

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM
DALI

MUĞLA İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (Anadolu Bal Arısı)'nın MUĞLA EKOTİPİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEMANUR ACAR

ARALIK 2022

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM
DALI

MUĞLA İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (Anadolu Bal Arısı)'nın MUĞLA EKOTİPİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEMANUR ACAR

ARALIK 2022

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

SEMANUR ACAR tarafından hazırlanan **MUĞLA İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (Anadolu Bal Arısı)'nın MUĞLA EKOTİPİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ** başlıklı tezinin, 29/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Doç. Dr. Ersin DOĞAÇ (**Jüri Başkanı**)

İmza:

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Alper TONGUÇ (**Danışman**)

İmza:

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Dr. Öğr. Üyesi Sevan AĞDAMAR (**Üye**)

İmza:

Ormancılık Bölümü,
Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Çanakkale

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Reşat ÜNAL

İmza:

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Alper TONGUÇ

İmza:

Danışman, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Savunma Tarihi: 29/12/2022

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş ve başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Semanur ACAR

29/12/2022



ÖZET

MUĞLA İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (Anadolu Bal Arısı)'nın MUĞLA EKOTİPİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Semanur ACAR

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Alper TONGUÇ

Aralık 2022, 67 sayfa

Bal arıları Apidae familyası, *Apis* cinsi içerisinde koloni halinde yaşayan sosyal böceklerdir. Bal arıları bitkisel kaynaklı tarım ürünlerinin dünya üzerindeki en önemli tozlaştırıcısı olmaları sebebiyle ekonomik ve ekolojik olarak doğada kilit role sahiptirler. Türkiye'nin sahip olduğu çeşitli iklim özellikleri, coğrafik koşullar ve barındırdığı habitatların varlığı ile farklı alanlara uyum sağlayan birçok ekotipe sahiptir. Bunlardan biri *Apis mellifera anatoliaca*'nın Muğla ekotipidir. Bu ekotip; Muğla bölgesinin iklim koşullarına uyum göstererek üreme düzeni ve morfolojik özellikleri ile diğer ekotiplerden farklılık göstermektedir.

Apis mellifera anatoliaca'nın Muğla ekotipinin genetik çeşitliliğini ortaya koymaya yönelik çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma ile *Apis mellifera anatoliaca*'nın Muğla ekotipinin ISSR moleküler markör tekniği kullanılarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, Muğla'nın 13 ilçesinden, her ilçeden 10 farklı popülasyondan toplanan 130 bireyin, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğini belirlemek için ISSR belirteçleri kullanılmıştır. Toplamda 10 adet polimorfik ISSR belirteci ile taramalar gerçekleştirilmiştir. Taramalar sonucunda elde edilen verilerin analizi için POPGENE Version 1.32 ve GenAlex Version 6.05 bilgisayar programları kullanılmıştır. Gerçekleştirilen analizler sonucunda toplam 425 lokus saptanmış ve primer başına ortalama 42 polimorfik lokus tespit edilmiştir. Popülasyonların polimorfik lokus sayısı 107 ile 213 arasında değiştiği belirlenmiştir. Tüm popülasyonlar için gözlenen ortalama alel sayısı (N_a) ve ortalama etkili alel sayısı (N_e) sırasıyla $1,99 \pm 0,04$ ve $1,41 \pm 0,35$, Nei'nin genetik çeşitlilik değeri (h) ve shannon sabiti değeri sırasıyla $0,24 \pm 0,18$ ve $0,38 \pm 0,24$ olarak tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik en düşük Seydikemer'de, en yüksek ise Bodrum ilçesinde belirlenmiştir. Ayrıca tüm popülasyonlara ait toplam genetik çeşitlilik (H_T) ve

popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S) sırasıyla $0,24\pm0,03$ ve $0,12\pm0,01$, popülasyonların genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) 0,50, gen akış değeri, (Nm) 0,49 olarak belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda 13 ilçenin birbirine uzaklığı Nei'nin genetik uzaklık değeri ile belirlenmiştir. Marmaris ve Datça lokasyonlarının birbirine genetik olarak en yakın, Yatağan ve Marmaris ilçelerinin en uzak lokasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonucunda popülasyon içi ve popülasyonlar arası varyasyon oranı sırasıyla % 51 ve % 49 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Apis mellifera anatoliaca*, ISSR, Genetik çeşitlilik, Muğla ekotipi



ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY OF MUĞLA ECOTYPE OF *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (ANATOLIAN HONEY BEE) SPREADING IN MUĞLA PROVINCE USING ISSR MARKERS

Semanur ACAR

Master Thesis

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Alper TONGUÇ

December 2022, 67 pages

Honey bees are social insects that live in colonies in the Apidae family, the genus *Apis*. Honey bees are the most important pollinators of plant-based agricultural products in the world, it has a key role in nature economically and ecologically. Turkey has many ecotypes that adapt to different areas with its various climatic characteristics, geographical conditions and the presence of habitats it hosts.

One of these ecotypes is Muğla ecotype, *Apis mellifera anatoliaca*. This ecotype; adaptation to Muğla climatic conditions shows the from other ecotypes with its reproduction pattern and morphological features. But *Apis mellifera anatoliaca* there are very few studies to reveal the genetic diversity of the Muğla ecotype.

For this purpose, we examined the genetic similarities and differences between and within the population of *Apis mellifera anatoliaca* subspecies, Muğla ecotype using ISSR molecular marker technique. In this study, the inner-population and inter-population genetic diversity of 130 bee samples from 13 different populations collected from 10 different locations in Muğla province were analyzed using ISSR markers. POPGENE Version 1.32 and GenAlex Version 6.05 computer software were used to analyze the data obtained as a result of the scans. As a result of the analyzes, a total of 425 loci were detected with 10 ISSR primers, and an average of 42 polymorphic loci per primer was detected. The number of polymorphic loci in the populations ranges from 107 to 213.

The data of the populations were analyzed, the average number of alleles (N_a) and the average effective allele number (N_e) observed for all populations was found be 1.99 ± 0.04 and 1.41 ± 0.35 respectively. Genetic diversity value (h) and Shannon

constant of Nei for all populations was determined as 0.24 ± 0.18 and 0.38 ± 0.24 respectively. While the location with the lowest genetic diversity among all populations was determined as Seydikemer, the location with the highest genetic diversity was determined as Bodrum. In addition, the total genetic diversity (H_T) and genetic diversity within the population (H_S) of all populations was found to be 0.24 ± 0.03 and 0.12 ± 0.01 respectively, genetic differentiation coefficient (G_{ST}) of the populations was determined as 0.50, and gene flow value (Nm) was 0.49.

As a result of the analysis, the distance of 13 districts from each other was determined by the genetic distance value of Nei. Marmaris and Datça populations were found to be genetically closest to each other. Marmaris and Yatağan populations were found to be genetically most distant. Molecular Analysis of Variance (AMOVA), was performed using the GenAlex Version 6.05 program. As a result of Molecular Analysis of Variance (AMOVA), it was observed that the variation was 51 % within the population and 49 % among the populations.

Keywords: *Apis mellifera anatoliaca*, ISSR, genetic diversity, Muğla ecotype

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim sürecimde her konuda bana yardımcı olan, desteğini hiç eksik etmeyen ve bana yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Alper TONGUÇ'a,

Örneklerin temin ve teşhisinde yardımcı olan Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu'nda görevli Öğr. Gör. Dr. Taylan DOĞAROĞLU'na, çalışmalarında yol gösteren Doç. Dr. Ersin DOĞAÇ'a, laboratuvarında birlikte çalıştığım ve deney sürecim boyunca büyük yardımları olan Evin GÜVENÇ, Elif ÇELİKKOL ve diğer çalışma arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan varlığını her zaman hissettiğim arkadaşlarıma, Mustafa Şahin'e, maddi ve manevi yardımlarından dolayı Ahu Filiz KAPLAN, Hümeysra ve Yahya YEŞİL'e büyük şükranlık duyar ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 21/121/02/1 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bal Arısı.....	1
1.1.1. Bal arısı tarihçesi.....	1
1.1.2. Bal arısı taksonomik sınıflandırılması.....	2
1.1.3. <i>Apis mellifera</i> alttürlerinin sınıflandırılması.....	3
1.1.4. Türkiye’de bulunan <i>Apis mellifera</i> alttürleri.....	7
1.1.5. Bal arısı koloni bireyleri.....	8
1.1.5.1. Ana arı.....	9
1.1.5.2. İşçi arı.....	10
1.1.5.3. Erkek arı.....	10
1.1.6. Bal arılarının yaşam döngüsü.....	11
1.1.6.1. Yumurta Evresi.....	11
1.1.6.2. Larva evresi.....	12
1.1.6.3. Pupa evresi.....	13
1.1.6.4. Ergin evre.....	14
1.1.7. Türkiye’de arıcılığın mevcut durumu.....	15
1.2. PCR.....	16
1.2.1. PCR Aşamaları.....	16
1.2.2. PCR reaksiyonu optimizasyonu.....	17
1.2.3. PCR’in Temel Bileşenleri.....	18
1.2.3.1. Kalıp DNA.....	18
1.2.3.2. Polimeraz enzimleri.....	18
1.2.3.3. Deoksinükleotid-Trifosfat(dNTPs) karışımı.....	19
1.2.3.4. Magnezyum derişimi.....	19
1.2.3.5. PCR tamponu.....	19
1.2.4. PCR kullanım alanları.....	20

1.3. Markör Sistemleri.....	20
1.3.1. Morfolojik Markörler	20
1.3.2. Moleküler Markörler	21
1.4. Literatür Çalışmaları	23
1.5. Çalışmanın Amacı	31
2. MALZEME VE YÖNTEM	32
2.1. Arazi Çalışmaları.....	32
2.2. DNA İzolasyonu.....	33
2.3. DNA İzolasyon Protokolü.....	34
2.4. ISSR Primerlerinin Taranması	35
2.5. PCR Reaksiyonu	36
2.6. Elektroforez Basamağı	37
2.7. Verilerin Analiz Edilmesi.....	37
2.7.1. Alel sayısı.....	38
2.7.2. Etkili alel sayısı	39
2.7.3. Shannon sabiti	39
2.7.4. Heterozigotluk.....	39
2.7.5. Polimorfik lokus oranı.....	40
2.7.6. Genetik Mesafe	40
2.7.7. G İstatistiği	41
3. BULGULAR	42
3.1. DNA izolasyonu	42
3.2. Primer Taraması	42
3.3. Popülasyon İçi ve Popülasyonlar Arası Genetik Çeşitlilik Bulguları	47
3.3.1. Ortalama alel sayısı ve ortalama etkili alel sayısı (N_a, N_e).....	47
3.3.2. Shannon sabiti (J)	48
3.3.3. Nei'nin genetik çeşitliliği (h)	49
3.3.4. Polimorfik lokus sayısı ve oranı.....	49
3.3.5. G- istatistiği	49
3.3.6. Gen akış düzeyi (Nm).....	50
3.3.7. Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık (D_N).....	50
3.3.8. Popülasyonlara ilişkin ağaç dallanma yapısı.....	52
3.3.9. AMOVA analizi	52
3.3.10. Diğer bulgular	53
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	55
KAYNAKÇA	61
ÖZGEÇMİŞ.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bal arılarının taksonomik sınıflandırılması	3
Çizelge 1.2. Afrika alttürleri	4
Çizelge 1.3. Batı Asya ve Orta Doğu alttürleri	5
Çizelge 1.4. Avrupa alttürleri.....	6
Çizelge 2.1. Örneklerin toplandığı lokasyonlar	33
Çizelge 2.2. Kullanılan Primerlere Ait Bilgiler	35
Çizelge 2.3. PCR Reaksiyonu Temel Bileşenleri	36
Çizelge 2.4. PCR Aşamaları.....	36
Çizelge 3.1. Taranan 16 primere ait bulgular.....	42
Çizelge 3.2. Primer başına tespit edilen lokus sayısı	46
Çizelge 3.3. Primerlerin bant uzunlukları	47
Çizelge 3.4. Tüm popülasyonların ortalama genetik çeşitlilik bulguları	47
Çizelge 3.5. <i>A. m. anatoliaca</i> popülasyonlarına ait genetik çeşitlilik bulguları.....	48
Çizelge 3.6. <i>A.m. anatoliaca</i> popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri ...	51
Çizelge 3.7. Popülasyonların bant sayıları ve heterozigotluk değerleri.....	53
Çizelge 3.8. Popülasyonlara ait Principal Coordinates (PCoA) analizi	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Arkeolojik çalışmalardan elde edilen arı motifi.....	2
Şekil 1.2. Arı kolonisini oluşturan bireyler	9
Şekil 1.3. Bal arısı yaşam döngüsü	11
Şekil 1.4. Bal arısı yumurta evresi	12
Şekil 1.5. Larva dönemi	13
Şekil 1.6. Pupa evresi	14
Şekil 1.7. Ergin evre.....	14
Şekil 1.8. PCR basamakları.....	17
Şekil 2.1. <i>A. m. anatoliaca</i> popülasyonlarının toplandığı lokaliteler.....	32
Şekil 2.2. Bodrum lokasyonuna ait arı örnekleri	34
Şekil 2.3. Kullanılan jel elektroforez cihazı.....	37
Şekil 2.4. 1 kb DNA Ladder	38
Şekil 3.1. DNA izolasyonu yapılan Ula örneklerinin jel görüntüsü	42
Şekil 3.2. Yatağan bireylerinin ISSR 9-10 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü	44
Şekil 3.3. Menteşe bireylerinin ISSR 11-15 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü	44
Şekil 3.4. Marmaris bireylerinin ISSR 3-5 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü	45
Şekil 3.5. Dalaman bireylerinin ISSR 6-7 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü	45
Şekil 3.6. Ortaca bireylerinin ISSR 1-2 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü	46
Şekil 3.7. Popülasyonların ağaç dallanma yapısı	52
Şekil 3.8. AMOVA analizi sonucu	53

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

dH ₂ O	Distile su
°C	Santigrat
rpm	Dakikada devir
µl	Mikrolitre
Dk	Dakika
mM	Milimolar
M	Molar
V	Volt
bç (bp)	Baz çifti
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
KiA	Kloroform-izoamil alkol
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ISSR	Basit Dizi Tekrarları Arası
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
RFLP	Kesilen Parçaların Uzunluk Polimorfizmi
TBE	Tris/Borik asit /EDTA (Buffer)

1. GİRİŞ

1.1. Bal Arısı

Arılar, dünya üzerinde bilinen yaklaşık olarak 22.000 türle temsil edilirler. En bilinen ve en önemli arı türü ise bal arıdır. Bal arıları yaşam döngüsü ve düzeniyle besin zincirimiz için vazgeçilemez bir organizmadır. Birçok ürün ve çiçekli bitkiler için en önemli tozlayıcıların başında gelirken arılardan elde edilen ürünlerde bir o kadar önemlidir. Önemli ürünleri arasında polen, arı sütü, propolis, bal mumu yer alır. Tüm bunlar göz önüne alındığında bal arılarının kaybı hem besin zincirinde hem de tüm dünyada ekolojik dengenin bozulmasına sebep olur (Çakmak, 2004; Kence, 2006).

Türkiye coğrafik olarak Asya, Afrika ve Avrupa olmak üzere 3 kıtanın kesişim noktasında bulunan ve bu kıtalar arasında köprü kuran önemli bir ülkedir. Ülkemiz sahip olduğu çeşitli iklim özellikleri, coğrafik koşullar ve barındırdığı farklı habitatlardan dolayı birçok bitki ve hayvan türünün gen merkezi konumundadır. Ülkemizde 10.000'den fazla bitki türünün varlığı floranın çok çeşitli olmasının temel sebebidir. Bu bitki zenginliği sonucunda ise ülkemizde görülen bal arısı popülasyonunda muazzam bir çeşitlilik söz konusudur (Adam, 1987; Smith, 2002; Kence, 2006; Kandemir, 2018; Oskay vd. 2019).

Ülkemizde arıcılık, geleneksel olarak yapılan tarım faaliyetlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Toplumlar için arılar önemli bir yer tuttuğu için bu çalışma ile yeni bir bakış açısı kazandırması hedeflenmiş ve ülkemiz genetik çeşitliliğine bir katkı sağlanması amaçlanmıştır.

1.1.1. Bal arısı tarihçesi

Kretase döneminde yeryüzünde bitki örtülerinin oluşmaya başlamasıyla birlikte çiçekli bitkiler ortaya çıkmış ve arılar o zamandan beri dünya üzerinde bulunmaktadır. Eski Hint, Mısır, Yunan, Babil ve Hitit uygarlıkları ile yapılan araştırmalar sonucunda arılar ve bal ile ilgili önemli bilgilere ulaşılmıştır (Şekil 1.1.). Çeşitli kaynaklardan elde edilen verilere bakıldığında Mısırlıların arılarla

ilgilendiklerini ve papirüslere bal ile tedavi gördüklerini yazmışlardır (Cane, 2008; Yaşar, 2010).

Jeolojik olarak en eski korunmuş bal arıları, Doğu Prusya'daki Baltık kehribarında bulunmuştur ve tarihsel olarak 50 milyon yıl öncesine dayanmaktadır. Bal arısının doğada ilk yaşam yerleri ağaçların gövdeleri ve büyük kayaların oyuklarıdır. Zaman içerisinde arıların insanların dikkatini çekmesi ile arılar ilkel kovanlara alınmıştır. İlerleyen zamanlarda uygun yaşam koşulları sağlanmaya çalışarak ilkel kovanlar yerini modern kovanlara bırakmıştır (Doğaroğlu, 2008; Srinivasan, 2010; Koday ve Karadağ, 2020).



Şekil 1.1. Arkeolojik çalışmalardan elde edilen arı motifi (Hammad, 2018)

1.1.2. Bal arısı taksonomik sınıflandırılması

Apis mellifera (Linnaeus, 1758), Hymenoptera (Zar Kanatlılar) takımının, Apidae familyasının, *Apis* cinsi içerisinde yer almaktadır (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1 Bal arılarının taksonomik sınıflandırılması (Soysal vd. 2010)

Alem	Animalia (Hayvanlar)
Şube	Arthropoda (Eklem Bacaklılar)
Alt Şube	Hexapoda (Altıbacaklılar)
Sınıf	Insecta (Böcekler)
Takım	Hymenoptera (Zar Kanatlılar)
Familya	Apidae
Alt Familya	Apinae
Cins	<i>Apis</i>
Tür	<i>Apis mellifera</i>

Bal arıları sistematik olarak dünya üzerinde ilk olarak *Apis dorsata*, *Apis cerena*, *Apis florea*, *Apis mellifera* olmak üzere 4 farklı türe ayrılmıştır (Ruttner, 1988). Daha sonra yapılan çalışmalarla birlikte bu sayının daha fazla olduğu ortaya konmuştur. *Apis* cinsi günümüzde ise 10 farklı tür ile temsil edilmektedir (Otis, 1996; Soysal vd. 2010; Taşkırın vd. 2017). Bu türler;

- *Apis andreniformis*
- *Apis cerena*
- *Apis dorsata*
- *Apis florea*
- *Apis koshevnikovi*
- *Apis laboriosa*
- *Apis mellifera*
- *Apis nicrocincta*
- *Apis nuluens*
- *Apis binghami*'dir.

1.1.3. *Apis mellifera* alttürlerinin sınıflandırılması

Moleküler ve morfometrik karakterizasyonlarına dayanan çalışmalar sonucunda günümüzde *Apis mellifera* 33 alttüre ve 5 evrimsel gruba ayrılmıştır (Çizelge 1.2.)

(Ruttner, 1988; İlyasov vd. 2020). İlyasov ve arkadaşları yaptığı çalışmada bal arılarının 5 evrimsel soya ayrıldığını bildirmişlerdir. Bu soylar; A, C, M, O ve Y'dir. Bununla birlikte A soyunun altsoyu olan Z soyunun var olduğunu ve bir alttüre sahip olan Y soyu olduğunu belirtmişlerdir (İlyasov vd. 2020). Bu soylar;

- Grup A (Merkezi ve Güney Afrika)
- Grup C (Doğu Avrupa ve Kuzey Akdeniz)
- Grup M (Kuzey Afrika, Kuzey ve Batı Avrupa)
- Grup O (Orta Doğu ve Doğu Akdeniz)

Çizelge 1.2 Afrika alttürleri (İlyasov vd. 2020)

Alttür adı	Yaygın İsmi	Soy	Yayıma Alanı
<i>Apis mellifera lamarckii</i>	Mısır Bal Arısı	O	Mısır, Sudan
<i>Apis mellifera litorea</i>	Doğu Afrika Kıyı Bal arısı	A	Kenya
<i>Apis mellifera adansonii</i>	Batı Afrika Bal arısı	A	Nijerya, Uganda, Zambiya, Senegal
<i>Apis mellifera scutellata</i>	Afrika Bal Arısı	A	Kenya, Tanzanya, Uganda, Güney Afrika
<i>Apis mellifera monticola</i>	Doğu Afrika Dağı Bal arısı	A	Kenya, Tanzanya Dağları
<i>Apis mellifera capensis</i>	Cape Bal Arısı	A	Güney Afrika Cumhuriyeti'ndeki Cape Bölgesi
<i>Apis mellifera unicolor</i>	Madagaskar Bal Arısı	A	Madagaskar
<i>Apis mellifera simensis</i>	Etiyopya Bal Arısı	A	Etiyopya
<i>Apis mellifera sahariensis</i>	Sahra Bal Arısı	A	Fas, Cezayir, Tunus, Batı Sahra
<i>Apis mellifera intermissa</i>	Tellian Bal Arısı	A	Fas, Libya, Tunus
<i>Apis mellifera jemenitica</i>	Arap Bal Arısı	Y	Arap Yarımadası, Suudi Arabistan,

Çizelge 1.3 Batı Asya ve Orta Doğu alttürleri (İlyasov vd, 2020)

Alttür adı	Yaygın İsmi	Soy	Yayıma Alanı
<i>Apis mellifera rutneri</i>	Malta Bal Arısı	A	Malta
<i>Apis mellifera syriaca</i>	Suriye Bal Arısı	Z	Suriye, İsrail, Lübnan
<i>Apis mellifera mellifera</i>	Avrupa Kara Bal Arısı	M	Fransa, Birleşik Krallık, İsviçre, Rusya'nın Avrupa kısmı, Polonya
<i>Apis mellifera pomonella</i>	Tian Shan bal arısı	O	Kazakistan'ın Tian Shan dağları, Kırgızistan
<i>Apis mellifera sinixinyuan</i>	Xinyuan bal arısı	M	Çin Uygur Özerk Bölgesi
<i>Apis mellifera meda</i>	Fars bal arısı	Z	İran, Irak, Suriye, Türkiye
<i>Apis mellifera caucasica</i>	Kafkas bal arısı	C	Güney Rusya, Türkiye, Gürcistan
<i>Apis mellifera Remipes</i>	Ermeni bal arısı	O	Güney Rusya, Ermenistan, İran, Gürcistan
<i>Apis mellifera anatoliaca</i>	Anadolu bal arısı	Z	İran, Ermenistan, Suriye, Türkiye

Çizelge 1.4 Avrupa alttürleri (İlyasov vd. 2020)

Alttür adı	Yaygın İsmi	Soy	Yayılma Alanı
<i>Apis mellifera iberiensis</i>	İspanyol bal arısı	M	İspanya, Portekiz
<i>Apis mellifera makedonca</i>	Makedon bal arısı	C	Bulgaristan, Yunanistan, Makedonya, Ukrayna
<i>Apis mellifera ligustica</i>	İtalyan bal arısı	C	İtalya
<i>Apis mellifera carnica</i>	Karniyol bal arısı	C	Slovenya, Bulgaristan, Polonya, Avusturya
<i>Apis mellifera carpathica</i>	Karpat bal arısı	C	Ukrayna, Bulgaristan, Romanya, Moldova
<i>Apis mellifera rodopica</i>	Bulgar bal arısı	C	Bulgaristan
<i>Apis mellifera cecropia</i>	Yunan bal arısı	C	Yunanistan
<i>Apis mellifera siciliana</i>	Sicilya bal arısı	C	Sicilya
<i>Apis mellifera adami</i>	Girit bal arısı	C	Girit
<i>Apis mellifera cypria</i>	Kıbrıs bal arısı	C	Kıbrıs
<i>Apis mellifera artemisia</i>	Rus bozkır bal arısı	C veya O	Güney Rusya, Ukrayna
<i>Apis mellifera sossimai</i>	Ukrayna bal arısı	C veya O	Kırım, Güney Rusya, Ukrayna
<i>Apis mellifera taurica</i>	Kırım Bal Arısı	C veya O	Kırım, Güney Rusya, Ukrayna

1.1.4. Türkiye’de bulunan *Apis mellifera* alttürleri

Türkiye’de bulunan bal arısı popülasyonlarını tanımlamaya çalışan ilk bilim insanı Buttel Reepen (1906)’dir. Türkiye’de arıcılık hakkında ilk bilimsel çalışmaları yapan ise Frederick Simon Bodenheimer’dir. Bodenheimer, 1940’lı yıllarda Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Entomoloji bölümünü kurmuştur. Anadolu bal arılarını morfolojik olarak tanımlamış ve Anadolu’da bulunan bal arısı alttürlerinin yaşadığı coğrafik alanlar doğrultusunda yedi farklı bölgeye ayırmıştır (Bodenheimer, 1942; Kekeçoğlu, 2010; Kandemir, 2018; Genç ve Cengiz, 2020).

Türkiye zengin topografik yapısı, farklı iklimlerin bir arada görülmesi, doğal bitki örtüsü ve çeşitliliğiyle önemli arı ırklarına sahip olan bir ülkedir. Türkiye’de var olan bal arısı alttürleri; *Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera meda*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera syriaca*, *Apis mellifera carnica*’dır (Ruttner, 1988; Oskay, 2008; Sıralı vd. 2017; Kandemir vd. 2010; Kandemir, 2018). Ülkemizin Kuzeybatı bölgesinde yer alan Trakya bölümünde *Apis mellifera carnica* (karniyol arısı), Güneydoğu bölgesinde, Hatay ve çevresinde *Apis mellifera syriaca* (Suriye arısı), Güneydoğu İran sınırında *Apis mellifera meda* (İran arısı), Doğu Karadeniz bölgesinde ve Kafkasya sınırında bulunan arı ırkı ise *Apis mellifera caucasica* (Kafkas arısı)’dır. Anadolu’nun geniş bir coğrafik alanında yayılış gösteren ise *Apis mellifera anatoliaca* (Anadolu arısı)’dır ve ülkemizde en yaygın görülen arı ırkıdır (Adam, 1987; Ruttner, 1988; Sıralı vd. 2017; Genç ve Cengiz, 2020). *Apis mellifera anatoliaca*’nın yayılış alanı kuzey-güney yönünde Sinop’tan başlayarak Toros Dağlarına, batı-doğu yönünde ise Ege Bölgesi’nden başlayarak Sivas’a kadar olan geniş bir alan içerisinde yer almaktadır (Ruttner, 1988; Kaftanoğlu, 2001; Kekeçoğlu, 2010; Sıralı vd. 2017).

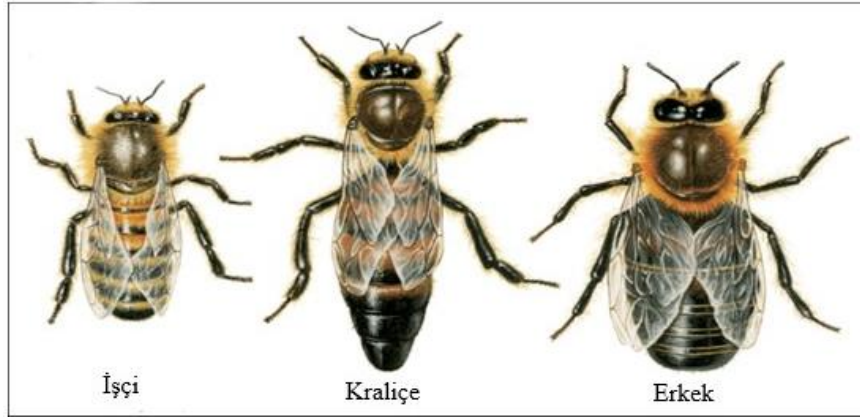
Türkiye’nin farklı coğrafik bölgelerinde yer alan Anadolu arısı *Apis mellifera anatoliaca*, vücut rengi, bal verimi, fizyolojik yapı, morfolojik ve koloni davranış özellikleri açısından çeşitlilik göstermektedir ve yaşamını sürdürdüğü bölgenin ekolojik şartlarına adapte olan ekotipleri içerisinde barındırmaktadır (Maa, 1953; Sıralı vd. 2017; Taşkiran vd. 2017). Anadolu arı ırkının ekotipleri genom veya gen frekansı bakımından farklılık göstermeyebilir. Fakat her ekotip içinde yaşamını sürdürdüğü alanın endemik çevresel şartlarına bağlı olarak bir takım farklı özellikler göstermektedirler (Kaftanoğlu, 2001; Smith, 2002; Kandemir vd. 2005; Kekeçoğlu,

2009; Sıralı vd. 2017). Buna bir örnek olarak Muğla ekotipi verilebilir. Anadolu arısının Ege Bölgesinde yer alan arılar, bölgenin ekolojik şartlarına uyum sağlamış bir ekotip olarak kabul edilmektedir (Sıralı vd. 2017). Muğla arısının Ege ekotipinin orijin bölgesi Muğla ve çevresi olmasına rağmen İzmir'den başlayıp Antalya'ya kadar olan sahil bölgesinde de yayılış göstermektedir (Ruttner, 1988; Kaftanoğlu, 2001; Karacaoğlu, 2004; Sıralı vd. 2017). Bu ekotip; üreme düzeni, morfolojik özellikleri ve Muğla bölgesinin iklim koşullarına daha iyi uyum göstermesinden dolayı diğerlerinden ayrılmıştır (Kekeçoğlu, 2009; Sıralı vd. 2017; Oskay vd. 2019).

Muğla ili 1.654 km² yüzölçümüne sahip, 36° 17' ve 37° 33 Kuzey, 27° 13' ve 29° 46' Doğu koordinatları arasında Akdeniz ve Ege'nin birleştiği yerde bulunan ilimizdir (Acar, 1998). Muğla ilinde arıcılık faaliyetleri önemli bir yer tutmaktadır. Muğla'nın bitki örtüsü ve orman florasının büyük bir kısmını çam ağaçları oluşturmaktadır ve bu nedenle Muğla ili, çam balı üretiminde önemli bir merkez konumunda yer alır. Dünya üzerinde çam balı üretimi Türkiye ve Yunanistan tarafından sağlanmakta ve Türkiye çam balı üretiminde liderdir (Günbey, 2009). Bu sebeple bu çalışmada Muğla ekotipi Muğla'ya özgün olduğu için araştırma alanı olarak Muğla ili seçilmiştir.

1.1.5. Bal arısı koloni bireyleri

Bal arıları koloni halinde yaşayan ve birbirleriyle iletişim kuran sosyal böceklerdir. Koloni kavramı ise, bir kovan içerisinde bulunan bir adet ana arı, on binlerce işçi arı ve yüzlerce erkek arıdan meydana gelen ve birbirleriyle bir düzen içerisinde ortak olarak yaşayan arı ailesidir (Şekil 1.2.). (Akyol, 2007; Doğaroğlu, 2008). Koloninin popülasyonunu belirleyen işçi arılardır ve işçi arıların sayıları mevsime ve koloni içerisinde şartlara bağlı olarak değişkenlik gösterir. İşçi arıların sayıları ilkbahar başlangıcında en düşük seviyelerde olurken bu sayı yaklaşık olarak 10-15 bin arasında görülür. Bal mevsim zamanında işçi arıların sayısı en yüksek seviyelere ulaşır ve 70-80 bin civarında görülebilir. Erkek arı sayısı ise en çok buldukları dönem olan oğul zamanında 300-500 civarındadır. Çok güçlü bir kolonide ise bu sayı binlere kadar çıkabilir. Ana arı ve işçi arılar döllenmiş yumurtadan meydana gelen dişi bireylerdir, erkek arı ise döllenmemiş yumurtadan meydana gelir ve genetik özelliklerini sadece ana arıdan alır (Cane, 2008; Doğaroğlu, 2008; Akyol, 2007).



Şekil 1.2. Arı kolonisini oluşturan bireyler (Bhokray, 2016)

1.1.5.1. Ana arı

Bal arısı kolonisi içerisinde işçi ve erkek bireylere göre daha uzun bir vücut yapısına sahip olan ve diğer bireylerden daha ince yapıda sadece bir adet ana arı yer alır. Kanatları vücuduna oranla kısa olduğu için uçuş yeteneği çok gelişmiş olmayan ana arı yumurtlama özelliğine sahip olması nedeniyle koloni için önemli bir yer tutar. Çünkü ana arı koloninin kalıtsal özelliklerinden sorumlu olup koloninin gen kaynağıdır ve koloninin devamlılığını sağlayarak koloniyi bir arada tutar (Doğaroğlu, 2008; Genç ve Cengiz, 2020).

Ana arı salgıladığı feromonlar sayesinde kovan içerisindeki sosyal düzeni sağlar ve kovan içerisindeki bireyler birlikte yaşamlarını sürdürürler (Genç ve Cengiz, 2020). Ana arı çiftleşme haricinde kovan dışına çıkmaz. Ergin hale geldikten bir hafta sonra ana arı çiftleşme uçuşuna çıkmaya başlar (Akyol, 2007; Doğaroğlu, 2008). Ana arının beslenmesi ve temizliği ise işçi arılar aracılığıyla yapılır. İşçi arılar ana arının beslenmesini arı sütü ile gerçekleştirirler (Doğaroğlu, 2008; Cane, 2008).

Ana arı petek gözlerinin şekline göre yumurtalarını bırakır. Petek gözleri dar ise ana arı göze işçi arı yumurtası bırakır, eğer petek gözü büyük ise döllenen erkek arı yumurtası bırakır (Akyol 2007). Ana arı günlük ortalama olarak 1500-2000 adet yumurta bırakabilir. Güçlü bir kolonide bir yılda ana arının bıraktığı yumurta sayısı ortalama olarak 200.000 civarında olabilmektedir (Akyol, 2007; Doğaroğlu, 2008; Genç ve Cengiz, 2020).

Bir ana arının yaşam süresi ortalama olarak 3-5 yıl olmakla birlikte 7 yıla kadar yaşayabilirler. Fakat yaşlı ana arının yumurtlama yeteneği zayıflar ve petek gözlerine

daha az ve dölllenmemiş yumurta bırakır, bunun sonucunda ise güçsüz koloniler ortaya çıkar (Doğaroğlu, 2008; Genç ve Cengiz, 2020).

1.1.5.2. İşçi arı

Dölllenmiş yumurtalardan meydana gelen dişi bireyler olup kolonide vücut yapısı olarak en küçük bireylerdir. Koloninin en kalabalık grubu işçi arılardır ve koloni içerisindeki sayıları 60.000-80.000 bin aralığında değişir. Mevsime göre sayıları değişiklik göstermektedir. Arıların aktif olduğu dönem olan ilkbahar ve yaz aylarında yoğun bir şekilde çalıştıklarından dolayı ortalama ömür süreleri 35-40 gündür. Kış mevsiminde ise kovan dışına çıkmazlar ve bu süre 4-5 aya kadar çıkabilir (Doğaroğlu, 2008).

İşçi arılar birbirleriyle işbirliği halinde koloni içerisindeki bütün işleri üstlenirler. İşçi arıların başlıca görevleri koloni içerisinde petek gözlerini ve kovanı temizleme, arı sütü salgılama, genç ve yaşlı larvaları besleme, kovanın onarılması, havalandırılması ve koloniyi dış etkenlerden koruma, ana arının beslenmesi ve temizliği, polen nektar ve su toplama. İşçi arılar ilk 20 günlük süre içerisinde kovanın içinden sorumludurlar ve kovan dışına çıkmazlar (Doğaroğlu, 2008).

Ergin hale gelen işçi arı görevleri;

0-3 gün: Petek gözlerini temizleme.

3-6 gün: Yaşlı larvaları besleme.

6-12 gün: Genç larvaları besleme ve Arı sütü salgılama.

12-18 gün: Petek gözlerini inşa etme.

12-18 gün: Kovan önünde bekçilik yapma.

21. günde kovan dışına çıkıp kovana nektar, bal, su taşıma, propolis toplama gibi görevleri yerine getirirler. Kovan dışında çalışan bu arılar ise 'tarlacı arılar' olarak adlandırılırlar (Cane, 2008; Doğaroğlu, 2008).

1.1.5.3. Erkek arı

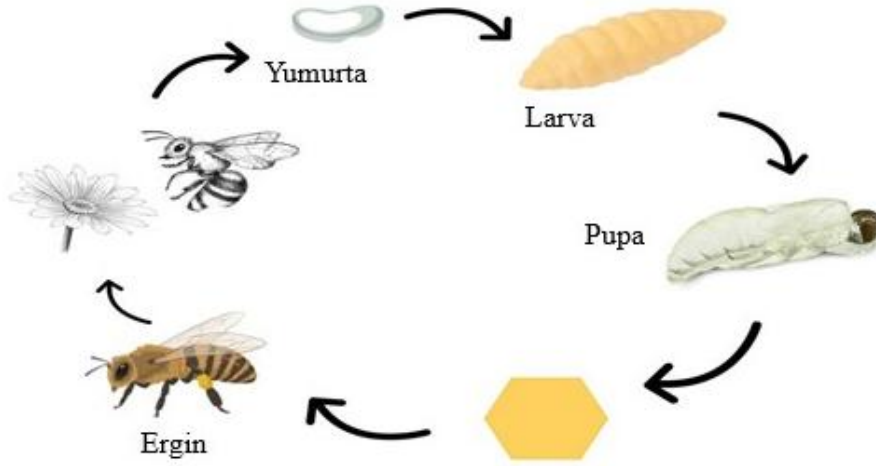
Erkek arılar dölllenmemiş yumurtadan meydana gelirler ve kolonide bulunan diğer arılardan daha tombuldurlar. Koloni içerisindeki görevi çiftleşme uçuşuna çıkan ana

arı ile çiftleşmektedir. Dilleri çok kısa olduğu için çiçekten nektar toplayamazlar. Petekten bal alarak beslenebilirler ve iğnesi olmadığı için kendilerini savunma özelliğine sahip değildirler. Fazla bal tüketimi nedeniyle kış aylarında kovan içerisinde erkek arı bulundurulmaz. İşçi arılar tarafından bal stokları üzerinden uzaklaştırılıp ölüme mahkum edilirler. Yaşam süreleri yaz aylarında ortalama olarak 55-60 gün aralığındadır. Fakat kovan anasız kalırsa işçi arılar erkek arıları öldürmezler ve bu erkek arılar kovan içerisinde kışı geçirecek kadar yaşayabilirler (Doğaroğlu, 2008).

1.1.6. Bal arılarının yaşam döngüsü

Bal arılarının gelişimi 4 evreden oluşur (Şekil 1.3.). Bunlar;

- Yumurta
- Larva
- Pupa
- Ergin (Akyol, 2007; Cane, 2008; Doğaroğlu, 2008)

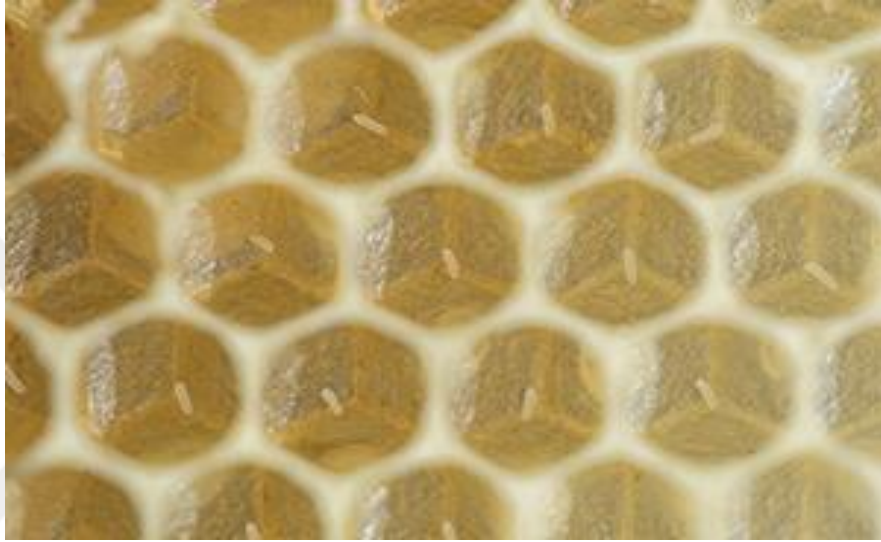


Şekil 1.3. Bal arısı yaşam döngüsü (Chen vd. 2021)

1.1.6.1. Yumurta Evresi

Ana arı petek gözünün taban kısmına bir adet yumurta bırakır (Şekil 1.4.). Yumurta dönemi bütün koloni bireylerinde 3 gün sürer. Üç günün sonunda bu yumurtaların kabukları çatlayarak larva evresine geçerler. Ana arı dışında işçi arı da yumurtlama

özelliğine sahiptir fakat ana arı koloni içerisinde bulunduğu sürece işçi arılar petek gözlerine yumurta bırakamazlar. Bunun sebebi, ana arının salgıladığı feromonların işçi arıların yumurta bırakmasına engel olmasıdır. Ana arı öldüğünde ya da koloni içerisinde ana bulunmadığı zamanda feromon etkisi ortadan kalkar ve işçi arılar yumurtlama özelliği kazanırlar ve buna 'yalancı ana' denir. Fakat ana arıların yaptığı gibi her petek gözlerine bir adet yumurta bırakmak yerine işçi arılar rastgele şekilde yumurta bırakırlar. Bunun sonucunda bir petek gözünde 10-20 adet yumurta bulunabilir (Akyol, 2007; Doğaroğlu, 2008).



Şekil 1.4. Bal arısı yumurta evresi (Burlew, 2020)

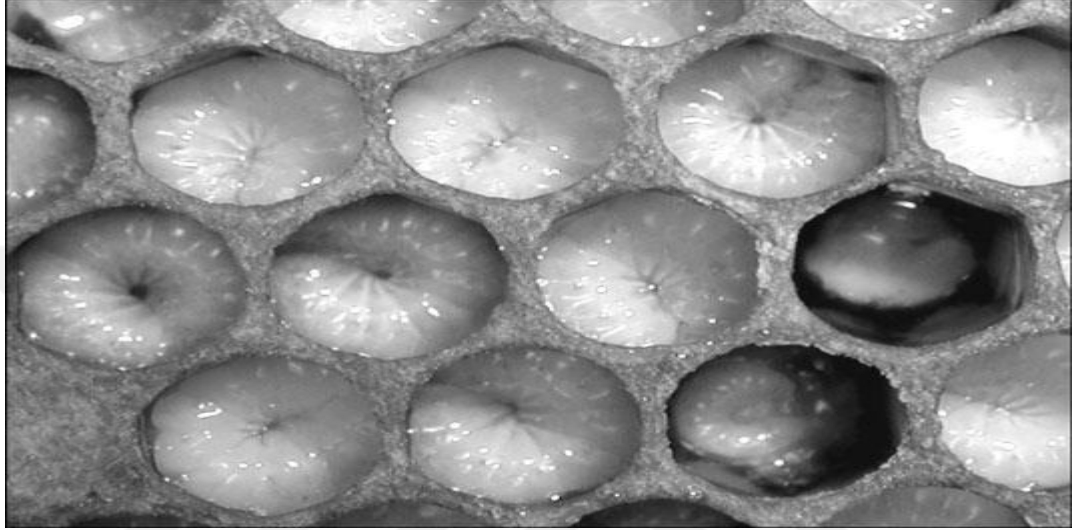
Ana arı petek gözüne yumurta bırakmadan önce peteklerin içi işçi arılar tarafından kontrol edildikten sonra bir kez de ana arı tarafından kontrol edilir. Ana arı petek gözüne kafasını sokar ve antenleriyle petek çapının ölçtükten sonra petek çapının boyutuna göre dölllenmiş veya dölllenmemiş yumurta bırakır. Eğer petek gözü dar ise dölllenmiş yumurta, petek gözü geniş ise dölllenmemiş yumurta bırakır. Yumurta dönemi 3 gün sürer ve embriyonik gelişim tamamlanır ve larva açığa çıkar (Akyol, 2007; Doğaroğlu, 2008).

1.1.6.2. Larva evresi

Larva evresinde ana arı, işçi arı ve erkek arının beslenme şekli birbirinden farklılık göstermektedir. Ana arı 6 gün süren larva dönemi boyunca sadece arı sütüyle beslenir. İşçi ve erkek arılar ilk 3 gün arı sütüyle, sonraki 3 gün ise bal ve polenle

beslenir. Ana arı ve işçi arılar döllenen yumurtadan gelişen dişi bireylerdir ve bu bireylerin dönüşümü larva dönemindeki beslenme şekli farkından oluşmaktadır (Doğaroğlu, 2008).

Arı larvası, organları gelişmemiş beyaz renkli bir kurtçuktur ve gelişim döneminin tek beslenme evresi larva dönemidir (Şekil 1.5.). Larva dönemi bitiminde larva pupaya dönüşür (Doğaroğlu, 2008).



Şekil 1.5. Larva dönemi (Blackiston, 2021)

1.1.6.3. Pupa evresi

Pupa evresi, larva ve ergin evre arasında bir geçiş evresidir (Şekil 1.6.). Bu evrede anatomik yapı meydana gelir ve bu evrede; baş, göğüs, karın, ağız parçaları ve bacaklar oluşur. Ergin hale gelince petek gözlerini delip dışarıya çıkarlar (Doğaroğlu, 2008).



Şekil 1.6. Pupa evresi (Blackiston, 2021)

1.1.6.4. Ergin evre

Pupa yetişkin hale geldiğinde petek içerisinden çıkar. Ergin hale gelen arılar belirli bir süre kanatlarını kullanamazlar (Şekil 1.7.). Vücudunu tamamen kuruttuktan sonra hareket etmeye başlarlar (Doğaroğlu, 2008).



Şekil 1.7. Ergin evre (Humagain, 2017)

1.1.7. Türkiye’de arıcılığın mevcut durumu

Arıcılık Anadolu’nun en eski üretim teknikleri arasında yer almaktadır. Türkiye zengin bitki florası ve uygun ekolojik özellikleriyle arıcılıkta önemli bir ülke konumundadır. Türkiye’nin florasının zengin olması arıcılık için önemli bir avantajdır. Türkiye’de doğal olarak bulunan ve kültüre alınan nektarlı bitki türü yaklaşık olarak 300’dür. Dünya üzerinde bulunan ballı bitkilerin % 75’ i ülkemizde yetişmektedir (Sıralı, 2009; Burucu ve Gülse Bal, 2017).

Ülkemiz arıcılık için çok elverişli olmasına karşın çeşitli nedenlerle arıcılık faaliyeti potansiyelinin çok altında kalmaktadır (Oskay 2008; Sıralı vd. 2018). Ülkemizde bulunan kovan başına düşen bal verimi düşük seviyelerdedir. Ülkemizde 2020 verilerine göre 8.1 milyon kovan bulunurken bal üretim miktarı 104 bin tondur. Türkiye dünyada kovan miktarı bakımından 3. sırada yer alır. Fakat kovan başına verim ise 12,7 olup oldukça düşüktür (TÜİK, 2021; Burucu, 2022).

Ülkemizin 2021 yılında toplam kovan varlığı 8,7 milyon olup bir önceki yıla oranla % 6,8 artış meydana gelmiştir. Türkiye’de iller içerisinde kovan varlığı verileri incelendiğinde 949 bin arılı kovan varlığına sahip olan Muğla birinci sırada yer alırken, 604 bin kovan varlığına sahip olan Ordu ili ikinci sırada ve 482 bin kovan varlığı ile Adana ili üçüncü sırada yer almaktadır. Muğla ili önceki yıla oranla kovan varlığı bakımından % 5,4 oranında artış göstermiştir (Burucu, 2022).

Türkiye kovan varlığı bakımından yükseliş gösterdiği halde bal üretimi, bir önceki yıla göre % 7,4 oranında azalma göstererek 96 bin ton üretim gerçekleşmiştir. İller bazında bal üretim miktarına bakıldığında 12.336 ton ile Adana birinci sırada yer alırken, 11,377 ton ile Ordu ikinci ve 5.744 ton ile Sivas üçüncü sırada yer almaktadır (Burucu, 2022).

Türkiye’de en yüksek kovan varlığına sahip Muğla ili 2021 yılında 3.820 ton üretim gerçekleşmiş olup önceki yıla göre % 37,4 oranında azalmıştır. Muğla ili çam balı üretiminde çok ciddi bir düşüş yaşanmıştır. Bu düşüşün sebepleri arasında çam balı üretiminde gerekli olan koşnil böceklerinin iklimsel değişimlerden olumsuz etkilenmesi ve 2021 yılında Muğla bölgesinde meydana gelen orman yangınlarından kaynaklı olarak koşnil böceklerinin popülasyonlarının azalması ve çam ormanlarının kaybolması etkili olmuştur. Tüm bu etkenler sonucunda Muğla ilinde çam balı üretiminde düşüş ve verim kayıpları yaşanmıştır. Türkiye kovan varlığı bakımından

lider konumda yer alan Muğla yukarıda sayılan sebeplerden dolayı bal üretiminde dördüncü sıraya gerilemiştir (Burucu, 2022).

Muğla bölgesinde yer alan ormanların eski gücüne kavuşturulması ve bal arısı popülasyonunda yaşanan ve yaşanabilecek düşüşlerin önlenmesi, önemli bir gen kaynağı olan Muğla ekotipinin koruma altına alınması ülkemiz açısından bakıldığında büyük önem taşımaktadır.

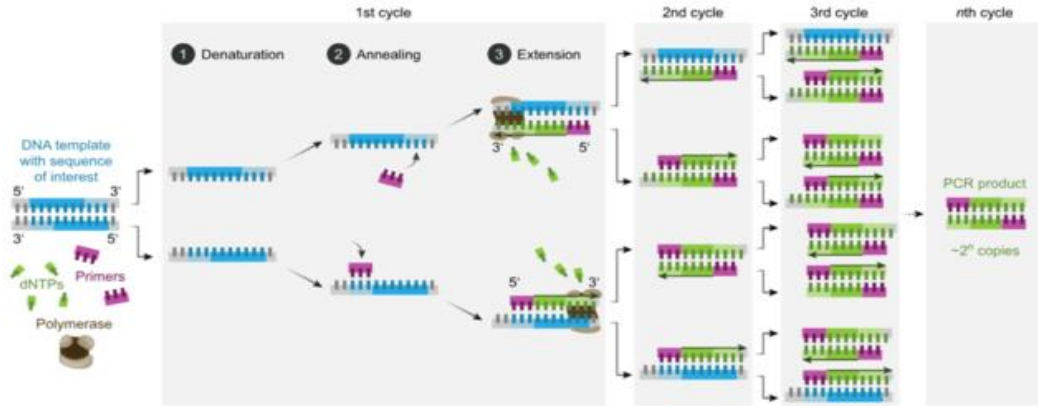
1.2. PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), DNA zinciri üzerinde belirli dizilerin enzimatik olarak in vitro olarak çoğaltılması esasına dayanan bir yöntemdir. Bu teknik 1985 yılında Karly Mullis tarafından keşfedilmiş ve Mullis 1993 yılında ‘Nobel Kimya’ ödülüne layık görülmüştür. PCR yüksek ölçüde duyarlı ve özgün bir teknik olup az miktarda DNA’ya ihtiyaç duyarak çoğaltma işlemini gerçekleştirir. PCR mekanizmasının amacı, özgün bir bölgenin dizisinin birçok kopya halinde çoğaltılmasına dayanır. PCR; gen klonlama, mutasyon teşhisi, adli tıp, mikrobiyoloji çalışmaları, türler arası polimorfizm belirlenmesi gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Kahya vd. 2013; Devrim ve Kaya, 2004; Ulu ve Cacina, 2020).

1.2.1. PCR Aşamaları

PCR mekanizması genel olarak üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 1.8.). Bunlar;

- DNA zincirini açılması (Denatürasyon)
- Primerlerin bağlanması (Annealing)
- Primer uzaması (Extension) (Devrim ve Kaya, 2004)



Şekil 1.8. PCR basamakları (Karatop, 2021)

Denatürasyon aşamasında kalıp DNA yüksek sıcaklığa maruz bırakılarak çift sarmal halinde bulunan DNA iplikleri birbirinden ayrılır. Yüksek sıcaklık 91-98 °C arasında değişiklik gösterir. Yüksek sıcaklıkta çift sarmallı DNA'nın hidrojen bağları kopar ve iki tane tek iplikli DNA molekülü meydana gelir (Kahya vd. 2013; Ulu ve Cacına, 2020). G+C oranı fazla olan dizilerde denatürasyon sıcaklığı daha fazla artırılabilir. Denatürasyonun tam olarak meydana gelmemesi durumunda verim düşer (Devrim ve Kaya, 2004).

Primer bağlanması aşamasında reaksiyon sıcaklığı 55-65 °C'ye düşürülür ve böylece primerler tek zincirli DNA molekülünün kendi baz dizilerine karşılık gelen sekanslarına bağlanırlar. Primer bağlanması için uygulanan ısının miktarı, primerlerin baz uzunluğuna ve içeriğine bağlıdır (Devrim ve Kaya, 2004).

Daha sonra primerlerin uzaması için sıcaklık 72 °C'ye çıkarılır ve DNA'ya bağlanan primerler polimeraz enzimi (Taq DNA Polimeraz) aracılığıyla DNA zincirini 5'→3' yönünde uzatır. PCR bu üç aşamanın 20-40 kez arasında tekrarlanmasıyla DNA'nın çoklu kopyaları elde edilir (Ulu ve Cacına, 2020). Döngü sayısı kalıp olarak kullanılan DNA'nın konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Çok fazla döngü olması sonucunda spesifik olmayan ürünler oluşturularak hatalara yol açabilir (Devrim ve Kaya, 2004).

1.2.2. PCR reaksiyonu optimizasyonu

PCR mekanizmasının optimum düzeyde çalışabilmesi için gerekli şartların ayarlanması gerekir. PCR şartlarının ayarlanamaması durumunda bazı problemler ortaya çıkabilir. Bunlardan bazıları ise;

- Örneklerde inhibe edici maddelerin bulunması
- Bileşenlerin miktarının yanlış kullanımı
- Belirlenen döngü sıcaklıklarının iyi ayarlanamaması
- Çevresel kontaminasyon riskleri
- Primer seçiminin doğru olmaması
- Genetik materyalin uygun izolasyon yapılamaması (Kahya vd. 2013)

1.2.3. PCR'ın Temel Bileşenleri

PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi için gerekli olan ve kullanılan bileşenler; kalıp DNA, oligonükleotid primerleri, dNTP karışımı, MgCl₂, DNA polimeraz enzimi ve PCR tamponudur (Türkyılmaz ve Esendal, 2002).

1.2.3.1. Kalıp DNA

PCR'da çoğaltılacak DNA bölümünü içeren kalıp bir DNA molekülüne ihtiyaç vardır. Bu DNA parçası amaca göre belirlenir. Kullanılan kalıp DNA'ya örnek olarak genomik DNA, mitokondriyal DNA, kloroplast DNA, çeşitli genler, plazmit ve faj DNA verilebilir. Hedef diziyi içeren kalıp DNA tek zincirli veya çift zincirli şekilde olabilir. Bunun yanında hedef dizi olarak RNA'da kullanılabilir (Devrim ve Kaya, 2004).

Primerler tek zincirli DNA baz dizilerine komplementer olarak bağlanırlar. Genel olarak primerler 15-30 nükleotid baz uzunluğu arasında bulunur. Çoğu primer % 50-60 oranında G+C bileşimine sahip olurken bunların nükleotid uzunluğu 18-28 arasında değişkenlik gösterir (Devrim ve Kaya, 2004). Primerler ticari olarak satın alınabildiği gibi çeşitli bilgisayar programları aracılığıyla primer tasarımı yapılabilir. (Devrim ve Kaya, 2004).

1.2.3.2. Polimeraz enzimleri

PCR işleminde DNA'nın çoğaltılması aşamasında Taq DNA polimeraz yaygın olarak kullanılır. Bu enzim 1987 yılında bulunmuş ve PCR mekanizmasının gelişmesinde önemli bir dönüm noktası yaratmıştır (Türkyılmaz ve Esendal, 2002). Enzim 5'→3' ekzonükleaz aktivitesine sahiptir (Devrim ve Kaya, 2004). Bu sebeple sentezin yönü

5'→3' şeklinde ilerler. DNA polimeraz enzimleri sentezi başlatabilmek için kalıp DNA üzerinde bulunan tamamlayıcı diziye bağlanan primerlere gereksinim duyarlar. Taq DNA polimeraz ısıya dayanıklı diğer enzimlere göre daha çok kullanılır. Bunun sebebi ise Taq DNA polimerazın her döngüde ortama ilave edilmesine gerek duyulmamasıdır. Bununla birlikte, yüksek sıcaklık ortamında primerler daha spesifik bir bağlanma gösterir (Türkyılmaz ve Esendal, 2002).

1.2.3.3. *Deoksinükleotid-Trifosfat(dNTPs) karışımı*

Deoksinükleotid- trifosfatlar; dTTP, dATP, dGTP, dCTP'dir. DNA sarmallarının sentezlenmesi için gerekli olan bileşenlerdir. Bileşenlerin 4'lü olarak birlikte kullanılmaları halinde reaksiyon daha güvenilir sonuçlar verir. Sentezlenen yeni DNA'nın sayısı, uzunluğu, döngü sayısı dNTPs karışımının miktarı ile yakından ilişkilidir (Devrim ve Kaya, 2004; Türkyılmaz ve Esendal, 2002).

1.2.3.4. *Magnezyum derişimi*

PCR reaksiyonu sırasında DNA polimeraz aktivasyonu için MgCl₂ 'ye ihtiyaç vardır. Magnezyum bileşenleri kofaktör olarak ortamda bulunur. PCR reaksiyonunun verimi ve özgülüğü için magnezyum iyonlarının ortamda bulunması gereklidir. Magnezyum iyonlarının ortamda daha az bulunması halinde az ürün oluşturur. Bunun aksine ortamda fazla miktarda magnezyum iyonlarının varlığı spesifik olmayan ürünlerinin oluşmasına sebep olup fazla miktarda ürün meydana gelmektedir. Yani magnezyum iyonları ile PCR verimliliği yakından ilişkilidir (Devrim ve Kaya, 2004; Kahya vd. 2013).

1.2.3.5. *PCR tamponu*

PCR reaksiyonunda kullanılan tamponlar; Tris, KCl, jelatin, Tween 20 ve bovin serum albumini (BSA) enzim stabilitesine etki eder (Kahya vd. 2013).

1.2.4. PCR kullanım alanları

PCR günümüzde birçok farklı amaç için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemlerden bazıları;

- Prenatal tanı
- Hastalık teşhisi
- Moleküler klonlama
- Adli Tıp
- Akrabalık teşhisi
- Bitki Islah çalışmaları
- Genetik çeşitlilik
- Polimorfizm çalışmaları (Devrim ve Kaya, 2004)

1.3. Markör Sistemleri

Markör, genom üzerinde bulunan özgün bir bölgenin tanımlanmasıdır. Arıların genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için çeşitli markör yöntemleri vardır. Bunlar morfolojik ve moleküler olmak üzere ikiye ayrılırlar (Yorgancılar vd. 2015). İlk yapılan çalışmalar genellikle morfolojik karakterler üzerine yapılmış olmasına karşın günümüzde gelişen moleküler biyoloji yöntemleri ile birlikte moleküler çalışmalar bir ivme kazanmıştır.

1.3.1. Morfolojik Markörler

Morfolojik markörler, bir canlının dış yapısından görülebilen özellikleri kapsar. Bunlar; kanat uzunluğu, göz rengi, anatomik yapı gibi karakterlerden oluşur. Basit Mendel kalıtımını gösteren özelliklerin araştırılması esasına dayanır. Genler hakkında bilgi birikiminin az olduğu dönemde bu markörler çok yaygın olarak kullanılmaktaydı. Morfolojik markörlerin gözlenmesi nispeten daha kolay bir yöntem olarak karşımıza çıkar. Fakat alel sayılarının azlığı sebebiyle kullanımı moleküler markörlere göre daha kısıtlıdır (Özşensoy ve Kurar, 2012).

1.3.2. Moleküler Markörler

Genomda meydana gelen bir değişikliğin popülasyonda herhangi bir farklılık meydana getirmesi polimorfizm olarak adlandırılır. Günümüzde tür içi polimorfizm tanımlanması ve varyasyonun tespit edilmesinde en yaygın kullanılan yöntem moleküler markörlerdir (Özşensoy ve Kurar, 2012). Moleküler markör veya moleküler işaretleyici, genom içerisinde bulunan bir gen bölgesi veya bir gen bölgesine bağlı bir DNA parçası olarak adlandırılır (Filiz ve Koç, 2011). Başka bir ifade ile genom içerisinde bulunan bir DNA diziliminin farklılığını ortaya koymaktadır. Morfolojik olarak birbirine çok yakın olan türler ve tür içi farklılıklar moleküler markör yöntemleriyle birbirinden ayrılıp tanımlanabilirler (Filiz ve Koç, 2011; Yorgancılar vd. 2015). Moleküler markörler; fizyoloji, taksonomi, genetik mühendisliği, popülasyonlar arası ve popülasyon içi çeşitlilik seviyesinin belirlenmesi, tür tanımlanması, koruma programlarının çeşitlendirilmesi, bitki ıslahı ve haritalama çalışmaları için kullanılır (Güz ve Kılınçer, 2012). Moleküler markörler biyokimyasal markörler ve DNA markörleri olarak ikiye ayrılır (Güz ve Kılınçer, 2012). Biyokimyasal markörler olarak allozim ve izoenzimler kullanılmaktadır. DNA markörleri kullanılmadan önce tür içi ve türler arası genetik varyasyon çalışmalarında elektroforetik enzim çalışmaları yaygın olarak kullanılmıştır (Güz ve Kılınçer, 2012).

PCR keşfinden sonra moleküler markör sistemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler önceki yöntemlere göre polimorfizmi daha yüksek, ucuz, basit ve hızlı yöntemler olarak karşımıza çıkmıştır. PCR temeline bağlı olan moleküler markörler arasında; oğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), Basit Dizi Tekrarları (SSR), Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP), Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) olmak üzere çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

PCR temelli olmayan ve hibridizasyon temeline göre geliştirilen moleküler markör yöntemi ise, Kesilen Parçaların Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)'dir. RFLP markörleri kodominant özellik gösteren, yüksek polimorfizm oranına sahip olan ve tekrarlanabilirliği yüksek bir tekniktir. Dezavantajı ise fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması ve maliyetinin yüksek olmasıdır. RFLP, popülasyon ve tür içi genetik çeşitlilik, haritalama, akraba türlerin incelenmesi çalışmalarında kullanılmaktadır (Sabır vd. 2008; Filiz ve Koç, 2011; Özşensoy ve Kurar, 2012).

RFLP moleküler markör tekniği bal arıları çalışmalarında kullanılmış ve bal arılarında çalışılan lokusların az olması sonucunda yapılan çalışmaları sınırlandıran bir teknik olmuştur (Okumuş vd. 2012).

DNA markör temeline dayanan RAPD tekniği kullanılan ilk yöntem olmuştur. Kromozom üzerinde 300'den fazla lokus tanımlanarak haritalandırılması yapılmıştır. Fakat bu yöntem dominant kalıtım göstermesi ve tekrarlanabilirliğinin düşük seviyede olması nedeniyle kullanımı sınırlı kalmıştır (Okumuş vd. 2012). AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi), RFLP tekniği ile PCR temelli teknikleri birleştiren bir yöntemdir. RFLP moleküler markör tekniği ile kıyaslandığında AFLP analizi RFLP'ye göre daha kolay olması ve daha az DNA'ya ihtiyaç duyması sebebiyle daha avantajlı bir yöntemdir (Filiz ve Koç, 2011). DNA üzerine yapılan çalışmalarla birlikte DNA'da bulunan bazların ve dizilişlerinin birbirini ardışık olarak tekrarlanmakta olduğu ortaya konulmuştur (Ağaoğlu vd. 2010).

SSR (Basit Dizi Tekrarları), 1-6 baz çifti arasında, genomda rastgele dağılışı gösteren, polimorfik özellikte kısa DNA dizileri olup mikrosatellit olarak da isimlendirilirler. SSR, kodominant kalıtım gösteren, genom içerisinde bol ve dağınık halde bulunan, tekrarlanabilirliği yüksek, bilgilendirici, yüksek polimorfizm ve yüksek mutasyon oranına sahip olan bir markör sistemidir (Ağaoğlu vd. 2010; Filiz ve Koç, 2011; Yorgancılar vd. 2015). Dezavantajları ise, mikrosatellit bölgelerinde bulunan mutasyon oranının yüksek olması nedeniyle primer bağlanma bölgelerinde değişikliğe yol açıp anlamsız aleller oluşabilmesidir. Bunun sonucunda yanlış yorumlamaya sebep olur. Ayrıca genom bilgisi ve dizilim analizine ihtiyaç duyması nedeniyle maliyetli bir yöntemdir. Mikrosatellitler, popülasyon genetiği çalışmaları ve gen kaynaklarının korunmasında yaygın olarak kullanılan bir markör sistemidir (Ağaoğlu vd. 2010; Yorgancılar vd. 2015).

ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) tekniği ile ilgili ilk çalışmalar 1994 yılında başlamıştır (Sabır vd. 2008). ISSR moleküler markör tekniğinde ikili, üçlü, dörtlü ve beşli tekrar eden nükleotidlere sahip olan primerler kullanılmaktadır. Bu teknik kullanılan primerlerle iki mikrosatellit ara bölgesinin PCR ile çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünler etidyum bromür ile boyanarak agaroz jelde yürütülür ve sonrasında analiz edilir (Filiz ve Koç, 2011). Primerlerde GC oranı yüksek miktarda bulunur. Bunun sonucunda ise yüksek bağlanma sıcaklığına sahip olup kararlı bağlanma sağlar. Primerlerin sahip olduğu

DNA diziliminde yer alan baz oranlarına göre bağlanma sıcaklığı belirlenir (Filiz ve Koç, 2011). PCR sonucunda elde edilen ürünler genellikle 200-2000 baz çifti uzunluğundadır. RAPD'e çok benzer bir yöntemdir fakat primer bağlanma sıcaklıklarının yüksek olması ve kullanılan primerlerin mikrosatellit bölgelerinden çoğaltılmış olmasıyla birlikte RAPD yönteminden ayrılır. Ayrıca, dominant bir markör yöntemidir ve dizi bilgisine ihtiyaç duymadan primer dizaynı yapılabilir (Sabır vd. 2008; Filiz ve Koç, 2011). ISSR markörlerinin uygulanması kolay ve kullanımı hızlı olması sebebiyle zamandan tasarruf sağlar. Ayrıca düşük maliyete sahip olması sebebiyle tekrarlanabilirliği yüksektir. Yüksek polimorfizm gösteren, yeterli bilgi veren çalışmalarda kolaylık sağlayan bir yöntemdir. RAPD markörlerine göre daha hassas, AFLP yöntemine göre düşük maliyetli, SSR yöntemine göre primer sentezlenmesi için sekans bilgisine ihtiyaç duymayan bir teknik olması ile birlikte birçok avantajı ile öne çıkan bir markör sistemidir. Tüm bu avantajlarının yanında dominant bir markör tekniği olması nedeniyle heterozigotluk ayrımının yapılamaması bu tekniğin bir dezavantajıdır. ISSR markörleri; filogenetik analizler, gen haritalama, genetik çeşitlilik, evrim biyolojisi gibi birçok farklı alanda kullanılan etkili bir tekniktir (Filiz ve Koç, 2011; Yorgancılar vd., 2015)

1.4. Literatür Çalışmaları

Settar (1983), Ege Bölgesi'nde yer alan 5 farklı lokaliteden 73 bal arısı örneğini 12 morfolojik karakter kullanarak araştırmıştır. Araştırma sonucunda çalışılan popülasyonlar üzerinde çok farklılıklar olmadığını ve arıların hepsinin bir popülasyona ait olduğu gözlemlenmiştir. Bu bölgede bulunan arıların Kafkas ve İtalyan arı ırkları arasında bir geçiş popülasyonu karakterinde olduğu bildirilmiştir.

Kandemir ve ark. (1995), Ankara'da bulunan 43 arıcıdan aldığı örneklerle 6 farklı enzim sistemi kullanarak Orta Anadolu bal arısı popülasyonlarının allozimlerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, 6 enzim içerisinde 4 enzimin polimorfik özellik gösterip varyasyon sağladığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca bu bölgede bulunan arıların saf Anadolu arısı olmadığını gezginci arıcılık faaliyetleriyle gen akışı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Smith ve ark. tarafından (1997), Türkiye’de 12 bölgeden toplanan bal arılarının mitokondriyal genomları araştırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre tüm örnekler Orta doğu soyuna ait olduğu görülmüştür. Trakya’dan alınan örneklerde sadece *Apis mellifera carnica*’ya ait restriksiyon bölgesi bulunmuştur.

Kandemir ve ark. (2000), Türkiye’de bulunan bal arısı popülasyonlarında genetik çeşitliliği belirlemek için altı enzim sistemi çalışmışlardır. Morfometrik varyasyonun kapsamını belirlemek için on morfometrik karakter ölçülmüştür. Altı enzim sisteminden dördünün 16 allozimli polimorfik olduğu bulunmuş ve ortalama heterozigotluk (H_o) 0.072 ± 0.007 olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar morfometrik ve elektroforetik değişkenlerin bal arısı popülasyonlarını ayırt etmede eşit derecede etkili olduğunu bildirmişlerdir. İzoenzimlerde nadir alellerin gözlemlenmesi, yüksek genetik çeşitliliğin tespiti ve bilinen dört alt türün varlığı, Anadolu coğrafyasının Yakın Doğu içerisinde yer alan bal arıları için bir genetik merkez olduğu iddiasının bu çalışmayla desteklendiğini belirtmişlerdir.

Sıralı ve ark. (2003), Harran ovasında yer alan 12 farklı lokasyondan ve toplamda 36 koloniden toplanan arıların 16 morfolojik karakterini varyans, faktör ve diskriminant yöntemleri kullanarak analiz etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda ölçülen morfolojik karakter bakımından lokasyonlarda farklılıklar bulunmuştur. Yerel arı örneklerinin morfolojik karakterler bakımından incelendiğinde *Apis mellifera anatoliaca* alttürüne benzerlik göstermediği ve karakterler açısından *Apis mellifera syriaca* ve *Apis mellifera meda* alttürlerine benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Dolayısıyla morfolojik karakterler açısından Harran ovasında farklı lokasyonlarda bulunan arılar iç içe geçmiş bir küme oluşturmuştur.

Karacaoğlu (2004), Ege bölgesinde 3 farklı lokasyondan *Apis mellifera anatoliaca*’ya ait 5 koloni, Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi arılığında 6 koloni ve Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nden alınan 4 adet *Apis mellifera ligustica* İtalyan melezi arıları morfolojik özellikleri açısından araştırmıştır. Toplamda 25 koloniden alınan işçi arılarda 28 morfolojik karakter saptamıştır. Çalışma sonucunda kolonilerin tamamı kendi grubuna girmiş ve her grup ayrı bir küme oluşturmuştur. Çok değişkenli varyans analizlerinin sonucunda Bodrum ilçesinden alınan örneklerin diğer bütün arılardan en uzakta bulunan grup olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda göçer arıcılık faaliyetleri yaygın olmasına karşın Ege arıları hala bölgenin ekotipi özelliğini koruduğu sonucuna varılmıştır.

Kandemir ve ark. (2005), tarafından Türkiye, Avusturya ve Azerbaycan'dan toplanan arı örneklerinin morfolojik, elektroforetik varyasyonları ve alttürleri araştırılmıştır. 6 enzim sisteminden 4 enzim toplamda 14 allozim ile polimorfik olduğu gözlemlenmiştir. Ayırışım fonksiyon analizi ile 10 morfolojik karakter analiz edilmiş, 4 tane grup açığa çıkmıştır. Elektroforetik küme analizi de benzer sonuçlar vermiştir.

Paplauskienė ve ark. (2006), *Apis mellifera caucasica* ve *Apis mellifera carnica* arı alttürlerinin genomik DNA analizlerini 11 ISSR primeri ile araştırmışlardır. PCR analizi sonucunda 60 adet bant elde edilmiş ve bunların % 66.7' sinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Farklı arı ırk ve hatlarının DNA profillerinde üretilen bant sayısı 2 ile 10 arasında değişiklik göstermiştir ve boyutları 350-3000 bp arasında değişmektedir.

Çınar (2006), Muğla, Hatay, Kırklareli ve Ankara olmak üzere 196 kovandan 392 bal arısı toplamış ve 25 morfolojik karakter ile ölçüm yapmıştır. Temel öğeler analizi (PCA) sonucuna göre ilk üç temel öğe toplam varyasyon miktarı % 36.28 olarak bulunurken ayırışım fonksiyonel analiz (DFA) sonucunda ise ilk 2 eksen toplam varyasyon miktarı % 38.05 bulunmuştur. Bunun sonucunda 4 farklı ilden alınan örnekler arasındaki varyasyon açık bir şekilde gösterilmiştir. Muğla bal arılarının ise diğerlerinden ayrıldığını gözlemlenmiştir.

Dall'olio ve ark. (2006), *A. m. ligustica*'nın İtalya yarımadasında ve Sardinia'da sekiz polimorfik mikrosatellit lokusuyla genetik değişkenliğini araştırmışlardır. *A. m. mellifera*, *A. m. carnica* ve Buckfast üreme hattından alınan örneklerin genotipleri ile karşılaştırılmıştır. *A. m. ligustica* popülasyonları içinde ve arasında heterozigotluk görülmesine rağmen genetik çeşitlilik saptanmamıştır. Filogenetik analizler sonucu, *A. m. ligustica*'nın, muhtemelen göçer arıcılık ve büyük ölçekli ticari ana arı yetiştiriciliği gibi yoğun arıcılık uygulamalarının bir sonucu olarak büyük bir popülasyona benzediğini doğrulamıştır. Yabancı alellerin hem saf hem de ticari *A. m. ligustica* popülasyonlarına girişi mikrosatellit analizi ile tespit edilmesi gelecekteki biyoçeşitliliğin korunması ve diğer kontrollü yetiştirme programları için bir kaynak sağladığını belirtmişlerdir.

Bodur ve ark. (2007), Türkiye'den 11 ve Kıbrıs'tan 1 bal arısı (*A. mellifera*) popülasyonunun genetik yapısını 9 mikrosatellit işaretleyici lokus kullanarak analiz

etmişlerdir. Çalışılan popülasyonlar için heterozigotluk düzeyleri, popülasyon başına ortalama alel sayıları hesaplanmıştır. Beklenen heterozigotluk düzeyleri 0,54 ile 0,68 arasında değişkenlik göstermiştir. Popülasyonlar arasında genetik çeşitlilik seviyesi fazla miktarda gözlemlenmiştir. Çok sayıda farklı alel ve farklılaşmış bal arısı popülasyonlarının varlığı Anadolu'nun Ortadoğu bal arıları için bir genetik merkez olduğu görüşüyle tutarlılık göstermiştir.

Kekeçoğlu ve ark. (2007), Türkiye bal arısı biyoçeşitliliğini belirlemek amacıyla iki morfometrik karakter kullanarak morfometrik çalışma yöntemlerinin etkinliğini belirlemek için araştırma yapmışlardır. Türkiye'nin farklı lokasyonlarında bulunan 55 arılıkta bulunan işçi örnekleri toplanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarında morfometrik karakter olarak kubital index ve ön kanat uzunluğu seçmişlerdir. Yapılan çalışma önceki çalışmalara paralel sonuç vermiş ve klasik morfometrik karakterlerin hala geçerliliğini sürdürmekte olduğu sonucuna varılmıştır. Fakat klasik yöntemler modern geometrik morfometrik metodlar ile değiştirilmesi ile daha iyi sonuçlar vereceği ve daha etkin bir yöntem olabileceğini göstermiştir.

Al-Otaibi (2008), Suudi Arabistan'da üç bal arısı ırkını temsil eden 11 koloninin genetik değişkenliğini araştırmıştır. *Apis mellifera yementica*, *A. m. carnica* ve Karniyol melezleri bu çalışmada kullanılmıştır. Bu koloniler, Unit of King Saud University Arı Araştırma Birimi'nin gen havuzundan toplanmıştır. Kullanılan 10 ISSR primeri, 34 polimorfik bant üretmiş ve her primer için ortalama heterozigotluk 0.244 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler, incelenen 11 koloninin çok çeşitli ırklardan geldiğini ortaya koymuştur ve tespit edilen lokusların çoğunun polimorfik olduğunu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu çalışma kullanılan ISSR primerlerinin, incelenen 11 koloninin parmak izini ortaya koymak için yeterli olduğunu açıkça göstermiştir. UPGMA yöntemiyle dendogram oluşturulmuş ve birinci grup yerli koloniler, ikinci grup karniyol kolonileri ve üçüncü grup hibrit grubu olup iki grup arasında yer almıştır. Dendogram sonucunda ISSR markör tekniğinin bu çalışmada kullanılan bal arısı kolonileri arasındaki ve içindeki genetik değişkenliği tespit etme kabiliyeti açıkça gösterilmiştir.

Kekeçoğlu ve ark. (2010), tarafından yapılan çalışmada ülkemizde yer alan 56 farklı bölgeden toplanan bal arılarını 12 morfometrik karakter kullanarak analiz etmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda, çalışılan bölgelerin farklı koordinatlarına göre yayılan yedi farklı ekotip oluşturduğu belirlenmiştir. UPGMA dendogramı ile

incelenen kolonilerin Orta Anadolu'da yer alan *A. m. anatoliaca*, Kuzey Anadolu'da yer alan *A.m. caucasica*, Güney ve Güneydoğu Anadolu'da yer alan *A. m. meda* ve Türkiye'nin Avrupa kısmında yer alan *A. m. carnica* olmak üzere dört farklı bölgesel grup olarak kümelendiğini gösterilmiştir.

Yücel ve ark. (2011), tarafından yapılan çalışmada Muğla ekotipinin ve İtalyan melezi bal arılarının Ege bölgesi koşulları altında belirli özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu özellikler; hırçınlık, uçuş aktivitesi, kuluçka üretimi, koloni popülasyon gelişimi ve bal verimidir. Araştırma sonucunda koloni popülasyon gelişimi ve kuluçka üretim etkinliği üzerine genotipin etkisi çok önemli düzeyde farklılık göstermemiştir. İtalyan melezi arılar Muğla ekotipine göre uçuş etkinlikleri ve bal verimlilikleri bakımından daha yüksek oranda bulunmuştur. Fakat Muğla ekotipinin ise çevresel özelliklerinin daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

Tunca ve ark. (2011), Türkiye'de bulunan 25 ilde 360 koloniden toplanan 720 işçi arının genetik çeşitliliğini değerlendirmek için 20 RAPD primeri kullanmıştır. Yirmi primerden 10'u 105 tekrarlanabilir, parlak bant üretmiş ve hepsi polimorfik özellik göstermiştir. 0.035 ila 0.175 arasında değişen ortalama genetik çeşitlilik değerleri, farklılaşma katsayısı 0.060 ila 0.441 olarak tahmin edilmiş ve özel bant desenleri yüksek düzeyde bir genetik varyasyonu yansıttığı gözlemlenmiştir. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonucuna göre toplam genetik varyasyon popülasyonlar arasında % 60, popülasyon içinde ise % 40 olarak hesaplanmıştır. Küme analizi, Türkiye'nin Trakya bölgesi ve kısa mesafedeki bir adanın bal arılarının bir arada kümelendiğini göstermiştir. Mitokondriyal DNA analizine göre Afrika soyuna ait olan Güneydoğu Anadolu'dan iki popülasyon ayrı bir küme oluşturmuş ve popülasyonların geri kalanı kuzey Akdeniz koluna yani C soyuna ait bulunmuştur. Sonuçlar, Türkiye'deki bal arısı popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin RAPD belirteçleri kullanılarak belirlendiğini göstermiştir.

Ceksteryte ve ark. (2012), Litvanya'da bal arısı alt türlerinin genetik değerlendirmesini gerçekleştirmek için ISSR belirteçleri kullanarak *A. m. carnica*'nın Litvanya'da yetiştirilen iki hattı, Çek Cumhuriyeti ve Slovenya'dan getirilenlerle ve ayrıca Kafkasya'dan (*A. m. caucasica*) ve yerel Buckfast melezlerinden getirilen bir alt türle karşılaştırılmıştır. UPGMA yöntemine dayalı dendrogram, dört alt küme oluşturmuştur. Litvanya'da yetiştirilen *A. m. carnica* soylarından biri, diğer *A. m.*

carnica soylarından ayrı kümelenmiştir. Filogenetik ağaçta, *A. m. caucasica* ve Buckfast melezlerini içeren grup, *A. m. carnica*'dan farklı bir dal oluşturmuştur.

Karakaş (2013), Türkiye'nin Kırklareli, Yığılca, Muğla, Hatay ve Artvin illerinden 24 koloniden toplam 237 işçi arı örneğini incelemiştir. Muğla hariç 4 ilden sabit arılıklardan örnekler alınırken Muğla ilinden hem sabit hem de göçer arılıklardan örnekler toplanmıştır. Bütün popülasyonlar 4 ISSR primeri ile taranmıştır. Sonuçlara göre en uzak sabit popülasyonlar Kırklareli ve Artvin olup bu değer 0.612'dir. En yakın sabit popülasyonlar ise Muğla ve Yığılca olarak bulunup bu değer 0.362'dir. Muğla sabit ve göçer arı örneklerine ait ikili *PhiPT* değeri 0.042'dir. Genetik farklılaşmanın göreceli değeri ise 0.0351 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre Türkiye'de bulunan bal arısı popülasyonlarının yapısı korunmaktadır.

Kükreler (2013), 6 coğrafik bölgeden toplanan 250 arı örneğinin genetik çeşitliliğini araştırmıştır. Sabit ve göçer arıcılık mikrosatellit işaretleyiciler temelinde karşılaştırılmıştır. 4 adet multipleks tepkimede toplamda 29 mikrosatellit işaretleyici kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında kümeler arasındaki gen akışının artış gösterdiği belirlenmiş olmasına rağmen genetik yapı büyük oranda korunmaya devam etmektedir. Analizler sonucunda 4 coğrafik alttürün kendi coğrafi dağılım alanlarına göre kümelenme gösterdiği bildirilmiştir.

Shouhani ve ark. (2014), Irak bölgesinde bulunan 5 şehirden alınan bal arısı örneklerini ISSR markörü ile araştırmışlardır. Sonuçlara göre elde edilen bantların % 25'inin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Sonuçlara göre bant uzunluklarının 250 ve 1000 bp aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Küme analizi sonucu arı ırkları iki ana gruba ayrılmıştır. İlk grupta Huzistan, Kürdistan, Merkezi, İsfahan yer alırken ikinci grupta Fars yer almıştır.

Rahimi ve ark. (2016), farklı İran bal arısı popülasyonlarının genetik çeşitliliğini ISSR belirteçleri kullanarak değerlendirmiştir. İran'da bulunan Gülistan, Mazenderan, Gilan, Batı Azerbaycan, Doğu Azerbaycan, Erdebil 30 farklı jeoklimatik lokasyonda altı farklı popülasyondan 108 genç işçi bal arısı toplanmıştır. DNA örnekleri 10 ISSR primeri ile taranmıştır. Farklı bal arısı popülasyonlarında üretilen bant sayısı, 3 ila 10 arasında bulunmuştur ve 150 ila 1500 bp arasında değişim göstermiştir. Kullanılan 10 ISSR primeri, 40 polimorfik bant üretmiş ve her primer için ortalama heterozigotluk değeri 0.266 olarak hesaplanmıştır. UPGMA

yöntemiyle iki alt kümeye ayrılmışlardır. Birinci grupta Gülistan, Mazenderan, Gilan yer alırken ikinci grupta Erdebil, Batı Azerbaycan, Doğu Azerbaycan yer almıştır. Sonuç olarak ISSR markör tekniği bal arısı popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmek için başarılı bir yöntemi olduğu belirlenmiştir.

Kambur ve ark. (2017) çalışmalarında, Türkiye’de ticari ana arı ve göçer arıcılığın sonucu olarak biyoçeşitlilikte bir azalma söz konusu olup olmadığı araştırmıştır. Bu doğrultuda Türkiye’nin 32 ayrı lokasyonundan toplanan arı örnekleri ile geometrik morfometrik analiz yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre önceki çalışmalarda bulunan biyoçeşitliliğin korunamadığı gözlemlenmiştir. UPGMA sonuçları incelendiğinde Isparta, Ardahan, Zonguldak, Kahramanmaraş birbirinden ve tüm popülasyonlardan ayrı bir şekilde kümelenme göstermiştir. Ayrıca Iğdır, İzmir, Van, Muğla, Bilecik, Balıkesir, Çanakkale ve Kırklareli birlikte bir grup oluşturmuştur. Bu sonuçlar önceki literatür bilgileriyle farklılık göstermektedir. Araştırmacılar farklı ırkları temsil eden örneklerin üst üste çakışmasının Türkiye’deki bal arısı biyoçeşitliliğinin azalmasının bir sonucu olduğunu bildirmişlerdir.

Ahmad (2018), ISSR markörlerini Irak bal arısı popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri araştırmak için kullanmıştır. Çalışmada, 5 farklı şehirden örnek alınan 100 örnek 10 ISSR primeri kullanılarak taranmıştır. Primerler 50 polimorfik bant üretmiş ve bant sayısı 8-12 (ortalama 9.62) arasında değişkenlik göstermiş ve polimorfik lokus % 73.6 olarak belirlenmiştir. Popülasyonlar için genetik çeşitlilik, Kafri popülasyonunda 0.39 ile Erbil popülasyonunda 0.47 arasında değişim göstermiştir. Toplam genetik (Ht) 0.47, popülasyon içi genetik çeşitlilik (Hs) 0.44 olarak hesaplanmıştır. Genetik farklılaşma katsayısı 0,085 olarak bulunmuştur. Shannon sabiti ise 4,98 olarak tespit edilmiştir. Filogenetik ağaç iki dala ayrılmış ve ilk dalda Dohuk, Süleymaniye ve Erbil yer alırken ikinci dal içerisinde ise Kerkük ve Kafri yer almıştır. AMOVA analizi sonucuna göre popülasyon içi genetik çeşitlilik % 95 olarak bulunurken popülasyonlar arası genetik çeşitlilik % 5 olarak bulunmuştur. Bal arısı popülasyonlarının heterozigotluk değerleri, shannon sabiti, bal arısı popülasyonlarının kesin olmayan coğrafi yapısından kaynaklanabilecek minimum düzeyde bulunmuştur.

Kekeçoğlu (2018), *A. mellifera* alt türlerinden *A. m. caucasica*, *A. m. carnica*, *A. m. syriaca* ve *A. m. anatoliaca*’nın 2 ekotipi olan Yığılca ve Muğla arılarının morfometrik deformasyonu araştırmıştır. Bu arılar varyasyon üzerindeki hibritleşme

potansiyelini araştırmak için 2008 yılında itibaren bir arada bulunmaktadır. Bal arısı örneklerine geometrik morfometrik yöntem uygulanmıştır. Bulgular, ortak arılığın bal arısı popülasyonunun ve kendi doğal popülasyonlarından olanların, iki farklı kümeleme oluşturduğunu göstermiştir. Ortak arılıkta tutulan farklı bal arısı ırkları arasında melezleşme ve rastgele çiftleşme, morfometrik özelliklerin önemli bir kısmının kaybolmasına yol açmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Oskay ve ark. (2019), Türkiye’de bulunan 18 ilden toplamda 250 örnek 30 mikrosatellit belirteç kullanarak genetik tanımlama çalışması yapmıştır. Sonuçlara göre 4 ayrı ırk 4 ayrı kümeleme yapmıştır. Muğla iline ait örnekler, Anadolu’nun diğer bölgelerinde de yayılış gösteren *A. m. anatoliaca* alttürüne ait diğer örnekler ile aynı grupta kümelenmiştir. Göçer arıcılık yapanların örnekleriyle sabit arıcılık yapan arıcıların örneği birbirinden farklılık göstermiştir. Göçer arıcılara ait kolonilerin daha yüksek melezlenme oranına sahip olduğu görülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre 30 mikrosatellit lokusuna ait aleller içerisinde sadece Muğla ilinde gözlemlenen alellerin varlığı ortaya konmuştur.

Ilyasov ve ark. (2020), *A. mellifera*’nın modern taksonomik modelini açıklamıştır. Çalışmaları sonucunda otuz üç farklı bal arısı alt türü olduğunu bildirmişlerdir. Afrika’da 11 alt tür, Batı Asya ve Orta Doğu’da 9 alt tür ve Avrupa’da 13 alt tür dağılış göstermiştir. Tüm bal arısı alt türleri, 5 evrimsel soya bölünmüştür. Bunlar; soy A (10 alttür) ve onun alt-soyu Z (3 alttür), soy M (3 alttür), soy C (10 alttür), soy O (3 alttür), soy Y (1 alttür), soy C veya O (3 alttür) olarak belirlenmiştir.

Karabağ ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, Muğla, Kırklareli, Artvin, Düzce, Hatay’dan alınan 4 bal arısı alttürünün genetik çeşitlilikleri ve filogenetik ilişkilerini otuz mikrosatellit belirteç kullanarak belirlenmesini amaçlamışlardır. Popülasyonlar arasında bulunan genetik mesafe 0.30-0.70 arasında değişkenlik göstermiştir. Genetik varyasyon analizleri sonucunda ise popülasyonlar arasında % 8.96 iken, popülasyon içerisinde bulunan bireyler arasında % 44.9 olarak hesaplanmıştır.

Arslan (2021), Türkiye bal arısı popülasyonlarının analizinde ve ayırt edilmesinde ISSR markörlerinin potansiyelini değerlendirmiştir. Bal arılarının dört alt türü ve iki ekotipine ait işçilerin genomik DNA örnekleri, 5 ISSR primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. Temel bileşen ve popülasyon yapısı analizleri, ISSR yönteminin dört farklı bal arısı alt türünü başarılı bir şekilde tanımladığını ve ayırt ettiğini, ancak

Anadolu alt türlerinin iki ekotipinin birbirinden ayırt edici bir şekilde ayrılmadığını ortaya koymuştur. Yani Muğla ve Yığılca ekotipi aynı grupta kümelenmiştir. Bu da farklı coğrafik koşullarda yaşayan iki ekotipin genetik olarak oldukça benzer olduklarını göstermiştir. Bu çalışma, Türkiye bal arısı alt türlerindeki genetik varyasyonların analizinde ISSR markörlerinin mikrosatellit ve RAPD gibi diğer belirteçlere kıyasla yüksek varyasyon gösteren basit ve düşük maliyetli bir alternatif olabileceğini göstermiştir.

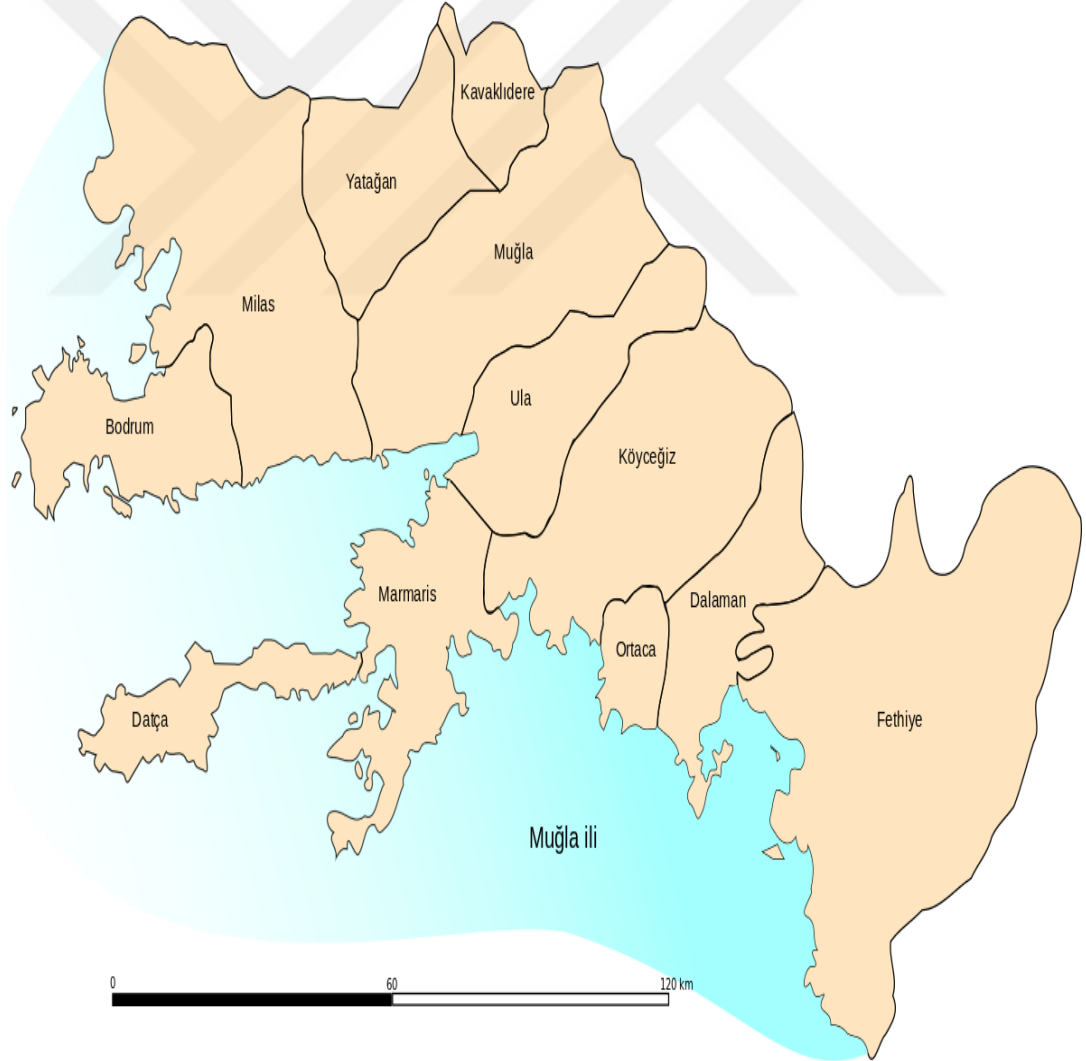
1.5. Çalışmanın Amacı

Anadolu bal arısı ülkemizde geniş bir alanda yayılış gösteren ve çeşitli ekolojik şartlara uyum sağlayan birçok ekotipi içerisinde barındırır. Bunlardan birisi ise Muğla ekotipidir. Ülkemizde yapılan göçer arıcılık uygulamaları ve ticari ana arı satışları gibi çeşitli nedenlerden dolayı ülkemizde zengin bir genetik varyasyon kaynağı olan bal arılarının genetik çeşitliliğinin azaldığı bilinmektedir. Bal arıları sağladığı ürünler ve en önemli tozlayıcıların başında gelirken doğal floranın korunmasında kilit rol oynamaları sebebiyle bu türün koruma altına alınması son derece önemlidir. Bir türün korunabilmesi, o türe ait olan popülasyonlarının neden azaldığının ortaya konması ve gerekli önlemlerin alınması ile mümkün olmaktadır. Bu çalışmanın temelini oluşturan *A. m. anatoliaca*'nın Muğla ekotipinin ülkemizde şimdiye kadar genetik çeşitliliğini ortaya koymaya yönelik çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürdeki çalışmalar daha çok *A. m. anatoliaca*'nın morfolojik karakteri üzerine yapılmıştır. Bu sebeple, bu çalışmada *A. m. anatoliaca*'nın Muğla ekotipinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla moleküler belirteç olan ISSR tekniği kullanılması amaçlanmıştır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Arazi Çalışmaları

Bu çalışmada Muğla ili içerisinde yer alan 13 ilçede bulunan farklı kovanlardan örnekler toplanmıştır (Şekil 2.1.). Her bir ilçede belirlenen lokasyonlardan 10 ayrı kovandan kovan başına 5 adet olacak şekilde arılar daha önceden etiketlenmiş olan plastik kaplara konulmuştur (Çizelge 2.1.). Arazi çalışmasında temin edilen örnekler plastik kaplar içinde canlı bir de Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Ekoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Örnekler DNA izolasyonu yapılana kadar -20 °C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. *A. m. anatoliaca* popülasyonlarının toplandığı lokaliteler

Çizelge 2.1. Örneklerin toplandığı lokasyonlar

Lokasyon	Örnek Alınan Kovan Sayısı	Toplanan Birey Sayısı
Bodrum-Kısırlar	10	50
Kavaklıdere-Nebiler	10	50
Milas-Korucuk	10	50
Seydikemer-Asarcık	10	50
Köyceğiz-Kavakarası	10	50
Dalaman-Gürköy	10	50
Ortaca-Güzelyurt	10	50
Fethiye-Göcek	10	50
Menteşe-Merkez	10	50
Ula-Merkez	10	50
Datça-Merkez	10	50
Marmaris-Orhaniye	10	50
Yatağan-Merkez	10	50

2.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, herbir ilçeden örneklenen ve her kovandan birer işçi arı örneği kullanılarak Lifton DNA izolasyon protokolüne göre gerçekleştirilmiştir (Bender vd. 1983). Bu amaçla öncelikle arılar etiketlenmiş poşetlerden çıkarılmış ve her arı bir kovana temsil edecek şekilde sırasına göre filtre kâğıdının üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 2.2.). Arıların sadece göğüs kısmı kalacak şekilde baş, karın ve kol kısımları makas yardımıyla şekilde kesilmiştir.



Şekil 2.2. Bodrum lokasyonuna ait arı örnekleri

2.3. DNA İzolasyon Protokolü

- Arılar eppendorf tüplerine yerleştirilir. Üzerine 400 µl Lifton ve 100 µl SDS eklenir. Üzerine solüsyon eklenen arı örnekleri ezilir ve 65 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyondan çıkan örnekler 5-10 dakika soğumaya bırakılır. Örnekler soğuduktan sonra her bir örnek üzerine 2 µl proteinaz K eklenir ve alt üst yapılır.
- Örnekler 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakılarak, 10 dakikada bir 20 saniye vorteks yapılır.
- Üzerlerine 500 µl (0,6 M) potasyum asetat eklenir. İyice karıştırılıp ve 1 saat buzda bekletilir.
- Örnekler 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılarak üstte kalan faz yeni tüplere aktarılır.
- Üzerlerine 500 µl fenol ve 2 damla kloroform-izoamil alkol eklenerek iyice karıştırılır.
- 14.000 rpmde 5 dakika santrifüj yapılarak üst faz hızlı bir şekilde yeni tüplere aktarılır.
- 250 µl fenol ve 250 µl kloroform-izoamil alkol eklenir ve ardından 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılır.
- Üst faz yeni tüplere aktarılır ve ardından 500 µl KiA eklendi. 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılır.
- Üst faz yeni tüplere aktarılarak üzerlerine 10 µg/µl Rnase'dan 2 µl eklenir ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakılır.

- Üzerlerine 750 µl %1 00'lük alkol eklenerek 14.000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapılır.
- Santrifüjden alınan örneklerin süpernatant kısmı dökülerek üzerlerine 750 µl % 80'lik alkol eklenir, iyice karıştırıldıktan sonra 14.000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapılır. Süpernatant kısımları hızlı bir şekilde atılarak pellet kurumaya bırakılır.
- 30 dakika içerisinde kuruyan örneklerin üzerine 50 µl dH₂O eklenerek -20 °C'ye kaldırılır.

DNA izolasyonundan sonra elde edilen arı DNA örnekleri etidyum bromür ile boyanarak % 1'lik agaroz jelde 100 V akımda 1 saat yürütülerek elde edilen DNA'ların varlığı test edilmiştir.

2.4. ISSR Primerlerinin Taranması

Çalışmada toplamda 16 ISSR primeri ile tarama yapılmıştır. Tarama sonucunda en polimorfik bant üreten 10 primer seçilerek PCR çalışmaları yapılmıştır. Çizelge 2.2.'de kullanılan primerlere ilişkin bilgiler sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Kullanılan Primerlere Ait Bilgiler

Primer Kodu	Baz Dizilimi	Nükleotid Sayısı	Tm Sıcaklığı °C
ISSR1	5' ACCACCACCACCACCACCCC 3'	20	66
ISSR2	5' CCATGTGTGTGTGTGTGT 3'	18	54
ISSR3	5'CCATGATGATGATGATGATG 3'	20	53
ISSR5	5'GCAACACACACACACAC 3'	17	53
ISSR6	5' GGGACACACACACACAC 3'	17	55
ISSR7	5'GAGAGAGAGAGAGAGG 3'	14	68
ISSR9	5' GGGTGGGGTGGGGTG 3'	15	42
ISSR10	5' GAGAGAGAGAGAGAGATC 3'	18	54
ISSR11	5' TCCTCCTCCTCCTCCGT 3'	17	58
ISSR15	5' ACACACACACACACACG 3'	17	53

2.5. PCR Reaksiyonu

PCR reaksiyonunda kullanılan temel bileşenler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. (Çizelge 2.3.). PCR tüplerine totalde 25 µl olacak şekilde; AMPLIQON Master Mix (2X), dH₂O, primer, Tween, DNA eklenerek reaksiyon hazırlanmıştır.

Çizelge 2.3. PCR Reaksiyonu Temel Bileşenleri

AMPLIQON Master Mix (2X)	10,5 µl
dH₂O	12,3 µl
Primer	1 µl
Tween	0,2 µl
DNA	1 µl
Toplam Hacim	25 µl

SimpliAmp Thermal Cycler cihazına hazırlanan PCR tüpleri yerleştirilmiş ve 35 döngüden oluşan denatürasyon, bağlanma ve uzama aşaması aşamaları ile reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. PCR Aşamaları

PCR Aşamaları	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95	03:00	1X
Denatürasyon	95	00:15	35X
Annealing	55	00:30	
Extension	68	03:00	
Son Uzama	72	10:00	1X

2.6. Elektroforez Basamağı

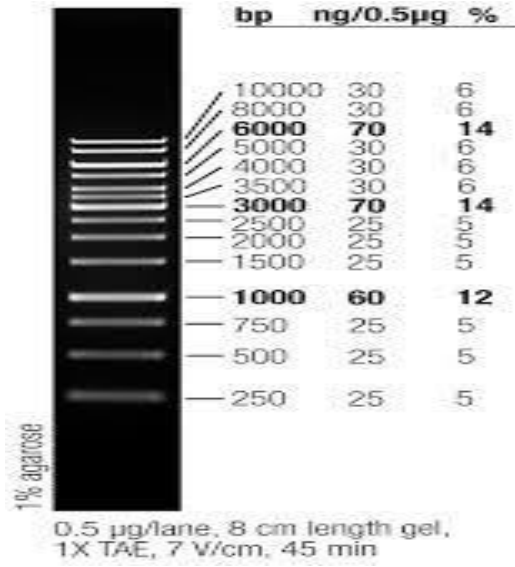
PCR işlemi sonrasında -20'ye kaldırılan PCR tüpleri alınıp elektroforez yapılmıştır. Elektroforez işleminde %1'lik agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jel 10X TBE Buffer'ın seyreltilmesinin sonucunda elde edilen 1X TBE tamponu ile hazırlanmıştır. 1X TBE tamponu ile %1'lik agaroz erlen içerisinde mikrodalgada kaynatıldıktan sonra etidyum bromür ilave edilerek karıştırılmış ve jel tablasına dökülmüştür. Jelin donmasının ardından PCR tüplerine 3 µl yükleme boyası eklenmiş ve toplamda 28 µl olan örnekler kuyucuklara yüklenmiştir. Ardından bant büyüklüklerinin belirlenmesi için jel üzerinde bulunan ilk ve son kuyucuklara 5 µl 1 kb DNA ladder yüklenmiştir. Örnekler 70 V sabit akımda 2 saat 30 dk elektroforez cihazında yürütülmüştür (Şekil 2.3.). Daha sonra Quantum Vilber Lourmat görüntüleme cihazında jel görüntüleri alınmıştır.



Şekil 2.3. Kullanılan jel elektroforez cihazı

2.7. Verilerin Analiz Edilmesi

Bant büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan 1 kb DNA ladder markör ile bantlar kıyaslanarak okuma yapılmıştır. Jel üzerinde bulunan ISSR bant profilleri bant oluşumu varlığında '1' bant oluşumu yokluğunda ise '0' ile kodlanmıştır. ISSR bant profillerin de hiçbir bant gözlenememesi durumunda ise '.' olarak kodlanarak sonuçlar kaydedilmiştir.



Şekil 2.4. 1 kb DNA Ladder

POPGENE Version 1.32 ve GenAlex Version 6.05 genetik analiz programları kullanılarak toplamda 130 bireyin oluşturduğu 13 popülasyonun verileri analiz edilmiştir (Yeh ve Berkowitz, 1999; Peakall ve Smouse, 2012). Analiz sırasında popülasyonların genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesinde bazı değişkenler kullanılmıştır. Bu değişkenler şunlardır:

- Popülasyonlara ait gözlenen ortalama alel sayısı (N_a)
- Ortalama etkili alel sayısı (N_e)
- Shannon sabiti (I)
- Polimorfik lokus oranı ($\%P$)
- Nei'nin genetik çeşitliliği (h)
- Toplam genetik çeşitlilik (H_t)
- Popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_s)
- Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (D_{st})
- Gen akışı (Nm)

2.7.1. Alel sayısı

Lokus başına düşen alel aynı özelliğin birden fazla formda ortaya çıkmasını sağlar. Alel sayısı genetik çeşitliliğin oluşumuna katkı sağlar. Tüm lokuslarda bulunan alellerin toplam lokus sayısına bölünmesi ile bulunur. Alel sayısının hesaplanırken kullanılan formül ise aşağıda verilmiştir:

$$\text{Ortalama } (N_a) = \frac{\sum_i n_{a_i}}{r} \quad (2.1)$$

n : i lokusunun alel sayısı

r : lokus sayısıdır (Nei, 1987).

2.7.2. Etkili alel sayısı

Popülasyon içerisinde bulunabilecek olan tüm alellerin sayısı olarak tanımlanır.

$$N_e = \frac{1}{\sum x_i^2} \quad (2.2)$$

N_e : etkili alel sayısı

x_i : bir lokustaki i alelinin frekansdır (Kimura ve F. Crow, 1978).

2.7.3. Shannon sabiti

Her bir popülasyon içerisinde bulunan varyasyon düzeyini tespit etmek için Shannon sabiti kullanılır. Her bir lokus için ayrı ayrı hesaplanır ve ortalaması alınarak tüm lokusların ortalama değeri elde edilir.

$$H_0 = -\sum p_i \ln p_i \quad (2.3)$$

H_0 : Shannon sabiti

p_i : alel frekansdır (Lewontin, 1972).

2.7.4. Heterozigotluk

Heterozigotluk popülasyon içerisinde bir lokusta bulunan alellerin birbirinden farklı olma ihtimalidir. Bir lokustaki beklenen heterozigotluk aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$h = \frac{2N (1 - \sum x_i^2)}{2N - 1} \quad (2.4)$$

N: birey sayısı

X: alel frekansdır (Nei, 1987).

2.7.5. Polimorfik lokus oranı

Polimorfik lokus oranı, polimorfik lokus sayısının lokus sayısına bölünmesiyle bulunur. Örnek sayısı fazla olduğunda genetik varyasyonun tespit edilmesi için polimorfik lokus oranı ve ortalama heterozigotluk kullanılabilir.

$$P = \frac{n_p}{r} \quad (2.5)$$

P : polimorfik lokus oranı

n_p : polimorfik lokus sayısı

r : lokus sayısıdır (Nei, 1987).

2.7.6. Genetik Mesafe

Genetik mesafe türler arasında veya türün içinde bulunduğu popülasyon içerisinde bulunan gen farklılıkların büyüklüğüdür. Genetik uzaklık değerlerinin arasında en çok kullanılan ise Nei'nin genetik uzaklığıdır (Nei, 1987).

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{\frac{1}{2}}}$$

$$J_{xy} = \sum_i^m x_i y_i \quad J_x = \sum_i^m x_i^2 \quad J_y = \sum_i^m y_i^2 \quad (2.6)$$

J : x ve y popülasyonlarının genetik benzerliği

x_i, y_i : i alelinin x ve y popülasyonlarındaki frekanslarıdır.

Çalışılan tüm lokuslar için J_{xy}, J_x, J_y toplanarak ve lokus sayısına bölünmesi sonucunda tüm aleller için ortalaması hesaplanır. Hesaplanan ortalama değerler (J_{xy}, J_x, J_y) ve genetik mesafe (D) ve benzerlik tahmininde kullanılmaktadır.

$$I' = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}} \quad D' = -\ln I \quad (2.7)$$

2.7.7. G İstatistiği

POPGENE Version 1.31 (Yeh ve Berkowitz, 1999) programı kullanılarak Nei'nin G istatistiği verileri ile toplamda bulunan genetik çeşitliliğin popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki oranını belirlemek ve genetik farklılaşmanın göreceli düzeyini tespit etmek için yapılan bir istatistiktir.

H_S : Popülasyon içi genetik çeşitlilik

H_T : Toplam genetik çeşitlilik

D_{ST} : Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik

G_{ST} : Genetik farklılaşmanın göreceli düzeyini gösterir.

F ve G istatistiğinde H_S ve H_T değerleri aynı formül ile hesaplanır.

$$D_{ST} = H_T - H_S$$

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T \quad (2.8)$$

Popülasyonlar arasındaki gen akışı (Nm), F_{ST} (G_{ST}) kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

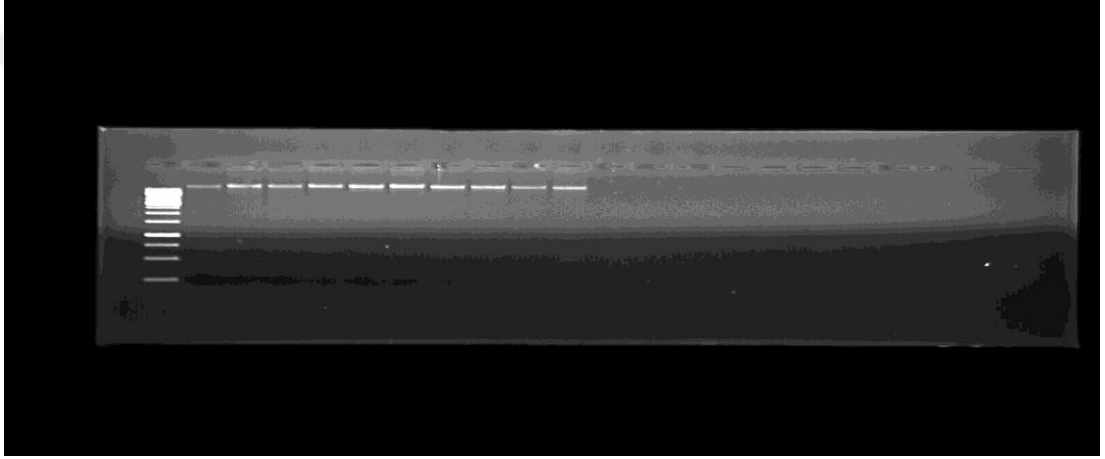
$$Nm = 0.5(1 - G_{ST}) / G_{ST} \quad (2.9)$$

Nesil başına 1 bireyin göçü genetik sürüklenmenin neden olduğu genetik varyasyonun azalmasını önler. Bu değer popülasyon büyüklüğünden bağımsızdır. Nm değeri 1'den küçük olması durumunda popülasyonların birbirinden farklılık gösterdiği gözlenmektedir (Wright, 1951).

3. BULGULAR

3.1. DNA izolasyonu

Muğla ilinde bulunan 13 ilçeden toplanan örnekler optimize edilen Lifton protokolüne göre DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğini tespit etmek için %1'lik agaroz jel hazırlanarak örnekler 100 V elektriksel akımda 1 saat boyunca yürütülmüş ve görüntüleme cihazıyla jel görüntüleri alınmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. DNA izolasyonu yapılan Ula örneklerinin jel görüntüsü

3.2. Primer Taraması

Primer taraması için toplam 130 örnekten farklı popülasyonlara ait 3'er örnek seçilmiştir. Bu örnekler PCR ile çoğaltılarak 16 primer ile taranmıştır (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Taranan 16 primere ait bulgular

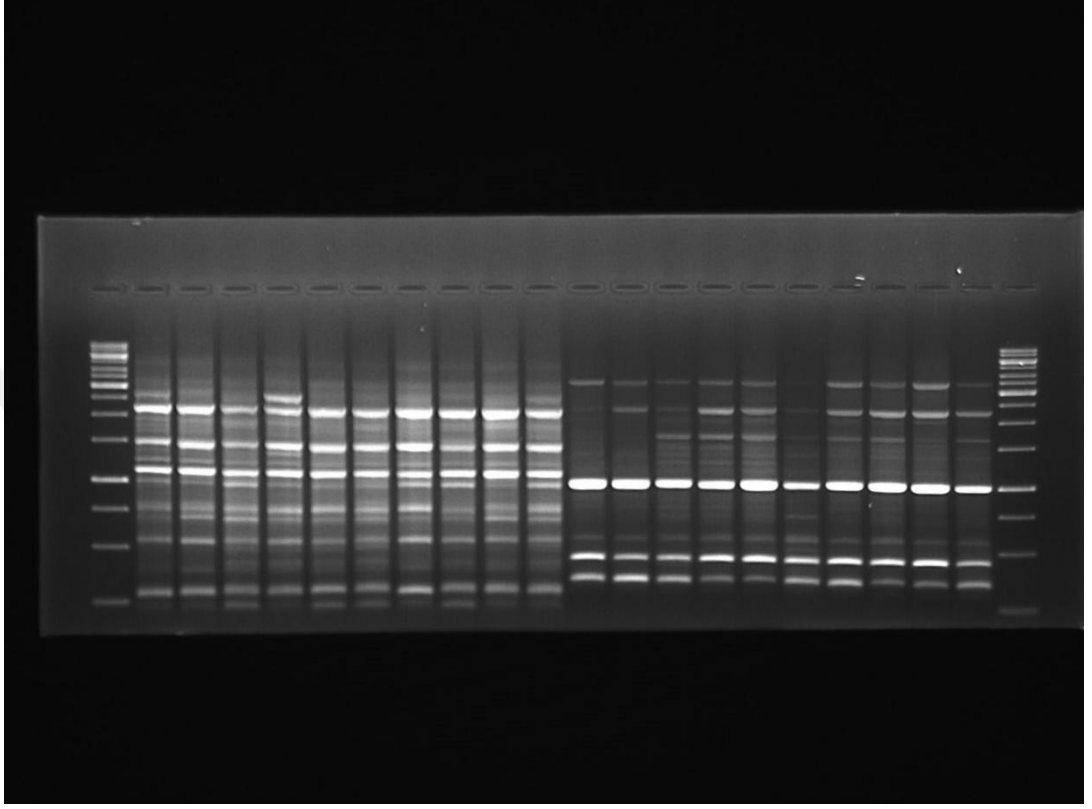
Primer	Primer Dizisi	Tarama Sonucu
ISSR1	5' ACCACCACCACCACCACCCC 3'	Polimorfik bant gözlemlendi
ISSR2	5' CCATGTGTGTGTGTGTGT 3'	Polimorfik bant gözlemlendi

Çizelge 3.1. devamı

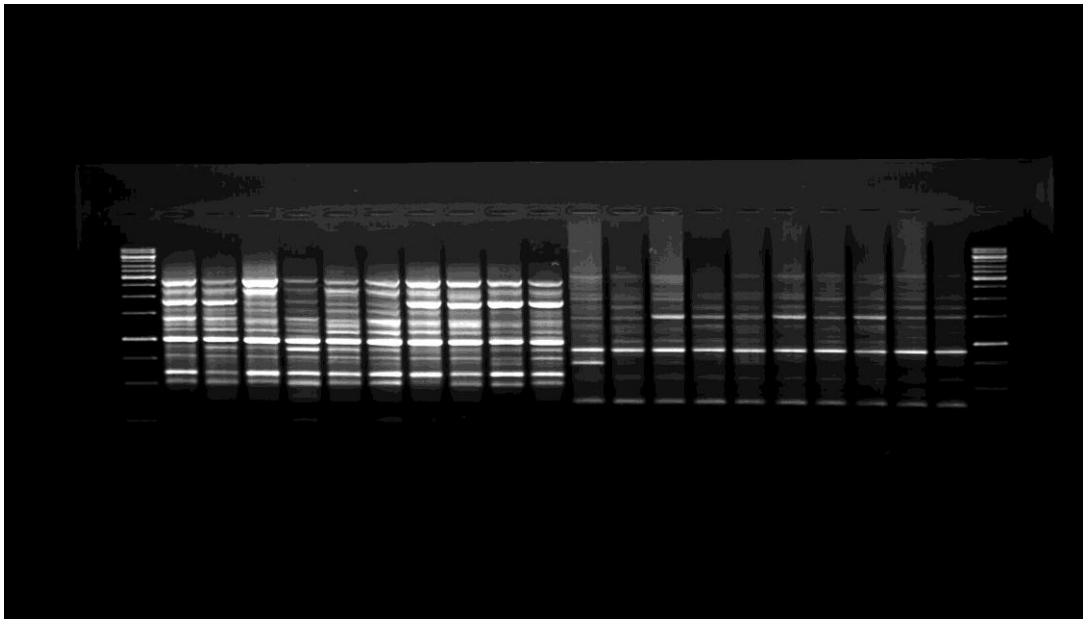
ISSR3	5'CCATGATGATGATGATGATG 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR4	5' GAGAGAGAGAGAGAGAGG 3'	Polimorfik bant gözlenmedi
ISSR5	5'GCAACACACACACACAC 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR6	5' GGGACACACACACACAC 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR7	5'GAGAGAGAGAGAGAGG 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR8	5'ACACACACACACACACT 3'	Polimorfik bant gözlenmedi
ISSR9	5' GGGTGGGGTGGGGTG 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR10	5' GAGAGAGAGAGAGAGATC 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR11	5' TCCTCCTCCTCCTCCGT 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR12	5' AGACAGACAGACAGACGC 3'	Polimorfik bant gözlenmedi
ISSR13	5' GACAGACAGACAGACAGT 3'	Polimorfik bant gözlenmedi
ISSR14	5' ATGATGATGATGATGGA 3'	Polimorfik bant gözlenmedi
ISSR15	5' ACACACACACACACACG 3'	Polimorfik bant gözlendi
ISSR16	5' ACGACAGACAGACAGACA 3'	Polimorfik bant gözlenmedi

Gerçekleştirilen primer taraması sonuçları incelendiğinde toplam 16 primerde bant gözlenmiş fakat bu primerlerden 6 tanesinde polimorfik bant gözlenmemiştir. (Çizelge 3.1.) Polimorfik bant göstermeyen primerler haricinde kalan 10 polimorfik

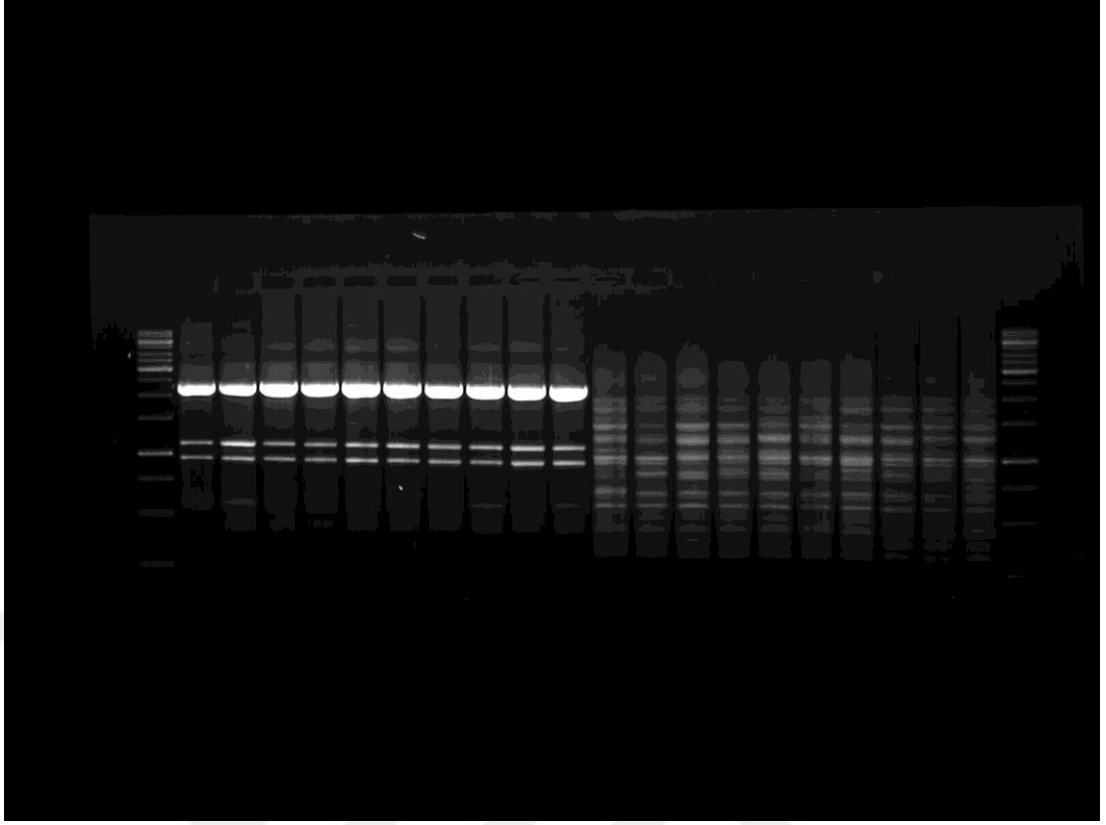
ISSR primeri ile 10 bireyden oluşan Ortaca, Dalaman, Köyceğiz, Fethiye, Seydikemer, Milas, Bodrum, Marmaris, Datça, Kavaklıdere, Yatağan, Menteşe ve Ula popülasyonu örnekleriyle PCR taramaları yapılmıştır (Şekil 3.2; 3.3; 3.4; 3.5; 3.6).



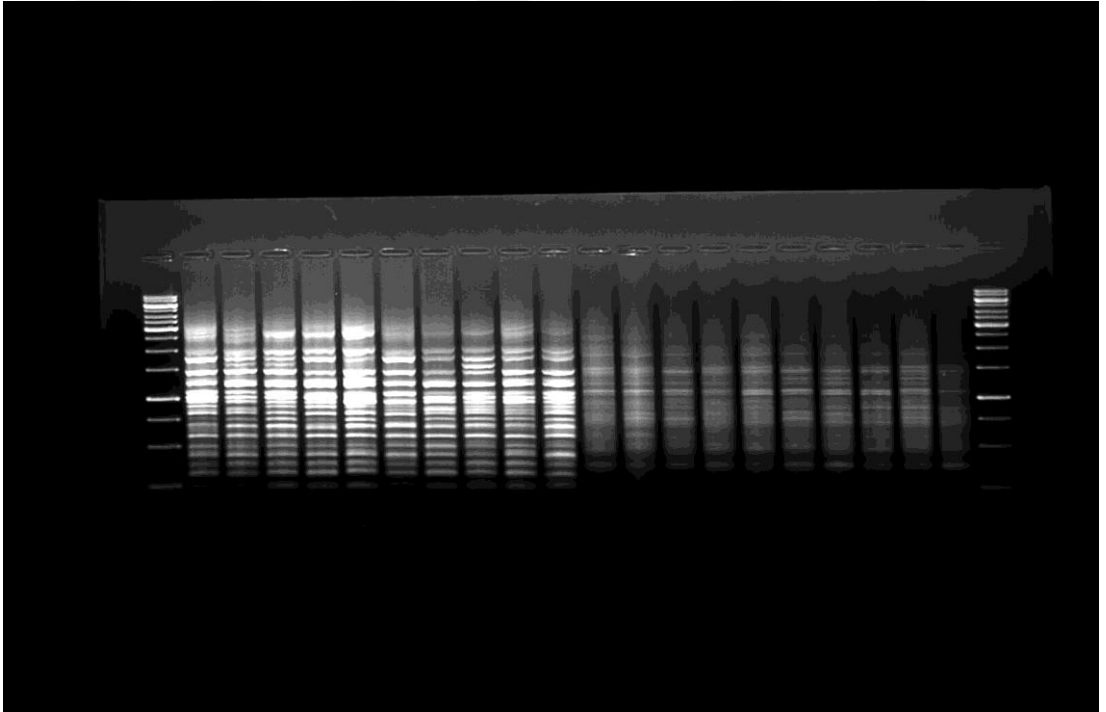
Şekil 3.2. Yatağan bireylerinin ISSR 9-10 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü



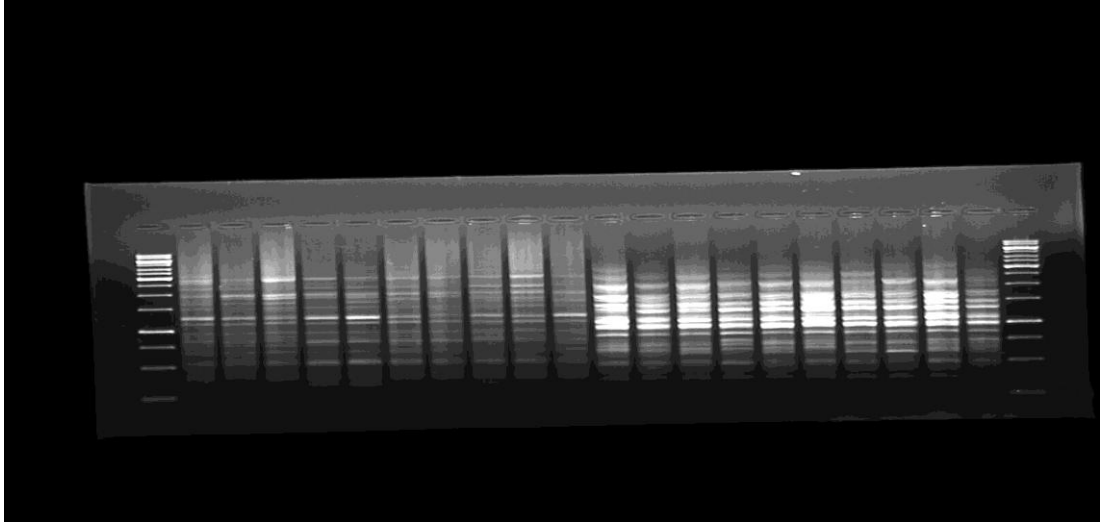
Şekil 3.3. Menteşe bireylerinin ISSR 11-15 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü



Şekil 3.4. Marmaris bireylerinin ISSR 3-5 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü



Şekil 3.5. Dalaman bireylerinin ISSR 6-7 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü



Şekil 3.6. Ortaca bireylerinin ISSR 1-2 primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü

10 primerin analizi sonucunda toplamda 425 lokus saptanmıştır. Bu lokuslardan bir tanesi bütün popülasyonlar için monomorfiktir. Primer başına tespit edilen lokus sayıları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Primer başına tespit edilen lokus sayısı

	ISSR 1	ISSR 2	ISSR 3	ISSR 5	ISSR 6	ISSR 7	ISSR 9	ISSR 10	ISSR 11	ISSR 15
BANT SAYISI	39	45	39	40	48	38	50	36	47	43

10 ISSR primeri ile gerçekleştirilen taramaların sonucu incelendiğinde 65 farklı büyüklük (bp) değerine sahip bant varlığı gözlenmiştir. 10 ISSR primerinin ürettiği bant uzunlukları 200 bp – 10000 bp aralığında değişiklik göstermektedir. Çalışılan ISSR primerleri incelendiğinde primer başına tespit edilen en az lokus sayısına sahip olan primerin 36 polimorfik lokus sayısı ile ISSR 10 olduğu belirlenirken, primer başına tespit edilen en yüksek lokus sayısına sahip olan primerin 50 polimorfik lokus sayısı ile ISSR 9 olduğu belirlenmiştir. (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. Primerlerin bant uzunlukları

	ISSR 1	ISSR 2	ISSR 3	ISSR 5	ISSR 6	ISSR 7	ISSR 9	ISSR 10	ISSR 11	ISSR 15
Bant Uzunlukları	250- 3250 bp	250- 3250 bp	400- 10000 bp	250- 3500 bp	250- 5000 bp	200- 3250 bp	200- 6000 bp	200- 6000 bp	200- 10000 bp	250- 4000 bp

3.3. Popülasyon İçi ve Popülasyonlar Arası Genetik Çeşitlilik Bulguları

3.3.1. Ortalama alel sayısı ve ortalama etkili alel sayısı (N_a , N_e)

Popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğe ait bulgular POPGENE Version 1.32 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm popülasyonların ortalama genetik çeşitlilik bulguları Çizelge 3.4.'de yer almaktadır. Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde tüm popülasyonlar için tespit edilen ortalama alel sayısı $1,99 \pm 0,04$ ortalama etkili alel sayısı $1,41 \pm 0,35$ olarak bulunmuştur. (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Tüm popülasyonların ortalama genetik çeşitlilik bulguları

	N_a	N_e	h	I	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}	Nm
TÜM POPÜLASYONLARIN ORTALAMASI	1,99 ± 0,04	1,41 ± 0,35	0,24 ± 0,18	0,38 ± 0,24	0,24 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,12	0,50	0,49
<p>N_a: Gözlenen ortalama alel sayısı, N_e: Ortalama etkili alel sayısı, h: Nei'nin genetik çeşitliliği, I: Shannon sabiti H_T: Toplam genetik çeşitlilik, H_S: Popülasyon içi genetik çeşitlilik, D_{ST}: Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik, G_{ST}: Genetik farklılaşmanın göreceli düzeyi, Nm: Gen Akışı</p>									

Tüm popülasyonların ortalama genetik çeşitlilik bulguları incelendiğinde popülasyonlar arasında tespit edilen en düşük ortalama alel sayısına sahip olan lokasyon $1,25 \pm 0,43$ değeri ile Seydikemer Asarcık olarak belirlenirken, popülasyonlar arasında tespit edilen en yüksek ortalama alel sayısına sahip olan lokasyon $1,50 \pm 0,50$ ile Bodrum Kısırlar olarak belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında tespit edilen en düşük etkili alel sayısı $1,15 \pm 0,30$ değeri ile Seydikemer

Asarcık, en yüksek etkili alel sayısına sahip lokasyon $1,26 \pm 0,34$ değeri ile Bodrum Kısırlar olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. *A. m. anatoliaca* popülasyonlarına ait genetik çeşitlilik bulguları

	N_a	N_e	H	I	Yüzde Polimorfizm (%P)	Polimorfik Lokus Sayısı
BODRUM KISIRLAR	1,50 ± 0,5	1,26 ± 0,34	0,16 ± 0,19	0,24 ± 0,27	50,12	213
MİLAS KORUCUK	1,38 ± 0,49	1,22 ± 0,34	0,13 ± 0,19	0,19 ± 0,27	37	161
KAVAKLIDERE NEBİLER	1,42 ± 0,49	1,26 ± 0,37	0,15 ± 0,19	0,22 ± 0,28	41	178
SEYDİKEMER ASARCIK	1,25 ± 0,43	1,15 ± 0,30	0,08 ± 0,16	0,12 ± 0,24	25,18	107
FETHİYE GÖCEK	1,29 ± 0,45	1,19 ± 0,34	0,11 ± 0,18	0,16 ± 0,26	29,18	124
DALAMAN GÜRKÖY	1,37 ± 0,48	1,22 ± 0,34	0,13 ± 0,19	0,19 ± 0,27	36,71	156
ORTACA GÜZELYURT	1,40 ± 0,49	1,24 ± 0,35	0,14 ± 0,19	0,21 ± 0,27	39,76	169
KÖYCEĞİZ KAVAKARASI	1,36 ± 0,48	1,21 ± 0,36	0,12 ± 0,18	0,18 ± 0,26	36,47	155
DATÇA MERKEZ	1,31 ± 0,46	1,21 ± 0,36	0,12 ± 0,19	0,17 ± 0,27	30,59	130
ULA MERKEZ	1,31 ± 0,46	1,18 ± 0,32	0,11 ± 0,18	0,16 ± 0,26	30,59	130
MENTEŞE MERKEZ	1,29 ± 0,45	1,22 ± 0,36	0,12 ± 0,20	0,18 ± 0,28	29,18	124
MARMARİS ORHANİYE	1,33 ± 0,47	1,22 ± 0,35	0,12 ± 0,19	0,18 ± 0,27	32,94	140
YATAĞAN MERKEZ	1,27 ± 0,44	1,17 ± 0,32	0,09 ± 0,18	0,14 ± 0,25	27,29	116
N_a: Gözlenen ortalama alel sayısı, N_e: Ortalama etkili alel sayısı, h: Nei'nin genetik çeşitliliği, I: Shannon sabiti						

3.3.2. Shannon sabiti (I)

Elde edilen veriler sonucunda tüm popülasyonlara ait ortalama bulgular incelendiğinde shannon sabiti olarak $0,38 \pm 0,24$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.).

Popülasyonlara ait bulgular incelendiğinde en düşük shannon sabiti değeri $0,12\pm 0,24$ olarak Seydikemer Asarcık'da tespit edilirken, en yüksek shannon sabiti değeri $0,24\pm 0,27$ olarak Bodrum Kısırlar'da tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.).

3.3.3. Nei'nin genetik çeşitliliği (h)

Tüm popülasyonlar için ortalama değerler incelendiğinde Nei'nin genetik çeşitlilik değeri $0,24\pm 0,18$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.). Popülasyonların genetik çeşitlilik değeri incelendiğinde en yüksek genetik çeşitliliğe sahip olan lokasyon $0,16\pm 0,19$ değeri ile Bodrum Kısırlar olarak tespit edilmiştir. Popülasyonlar arası en düşük genetik çeşitlilik değerine sahip lokasyon ise $0,08\pm 0,16$ değeri ile Seydikemer Asarcık olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.).

3.3.4. Polimorfik lokus sayısı ve oranı

Popülasyonların polimorfik lokus sayıları ve oranları incelendiğinde bu değer popülasyonlar arasında % 25 ila % 50 arasında değişkenlik göstermektedir. Tüm popülasyon verileri incelendiğinde en düşük polimorfik lokus sayısı Seydikemer Asarcık lokasyonunda tespit edilerek bu lokasyonun polimorfik lokus sayısı 107 ve polimorfizm yüzdesi % 25,18 olarak tespit edilmiştir. En yüksek polimorfik lokus sayısı Bodrum Kısırlar lokasyonunda tespit edilerek bu lokasyonun polimorfik lokus sayısı 213 olup polimorfizm yüzdesi % 50,12 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.).

3.3.5. G- istatistiği

Tespit edilen 425 lokus için toplam genetik çeşitlilik, popülasyon içi genetik çeşitlilik ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik değerleri G – istatistiği kullanılarak belirlenmiştir. G – istatistiği kullanılarak tespit edilen veriler incelendiğinde 425 lokus için hesaplanan toplam genetik çeşitlilik (H_T)= $0,24\pm 0,03$ olarak bulunmuştur. Bunun $0,12\pm 0,01$ 'ini popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_T) oluştururken, $0,12$ 'si popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (D_{ST}) oluşturmaktadır. Tüm popülasyonlar için genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}), popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (D_{ST}) ve popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_T) değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Bunun

sonucunda genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) 0,50 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.4.).

3.3.6. Gen akış düzeyi (Nm)

Tüm popülasyonların genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) kullanılarak gen akış düzeyi hesaplanmış ve gen akış düzeyi (Nm), 0,49 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.).

3.3.7. Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık (D_N)

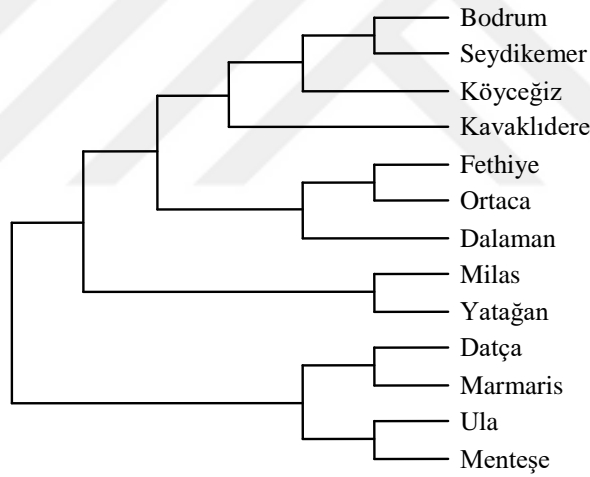
Popülasyonlar arası uzaklıkların belirlenmesinde Nei'nin genetik uzaklık değerleri hesaplanmıştır ve hesaplanan standart genetik uzaklık (D_N) değerleri Çizelge 3.6'de verilmiştir. Popülasyonlar arası genetik uzaklık değerleri incelediğinde genetik olarak birbirine en yakın lokasyonlar Marmaris ve Datça olarak tespit edilmiş ve aralarındaki genetik uzaklık değeri 0,050 olarak belirlenmiştir. Popülasyonlar arası genetik olarak birbirine en uzak belirlenen lokasyonlar ise Yatağan ve Marmaris olarak belirlenmiş ve aralarındaki genetik uzaklık değeri 0,2162 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.6. *A.m. anatoliaca* popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri

	Bodrum	Milas	Kavaklıdere	Seydikemer	Fethiye	Dalaman	Ortaca	Köyceğiz	Datça	Ula	Menteşe	Marmaris	Yatağan
Bodrum	*												
Milas	0.1004	*											
Kavaklıdere	0.1174	0.1475	*										
Seydikemer	0.1147	0.1357	0.1599	*									
Fethiye	0.1481	0.1596	0.1446	0.1161	*								
Dalaman	0.1625	0.1890	0.1683	0.1839	0.1387	*							
Ortaca	0.1459	0.1582	0.1640	0.1367	0.1144	0.1340	*						
Köyceğiz	0.1234	0.1560	0.1487	0.1519	0.1781	0.2023	0.1560	*					
Datça	0.1909	0.1836	0.1652	0.1806	0.1538	0.1846	0.1825	0.1949	*				
Ula	0.1605	0.1522	0.1567	0.1724	0.1263	0.1425	0.1577	0.1760	0.1368	*			
Menteşe	0.1995	0.1900	0.2080	0.2125	0.1722	0.1859	0.2011	0.2095	0.1737	0.1326	*		
Marmaris	0.2035	0.1868	0.1813	0.1985	0.1797	0.2055	0.1962	0.2012	0.0500	0.1660	0.1949	*	
Yatağan	0.1741	0.0927	0.1833	0.1734	0.1774	0.2097	0.2014	0.2128	0.1970	0.1602	0.1859	0.2162	*

3.3.8. Popülasyonlara ilişkin ağaç dallanma yapısı

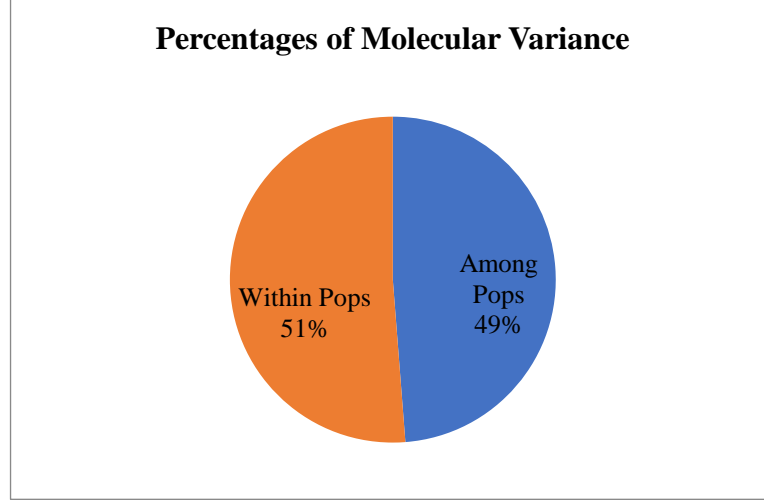
Popülasyonlar arası genetik uzaklık (D_N) bulguları kullanılarak POPGENE version 1.32 programından elde edilen UPGMA dendrogramı TreeView 32 programı kullanılarak görselleştirilmiş ve popülasyonlar için ağaç dallanma yapısı ortaya koyulmuştur. Analiz sonucunda elde edilen ağaç 2 ana dala ayrılmıştır. İlk dalda Bodrum, Seydikemer, Köyceğiz, Kavaklıdere, Fethiye, Ortaca, Dalaman, Milas ve Yatağan yer alırken, ikinci dalda Datça, Marmaris, Ula ve Menteşe yer almaktadır. Toplamda dört grup oluşturan popülasyon ağaç dallanmasında I. grupta Bodrum, Seydikemer, Köyceğiz ve Kavaklıdere yer almaktadır. II. Grupta Fethiye, Ortaca, Dalaman yer almaktadır. III. grupta Milas ve Yatağan lokasyonları yer almaktadır. IV. grupta ise Datça, Marmaris, Ula ve Menteşe lokasyonları yer almaktadır (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. Popülasyonların ağaç dallanma yapısı

3.3.9. AMOVA analizi

GenAlex Version 6.05 programı kullanılarak yapılan AMOVA analizi sonucu incelendiğinde tespit edilen çeşitliliğin % 51'i popülasyon içi genetik çeşitlilikten kaynaklanırken, % 49'ünün ise popülasyonlar arası genetik çeşitlilikten kaynaklandığı gözlenmiştir (Şekil 3.8).

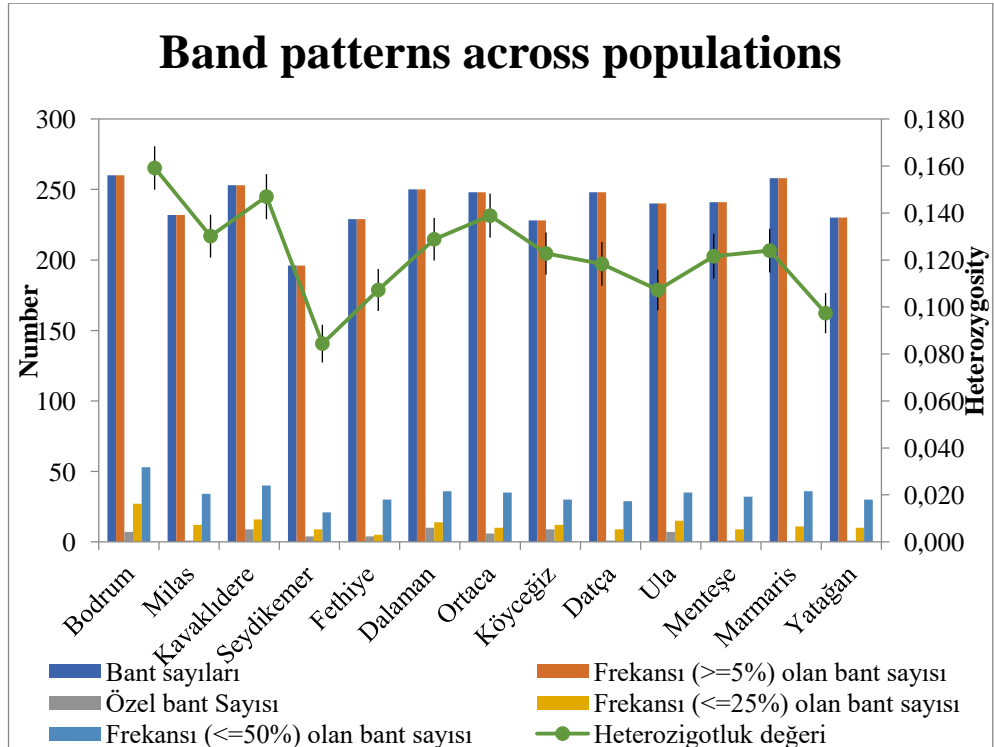


Şekil 3.8. AMOVA analizi sonucu

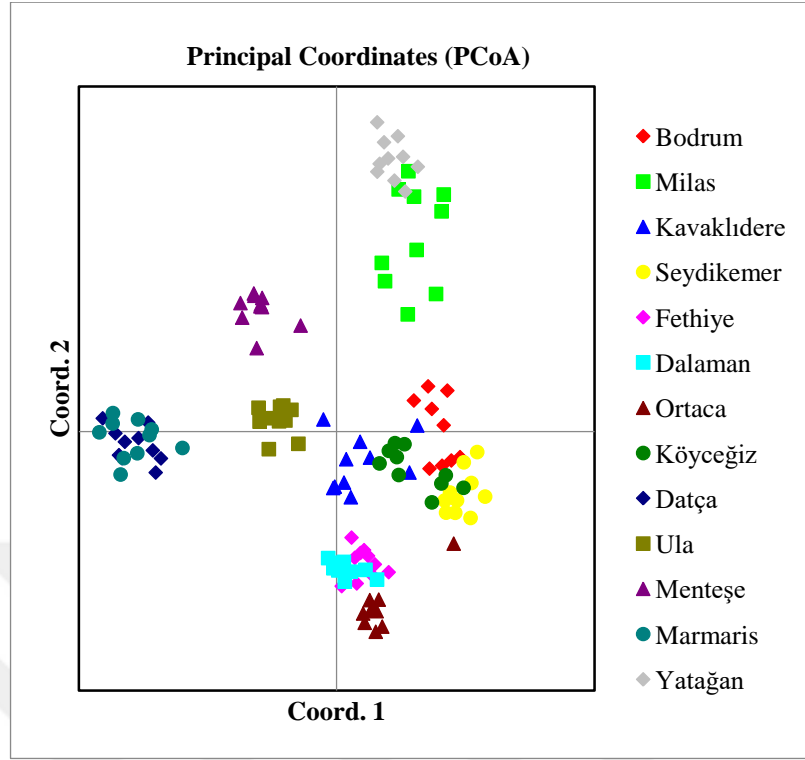
3.3.10. Diğer bulgular

Tüm popülasyonların verileri ile oluşan bant sayıları ve heterozigotluk değerlerine ilişkin veriler Çizelge 3.7’de verilmiştir. Toplamda 13 popülasyonun birbirlerine olan uzaklıkları koordinat analizinin gösterimi Çizelge 3.8’de verilmiştir. Nei’nin genetik uzaklık değerleri ile oluşturulan dendogram ile koordinat analizi sonuçları paralellik göstermiştir.

Çizelge 3.7. Popülasyonların bant sayıları ve heterozigotluk değerleri



Çizelge 3.8. Popülasyonlara ait Principal Coordinates (PCoA) analizi



4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Arılar milyonlarca yıldır dünya üzerinde bulunan ve yaşama katkıda bulunan önemli organizmalardan biridir. Gerek dünya gerek insanlık tarihi için önemli bir yer tutması nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur. Ülkemizin zengin genetik kaynaklarından biri olan arıların yeterli ıslah çalışmasının olmaması öncelikle ülkemiz daha sonra dünyamız için bir önemli bir sorun teşkil etmektedir. Arı hastalıkları ve zararlıları arıcılığın büyük problemleridir. Tüm bunlar dışında Muğla ilinde yaşanan büyük yangınlar sonrasında bölgemiz arı kolonilerinde ciddi bir düşüş yaşanmıştır. Ortamdan kaybolan her canlı aynı zamanda bir genetik çeşitlilik kaybıdır. Arı gen kaynakları polimorfik özellik gösterdiği için gen havuzu için kıymetli canlılardır. Bilindiği üzere bir ülkenin biyolojik materyalinin bilinmesi ve korunması ancak bu alanlardaki türlerin tespiti, türler arasındaki ilişkilerin ve sürdürülebilirliğinin bilinmesi, ekolojik önlemlerin alınması ve genetik kayıplarının önlenmesi ile mümkün olabilmektedir. Daha önceki çalışmalar arıların morfolojik karakteri üzerine yoğunlaşmıştır. Fakat bir türün koruma altına alınabilmesi için genetik çeşitliliğinin tespit edilmesi ve moleküler kökeninin araştırılması gereklidir. Araştırmalar morfolojik karakterlerle sınırlı kalmamalı, popülasyon yoğunluğu, genetik haritaların belirlenmesi gerekmektedir. *A. m. anatoliaca*'nın Muğla ekotipinin genetik çeşitliliğini ortaya koymaya dair çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu amaçla, *Apis mellifera anatoliaca* alttürünün, Muğla ekotipinin ISSR moleküler markör tekniği kullanılarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği bu çalışma kapsamında incelenmiştir.

Çalışmamızda *A. m. anatoliaca* alttürünün genetik çeşitlilik tespitinde ISSR moleküler markör yönteminin seçilmesinin sebepleri ise yüksek polimorfizm göstermesi, laboratuvarlar arasında uyumluluk göstermesi, hızlı sonuç vermesi, tekrarlanabilir olması, uygulama kolaylığı ve uygulama maliyetlerinin düşük olmasıdır. Ancak dominant bir belirteç sistemi olmasından kaynaklı olarak heterozigotluk ayrımı yapılamaması ise bu yöntemin bir dezavantajıdır. Literatürü incelediğimizde *A. m. anatoliaca* ile yapılmış moleküler çalışmaları incelediğimizde allozim çalışmaları yer almaktadır. Daha sonrasında moleküler markör sistemlerinin gelişmesi, yüksek polimorfizm göstermesi nedeniyle allozim sistemlerinden daha çok kullanılabilir hale gelmiştir.

Bu çalışmada 10 adet ISSR primeri kullanılarak 130 bireyin analizi sonucunda toplam 425 polimorfik lokus sayısı elde edilmiştir. Primer taramaları sonucunda ise primer başına hesaplanan ortalama 42 polimorfik lokus tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda, tüm popülasyonların verileri incelendiğinde popülasyonlar için gözlenen alel sayısı (N_a) $1,99 \pm 0,04$, ortalama etkili alel sayısı (N_e) $1,41 \pm 0,35$ olarak bulunmuştur. Nei'nin genetik çeşitliliği (H) $0,24 \pm 0,18$ ve shannon sabiti (I) $0,38 \pm 0,24$ olarak bulunmuştur. Ayrıca toplam genetik çeşitlilik (H_t) $0,24 \pm 0,03$, popülasyon içinden kaynaklanan genetik çeşitlilik (H_s) $0,12 \pm 0,01$, genetik farklılaşma katsayısı 0,50 ve popülasyonlar arasındaki gen akış değeri (N_m) 0,49 olarak bulunmuştur.

Arslan (2021) tarafından yapılmış çalışma sonucunda tüm popülasyonların gözlenen alel sayısı (N_a) $1,70 \pm 0,47$, etkili alel sayısı ortalama (N_e) $1,42 \pm 0,37$ olarak bulunmuştur. Nei'nin genetik çeşitliliği (H) $0,248 \pm 0,200$ ve shannon sabiti (I) $0,370 \pm 0,283$ olarak bulunmuştur. Arslan tarafından yapılan çalışmadaki değerler bizim çalışmamızdaki değerler ile kıyaslandığında Nei'nin genetik çeşitliliği ve shannon sabiti birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Fakat bu değerler arasında bulunan ortalama alel sayısı bu tez çalışmasındaki değere göre daha düşük olduğu görülmüş olmasına rağmen etkili alel sayısı az bir farkla daha yüksektir. Bunun sebebi ise Arslan (2020) tarafından yapılan çalışmada öldürücü alellerin daha az bulunması yada ISSR bant okumalarının kişiden kişiye değişkenlik gösterebiliyor olmasından kaynaklanmaktadır.

Tunca ve arkadaşları (2011), 20 RAPD primeri ile 25 farklı ilde 360 koloniden toplanan 720 işçi arı kullanarak genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Yapılan çalışmada Muğla ilinde 57 banttan % 54.29'unun polimorfik olduğu belirlenmiştir. Beklenen heterozigotluk değeri 0.137, shannon sabiti (I) ise $0,216 \pm 0,025$ olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamızda ise shannon sabiti (I) $0,38 \pm 0,24$ olarak hesaplanmıştır. Bu değerler bizim çalışmamızdaki değerler ile kıyaslandığında Tunca ve vd. (2011), tarafından yapılan çalışmadaki değerler daha düşüktür bunun sebebi farklı markör sistemleri kullanılması olabilir.

Karacaoğlu (2004), Aydın Davutlar, Muğla Datça, Muğla Bodrum ve İtalyan melezi arılarıyla yaptığı çalışmada 28 morfolojik özelliği varyans ve diskriminant analizi ile karşılaştırılmıştır. Grupların birbirine uzaklığı çok değişkenli varyans analizi uygulanmış ve Bodrum grubu diğer arılardan ve İtalyan F1'lerden en uzak grup

olmuştur. Aynı şekilde Bodrum ve Datça örnekleri birbirinden anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Bu çalışma ile Karacaoğlu (2004) tarafından yapılmış çalışmadaki Bodrum ve Datça ortak lokasyonlardır. Bu çalışmada da Karacaoğlu (2004)'nun elde etmiş olduğu sonuca paralel olarak Bodrum ve Datça popülasyonları birbirinden uzak olup farklı iki dalda kümelenmiştir.

Karakaş (2013), Kırklareli, Yığılca, Muğla, Hatay ve Artvin illerinden 24 koloniyi 4 ISSR primerleri ile incelediği çalışmada Muğla ilinden göçer aralık ve sabit aralıklar arasındaki farklılıkları da analiz etmiştir. Sabit aralıklarda gözlenen ortalama alel sayısı $1,48 \pm 0,50$, etkili alel sayısı $1,27 \pm 0,35$, Nei'nin genetik çeşitliliği $0,16 \pm 0,19$, shannon sabiti ise $0,25 \pm 0,28$ olarak bulunmuştur. Göçer aralıklarda gözlenen ortalama alel sayısı $1,60 \pm 0,50$, etkili alel sayısı $1,33 \pm 0,37$, Nei'nin genetik çeşitliliği $0,19 \pm 0,20$, shannon sabiti ise $0,29 \pm 0,29$ olarak bulunmuştur. Bu karşılaştırmada, Muğla göçer arıların beklenen heterozigotluk (h_e) ve shannon sabiti (I) değerlerinin sabit Muğla arılarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Polimorfik lokus varlığı göçer arılarda daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Sabit ve göçer aralıkların aralarındaki genetik farklılaşma değeri (G_{st}) 0.035 olarak tespit edilmiştir. Genetik farklılaşma değeri beklenenden çok daha düşük bulunmuştur. Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik % 4.2 tespit edilirken popülasyon içi genetik çeşitlilik ise % 95.8 olarak tespit edilmiştir. Tüm bu değerler bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında bizim çalışmamızdaki değerler daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi bu çalışmada ISSR primerlerinin sayısının fazla olması, farklı lokasyonların yer alması ve lokasyonların birbirine uzak olması sebebiyle gen akışının sınırlı olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Çalışmamız yer alan Nei'nin genetik uzaklık değerleri incelendiğinde, birbirine genetik olarak en yakın olan iki lokasyon Marmaris ve Datça olarak belirlenirken birbirine genetik olarak en uzak olan iki lokasyon ise Marmaris ve Yatağan olarak tespit edilmiştir. Marmaris ve Datça lokasyonları arazi çalışmaları sırasında birbirlerine yakın konumdan örneklerin toplanması sebebiyle bu iki lokasyonun genetik olarak uzaklıklarının az olması beklenen bir sonuç olmuştur. Genetik olarak birbirine en uzak lokasyonlar Seydikemer ve Bodrum olarak beklenirken bu iki lokasyon $0,1147$ değeri ile birbirine yakın olarak bulunmuştur. Bodrum lokasyonunun genetik olarak en yakın olduğu lokasyon $0,1000$ değeri ile Milas ve sonrasında $0,1147$ değeri ile Seydikemer'dir. Birbirine uzak iki lokasyonun genetik

olarak yakın olması ticari ana arı satışı, göçer arıcılık gibi sebeplerden kaynaklanabilir. Marmaris ve Yatağan lokasyonları ise konum olarak birbirine oldukça uzak olması sebebiyle genetik olarak uzak olmaları kabul edilebilir. Tüm lokasyonların arazi çalışmasında ilçeler arası uzaklığına bakıldığında Milas ve Yatağan, Marmaris ve Datça lokasyonlarından birbirine çok yakın bir konumdan örnekler alınmış olması sonucu bu lokasyonların birbirine yakın olması beklenmiştir. Milas ve Yatağan lokasyonunun genetik uzaklık değeri 0,0927 ve Marmaris ve Datça lokasyonunun birbirine genetik uzaklık değeri ise 0,0500 olarak tespit edilip çalışmamızın sonucu bunu doğrular niteliktedir.

Analiz sonucu Nei'nin genetik çeşitlilik değerlerine bakıldığında, tüm popülasyonlar için toplam genetik çeşitlilik $0,24 \pm 0,03$ olarak tespit edilmiştir. Toplam genetik çeşitlilik değeri ile hesaplanan popülasyon içi genetik çeşitliliğin % 51'inin popülasyon içi genetik çeşitlilikten kaynaklandığı ve popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S) değerinin $0,12 \pm 0,01$ olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin (D_{ST}) ise 0,12 olduğu tespit edilmiştir. AMOVA analizi sonucuna göre genetik çeşitliliğin % 51'i popülasyon içinden, % 49'u ise popülasyonlar arası kaynaklandığı gözlenmiştir. Genetik farklılaşma değeri 0 ile 1 arasında bir değere sahip olup genetik farklılaşma düzeyini gösterir. G_{ST} değeri 1'e ne kadar yakın olursa genetik farklılaşma o kadar fazla demektir. 0,05 ve altındaki değerlerde genetik farklılaşma katsayısının ihmal edilebilir bir seviyede olduğunu gösterirken genetik farklılaşma 0,25 değerinin üstünde olması genetik farklılaşmanın seviyesinin yüksek olduğunu gösterir. Bizim çalışmamızda genetik farklılaşma değeri (G_{ST}) 0,50 olarak bulunmuştur. Bu değer çalıştığımız popülasyonların birbirine genetik olarak farklılık gösterdiği sonucunu gösterir. Bununla birlikte çalışmamızda gen akışı (Nm) değeri 0,49 olarak bulunmuştur. Gen akışı değerinin 0,50 olması durumunda bu değer kritik olduğu ve bu değer altında kalan değerlerde popülasyonların genetik sürüklenmeye maruz kalabileceği bildirilmiştir (Hamrick vd. 1990). Bizim çalışmamızda gen akışı değerinin (Nm) 0,49 bulunması ve popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S) değerinin 0,12 olması gen akışının fazla seviyede olmadığını göstermiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda gen akışı değerinin (Nm) kritik seviyenin altında bulunması sebebiyle popülasyonların genetik sürüklenmeye maruz kalabileceği görülmüştür.

Çalışmamızda bulunan lokasyonlar arasında en fazla genetik çeşitliliğin Bodrum, Kavaklıdere, Ortaca lokasyonlarında olduğu tespit edilmiştir. Gelecekte yapılacak ıslah ve melezleme çalışmaları için varyasyon kaynağı olan arı gen kaynaklarının korunabilmesi için gerekli çalışmalar yapılması oldukça önemlidir. Bir koruma çalışması başlatılması durumunda bu üç popülasyon için öncelik verilmesi önerilmektedir.

Dünya üzerinde *A. mellifera*'nın diğer türlerinde ISSR belirteçleri ile genetik çeşitlilik çalışması yapılmıştır.

Ceksteryte ve ark. (2012) tarafından Litvanya bal arısı alttürlerinin genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. *A. m. carnica*'nın Litvanya'da bulunan iki hattı, Çek Cumhuriyeti ve Slovenya'dan getirilen 2 hat, Kafkasya'dan getirilen bir alttür ve yerel buckfast melezleriyle karşılaştırılmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre gözlenen ortalama alel sayısı $1,38 \pm 0,030$, etkili alel sayısı $1,22 \pm 0,02$, Nei'nin genetik çeşitliliği $0,130 \pm 0,011$, Shannon sabiti ise $0,190 \pm 0,010$ olarak bulunmuştur. 75 bireyden hesaplanan ortalama genetik farklılaşması katsayısı (G_{ST}) $0,422$, gen akış değeri (Nm) $0,68$ olarak tespit edilmiştir. Toplam genetik çeşitlilik (H_T) $0,222$ ve popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S) $0,422$ olarak bulunmuştur.

Ahmad (2018) tarafından yapılan çalışmada, Irak bal arısı popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği ISSR markörleri ile araştırılmıştır. 5 farklı şehirden örnek alınmış ve genomik DNA'nın PCR amplifikasyonu, 10 ISSR markör primeri kullanılarak taranmıştır. Çalışma sonucu popülasyon içi ortalama genetik çeşitlilik $0,44$, genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) ise $0,085$ olarak hesaplanmıştır. Ortalama genetik çeşitlilik $0,315$, shannon sabiti ise $0,412$ olarak hesaplanmıştır. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonuçlarına göre popülasyon içi genetik çeşitlilik popülasyonlar arası genetik çeşitlilikten daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, Irak bölgesindeki bal arısı popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin düşük olduğunu, bu nedenle düzenli bir ıslah programının gerekli olduğunu ortaya koymuştur.

Ceksteryte ve ark. (2012) ve Ahmad (2018) tarafından yapılan çalışmalar incelendiğinde genetik çeşitliliğin yüksek bir kısmının popülasyon içinde yer alan genetik çeşitlilikten kaynaklandığı AMOVA analizi ile ortaya koyulmuştur. Ceksteryte ve ark. (2012) ve Ahmad (2018) tarafından çalışılan popülasyonların *Apis*

mellifera anatoliaca Muğla ekotipinin aksine genetik sürüklenme riskinin daha az olduğunu göstermektedir.

Ahmad (2018) ve Rahimi ve ark. (2016) 10 ISSR primeri kullanarak farklı bal arısı popülasyonlarının genetik ilişkilerini inceledikleri çalışmalarda, Ahmad (2018), 100-850 bp arasında değişen 50 polimorfik bant elde ederken, Rahimi ve ark. (2016), 150-1500 bp arasında değişen 40 polimorfik bant elde etmiştir. Bizim çalışmamızda ise 200-10000 bp arasında değişen 425 lokus saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında da farklılıklar söz konusudur (Al-Otaibi, 2008; Shouhani vd. 2014).

A. m. anatoliaca'nın iki ırkından biri olan Muğla ekotipi, Muğla'ya özgün olduğundan dolayı araştırma alanı olarak Muğla ili seçilmiştir. Bu çalışma, araştırma alanını oluşturan 13 ilçenin tamamından toplanan *A. m. anatoliaca* alttürüne ait Muğla ekotipi popülasyonlarının ISSR belirteçleri kullanılarak genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak arı gen kaynakları polimorfik özellik gösterdiği için gen havuzu için kıymetli canlılardır. Yapılan bu yüksek lisans tezi ile *A. m. anatoliaca* alttürünün, Muğla ekotipinin ISSR moleküler markör tekniği kullanılarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Eğer arı gen kaynaklarımızı koruyamazsak ileride yapılacak çalışmalar için varyasyon kaynağımız bulunmayacaktır. Ayrıca bölgemizde yaşanan yangınlar sonucu arı kolonilerinde sert düşüş ciddi bir kayıptır. Bu sebeple koruma çalışmalarının başlatılması ve gerekli önlemlerin alınması oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra bu önemli organizma ile ilgili genetik çeşitliliğin takip edilmesi gerekmektedir. Farklı markör sistemleri kullanılarak bu organizmanın genetik yapısının belirli aralıklarla takip edilmesi besin zincirimizin kilit organizmalarından biri olan *A. m. anatoliaca*'nın korunmasına yönelik çalışmalar bakımından büyük önem taşımaktadır. Gerçekleştirilen bu tez çalışması sonucunda genetik çeşitliliği en yüksek bulunan Bodrum Kısırlar, Kavaklıdere Nebiler ve Ortaca Güzelyurt lokasyonlarında bulunan *A. m. anatoliaca* popülasyonlarının diğer alanlardan daha önce koruma altına alınması gerektiğini göstermektedir. Ancak daha öncede belirtildiği üzere bu organizmaya yönelik daha fazla alandan farklı markör sistemleri ile gerçekleştirilecek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunların yapılmaması durumunda gen kaynağımızın zaman içinde giderek azalmasına ve yok olmasına göz yumacağız.

KAYNAKÇA

- Acar, L. (1998). *Muğla İlinin Sosya-Ekonomik Yapısı*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi 150 s.
- Adam, B. (1987). *Breeding the honeybee: a contribution to the science of bee breeding*. Northern Bee Books.
- Ağaoğlu, Ö. K., ve Ertuğrul, O. (2010). Mikrosatellitlerin Önemi ve Kullanım Alanları. *Veteriner Hekim Derneği Dergisi* , 81 (1), 39-43.
- Ahmad, K. M.-S. (2018). Genetic Characterisation of Honey Bees (*Apis mellifera*) Populations from Kurdistan Region of Iraq via ISSR Markers. *Annual Research and Review in Biology* , 28 (5), 1-9.
- Akyol, E. (2007). Egg Structure and Embryo Development in Honeybees (*Apis mellifera* L.). *Uludag Bee Journal*, 7 (4), 135-144.
- Al-Otaibi, S. (2008). Genetic variability in mite-resistant honey bee using ISSR molecular markers. *Arab Journal of Biotechnology* (11), 241-252.
- Arslan, O. C. (2021). A Preliminary Study for the Application of ISSR Markers to Discriminate Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Populations in Turkey. *Bee Studies* , 12 (2), 43-47.
- Bender, W., Spierer P., Hogness, D. S., and Chambon, P. (1983) Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from the ace and rosy loci and bithorax complex in *D. melanogaster*, *J. Mol. Biol*, 168 (1) 17-33.
- Bhokray, K. (2016). *Artificial Bee Colony Optimization*. Aralık Cumartesi 2022 tarihinde ResearchGate: <https://www.researchgate.net> adresinden alındı.
- Blackiston, H. (2021). *Tracking the Life Cycle of a Honey Bee*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde Dummies A Wiley Brand: <https://www.dummies.com> adresinden alındı.
- Bodenheimer, F. (1942). Türkiye’de bal arısı ve arıcılık hakkında etüdler. *İstanbul: Numune Matbaası*.
- Bodur, Ç., Kence, M., ve Kence, A. (2007). Genetic Structure of Honeybee, *Apis mellifera* L.(hymenoptera:Apidae) populations of Turkey inferred from microsatellite analysis. *Journal of apicultural research* 46(1), 50-56.
- Burlew, R. (2020, Mayıs). *A Worker Bees Life*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde American Bee Journal <https://americanbeejournal.com> adresinden alındı.

- Burucu, V. (2022). *TEPGE*. Arıcılık Ürün Raporu. Ankara: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü.
- Burucu, V. ve Gülse Bal, H. S. (2017). Türkiye’de Arıcılığın Mevcut Durumu ve Bal Üretim Öngörüsü. *Tarım Ekonomi Araştırma Dergisi* , 3 (1), 28-37.
- Cane, J. (2008). Bees (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Encyclopedia of entomology* (2), 419-434.
- Ceksteryte, V., Paplauskıene, V., Tamasauskıene, D., Pasakınskıene, I. ve Mazeikene, I. (2012). Genetic Characterization of Lithuanian honeybee lines based on ISSR polymorphism. *Apidologie* 43(6), 652-662.
- Chen, J., Gloria Degrandi, H., Ratti, V., and Kang, Y. (2021, Kasım Salı). *Review on mathematical modeling of honeybee population dynamics*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde ResearchGate: https://www.researchgate.net/figure/The-life-cycle-of-an-worker-bee_fig1_355920069 adresinden alındı.
- Çakmak, İ. (2004). Arıların Yayılma Ekolojisi ve Bitkisel Üretimdeki Rolü. *Uludağ Bee Journal* , 4 (2), 81-87.
- Çınar, M. U. (2006). *Muğla Yöresi Balarısı (Apis mellifera L.) Popülasyonlarında Morfometrik Varyasyonun Belirlenmesi*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 77 S.
- Dall’olio, R., Marino, A., Lodesani, M., ve Moritz, R. F. (2007). Genetic characterization of Italian honeybees, *Apis mellifera ligustica*, based on microsatellite DNA polymorphisms. *Apidologie* , 38 (2), 207-217.
- Devrim, A. K., ve Kaya, N. (2004). Polimeraz Zincir Reaksiyonu. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* , 10 (2), 209-214.
- Doğaroğlu, M. (2008). *Modern Arıcılık Teknikleri*. İstanbul: Anadolu Ofset San. ve Tic. LTD. ŞTİ.
- Filiz, E., ve Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* , 28 (2), 207-214.
- Günbey, B. (2009). Yayla Balı ile Salgı Balının Yapısal Özellikleri. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 1 (2), 27-30.
- Genç, F., ve Cengiz, M. M. (2020, Aralık). Ana Arı Yetiştirme Teknikleri. *Arıcılık Üzerine Bilimsel Çalışmalar* , 1-7.
- Güz, N.,ve Kılınçer, N. (2012). Böcek sistematığında moleküler markörlerin kullanımı. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 2 (2), 125-146.
- Hammad, M. B. (2018, Haziran Cuma). *Bees and Beekeeping in Ancient Egypt*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde ResearchGate: <https://www.researchgate.net> adresinden alındı.

- Hamrick, J., Godt, M., ve Sherman-Broyless, S. (1990). Factors Influencing Levels Of Genetic Diversty İn Woody Plant Species. *New Forests.*, 6: S.S. 95-124.
- Humagain, S. (2017, kasım 15). *Life cycle of honey bee and uses of honey*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde ResearchGate: <https://onlinesciencenotes.com> adresinden alındı.
- İlyasov, R. A., Lee, M. L., ve Takahashi, J. I., Kwon, H. W., and Nikolenko, A. G. (2020). A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27 (12), 3615-3621.
- Kaftanoğlu, O. (2001). The Concept Of Honey Bee Races And Race Preference. *Uludağ Bee Journal* , 1 (3), 11-19.
- Kahya, S., Büyükcangaz, E., ve Carlı, K. T. (2013). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med* (1), 31-38.
- Kambur, M., ve Kekeçoğlu, M. (2017). Türkiye bal arısı (*Apis mellifera* L.) alttürlerinde genetik çeşitlilik kaybı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 33 (1), 73-84.
- Kandemir, İ. (2018). Beekeeping in Turkey: Past to Present. *Beekeeping in the Mediterranean-From Antiquity to the present*. *Nea Moudania*, 85.
- Kandemir, İ., ve Kence, A. (1995). Allozyme variability in a central Anatolian honeybee (*Apis mellifera* L.) population. *Apidologie* 26 (6), 503-510.
- Kandemir, İ., Kence, M., ve Kence, A. (2000). Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey. *Apidologie* , 31 (3), 343-356.
- Kandemir, İ., Kence, M., ve Kence, A. (2005). Morphometric and Electrophoretic Variation in Different Honeybee (*Apis mellifera* L.) Populations. *Turk. j. Vet. Anim. Sci.* 29 (3), 885-890.
- Karabağ, K., İvgin Tunca, R., Tüten, E., ve Doğaroğlu, T. (2020). Current genetic status of honey bees in Anatolia in terms of thirty polymorphic microsatellite markers. *Türk Entomoloji Dergisi* , 44 (3), 333-346.
- Karacaoğlu, M. (2004). Anadolu Arısı Ege ekotipi (*A. m. anatoliaca*) ve İtalyan (*A.m. ligustica*) x Ege Ekotipi Melezi Arılarının Morfolojik Özellikleri. *ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* , 1 (2), 37-42.
- Karakaş, E. G. (2013). *Genetic Impact of Migratory Beekeeping: Genetic Variation Between Stationary and Migratory Populations of Honey Bee (Apis mellifera L.) in Turkey*. Biology Department. Ankara: Middle East Technical Universty. Master's Thesis. 57 S.
- Karatop, E. Ü. (2021, Şubat 1). *Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ve Real-Time PCR*. Aralık Cumartesi, 2022 tarihinde Labakademi: <https://labakademi.com> adresinden alındı.

- Kekeçoğlu, M. (2009). Bal Arısı Biyoçeşitlilik ve Koruma Çalışmaları. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 1 (2), 3-5.
- Kekeçoğlu, M. (2010). Türkiye'deki Bal Arısı Çeşitliliği. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 2 (4), 5-12.
- Kekeçoğlu, M. (2018). Morphometric divergence of anatolian honeybees through loss of original traits: A dangerous outcome of Turkish apiculture. *Sociobiology* , 65 (2), 232-243.
- Kekeçoğlu, M., Bouga, M., Soysal, M., ve Harizanis, P. (2007). Morphometrics as a Tool for the Study of Genetic Variability of Honey Bees. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty* , 4 (1), 7-15.
- Kekeçoğlu, M., ve Soysal, M. İ. (2010). Genetic Diversity of Bee Ecotypes in Turkey and Evidence for Geographical Differences. *Romanian Biotechnological Letters* , 15 (5), 5646-5653.
- Kence, A. (2006). Türkiye Balarılarında Genetik Çeşitlilik ve Korunmasının Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 6 (1), 25-32.
- Kimura, M., ve F. Crow, J. (1978). Effect of overall phenotypic selection on genetic change at individual loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75 (12), 6168-6171.
- Koday, Z., ve Karadağ, H. (2020). Türkiye'deki Arıcılık Faaliyetleri ve Bal Üretiminin Bölgesel Dağılımı (2007-2018). *Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* , 24 (1), 495-510.
- Kükreler, M. (2013). *Genetic Diversity of Honey Bee Populations in Turkey Based on Microsatellite Markers: A comparison Between Migratory Versus Stationary Apiaries and Isolated Regions Versus Regions Open to Migratory Beekeeping*. Ankara: Middle East Technical University. Master's thesis. 70 S.
- Lewontin, R. C. (1972). The apportionment of human diversity. *Evolutionary biology* (s. 381-398). New York, NY: Springer.
- Maa, T. (1953). An inquiry into the systematics of the tribus Apidini or honeybees (Hym.). *Treubia* , 21 (3), 525-640.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia university press.
- Okumuş, A., Konak, F., Kayaboynu, Ü., ve Bilgi, F. (2012). Arı Genotiplerinin Değerlendirilmesinde Moleküler Genetik Tekniklerin Kullanımı. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 4 (8), 3-7.
- Oskay, D. (2008). Bal Arısı Irklarının Çeşitliliğinin Korunması, Kolonilerin Yönetimi ve Genetik Yapılarının İstenen Yönde Geliştirilmesi Üzerine Model Oluşturulması. *Uludağ Bee Journal* , 8 (2), 63-72.

- Oskay, D., Kükreçer, M., ve Kence, A. (2019). Development of Resistance to American Fool Brood Diseases on Muğla Honey Bee (*Apis mellifera anatoliaca*). *Journal of Apiculture Research* , 11 (1), 8-20.
- Otis, G. W. (1996) Distributions of Recently Recognized Species of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*) in Asia. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 311-333.
- Özşensoy, Y., ve Kurar, E. (2012). Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* , 10 (2), 11-19.
- Paplauskienė, V., Čeksterytė, V., Pašakinskienė, I., Tamašauskienė, D., ve Račys, J. (2006). The Use of ISSR Method For the Assessment of Bee Genetic Diversity. *Biologija* 52 (3), 16-20.
- Peakall, R. Smouse P.E (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 20, 2537-2539.
- Rahimi, A., Mirmoayed, A., Kahrizi, D., Zarei, L., ve Jamali, S. (2016). Genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations based on ISSR markers. *Cellular and Molecular Biology* , 62 (4), 53-58.
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer Link.
- Sabır, A., Tangolar, S., ve Büyükalaca, S. (2008). Moleküler Markör Tekniklerinin Bağcılıkta Kullanımı. *alatarım*, 7 (2), 26-33.
- Settar, A. (1983). *Ege Bölgesi arı tipleri ve gezginci arıcılık üzerine araştırmalar*. İzmir: Ege Ziraat Araştırma Enstitüsü.
- Sıralı, R. (2009). Türkiye'nin Önemli Bal Üretim Bölgeleri. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 1 (1), 16-21.
- Sıralı, R., Şengül, T., ve Yıldız, İ. (2003). Investigations on Some Morphological Characteristics of the Honey Bees (*Apis mellifera* L.) of the Harran Plain-Turkey. *Uludağ Bee Journal* , 3 (4), 30-36.
- Sıralı, R., Cınbırtoğlu, Ş., & Develi, Z. Ş. (2017). Some Important Characteristics of Anatolian Bee (*Apis mellifera anatoliaca*). *Uludağ Bee Journal* , 17 (2), 82-92.
- Sıralı, R., Maraz, Z., ve Aksoy, D. (2018). Türkiye Arıcılığının 1935 Yılından 2015 Yılına Kadar Değerlendirilmesi. *Uludağ Bee Journal* , 18 (1), 52-62.
- Shouhani, H., Dousti, A.F., Radjabi, R., ve Zareh, M. (2014). Application of ISSR to study the genetic diversity of honeybee (*Apis mellifera* L.) populations in some areas of Iran. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 3 (2), 127-131.

- Smith, D. R. (2002). Genetic Diversity in Turkish Honey Bees. *Uludag Bee Journal* , 2 (3), 10-17.
- Smith, D., Slaymaker, A., Palmer, M., ve Kaftanoğlu, O. (1997). Turkish honey bees belong to the east Mediterranean mitochondrial lineage. *Apidologie* , 28 (5), 239-274.
- Soysal, M. İ., Konak, F., ve Kekeçoğlu, M. (2010). Bal Arısının Taksonomisi ve Orjini. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 1 (3), 1-5.
- Srinivasan, M. (2010). *Biodiversity of honeybees*. Hindistan: Department of Agricultural Entomology-Tamil Nadu Agricultural University.
- Taşkıran, N. Ö., Dayıoğlu, M., ve Kabakçı, D. (2017). Bal Arılarının (*Apis mellifera* L.) Sınıflandırılması ve Ekolojik Koşulların Morfolojisi Üzerine Etkisi. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 9 (2), 68-77.
- Tunca, R. İ., ve Kence, M. (2011). Genetic diversity of honey bee (*Apis mellifera* L.: Hymenoptera: Apidae) populations in Turkey revealed by RAPD markers. *African Journal of Agricultural Research* , 6 (29), 6217-6225.
- TÜİK. (2021, Aralık 25). Aralık cumartesi, 2021 tarihinde TÜİK web sitesi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-Haziran-2021-37208> adresinden alındı.
- Türkyılmaz, S., ve Esendal, Ö. M. (2002). Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Mikrobiyolojide Kullanım Alanları. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* , 8 (1), 71-76.
- Ulu, E., ve Cacina, C. (2020). Polimeraz Zincir Reaksiyonu. *Moleküler Tıp Özel Sayı* , 9 (2), 37-41.
- Wright, S. (1951). The Genetical Structure of Populations. *Annals of Eugenics*, 15(4), 323-354.
- Yaşar, N. (2010). Arı ve İnsan. *Arıcılık Araştırma Dergisi* , 2 (3), 9-10.
- Yeh, I. C., ve Berkowitz, M. L. (1999). Ewald summation for systems with slab geometry. *The Journal of chemical physics* , 111 (7), 3155-3162.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., ve Tanur Erkoyuncu, M. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Journal of Bahri Dagdas Crop Research* , 4 (2), 1-12.
- Yücel, B., ve Kösoğlu, M. (2011). Ege Bölgesi'nde Muğla Ekotipi ve İtalyan Melezi Bal Arılarının Kimi Performans Özellikleri Bakımından Karşılaştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* , 17 (6), 1025-1029.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : S* A*
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi: M*/ 0*.0*.1*
Medeni Hali : B*
Telefon : 0538 *** *****
E-posta : s*@hotmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Ortaca Yunus Emre Anadolu Lisesi	2014
Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	2018
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2022

Yabancı Dil

Dil (İngilizce)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma		X	
Anlama		X	
Okuma		X	

Bilimsel Faaliyetler

1. I. Ulusal Mikoloji Günleri, Erzurum Teknik Üniversitesi, 1-4 Eylül
2. Uluslararası Katılımlı Nobelyum Bilim Kongresi, Erzurum Teknik Üniversitesi, 14-15 Nisan 2018, Katılımcı
3. Geleneksel GDO Münazarası, Erzurum Teknik Üniversitesi 3 Mayıs 2018, Katılımcı
4. Tıbbi Moleküler Genetik Konferansı, Erzurum Teknik Üniversitesi, Katılımcı
5. Yüksek Öğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi. Muğla İlinde Yayılış Gösteren *Apis mellifera anatoliaca* Maa, 1953 (Anadolu Bal Arısı)'nın Muğla Ekotipinin Genetik Çeşitliliğinin ISSR Belirteçleri Kullanılarak Belirlenmesi, 2021, Araştırmacı
6. XIV. Fen Bilimleri Araştırma Sempozyumu, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, 27 Mayıs 2022, Poster Sunumu