkaç alttür ve ekotip bulunmaktadır. Alttürlerin birçoğu arasında kesin sınırların olmadığı ve alttürler arasında melezlenmiş, geçiş formlarının da olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan bir çalışmada Akdeniz ve Ege Bölgesi sahil kesiminden toplanan *B. terrestris* arıları *B.t. dalmatinus* olarak tanımlanmışken (Yeninar vd 2000), başka bir çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi' nden (Adana, Hatay, Mersin) toplanan *B. terrestris* arıları *B.t. lucoformis* olarak tanımlanmıştır (Aslan ve Şekeroğlu 1996). Trakya ve Batı Anadolu' da *B.t. dalmatinus* ve Güney Anadolu' da *B.t lucoformis* olmak üzere muhtemelen Türkiye' de iki alttür bulunduğu ancak bu iki alttürü taksonomik olarak ayırmanın ve kesin yayılma sınırlarını belirlemenin de kolay olmadığı bildirilmiştir (Özbek 1997).

B. terrestris doğada en erken görülen ve koloni populasyonu en büyük türdür. Yaklaşık olarak ana arısı 20 – 22 mm, işçi arısı 11 – 17 mm, erkek arısı ise 14 – 16 mm uzunluğunda olan *B. terrestris,* büyük toprak arısı olarak bilinir ve kısa dilli bombus arıları içinde yer almaktadır. Genel olarak siyah tüylü vücutlarının karın kısmının ikinci bölmesinde ve göğüs kısmında bulunan portakal sarısı renkte bantlarla ve işçi arıda beyaz ana arıda devetüyü renkli kuyruk yapısıyla karakterize olmuşlardır. Ancak alttür ve ekotip düzeyinde renk yapısında farklılıklar görülmektedir. Yaşam döngüsü ve dış görünümü bakımından *B. terrestris'* e en yakın tür *Bombus lucorum*' dur. *B. lucorum'* da renkli halkalar daha solgun ve limon sarısı renkte, kuyruk beyaz ve erkek arıların yüzlerinde sarı tüyler bulunmaktadır. *B. lucorum'* da karındaki siyah tüylerle beyaz kuyruk arasında keskin bir sınır, *B. terrestris'* de ise kahverengimsi bir geçit tabakası bulunmaktadır (Benton 2000).

B. terrestris arısının yaşam döngüsü bal arısından oldukça farklıdır. Toprak altında koloni oluşturan bombus arılarında koloni yaşamı sürekli değil bir dönemle sınırlıdır. Ancak bombus arıları da ana, erkek ve işçi arıdan oluşan koloni düzeni içinde yaşarlar ve kendi aralarında işbölümü yapmaları nedeniyle sosyal böcekler içinde yer alırlar. Bombus türlerinde büyük ölçüde benzer bir koloni yaşam döngüsü gözlenmektedir.

Sonbaharda çiftleşen ve yuvayı terk eden ana arıların her biri toprak altına girerek ilkbahara kadar hareketsiz bir şekilde diyapoz (fizyolojik uyku dönemi) olarak adlandırılan süreci geçirirler. Bombus arılarının yaşam döngüsünde önemli rol oynayan diyapoz, düşük kış sıcaklığı, yüksek yaz sıcaklığı, kuraklık dönemleri ve gerekli besinin elde edilemediği süreçler gibi uygun olmayan çevre koşulları süresince gelişimin baskı altına alındığı, genetik ve çevresel faktörler tarafından da belirlenen bir uyum mekanizması şeklinde tanımlanmaktadır (Alford 1975, Beck 1980, Hodek 1996). İlkbaharda havaların ısınması ile ana arı uyanır ve toprak altındaki kışlama yerinden çıktıktan sonra ilk birkaç hafta çiçekleri ziyaret ederek polen ve nektarla beslenir ve koloniyi kurmak için uygun bir yer arar. Ana arı genellikle yuva yeri olarak terkedilmiş fare ya da diğer küçük memeli yuvalarını tercih eder. Ana arı yeterli polen topladığında yumurta gözü yaparak yığın halinde yumurtlar. Yığın içindeki yumurta sayısı türden türe ve aynı tür içinde ana arıdan ana arıya değişmektedir. *B. terrestris'* in ilk yumurta kümelerinde 3 – 15 adet arasında yumurta bulunabilmektedir. Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra ana arı tarafından bal ve polen karışımı bir gıdayla beslenirler. Beslenmesi tamamlanan larva koza örer ve pupa devresine girer. Ana arı bu pupalar üzerine ikinci yumurta kümesini yumurtlar. (Prys-Jones ve Corbert 1991, Gencer vd 1998, Kearns ve Thomson 2001).

Genellikle ilk yumurta kümesinde yetiştirilen bireyler işçi arılardır. İşçi arılar çıktıktan sonraki birkaç gün içinde yiyecek toplamaya başlarlar. İkinci yumurta kümesindeki larvaların bakım ve beslenmesini bu işçiler yaparlar. Kolonide ilk işçi arılar çıktıktan sonra ana arının yumurtlama hızı ve bir göze (hücreye) yumurtladığı yumurta sayısı artar ve bunun sonucu kolonideki işçi arı sayısı da artar. Koloni gelişimi zirveye ulaştığı zaman ana ve erkek arılar üretilmeye başlanır. *B. terrestris* kolonilerinde ana arılar ortalama 6,1 ± 0,4 gün erkek arılar ise 12,1 ± 1,3 günde çiftleşme olgunluğuna gelmektedirler (Tasei vd 1998). Bombus kolonilerinde erkek arılar 2 – 4 günlük yaşta yuvadan ayrılırlar ve geri dönmezler. Yaşamlarının geri kalan kısmını yuva dışında geçirirler. Genç ana arılar ise bir iki hafta yuvada kalırlar ve kolonide besin yetersizse tarlacılık faaliyetinde bulunurlar. Ana arılar erkek arılarla güneşli bir günde kovan dışında çiftleşirler. Ancak bombus arıları bal arılarının aksine kapalı ortamda da çiftleşebilmektedirler. Koloni yaşamının sonlarına doğru yaşlı işçi

arılar öldüğü için populasyon sürekli azalmaktadır. Genç ana arılar çiftleştikten ve vücutlarında yağ dokusu gelişimini tamamladıktan sonra kışlama yeri bulmak için yuvadan ayrılırlar. Yuvada çok az sayıda işçi arı ve yaşlı ana arı kalır. Bir süre sonra bu bireylerde ölür ve koloni yaşamı sona erer. Böylece koloni yaşamı bir mevsimle sınırlanmış olur. Çok kısa ve basit olarak açıklanan bu döngü türlere ve arıların yaşadığı çevre koşullarına göre değişen karmaşık bir süreçtir (Heinrich 1979).

Bu çevresel faktörler bombus arılarının doğal yaşam alanlarında yararlandıkları bitkilerin çiçeklenme zamanları ve diğer ekolojik faktörleri de içermektedir. Kuzey Avrupa' da ana arılar toprak sıcaklığı 5 ^{0}C 'nin altına düştüğünde diyapoz sürecine girmekte ve ilkbaharda (Mart - Mayıs) toprak sıcaklığı 6 – 7 ^{0}C olduğunda diyapozdan çıkmaktadırlar. *Bombus terrestris* arıları 3 – 8 ay arasında değişen süreyle diyapozda kalabilmektedirler. Yeni Zelanda gibi daha sıcak bölgelerde 3 – 4 ay diyapozda kalan arılar Kuzey Avrupa gibi soğuk bölgelerde 6 – 8 ay diyapozda kalabilmektedir. Ayrıca ılıman ve nemli iklim bölgelerinde yılda iki generasyonun da olabileceği belirtilmektedir (Beekman vd 1998). Türkiye florasında yaşayan *B. terrestris* kolonilerinin yaşam döngülerinde de çok büyük varyasyon gözlenmektedir. Ege ve Akdeniz sahil kesiminde doğal yaşam alanlarında Ekim – Aralık aylarında diyapozdan çıkan *B. terrestris* ana arıları iç bölgelerde Şubat - Mayıs aylarında çıkmaktadır.

Ticari firmalar; ana arılardan koloni oluşturma, kolonilerden ana arı ve erkek arı yetiştirme, çiftleştirme, çiftleşmiş ana arıların diyapoz dönemini kontrol etme ve diyapozdan çıkan ana arıların koloni oluşturmasını sağlamak gibi bombus arılarının tüm yaşam evrelerini kontrollü koşullarda denetim altına alarak yıl boyu kitlesel üretimi gerçekleştirmektedirler (Hughes 1996). Bu evrelerin her aşamasında kayıplar yaşanmaktadır. Ayrıca bombus kolonilerinde üretilen işçi arı, ana arı ve erkek arı sayıları ve ana ve erkek arıların üretim zamanları bakımından da önemli farklılıklar gözlenmektedir (Duchateau ve Velthuis 1988, Pry-Jones ve Corbet 1991). Genel olarak kolonideki işçi arı kadrosu en üst noktaya ulaştığı zaman erkek ve ana arı üretilmesine karşın koloni gelişiminin başlangıcında da ana ve erkek arı üretilebilmektedir. Bazı koloniler sadece erkek ya da ana arı üretirken, bazıları hem ana arı hem de erkek arı üretebilmektedir. Yuvadaki arı yoğunluğu, işçi arı / larva oranı, hastalık ve zararlılar,

yuva içi ve dışı çevre koşulları, besin miktarı ve kalitesi, kurucu ana arının niteliği, uygulanan diyapoz yöntemi gibi birçok faktörün koloni oluşturma oranını ve kolonilerin ana ve erkek arı yetiştirme zamanı ve miktarını etkilediği tahmin edilmektedir (Duchateau ve Velthuis 1988, Gösterit ve Gürel 2005). Diyapozun kontrolü ile ilgili olarak seleksiyon, ana arılara CO_2 uygulaması ve soğuk ortamda bekletme gibi yöntemler uygulanmaktadır. Ticari firmalar kısa süreli (1 – 4 ay) soğuk ortamda (0 - 5 ^{0}C) bekletme ve CO_2 uygulaması ile bu süreci kontrol etmektedirler (Beekman vd 1998, Gürel vd 2001b). Yüksek koloni oluşturma, hızlı koloni gelişimi, kalabalık işçi arı populasyonu ve koloni yaşamının sonuna doğru ana ve erkek arı üretimi ticari yetiştiricilikte aranılan en önemli özelliklerdir. Birkaç firma tarafından doğaya bağlı kalmadan yıl boyu kitlesel üretimleri yapılan bombus arılarının kitlesel yetiştiriciliği ile ilgili ayrıntılı bilgiler de ticari kaygılardan dolayı tam olarak açıklanmamaktadır. Tozlaşma amacıyla satışa sunulan kolonilerde sağlıklı bir ana arı ve 50 – 60 adet işçi arı bulunması yeterli olmaktadır. İşçi arıların ömür uzunluğu yaklaşık bir ay kadardır ve bir dönüm sera alanında bir koloni iki ay süre ile kullanılmaktadır. Bu sürenin sonunda mevcut kolonide işçi arı üretimi sona erdiği ve çok sayıda ana ve erkek arı üretilmeye başlandığı için yeni bir koloni kullanılmaktadır.

2.2. Türkiye' de Bombus Taksonomisi Konusunda Yapılan Çalışmalar

Bombus arıları ile ilgili çalışmalar dünyada yaklaşık yüz yıldır yapılmasına karşın ülkemizde yirmi yıl öncesine kadar sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Bombus arılarının Türkiye' de tozlaşma amacıyla kullanımının yaygınlaşması ve özellikle Akdeniz ve Ege Bölgesi' ndeki doğal *B. terrestris* ana arı ve yuvalarının yabancı firmalarca toplanarak yurt dışına götürülmesi, araştırma kurumlarının dikkatini çekmiş ve bombus arıları ile ilgili çalışmaların artmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar bombus arılarının tozlaşmadaki önemleri, kontrollü koşullarda yetiştirme teknikleri, yerel populasyonların yaşam döngüleri, koloni gelişimi ve bitki tercihleri, sistematiği ve hastalıkları konularında yoğunlaşmıştır. Araştırmaların büyük bir çoğunluğu Akdeniz ve Çukurova Üniversiteleri Ziraat Fakülteleri ile Hacettepe ve ODTÜ Biyoloji Bölümleri' nde yürütülmüştür.

Bombus arılarında yakın zamana kadar morfolojik özellikleri kullanarak taksonomik çalışmalar yapan tek araştırıcı Prof. Dr. Hikmet Özbek olmuştur. Özbek (1979, 1983, 1990) yaptığı çalışmalarda özellikle Doğu Anadolu Bölgesi' nde bulunan bombus arılarını incelemiş, Türkiye' de 50' ye yakın tür tanımlamış, bazı türlerin yayılma alanlarını, biyolojilerini ve bitki tercihlerini belirlemiştir. Özbek (1997) *B. terrestris* türünün Türkiye' nin özellikle kıyı bölgeleri olmak üzere çok geniş bir kısmında yaygın olarak bulunduğunu ve bu türün tozlaşma yaptığı bitkileri saptamıştır. Araştırmacı Türkiye' de bu türün *B.t. dalmatinus* ve *B.t. lucoformis* olmak üzere muhtemelen iki alttürünün bulunduğunu fakat bu alttürlerin kesin yayılma sınırlarını saptamanın ve bu alttürleri morfolojik yöntemlerle taksonomik olarak ayırmanın çok güç olduğunu belirtmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesi' nin Adana, Hatay ve Mersin ili ve çevrelerindeki farklı flora ve ekosistemlerde bombus türlerinin incelendiği faunistik çalışmada ise Bombinae alt familyasına bağlı yedi tür ve altı alttür olmak üzere on üç farklı genotip belirlenmiş ve *B. terrestri*s türünün en yoğun görülen tür olduğu ve deniz seviyesinden 1560 metre yüksekliğe kadarki rakımda bu türe rastlandığı belirtilmiştir (Aslan ve Şekeroğlu 1996). Aytekin vd (2003) Bulgaristan, Yunanistan ve Türkiye' nin çeşitli bölgelerinden topladıkları ana arı ve işçi arılara ait 157 *B. terrestris* örneğini altı enzim sistemi ve 28 morfolojik karakter kullanarak *B.t. lucoformis* ve *B.t. dalmatinus* alttürlerine ayırmaya çalışmışlardır. İncelenen tüm lokuslar bakımından her iki taksanın da monomorfik olduğu gözlenmiş ve herhangi bir heterezigota ya da farklı elektromorfa rastlanmamıştır. Me dışında tüm enzim sistemleri bakımından eş bantlar tespit edilmiştir. Bu çalışmada gerek elekroforetik mobilite gerekse klasik morfometrik analiz yolu ile elde edilen bulgular *B.t. lucoformis* ve *B.t. dalmatinus* 'u ayrı alttürler olarak tanımlayacak yeterlilikte farklılıkları içermemiştir.

Aytekin ve Çağatay (1999) tarafından Ankara ili ve ilçelerindeki Bombinae alt familyasına ait türlerin incelendiği çalışmada dokuz tür belirlenmiş ayrıca türlerin dağılım haritaları ve ziyaret ettikleri bitki türleri de saptanmıştır. Aynı araştırıcıların yaptığı başka bir çalışmada ise Ankara' daki bombus arısı doğal populasyonlarının çiçek tercihleri ve bombus arılarında saptanan parazit ve mikroorganizmalar incelenmiştir. *B. terrestris* türünde *Acarus farris* (acaridae) ve *Nosema bombi* belirlenmiştir (Aytekin vd 2002). Çağatay vd (2000) tarafından sonuçlandırılan bir

projede (TÜBİTAK TBAG – 1673) ise Ankara ili ve ilçelerinden toplanan arı örneklerinde Apidae familyası içerisinde yer alan Bombinae ve Psithyrinae alt familyalarına ait on iki tür morfometrik ve moleküler yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Moleküler incelemelerde yatay – nişasta jel elektroforezi ile malat dehidrogenaz, malik enzim, fosfoglukomutaz, fosfoglukoz izomeraz, esteraz ve hekzokinaz olmak üzere altı enzim sistemi analiz edilmiş ve on iki türün ayrımı net bir şekilde belirlenmiştir. Araştırmacılar sistematik açıdan sorunlu olan gruplarda moleküler yöntemlerim kullanılmasının daha uygun olabileceğini bildirmişlerdir. Aytekin ve Çağatay (2002) tarafından yapılan bir çalışmada ise Erzurum, Artvin, Ankara, Rize, Trabzon, Eskişehir ve Konya illerinden toplanan 1758 bombus arısı morfometrik özellikler kullanılarak tanımlanmıştır. Çalışmada Kallobombus ve Melanobombus' un tamamen ve Thoracobombus altcinsinin de bunlar ile kısmen iç içe geçtiği, Megabombus altcinsinin ise daha belirgin biçimde ayrılabildiği saptanmıştır.

Barkan (2010) yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye' nin çeşitli illerinden topladığı *Thoracobombus* (*s.str.*) içerisinde yer alan 12 bombus türüne ait 133 dişi 42 erkek birey üzerinde geometrik morfometri yöntemlerinin uygulanabilirliğini denemiş ve bu yöntemlerle tüm türleri birbirinden ayırabilmiştir. Dişilerde morfolojik olarak birbirine çok benzeyen *Bombus armeniacus, Bombus mesomelas* ve *Bombus pomorum* türlerinin benzer kanat morfometrisine sahip oldukları gözlenmiştir. *Bombus sylvarum citrinofasciatus* ile *Bombus sylvarum daghestanicus* alttürlerinin ve *Bombus humilis* ile *Bombus laesus* türlerinin hem dişilerde, hem de erkeklerde benzer kanat morfometrisine sahip oldukları anlaşılmıştır. Erkeklerde *Bombus armeniacus, Bombus mesomelas* türleri ile *Bombus humilis* ve *Bombus zonatus* türleri benzer kanat morfometrisi göstermiştir. Özenirler (2010)' de yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye' de yaygın olarak bulunan 32 bombus türünde erkek genital organ ve erkek bireylerin sağ ön kanatlarındaki submarginal ve medial hücre verilerine, yapının şeklinin matematiksel yöntemler kullanılarak özetlenmesini sağlayan yöntemlerden birisi olan Eliptik Fourier Analizi uygulamış ve bu analizin alt cinsleri ve türleri birbirlerinden anlamlı bir şekilde ayırt etmede kullanılabilecek bir araç olduğunu saptamıştır.

Türkiye doğal *B. terrestris* populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik olarak gerçekleştirilen araştırmalardan birisinde AFLP (Gürel ve Basım 2003) diğerinde ise mikrosatelit (Beton 2004) markerlerden yararlanılmıştır. Gürel ve Basım (2003) tarafından tamamlanan TÜBİTAK (TOGTAG-TARP 2575 – 2) projesi kapsamında AFLP yönteminden yararlanılarak Batı Akdeniz ve Ege Bölgesi' ndeki *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasına çalışılmış ve ayrıca ithal edilen ticari *B. terrestris* arıları ile doğal *B. terrestris* populasyonları arasında olası melezlemelerin olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır. Tamamlanan araştırma projesinde, belirtilen hedeflere varılmasında kullanılan AFLP markerlerinin yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Beton (2004) tarafından yapılan yüksek lisans tez çalışmasında Adana, Antakya, Ankara, Bartın, Samsun ve Kıbrıs' ı temsil eden toplam 86 işçi, 10 ana ve 119 erkek *B. terrestris* arısı materyal olarak kullanılmıştır. B11, B100, B124 ve B126 mikrosatelit lokusları bakımından sadece Ankara ve Kıbrıs populasyonlarındaki polimorfizmin tespit edilmesine çalışılmıştır. Üzerinde durulan lokuslar bakımından ortalama heterozigotluk değerinin Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla yaklaşık olarak 0.84 ve 0.68 olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonucunda Ankara ve Kıbrıs *B. terrestris* populasyonlarının birbirlerinden farklı genetik yapılarda olduğu ifade edilmiştir.

2.3. Dünyada Bombus Arılarında Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

Son yıllarda laboratuar seviyesinde geliştirilen yeni DNA yöntemlerine paralel olarak, farklı tür ve alttürlerin ekolojisi ve populasyon dinamiği hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır. Yeni DNA yöntemleri arasında tanımlanan mikrosatelit lokuslarından yararlanılarak bombus populasyonları arasındaki genetik farklılık ve benzerliklerin ortaya konması üzerinde yoğun bir şekilde durulmaktadır. Tespit edilen genetik uzaklıklardan yararlanılarak bombus tür, alttür ve ekotipleri arasındaki filogenik ilişkilerin saptanmasına çalışılmaktadır (Koulianos 1999, Gerloff vd 2003, Darvill vd 2006, Inoue vd 2008, Kanbe vd 2008, Kim vd 2009, Kondo vd 2009, Wolf vd 2010).

Yaklaşık 250 türü tanımlanan bombus arılarının taksonomik olarak sınıflandırılmasında morfometrik ve allozim polimorfizmi gibi çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bombus populasyonlarının tanımlanması ve aralarındaki evrimsel ilişkilerin ortaya konması amacıyla yararlanılan her yöntemin doğası gereği birbirlerine karşı üstünlükleri ya da eksiklikleri bulunmaktadır. Bombus populasyonlarının tanımlanması ve aralarındaki evrimsel ilişkilerin ortaya konmasında son yıllarda yaygın olarak kullanılan mikrosatelit lokuslar farklı çözümler sağlamaktadır. Bu amaca yönelik olarak, çok sayıda mikrosatelit marker geliştirilmiştir (Estoup vd 1993, 1995, 1996, Funk vd 2006, Stolle vd 2009).

Mikrosatelitler ve mtDNA markerleri gibi güncel DNA yöntemleri kullanılarak yapılan ilk çalışmalar büyük ölçüde Avrupa'da yaygın ve çok bulunan *B. terrestris* türünde yoğunlaşmış ve birbirlerinden izole olmuş farklı coğrafi bölgelerde bulunan *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapıları tanımlanmıştır (Estoup vd 1996, Gegear vd 2005). Avrupa' da geniş alanlara yayılmış ve *B. terrestris* türü ile aynı bölgelerde de sıklıkla görülen bir bombus türü olan *Bombus pascuorum'* un 13 farklı populasyonunda mtDNA cyt b gen dizisindeki farklılıktan yararlanılarak genetik çeşitlilik araştırılmış ve araştırma sonucunda kıta Avrupa' sı boyunca *B. pascorum* populasyonlarının birbirine benzer genetik yapılarda olduğu, fakat bu populasyonlarla İtalya Alplerinin güneyindeki populasyonlar arasında önemli bir genetik farklılığın bulunduğu bildirilmiştir (Pirounakis vd 1998, Widmer vd 1998).

Asya' da yedi kıta ve farklı ada *Bombus ignitus* populasyonları üzerinde çalışılarak, kıta populasyonlarının kendi aralarında homojen bir genetik yapıya sahip oldukları, buna karşılık kıta populasyonları ile uzak ada populasyonları arasındaki genetik farklılığın fazla olduğu ifade edilmiştir. Bu durum, sıradağlar veya büyük su alanları (ada vb) gibi önemli bariyerlerin populasyonların genetik yapı bakımından farklılaşmasını sağlayan temel faktörler olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Shao vd 2004). Başka bir çalışmada ise Kore yarımadasında 15 farklı bölgeyi temsil eden *Bombus ardens* populasyonlarının mitokondriyal COI genindeki dizi farklılıkları temelinde homojen bir genetik yapıya sahip olduğu ve biyocoğrafik bariyerlere maruz kalmadığı sonucuna varılmıştır (Kim vd 2009).

Domates ve diğer bitkisel ürünlerin tozlaşmasını gerçekleştirmek için bombus arıları 1980' lerden beri ticari olarak üretilmekte ve seralarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Tozlaşma amacıyla seralarda kullanılan ticari bombusların doğal tür ve alttürler ile rekabeti üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Ono 1998, Goulson ve Hanley 2004, Hingston 2006, Inoue vd 2008, Williams ve Osborne 2009). Ticari olarak yetiştirilen bombus kolonilerinden doğal bombus populasyonlarına doğru onların doğal genotipini değiştirebilecek herhangi bir gen akışının olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, Polonya'da 3 sera ve seranın çevresindeki doğal populasyonları temsil eden bombus arıları materyal olarak kullanılmış ve araştırma sonucunda, ticari *B. terrestris* arılarından sera dışındaki doğal bombus populasyonlarına doğru bir gen aktarımının meydana geldiği bildirilmiştir (Kraus vd 2011).

Yaşam alanlarının tahribatı ve tek tip tarımın yaygınlaşması gibi nedenlerden dolayı tüm dünyada çok sayıda bombus türü yok olma tehdidi altında bulunmaktadır. Bombus kolonilerinin az sayıdaki bireylerden oluşması bu türün yok olma hızını artıracak önemli faktörlerden biridir. Bu amaçla doğada mevcut bombus populasyonlarının büyüklüklerinin, dağılımlarının ve genetik çeşitliliklerinin tespit edilmesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Herrmann vd (2007) *Bombus jonellus* ve *Bombus muscorum* türlerinde, Darvill vd (2010) ise yarı doğal habitatlar ve çiçekli araziler içindeki *B. pascuorum*' da, dağılma / yayılma yetenekleri, koloni yoğunluğu, akrabalı yetiştirme ve populasyon yapısı özellikleri üzerinde durarak, çiçekli arazilerin bombus arısı sayısını artırıcı yönde olumlu etkilediği sonucuna varmışlardır. Belirtilen araştırmalarda arazi gözlemleriyle belirlenen koloni yoğunluğunun bombus arılarının yayılma yetenekleri ile ilişkili olmadığı, yuva sayısındaki artıştan kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlara ilave olarak F - istatistiklerinden yararlanılarak populasyonun yapısı ve yaşam gücü hakkında da temel bilgilerin elde edildiği ifade edilmiştir.

Bombus kolonilerinde diploit erkek arı üretimi akrabalı yetiştirme dejenerasyonunun önemli bir göstergesi olarak ele alınmakta ve etkili populasyon büyüklüklerinin tahmin edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla, Darvill vd (2006) Britanya anakarası üzerindeki populasyonları parçalanmış ve azalmış bir bombus türü olan *B. muscorum* örnekleri üzerinde çalışarak, aralarında 10 km ve daha uzak mesafeler

bulunan tüm populasyonlar arasında populasyon büyüklüklerinin farklı seviyelerde bulunduğunu saptamışlardır. İncelenen 16 populasyondan 10' u darboğaza girmiş, 3 populasyonda da düşük miktarda (frekansta) diploit erkek arı görülmüştür. Nadir görülen türlerden *Bombus sylvarum* ve *Bombus distinguendus'* da da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Ellis vd 2006, Charman vd 2010). Gerçekten, genetik olarak izole olmuş bütün populasyonlarda populasyon büyüklüğü bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur.

Mikrosatelit ve mtDNA lokuslarından yararlanılarak Bombus türlerinin çiftleşme davranışlarının (tek ya da eşli) tespit edilmesi üzerinde durulmuş ve Kuzey Amerika ve Avrupa' da incelenen türler içinde Pyrobombus altcinsine ait dört bombus türünün birden çok babalı kolonilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Payne vd 2003). Ancak, Kokuva vd (2009) Japon yerli bombus populasyonlarında (*B. ardens, B. diversus ve B. honshuensis*) çalışılan kolonilerin hiç birinde çok eşliliğe ait bir kanıta rastlamadığını bildirmişlerdir.

Hymenoptera gibi kast oluşumu ve iş bölümünün geçerli olduğu böceklerde, kraliçe arının çiftleşme sıklığı ve işçi arıların yumurtlaması koloninin akrabalık yapısını ve koloni içi çatışmayı etkileyen temel faktörlerdir. Bu nedenle, kraliçe arının çiftleşme yapısını ve erkeklerin genetik kökenini belirlemede de mikrosatelitlerden yararlanılmaktadır. *B. terrestris* ve *B. ignitus* türlerinde yapılan iki farklı araştırma sonucunda, genetik yapı bakımından hem kraliçe hem de işçi arılardan köken almış erkek arılara rastlanmıştır (Alaux vd 2004, Takahashi vd 2008a).

Sonuç olarak, yukarıda özetlenen araştırmalar ışığında DNA seviyesinde geliştirilmiş olan mikrosatelit ve mtDNA lokuslarındaki polimorfizmlerden yararlanılarak; a) doğal ve kültüre alınmış bombus tür ve alttürleri arasındaki çiftleşmelerin saptanması (Kanbe vd 2008, Nagamitsu vd 2009), b) tartışmalı bombus tür ve alttürlerin doğru tanımlanması (Ellis vd 2005, Wolf vd 2010), c) koloni yoğunluğu, habitat paylaşımı, tarlacılık ve uçuş mesafesinin belirlenmesi, (Chapman vd 2003, Kraus vd 2009), d) istilacı bombus türlerinin yerli türler üzerindeki etkilerinin ve etkili populasyon büyüklüğünün tahmin edilmesi (Schmid-Hempel vd 2007, Inoue vd 2008, Takahashi vd

2008b), e) cinsiyet oranları ve erkek arı üretimiyle ilgili çatışmaların tespiti (Brown vd 2003), f) diploit erkek arı üretiminin saptanması (Darvill vd 2006, Ellis vd 2006, Charman vd 2010), g) ana arının tek eşli veya çok eşli oluşunun belirlenmesi (Payne vd 2003, Kokuva vd 2009), h) kraliçe arının çiftleşme davranışı ve erkek arıların genetik olarak kökeninin tespit edilmesi (Alaux vd 2004, Takahashi vd 2008a), i) tarihsel ve güncel örneklerin kıyaslanarak populasyon yapılarındaki değişimlerinin incelenmesi (Lozier ve Cameron 2009) ve j) mevcut populasyonların büyüklükleri, dağılımları ve genetik çeşitlilikleri hakkında bilgi toplanması (Hermann vd 2007, Darvill vd 2010) gibi çok farklı konularda çok detaylı yoğun araştırmalar yapılmakta ve belirtilen konuların bilimsel temellerinin aydınlatılmasına çalışılmaktadır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Canlı materyal ve örnekleme

Çalışma materyalini TÜBİTAK tarafından desteklenen " Türkiye *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin mikrosatelit markerler kullanılarak belirlenmesi " adlı proje (TOVAG - 109O342) kapsamında Akdeniz Bölgesi sınırları içersinde, sera alanlarından uzakta ve farklı yükseltilerde bulunan 3 doğal *B. terrestris* populasyonundan toplanan işçi arı örnekleri oluşturmuştur. Akdeniz Bölgesi sınırları içersinde, farklı yükseltilerde ve sera alanlarından uzakta bulunan 3 doğal *B. terrestris* populasyonundan işçi arı örnekleri toplanmıştır. Arazide *B. terrestris* işçi arı örnekleri toplanırken çok geniş bir alan taranmış böylece mümkün olduğunca farklı yuvalara ait işçi arı örneklerinin toplanmasına çalışılmıştır. İşçi arı örneklerinin toplandığı yörelerin adı, koordinatları, yükseltileri ve işçi arı örneklerinin toplandığı bitkilerin ismi kaydedilmiştir (Çizelge 3.1). Toplanan işçi arı örnekleri % 95' lik etanol içeren eppendorf tüplerine konulmuş ve laboratuara getirilmiştir. Örnekler DNA izolasyonu yapılıncaya kadar - 20 ^{o}C' de muhafaza edilmiştir. Her populasyona ait en az 30 işçi arı örneğinden DNA izolasyonu yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Örneklerin toplandığı bölgeler, sayıları, koordinatları

Örnek toplanan bölgenin ismi	**Örnek toplanan işçi arı sayısı**	**Örnek toplanan bölgenin koordinatı**	**Örnek toplanan bölgenin yüksekliği**	**Arı örneği toplanan bitki ismi**
Antalya - Kemer	40	36^{o} 58′ N, 30^{o} 52′ E	800-900 m	Devedikeni
Antalya - Termesos	37	37^{o}07′ N, 30^{o} 47′ E	500-600 m	Devedikeni
Adana-Balcalı Yumurtalık	30	36^{o} 96′ N, 35^{o} 61′ E	0-100 m	Bakla

3.1.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Örneklerin DNA izolasyonu ve PCR koşullarının optimizasyonu Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Ana Bilim Dalı Genetik Laboratuarı' nda yürütülmüştür. Mikrosatelit fragment analizleri, otomatik DNA Dizi Analizi Cihazına (ABI PRISM 3130) sahip Ref Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuarı' nda hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi aşağıdaki Çizelge 3.2' de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Cihazın adı, markası, modeli	Kullanım amacı
pH metre (Thermo ORİON 3 STAR)	DNA izolasyonu ve elektroforez tamponlarının pH' larının ayarlanmasında
Otoklav (Nüve OT 020V)	Kullanılan malzemelerin ve çözeltilerin sterilizasyonunda
Sıcak Su Banyosu (Memmert)	DNA izolasyonunda
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (YellowLine MSH basic)	DNA izolasyonu için gerekli çözeltilerin hazırlanmasında
Çalkalayıcı-Vortex (YellowLine,TTS2)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonunda
Santrifüj (Hettich MIKRO 200)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Hassas Terazi (SHIMADZU BX320H)	DNA izolasyonu için tampon çözeltilerin hazırlamada ve jel için agaroz tartılmasında
Gradient Thermal Cycler 96 Örnek. (eppendorf Mastercycler gradient) Thermal Cycler 25 Örneklik (Techne TC 312)	PCR ile lokusların çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektroforez Takımları (BIO-RAD)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesinde
Güç Kaynakları (BIO-RAD PowerPac Basic)	Jel elektroforezi için voltaj ve zamanın ayarlanmasında
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 212)	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile lokusların jelde görüntülenmesi ve bilgisayar ortamına aktarılmasında
Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 553)	Agaroz jellerin hazırlanması
Buzdolabı (Beko BK8450T) Derin Dondurucu (Beko 797DF)	Örnekler ile bazı sarf malzemelerin saklanması

3.1.3. Tampon çözeltiler

Tez araştırmasında kullanılan tampon çözeltilerin içerikleri Çizelge 3.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi / miktarı ve içerikleri

Tampon çözelti	**Molarite /Miktar**	**İçerik**
SDS Solüsyonu (%20)	20 g 100 ml'ye tamamlanır	Sodyum Dodesil Sülfat Deyonize H_2O
TE Tampon çözeltisi	10 mM 1 mM	Tris EDTA (pH: 8.00)
TEN Tamponu	1 M 0.5 M 1 M	NaCI EDTA Tris (pH: 8.00)
6 M NaCl çözeltisi	3.51 g 10.00 ml'ye tamamlanır.	NaCI ddH_2O
10X TBE Elekrtroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	108 g 55 g 40 ml 1 litreye tamamlanır.	Tris Borik Asit 0.5 M EDTA (pH: 8.00) ddH_2O
DNA Yükleme Tampon Çözeltisi	5.0 ml 2.0 ml 1.5 ml 1.5 ml	Gliserol Bromfenol EDTA ddH_2O

3.2. Metot

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Toplam genomik DNA, bombus arılarının göğüs kısımlarından standart fenol – kloroform yöntemi (Hall 1990) kullanılarak izole edilmiştir. Genomik DNA izolasyon protokolü aşağıda verildiği gibi gerçekleştirilmiştir:

Birinci gün:

1. % 95' lik etanol içinde tutulan örneklerden alkol uzaklaştırılmış ve örneklerin thoraks (göğüs) kısmı, bisturi ile küçük parçalara ayrılarak, 1.5 ml' lik tüpler içine alınmıştır.

2. Üzerlerine 500 µl TEN tamponu (Çizelge 3.2) ilave edilerek, örnekler ezilmiştir.

3. Daha sonra 25 µl SDS (Çizelge 3.2), 15 µl Proteinaz K (20 mg/ml) ve 8 µl Rnaz (10 mg/ml) ilave edilmiş ve tüpler 58 ^{o}C' de gece boyu inkübasyona bırakılmıştır.

İkinci gün:

4. İnkübasyondan sonra tüpler 8000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiş ve peletin üzerinde kalan sıvı kısım (toplam genomik DNA) yeni 1.5 ml' lik tüplere alınmıştır.

5. Herbir tüpün üzerine 150 µl fenol + 150 µl kloroform izoamil alkol (24 : 1) ilave edilerek karıştırıcıda 20 dakika ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

6. Tüpler 8000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiş ve peletin üzerinde kalan sıvı kısım (üst faz) tekrar yeni tüplere aktarılmıştır.

7. Üzerlerine 300 µl kloroform izoamil alkol ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanmıştır.

8. Örnekler yeni tüplere alındıktan sonra 800 µl - 20 ^{o}C' de bekletilmekte olan % 95' lik etanol ve 50 µl 3 M sodyum asetat ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler - 20 ^{o}C' de gece boyu bekletilmiştir.

Üçüncü gün:

9. Derin dondurucudan alınan örnekler 10.000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

10. Peletin (toplam genomik DNA) üzerinde kalan sıvı kısım (üst faz) dökülmüştür.

11. Pelet % 70' lik etanol ile iki kez yıkanmıştır.

12. Bu işlemden sonra çeker ocakta tüplerin ağzı açık olarak 1 saat bekletilerek pelet kurutulmuştur.

13. Elde edilen genomik DNA' lar, 100 µl TE tampon (Çizelge 3.3) çözeltisi içinde çözdürülerek + 4 ^{o}C' de saklanmıştır.

14. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının (kırılıp kırılmadığı) kontrolleri % 2' lik agaroz jellerinde yapılmıştır.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İlk kez Kary Mullis vd tarafından geliştirilen bu yöntem; nükleik asitlerin invitro olarak çoğaltılmasıdır (Mullis ve Faloona 1987). Başka bir ifadeyle, doğal DNA replikasyon işleminin temel bileşenleri kullanılarak DNA' nın tüpler içinde çoğaltılması ya da kopyalanmasıdır.

PCR yöntemi genel olarak üç basamaklık bir döngünün defalarca tekrarlanmasına dayanan bir teknik olup üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar; denatürasyon, bağlanma ve uzamadır. PCR' de ilk iki döngü, spesifik DNA parçalarının (primer) hedef DNA' da yapışabilecekleri yerleri tarama aşamasıdır. Hedeflenen bölgeleri çoğaltma işlemi üçüncü döngüden itibaren gerçekleşir. PCR' ın tüm döngüleri, bir önceki döngüde sentezlenen DNA örneklerinin denatürasyonu ile başlar. Bir DNA molekülünden, 20 döngü sonunda 1 milyon (2^{20}), 30 döngü sonunda ise 1 milyar (2^{30}) kopya elde edilebilmektedir. Böylece az miktarda DNA ile başlayan tepkime sonucunda yeterli miktarda DNA' ya ulaşılabilmektedir.

Çalışılan mikrosatelit lokusların çoğaltımları için standart hale getirilen PCR şartları Çizelge 3.4' de verilmiştir (Solignac vd 2003).

Çizelge 3.4. PCR tüplerine konulan sarf malzemeleri ve miktarları

Sarf malzeme	**Miktar**
Genomik DNA (50-100 ng)	2.00 µl
10 X PCR Tamponu	2.00 µl
$dNTP_S$ (0.2 mM)	2.00 µl
$MgCl_2$ (25 mM)	1.20 µl
Primer (10 pmol)	0.40. µl
Taq DNA polimeraz (0.5 U)	0.2 µl
Steril ddH_2O	11.80 µl
Toplam reaksiyon hacmi	20 µl

Genomik DNA dışındaki tüm bileşenlerin içinde bulunduğu PCR stok tampon çözeltisi (Çizelge 3.4), her seferde incelenecek örnek sayısı ile orantılı olacak şekilde steril 1,5 ml' lik eppendorf tüpü içinde hazırlanmıştır. Bu PCR stok tampon çözeltisinde her bir örnek için 18 µl alınarak 0,2 ml' lik eppendorf tüplere dağıtılmıştır. Hazırlanan PCR stok tampon çözeltisi 0,2 ml' lik eppendorf tüplerine dağıtıldıktan sonra örneklere ait genomik DNA' dan 2,0 µl alınarak bu çözeltinin üzerine eklenmiş ve içinde örneklerin bulunduğu 0,2 ml' lik eppendorf tüpler PCR çoğaltımlarının yapıldığı PCR cihazına yerleştirilmiştir. Çalışılan mikrosatelit lokusların çoğaltılmasında aşağıda verilen PCR programı uygulanmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Uygulanan PCR programı (Solignac vd 2003).

İlk denatürasyon	94 ^oC' de 3 dakika
Denatürasyon	94 ^oC' de 30 saniye
Yapışma	55 ^oC' de 30 saniye
Uzama	72 ^oC' de 30 saniye
Son uzama	72 ^oC' de 10 dakika

Bu şekilde toplam 35 döngü uygulanmıştır. Son döngüde 72 ^{o}C' de 10 dakika bekletilerek PCR programı tamamlanmıştır. PCR işleminden sonra elde edilen ürünler, elektroforez işlemine kadar + 4 ^{o}C' de saklanmışlardır.

3.2.3. PCR için mikrosatelit primerlerin belirlenmesi

B. terrestris populasyonlarının DNA seviyesinde daha duyarlı bir şekilde objektif olarak tanımlanmasına olanak sağlamak amacıyla çok sayıda mikrosatelit marker geliştirilmiştir. Bu araştırmada farklı *B. terrestris* populasyonlarını birbirinden ayırmada ve genetik yapının ortaya konulmasında halen yaygın olarak kullanılan ve referans lokuslar niteliğinde olan (BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126) 10 adet (Estoup vd 1995, Funk vd 2006) mikrosatelit lokus üzerinde çalışılmıştır (Çizelge 3.6). Mikrosatelit lokusların tamamı 6 - FAM (mavi) floresans boya ile 5' ucu etiketlenmiş oligonükleotidler kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.6. Çalışılan mikrosatelit lokuslar ve özellikleri

Lokus	**Tekrar dizilimi**	**Tm (^{o}C)**	**Allel genişliği**	**Primer sekansı (5→3)**
BT06	$(TC)_{23}$	52	156-176	F: AGTCGTCGCTTTGGGATTC R:GAACTATCGGGCTCTGTTAGC
BT09	$(TC)_{28}$	52	128-174	F:CAGTCGTCTGGAACTAGATCCG R:AACGTCGATTACCGTCACCGAG
BT20	(CT)21	52	127-145	F: TTCCACAGCGTTTTCTTAAGTC R: ATGGACGGCGAGATCGTGAG
B100	$(CT)_{12}GTC(CT)_3$	58	146-178	F: CGTCCTCGTATCGGGCTAAC R: CGTGGAAACGTCGTGACG
B116	$(AT)_6(GT)_4AT(GT)_5$	58	172-176	F: CCACAGTGCAAAGTTTCTG R: GAATCAGGAGGCGCACG
B118	$(CT)_{11}AG(CT)_3$	58	201-223	F: CCTAAGTCGCTATATCTTCG R:GAAACACGTATCTACATCTACAG
B119	$(CT)_7CG(CT)_4$	52	130-136	F: GATCGTGCTAGAAAAGGAAG R: CCACAGTGCAAAGTTTCTG
B124	$(CT)_8TCCTCTTCCAC(CT)_{14}$ CCTC$(GC)_3(GGCT)_8$	57	242-256	F: GCAACAGGTCGGGTTAGAG R: CAGGATAGGGTAGGTAAGCAG
B126	$(CT)_{12}GT(CT)_{10}$	57	176-182	F: GCTTGCTGGTGAATTGTGC R: CGATTCTCTCGTGTACTCC
B121	$(CT)_2TY(CT)_3TTCTTTCC(C$ $T)_4CCTT(CT)_4CC(CT)_6$	52	158-170	F: GAACATGTGGAACGACGG R: GAACAATCGATATGTCACCG

3.2.4. Agaroz jel elektroforezi

Elektroforez, büyük moleküllü iyonların ve yüklü parçacıkların elektrik akımı verilen bir alanda artı uca (anot) ya da eksi uca (katot) doğru hareket etmelerini ifade etmektedir. Moleküllerin hareket hızları; sahip oldukları elektrik yüküne, molekülün büyüklüğüne ve şekline bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca kullanılan tampon çözeltiler, taşıyıcı materyalin özelliği, akım şiddeti, süresi, ortam sıcaklığı ve pH moleküllerin hareketini etkileyen temel etmenlerdir (Harris ve Angal 1995).

3.2.4.1. Elektroforez çözeltisi

Elektroforez işleminde tampon çözeltisi olarak Tris - Borat EDTA kullanılmıştır. Elektroforez çözeltisi önce 10 X Elektroforez / Jel Stok Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözelti deiyonize su ile 10 katı sulandırılarak (1 X TBE Elektroforez / Jel Tampon Çözeltisi) hem jelin hazırlanmasında hem de elektroforez tampon çözeltisi olarak kullanılmıştır.

3.2.4.2. Agaroz jellerin hazırlanması

Mikrosatelit lokusların çoğaltılıp çoğaltılmadığı % 2’ lik agaroz jellerinden yararlanılarak kontrol edilmiştir. Agaroz jelden 2 g tartılıp 250 ml’ lik erlen mayerin içine konmuş ve üzerine 100 ml 1 X TBE Elektroforez / Jel Tampon Çözeltisi eklenmiştir. Belirtilen çözelti içinde agaroz iyice homojenize edildikten sonra jel tampon çözeltisi 3 – 5 dakika mikro dalga fırında kaynatılmıştır. Jel kaynatıldıktan sonra üzerine 5 µl etidyum bromid çözeltisi (10 mg etidyum bromid / ml deiyonize su) ilave edilmiştir. Elektroforez tepsisine, jele DNA yüklenebilmesi için gerekli olan kuyucukları oluşturması amacıyla tarak yerleştirilmiştir. Sürekli sallayarak soğutulan jel tepsiye hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edilerek dökülmüştür ve jel katılaşıncaya kadar soğumaya bırakılmıştır. Jel donduktan sonra tarak yavaşça çıkarılmıştır. Hazırlanan jel 1 X TBE Elektroforez / Jel Tampon çözeltisi ile dolu olan yatay elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jel tanka yerleştirildikten sonra üzerini

tamamen kaplayacak şekilde 1 X TBE Elektroforez / Jel Tampon Çözeltisi ilave edilmiştir.

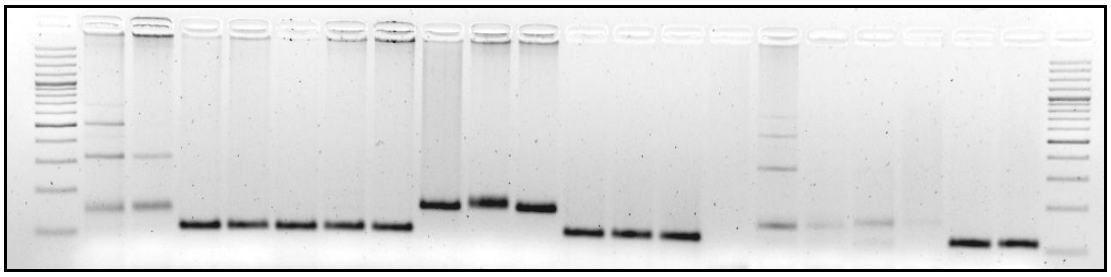
3.2.4.3. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve fotoğraflarının çekilmesi

PCR ürünlerinin üzerine 2 µl DNA Yükleme Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) eklenmiştir. Daha sonra bu karışım mikropipet yardımıyla, kuyulara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. PCR ürünlerinin büyüklüklerinin tahmin edilebilmesi için 50 bç' lik (Fermentas® GeneRuler SMO241) standart DNA markeri (*DNA Ladder*) kullanılmıştır.

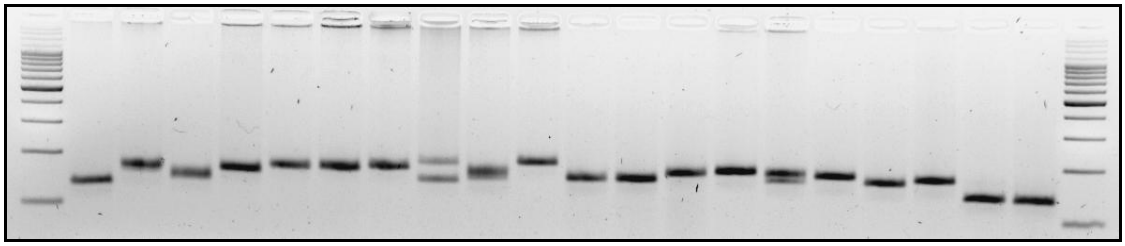
PCR işlemi tamamlandıktan sonra çoğaltılan DNA örneklerinin büyüklüklerine göre ayrılması için elektroforez işlemi yapılmıştır. 85 V' da 60 dakika yürütülmüştür. Elektroforez işleminden sonra jel üzerindeki bant modelleri Jel Görüntüleme Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 212) yardımıyla bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

3.2.5. PCR sonuçları

Çalışılan 10 lokus için yapılan PCR işleminin sonuçları % 2' lik agaroz jellerinde meydana gelen bant modellerinin incelenmesiyle kontrol edilmiştir. Örneğin Şekil 3.1 ve Şekil 3.2' de BT09 ile B126 lokuslarının agaroz jel görüntüleri verilmiştir. Tüm lokuslar bu şekilde görüntülenerek kontrol edilmiştir. Sonra her bir lokusa ait bant modelleri bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Her bir lokus için toplam 10 şekil incelendiğinde çalışılan mikrosatelit lokuslar bakımından homozigot genotipte olduğu düşünülen arıların tek bant, birbirinden oldukça farklı alleller bakımından heterozigot genotipte olduğu düşünülen arıların ise iki bant modeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Çoğaltılmış olan PCR ürünlerinin yaklaşık olarak büyüklüklerinin tahmin edilmesinde jel resminde birinci ve sonuncu örnekler halinde verilmiş olan ve *DNA ladder* olarak tanımlanan standart markerlerden (100 bç' lik *Fermentas® GeneRuler* standart DNA markeri) yararlanılmıştır. Tek bant ve iki bantlı şeklinde belirlenen arıların hangi genotiplerde olduklarına agaroz jellerindeki bant modelleri incelenerek karar verilememektedir. Bu bant modellerine sahip arıların hangi genotiplerde oldukları Otomatik DNA Dizi Analizi cihazında fragment analizi yapılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. BT09 lokusu bakımından meydana gelen bant modelleri



Şekil 3.2. B126 lokusu bakımından meydana gelen bant modelleri

3.2.6. Genotiplerin belirlenmesi

Akdeniz Bölgesi' nde farklı yükseltilerden ve sera bölgelerinden uzak alanlardan toplanan, 3 doğal populasyon içinden örneklenen toplam 107 işçi arının genotipleri 10 mikrosatelit lokus bakımından tek tek fragment analizi yapılarak belirlenmiştir. Allel büyüklükleri Peak Scanner^{TM} Software v1.0 yazılımı kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışmada toplam 1070 (107 örnek X 10 lokus = 1070) adet mikrosatelit fragment analizi yapılmıştır.

3.2.7. İstatistik analizler

Akdeniz Bölgesi' ne ait 3 doğal populasyon örneklerinin, incelenen 10 mikrosatelit lokus bakımından tanımlanmasında, bu amaca yönelik olarak çeşitli istatistik değerlerin hesaplanmasında ve uygun veri analizlerinin yapılmasında POPGENE (Yeh vd 1997), Arlequin v. 2.00 (Schneider vd 2000), GENEPOP v. 1.2 (Raymond ve Rousset 1995), Powermarker (Liu ve Muse 2005), Convert ve Fstat v.1.2 (Goudet 1995) yazılımlarından yararlanılmıştır.

3.2.7.1. Gen frekansları

Her bir lokustaki gen frekansları (Xi) elde edilen genotiplerden Nei (1987)' nin allel (gen) sayma yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.7.2. Heterozigotluk değerleri

Mikrosatelit çalışmalarında heterozigotluk ölçüsü olarak standart kabul edilen allel genişlikleri (AG), allel sayısı (Na) ve etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) istatistikleri hesaplanmıştır.

3.2.7.3. Allel genişliği (AG)

Allel genişliği (AG) değeri; lokustaki genetik çeşitliliğin bir göstergesidir. Lokustaki allel genişliği ne kadar fazla ise o lokus bakımından genetik varyasyonun belirlenme ihtimalinin o kadar yüksek olması beklenir. Allel genişliği populasyondan populasyona değişmektedir. Bu nedenle, allel genişlikleri kullanılarak populasyonların karşılaştırılması mümkün olmaktadır. Bombus arısı populasyonlarında mikrosatelit lokuslara ait allel genişlikleri pik değerleri kullanılarak belirlenen genotiplerden Peak Scanner^{TM} Software v1.0 yazılımı kullanılarak tespit edilmiştir.

3.2.7.4. Allel sayısı (Na)

Çalışılacak lokusların allel sayısı ile etkili allel sayıları saptanarak hangi lokusların incelenmesinin daha uygun olabileceğine karar verilmektedir (Kimura ve Crow 1964). Bir lokustaki allel sayısı ile etkili allel sayısı ne kadar fazla ise o lokus bakımından genetik çeşitliliğin belirlenme ihtimalinin o kadar yüksek olması beklenir. Ayrıca allel sayısı ve etkili allel sayısıyla da populasyonlar arası karşılaştırmalar yapılabilmektedir.

3.2.7.5. Etkili allel sayısı (Ne)

Etkili allel sayısı (Ne) bir lokusta varolan allellerin ne kadarının o lokustaki genetik varyasyona katkı sağladığının belirlenmesinde kullanılan bir istatistiktir (Kimura ve Crow 1964).

3.2.7.6. Gözlenen heterozigotluk (Ho)

Gözlenen heterozigotluk (Ho)**,** üzerinde durulan lokuslar bakımından heterozigot genotiplerin toplam genotiplere oranı şeklinde Nei (2000)' ye göre hesaplanmıştır.

3.2.7.7. Beklenen heterozigotluk (He)

Beklenen heterozigotluklar gen frekansları kullanılarak tahmin edilmiştir. Hesaplanan beklenen heterozigotluklar gen frekansları kullanılarak yansız olarak Levene (1949)' e göre tahmin edilmiştir.

3.2.7.8. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)

PIC değeri bir genetik markerin ne kadar polimorfik yapıda olduğunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Çalışılan lokuslardaki varyasyonun hangi seviyelerde olduğunun ve buna bağlı olarak da o lokusun marker olarak kullanılma etkinliğini belirleyen bir katsayı olarak kullanılmaktadır. Bu temelde PIC değerleri herhangi bir lokusu tanımlayan ve o lokus hakkında daha duyarlı bilgi elde edinilmesi amacıyla kullanılan iyi bir ölçüt olarak kabul edilmektedir.

3.2.8. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) ve F - istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})

3.2.8.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis)

Ortak ataları olan bireyler akraba, akraba bireylerin çiftleştirilmesi ise akrabalı yetiştirme olarak tanımlanmaktadır. Akrabalı yetiştirme ile genotip frekanslarında

Hardy - Weinberg dengesinden beklenen oranlarda homozigotlaşmaya doğru bir değişme olmaktadır. Akrabalı yetiştirme katsayısında (Fis); incelenen lokus veya lokuslar bakımından Hardy - Weinberg dengesinden olan sapmalar homozigotlaşma indeksi olarak ifade edilmektedir. Fis değeri – 1 ile + 1 arasında değişmektedir. Negatif değerler heterozigotluk fazlalığına, pozitif değerler ise heterozigotluk azlığına işaret etmektedir. Akrabalı yetiştirme katsayısı Wright (1978)' e göre iki şekilde tahmin edilmiştir. Fis değerleri tüm lokuslar üzerinden ve her bir populasyon için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

3.2.8.2. F istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})

Populasyonlarda evrim sürecinde meydana gelen seleksiyon, göç ve bireylerin atasal kayıtları hakkında tanımlayıcı bilgilerin elde edilmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Aynı ırkın farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliği incelemek ve populasyonlar ya da ırklar arası farkı tanımlayabilmek için fiksasyon indeksleri (F istatistikleri) kullanılmaktadır. Bu indeksler Wright (1978) tarafından geliştirilmiş olup sembolleri F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST}' dir. F istatistikleri genetik varyasyonu; toplam populasyonlar, alt populasyonlar ve bireyler bazında incelemektedir. F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST} değerleri beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilmektedir (Nei 1987).

F_{IT}, populasyonların tamamında bulunan Hardy - Weinberg dengesinden sapmaların ölçümüdür. Populasyonların akrabalı yetiştirme katsayısı olarak tanımlanmaktadır. Populasyon seviyesinde rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalini belirleyen bir değerdir. F_{IT} tüm bireylerin bir arada düşünüldüğü toplam populasyonlardaki kendileşme ölçütüdür. Kısacası, F_{IT} hem yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) hemde populasyonlar arası farktan kaynaklanan sapmayı tespit etmektedir. Alt populasyon içerisindeki akrabalığın etkileri ve alt populasyonlar arası farkların etkileri dikkate alınarak hesaplanmakadır.

F_{IS} değeri alt populasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonları tanımlar. Yani alt populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalidir. Alt populasyonlardaki akrabalı yetiştirme

katsayısı olarak tanımlanmaktadır. Hardy - Weinberg dengesinden sapmaların ölçülebilmesi için F_{IS}, alt populasyonlar seviyesinde bireylerin akrabalığına değinmektedir.

F_{IS} değeri negatif olarak bulunursa, heterozigot fazlalığı; sıfır değerine yakın bulunur ise Hardy - Weinberg dengesinin mevcut olduğu; pozitif olarak bulunursa, homozigot fazlalığının olduğu görülmektedir. F_{IS} değerleri "0 ile 1 arasında" değişir. Değerinin "1" olması demek tamamen saf yetiştirmeyi ifade ederken, " 1' den 0' a uzaklaşması" hali saf yetiştirmeden uzaklaşıldığını ifade etmektedir.

F_{ST} ise, alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için belirlenen bir değerdir. Bir lokus açısından populasyonları karşılaştırmada kullanılır. Alt populasyonlardan rastgele ele alınan iki gametin ortak atadan gelme ihtimali olup, alt populasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsüdür.

F_{ST}, 0 ile 1 arasında bir değer alır. Belirlenen F_{ST} değeri 1' e ne kadar yakın ise alt populasyonlar ortak atadan oldukça uzaktır denilebilir.

Eğer F_{ST} değeri;
- (0 - 0.05) arasında bir değer alıyor ise küçük bir genetik farklılaşma;
- (0.05 - 0.15) arasında bir değer alıyor ise orta düzeyde farklılaşma;
- (0.15 - 0.25) arasında bir değer alıyor ise büyük bir genetik farklılaşma;
- (0.25' ten) büyük değerler alıyorsa çok büyük bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu söylenebilir.

Kısacası, F_{ST} değeri küçük olduğu zaman populasyonların arasındaki varyasyon da azdır. Yani iki populasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir (Hartl ve Clark 2007).

3.2.9. Genetik farklılıklar

Populasyonlar arasındaki genetik benzerlikler veya farklılıklar genetik temeli birbirinden farklı olan yöntemlerden yararlanılarak belirlenmiştir. Yararlanılan bu ölçütler Wright (1978)'ın F-istatistikleri ile bağlantılı olarak Weir ve Cockerham (1984) tarafından geliştirilen ikişerli F_{ST} istatistiği (pairwise F_{ST} ve Nei (1972)'nin standart genetik mesafe (D) değeridir.

3.2.9.1. İkişerli F_{ST} değerleri

Populasyonlarda kısa sürede meydana gelen genetik farklılıklar ikişerli F_{ST} değerleri olarak ölçülmektedir. Başka bir deyişle, populasyonlar arasındaki allel frekanslarından olan farklılıkların bir ölçüsü olarak değerlendirilmektedir (Weir ve Cockerham, 1984).

3.2.9.2. Genetik mesafe (D)

Populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ölçülmesinde klasik olarak kullanılan ölçüt, Nei (1972)'nin genetik mesafe (D, standard genetic distance) değeridir. Nei (1972)' nin standart genetik mesafe (D) değeri teorik olarak Kimura ve Crow (1964) tarafından 1960'ların başlarında geliştirilen sonsuz allel mutasyon modeli (IAM) prensiplerine uymaktadır.

4. BULGULAR

4.1. Gen Frekansları

Akdeniz Bölgesi doğal *Bombus terrestris* populasyonlarında gen frekansları (Xi) fragment analizleri yapılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.1 – 10' da lokus seviyesinde Çizelge 4.11 – 13' te ise populasyonlar seviyesinde verilmiştir. Ayrıca çizelgelerin tamamı incelendiğinde 3 populasyon için çalışılan 10 mikrosatelit lokustan B116 ve B119 dışındakilerin polimorfik bir yapı gösterdiği saptanmıştır. İncelenen her bir lokustaki allel frekansları, gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın homozigotlaşma katsayısı (Fis) değerleri aşağıda tek tek özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. Bombus arısı populasyonlarında BT20 lokusu bakımından tespit edilen Allel frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	126	0.0750	0.0270	0.0000
	128	0.0500	0.2162	0.1667
	130	0.2125	0.1622	0.1167
	132	0.0125	0.0541	0.0333
	134	0.1875	0.0541	0.1000
	136	0.0625	0.1081	0.1500
	138	0.1000	0.1216	0.1167
	140	0.0875	0.0811	0.1000
	142	0.0875	0.0946	0.0667
	144	0.1000	0.0541	0.1167
	146	0.0250	0.0270	0.0333
Na		11	11	10
Ne		7.7859	7.9825	8.4906
Ho		0.9000	0.9189	0.9000
He		0.8826	0.8867	0.8972
PIC		0.8587	0.8624	0.8704
Fis		-0.0326	-0.0505	-0.0202

BT20 lokusu bakımından 3 populasyonda 11 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Yalnızca 126 bç' lik allel Adana populasyonunda bulunmazken, 10 allel yaygın olarak bulunmaktadır. Çalışılan tüm populasyonlarda 130, 134, 136, 138, 140, 142 ve 144 bç' lik alleller yaygın görülmektedir. Tespit edilen allellerin gen frekansları 0.025 - 0.2162 seviyelerindedir. Etkili allel sayısı (Ne) Kemer-Termesos-Adana için sırasıyla 7.78 -

7.98 - 8.49, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.9 - 0.91 - 0.9, beklenen heterozigotluk (He) 0.88 - 0.88 - 0.89, PIC 0.85 - 0.86 - 0.87 ve Fis değerleri -0.0326, -0.0505 ile -0.0202 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. Bombus arısı populasyonlarında B116 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	170	0.9125	0.9459	0.9000
	172	0.0875	0.0541	0.1000
Na		2	2	2
Ne		1.1900	1.1139	1.2195
Ho		0.1750	0.1081	0.2000
He		0.1617	0.1037	0.1831
PIC		0.1469	0.097	0.1638
Fis		-0.0959	-0.0571	-0.1111

B116 lokusuyla yapılan çalışmada 170, 172 olmak üzere sadece 2 farklı allel (Na) bulunmuştur. 170 bç' lik allelin frekansları Kemer' de 0.91, Termosos' da 0.94 ve Adana' da 0.90 şeklinde yüksek değerlerde iken, 172 bç' lik allelin frekansları sırasıyla 0.087, 0.054 ve 0.10 olarak daha düşük değerlerdedir. Etkili allel sayısı (Ne) sırasıyla, 1.19 – 1.11 - 1.21, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.17 – 0.10 - 0.20, beklenen heterozigotluk (He) 0.16 – 0.10 – 0.18, PIC 0.14, 0.09, 0.16 ve Fis değeri -0.0959, -0.0571 ve -0.1111 aralarında belirtilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. Bombus arısı populasyonlarında B121 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	159	0.1875	0.1622	0.1333
	161	0.0500	0.0405	0.0167
	165	0.4500	0.5946	0.6167
	167	0.2750	0.1622	0.2167
	169	0.0375	0.0405	0.0167
Na		5	5	5
Ne		3.1527	2.4425	2.2444
Ho		0.8000	0.6757	0.5000
He		0.6915	0.5987	0.5638
PIC		0.6302	0.5493	0.5031
Fis		-0.1716	-0.1441	0.0982

B121 lokusu bakımından 5 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Allellerin tamamı 3 populasyonda da bulunmuştur. 165 bç' lik alel her 3 populasyonda yüksek gen frekansına (0.45, 0.59, 0.61) sahipken, 161 ve 169 bç' lik alleller düşük frekansta saptanmışlardır. Allellerin gen frekansları 0.0167 ile 0.6167 şeklinde belirlenmiştir. Etkili allel sayısı (Ne) Kemer-Termesos-Adana için sırasıyla 3.15 – 2.44 – 2.24, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.8 - 0.67 - 0.5, beklenen heterozigotluk (He) 0.69 - 0.59 - 0.56, PIC 0.63 - 0.54 - 0.50 ve Fis değerleri -0.17, -0.14 ile 0.09 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. Bombus arısı populasyonlarında B100 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	178	0.1125	0.0676	0.0333
	180	0.0125	0.0000	0.0000
	182	0.0250	0.0270	0.0167
	184	0.0500	0.0405	0.0333
	186	0.1000	0.1081	0.1167
	188	0.0750	0.0270	0.0500
	190	0.1000	0.1622	0.1667
	192	0.0875	0.1351	0.1000
	194	0.1375	0.0676	0.1333
	196	0.1125	0.1081	0.1167
	198	0.0375	0.0405	0.0167
	200	0.0125	0.0135	0.0167
	202	0.0625	0.0135	0.0667
	204	0.0000	0.0270	0.0167
	206	0.0000	0.0135	0.0000
	208	0.0375	0.0676	0.0167
	210	0.0125	0.0542	0.0667
	212	0.0125	0.0000	0.0000
	214	0.0125	0.0135	0.0333
	220	0.0000	0.0135	0.0000
Na		17	18	16
Ne		11.3475	10.9960	10.1124
Ho		0.9000	0.8649	0.8667
He		0.9234	0.9215	0.9164
PIC		0.9051	0.9022	0.8929
Fis		0.0130	0.0486	0.0382

B100 lokusuna göre 3 populasyonda allel genişlikleri (AG) 178 - 220 bç olacak şekilde değişen toplam 20 farklı allel (Na) tespit edilmiştir Allel frekansları bakımından

populasyonlar arasında farklılıklar bulunmaktadır. 180, 212 bç' lik alleller yalnızca Kemer populasyonunda, 206 ve 220 bç' lik alleller Termesos populasyonunda ve 204 bç' lik alel ise Termesos ve Adana populasyonlarında tespit edilmiştir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.0125 ile 0.1667 arasında değişmektedir. Etkili allel sayısı (Ne) Kemer, Termesos ve Adana populasyonları için sırasıyla 11.34 - 10.99 - 10.11, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.9 - 0.86 - 0.86, beklenen heterozigotluk (He) 0.92 - 0.92 - 0.91, PIC 0.90 - 0.90 - 0.89 ve Fis değeri ise 0.013 - 0.048 - 0.038 olarak sunulmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5. Bombus arısı populasyonlarında B119 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	127	0.5375	0.6351	0.6167
	129	0.4000	0.3243	0.3500
	131	0.0625	0.0405	0.0333
Na		3	3	3
Ne		2.2084	1.9599	1.9846
Ho		0.4500	0.4865	0.5333
He		0.5541	0.4965	0.5045
PIC		0.4512	0.4032	0.4018
Fis		0.1776	0.0067	-0.0750

B119 lokusu bakımından 127, 129 ve 131 bç' lik 3 allel (Na) tespit edilmiştir. 127 bç' lik lokus her 3 populasyonda da en yüksek gen frekansına sahiptir (0.53 - 0.63 - 0.61). 131 bç' lik allelin gen frekansları çok düşüktür (0.06 - 0.04 - 0.03). Etkili allel sayısı (Ne) sırasıyla 2.2 - 1.95 - 1.98, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.45 - 0.48 - 0.53, beklenen heterozigotluk (He) 0.55 - 0.49 - 0.50, PIC 0.45 - 0.40 - 0.40 ve Fis değerleri 0.1776, 0.0067, -0.0750' dir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.6. Bombus arısı populasyonlarında B126 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	170	0.0250	0.0000	0.0167
	172	0.1000	0.2297	0.2833
	174	0.2125	0.2027	0.1667
	176	0.1875	0.2434	0.1167
	178	0.1250	0.1486	0.1167
	180	0.0500	0.0135	0.0333
	182	0.0625	0.0135	0.1000
	184	0.1000	0.0676	0.0500
	186	0.0875	0.0270	0.0167
	188	0.0125	0.0000	0.0000
	190	0.0125	0.0270	0.0667
	192	0.0000	0.0000	0.0333
	194	0.0250	0.0270	0.0000
Na		12	10	11
Ne		7.6010	5.4870	6.4516
Ho		0.6500	0.6216	0.7333
He		0.8794	0.8290	0.8593
PIC		0.8528	0.793	0.8287
Fis		0.2515	0.2318	0.1321

B126 lokusuyla yapılan analiz sonucunda 13 farklı allel (Na) bulunmuştur. Bunlardan 170 bç' lik allel Kemer ve Adana populasyonlarında 0.025 ve 0.0167 gen frekanslarında hesaplanmıştır. 188 bç' lik allel sadece Kemer populasyonunda 0.0125 gen frekansıyla bulunurken; 192 bç' lik allel ise sadece Adana populasyonunda 0.033 gen frekansıyla saptanmıştır. 194 bç' lik allel ise Kemer ve Termesos populasyonlarında 0.025 ve 0.027 gen frekanslarında bulunmuştur. 172, 174, 176 ve 178 bç' lik lokuslar yüksek gen frekansları göstermiştir (0.1 - 0.2434). Kemer, Termesos ve Adana populasyonlarında etkili allel sayısı (Ne) sırasıyla 7.6 - 5.48 - 6.45, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.65 - 0.62 - 0.73, beklenen heterozigotluk (He) 0.87 - 0.82 - 0.85, PIC 0.85 - 0.79 - 0.82 ve Fis değerleri 0.2515, 0.2398 ve 0.1321' dir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7. Bombus arısı populasyonlarında BT06 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	151	0.0125	0.0676	0.0833
	153	0.0625	0.0135	0.0167
	155	0.1125	0.0405	0.0333
	157	0.1000	0.1622	0.2000
	159	0.2375	0.2432	0.2667
	161	0.2250	0.1622	0.2500
	163	0.0625	0.0541	0.0500
	165	0.1000	0.1216	0.0333
	167	0.0000	0.0135	0.0500
	169	0.0250	0.0135	0.0000
	171	0.0250	0.0811	0.0167
	173	0.0375	0.0270	0.0000
Na		11	12	10
Ne		6.6528	6.9669	5.3097
Ho		0.8000	0.7838	0.8667
He		0.8604	0.8682	0.8254
PIC		0.8332	0.841	0.7868
Fis		0.0585	0.0849	-0.0678

BT06 lokusuna göre, 3 populasyonda 12 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. 157, 159 ve 161 bç' lik allellerin oranı gen frekansları diğer allellerin frekanslarından yüksektir (0.1 - 0.2667). 167 bç' lik allel Kemer populasyonunda bulunmamaktadır. 169 ve 173 bç' lik alleller ise Adana populasyonunda yoktur. Etkili allel sayısı (Ne) bakımından populasyonlar sırasıyla 6.65 - 6.96 - 5.30, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.80 - 0.78- 0.86, beklenen heterozigotluk (He) 0.86 - 0.86 - 0.82, PIC 0.83 - 0.84, 0.78 ve Fis değerleri 0.0585, 0.0849, - 0.0678 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8. Bombus arısı populasyonlarında B124 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	240	0.0250	0.0135	0.0000
	242	0.0250	0.0000	0.0000
	244	0.2375	0.2027	0.2333
	246	0.0750	0.1757	0.0667
	248	0.0500	0.0541	0.0833
	250	0.0500	0.0541	0.0333
	252	0.1375	0.0676	0.0333
	254	0.0875	0.0811	0.1000
	256	0.0625	0.1757	0.0833
	258	0.1250	0.0946	0.1333
	260	0.0375	0.0541	0.1000
	262	0.0250	0.0000	0.0833
	264	0.0250	0.0000	0.0167
	266	0.0125	0.0270	0.0167
	268	0.0250	0.0000	0.0000
	270	0.0000	0.0000	0.0167
Na		15	11	13
Ne		8.4881	7.5427	8.2949
Ho		0.9250	0.9189	0.8667
He		0.8934	0.8793	0.8944
PIC		0.8722	0.8536	0.8686
Fis		-0.0485	-0.0654	0.0145

B124 lokusu bakımından 3 populasyon için 16 farklı allel (Na) saptanmıştır. 242 ve 268 bç' lik alleller 0.025 gen frekansıyla sadece Kemer populasyonunda tespit edilmiştir. 262 ve 264 bç' lik alleller ise Termesos populasyonunda bulunmazken, Kemer ve Adana populasyonlarında vardır. 240 bç' lik allel ise Kemer ve Termesos populasyonlarında düşük gen frekanslarıyla saptanmıştır (0.025 ile 0.0135). 244 bç' lik allel her 3 populasyonda da en yüksek frekanslardadır (0.2375 - 0.2027 - 0.2333). Kemer, Adana ve Termesos populasyonlarının etkili allel sayısı (Ne) sırasıyla 8.48 - 7.54 - 8.29, beklenen heterozigotluk (Ho) 0.92 - 0.91 - 0.86, gözlenen heterozigotluk (He) 0.89 - 0.87 - 0. 89, PIC 0.87 - 0.85 - 0.86 ve Fis değerleri -0.0485, -0.0594 ve 0.0145' dir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.9. Bombus arısı populasyonlarında BT09 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	122	0.0125	0.0135	0.0000
	132	0.0125	0.0135	0.0333
	138	0.0125	0.0270	0.0000
	140	0.0000	0.0135	0.0000
	144	0.0000	0.0270	0.0167
	146	0.0375	0.0000	0.0500
	148	0.0125	0.0135	0.0333
	150	0.0375	0.0135	0.0000
	152	0.0500	0.0000	0.0667
	154	0.1000	0.0676	0.1167
	156	0.1375	0.0946	0.1167
	158	0.1000	0.2162	0.2000
	160	0.1625	0.1351	0.1667
	162	0.0875	0.1216	0.0833
	164	0.0625	0.1353	0.0833
	166	0.0375	0.0270	0.0333
	168	0.0250	0.0270	0.0000
	170	0.0625	0.0135	0.0000
	172	0.0125	0.0000	0.0000
	174	0.0125	0.0000	0.0000
	178	0.0125	0.0270	0.0000
	182	0.0125	0.0135	0.0000
Na		20	18	12
Ne		11.1888	8.5831	8.3721
Ho		0.9750	1.0000	0.7000
He		0.9222	0.8956	0.8955
PIC		0.904	0.8731	0.8692
Fis		-0.0707	-0.1452	0.205

BT09 lokusu ile yapılan analize göre 22 farklı allel (Ne) bulunmuştur. 122, 138, 150, 168, 178 ve 182 bç' lik alleller Kemer ve Termesos populasyonlarında varken Adana populasyonlarında yoktur. Bu allellerin gen frekansları 0.0125 ile 0.375 olarak hesaplanmıştır. 140 bç' lik allel 0.0135 olarak hesaplanan düşük gen frekansıyla yalnızca Termesos populasyonunda saptanmıştır. 144 bç' lik allel ise Kemer populasyonunda bulunmazken 146 ve 152 bç' lik allel Termesos populasyonunda yoktur. Hesaplanan en yüksek gen frekansları (0.10 - 0.21) 158 ve 160 bç' lik allellerdir. Etkili allel sayısı (Ne) çalışılan 3 populasyon için sırasıyla 11.18 - 8.58 - 8.37, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.97 - 1.00 - 0.70, beklenen heterozigotluk (He) 0.92

- 0.89 - 0.89, PIC 0.90 - 0.87- 0.86 ve Fis değerleri -0.0707, -0.1319 ve 0.2050 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.10. Bombus arısı populasyonlarında B118 lokusu bakımından tespit edilen Allel Frekansları, Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

	Allel	**Kemer**	**Termesos**	**Adana**
	205	0.0000	0.0405	0.0333
	207	0.1750	0.1757	0.2000
	209	0.1000	0.1351	0.0333
	211	0.2750	0.2162	0.1667
	213	0.0500	0.0000	0.0500
	215	0.0125	0.0270	0.0667
	217	0.3625	0.3650	0.3167
	219	0.0250	0.0135	0.1000
	221	0.0000	0.0000	0.0167
	223	0.0000	0.0270	0.0000
	225	0.0000	0.0000	0.0167
Na		7	8	10
Ne		3.9851	4.3050	5.3254
Ho		0.7000	0.7297	0.8000
He		0.7585	0.7782	0.8260
PIC		0.7101	0.735	0.7895
Fis		0.0655	0.0495	0.0150

B118 lokusunda 11 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Allellerin gen frekansları 0.135 ile 0.365 aralığındadır. 205 bç' lik allel Kemer populasyonunda yokken, 213 bç' lik allel ise sadece Termesos populasyonunda yoktur. 221 ve 225 bç' lik alleller ise 0.0167 olarak hesaplanan düşük bir frekansla yalnızca Adana populasyonunda saptanmıştır. 223 bç' lik allel ise sadece Termesos populasyonunda tespit edilmiştir. Her 3 populasyon için etkili allel sayısı (Ne) sırasıyla 3.98 - 4.30 - 5.32, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.70 - 0.72 - 0.80, beklenen heterozigotluk (He) 0.75 - 0.77 - 0.82, PIC 0.71 - 0.73 - 0.78 ve Fis değerleri 0.0655, 0.0495, 0.0150' dir (Çizelge 4.10).

Kemer, Termesos ve Adana populasyonlarının her biri incelenen tüm lokuslar bakımından ayrı ayrı analiz edilmişler ve sonuçları tek tek çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 4.11 – 13).

Çizelge 4.11. Kemer bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

Lokus	**Na**	**Ne**	Ho	He	PIC	Fis
BT20	11	7.7859	0.9000	0.8826	0.8587	-0.0326
B116	2	1.1900	0.1750	0.1617	0.1469	-0.0959
B121	5	3.1527	0.8000	0.6915	0.6302	-0.1716
B100	17	11.3475	0.9000	0.9234	0.9051	0.0130
B119	3	2.2084	0.4500	0.5541	0.4512	0.1776
B126	12	7.6010	0.6500	0.8794	0.8528	0.2515
BT06	11	6.6528	0.8000	0.8604	0.8332	0.0585
B124	15	8.4881	0.9250	0.8934	0.8722	-0.0485
BT09	20	11.1888	0.9750	0.9222	0.9040	-0.0707
B118	7	3.9851	0.7000	0.7585	0.7101	0.0655
Ortalama ± St. Sap	10.3 ± 6.0194	6.36 ± 3.5943	0.7275 ± 0.2493	0.7527 ± 0.2391	0.7167 ± 0.247	0.0147 ± 0.128

Kemer populasyonunda en az allel sayısı B116 (2 adet) ve B119 lokuslarında (3 adet) bulunmuştur. Allel sayısısnın en fazla olduğu lokus ise BT09' dur. Etkili allel sayısı bakımından değerlendirildiğinde ise bu populasyondaki varyasyonun tanımlanmasında en az etkisi olan lokusların B116, B121, B119 ve B118 iken, en fazla etkisi olan allelerin ise Ne değeri en yüksek olan B100 ve BT09 lokusları oldukları söylenebilir. Ayrıca tüm lokusların ortalaması olan 6.36' dan büyük değerlere sahip BT20, B126, BT06 ve B124 lokusları da populasyonda varolan varyasyonu saptamada etkindir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerine bakıldığında ise en düşük B116 lokusunda saptanırken, en yüksek değer B100 ve BT09 lokuslarında bulunmuştur. Kemer populasyonu için en az duyarlı bilgi veren PIC değerleri ortalama değerin altında hesaplanan B116, B121 ve B119 lokuslarıdır. Akrabalı yetiştirme katsayısı ortalama 0.0147 olarak bulunmuş ve populasyon Hardy – Weinberg dengesinde saptanmıştır.

Çizelge 4.12. Termesos bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

Lokus	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
BT20	11	7.9825	0.9189	0.8867	0.8624	-0.0505
B116	2	1.1139	0.1081	0.1037	0.0970	-0.0571
B121	5	2.4425	0.6757	0.5987	0.5493	-0.1441
B100	18	10.9960	0.8649	0.9215	0.9022	0.0486
B119	3	1.9599	0.4865	0.4965	0.4032	0.0067
B126	10	5.4870	0.6216	0.8290	0.7930	0.2318
BT06	12	6.9669	0.7838	0.8682	0.8410	0.0849
B124	11	7.5427	0.9189	0.8793	0.8536	-0.0654
BT09	18	8.5831	1.0000	0.8956	0.8731	-0.1452
B118	8	4.3050	0.7297	0.7782	0.7350	0.0495
Ortalama ± St. Sap	9.8 ± 5.5337	5.7379 ± 3.2349	0.7108 ± 0.263	0.7257 ± 0.2595	0.6910 ± 0.263	-0.0041 ± 0.114

Termesos populasyonunun tanıtıcı istatistikleri incelendiğinde en az allel sayısı ve etkili allel sayısı B116, B119 ve B121 lokuslarında tespit edilmiştir. Bu populasyon için en fazla allel sayısı ve etkili allel sayısı ise B100 ve BT09 lokuslarında bulunmuştur. Populasyondaki gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri en az B116 ve BT09 lokuslarında iken, en yüksek heterozigotluk değerleri BT20, B100, B124 ve B118 lokuslarındadır. PIC değerleri açısından bakıldığında, ortalama değerin üzerinde hesaplanan BT20, B100, B126, BT06, B124, BT09 ve B118 lokusları daha duyarlı bilgi edinilmesini sağlamıştır. Termesos populasyonunun lokuslar bakımından en düşük Fis değeri BT09 lokusunda (- 0.1452) iken en yüksek Fis değeri B126 lokusundadır (0.2318). Ortalama değer ise – 0.0041 bulunmuştur. Sonucun negatif bulunması populasyondaki heterozigot fazlalığına işaret etmektedir. Ancak bu değer sıfıra yakındır. Dolayısıyla populasyon Hardy – Weinberg dengesindedir.

Çizelge 4.13. Adana bombus arısı populasyonunun tanıtıcı istatistikleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

Lokus	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
BT20	10	8.4906	0.9000	0.8972	0.8704	-0.0202
B116	2	1.2195	0.2000	0.1831	0.1638	-0.1111
B121	5	2.2444	0.5000	0.5638	0.5031	0.0982
B100	16	10.1124	0.8667	0.9164	0.8929	0.0382
B119	3	1.9846	0.5333	0.5045	0.4018	-0.0750
B126	11	6.4516	0.7333	0.8593	0.8287	0.1321
BT06	10	5.3097	0.8667	0.8254	0.7868	-0.0678
B124	13	8.2949	0.8667	0.8944	0.8686	0.0145
BT09	12	8.3721	0.7000	0.8955	0.8692	0.2050
B118	10	5.3254	0.8000	0.8260	0.7895	0.0150
Ortalama ± St. Sap	9.2 ± 4.4920	5.7805 ± 3.1224	0.6967 ± 0.2241	0.7366 ± 0.2425	0.6975 ± 0.252	0.0229 ± 0.099

Adana bombus arısı populasyonunda en az allel sayısı ve etkili allel sayısı B116 ve B119 lokuslarındadır. B100 lokusunda ise allel ve etkili allel sayısı en fazladır. Etkili allel sayılarının ortalaması 5.78' dir. Populasyonda varolan varyasyonun belirlenmesinde bu ortalamanın üzerinde değere sahip BT20, B100, B126, B124 ve BT09 lokuslarının öncelikli olarak kullanılası önerilebilir. Gözlenen ve beklenen allel sayıları en düşük B116 lokusunda hesaplanırken, BT20 ve B100 lokuslarında en yüksek değerleri almıştır. Populasyona ait polimorfizm bilgi içeriği en düşük B116 lokusunda, en yüksek B100 lokusunda tespit edilmiştir. Adana populasyonunda en çok bilgi sağlayıcı lokuslar ortalamanın üzerinde değere sahip olan BT20, B100, B126, BT06, B124, BT09 ve B118 lokuslarıdır. Fis değerlerinde ise en düşük değer B116 lokusunda – 0.1111' dir. BT09 lokusu ise en yüksek Fis değerine sahiptir. Populasyonun ortalaması 0.0229 olarak hesaplanmıştır ve populasyon Hardy – Weinberg dengesindedir.

4.2. Heterozigotluk Değerleri

Mikrosatelit çalışmalarında heterozigotluk ölçüsü olarak standart kabul edilen allel genişlikleri (AG), allel sayısı (Na) ve etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) istatistikleri hesaplanmıştır. Bu amaçla çalışılan 10 mikrosatelit lokus bakımından populasyonların

tanıtıcı istatistikleri lokus (Çizelge 4.14) ve populasyon (Çizelge 4.15) seviyelerinde ayrı ayrı verilmiştir.

Çizelge 4.14. Bombus arısı populasyonlarında çalışılan 10 mikrosatelit lokusun tanıtıcı istatistikleri. Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Wright' ın Homozigotlaşma Katsayısı (Fis) Değerleri.

Lokus	**AG**	**Na**	**Ne**	**Ho**	**He**	**PIC**	**Fis**
BT20	126-146	11	9.02	0.9065	0.8933	0.8787	-0.0195
B116	170-172	2	1.17	0.1589	0.1469	0.1356	-0.0863
B121	159-169	5	2.66	0.6729	0.6266	0.5744	-0.0790
B100	178-220	20	11.62	0.8785	0.9182	0.9075	0.0388
B119	127-131	3	2.06	0.4860	0.5186	0.4229	0.0585
B126	170-194	13	7.00	0.6636	0.8612	0.8407	0.2259
BT06	151-173	12	6.67	0.8131	0.8542	0.8341	0.0432
B124	240-270	16	8.80	0.9065	0.8906	0.8766	-0.0227
BT09	122-182	22	10.09	0.9065	0.9051	0.8929	-0.0063
B118	205-225	11	4.55	0.7383	0.7840	0.7509	0.0538
Ortalama ± St.Sap.		11.5 ± 6.75	6.36 ± 3.61	0.7131 ± 0.2388	0.7399 ± 0.2469	0.7115 ± 0.2568	0.0207 ± 0.0889

Çizelge 4.15. Bombus arısı populasyonlarında çalışılan 10 mikrosatelit lokus bakımından tanıtıcı istatistikler. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar, PIC ve Wright'ın Akrabalı Yetişme Katsayıları (Fis) ve Fis' nin Bootstrap Güven Aralıkları.

Lokus	**Na**	**Ne**	**Ho**	**He**	**PIC**	**Fis**	**Fis' nin % 95 güven aralığı**
Kemer	10.3	6.4	0.7275	0.7527	0.7167	0.0147	(-0.002 - 0.084)
Termesos	9.8	5.7	0.7108	0.7257	0.6910	-0.0041	(-0.036 - 0.104)
Adana	9.2	5.8	0.6967	0.7366	0.6975	0.0229	(0.001 - 0.092)
Ortalama ± St. Sap.	9.8 ± 0.5	5.97 ± 0.38	0.712 ± 0.015	0.738 ± 0.014	0.702 ± 0.013	0.0112± 0.013	(-0.012 - 0.093)

4.2.1. Allel genişlikleri (AG)

Çizelge 4.14 incelendiğinde, en az allel genişliği (AG), B116 (170-172 bç) ile B119 (127- 129- 131 bç) lokuslarında tespit edilirken, en fazla allel genişliği BT20 (126-146 bç), B100 (178-220 bç), B126 (170-194 bç), BT06 (151-173 bç), B124 (240-270 bç), BT09 (122-182 bç), B118 (205-225 bç) lokuslarında tespit edilmiştir. Buna göre Akdeniz Bölgesi bombus arısı populasyonlarında genetik varyasyonun tespit edilmesinde çalışılması gerekli lokuslar BT20, B100, B126, BT06, B124, BT09 ve B118 olarak seçilebilir.

4.2.2. Allel sayısı (Na)

Allel sayısı (Na) lokuslar seviyesinde Çizelge 4.14' de, populasyon seviyesinde ise Çizelge 4.15' de verilmiştir. Çizelge 4.14' e bakıldığında, lokus seviyesinde en az sayıdaki allel B116 (2 adet) ve B119 (3 adet) lokuslarında saptanırken, en fazla allel ise B100 (20 adet) ile BT09 (22 adet) lokuslarında bulunmaktadır. Tüm lokuslar üzerinden ortalama allel sayısı 11.5 ± 6.75 olarak hesaplanmıştır. Lokuslardaki allel sayıları dikkate alındığında Akdeniz Bölgesi' ndeki 3 doğal bombus populasyonlarındaki varolan genetik varyasyonun tespit edilmesinde öncelikli olarak çalışılması gerekli lokusların ortalamanın üzerinde allel sayısına sahip olan B100, B126, BT06, B124 ve BT09 lokusları olduğu ifade edilebilir. Ayrıca BT20 ve B118 lokuslarıyla da çalışılabilir.

Çizelge 4.15 incelendiğinde populasyon seviyesinde ortalama olarak en az sayıdaki allel Adana (9.2 adet) populasyonunda bulunurken, en fazla sayıda allel Kemer (10.3 adet) populasyonunda belirlenmiştir. Çalışılan 3 populasyonun allel sayıları birbirine çok yakındır ve ortalamaları da 9.8 ± 0.5 allel olarak hesaplanmıştır.

4.2.3. Etkili allel sayısı (Ne)

Etkili allel sayıları (Ne) lokuslar seviyesinde (Çizelge 4.14) ve populasyonlar seviyesinde (Çizelge 4.15) ayrı ayrı hesaplanmıştır. Çizelge 4.14' e bakıldığında, lokus

seviyesinde en az sayıdaki Ne B116 (1.17), B119 (2.06) ve B121 (2.66) lokuslarında saptanırken, Ne sayısının en yüksek olduğu lokus ise B100 (11.62)' dür. Tüm lokuslar üzerinden ortalama Ne 6.36 ± 3.61 olarak bulunmuştur. Lokuslardaki Ne değerleri incelendiğinde bombus populasyonlarında varolan genetik farklılığın saptanmasında öncelikle, ortalama değerin üstünde Ne değerine sahip lokuslarla çalışılması gerekmektedir. Bu lokuslar ise BT20, B100, B126, BT06, B124 ve BT09' dur.

Populasyon seviyesinde hazırlanan Çizelge 4.15' e göre en düşük Ne Termesos (5.7 adet) populasyonunda belirlenirken, en fazla sayıdaki Ne, Kemer (6.4 adet) populasyonunda tespit edilmiştir. Çalışılan 3 populasyonun Ne ortalaması ise 5.97 ± 0.38 olarak bulunmuştur.

4.2.4. Gözlenen heterozigotluk (Ho)

Gözlenen heterozigotluklar (Ho) lokuslar seviyesinde Çizelge 4.14' de, populasyon seviyesinde ise Çizelge 4.15' de verilmiştir. Çizelge 4.14 incelendiğinde, lokus seviyesinde en düşük Ho değeri B116 (0.1589) lokusunda tespit edilmiştir. En yüksek Ho değeri ise BT20, B124 ve BT09 lokuslarında 0.9065 olarak hesaplanmıştır. Tüm lokuslar için ortalama Ho değeri 0.7131 ± 0.2388 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.15' e göre en düşük Ho değeri Adana populasyonundadır (0.6967). Kemer ve Termesos populasyonlarında Ho değeri oldukça yakın değerler göstermesine rağmen Kemer populasyonu en yüksek Ho değerine sahiptir (0.7275). Populasyonların ortalama Ho değeri 0.712 ± 0.015' tir.

4.2.5. Beklenen heterozigotluk (He)

Beklenen heterozigotluklar (He) lokuslar seviyesinde incelendiğinde (Çizelge 4.14), en düşük değer B116 lokusunda (0.1469) tespit edilirken, en yüksek değer B100 (0.9182) ve BT09 (0.9051) lokuslarında bulunmuştur. Çalışma yapılan tüm lokusların ortalama He değeri 0.7399 ± 0.2469 olarak hesaplanmıştır.

Populasyon seviyesinde (Çizelge 4.15) en düşük He değeri Termesos (0.7257) populasyonundadır. Kemer populasyonunun He değeri ise 0.7527 şeklinde hesaplanan en yüksek değere sahiptir. Çalışılan üç populasyonun ortalama He değeri ise 0.738 ± 0.014' tür.

4.2.6. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) lokuslar seviyesinde Çizelge 4.14' de, populasyon seviyesinde ise Çizelge 4.15' de verilmiştir. Çizelge 4.14' e bakıldığında, lokus değerinde en düşük PIC değeri B116 (0.1356) lokusunda tespit edilirken, PIC değerinin en yüksek olduğu lokus 0.9182 değeriyle B100' dür. PIC değerlerinin ortalaması 0.7115 ± 0.2568 olarak hesaplanmıştır. Bulunan ortalama değerin üzerindeki BT20, B126, BT06, B124, BT09 ve B118 lokusları çalışma için daha çok bilgi vermişlerdir.

Populasyon seviyesinde hazırlanan Çizelge 4.15 incelendiğinde, PIC değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Kemer, Termesos ve Adana populasyonlarının PIC değerleri sırasıyla 0.7167, 0.6910 ve 0.6975' tir. Ortalama PIC değeri ise 0.702 ± 0.013 olarak bulunmuştur.

4.3. Akrabalı Yetiştirme Katsayısı (Fis) ve F - İstatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST})

Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) değerleri lokuslar (Çizelge 4.14) ve populasyonlar (Çizelge 4.15) seviyesinde verilmiştir. F - istatistikleri ise Çizelge 4.16' da sunulmuştur.

4.3.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis)

Lokuslar seviyesinde hesaplanan Fis değerleri (Çizelge 4.14) içinde en düşük hesaplanan B116 lokusunda - 0.0863 değeridir. Buna karşılık en yüksek Fis değeri B126 lokusunda 0.2259 olarak hesaplanmıştır. 10 lokusun ortalama Fis değeri 0.0207 ± 0.0889' dur. Fis değerleri BT20, B116, B121, B124 ve BT09 lokuslarında negatif hesaplanmıştır. Bu lokuslar bakımından populasyonların Hardy - Weinberg genetik dengesinden sapma gösterdikleri, populasyonlarda çalışılan 10 mikrosatelit lokus

bakımından heterozigot genotipte bireyler lehine selektif bir avantajın söz konusu olduğu ve bu bireylerin diğer homozigot genotipteki bireylere oranla daha fazla fitnes değerine sahip oldukları ifade edilebilir.

Populasyonlar seviyesinde düzenlenen Fis değerleri (Çizelge 4.15) incelendiğinde en yüksek değer Adana populasyonunda (0.0229) saptanırken en düşük Fis değeri Termesos populasyonunda (- 0.0041) belirlenmiştir. Populasyonların ortalama Fis değeri 0.0112 ± 0.013 olarak hesaplanmıştır. Bu değer Çizelge 4.16‘ da verilen F_{IS} değerine karşılık gelmektedir. Çalışılan her 3 populasyonda da hesaplanan Fis değerleri istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Böylece populasyonların kendi içlerinde akrabalı yetiştirildikleri ortaya çıkmaktadır. Ancak, Termesos populasyonunda Fis değeri negatif olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.15’ e bakıldığında negatif olarak tespit edilen bu populasyona ait güven aralıklarının çok sınırda olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu populasyonda rastgele çiftleştirmeden uzak bir yetiştiriciliğin yapıldığı söylenebilir. Bu populasyonlarda heterozigot genotipteki bireyler lehine selektif bir avantajın söz konusu olduğu ve bu bireylerin diğer homozigot genotipteki bireylere oranla daha fazla fitnes değerine sahip bulundukları ifade edilebilir.

4.3.2. F - istatistikleri

F - istatistikleri (F_{IT}, F_{IS} ve F_{ST}) değerleri Çizelge 4.16’ da sunulmuştur. Bu çizelge incelendiğinde her bir populasyonda görülen ortalama akrabalık katsayısı (F_{IS}) 0.0112 ± 0.0847 olarak hesaplanmıştır. Sıfıra yakın bulunan bu değere göre populasyon Hardy – Weinberg dengesindedir.

Çalışılan 3 doğal populasyon tek bir populasyon olarak düşünüldüğünde, bu populasyonun Hardy - Weinberg genetik dengesinden sapması (F_{IT}) ortalama 0.0212 ± 0.0847 değerinde belirlenmiştir. Yani bu populasyonun çalışılan tüm lokuslar bakımından Hardy - Weinberg genetik dengesinde olduğu ve populasyonda rastgele bir çiftleşmenin uygulandığı tespit edilmiştir.

Populasyonlar arasındaki genetik farklılık F_{ST}, ortalama olarak 0.0101 ± 0.0037 değerindedir. Bu değer populasyonlar arasında küçük bir genetik farklılaşma olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre, Akdeniz Bölgesi' ndeki 3 doğal bombus arı populasyonları arasında tespit edilen % 2.12' lik toplam genetik varyasyonun (F_{IT}), % 1.12' si her bir arı populasyonu içindeki farklılıklardan (F_{IS}) kaynaklanırken, % 1.01' i ise arı populasyonları arasındaki farklılıktan (F_{ST}) kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.16. Çalışılan bombus arısı populasyonlarında F – istatistikleri (F_{IS}, F_{IT}, F_{ST})

Lokus	**F_{IS}**	**F_{IT}**	**F_{ST}**
BT20	-0.0344	-0.0193	0.0146
B116	-0.0931	-0.0876	0.0051
B121	-0.0809	-0.0662	0.0136
B10	0.0333	0.0396	0.0065
B119	0.0413	0.0467	0.0057
B126	0.2079	0.2200	0.0153
BT06	0.0268	0.0371	0.0106
B124	-0.0310	-0.0192	0.0114
BT09	-0.0001	0.0087	0.0088
B118	0.0426	0.0518	0.0096
Ortalama ± St. Sap	0.0112 ± 0.0847	0.0212 ± 0.0847	0.0101 ± 0.0037
% 95 güven aralığı	-0.012 _ 0.093	-0.009 _ 0.095	-0.002_ 0.005
% 99 güven aralığı	-0.023 _ 0.114	-0.019 _ 0.116	-0.003 _ 0.006

4.4. Genetik Farklılıklar

B.terrestris populasyonları arasında Wright (1978)' ın F - istatistikleri ile bağlantılı olarak Weir ve Cockerman (1984) tarafından geliştirilen ikişerli F_{ST} istatistiği (Çizelge 4.17) ve Nei (1972)' nin standart genetik mesafe (D) (Çizelge 4.18) istatistikleri hesaplanmıştır.

4.4.1. İkişerli F_{ST} değerleri

Akdeniz Bölgesi doğal *B. terrestris* populasyonlarının ikişerli F_{ST} değerleri Çizelge 4.17' de verilmiştir. İkişerli F_{ST} değerleri – 0.0027 ile 0.0045 arasında değişmektedir. İkişerli olarak karşılaştırılmalarında % 5 seviyesinde $p < 0.0002$ olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.17 incelendiğinde, ikişerli F_{ST} değerleri bakımından Termesos – Kemer arasında 0.0045 ($p = 0.540$), Adana - Kemer arasında 0.0034 ($p = 0.171$) ve Adana – Termesos arasında - 0.0027 ($p = 0.847$) olarak hesaplanan genetik farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bu populasyonlar arasında genetik yapı bakımından istatistikî olarak önemli bir farklılık yoktur.

Çizelge 4.17. Türkiye *B.terrestris* populasyonları arasındaki ikişerli Fst değerleri (köşegen altı) ve Fst değerlerine ait istatistik önem kontrolleri (p) (köşegen üstü)

	Kemer	**Termesos**	**Adana**
Kemer	****	0.540	0.171
Termesos	0.0045	****	0.847
Adana	0.0034	-0.0027	****

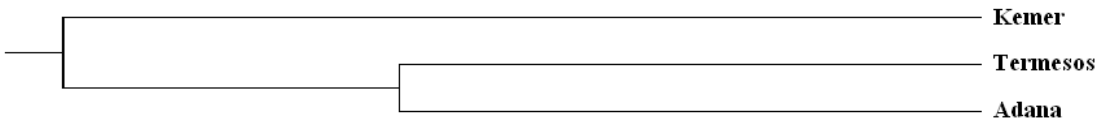
4.4.2. Genetik mesafe (D)

Akdeniz Bölgesi doğal *B. terrestris* populasyonları arasındaki standart genetik mesafeler 0.0327 – 0.0511 değerleri arasında değişmektedir. Bu bulgulara göre, Adana ve Termesos populasyonları arasındaki genetik mesafenin en az olduğu saptanmıştır. Termesos ve Kemer arasındaki mesafe ise Adana ile Kemer arasındaki mesafeden daha az bulunmuştur. Sonuçta, Termesos ve Adana populasyonları genetik olarak birbirine daha benzerdir.

Çizelge 4.18. *B. terrestris* populasyonları arasındaki standart genetik mesafe (D) değerleri.

	Kemer	**Termesos**	**Adana**
Kemer	****		
Termesos	0.0478	****	
Adana	0.0511	0.0327	****

Genetik mesafe değerlerine göre çizilen dendogramda, Termesos ve Adana populasyonları birbirine daha benzer bulunmuştur. Kemer populasyonunun Termesos ile olan benzerliği Adana populasyonuna göre daha fazladır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Genetik mesafe değerlerine göre çizilen dendogram

5. TARTIŞMA

Akdeniz Bölgesi' nden toplanan üç doğal *B. terrestris* populasyonlarında çalışılan 10 mikrosatelit lokusun hemen hemen tamamının polimorfik yapıda olduğu görülmektedir. Bu bulgu, çalışılan populasyonların genetik yapısının ortaya çıkarılmasında lokus seçiminin isabetli yapılmış olduğunun da bir göstergesidir. Diğer taraftan incelenen *B. terrestris* populasyonlarındaki genetik varyasyonun saptanmasında her bir lokusta tespit edilen allel frekansları (Xi), gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri ile PIC değerleri ve homozigotlaşma katsayısı (Fis) değerleri genel olarak karşılaştırıldığında lokuslar arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. B116 ile B119 lokusları allel genişliği, gözlenen allel sayısı, etkili allel sayısı, heterezigotluk değerleri ve PIC değerleri bakımından en düşük değerleri almıştır. Sıralanan bu özellikler bakımından en yüksek değerleri gösteren lokuslar ise B100 ve BT09 lokuslarıdır. Sonuç olarak, PIC değeri 0.50' den büyük olan B116 ile B119 dışındaki tüm lokusların Akdeniz Bölgesi doğal *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasında etkin bir şekilde kullanılabilecek lokuslar olduğu görülmektedir. Populasyonlar düzeyinde gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değerleri Kemer populasyonu almıştır. Ancak diğer iki populasyon da (Termesos ve Adana) nispeten Kemer populasyonuna yakın değerler göstermektedir.

Türkiye' de *B. terrestris* populasyonlarında mikrosatelit markerler kullanılarak yapılmış yalnız bir çalışmaya rastlanılmıştır. Beton (2004) tarafından yapılan yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye ve Kuzey Kıbrıs' tan örneklenen bazı *B. terrestris* populasyonları içindeki heterozigotluk ile populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesine çalışılmıştır. Araştırmada Adana (n = 6 işçi arı), Antakya (n = 7 işçi arı ve n = 1 ana arı), Ankara (n = 28 işçi arı, n = 8 ana arı, n = 45 erkek arı), Bartın (n = 5 işçi arı), Samsun (n = 5 işçi arı) ve Kıbrıs (n = 35 işçi arı, n=1 ana arı ve n = 74 erkek arı)' ı temsil eden toplam 86 işçi, 10 ana ve 119 erkek arı materyal olarak kullanılmıştır. DNA seviyesinde yürütülen çalışmalarda ise yalnızca Ankara ve Kıbrıs populasyonları üzerinde durulmuştur. Çalışmada morfometrik ölçümlere ilave olarak 4 adet (B11, B100, B124 ve B126) mikrosatelit lokustaki polimorfizmden yararlanılarak

Ankara ve Kuzey Kıbrıs populasyonlarının tanımlanmasına ve karşılaştırılmasına çalışılmıştır. Araştırmada genotiplerin belirlenmesinde poliakrilamid jel (PAGE) elektroforez sisteminden yararlanılmıştır. Çalışmada lokus başına tespit edilen allel sayısının 7 ile 12 arasında değiştiği, lokus başına tespit edilen ortalama allel sayısının Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla 7.25 ve 5.25 olduğu ifade edilmiştir. Üzerinde durulan toplam 4 lokus bakımından ortalama heterozigotluk değerinin Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla yaklaşık olarak 0.84 ± 0.01 ve 0.68 ± 0.03 olduğu bildirilmiştir. Ankara ve Kıbrıs populasyonları arasındaki genetik farklılığın (F_{ST} = 0.09351, $p < 0.001$) istatistiki olarak önemli olduğu ortaya konmuştur. Tamamlanan tez çalışmasında, yerel *B. terrestris* populasyonlarının tozlaşmada kullanılmak üzere ithal edilen yabancı menşeyli türlere karşı korunması gerektiği sonucuna varılmıştır. Araştırmamızda ise lokus başına tespit edilen allel sayısı 2 ile 22 arasında değişmiş ve lokus başına ortalama 11.5 ± 6.7 adet allel tespit edilmiştir. Beton (2004)‘ un çalışması Türkiye’ de *B. terrestris* genetiği konusunda yapılan öncü bir çalışma olmasına karşın; örnek genişliğinin Türkiye *B. terrestris* populasyonlarını temsil edecek seviyede olmaması, çok az sayıda lokus (sadece 4 adet B11, B100, B124 ve B126) üzerinde çalışılmış olması ve genotiplerin belirlenmesinde kullanılan poliakrilamid jel (PAGE) yönteminin duyarlılığının bu tip çalışmalarda son derece yetersiz olması gibi eksikliklerinden dolayı araştırma sonuçlarının karşılaştırmalı olarak çok daha etkin bir şekilde tartışılmasını mümkün kılmamıştır.

Morfometrik özellikler ve enzim sistemleri kullanılarak Türkiye *B. terrestris* populasyonlarındaki farklılıkları saptamaya yönelik de az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çerçevede yapılan bir çalışmada Akdeniz ve Ege Bölgesi sahil kesiminden toplanan *B. terrestris* arıları *B.t. dalmatinus* olarak tanımlanmışken (Yeninar vd 2000), başka bir çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi’ nden (Adana, Hatay, Mersin) toplanan *B. terrestris* arıları *B.t. lucoformis* olarak tanımlanmıştır (Aslan ve Şekeroğlu 1996). Trakya ve Batı Anadolu’ da *B.t. dalmatinus* ve Güney Anadolu’ da *B.t. lucoformis* olmak üzere muhtemelen Türkiye’ de iki alttür bulunduğu ancak bu iki alttürü taksonomik olarak ayırmanın ve kesin yayılma sınırlarını belirlemenin de kolay olmadığı bildirilmiştir (Özbek 1997). Benzer şekilde, Aytekin vd (2003) Bulgaristan, Yunanistan ve Türkiye’ nin çeşitli bölgelerinden topladıkları ana arı ve işçi arılara ait

157 *B. terrestris* örneğini altı enzim sistemi ve 28 morfolojik karakter kullanarak *B.t. lucoformis* ve *B.t. dalmatinus* alttürlerine ayırmaya çalışmışlardır. İncelenen tüm lokuslar bakımından her iki taksanın da monomorfik olduğu gözlenmiş ve herhangi bir heterezigota ya da farklı elektromorfa rastlanmamıştır. Me dışında tüm enzim sistemleri bakımından eş bantlar tespit edilmiştir. Bu çalışmada gerek elekroforetik mobilite gerekse klasik morfometrik analiz yolu ile elde edilen bulgular *B.t. lucoformis* ve *B.t. dalmatinus'* u ayrı alttürler olarak tanımlayacak yeterlilikte farklılıkları içermemiştir.

Dünyada *B. terrestris* türünün *B.t. dalmatinus* (Balkanlar, Türkiye ve Asya), *B.t. terrestris* (Orta ve Batı Avrupa), *B.t. audax* (İngiltere), *B.t. lusitanicus* (İspanya), *B.t. canariensis* (Kanarya Adaları), *B.t. africanus* (Kuzey Afrika), *B.t. xanthopus* (Korsika Adası), *B.t. sassaricus* (Sardunya Adası) ve *B.t. calabricus* (Sicilya - İtalya) olmak üzere çok sayıda alttürü tanımlanmıştır (Velthuis ve Doorn 2006, Rasmont vd 2008). Bu tanımlamalarda çoğunlukla morfolojik ve davranış özelliklerindeki farklılıklar dikkate alınmıştır. Bu alttürlerden birkaçı ticari üretimin ilk yıllarında kullanılmış, ancak Türkiye' de de yaygın olarak bulunan *B.t. dalmatinus* alttürü koloni oluşturma oranının yüksek, koloni populasyonunun daha büyük olması gibi ticari yetiştiricilik açısından üstün özelliklere sahip olduğu anlaşıldıktan sonra kitlesel üretimde en çok tercih edilen alttür olmuştur (Chittka vd 2004, Velthuis ve Doorn 2006, Rasmont vd 2008). Bu araştırma sonuçları da birbirinden oldukça uzak ve farklı yükseltilerde bulunan üç doğal populasyonun da *B.t. dalmatinus* alttürüne ait olduğunu göstermiştir. İncelenen 10 mikrosatelit lokus bakımından populasyonlar arasında saptanan farklıklılar bu populasyonları ayrı ekotipler olarak tanımlamaya yeterli bulunmamıştır. Populasyonlar arasındaki genetik farklılık F_{ST}, ortalama olarak 0.0101 ± 0.0037 değerindedir. Elde edilen sonuçlara göre Akdeniz Bölgesi' ndeki 3 doğal arı populasyonları arasında tespit edilen % 2.12' lik toplam genetik varyasyonun % 1.12' si her bir arı populasyonu içindeki farklılıklardan kaynaklanırken, % 1.01' i ise arı populasyonları arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla, çalışılan her üç populasyon arasında çok düşük bir farklılık saptanmıştır.

Bombus arılarında moleküler markerlerin kullanıldığı ilk çalışmalar Avrupa' da yaygın ve çok bulunan *B. terrestris* türünde yapılmış ve bu çalışmalarda Avrupa' nın

çeşitli bölgelerinde bulunan *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapıları incelenmiştir. Avrupa kıtası içinde *B. terrestris* populasyonlarının yaygın olması ve izolasyonu sağlayacak önemli bariyerlerin bulunmaması nedeniyle kıta içindeki populasyonlar arasında farklılığın fazla olmadığı buna karşın çeşitli Kanarya ve Akdeniz adalarındaki populasyonların farklı olduğu belirtilmiştir (Estoup vd 1996, Gegear vd 2005). Estoup vd (1996) *B. terrestris* türünün karasal ve ada populasyonlarındaki genetik farklılaşmayı saptayabilmek için Avrupa kıtasından 8, Akdeniz adalarından 5 ve Tenerife adasından bir populasyonda 10 mikrosatellit lokusu ve COII mitokondriyal gen dizisini incelemişlerdir. Populasyonların çoğunda incelenen 10 mikrosatelitten sekizi yüksek seviyede polimorfizm göstermiştir. Sonuçta ada populasyonları kıtasal populasyonlardan kesin olarak ayrılmışlar fakat kıta içindeki *B. terrestris* populasyonları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bazı araştırıcılar morfolojik ve kıl rengi yapısındaki farklılıklara bağlı olarak Kanarya adalarındaki ve Mader adasındaki bombus arısı populasyonlarını *B. terrestris'* ten farklı olarak *B. canariensis* ve *B. maderensis* olarak ayrı türler gibi ya da *B. terrestris*' in alttürleri olarak tanımlamaktadır (Rasmont vd 2008). Widmer vd (1998) bu adalardaki bombus populasyonları ile kıtasal *B. terrestris*' lerin filocoğrafik ilişkilerini belirlemek için dört Kanarya adasının her birinden bir populasyonla Mader adasından bir populasyonda 9 mikrosatelit lokustaki ve mitokondriyal cyt b genindeki varyasyonu incelemişlerdir. Mikrosatelitler Kanarya adaları populasyonlarının farklılığını güçlü olarak desteklemişlerdir. Fakat Mader adasındaki populasyon Avrupa kıtasındaki *B. terrestris* populasyonlarına genetik olarak daha benzer bulunmuştur. Mader adası populasyonu kıtasal *B. terrestris*' in en yaygın haplotipini paylaşmaktadır. Mikrosatelit ve mtDNA verileri, Kanarya ve Mader adası *B. terrestris* populasyonlarının ortak bir kolonileşme tarihini paylaşmadıklarını göstermiştir.

Kraus vd (2009) Almanya' nın Halle botanik bahçesinden ve İspanya' nın çok küçük bir adası olan Cabrera' dan topladıkları işçi ve erkek *B. terrestris* arılarında erkek arıların uçuş mesafesi ve populasyonların genetik yapılarını araştırdıkları çalışmada 8 mikrosatelit lokusu (B96, B100, B118, B119, B121, B124, B126 ve B132) kullanmışlar ve her iki populasyonda da çalışmamızda elde edilen bulgulara benzer şekilde yüksek heterezigotluk saptamışlar (sırasıyla Ho = 0.60 ± 0.08 ve 0.77 ± 0.13) ve hem kara

populasyonu (Halle) hem de ada populasyonu (Cabrera) Hardy - Weinberg dengesinden sapma göstermemiştir. Kraus vd (2011) seralarda kullanılan *B. terrestris* arılarından doğaya bir gen akışının olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında ise güney doğu Polonya' da üç adedi direk seralardan diğer bir ifade ile ithal edilen ticari kolonilerden, üç adedi seralara yakın alanlardaki yerel populasyonlardan ve üç adedi de seralara en az 30 km mesafede olan yerel populasyonlardan olmak üzere toplam dokuz populasyona ait 588 işçi arı örneğini dört mikrosatelit lokus (B11, B96, B124 ve B126) bakımından genotiplendirmişlerdir. Gözlenen heterozigotluk (Ho) değerleri 0.57 ile 0.87 arasında değişmiş ve populasyonlar Hardy - Weinberg dengesinden sapma göstermemiştir. Ayrıca mikrosatelit DNA verileri kullanılarak yapılan analizlerde sera populasyonlarından seralara yakın yerel populasyonlara güçlü bir gen akışı olduğunu, seralardan daha uzaktaki populasyonlarda ise bu gen akışının daha az etkili olduğunu saptamışlardır.

6. SONUÇ

Tez çalışmasında, Antalya - Kemer, Antalya - Termesos ve Adana olmak üzere Akdeniz Bölgesi doğal *B. terrestris* populasyonlarını temsil eden toplam 3 populasyona ait 107 adet *B. terrestris* işçi arı örneklerinin bu tip çalışmalarda yaygın olarak kullanılan on mikrosatelit lokusu (BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126) bakımından DNA fragment analizi yapılarak genotipleri belirlenmiştir. Mikrosatelit DNA polimorfizmlerinden yararlanılarak Akdeniz Bölgesi faunasında doğal olarak bulunan *B. terrestris* populasyonları DNA düzeyinde tanımlanmıştır. Araştırmada elde edilen sonuçlardan bir bölümü özet olarak altta sunulmuştur.

1) Araştırmada kullanılan on mikrosatelit lokusun tamamının polimorfik yapıda olduğu ve bu nedenle hemen hemen tamamının Akdeniz Bölgesi doğal *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasında etkin markerler olarak kullanılabileceği belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

2) Tüm lokuslar üzerinden hesaplanan Fis (0.0112) değerlerinden yararlanılarak doğal *B. terrestris* populasyonlarının Hardy - Weinberg genetik dengesinde oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.15).

3) İncelenen *B. terrestris* populasyonlarında toplam % 2.12 (F_{IT}) olarak tespit edilen genetik varyansın % 1.12 (F_{IS})' sinin populasyonlar içindeki % 1.01 (F_{ST})' inin ise populasyonlar arasındaki farklılıktan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

4) İkişerli F_{ST} değerleri bakımından Termesos – Kemer arasında 0.0045 ($p = 0.540$), Adana - Kemer arasında 0.0034 ($p = 0.171$) ve Adana – Termesos arasında - 0.0027 ($p = 0.847$) olarak hesaplanan genetik farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.17).

5) Populasyonlar arasında hesaplanan standart genetik mesafe 0.033 – 0.0511 değerleri arasında bulunmuştur. Kemer ve Termesos ilçeleri Adana' ya göre daha yakın olmasına rağmen, Adana ve Termesos' dan toplanan populasyonlar arasındaki genetik mesafe en az hesaplanmıştır. Kemer populasyonu ise daha uzakta çıkmıştır (Çizelge 4.18).

Sonuçlandırılan bu proje ile Akdeniz Bölgesi doğal faunasında bulunan *B. terrestris* populasyonları ilk kez bu tip çalışmalarda yaygın olarak kullanılan on mikrosatelit lokus

bakımından DNA düzeyinde tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular Akdeniz Bölgesi' nde birbirinden oldukça uzak ve farklı yükseltilerde bulunan üç doğal populasyonundan alınan örneklerin *B. terrestris dalmatinus* alttürüne ait olduğunu göstermiştir. Ayrıca günümüz şartlarında yapılan genetik tanımlamalar ve populasyonlar arası ve içi görülen farklılaşmaların kayıt altında tutulması sayesinde yıllar sonra aynı bölge ve yükseltiden veya yakın bölgelerden toplanacak örneklerin analiz edilmesiyle, doğal populasyonların karşılaştırılması, doğal populasyonların ortadan kalkabilme riski, populasyonların dar boğaza girip girmedikleri tespit edilebilecektir.

Proje bulgularından elde edilen diğer bir sonuç da mikrosatelit markerlerin ekotip düzeyindeki farklılıkları ortaya çıkarmada yeterli olmadığıdır. Projede incelenen populasyonlarda populasyon içindeki varyasyonla populasyonlar arasındaki varyasyon neredeyse aynı bulunmuştur. Morfolojik özellikleri ve geliştirilen mikrosatelit markerleri kullanılarak *B. terrestris dalmatinus* alttüründe ekotip düzeyinde ayrım yapmak oldukça zor görülmektedir. Ancak moleküler genetik bilimi çok hızlı gelişen bir bilim dalıdır. Son yıllarda geliştirilen tekli nükleotit polimorfizmi (SNP) gibi yeni teknikler kullanılarak bu çalışmalar sürdürülmelidir.

Bombus arıları, Türkiye biyolojik zenginliğinin önemli bir parçasıdır. Türkiye' de farklı iklim ve floraya uyum sağlamış çok sayıda bombus tür, alttür ve ekotipi bulunmaktadır. Ancak Türkiye' deki bombus türlerinin mevcut durumu, ülke genelindeki dağılımı ve populasyon yoğunlukları bilinmemektedir. Doğal yapının giderek bozulması arı populasyonları üzerinde büyük bir baskı yaratmaktadır. Özellikle küçük, izole populasyonlar yok olma tehdidi ile karşı karşıyadır. Dış faktörlerin yanı sıra populasyonların genetik yapıları da bu süreci hızlandırmaktadır. Türkiye' de de Avrupa Birliği' ne üye ülkelerde başlatılan; tozlaştırıcı çeşitliliği, yoğunluğu ve yok olma riski altındaki tozlaştırıcıların belirlenmesi ve bu konularla ilgili standart protokollerin geliştirilmesi, tozlaştırıcı gruplar için riskli bölge ve hassas ekosistem tiplerinin tanımlanması, bölgesel ve ulusal düzeyde tozlaştırıcı kayıplarına yol açan etmenlerinin saptanması, sürdürülebilir tozlaştırıcı kullanımı ve türlerin korunması için ulusal plan oluşturulması ve kamuoyunun bilgilendirilmesi ile ilgili çalışmalara acilen başlanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

ALAUX, C., SAVARIT, F., JAISSON, P. and HEFETZ, A. 2004**.** Does the queen win it all? Queen-worker conflict over male production in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Naturwissenchaften*, 91: 400-403.

ALFORD, D.V. 1975. Bumblebees. Davis-Poynter, 352, London.

ASLAN, M.M. ve ŞEKEROĞLU, E. 1996. Doğu Akdeniz Bölgesi (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) Bombus Türleri Üzerine Faunistik Çalışmalar. Türkiye 3. Entomoloji Kongresi, Ankara.

AYTEKİN, A.M. and ÇAĞATAY, N. 1999. Systematic Studies on the Family Apidae (Hymenoptera) in Ankara Province, Part I: Bombinae, Tr. J. of Zoology, 23: 231–241.

AYTEKİN, A.M. ve ÇAĞATAY, N. 2002. Bombus Arılarında (Apidae: Hymenoptera) Altcinsler Üzerine Fenetik Bir Yaklaşım. *Mellifera*, 2 (3): 28-32.

AYTEKİN, A.M., ÇAĞATAY, N. and HAZIR, S. 2002. Floral Choices, Parasites and Micro-organisms in Natural Populations of Bumblebee (Apidae: Hymenoptera) in Ankara Province. *Tr. J of Zoology*, 26: 149–155.

AYTEKİN, A.M., RASMONT, P. ve ÇAĞATAY, N. 2003. *Bombus terrestris lucoformis* Krüger ve *Bombus terrestris dalmatinus* Dalla Torre‘ de (Hymenoptera:Apidae) moleküler ve morfometrik varyasyon. *Mellifera*, 3(6): 2-8.

BARKAN, N.P. 2010. Türkiye *Thoracobombus* Altcinsi (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreılle) Türleri Üzerinde Sistematik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara.

BECK, S.D. 1980. Photoperiodism and diapause survey of photoperiodically controlled diapause. *Insect Photoperiodism*, Second Edition, Academic Press Inc, 250 pp.

BEEKMAN, M., VAN STRATUM, P. and LINGEMAN, R. 1998. Diapause survival and post diapause performance in bumblebee queens. *Entomologia Experimentalis et Appliacta*, 89: 207–214.

BENTON, T. 2000. The bumblebees of Essex. The Nature of Essex Series, No: 4, Loginga Books, Essex, 179 pp.

BETON, D. 2004. Morphometric and genetic differentiation between Anatolia and Cyprus *Bombus terrestris* (L. 1758) populations. Msc thesis, Middle East Technical University, Turkey, 86 pp.

BOLSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNIK, M. and DAVIS, R.W. 1980. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet*., 32: 314-331.

BROWN, M.J.F., SCHMID-HEMPEL, R. and SCHMID-HEMPEL, P. 2003. Queen-controlled sex ratios and worker reproduction in the bumble bee *Bombus hypnorum*, as revealed by microsatellites. *Molecular Ecology,* 12: 1599-1605.

CAMERON, S.A., HINES, H.M. and WILLIAMS, P.H. 2007. A comprehensive phylogeny of the bumble bees (Bombus). *Biological journal of the Linnean Society,* 91: 161-188.

CHAPMAN, R.E., WANG, J. and BOURKE, F.G. 2003. Genetic analysis of spatial foraging patterns and resource sharing in bumble bee pollinators. *Molecular Ecology*, 12: 2801-2808.

CHARMAN, T.G., SEARS, J., GREEN, R.E. and BOURKE, A.F.G. 2010. Conservation genetics, foraging distance and nest density of the scarce Grest Yellow Bumblebee (*Bombus distinguendus*). *Molecular Ecology,* 19: 2661-2674.

CHITTKA, L., INGS, T.C. and RAINE, N.E. 2004. Chance and adaptation in the evolution of island bumble behavior. *Population Ecology*, 46: 243–251.

ÇAĞATAY, N., KENCE, A. ve AYTEKİN, A.M. 2000. Bombus ve Psithyrus (Apidae: Hymenoptera) Cinsi Arıların Sistematiğinde Moleküler ve Morfometrik Yöntemlerin Kullanılması, Tübitak, Proje No: TBAG-1673 (197T102).

DAFNI, A. 1998. The threat of *Bombus terrestris* spread. *Bee World*, 79: 113-114.

DARVILL, B., ELLIS, J.S., LYE, G.C. and GOULSON, D. 2006. Population structure and inbreeding in a rare and declining bumblebee, *Bombus muscorum* (Hymenoptera: Apidea). *Molecular Ecology*, 15: 601-611.

DARVILL, B., O'CONNOR, S., LYE, G.C., WATERS, J., LEPARS, O. and GOULSON, D. 2010. Cryptic differences in dispersal lead to differential sensitivity to habibat fragmentation in two bumblebee species. *Molecular Ecology*, 19: 53-63.

DUCHATEAU, M.J. and VELTHUIS, H.H.W. 1988. Development and reproductive stratejies in *Bombus terrestris* colonies. *Behaviour*, 107: 186–207.

ELLIS, J.S., KNIGHT, M.E., DARVILL, B. and GOULSON, D. 2005. Delineating species for conservation using mitochondrial sequence data: the taxonomic status of two problematic *Bombus* species (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 9: 75-83.

ELLIS, J.S., KNIGHT, M.E., DARVILL, B. and GOULSON, D. 2006. Extremely low effective population sizes, genetic structuring and reduced genetic diversity in a threatened bumblee species, *Bombus sylvarum* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Ecology*, 15: 4375-4386.

ESTOUP, A., SOLIGNAC, M., HARRY, M. and COURNET, J.M. 1993. Characterization of $(GT)_n$ and $(CT)_n$ microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research*, 21(6): 1427–1431.

ESTOUP, A., SCHOLL, A., POUVREU, A. and SOLIGNAC, M. 1995. Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology*, 4: 89-93.

ESTOUP, A., SOLIGNAC, M., COURNET, J.M., GOUDET, J. and SCHOLL, A. 1996. Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe. *Molecular Ecology*, 5(1): 19-31.

FUNK, C.B., SCHMID-HEMPEL, R. and SCHMID-HEMPEL, P. 2006. Microsatellite loci for *Bombus* spp. *Molecular Ecology Notes*, 6: 83-86.

GEGEAR, R.J., OTTERSTATTER, M.C. and THOMSON, J.D. 2005. Does parasitic infection impair the ability of bumblebees to learn flower - handling techniques. *Animal Behaviour*, 70: 209-215.

GENCER, H.V., GÜREL, F. ve KARACAOĞLU, M. 1998. Bombus Arısı ve Yetiştiriciliği, Ege Bölgesi I. Tarım Kongresi, Aydın.

GERLOFF, C.U., OTTMER, B.K. and SCHMID-HEMPEL, P. 2003. Effects on inbreeding on immune response and body size in a social insect, *Bombus terrestris*. *Functional Ecology*, 17: 582-589.

GOKA, K., OKABE, K., YONEDA, M. and NIWA, S. 2001. Bumblebee commercialization will cause worldwide migration of parasitic mites. *Molecular Ecology*, 10: 2095-2099.

GOUDET, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. *Journal of Heredity*, 86: 485-486.

GOULSON, D. and HANLEY, M.E. 2004. Distribution and forage use of exotic bumblebees in South Island, New Zeland. *New Zealand Journal of Ecology*, 28: 225-232.

GÖSTERİT, A. and GÜREL, F. 2005. Comparison of development patterns of imported and native *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) colonies in Mediterranean Coastal Region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29: 393–398.

GÜREL, F., ILASLAN, D., GÖSTERİT, A. ve EFENDİ, Y. 2001b. Bombus arılarında diyapoz evresi ve kontrol altına alma çabaları. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,* 14: 181–188.

GÜREL, F. ve BASIM, H. 2003. Batı Akdeniz ve Ege Sahil Bölgesi' ndeki yerel *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) genotiplerinin AFLP tekniği ile belirlenmesi ve yabancı genotip introdüksiyonunun saptanması. TÜBİTAK, Proje No: TOGTAG - TARM 2575-2.

GÜREL, F. ve GÖSTERİT, A. 2007. *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) arısının yıl boyu kitlesel üretiminde uygulanan teknikler ve karşılaşılan sorunlar. 5. Ulusal Bilim Kongresi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 5 - 8 Eylül Van, 1-10.

GÜREL, F., GÖSTERİT, A.and EREN, Ö. 2008. Life-cycle and foraging patterns of native *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in the Mediterranean region. *Insectes Sociaux*, 55: 123-128.

HALL, H.G. 1990. Parental analysis of introgressive hybridization between African and European honeybees using nuclear DNA-RFLPs. *Genetics*, 125: 611-621.

HARRIS, E.L.V. and ANGAL, S.T. 1995. Protein purification methods: a practical approach. P. imprenta: 1, pp. 317, Oxford.

HARTL, D.L. and CLARK, A.G. 2007. Principles of Population Genetics, Fourth Edition, Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.

HEINRICH, B. 1979. Bumblebee economics. Harvard University Press, Cambridge, 200 pp.

HERRMANN, F., WESTPHAL, C., ROBIN, F.A. and MORITZ-STEFFAN-DEWENTER, I. 2007. Genetic diversity and mass resources promote colony size and forager densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes. *Molecular Ecology*, 16: 1167-1178.

HINGSTON, A.B., SMEDLEY, J.M., DRISCOL, D.A. and CORBETT, S. 2002. Extent of Invasion of Tasmanian Native Vegatation by the Exotic Bumblebee *Bombus terrestris* (Apoidea: Apidae). *Austral. Ecology*, 27: 162–172.

HINGSTON, A.B. 2006. Is the exotic bumble bee *Bombus terrestris* really invading Tasmanian native vegetation. *Insect Conservation*, 10: 289-293.

HODEK, I. 1996. Diapause development, diapause termination and the end of diapause. *European Journal of Entomology*, 93: 475–48.

HUGHES, M.J. 1996. Commercial rearing of bumble bees. Bumble bees for pleasure and profit, ed: Matheson, A. IBRA, Cardiff, UK, 47 pp.

INOUE, M.N., YOKOYAMA, J. and WASHITANI, I. 2008. Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12: 135-146.

KANBE, Y., OKADA, I., YONEDA, M., GOKA, K. and TSUCHIDA, K. 2008. Interspecific mating of introduced bumblebee *Bombus terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrite sapporoensis* result in inviable hybrids. *Naturwissenschaften*, 95: 1003-1008.

KEARNS, C.A. and THOMSON, J.D. 2001. The Natural History of Bumblebees. Universtiy Pres of Colorado, 130 pp.

KIM, M.J., YOON, H.J., IM, H.H., JEONG, H.U., KIM, I.M., KIM, S.R. and KIM, I. 2009. Mitochondrial DNA sequence variation of the bumblebee, *Bombus ardens* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Asia-Pasific Entomology*, 12: 133-139.

KİMURA, M. and CROW, J. F.V., 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49: 725-38.

KRAUS, F.B., WOLF, S. and MORITZ, R.F.A. 2008. Male flight distance and population substructure in the bumblebee *Bombus terrestris. Journal of Animal Ecology*, 78: 247-252.

KRAUS, F.B., SZENTGYÖRGYİ, H., ROZEJ, E., RHODE, M., MORON, D., WOYCİECHOWSKİ, M. and MORITZ, R.F.A. 2011. Greenhouse bumblebees (*Bombus terrestris*) spread their genes into the wild. *Conservation Genetics*, 12: 187-192.

KOKUVA, N., TOQUNAGA, Y. and GOKA, K. 2009. Effective paternity in natural colonies of Japanese native bumble bees. *Ecological Research*, 24: 1111-1115.

KONDO, I.K., YAMANAKA, D., KANBE, Y., KUNİTAKE, K.K., YONEDA, M., TSUCHİDA, K. and GOKA, K. 2009. Reproductive disturbance of Japanese bumblebees by the introduced European bumblebee *Bombus terrestris*. *Naturwiessenchaften*, 96: 467-475.

KOULIANOS, S. 1999. Phylogenetic relationships of the bumblebee subgenus *pyrobombus* (Hymenoptera: Apidea) inferred from mitochondrial cytochrome B and cytochrome oxidase I sequences. *Ann. Entomol. Soc. Amer*., 92(3): 355–358.

LEVENE, H. 1949. A new measure of sexual isolation. *Evolution*, 3: 315-321.

LIU, K. and MUSE, S. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics 21: 2128-2129.

LOZIER, J.D. and CAMERON, S.A. 2009. Comparative genetic analyses of historical and contemporary collections highlight contrasting demographic histories for the bumble bees *Bombus pensylvanicus* and *B. impatiens* in IIIinois. *Molecular Ecology*, 18: 1875-1886.

MICHENER, C. D. 2000. The Bees of the World, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 913 pp.

MULLIS, K.B. and FALLOONA, F.A. 1987. Spesific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155-335.

NAGAMITSU, T. and YAMAGISHI, H. 2009. Nest density, genetic structure, and triploid workers in exotic *Bombus terrestris* populations colonized Japan. *Apidologie*, 40: 429-440.

NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University Press, NewYork.

NEI, M. and KUMAR, L.S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Pres, Oxford.

ONO, M. 1998. Why now bumblebee (in Japaneese). *The Nature and Insects*, 33(6):2-3.

OSBORNE, J.L., MARTIN, A.P., CARRECK, N.L., SWAIN, J.L., KNIGHT, M.E., GOULSON, D., HALE, R.J. and SANDERSON, R.A. 2009. Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *J. of Animal Ecology*, 77: 406-415.

ÖZBEK, H. 1979. Erzurum civarında yonca (*Medicago sativa* L.) ve korunga (*Onorbychis sativa* L.)‘ daki polinatör arılar (Hymenoptera: Apidae), bunların faaliyetleri ve tohum bağlama etkileri. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 150 pp.

ÖZBEK, H. 1983. Doğu Anadolu’ nun bazı yörelerindeki Bombinae (Hymenoptera: Apoidae, Bombidae) Türleri Üzerindeki Taksonomik ve Bazı Biyolojik Çalışmalar. Atatürk Üniversitesi Yayınları: 621, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum, 70 pp.

ÖZBEK, H. 1990. A new bumblebee species of Pyrobombus Dalla Torre (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) in estern Anatolia, Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 14 (4): 207-214.

ÖZBEK, H. 1997. Bumblebee fauna of Turkey with distribution maps (Hymenoptera: Apidae, Bombinae) Part 1: Alpigenobombus Skorikov, Bombias Robertson and *Bombus latreille*. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 21(1): 37-56.

ÖZENİRLER, Ç. 2010. Türkiye *Bombus* (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille) Türleri Sistematiğinde Geometrik Morfometrik Yöntemlerin Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara.

PAYNE, C.M., LAVERT, T.M. and LACHANCE, M.A. 2003. The frequency of multiple paternity in bumble bee (*Bombus*) colonies based on microsatellite DNA at the B10 locus. *Insectes Sociaux*, 50: 375-378.

PIROUNAKIS, K., KOULIANOS, S. and SCHMID-HEMPEL, P. 1998. Genetic variation among European populations of *Bombus pascuorum* (Hymenoptera:

Apidae) from mitochondrial DNA sequence data. *European Journal of Entomology*, 95: 27-33.

PRYS-JONES, O.E. and CORBET, S.A. 1991. Bumblebees, The Richmond Publishing Co. Ltd. Slough, UK., 91 pp.

RASMONT, P., COPPEE, A., MICHEZ, D. and MEULEMEESTER, T. 2008. An overview of the *Bombus terresris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annual Society Entomology*, 44(1): 243-250.

RAYMOND, M. and ROUSSET, F. 1995. Genepop (version 3.0): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3): 248-249.

SCHMID-HEMPEL, P., SCHMID-HEMPEL, R., BRUNNER, P.C., SEMAN, O.D. and ALLEN, G.R. 2007. Invasion success of the bumblebee, *Bombus terrestris*, despite a drastic genetic bottleneck. *Heredity*, 99: 414-422.

SCHNEIDER, W.S., ROESSLI, D. and EXCOFFIER, L. 2000. Arlequin ver. 2.00: A software for population genetics data analysis, Genetics and Biometry Laboratory, University of Genevai, Switzerland.

SHAO, Z.Y., MAO, H.X., FU, W.J., ONO, M., WANGS, D.S., BONİZZONİ, M. and ZHANG, Y.P. 2004. Genetic structure of Asian populations of *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidea). *Journal of Heredity*. 9(1): 46-52.

SOLIGNAC, M., VAUTRIN D., LOISEAU, A., MOUGEL, F., BAUDRY, E., ESTOUP, A., GARNERY, L., HABERL, M. and CORNUET, J.M. 2003. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera*) genome. *Molecular Ecology Notes*, 3(2): 307.

STOLLE, E., ROHDE, M., VAUTRIN, D., SOLIGNAC, M., SCHMID-HEMPEL, P., SCHMID-HEMPEL, R. and MORITZ, R.A.F. 2009. Novel microsatellite DNA loci for *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources*, 9(5): 1345-1352.

TAKAHASHI, J., ITOH, M., SHIMIZU, I. and ONO, M. 2008a. Male parentage and queen mating frequency in the bumblebee *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidea). *Ecological Research*, 23: 937-942.

TAKAHASHI, J., AYABE, T., MITSUHATA, M., SHIMIZU, I. and ONO, M. 2008b. Diploid male production in a rare and locally distributed bumblebee *Bombus florilegus* (Hymenoptera: Apidea). *Insectes Sociaux*, 55: 43-50.

TASEI, J.N., MOINNARD, C., MOREAU, L., HIMPENS, B. and GOYONNAUD, S. 1998. Relationship Between Aging, Mating, and Sperm Production in Captive *Bombus terrestris*. *Journal of Apicultural Research*, 37(2): 107-113.

VELTHUIS, H.H.W. and DOORN, A. 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie,* 37: 421-451.

WILDMER, A., HEMPEL, P.S., ESTOUP, A. and SCHOLL, A. 1998. Population genetic structure and colonization history of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) from the Canary Islands and Madeira. *Heredity*, 81: 563-572.

WIDMER, A. and SCHMID-HEMPEL, P. 1998: The population genetic structure of a large temperate pollinator species, *Bombus pascuorum* (Scopoli) (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Ecology,* 8: 387-98.

WILLIAMS, P.H. 1998. An annotated checklist of bumblebees with an analysis of patterns of description. *Bulletin of the Natural History Museum: Entomology Series* 67: 79–152.

WILLIAMS, P.H. and OSBORNE, J.L. 2009. Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie,* 40: 367-387.

WRIGHT, S. 1978. Variability within and among natural populations. Vol: 4, The Univ. of Chicago Pres, Chicago.

WOLF, S., ROHDE, M. and MORITZ, F.A. 2010. The reliability of morphological traits in the differentiation of *Bombus terrestris* and *B. lucorum* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 41: 45-53.

YEH, F.C., YANG, R.C., BOYLE, T.B.J., YE, Z.H. and MAO, J.X. 1997. POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

YENİNAR, H., DUTCHATEAU, M.J., KAFTANOĞLU, O. and VELTHUIS, H. 2000. Colony developmental patterns in different local populations of the Turkish bumblebee, *Bombus terrestris dalmatinus*. *Journal of Apicultural Research,* 39: 107–116.

YONEDA, M.,TSUCHIDA, K. and GOKA, K. 2008. Ecological risks of commercialized bumblee and the invasive alien species act. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 52: 47–62.

ÖZGEÇMİŞ

Bahar Argun KARSLI, 02.01.1981 tarihinde Sivas ilinin Şarkışla ilçesinde doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara' da tamamlamıştır. 2000 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimine başlamış ve 2005 yılında Biyolog ünvanıyla mezun olmuştur. 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim dalında açılan Yüksek Lisans sınavını kazanarak, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans eğitimine başlamıştır. Halen aynı anabilim dalında lisansüstü eğitimine devam etmektedir.