

**ANKARA İLİ VE ÇEVRESİ *BOMBUS* (S.LATO) LATREILLE
(HYMENOPTERA: APIDAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE
BÜTÜNLEŞİK TAKSONOMİK ARAŞTIRMALARI**

**INTEGRATED TAXONOMIC STUDIES ON *BOMBUS*
(S.LATO) LATREILLE (HYMENOPTERA: APIDAE)
SPECIES IN ANKARA REGION**

REFİKA GÜNALP

PROF. DR. NEVİN KESKİN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2019

Refika GÜNALP'in hazırladığı "Ankara İli Ve Çevresi Bombus (S.Lato) Latreille (Hymenoptera: Apidae) Türleri Üzerinde Bütünleşik Taksonomik Araştırmaları" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

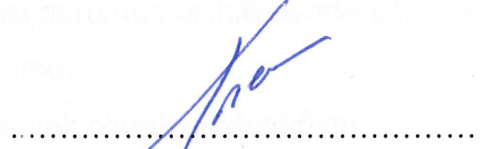
Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Başkan



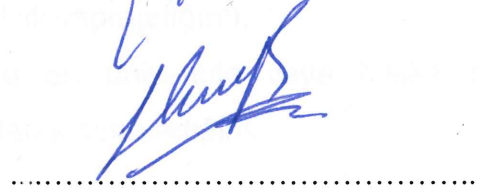
Prof. Dr. Nevin KESKİN

Danışman



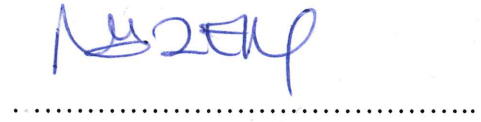
Prof. Dr. Hatice MERGEN

Üye



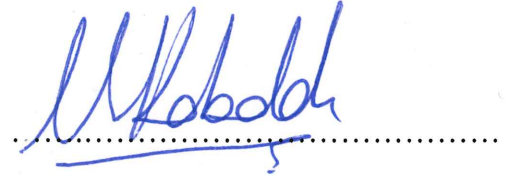
Prof. Dr. Nurdan ÖZER

Üye



Doç. Dr. Mahmut KABALAK

Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak / / tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

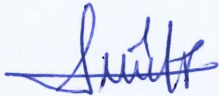
ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

27 / 08 / 2019



REFİKA GÜNALP

YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKKLARI BEYANI

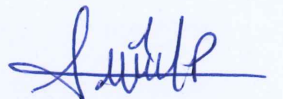
Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H. Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir.
- ☐ Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

27 / 08 /2019


REFİKA GÜNALP

ÖZET

ANKARA İLİ VE ÇEVRESİ *BOMBUS* (S.LATO) LATREILLE (HYMENOPTERA: APIDAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE BÜTÜNLEŞİK TAKSONOMİK ARAŞTIRMALARI

Refika GÜNALP

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

TezDanışmanı: Prof. Dr. NEVİN KESKİN

İkinci Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi BANU ŞEBNEM ÖNDER

Ağustos 2019,XII+75Sayfa

Bombus (s.l.) Latreille cinsi, Bombinae alt familyası içerisinde yer alan böceklerdir. Dünya üzerinde 250'den fazla, Türkiye'de ise yaklaşık 48 tür ile temsil edilmektedir. Cins içerisinde kriptik türlerin varlığı bombus taksonomisinde tartışmalı olarak kalmıştır. Son on yıla kadar sadece geleneksel klasik yöntemlerin kullanılması problemlerin çözülmesinde yeterli olmamıştır. Bu açıdan farklı yöntem ve yaklaşımlara ihtiyaç duyulmuş ve bombus taksonomisinin aydınlatılmasına katkı sağlayacağı düşünülerek bu tez çalışması planlanmıştır. Tez çalışması kapsamında *Bombus* (s.l.) cinsine ait bireyler üzerinde bütünleşik taksonomik yöntemlerin kullanılması amaçlanmıştır. Laboratuvar koşullarında teşhis anahtarları ve koleksiyon örnekleri yardımıyla morfolojik teşhisi yapılan 125 dişi ve 48 erkek bireyden, dişi bireylerin ön kanatlarında geometrik morfometrik analizler uygulanmıştır. Morfolojik tür teşhisi yapılan bireyler üzerinden gruplar

oluşturularak bu tahmini türler içerisinden 12 temsili birey seçilip bu bireylerin mitokondriyal DNA kısmi sitokrom c oksidaz I (COI) gen bölgesi dizileri kullanarak karşılaştırmalı tür teşhisi çalışmaları yrtlmştır. Çalışma sonucunda, Morfolojik karakterlere bakılarak 6 alt cins ve 10 tür tanımlanmıştır. Bu sonuçlar Geometrik Morfometri ve COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Geometrik Morfometri yöntemi ile 125 bireyin ancak altcins seviyesinde ayırımı gerekleştirilmıştır. Geometrik Morfometri yöntemi ile tür sınırlarının ayırımında ise, başarılı bir sonuç elde edilememiştir. Fakat COI gen bölgesi DNA dizi sonuçlarının türlerin sınırlarını birbirinden ayırmada daha açıklayıcı sonuç verdiği, Morfolojik tür teşhisinin ve Geometrik Morfometri yaklaşımının tek başına yeterli bir yöntem olmadığı dolayısıyla  yöntemin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesinin gerektiği sonucu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bütünleşik Taksonomi, COI, Geometrik Morfometri, *Bombus* (s.l.), Tr Sınırlarının Belirlenmesi, Ankara

ABSTRACT

INTEGRATED TAXONOMIC STUDIES ON BOMBUS (S.LATO) LATREILLE (HYMENOPTERA: APIDAE) SPECIES IN ANKARA REGION

Refika GÜNALP

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nevin KESKİN

Co-supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Banu Şebnem ÖNDER

August 2019,XII+75Sayfa

Genus *Bombus* (s.l.) Latreille is the insects which are members of Bombinae subfamily. The genus contains over 250 species in the world and approximately 48 of these species are distributed in Turkey. The existence of cryptic species in the genus remains controversial in bombus taxa. Until the last decade, using only traditional classical methods has not been enough to solve the problems. In this respect, different methods and approaches were needed and this thesis was planned considering that it would contribute to the elucidation of bombus taxonomy. Within the scope of the thesis, it is aimed to use integrated taxonomic methods on individuals belonging to the genus *Bombus* (s.l.). Geometric morphometric analyses were performed on the front wings of female individuals from 125 female and 48 male individuals whose morphological diagnosis was made with the help of diagnostic keys and collection samples under laboratory conditions. Comparative

species diagnosis studies were carried out using mitochondrial DNA partial cytochrome c oxidase I (COI) gene site sequences by selecting 12 representative individuals from these estimated species by forming groups based on individuals diagnosed with morphological species. As a result of the study, 6 subgenus and 10 species were described based on morphological characters. These results were compared with geometric morphometry and COI gene region DNA sequence analysis results. With the method of geometric morphometry, 125 individuals were separated only at the subgenus level. A successful result could not be obtained in the delimitation of species boundaries by the method of geometric morphometry. However, it was determined that the COI gene region DNA sequence results were more descriptive in distinguishing the boundaries of species, and that morphological species diagnosis and geometric morphometry approach alone were not sufficient, therefore the three methods needed to be evaluated comparatively.

Key words: Integrated Taxonomy, COI, Geometric Morphometry, *Bombus* (s.l.), Species Boundary Delimitation, Ankara

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yol gösterici olan çalışmamın ortaya konmasında tüm imkanlarını sunan danışmanım Prof. Dr. Nevin KESKİN'e,

Tüm yoğunluğuna rağmen hiç bıkmadan bilgisini aktaran tüm imkanlarını sunarak çalışmama destek olan eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Banu Şebnem ÖNDER'e,

Yüksek lisansa başladığım daha ilk günlerde arıyı ve arı ürünlerini sevdiren hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Aslı ÖZKÖK'e,

Tez çalışmamda değerli desteği ile beni onurlandıran Prof. Dr. İrfan KANDEMİR'e,

Başım ne zaman sıkışsa bilgisi ve tecrübesiyle imdadıma koşan Memet GÖZÜBÖYÜK'e,

Desteklerinden dolayı Meltem ULUSOY'a, Cansu AKSOY'a ve İrem ÇELEBİER'e,

Son olarak; kendini unutup benim tez çalışmam için her yere koşan, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan sevgisi ve desteğiyle bana güç veren eşim Celal GÜNALP'e; tüm hayatım boyunca beni cesaretlendiren yanımda olan tanıdığım en güçlü ve özverili insana, Annem'e ve Babam'a sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER	viii
ŞEKİLLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Bombus</i> (s.lato) Latreille Türlerinin Önemi	4
2.2. Apidae Familyasıyla İlgili Genel Bilgiler	4
2.3. Bombinae Altfamilyası Biyolojik Özellikleri	6
2.4. <i>Bombus</i> Latreille Cinsi İle İlgili Genel Bilgiler”	7
2.5.Geometrik Morfometrik Yaklaşımı	12
2.6. Moleküler Taksonomik Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	7
3.2. Morfolojik Tür Teşhisi	22
3.3. Geometrik Morfometrik Çalışmaları	23
3.4. Moleküler Çalışmalar	25
3.4.1. Total Genomik DNA İzolasyonu.....	25
3.4.2. DNA Kantitesi ve Kalitesinin Ölçülmesi	26
3.4.3. Gen Bölgesi için Primerlerin Tespiti.....	26
3.4.4. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Prensibi.....	27
3.4.5. PZR Karışımı.....	28
3.4.6. Agaroz Jel Elektroforezi.....	28
3.4.7. DNA Dizi Analizi.....	29
4. BULGULAR	31
4.1. Morfolojik Tür Teşhisi Sonuçları	31
4.2. Geometrik Morfometrik Tür Teşhisi Sonuçları	31
4.2.1. Dişi Bireylerde Ön Kanatlara Ait Morfometrik Sonuçlar	31
4.3.COI Gen Bölgesi DNA Dizi Analizi Sonuçları	56

5. TARTIŞMA	60
6. KAYNAKLAR	66
EKLER.....	74
EK-1 Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	74
ÖZGEÇMİŞ.....	75



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. <i>Bombus</i> cinsi erkek genital organına ait kısımların isimlendirilmesinde kullanılan farklı terimler	12
Çizelge 3.1. Ankara ili ve çevresi lokalitelere göre toplanan ve teşhis edilen bireyler.	17
Çizelge 3.2. Ankara ili ve çevresi toplanan <i>Bombus</i> (s.l.) cinsi dişi bireylere ait bilgiler.....	18
Çizelge 3.3. Ankara ili ve çevresi toplanan <i>Bombus</i> (s.l.) cinsi erkek bireylere ait bilgiler.....	21
Çizelge 3.4. COI Gen bölgesini kısmi çoğaltmak için kullanılan primerler.	27
Çizelge 3.5. PZR Karışımı içeriği.	28
Çizelge 4.1. Tespit edilen türler ve türlere ait eşey bilgileri.	31
Çizelge 4.2. PCA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.....	33
Çizelge 4.3. TpsRwl programından [86] elde edilen görece warp'lar.	37
Çizelge 4.4. TpsRwl programından [86] elde edilen görece warp'lar.	38
Çizelge 4.5. Dişi bireylerde PLS Analizi ile hesaplanan tek ve % değerler.	39
Çizelge 4.6. CVA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.....	56
Çizelge 4.7. BLAST programında karşılaştırılarak tespit edilen türlere ait giriş kodları..	57
Çizelge 4.8. COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçları	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Aculeata'nın filogenisi [26].	5
Şekil 2.2.	Bombus arısı yaşam döngüsü.	7
Şekil 2.3.	Dişi bir bombus arısında başın anterior görüntüsü [41].	8
Şekil 2.4.	Bombus arısında toraks yapısının dorsalden görüntüsü [44].	9
Şekil 2.5.	Dişi bir bombus arısında birinci ve üçüncü çift bacakların dorsalden şematik görüntüsü.	10
Şekil 2.6.	Bombus arısında abdomenin dorsalden görüntüsü [44].	11
Şekil 2.7.	Megabombus erkek genital organ [49].	12
Şekil 2.8.	Bombus ignitus mitokondriyal genom haritası [68].	15
Şekil 3.1.	Bombus (s.l.) cinsine ait örneklerin toplandığı Ankara ili haritası.	23
Şekil 3.2.	Ön kanatta kullanılan landmarklar [76].	24
Şekil 3.3.	mtDNA İzolasyonu, lizis işlemi.	25
Şekil 3.4.	PZR reaksiyon basamakları.	28
Şekil 3.5.	Bombus (s.l.) cinsi örneklerine ait PZR ürünü, agaroz jel elektroforezi.	29
Şekil 3.6.	mtDNA gen bölgesi için BLAST görüntüsü.	30
Şekil 4.1.	Dişi bireylerin ön kanatlarında varyasyon miktarını gösteren eğri.	32
Şekil 4.2.	MorphoJ programında uygulanan New Procrustes Fit analizi sonrası dişi bireylerin ön kanatlarındaki landmarkların dağılımı.	32
Şekil 4.3.	Temel öğeler analizine göre bireylere ait kanat morfolojisinde tespit edilen biçimsel farklılıklar.	34
Şekil 4.4.	Bireylerin PC1 - PC2 üzerindeki dağılımı.	35
Şekil 4.5.	Bireylerin PC1 - PC3 üzerindeki dağılımı.	36
Şekil 4.6.	Bireylerin PC2 - PC3 üzerindeki dağılımı.	37
Şekil 4.7.	B. lapidarius ile B. niveatus türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	40
Şekil 4.8.	B. lapidarius ile B. terrestris türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	40
Şekil 4.9.	B. lapidarius ile B. argillaceus türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	41
Şekil 4.10.	B. lapidarius ile B. humilis türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	41

Şekil 4.11. <i>B. lapidarius</i> ile <i>B. pascuorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	42
Şekil 4.12. <i>B. lapidarius</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	42
Şekil 4.13. <i>B. lapidarius</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	43
Şekil 4.14. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. terrestris</i> türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	43
Şekil 4.15. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. argillaceus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	44
Şekil 4.16. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. humulis</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	44
Şekil 4.17. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. pascuorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	45
Şekil 4.18. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	45
Şekil 4.19. <i>B. niveatus</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	46
Şekil 4.20. <i>B. terrestris</i> ile <i>B. argillaceus</i> türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	46
Şekil 4.21. <i>B. terrestris</i> ile <i>B. humulis</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	47
Şekil 4.22. <i>B. terrestris</i> ile <i>B. pascuorum</i> türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	47
Şekil 4.23. <i>B. terrestris</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	48
Şekil 4.24. <i>B. terrestris</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	48
Şekil 4.25. <i>B. argillaceus</i> ile <i>B. humulis</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	49
Şekil 4.26. <i>B. argillaceus</i> ile <i>B. pascuorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	49

Şekil 4.27. <i>B. argillaceus</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	50
Şekil 4.28. <i>B. argillaceus</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	50
Şekil 4.29. <i>B. humulis</i> ile <i>B. pascuorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	51
Şekil 4.30. <i>B. humulis</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	51
Şekil 4.31. <i>B. humulis</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	52
Şekil 4.32. <i>B. pascuorum</i> ile <i>B. pomorum</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	52
Şekil 4.33. <i>B. pascuorum</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	53
Şekil 4.34. <i>B. pomorum</i> ile <i>B. zonatus</i> türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).	53
Şekil 4.35. Dişi bireylerin ön kanatlarında CV1 ve CV2 değişkene göre dağılım grafiği.	54
Şekil 4.36. Dişi bireylerin ön kanatlarında CV1 ve CV3 değişkene göre dağılım grafiği.	55
Şekil 4.37. Dişi bireylerin ön kanatlarında türlerin CV2 ve CV3 değişkene göre dağılım grafiği.	55
Şekil 4.38. <i>Bombus</i> (s.l.) cinsine ait türlerin türler arası genetik uzaklığı (K2P). 58	
Şekil 4.39. DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Dendrogram).	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

♀	Dişi
♂	Erkek

Kısaltmalar

CANOVAR	Kanonik Varyans Analizi (Canonical Variate Analysis)
COI	Sitokrom oksidaz I
COII	Sitokrom oksidaz II
DNA	Deoksiribonükleik Asit
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NJ	Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Dendogram)
PC	Temel Bileşen
PCA	Temel Öğeler Analizi (Principal Component Analysis)
PLS	Diskriminant Analizi (Partial Least Squares)
RAD(seq)	Restriksiyon Bölgesi ile İlişkili DNA Etiket Dizilimi
RFLP	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
RNA	Ribonükleik Asit
<i>s.l.</i>	sensu lato
<i>s. str.</i>	sensu stricto
TP	Tabiat Parkı
TPS	İnce Tabaka Analizi (Thin Plate Spline)
UPGMA	Ağırlıklı Olmayan Çift Grup Ortalamaları Analizi (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

1.GİRİŞ

Bilim insanlarının dünyadaki biyolojik çeşitliliği anlama çabalarına rağmen günümüzde yaşayan organizmaların sayısı hala kesinlik kazanmış değildir. Yapılan araştırmalara göre 10 - 15 milyon türün iki milyondan azının bilimsel olarak tanımlandığı, mevcut türlerin yaklaşık % 86'sının ve okyanustaki türlerin% 91'inin hala açıklanmayı beklediği tahmin edilmektedir [1].

Taksonomi ve sistematik kelimeleri iç içe geçmiş ve geçmişten bu zamana birbiri yerine kullanılmıştır. Fakat bakıldığında; taksonomi genellikle organizmaları sınıflandırmanın teoriği ve pratiği olarak tanımlarken, sistematik ise; biyolojik çeşitliliği bütün yönleri ile inceleyen bir bilim dalıdır [2, 3]. Taksonomi; yeni taksonların tanımlanması, adlandırılması ve organizmaların uygun bir sınıflama sistemi içerisinde düzenlenmesi gibi bir dizi alanı kapsar. Sistematik bu anlamda taksonomiye de içine alır [4].

Tür kavramı biyoçeşitlilik sınıflandırmasının merkezinde yer alsa da bu konuda tartışmalar hala sürmektedir [5, 6]. Aslında türlerin sınırlarının belirlenmesi evrimsel biyolojide ve koruma biyolojisinde temel bir boyut oluştururken, yakın ilişkili türlerin taksonomik sınırlarının belirlenmesi, çoğunlukla tanısal morfolojik karakterlerin eksikliği nedeniyle mümkün olmamaktadır [7, 8, 9, 10]. Bombus arısı (Cins: *Bombus* Latreille) taksonomisi bu konuyu örneklendirmektedir. Farklı türler morfolojik olarak benzer (Örneğin; Kriptik türler) özellikler gösterebilirken, aynı türe ait örnekler şaşırtıcı şekilde farklılık gösterebilmektedir [11, 12, 13].

Tür tanımlamasında ve biyoçeşitliliğin belirlenmesinde doğru teşhis kritik bir öneme sahiptir. Bilindiği gibi türlerin teşhisleri genellikle morfolojik karakterler dikkate alınarak yapılmaktadır. Doğada keşfedilmeyi bekleyen milyonlarca tür varken mevcut biyolojik çeşitliliği sadece klasik yöntemlerle keşfetmek neredeyse imkansız hale gelmiştir [14]. Organizmalar, bir dizi ortak ve farklı morfolojik özelliklere göre Linnaean Taksonomisi'ne dayanan gruplar veya taksonlar halinde gruplandırılır [15].

Klasik Taksonomi’de, karşılaştırma için morfolojik, anatomik, histolojik ve kromozom gibi karakterler kullanılırken seçilen karakterlerin gruplar arasında değişkenlik göstermesi gerekir. Böylelikle gruplar arası ilişkiler hakkında tahminler yürütülür. Tahminler yapılırken karakterlerin analog - homolog ilişkilerine bakılır. Bu durum karakterlerin karşılaştırılmasında taksonomistlere sorun yaratır. Çünkü bu yaklaşımda kişisel yargılara ve tecrübeye ihtiyaç duyulur.

Fenetik taksonomik yaklaşımda; çok sayıda morfolojik karakter kullanılır. Bu taksonomi homoloji-analoji arasındaki ilişkiyi dikkate almadan objektif bir şekilde davranır. Fenetikte, türün tüm karakterleri birbirleriyle karşılaştırılarak farklılıklar hesaplanır. Türler arası uzaklıklara göre bir diyagram oluşturulur. Fakat bu yaklaşımda da uzaklığı hesaplanan ve oluşturulan diyagramların kökenlerinin olmayışı, dal uzunluklarının hesaplanmasında hatalar ve belirsizlikler, şans faktörlerinin etkisi ile bazı sapmaların meydana gelmesi gibi sorunlar bulunmaktadır. Fenetik Taksonomi’de en sık kullanılan metod, “Geometrik Morfometri”dir.

Moleküler Sistemik yaklaşımın temelini moleküler metodlar oluşturmaktadır. DNA-RNA-protein’lerin kullanıldığı araştırmalarda nükleik asitler ve proteinler karakter olarak ele alınır. Bu dizelerdeki değişimler uygun bilgisayar programları ile anlamlı istatistiksel veriler haline getirilir ve akrabalık ilişkilerini belirlemek için yorumlanır. Bu taksonomik yöntemlerin her biri kendi içerisinde avantaj ve dezavantajlara sahip olmakla birlikte moleküler taksonomi yaklaşımı kısa sürede çok önemli bilgilerin elde edilmesine olanak verdiği için önemli bir araç olarak görülmektedir.

Taksonomik çalışmalarda, sadece belirli bir karakterin kullanılması türlerin sınırlandırılmasında yeterli olmamaktadır. Hatta zaman zaman türler çakışabilmektedir. Bombus arıları erkek bireylerinin taksonomik çalışmaları bu durumu örneklendirmektedir [16]. Bombus arısı türlerini, yalnız tüy desenlenmelerine göre doğru tanımlamak ve sınıflandırmak mümkün değildir [17, 18].

Bombus arılarının taksonomisinde çözülmeyi bekleyen sorunlar vardır. Sorunlu grupların çözülmesi için; DNA çalışmaları, allozim tabanlı modeller, eşeysel feromon

analizi gibi gerek kladistik gerekse klasik yöntemlerin morfometri gibi alternatif yöntemlerle birleşerek bütünleşik bir şekilde uygulanması amaçlanmış ve taksonomistler çalışmalarını bu tarafa doğru yönlendirmiştir [19].

Bu çalışmada klasik taksonomik yaklaşımlarla tespit edilen *Bombus* Latreille (Hymenoptera: Apidae) cinsi örnekleri bu kapsamda ele alınmış; geometrik morfometrik gibi alternatif yöntemler ve moleküler taksonomik yöntemler neticesinde elde edilen veriler karşılaştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Bombus* (s.lato) Latreille Türlerinin Önemi

Faydalı böcekler statüsünde değerlendirilen ve Hymenoptera takımı içerisinde yer alan böcek türleri içerisinde en tanınmış gruplardan birini de bombus arıları (*Bombus* Latreille, 1852) oluşturmaktadır [20]. Göz alıcı renklere sahip bombus arıları pekçok bitkinin de önemli tozlayıcısı olarak doğada biyoçeşitliliğe katkı sağlamaktadır. Gelişmiş termoregülatör mekanizmaları sayesinde çok düşük sıcaklıklarda bile diğer arılara kıyasla daha iyi aktivite gösterebilirler [21]. Dünyada tahmini 250'nin üzerinde *Bombus* (s.l.) türü bulunmaktadır. Türkiye ise; 48 tür bulunmakta olup bulunduğu coğrafya bakımından Türkiye en zengin ülkelerden birisi konumundadır [19, 22, 23].

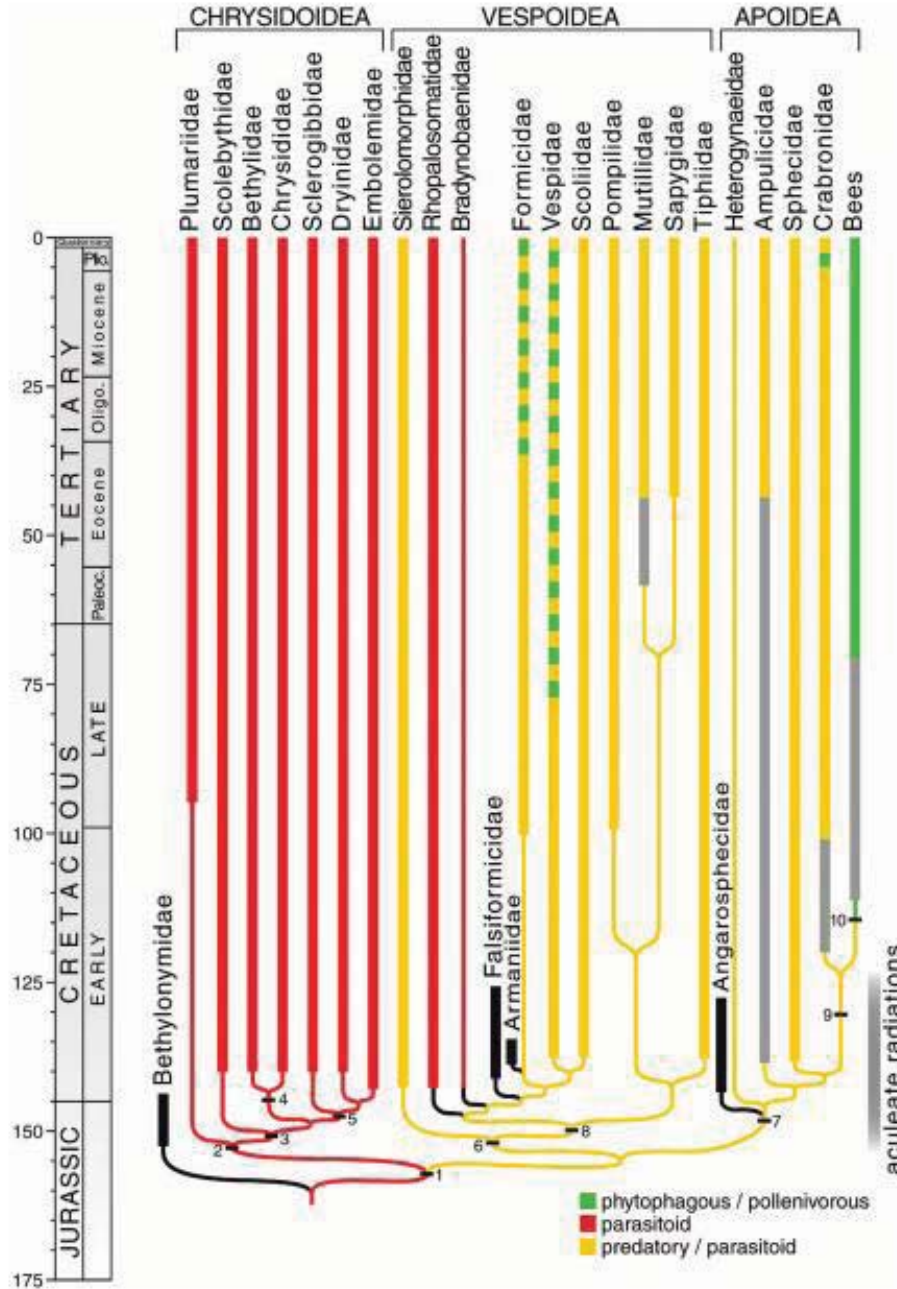
Bombus arıları doğada bulunan yabani bitkilerin ve kültür bitkilerinin tozlaşmasında oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu polinatör arılar ticari olarak üretilen ürünlerde özellikle de sera alanlarında tozlaşmada yoğun olarak kullanılmaktadır [24, 25].

2.2. Apidae Familyasıyla İlgili Genel Bilgiler

Hymenoptera yani Zarkanatlılar takımında yaklaşık olarak 125.000 tanımlanmış tür bulunmaktadır [26]. Hymenoptera takımı; Symphyta ve Apocrita olmak üzere iki alttakıma ayrılmaktadır. Symphyta'da abdomen toraksa sıkı sıkıya bağlı olup Apocrita'da ise; abdomenin bazal toraks ile kaynaşmıştır ve abdomenin diğer kalan segmentleri bu yapıdan ince bir bel bölgesi ile ayrılmıştır [27].

Symphyta larvaları eruciform (tırtıl benzeri) yapıda olup, uçları tırnaklı üç çift torasik bacak ve birkaç karın bacağına sahiptir. Apocrita larvaları ise, bacaksızdır. Baş kapsülleri körelmiştir ve güçlü mandibulalara sahiptir [28]. Symphyta'dan Ichneumonoidea ve Chalcidoidea gibi gruplar türemiş; bu gruplardan da Vespoidea ve Sphecoidea evrimleşmiştir [29]. Ichneumonoidea Aculeata'nın kardeş grubudur (Şekil 2.1) [26].

Apocrita alttakımı monofiletik bir gruptur. Apocrita; Aculeata ve Parasitica (parazitoid yaban arıları) olmak üzere iki grupta incelenir. Aculeata; dört gruba ayrılmaktadır: Arılar (Apoidea), predatör yaban arıları (Vespoidea), parazitoid aculeatlar (Chrysidoidea) ve karıncalar (Formicoidea) [28]. Aculeata içerisinde Chrysidoidea bazal gruptur (Şekil 2.1) [26].



Şekil 2.1. Aculeata'nın filogenisi [26].

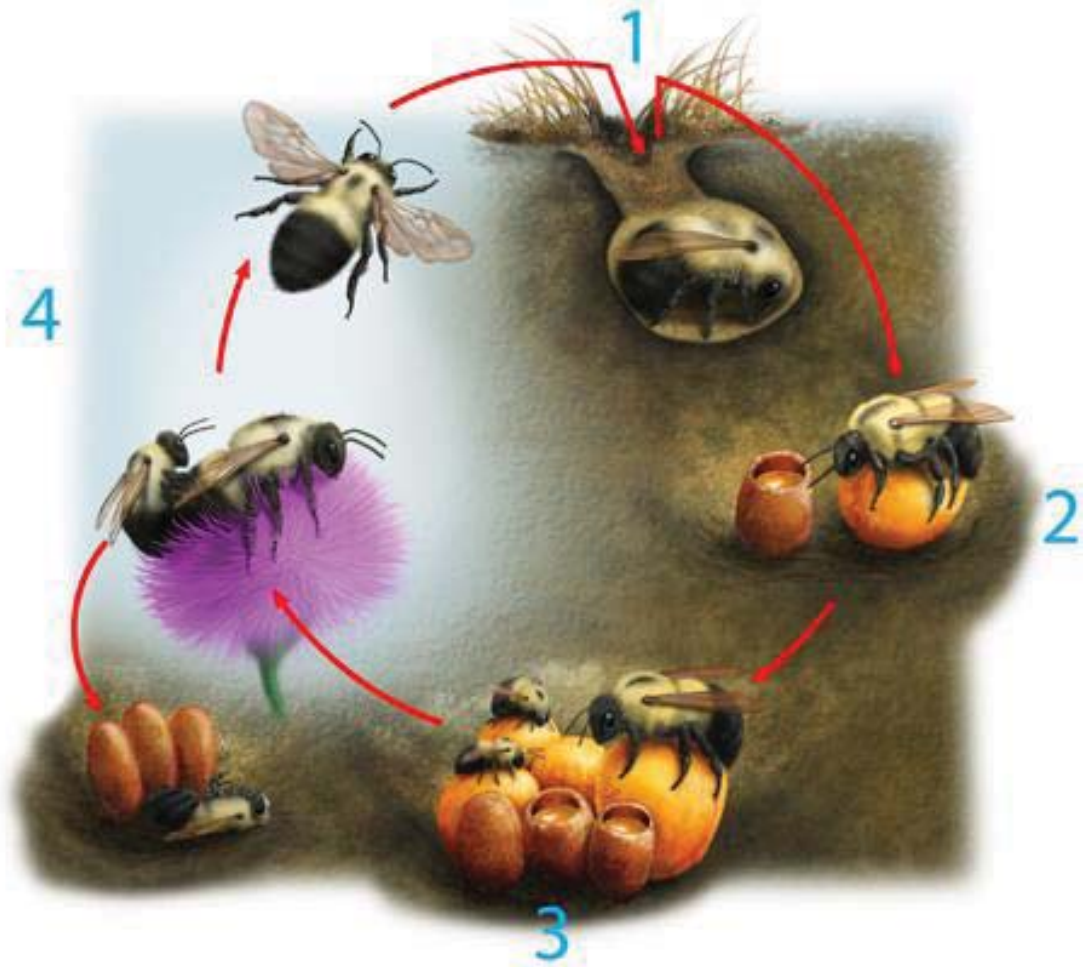
30.000 kadar tanımlanmış türü bulunan Apoidea üstfamilyası Kretase dönemi içerisinde yaklaşık 120 - 125 milyon yıl önce ortaya çıkmıştır [26]. Apoidea üstfamilyası iki grupta incelenmekte olup ilk grup Apiformes (gerçek arılar) ikinci grup ise; Spheciformes (spheciform yaban arıları)'tir [30, 31, 26]. Apiformes grubunu uzun dil yapısına sahip Apidae ve Megachilidae familyaları ile kısa dil yapısına sahip Colletidae, Halictidae, Andrenidae ve Mellitidae familyaları oluşturmaktadır. Spheciformes grubunda ise; Angarosphecidae, Heterognaeidae, Ampulicidae, Crabronidae ve Sphecidae familyaları yer almaktadır [26]. Apidae familyası içerisinde bulunan ve günümüze kadar neslini sürdüren tek cins; *Bombus* (s.l.) cinsidir [32]. Bombini tribüsünü; Apini - bal arıları, Meliponini - iğnesiz arılar ve Euglossini - primer tropikal orkide arılar ile korbikulat arılar oluşmaktadır [31, 33].

2.3. Bombinae Altfamilyası Biyolojik Özellikleri

Bombinae altfamilyasına ait arılar, iri vücut yapılarına sahip olmaları ve göz alıcı renkteki tüyleri ile doğada hemen fark edilirler. Doğada sosyal yaşayan bu arıların birey sayısı, türlere bağlı olarak 30-200 arasında değişen küçük kolonilerdir. Genel olarak bir kolonide; ana arı (kraliçe) işçi arılar ve erkek arılar bulunmaktadır [17].

Bombus arılarının koloni yaşam döngüsü sürekli olmayıp, belirli bir dönemle sınırlı olmaktadır. Koloni, gelişimini tamamladığında artık ana arının etkisi azalmakta hatta tamamen yok olma seviyesine ulaşmaktadır. Bu noktaya gelindiğinde de koloni yeni sezon için ana arı ve erkek arı üretmeye başlamaktadır [34, 35]. Yeni sezona yetiştirilen ana arılar çiftleşme uçuşuna çıkar. Çiftleşen ana arılar toprak altında uygun bir yer bularak, diapoza (hibernasyon) girmektedir. Ana arı dışında kolonide kalan tüm bireyler ölmekte dolayısıyla koloni yaşamı sona ermektedir. Uygun iklim koşulları ve flora kapasitesinde ana arılar diapoza dan çıkmaktadır. Diapoza dan çıkan her ana arı toprak altında ya da boş ağaç kovuklarında yuva kurarak kendi kolonisini oluşturmaktadır. Ana arı koloni oluşturma sürecinin başında genellikle işçi arıların geliştiği diploid yumurtaları yumurtlar. Bu işçi arılar ergin hale geldikten sonra koloni gelişiminin ileriki aşamalarında ana arıya yardımcı olurlar ve sonuçta koloni popülasyonu doğrusal bir şekilde gelişerek en üst seviyeye ulaşır. İşçi arı popülasyonu belirli bir sayıya ulaştığında koloni ana arı ve erkek arılar üretmeye başlar. Erkek ve ana arılar cinsel olgunluğa ulaştığında yeniden çiftleşmek için

koloniden ayrılmaktadır. Kolonide geriye kalan yaşlı ana arı ve işçi arılar ise ölmektedir. Bu durumda koloni yaşamı bir mevsimle sınırlanmaktadır [36, 37]. (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Bombus arısı yaşam döngüsü.

2.4. *Bombus* Latreille Cinsi İle İlgili Genel Bilgiler

Takım: Hymenoptera

Alttakım: Apocrita

Üstfamilya : Apoidea

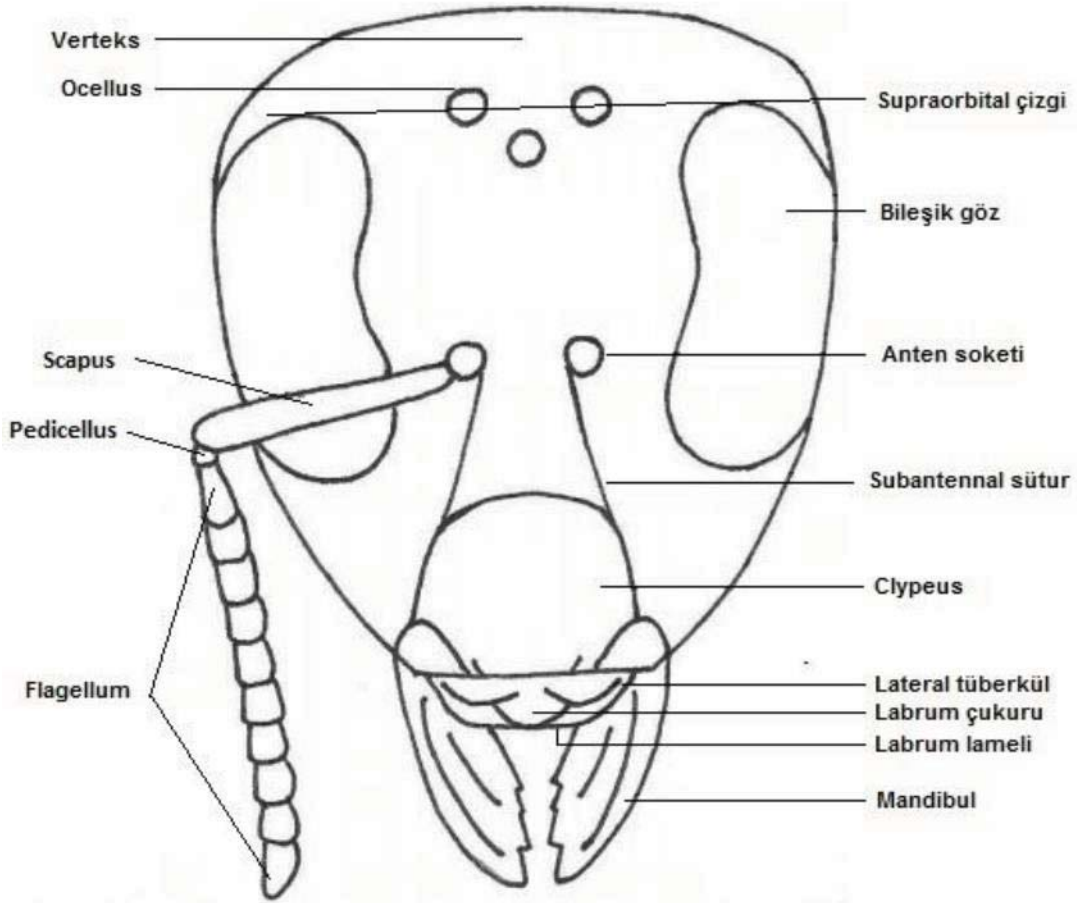
Familya : Apidae

Tribüs: Bombini Latreille, 1802

Genus : *Bombus* (s.l.) Latreille, 1802

Bombus arıları, Bombini tribüsünü oluşturan monofiletik bir gruptur [38, 39, 40]. Bombini tribüsü içerisinde yuva paraziti olarak bilinen *Psithyrus* (s.l) da

incelenmektedir. *Psithyrus* (s.l.) arıları içerisinde *Bombus* arılarında olduğu gibi işçi kasti bulunmamaktadır [21]. İlk bakışta *Bombus* arılarında çeşitli renk desenleri ve uzun tüyler dikkat çeker [33]. *Bombus* arılarının vücutları kaba görümlü ve büyüktür. Vücutları kırmızı, sarı, beyaz, siyah uzun ve sık kıllarla kaplıdır. Fakat vücudun bazı bölümlerinde kıllar yer yer seyrekleşir, bazı bölgelerde ise hiç kıl yoktur. Kanatlar şeffaf, kahverengimsi siyah ya da bu iki rengin çeşitli tonlarında renklenme gösterebilir. Çok nadir olmakla birlikte yansıma renklenme de gösterebilirler [35]. Vücudun prosoma kısmında yer alan baş, hypognathous tiptedir [31]. Şekil 2.3'te baş kısmı şematize edilmiştir. Buna göre yüz ve vertekste ince seyrek noktalar bulunur.

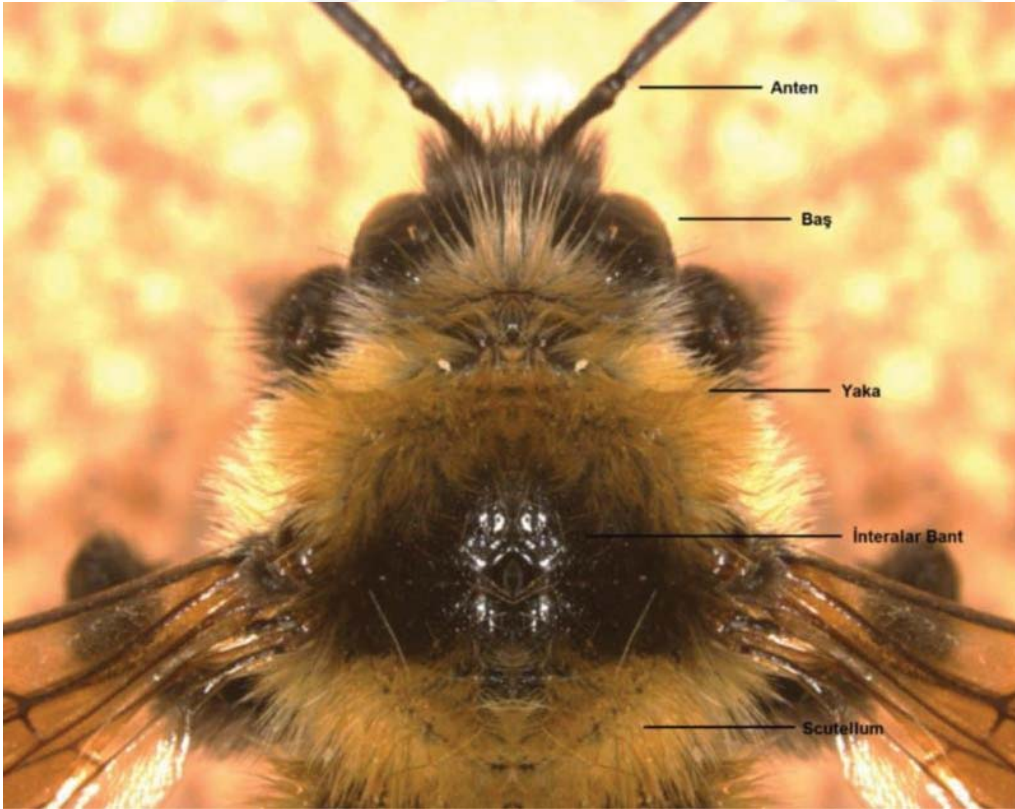


Şekil 2.3. Dişi bir bombus arısında başın anterior görüntüsü [41].

Baş kısmı; değişik renk ve sıklıkta tüyler ile kaplıdır. Bileşik gözler iridir ve başın lateralini neredeyse tamamen kaplar [42]. Lateral ocellus ile bileşik göz arasında kalan bölüme ocellar alan denilmektedir. Bileşik gözlerin üst kenarında supraorbital çizgi yer alır. Anten segment sayısı dişilerde 12, erkeklerde 13'tür [31]. Anten

segmentleri sistematik açıdan tür teşhislerinde ayırt edici bir karakterdir. Anten çukurunun alt kısmında bir subantennal dikiş bulunmaktadır. Labrum dörtgen görünümünde ve eni boyundan daha fazladır. [17]. Labrumun ucuna doğru olan kısımda labrum lameli yer almaktadır. Erkek bireylerin labrumunda median bir çizgi bulunmamakta olup dişilerde ise; yatay bir çukurluk bulunmaktadır. Clypeusta yatay olarak subapikal bir çukurluk görülmektedir. Clypeusun apicolateral kenarları occiputa doğru kıvrılma göstermektedir [39]. Bileşik göz ile mandibulun bazalı arasındaki kısım malar alan olup bu iki yapı birbirinden malar alan ile ayrılmaktadır. Sistematik ve taksonomik çalışmalarda altfamilya teşhisinde bacaklar ve kanatlar karakteristik yapılar olup tür sınırlamalarında büyük önem taşımaktadır. Bunun yanında torakstaki kılların rengi, kıl uzunluğu ve sıklığı da tür sınırlamalarında karakteristik özellik taşımaktadır [17].

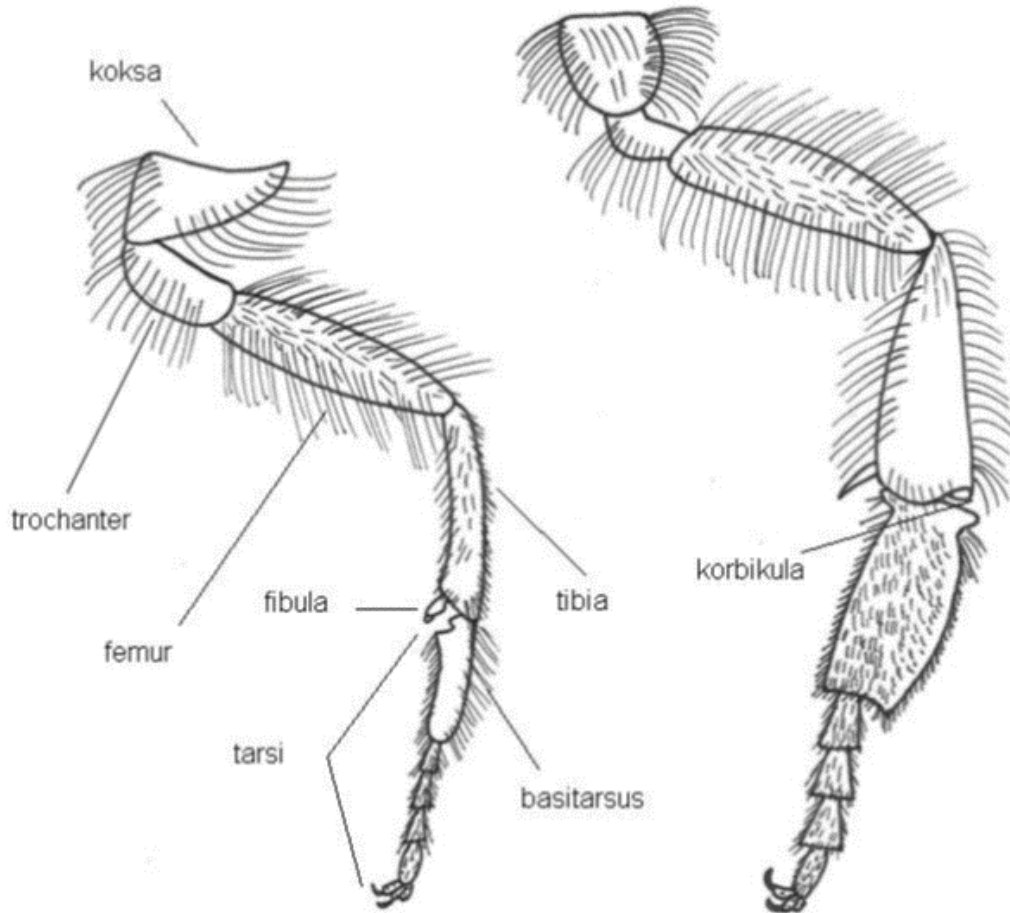
Vücudun ikinci kısmı mesosoma (toraks) dır (Şekil 2.4). Mesosoma protoraks, mesotoraks, metatoraks ve propodeumdan oluşur. Propodeum denilen kısım birinci abdominal segmettir. Mesosoma'da protoraksın dorseline “yaka” adı verilir. Mesotoraksın dorsalinde “interalar bant”, proksimalinde de “skutellum” yer alır [43].



Şekil 2.4. Bombus arısında toraks yapısının dorsalden görüntüsü [44].

Kanatlar, mesotorasik ve metatorasik segmentlerden çıkmaktadır ve mesosomaya küçük aksillar skleritler aracılığıyla bağlanmaktadır [31]. Kanatlar membran yapıda olup arka kanatlarda jugal lob bulunmamaktadır. Pterostigma oldukça küçük yapıdadır. Posterior kenarı hemen hemen düz olup genişliği prestigmanın genişliğini geçmemektedir [45, 46].

Bombus arılarında bacak protibia, mesotibia ve metatibiadan oluşur (Şekil 2.5). Bacak yapısı sırasıyla koksa, trochanter, femur, tibia, tarsus ve terminal tırnak kısımlarından oluşmaktadır. Protibia'da anten temizleme organı yer almaktadır [45]. Mesotibia'da bir, metatibiada ise iki uzun mahmuz bulunur [46]. Dişilerde metatibia az çok yassılaştırmıştır ve dış yüzeyinde kıl bulunmaz. Korbikula metatibianın apekse doğru uzamasıyla oluşan, kısmen yassılaştırmıştır ve arının polen toplamasına yardımcı bir yapıdır [31].



Şekil 2.5. Dişi bir bombus arısında birinci ve üçüncü çift bacakların dorsalden şematik görüntüsü [41].

Abdomen, dişilerde altı segmentten meydana gelmektedir. Erkeklerinde ise, yedi segment bulunmaktadır (şekil 2.6). Dişilerde distal kısım sivri şekilde sonlanmakta olup dişilerde iğne yapısı bulunmaktadır. Erkek bireylerde ise; abdomen sonu yuvarlaktır ve genital kapsül bulunmaktadır [18, 17, 47]. İşçi arılar üreme yeteneklerini kaybettiklerinden, üreme organları ovipozitör denilen iğne yapısına dönüşmüştür [48].



şekil 2.6. Bombus arısında abdomenin dorsalden görüntüsü [44].

Erkek genital organı üç kısımdan oluşmaktadır (şekil 2.7). Birinci kısım 7. metasomal sternum olup hafif sklerotize plakadan oluşur. İkinci kısım 8. metasomal sternumdur. Üçüncü kısım ise kapsüldür [46]. Genital organ yapısına ait terminoloji Çizelge 2.1’de çalışmalara göre yeniden düzenlenmiştir.



Şekil 2.7. *Megabombus* erkek genital organ [49].

Çizelge 2. 1. *Bombus* cinsi erkek genital organına ait kısımların isimlendirilmesinde kullanılan farklı terimler [49].

Michener (1944)	Richards (1968)	Williams (1985) Michener (2000)
Gonobase	cardo	gonobase
Gonocoxite	stipes	gonocoxa
Squama	squama	gonostylus
Gonostylus	lacinia	volsella
Spatha	spatha	spatha
penis valve	sagitta	penis valve

2.5.Geometrik Morfometrik Yaklaşımı

Fenotip, genler ve çevre arasındaki etkileşimin bir ürünüdür. Fenotipik varyasyon, birden fazla faktörün beklenen bir sonucudur ve anatomi, morfoloji, fizyoloji, yaşam öyküsü, davranış gibi ölçülebilir değişkenler ile puanlanabilir [50, 51].

Biyologlar geçmişten bugüne biyolojik çeşitliliği anlamak için organizmalar arasındaki farklılıkları araştırmıştır. Bu farklılıklar araştırılırken organizmaların anatomik özellikleri dikkate alınarak taksonomik sınıflandırma yapılmıştır. Bilindiği gibi morfolojik çalışmalarda gruplar karşılaştırılırken ölçülebilir sayısal verilere ihtiyaç duyulur. Geçmişte kullanılan klasik yöntemler, yirminci yüzyıla gelindiğinde yerini, grup içi ve gruplar arası varyasyonların istatistiksel analizlerle birleştirilerek açıklandığı modern morfometriye bırakmıştır [52].

Morfometrik teknikler boyut, şekil ve boyut ve şekil arasındaki ilişkiyi yani allometri ölçmeyi amaçlar [53]. Morfometri; (uzunluk, genişlik ve yükseklik gibi) değişkenlerin sayısal hale getirilerek sınıflandırma yapmak amacıyla kullanıldığı bir yöntemdir [54].

Yakın geçmişe kadar canlıya ait karakterler sayısallaştırılmıştır. Buradaki temel amaç; karakterler sayısallaştırılarak benzerlik katsayıları esas alınıp ölçekleme yöntemi kullanmaktır. Ancak karakter seçimleri ve bunların yorumlanması öznel olabildiğinden dolayı eleştirilmiştir [3, 55]. Bu doğrultuda, 1990'lı yıllarda “geometrik morfometri” geliştirilmiş olup, geometrik morfometri bir taksondaki karakter ya da karakterlerin tamamının aynı anda Kartezyan koordinatları alınarak analitik boyutta incelenmesi şeklinde tanımlanmaktadır [52].

Geometrik morfometri, allometriyi ölçmek yerine kartezyan koordinatlarının analizini içerir ve landmarkların kartezyan koordinatlarına bağlı olarak analiz boyunca tüm geometrik bilgileri saklayan morfometrik metodlardır. Landmarklar; biyolojik formların koordinat durumlarını biçim ve büyüklük açısından ölçmeye yardımcı homolog noktalar. Morfometrik ölçümlerde bu homolog noktalar esas alınmaktadır [56]. Landmarklar, sadece kendi içinde aynı lokasyonlara sahip değildir aynı zamanda çalışma içerisindeki diğer formlarla da aynı lokasyonlara sahiptir [52]. Landmarklar yerleştirilirken noktaların öznellikten uzak, güvenilir ve tekrarlanabilir noktalar olmasına dikkat edilmelidir [57].

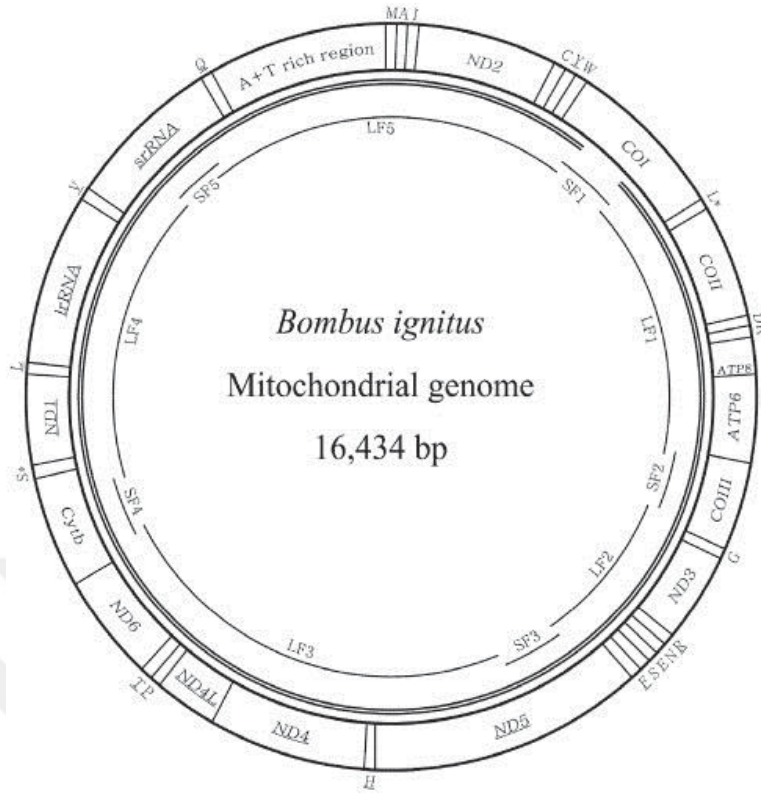
Bookstein; landmarkları Tip 1 , Tip 2 ve Tip 3 olmak üzere üç çeşit olarak ifade etmektedir. Tip 1 landmarklar biyometrik açıdan önemli noktalar olup bu landmarkların seçiminde homoloji ön plana çıkar. Tip 2 landmarklar yerleştirilirken kavisin en yoğun olduğu yerler seçilir ve yapının biyolojisinin yanında geometrisi de dikkate alınır. Tip 1 ve Tip 2 landmarklar çoğunlukla homologtur. Tip 3 landmarklar ise; yapıların uç kısımlarına yerleştirilirler ve kısmen homologturlar [55].

Landmark verilerine dayalı morfometrik analizler için görece warplar ve biçimsel koordinatlar geliştirmiştir [56]. Örnekler üzerinde varyasyon etkileri hala var olduğundan koordinatlar değişkenlik gösterebilir ve bu şekilde yapılan analiz doğru sonuçlar vermez. Şekilsel olmayan varyasyonların ortadan kaldırılması için landmarkların belirlenmesi işleminden sonra rotasyon (aynı düzleme alınmaları), transformasyon (dönüştürme) ve skala etkilerinden kurtarılması gibi bir dizi işlemin uygulanması gerekmektedir [58]. Süperimpozisyon denilen landmarkları üst üste çakıştırarak konfigürasyondaki şekil dışı varyasyonları kaldırma metodu gereken optimizasyonu sağlamaktadır [52].

Bu işlemlerin arkasından farklılıkların yeni bir düzlemde özetlenmesi gerekmektedir. Farklılıkları ortaya koymak için; Temel Ögeler Analizi (PCA), Kanonik Varyans Analizi (CANOVAR) ya da UPGMA, NJ (Komşu Birleştirme Ağacı) gibi soyağaçları kullanılabilir. Sonuç olarak; son aşamada da özetlenen farklılıkların istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç ifade edip etmediğini test etmek için çoklu varyans analizi yapılması gerekir [56].

2.6. Moleküler Taksonomik Çalışmalar

Böceklerde mitokondriyal DNA (mtDNA) 14-36 kilobaz uzunluğunda olup 13 protein kodlayan gen, 2 ribozomal RNA ve 22 tRNA kodlayan 37 gen içerir [59, 60]. Mitokondriyal DNA; yüksek oranda dizi ve uzunluk varyasyonu gösteren A+T nükleotitlerince zengin bir kontrol bölgesi içerir [61, 62, 63, 64, 65, 66] (Şekil 2.8) Mitokondri’de bazı bölgeler oldukça değişiklik gösterirken, bazı bölgeler son derece korunmuştur. Mitokondri’de farklılık gösteren bu bölgeler sistematik açıdan farklılıkların ortaya konmasına ve analizine imkan sağlamaktadır. Böcek sistematigi içerisinde mitokondriyal DNA çalışmalarında; sitokrom oksidaz I ve II (COI-COII), 12 S ve 16 S genleri en fazla DNA dizisi çıkarılmış genler olarak bilinmektedir [67].



Şekil 2.8. *Bombus ignitus* mitokondriyal genom haritası [68].

Mitokondri genomunun bazı özellikleri evrimsel çalışmalar için iyi bir model oluşturmaktadır: Hücredeki kopya sayısının fazla olması, kolay çoğaltımı, mtDNA'nın nükleotid değişim oranının çekirdek DNA'ya kıyasla daha yüksek olması, rekombinasyonun bulunmaması ve sonuç olarak tüm molekülün aynı soy geçmişine ait olduğu varsayılabilir [69].

Bombus arılarının tarihi uzun zamandır bilinmesine rağmen *Bombus* arısı ekolojisi, evrimi ve davranışı hakkında birçok soruya cevap, modern moleküler çağın yükselişine kadar belirsiz kalmıştır. Son birkaç on yılda moleküler genetiğin ve genomik tekniklerin hızla yayılması *Bombus* arısı biyolojisine önemli bir bakış açısı sunmaktadır. Filogenetik sistematiğe tür sınırlandırılması çalışmalarında mitokondriyal DNA verileri son zamanlarda sıklıkla kullanılmaktadır [45, 70].

PCR-RFLP yöntemi kullanılarak Avrupa'daki *Bombus* (s.str.) altcinsleri içerisinde yer alan dört *bombus* türü (*B. lucorum*, *B. terrestris*, *B. magnus* ve *B. cryptarum*) ayırt edilmiştir [71].

Bombus arılarındaki popölasyon genetiği araştırmaları şimdiye kadar mikrosatellit tabanlı çalışmaların hakimiyetinde kalmıştır. 1984'ten 2014'e kadar 53 popölasyon genetiği, filocoğrafik veya tőr sınırlaması çalışmalarında; % 68'i mikrosatellitler, % 23 mitokondriyal DNA dizileri (mtDNA), % 4 nőkleer gen dizileri, % 13 allozimler, 1 tanesinde restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) ve restriksiyon bölgesi ile ilişkili DNA etiketi dizilimi (RADseq) ve 5 tanesi de çoklu veri tiplerini içermektedir.

Mikrosatellitlerin çalışmalarda yoğun olarak kullanılması, birlikte yözlerce aday bölge sağlayan Bombus arıları için yayınlanan birçok belirteç setinden kaynaklanmaktadır. En yaygın diğer bir markır olan mtDNA dizileri, zaman zaman nőkleer genler veya mikrosatellitler ile birlikte, genellikle taksonomik çalışmalarda kullanılmıştır [72, 73, 74].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmanın konusunu oluşturan *Bombus* (s.lato) cinsi türlerine ait örnekler Türkiye'nin Ankara ili bölgesinden 2017 yılında böcek faaliyet dönemi olan Mart-Eylül tarihleri arasında tül atrap ve emgi tüpü yardımıyla toplanmıştır. Örneklerin sertleşmeden ve fazla hareket etmeden ölmesini sağlamak için etilasetat kullanılmıştır. Lokalitelere göre toplanan ve teşhis edilen bireyler Çizelge 3.1'de gösterilmektedir. Toplanan örnekler, üzerlerinde özel kodlar ve lokaliteleri yazan etiketli tüplere konulmuştur. Alt cins düzeyinde örneklerin toplandığı lokalitelere ait enlem ve boylam bilgileri ise Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'de verilmektedir. Örnekler Hacettepe Üniversitesi Morfometri Laboratuvarı' na getirilmiş, büyüklüğüne göre "1" veya "2" numara çelik iğnelerle torakslarının tam orta noktasından iğnelenerek koleksiyona alınmıştır.

Çizelge 3.1. Ankara ili ve çevresi lokalitelere göre toplanan ve teşhis edilen bireyler.

Lokalite	Toplanan birey sayısı	Teşhis edilen birey sayısı*
Etimesgut	23	19♀, 4♂
Karaşar	4	3♀, 1♂
Beytepe	17	9♀, 8♂
Işık Dağı	36	30♀, 6♂
Gölbaşı	6	5♀, 1♂
Eğriova Tabiat Parkı	10	6♀, 4♂
Karagöl Tabiat Parkı	11	7♀, 4♂
Çubuk	3	1♀, 2♂
Ayaş	11	8♀, 3♂
Polatlı	4	4♂
Beynam Ormanı	13	6♀, 7♂
Elmadağ	5	2♀, 3♂
Şahinler Tabiat Parkı	19	19♀
Haymana	7	7♀
Şereflikoçhisar	1	1♀
Soğuksu Tabiat Parkı	3	3♀

Çizelge 3.2. Ankara ili ve çevresi toplanan *Bombus* (s.l.) cinsi dişi bireylere ait bilgiler.

ALT CİNS	BİREY SAYISI	ENLEM-BOYLAM	LOKALİTE
<i>Bombus</i>	32	39°48'59.6"N-32°34'2.2"E	ETİMESGUT
		40°17'48.9"N-31°58'21.5"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		39°51'13.6"N-32°32'18.9"E	ETİMESGUT
		39°48'59.6"N-32°34'2.2"E	ETİMESGUT
		39°48'59.6"N-32°34'2.2"E	ETİMESGUT
		39°48'51.1"N-32°34'41"E	ETİMESGUT
		39°51'13.6"N-32°32'18.9"E	ETİMESGUT
		39°48'51.1"N-32°34'41"E	ETİMESGUT
		39°48'50.6"N-32°34'40.6"E	ETİMESGUT
		40°17'48.9"N-31°58'21.5"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		40°17'48.9"N-31°58'21.5"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		39°51'13.6"N-32°32'18.9"E	ETİMESGUT
		39°52'14.2"N-32°32'19.3"E	ETİMESGUT
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°48'50.1"N-32°34'40.4"E	ETİMESGUT
		40°33'18.6"N-32°38'43.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		39°56'58.5"N-32°40'20.5"E	ETİMESGUT
		39°56'58.5"N-32°40'20.5"E	ETİMESGUT
		39°56'58.5"N-32°40'20.5"E	ETİMESGUT
		39°56'58.5"N-32°40'20.5"E	ETİMESGUT
		39°56'58.5"N-32°40'20.5"E	ETİMESGUT
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°48'59"N-32°34'1.9"E	BEYTEPE
		39°48'59"N-32°34'1.9"E	BEYTEPE
		39°46'23.2"N-32°46'26.4"E	GÖLBAŞI
		40°21'9.48"N-32°57'18.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		39°52'13.2"N-32°44'6.9"E	BEYTEPE
		40°24'49.3"N-32°54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		39°58'2.3"N-33°9'8"E	HASANOĞLAN_ELMAĞAĞ
<i>Megabombus</i>	9	40°26'58.5"N-32°36'53.5"E	KIZILCAHAMAM
		40°37'43.5"N-32°26'21.8"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		39°58'2.3"N-33°9'8"E	HASANOĞLAN_ELMAĞAĞ
		40°37'43.6"N-32°26'21"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40°37'43.6"N-32°26'21"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40°40'52.7"N-32°44'51.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40°37'43.2"N-32°26'21.5"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40°37'43.2"N-32°26'21.5"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM

		39 50'44"N-33 42'34.6"E	ELMADAĞ
Thoracobombus	64	40 26'50"N-32 36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 40'52.7"N-32 44'51.5"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 26'50"N-32 36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 40'50.3"N-32 44'6.5"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 26'58.5"N-32 36'53.5"E	KIZILCAHAMAM
		40 40'58.9"N-32 43'49.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 26'49.7"N-32 36'46.7"E	KIZILCAHAMAM
		40 40'50.3"N-32 44'6.5"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 40'52.7"N-32 44'51.5"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 26'50"N-32 36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 22'19.5"N-32 1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40 26'50"N-32 36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 33'18.6"N-32 38'43.5"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 40'58.9"N-32 43'49.2"E	IŞIK DAĞI _KIZILCAHAMAM
		40 26'49.7"N-32 36'46.7"E	KIZILCAHAMAM
		40 37'43.6"N-32 26'25.6"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.2"N-32 26'21.5"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 26'50"N-32 36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40 24'49.3"N-32 54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		40 24'49.3"N-32 54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		40 24'49.3"N-32 54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		40 24'49.3"N-32 54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		40 24'49.3"N-32 54'50.1"E	KARAGÖL_ÇUBUK
		39 46'23.5"N-32 46'24.6"E	GÖLBAŞI
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		39 46'23.5"N-32 46'24.6"E	GÖLBAŞI
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		39 46'23.5"N-32 46'24.6"E	GÖLBAŞI
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		39 40'45.2"N-32 50'39.3"E	BEYNAM
		39 40'45.2"N-32 50'39.3"E	BEYNAM
		39 40'45.2"N-32 50'39.3"E	BEYNAM
		39 40'45.2"N-32 50'39.3"E	BEYNAM
		39 46'23.2"N-32 46'26.4"E	GÖLBAŞI
		39 52'19.1"N-32 43'48.4"E	BEYTEPE
		40 22'35"N-32 40'42.3"E	KIZILCAHAMAM
		40 22'35"N-32 40'42.3"E	KIZILCAHAMAM
		40 26'54.8"N-32 36'49.3"E	SOĞUKSU TP_KIZILCAHAMAM
		40 26'54.8"N-32 36'49.3"E	SOĞUKSU TP_KIZILCAHAMAM
		39 40'45.2"N-32 50'38.7"E	BEYNAM
		40 16'52.3"N-33 0'23.2"E	ÇUBUK
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ

		38 57'34.1"N-33 34'20.9"E	ŞEREFLİKOÇHİSAR
		40 26'54.8"N-32 36'49.3"E	SOĞUKSU TP_KIZILCAHAMAM
		39 26'26.2"N-32 28'51.1"E	HAYMANA
		39 28'14.5"N-32 27'25.1"E	HAYMANA
		39 28'11"N-32 27'25.2"E	HAYMANA
		39 28'11"N-32 27'25.2"E	HAYMANA
		39 28'11"N-32 27'25.2"E	HAYMANA
		39 28'14.5"N-32 27'25.1"E	HAYMANA
		39 28'11"N-32 27'25.2"E	HAYMANA
		40 29'0"N-31 58'41.7"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		40 37'43.6"N-32 26'25.6"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.4"N-32 26'21.8"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.6"N-32 26'24.4"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.6"N-32 26'24.4"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.6"N-32 26'24.4"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.6"N-32 26'24.4"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 40'52.7"N-32 44'51.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40 40'52.7"N-32 44'51.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.4"N-32 26'22.6"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		40 37'43.6"N-32 26'24.4"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
<i>Melanobombus</i>	11	40 22'20.8"N-32 1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40 4'56.1"N-32 23'19.8"E	AYAŞ
		40 29'0"N-31 58'41.7"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40 37'43.4"N-32 26'25"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.4"N-32 26'25"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.4"N-32 26'25"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 37'43.4"N-32 26'25"E	ŞAHİNLER TP_KIZILCAHAMAM
		40 22'20.8"N-32 1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40 33'18.6"N-32 38'43.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40 33'18.6"N-32 38'43.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40 22'20.8"N-32 1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
<i>Sibiricobombus</i>	9	39 48'50.1"N-32 34'40.4"E	ETİMESGUT
		39 53'29.6"N-33 13'15.6"E	ELMADAĞ
		39 48'49.3"N-32 34'39.7"E	ETİMESGUT
		39 48'49.3"N-32 34'39.7"E	ETİMESGUT
		39 53'29.6"N-33 13'15.6"E	ELMADAĞ
		39 58'2.3"N-33 9'8"E	HASANOĞLAN_ELMADAĞ
		39 40'29.7"N-32 54'45.5"E	BEYNAM
		39 58'2.3"N-33 9'8"E	HASANOĞLAN_ELMADAĞ
		39 46'39.8"N-32 46'41.7"E	GÖLBAŞI

Çizelge 3.3. Ankara ili ve çevresi toplanan *Bombus* (s.l.) cinsi erkek bireylere ait bilgiler.

ALT CİNS	BİREY SAYISI	ENLEM-BOYLAM	LOKALİTE
<i>Bombus</i>	29	39°48'49.2"N-32°34'42.6"E	ETİMESGUT
		40°14'11.6"N-31°53'35.8"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40°16'52.3"N-33°0'23.2"E	ÇUBUK
		39°58'6.3"N-32°13'20.7"E	AYAŞ
		40°16'52.3"N-33°0'23.2"E	ÇUBUK
		39°35'14.1"N-32°7'59.4"E	POLATLI
		39°52'7.8"N-32°44'15.2"E	BEYTEPE
		39°52'7.8"N-32°44'15.2"E	BEYTEPE
		39°52'7.8"N-32°44'15.2"E	BEYTEPE
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°46'23.2"N-32°46'26.4"E	GÖLBAŞI
		40°17'48.9"N-31°58'21.5"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		40°33'18.6"N-32°38'43.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		40°33'18.6"N-32°38'43.5"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		39°35'14.7"N-32°7'59.4"E	POLATLI
		39°52'19.1"N-32°43'48.4"E	BEYTEPE
		39°52'7.8"N-32°44'15.2"E	BEYTEPE
		39°35'15.3"N-32°7'55.7"E	POLATLI
		39°35'14.1"N-32°7'59.4"E	POLATLI
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°58'6.3"N-32°13'20.7"E	AYAŞ
		39°58'6.3"N-32°13'20.7"E	AYAŞ
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		40°40'58.9"N-32°43'49.2"E	IŞIK DAĞI_KIZILCAHAMAM
		39°51'13.6"N-32°32'18.9"E	ETİMESGUT
<i>Megabombus</i>	4	40°29'0"N-31°58'41.7"E	KARAŞAR_BEYPAZARI
		39°50'44"N-33°42'34.6"E	ELMADAĞ
		40°26'58.5"N-32°36'53.5"E	KIZILCAHAMAM
		39°40'29.7"N-32°54'45.5"E	BEYNAM
<i>Thoracobombus</i>	7	40°26'50"N-32°36'46.2"E	KIZILCAHAMAM
		40°26'58.5"N-32°36'53.5"E	KIZILCAHAMAM
		40°24'49.3"N-32°54'50.1"E	KARAGÖL TP_ÇUBUK
		40°24'49.3"N-32°54'50.1"E	KARAGÖL TP_ÇUBUK

		40°24'49.3"N-32°54'50.1"E	KARAGÖL TP_ÇUBUK
		40°24'49.3"N-32°54'50.1"E	KARAGÖL TP_ÇUBUK
		40°22'35"N-32°40'42.3"E	KIZILCAHAMAM
<i>Melanobombus</i>	2	40°22'20.8"N-32°1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
		40°22'20.8"N-32°1'25.5"E	EĞRİOVA TP_BEYPAZARI
<i>Sibiricobombus</i>	1	39°58'2.36"N-33°9'8"E	ELMADAĞ
<i>Psithyrus</i>	5	39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°40'40.5"N-32°54'44.8"E	BEYNAM
		39°52'7.86"N-32°44'15.2"E	BEYTEPE
		39°52'8.3"N-32°44'15.3"E	BEYTEPE
		39°52'11"N-32°43'50.6"E	BEYTEPE

3.2. Morfolojik Tür Teşhisi

Ankara ili ve çevresinden (Şekil 3.1) toplanan örneklerin tür teşhisi; *Bombus* cinsi alt cinslerine ait tanı anahtarları [17, 22, 48] ve Hacettepe Üniversitesi Uygulamalı Biyoloji Anabilim dalı Morfometri Laboratuvarı *Bombus* arı koleksiyonu örnekleri yardımıyla yapılmıştır.

Bombus (s.l.) cinsine ait örnekler, morfometri ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmeden önce tür teşhisinde kullanılan morfolojik karakterlerden interalar bant, skutellum, anten segmentlerinin sayısı, yaka ve toraks ve abdomenkollarının tüy renklemeleri dikkate alınarak morfolojik teşhis yapılmaya çalışılmıştır.



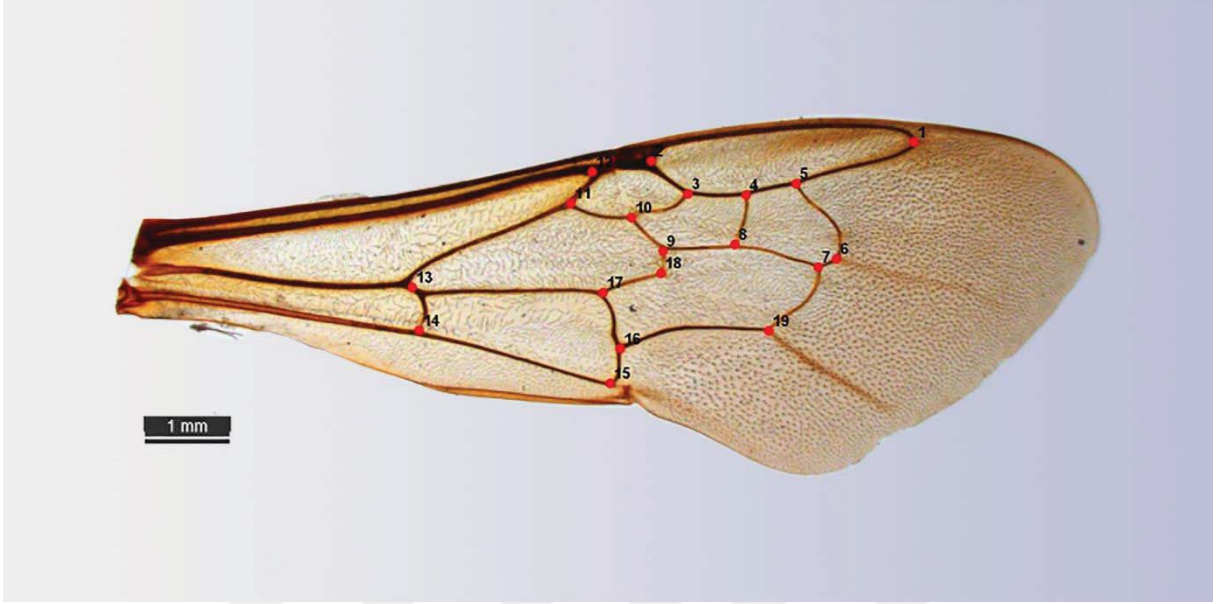
Şekil 3.1. *Bombus* (s.l.) cinsine ait örneklerin toplandığı Ankara ili haritası.

3.3. Geometrik Morfometrik Çalışmaları

Bombus (s.l.) cinsine ait 173 örneğin 48'ini erkek bireyler oluşturmaktadır. Morfolojik teşhise göre gruplara ayrılan bireyler içerisinde bazı gruplarda hiç erkek birey olmaması ve popülasyonu temsil eden birey sayısının azlığı nedeniyle erkek bireylerde geometrik morfometri yöntemi uygulanmamıştır. *Bombus* (s.l.) içerisinde yer alan türlere ait 125 dişi bireyin tüm ön kanatları ayrı ayrı hazırlanmıştır. *Bombus* (s.l.) cinsine ait bireylerin kanat damarlanmaları açık bir şekilde görüldüğünden boyamaya gerek duyulmamıştır. Bireylerin torakslarından ince uçlu pens yardımıyla ayrılan kanatlar Entellan® (Merck Millipore) kullanılarak lam üzerine yapıştırılmış ve lamelle kapatılmıştır. Her örnek için daha önceden belirlenen kodlar lam üzerine yazılmıştır.

Hazırlanan preparatlar Leica MZ-7.5 stereoskopik diseksiyon mikroskobu ve üzerine bağlı DC-300 dijital kamera kullanılarak bilgisayara aktarılmıştır. Bu fotoğraflar ilk

olarak Tps-UTIL 1.44 [75] programı ile düzenlenmiştir. Tps programlarına uyumlu hale getirilen fotoğraflara Tps-DİG 2.12 [76] programı ile daha önce Aytekin [19] tarafından belirlenmiş noktalarda bazı değişiklikler yapılarak 19 adet landmark yerleştirilmiştir. Daha sonrasında landmarkların 2D Kartezyen koordinatları dijitize edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ön kanatta kullanılan landmarklar [76].

TpsSmall 1.20 [77] programı ile örneklerin biçimsel varyasyonlarının derecesi test edilmiştir. Bu programın amacı; thin-plate spline gibi tanjant düzlemi mesafesi esas alınarak gerçekleştirilen istatistiksel analizlerin uygulanabileceği düşük varyasyonların olup olmadığı anlamaktır. Bu program ile her bir örnek aynı sentroid büyüklüğüne getirilir ve elde edilen konfigürasyon ile her bir örnek çifti arasındaki Euclid mesafesi hesaplanır. Doğrusal bir ilişkiden sapmalarını ölçebilmek için regresyon eğrisi ve iki mesafe arasındaki korelasyon hesaplanır. Oluşan dağılımların grafikteki düz çizgiye yakın olması örnekler arasındaki yakınlığın anlaşılması için yeterli olmaktadır. Akabinde MorphoJ [78] programında normalite ölçümü yapılmaktadır. MorphoJ programında, landmarkların procrustes analizi sonucu göre dağılımın normalitesi bakılmıştır. Ayrıca yine MorphoJ programında outliers (aykırı değer) testi ile iki nokta arasındaki mesafeyi ölçerken diğer noktaların davranışını da hesaba katan Mahalanobis Mesafesi kullanılarak grafik dökümünde verinin normalitesi test edilmiştir. TpsSuper 1.14 [79] programında ise yeterli

landmarkın kullanılıp kullanılmadığı test edilmektedir. Her iki program da analize başlamadan önce kullanılarak şekil varyasyonu test edilmiştir.

3.4. Moleküler Çalışmalar

3.4.1. Total Genomik DNA İzolasyonu

Moleküler çalışmada kullanılmak üzere *Bombus* (s.l.) cinsine ait 173 bireyin her birinin sağ ve sol ön bacakları pens yardımıyla alınarak moleküler saflıkta etil alkol içeren mikrosantrifüj tüplere aktarılmıştır. Mikrosantrifüj tüpler etiketlendikten sonra DNA izolasyon aşamasına kadar -20 °C'de saklanmıştır.

Total genomik DNA izolasyonu, PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogene) ile firmanın önerdiği protokolde bazı değişiklikler yapılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. Doku pestle yardımıyla tamamen homojenize edildikten sonra 180 µl GDB (doku lizis) ve 20 µl Proteinaz K eklenmiş ve iyice pipetaj yapılarak karışması sağlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. mtDNA İzolasyonu, lizis işlemi.

2. Dokunun tamamen lizis olabilmesi için 55 °C'de gece boyu çalkalamalı olarak inkübe edilmiştir.
3. İnkübasyon sonrası homejenat oda sıcaklığına getirilmiş ve 14.000 x g'de 3 dk. santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısım olan lizat yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
4. Lizatın üzerine 20 µl RNase A eklenmiş ve iyice karışması için oda sıcaklığında 2 dk. vortekslenmiştir.

5. 200 µl GL/BB (Lizis bağlayıcı tampon) eklenerek karışım yeterince vortekslenmiştir.
6. Lizata 200 µl %100'lük etanol eklenmiş ve karışması için 5 kez vortekslenmiştir.
7. DNA'yı bağlamak için lizat spin column denilen tüplere aktarılmış ve 10.000 x g'de 1 dk. santrifüj edilmiştir.
8. Toplama tüpü atılmış yerine yenisi yerleştirilmiştir.
9. DNA'nın saflaştırılması aşamasında 450 µl WB 1 (yıkama tamponu 1) eklenmiştir.
10. Oda sıcaklığında 10.000 x g'de 1 dk. santrifüj edilmiştir.
11. Toplama tüpü atılmış yerine yenisi yerleştirilmiştir.
12. 450 µl WB 2 (yıkama tamponu 2) eklenmiştir.
13. 14.000 x g'de 3 dk. santrifüj edilmiş ve toplama tüpü atılmıştır.
14. 1.5 ml'lik santrifüj tüpü içerisine yerleştirilen spin column üzerine 50 µl GEB (elüsyon tamponu) eklenmiş ve 20 dk. Oda sıcaklığında bekletilmiştir.
15. 14.000 x g'de 1 dk. santrifüj edilmiştir.
16. 1.5 ml'lik tüp içerisindeki izole DNA yeni bir santrifüj tüpüne alınarak -20 °C'de kullanılmak üzere saklanmıştır.

3.4.2. DNA Kantitesi ve Kalitesinin Ölçülmesi

İzole edilen DNA'ların konsantrasyonlarını belirlemek için Nanospektrofotometresi (Shimadzu) kullanılmıştır. Her örnek ölçümü için 2 µl DNA kullanılarak OD260/OD280, OD 260/OD230 oranları ile DNA konsantrasyonları elde edilmiştir. Her örnek 3 kez ölçülmüştür ve absorbans oranlarının ve DNA konsantrasyonunun aritmetik ortalaması alınmıştır. Elde edilen konsantrasyon değerleri yetersiz olan örnekler için bir kez daha DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.3. Gen Bölgesi için Primerlerin Tespiti

Çoğu Hymenoptera takımında COI gen bölgesini çoğaltmak için kullanılan LCO/HCO primerleri [80] örnek DNA üzerinde denenmiş ve çalışıp çalışmadığı test edilmiştir. LCO/HCO primerleri [80] gen bölgesinin amplifikasyonu için kullanılmıştır. Kullanılan Primerlerin dizileri Çizelge 3.4'te verilmektedir.

Çizelge 3.4. COI Gen bölgesini kısmi çoğaltmak için kullanılan primerler.

Primer Adı	Primer Dizisi	Uzunluk
LCO 1490	(5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3')	25 mer
HCO 2198	(5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3')	26 mer

3.4.4. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Prensibi

1970'lerde geliştirilen Rekombinant DNA teknolojisi; genetik ve moleküler biyoloji alanlarında çalışan araştırmacılar için bir devrim niteliği taşımaktadır. 1986 yılında ise polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) adı verilen diğer bir teknik geliştirilmiş ve biyoloji alanında yapılan çalışmalarda hızla yerini almıştır [81, 82]. PZR; karmaşık bir DNA havuzundan spesifik bir DNA parçasının amplifikasyonuna yani çoğaltılmasına izin veren basit fakat hassas bir enzimatik analizdir [83]

PZR reaksiyonunu üç aşamada gerçekleşmektedir ve çoğaltılmış ürün miktarı, genel anlamda bu üç aşamanın tekrarlanma sayısına bağlıdır.

1. İlk aşamada çoğaltılacak olan çift zincirli DNA, ısı ile (90-98 °C de, ortalama 5 dakika) denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Bu adım **Denatürasyon** (Denaturation) olarak isimlendirilmektedir.
2. Sıcaklık 50 ila 70 °C arasında bir değere düşürülerek soğutulur primerlerin tek zincirli DNA'ya bağlanması sağlanır (primer bağlanması). Bu primerler yapay oligonükleotitlerdir ve çoğaltılacak olan DNA fragmanının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere spesifik olarak bağlanır. Bu primerler, kalıp DNA'nın sentezi için bir başlangıç yeridir. Bu aşama **Bağlanma** (Annealing) olarak adlandırılmaktadır.
3. Son aşamada da yeni DNA'nın sentezi için *Taq polimeraz* reaksiyon karışımına ilave edilir. Bu şekilde 70 ila 75 °C arasındaki sıcaklıklarda DNA sentezi gerçekleşir. Polimeraz enzimi, nükleotitleri 5' uçtan 3'ne doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar. Sonuç olarak hedef DNA'nın çift zincirli kopyası oluşturulur. Bu aşama **Uzama** (Extention) olarak isimlendirilmektedir.

3.4.5. PZR Karışımı

PZR karışımı, her birey için son hacim 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. PZR Karışımı içeriği.

PZR reaksiyon bileşenleri	Kullanılan miktar (µl)
10X PZR Buffer	5
25mM MgCl ₂	2
2,5mM dNTP	3
İleri Primer	2
Geri Primer	2
Taq DNA Polimeraz	0,25
dH ₂ O	33,75
Genomik DNA	2

Bu PZR bileşenleri buz içerisinde 0.2 ml'lik PZR tüplerinde hazırlandıktan sonra programlanmış sıcaklık döngü cihazına konulmuştur (Şekil 3.4).

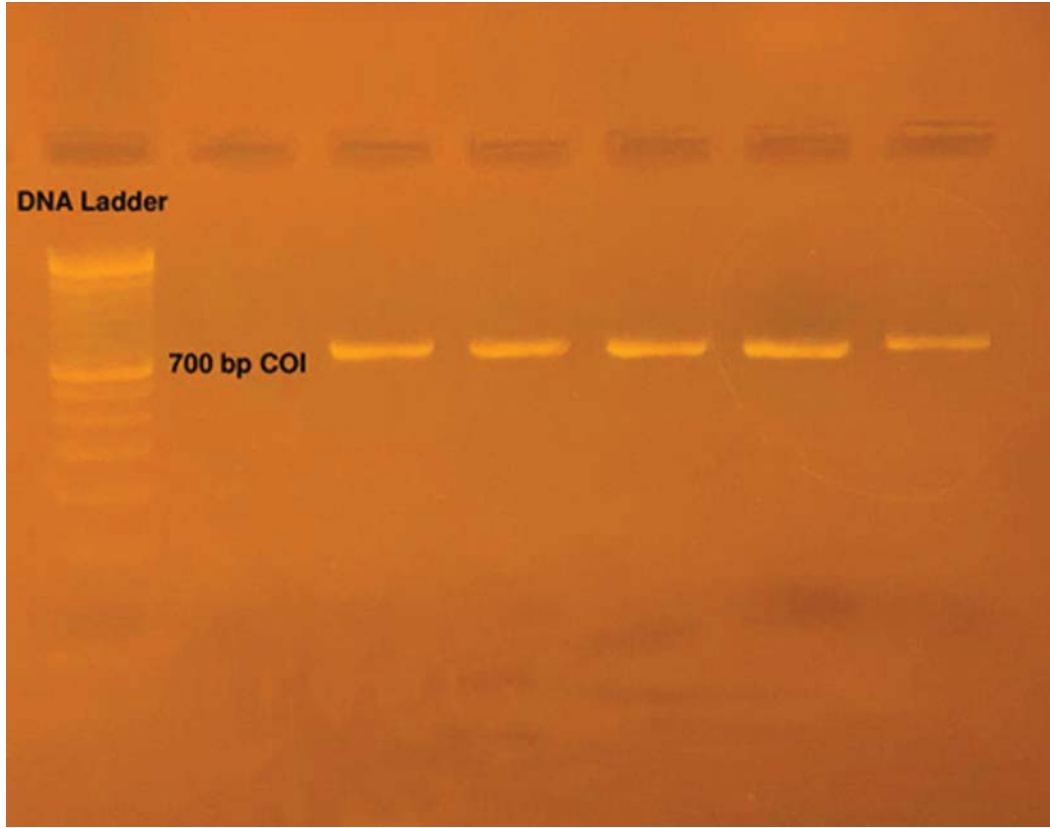
BASAMAK	SICAKLIK (°C)	SÜRE	DÖNGÜ
Başlangıç Denatürasyonu	94	02:00	1
Denatürasyon	94	00:30	35
Bağlanma	50	00:30	
Uzama	72	00:40	
Son Uzama	72	10:00	1

Şekil 3.4. PZR reaksiyon basamakları.

3.4.6. Agaroz Jel Elektroforezi

COI gen bölgesine ait PZR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezi yöntemi ile test edilmiştir. Jel hazırlanırken, 100 ml 1XTAE (pH: 8.3 ve 1 gr agaroz tozu bir behere aktarılarak mikrodalga fırında karışımın homojen bir şekilde karışması sağlanmış ve

soğuması için bir süre beklenmiştir. Karışımın içerisine 8 µl 10 mg/ml Etidyum Bromür (Gel Red™) eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım, elektroforez tabakasına dökülmüştür ve taraklar yerleştirilerek jelin polimerleşmesi beklenmiştir. Jel tamamen polimerleştikten sonra elektroforez tabakası, içerisinde 1XTAE tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiş ve taraklar çıkarılmıştır. Her örnek için 5 µl PZR ürünü ve 1 µl 6X yükleme tamponu (bromofenol mavisi, süktroz ve TAE tampon karışımı) karıştırılmış ve jelde bulunan kuyucuklara yüklenmiştir. Her jel yüklemesinde 1 kuyucuğa 2,5 µl'lik belirteç yüklenmiştir. Jele yüklenen toplamda 173 örnek, 80 mA'de yeterli süre (yaklaşık 60-90 dk.) yürütüldükten sonra jel görüntüleme cihazına yerleştirilmiş ve UV ışını altında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Bombus* (s.l.) cinsi örneklerine ait PZR ürünü, agaroz jel elektroforezi.

3.4.7. DNA Dizi Analizi

Çoğaltılan DNA fragmanları; dizileme işlemi için BM Laboratuvar firması aracılığı ile MacroGen'e gönderilmiştir. Dizileme reaksiyonları PZR işlemi sırasında kullanılan primer çiftleri ile her iki yönde gerçekleştirilmiştir. Çift taraflı dizilenen kısmi COI gen bölgesine ait diziler MEGA 5.05 [84] programında birleştirilerek FASTA formatında

kaydedilmiştir. Daha sonrası bu diziler NCBI'da (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) dizisi bulunan *Bombus* (s.l) cinsine ait türler üzerinden kontrol edilmiştir (Şekil 3.6). Diziler kontrol edildikten sonra MEGA 5.05 [84] programına aktarılarak ClustalW [85] algoritması ile hizalanarak FASTA formatında kaydedilmiştir.

Descriptions

Graphic Summary

Alignments

Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download

Manage Columns

Show

100

☒ select all

100 sequences selected

GenBank

Graphics

Distance tree of results

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
☒	Bombus terrestris cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds, mitochondrial	1273	1273	99%	0.0	99.86%	GU085204.1
☒	Bombus terrestris audax voucher BMNH(E)#970332 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1262	1262	99%	0.0	99.57%	KT074037.1
☒	Bombus terrestris mitochondrion, partial genome	1256	1256	99%	0.0	99.28%	KT164618.1
☒	Bombus terrestris audax voucher BMNH(E)#970331 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1251	1251	99%	0.0	99.28%	KT074036.1
☒	Bombus terrestris audax voucher BMNH(E)#970330 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1243	1243	98%	0.0	99.42%	KT074035.1
☒	Bombus terrestris mitochondrial COI gene for cytochrome oxidase subunit 1, partial cds, haplotype: BTJC1	1216	1216	94%	0.0	100.00%	LC123693.1
☒	Bombus terrestris voucher CCDB-09984 E12 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1212	1212	94%	0.0	99.85%	K0820691.1

Şekil 3.6. mtDNA gen bölgesi için BLAST görüntüsü.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Tür Teşhisi Sonuçları

Ankara ili ve çevresinden 2017 yılı Mart-Eylül tarihleri arasında toplanan toplam 173 *Bombus* (s.l.) örneği, *Bombus* cinsi alt cinslerine ait tanı anahtarları [17, 22, 48] ve Hacettepe Üniversitesi Uygulamalı Biyoloji Anabilim dalı Morfometri Laboratuvarı *Bombus* arı koleksiyonu örnekleri yardımıyla morfolojik teşhisleri yapılmıştır. Aynı zamanda örneklerin eşeyleri tespit edilirken abdomenlerinin sonlanma yapısı dikkate alınmıştır. Dişilerde abdomen altı segmentten meydana gelmektedir. Dişi bireylerin abdomenlerinin son halkası sivri şekilde sonlanmaktadır. Erkeklerde ise; abdomen yedi segmentten meydana gelmektedir ve son halka yuvarlak şekilde sonlanmaktadır. Dişi ve erkek bireylerin ayrımında abdomenin son yapısı dikkate alınarak eşey ayrımı yapılmıştır. Bu yöntem kullanılarak tespit edilen türler ve bu bireylere ait eşey bilgileri Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Tespit edilen türler ve türlere ait eşey bilgileri.

Alt Cins	Tür Adı	Dişi Birey Sayısı ♀	Erkek Birey Sayısı ♂
<i>Bombus</i>	<i>Bombus terrestris</i>	33	28
<i>Megabombus</i>	<i>Bombus argillaceus</i>	9	4
<i>Thoracobombus</i>	<i>Bombus pascuorum</i>	23	6
<i>Thoracobombus</i>	<i>Bombus zonatus</i>	29	1
<i>Thoracobombus</i>	<i>Bombus humulis</i>	7	-
<i>Thoracobombus</i>	<i>Bombus pomorum</i>	5	-
<i>Melanobombus</i>	<i>Bombus lapidarius</i>	11	2
<i>Sibiricobombus</i>	<i>Bombus niveatus</i>	9	1
<i>Psithyrus</i>	<i>Bombus sylvestris</i>	-	2
<i>Psithyrus</i>	<i>Bombus vestalis</i>	-	3

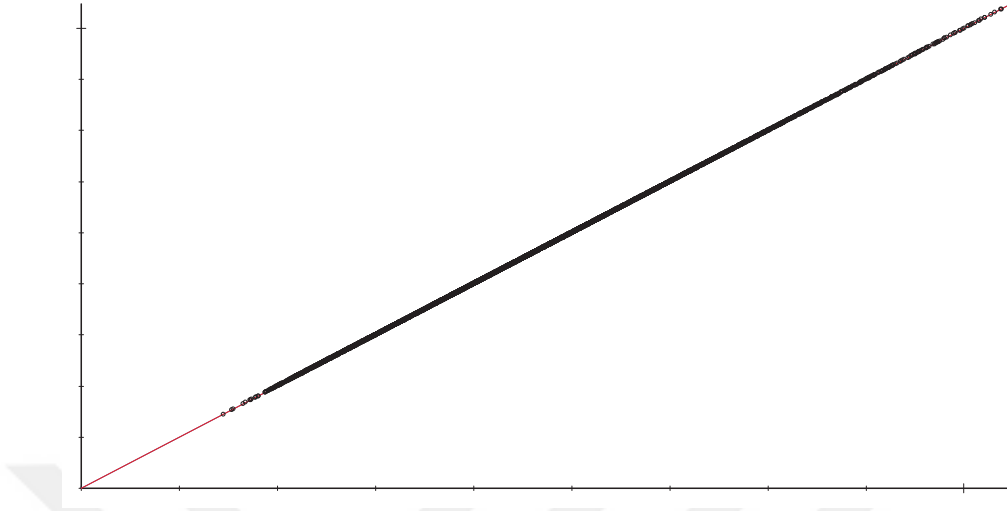
Tür teşhisi için kullanılan bu yöntemin güvenilirliğini belirlemek amacıyla landmark tabanlı geometrik morfometri ve moleküler temelli tür teşhisi gerçekleştirilmiştir.

4.2. Geometrik Morfometrik Tür Teşhisi Sonuçları

4.2.1. Dişi Bireylerde Ön Kanatlara Ait Morfometrik Sonuçlar

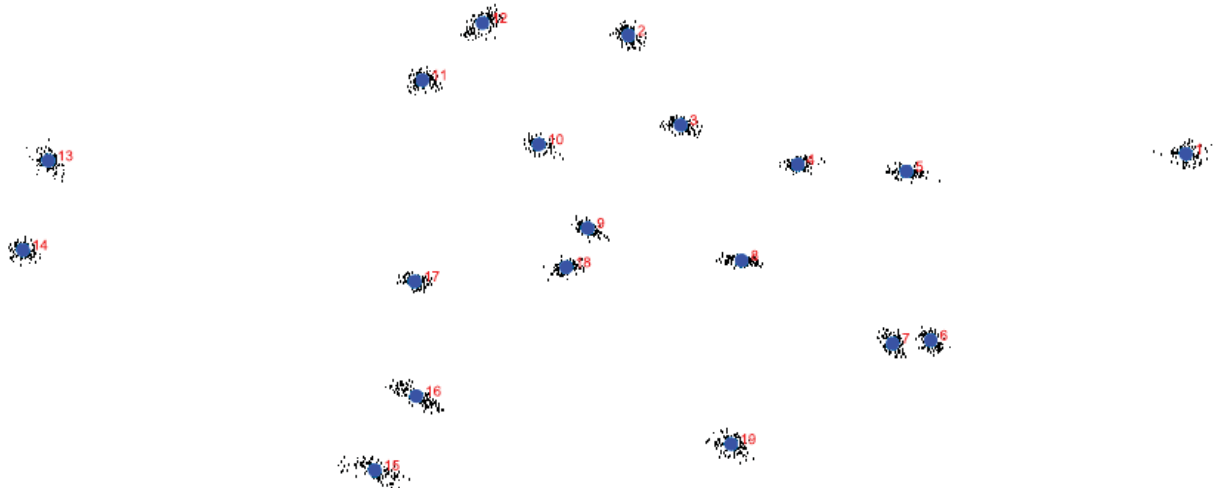
Analizlerde *Bombus* cinsine ait 125 dişi bireyin ön kanadı incelenmiştir. TpsDIG 2.12 [76] programında ön kanatlarda belirtilen noktalara landmarklar yerleştirildikten

sonra veride bulunması gereken düşük varyasyon miktarı TpsSmall 1.20 [77] programında test edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1.13 Dişi bireylerin ön kanatlarında varyasyon miktarını gösteren eğri.

TpsSuper 2.00 [79] programında analizler için yeterli sayıda landmarkın kullanılıp kullanılmadığı test edilmiştir. Elde edilen olumlu sonuçların ardından MorphoJ [78] Programında New Procrustes Fit uygulanarak 19 landmarkın dağılımı tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. MorphoJ [78] programında uygulanan New Procrustes Fit analizi sonrası dişi bireylerin ön kanatlarındaki landmarkların dağılımı.

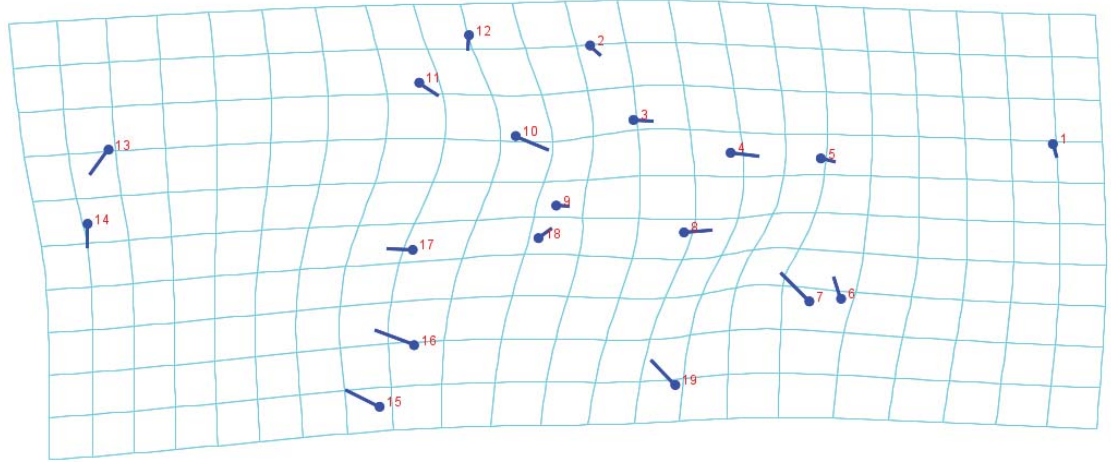
Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, kanat biçim varyasyonu 34 ekseninde açıklanmıştır (Çizelge 4.2). Buna göre, 1. temel bileşen varyasyonun %16,414'ünü açıkladığı, 2. temel bileşenin ise varyasyonun 11,626'sını açıkladığı görülmüştür. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonun ancak %38,604'ünü açıkladığı görülmüştür. PCA değerlerine ait toplam varyans 0,00055353'tür.

Çizelge 4.2. PCA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.

	Özdeğerler	% Varyans	%Kümülatif Varyans
1.	0,00009086	16,414	16,414
2.	0,00006434	11,624	28,038
3.	0,00005849	10,566	38,604
4.	0,00004205	7,597	46,201
5.	0,00003619	6,539	52,739
6.	0,00003209	5,798	58,537
7.	0,00003029	5,472	64,01
8.	0,00002278	4,115	68,125
9.	0,00002253	4,07	72,195
10.	0,00001907	3,445	75,64
11.	0,00001747	3,157	78,797
12.	0,00001268	2,291	81,088
13.	0,00001151	2,08	83,168
14.	0,00001071	1,935	85,102
15.	0,00001008	1,821	86,923
16.	0,00000867	1,566	88,489
17.	0,00000833	1,504	89,994
18.	0,00000717	1,295	91,289
19.	0,00000677	1,223	92,512
20.	0,00000569	1,027	93,539
21.	0,00000551	0,996	94,535
22.	0,00000429	0,776	95,311
23.	0,0000039	0,704	96,015
24.	0,00000338	0,611	96,626
25.	0,00000326	0,588	97,215
26.	0,00000285	0,515	97,729
27.	0,00000243	0,439	98,168
28.	0,00000222	0,401	98,57
29.	0,00000191	0,345	98,915
30.	0,00000166	0,3	99,215

31.	0,00000152	0,274	99,489
32.	0,000001	0,181	99,67
33.	0,00000093	0,169	99,838
34.	0,00000089	0,162	100

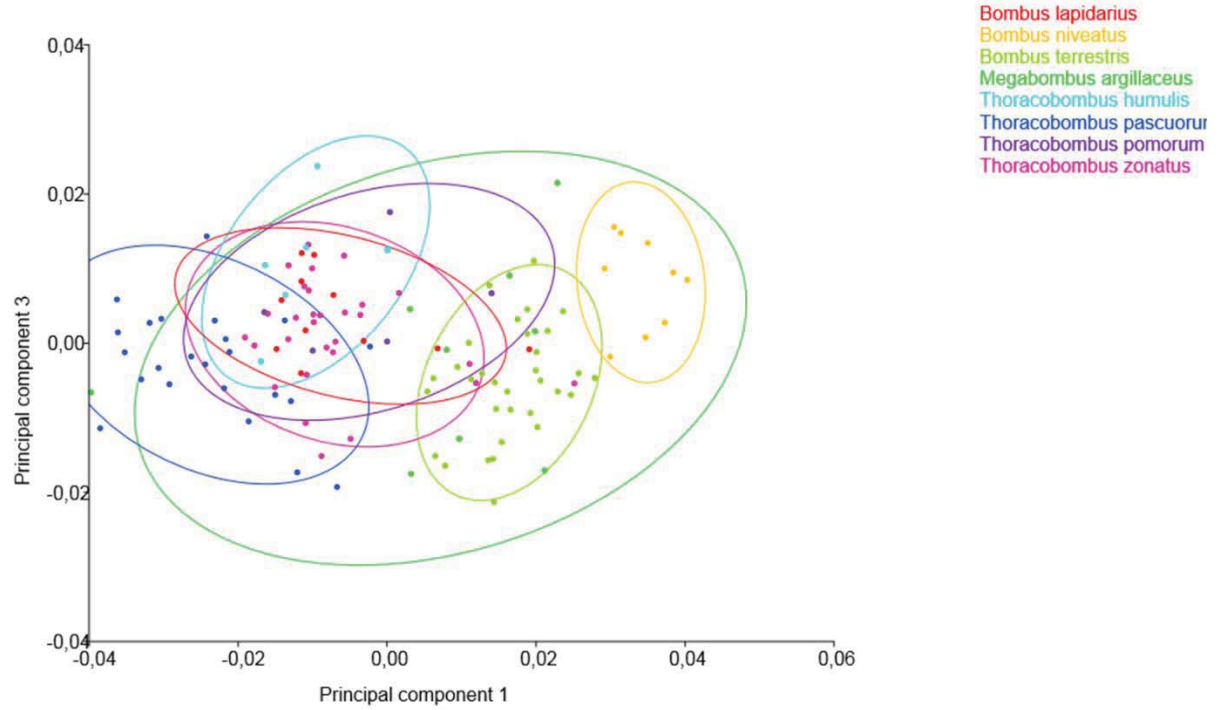
Temel ögeler analizine (PC1) göre; Şekil 4.3'te bireylere ait kanat morfolojisinde tespit edilen biçimsel farklılıklar gösterilmektedir. Temel ögeler analizi sonucu biçimsel farklılıklar incelendiğinde; 7., 15. ve 16. landmarkların diğer landmarklara göre daha yüksek bir varyasyon gösterdiği görülmektedir.



PC1

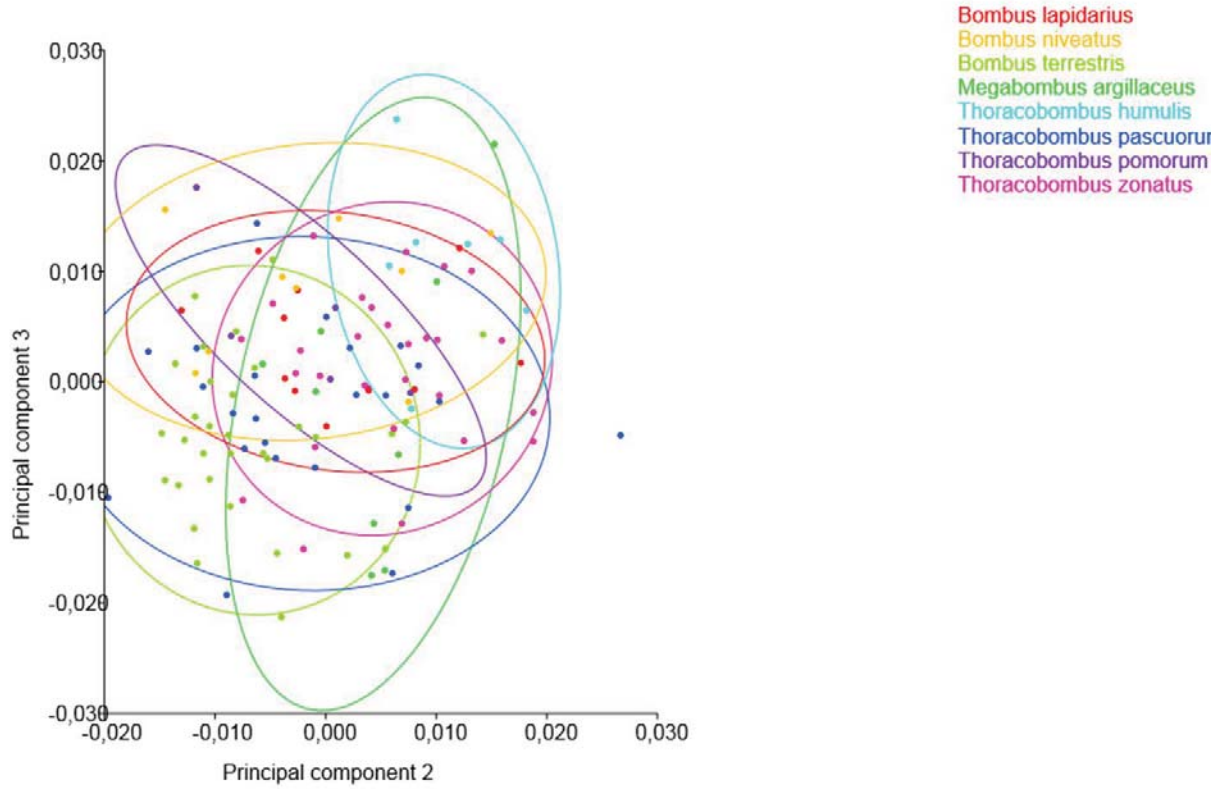
Şekil 4.3. Temel ögeler analizine göre bireylere ait kanat morfolojisinde tespit edilen biçimsel farklılıklar.

Morpho J [78] Programında PCA (Principle Component Analysis)'da bireylerin birinci ve ikinci (PC1 - PC2), ikinci ve üçüncü (PC2 - PC3), birinci ve üçüncü (PC1 - PC3) temel ögeler üzerindeki dağılımı incelenmiştir. PC1 - PC2 üzerindeki dağılımda birtakım kümelenmelerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Analizde *B. zonatus*, *B. pascuorum*, *B. humulis*, *B. niveatus* ve *B. terrestris* türlerine ait bireyler diğer türlere ait bireylere göre daha belirgin kümeler oluşturmuşlardır. *B. lapidarius*, *B. pomorum* ve *B. argillaceus* türlerine ait bireyler iç içe geçmiş durumdadır (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Bireylerin PC1 - PC3 üzerindeki dağılımı.

PC2 ve PC3 üzerindeki dağılımda birtakım kümelenmelerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Analizde PC1 - PC3 ve PC1 - PC2 temel ögelerinde diğer türlere ait bireylerden uzakta yer alan *B. terrestris* ve *B. niveatus* bu kez *B. zonatus*, *B. humulis*, *B. argillaceus*, *B. pomorum*, *B. pascuorum* ve *B. lapidarius* türleriyle iç içe geçmiş şekilde bulunmaktadır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Bireylerin PC2 - PC3 üzerindeki dağılımı.

Görece warp'lar TpsRelw'de [86] belirlenmiştir. Elde edilen sayısal verilerden en yüksek görece katkısı olan landmarkların 7. ve 9. landmarklar olduğu, en düşük görece katkısı olan landmarkın ise 1. landmark olduğu tespit edilmiştir. Varyans değerlerine baktığımızda sırasıyla $S^2 = 0.00014783$, $S^2 = 0.00013902$ ile 15 ve 16. landmarkların en yüksek varyans değerine, $S^2 = 0.00003906$ ile de 17. landmarkın en düşük varyansa sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. TpsRelw programından [86] elde edilen görece warp'lar.

LM#	SS
1	0.00048
2	0.01727
3	0.03661
4	0.03284
5	0.01094
6	0.15013
7	0.19397
8	0.01923
9	0.23195
10	0.03171

11	0.02229
12	0.02382
13	0.00416
14	0.00390
15	0.01042
16	0.03260
17	0.01539
18	0.15959
19	0.00270

Çizelge 4.4. TpsRewl programından [86] elde edilen görece warp'lar.

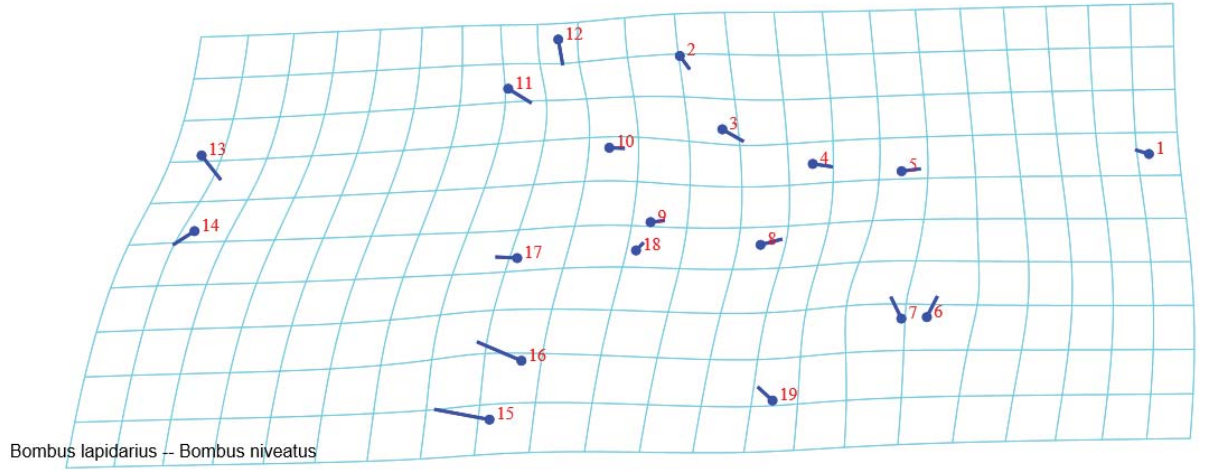
LM#	S ² x	S ² y	S ²
1	0.00004281	0.00001993	0.00006274
2	0.00002859	0.00002377	0.00005236
3	0.00004544	0.00000942	0.00005486
4	0.00003319	0.00000985	0.00004304
5	0.00004673	0.00000758	0.00005431
6	0.00002236	0.00002019	0.00004255
7	0.00002223	0.00002586	0.00004809
8	0.00005534	0.00000463	0.00005997
9	0.00003262	0.00001013	0.00004275
10	0.00003270	0.00001162	0.00004432
11	0.00003147	0.00001842	0.00004989
12	0.00004919	0.00004313	0.00009232
13	0.00002911	0.00002346	0.00005257
14	0.00002693	0.00001511	0.00004205
15	0.00011932	0.00001970	0.00013902
16	0.00012493	0.00002290	0.00014783
17	0.00003071	0.00000836	0.00003906
18	0.00003477	0.00001282	0.00004759
19	0.00005088	0.00002148	0.00007236

Partial Least Square (PLS) analizi ile kovaryasyonun eksenler üzerinde açıklanması sonucu görece warp'lar için hesaplanan tek ve % değerleri 34 eksenle açıklanmıştır (Çizelge 4.5).

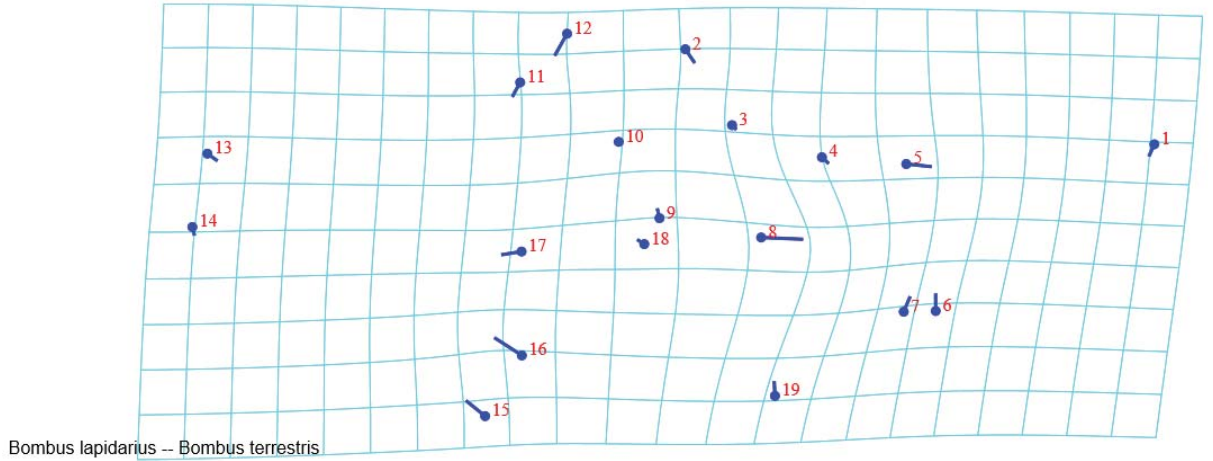
Çizelge 4.5. Dişi bireylerde PLS Analizi ile hesaplanan tek ve % değerler.

	TD	P-değeri	%
PLS1	0,00008573	<.0001	35,222
PLS2	0,00006071	<.0001	17,664
PLS3	0,00005518	<.0001	14,595
PLS4	0,00003968	<.0001	7,546
PLS5	0,00003415	<.0001	5,589
PLS6	0,00003028	<.0001	4,395
PLS7	0,00002858	<.0001	3,915
PLS8	0,00002149	<.0001	2,214
PLS9	0,00002126	<.0001	2,166
PLS10	0,00001799	<.0001	1,552
PLS11	0,00001649	<.0001	1,303
PLS12	0,00001197	<.0001	0,686
PLS13	0,00001086	<.0001	0,565
PLS14	0,0000101	<.0001	0,489
PLS15	0,00000951	<.0001	0,433
PLS16	0,00000818	<.0001	0,321
PLS17	0,00000786	<.0001	0,296
PLS18	0,00000676	<.0001	0,219
PLS19	0,00000639	<.0001	0,196
PLS20	0,00000537	<.0001	0,138
PLS21	0,0000052	<.0001	0,13
PLS22	0,00000405	<.0001	0,079
PLS23	0,00000368	<.0001	0,065
PLS24	0,00000319	<.0001	0,049
PLS25	0,00000307	<.0001	0,045
PLS26	0,00000269	<.0001	0,035
PLS27	0,00000229	<.0001	0,025
PLS28	0,0000021	<.0001	0,021
PLS29	0,0000018	<.0001	0,016
PLS30	0,00000157	<.0001	0,012
PLS31	0,00000143	<.0001	0,01
PLS32	0,00000095	<.0001	0,004
PLS33	0,00000088	<.0001	0,004
PLS34	0,00000084	<.0001	0,003

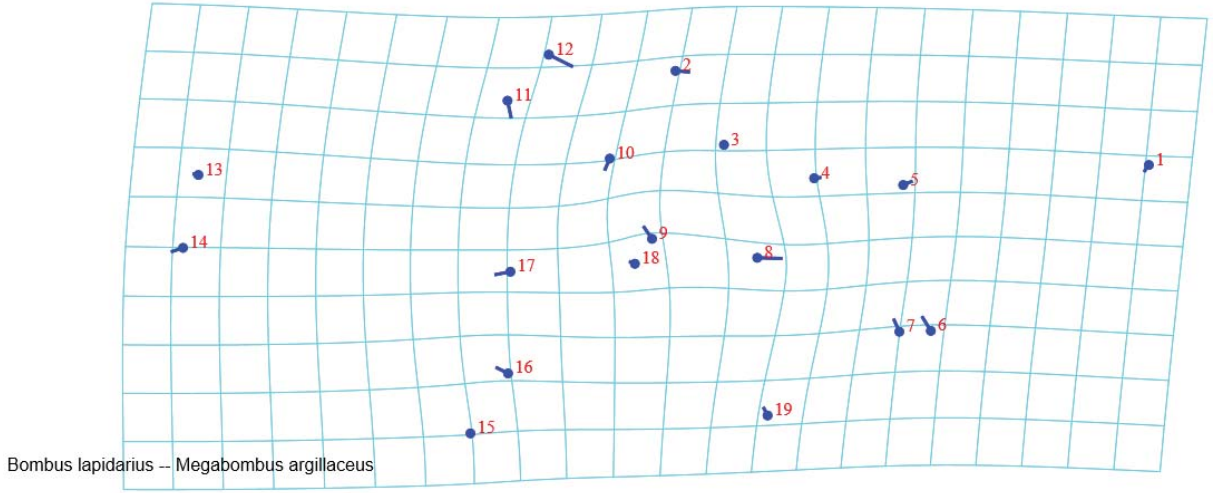
Bireyler arasındaki biçimsel farklılıkları analiz etmek için MorphoJ [78] programı kullanılmış ve diskriminant analizi yapılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmaların sonucu popülasyonların biçimsel olarak birbirlerinden farklılıklarını ortaya koymaktadır (Şekil 4.7 – 4.34). İkili gruplarda en çok deformasyonun *B. terrestris*, *B. argillaceus*, *B. pascuorum* ve *B. zonatus* türlerinde, en az deformasyonun da *B. niveatus*, *B. pomorum*, *B. humulis* ve *B. lapidarius* türlerinde olduğu gözlenmiştir.



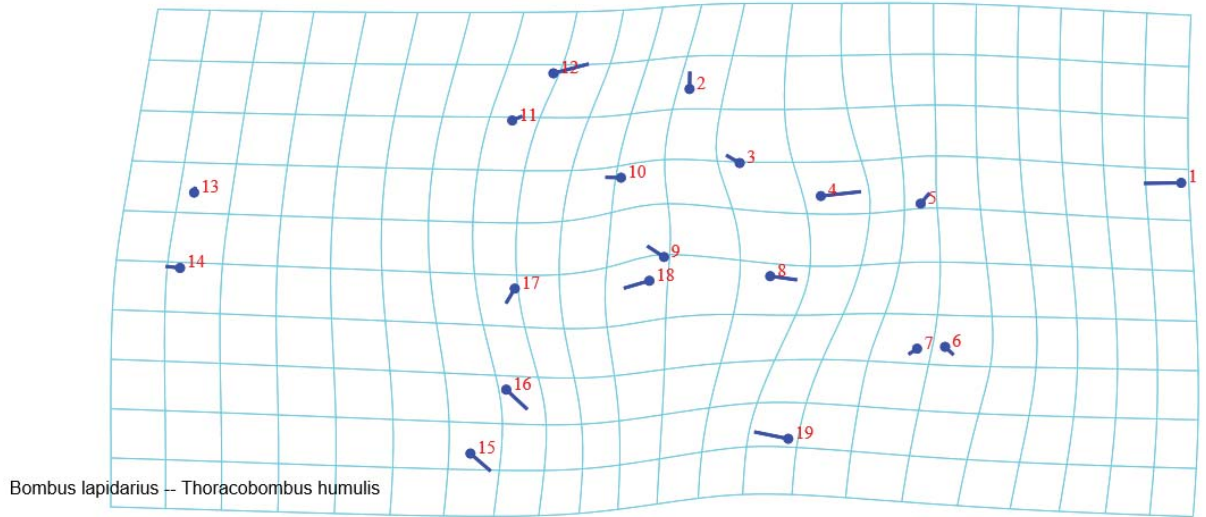
Şekil 4.7 *B. lapidarius* ile *B. niveatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



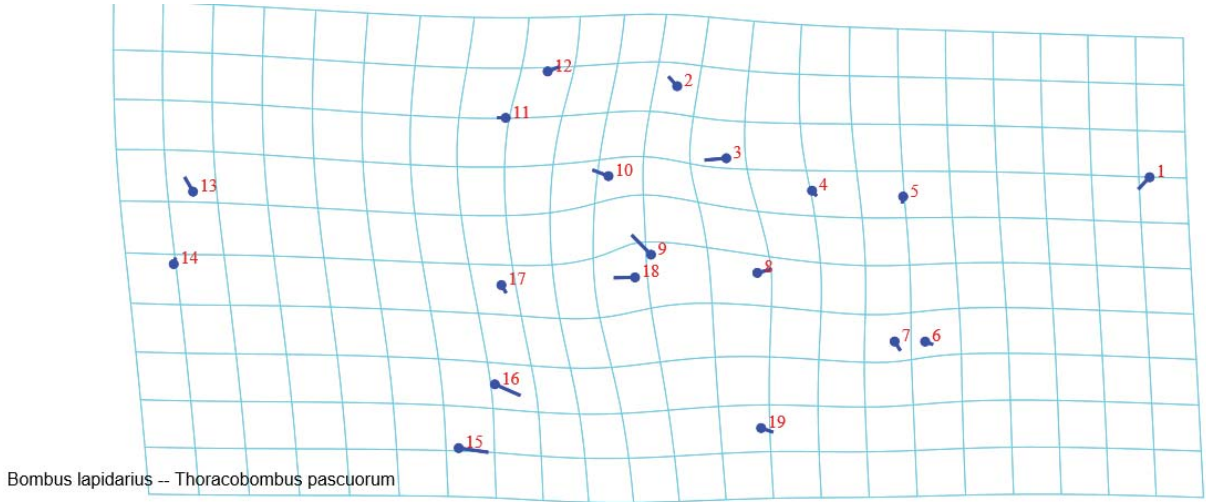
Şekil 4.8. *B. lapidarius* ile *B. terrestris* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



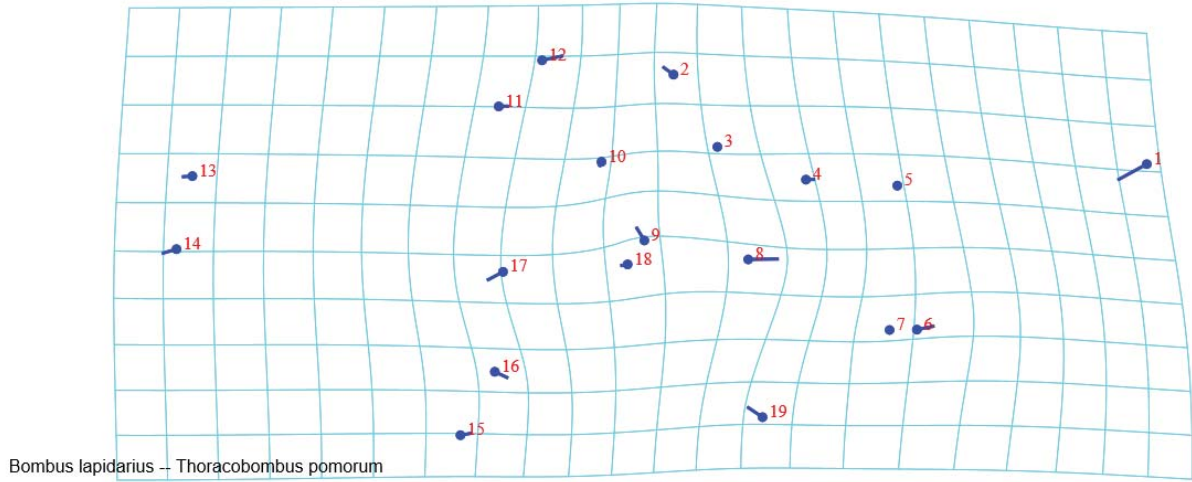
Şekil 4.9. *B. lapidarius* ile *B. argillaceus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



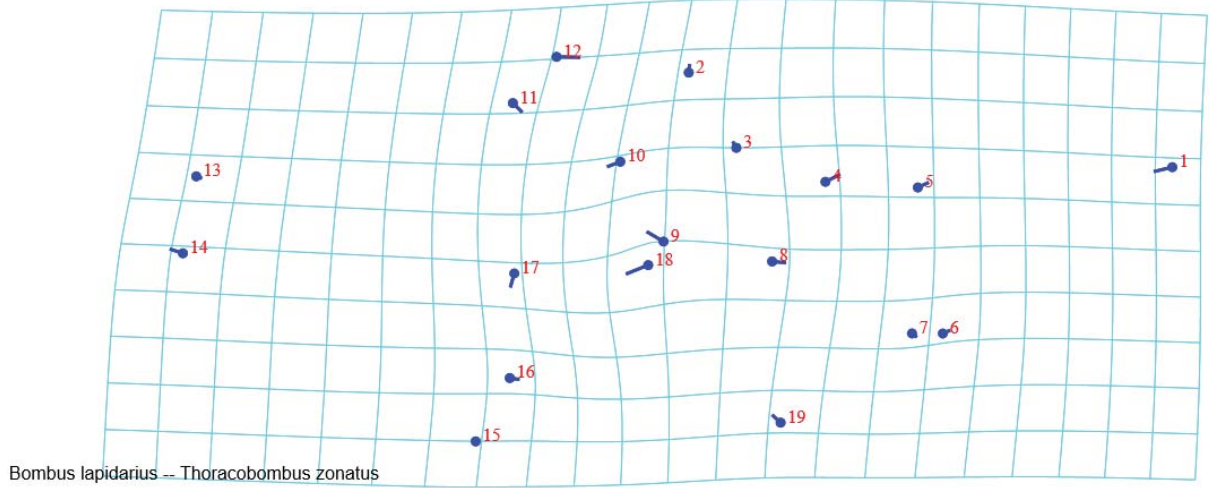
Şekil 4.10. *B. lapidarius* ile *B. humilis* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



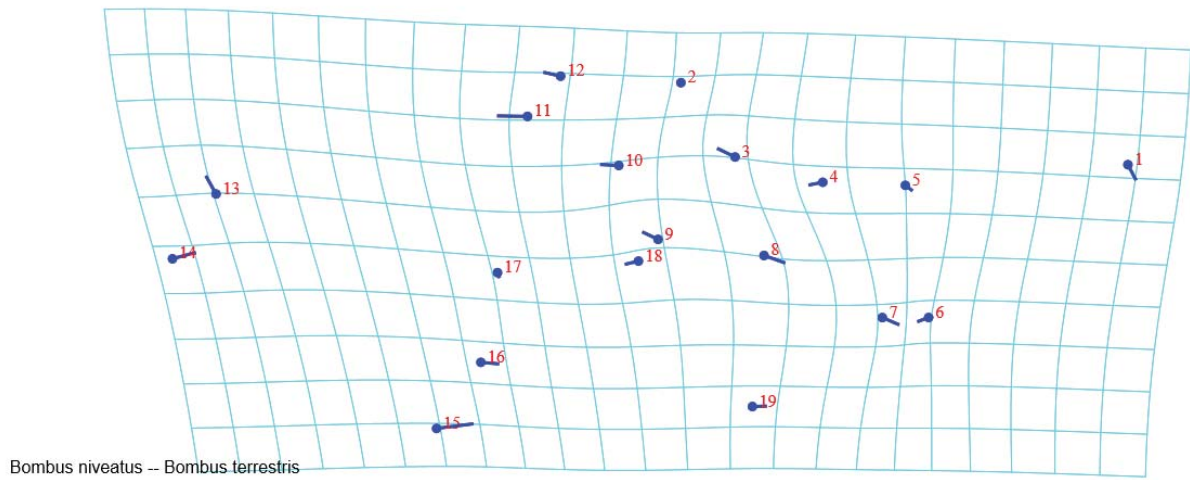
Şekil 4.11. *B. lapidarius* ile *B. pascuorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



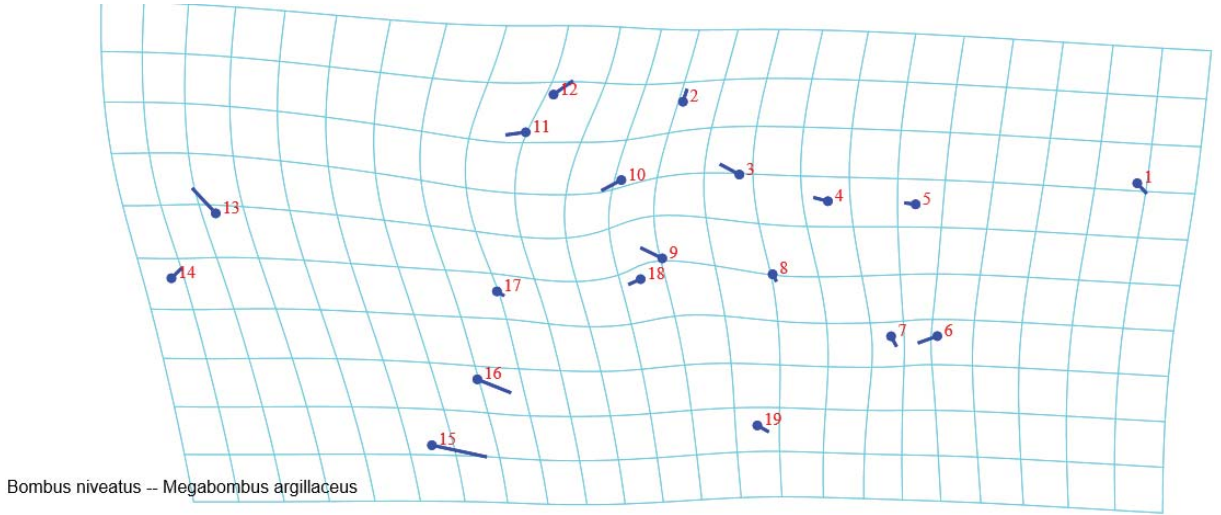
Şekil 4.12. *B. lapidarius* ile *B. pomorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



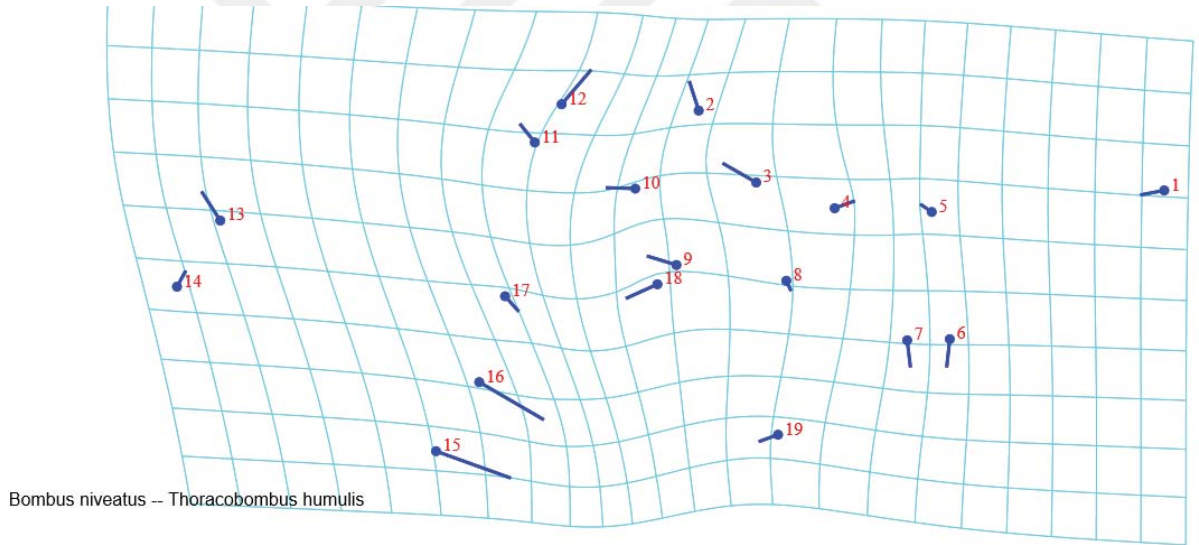
Şekil 4.13. *B. lapidarius* ile *B. zonatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzeje edilmiştir).



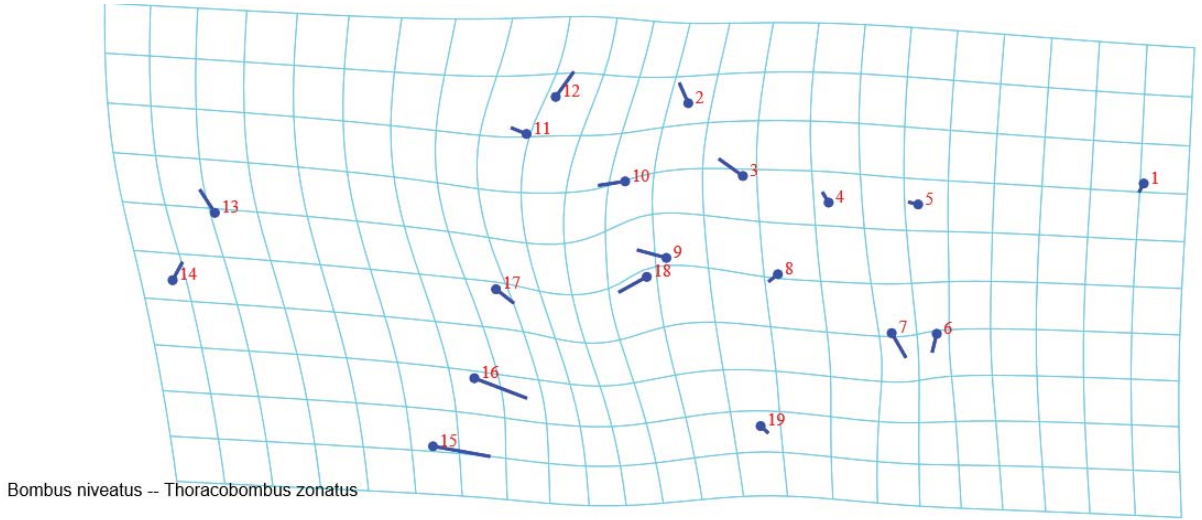
Şekil 4.14. *B. niveatus* ile *B. terrestris* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzeje edilmiştir).



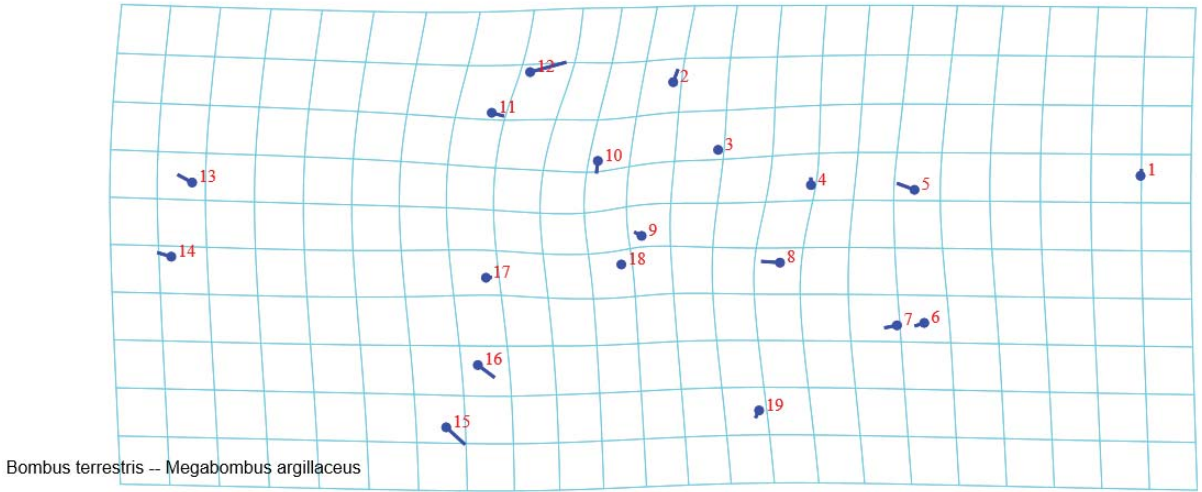
Şekil 4.15. *B. niveatus* ile *B. argillaceus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



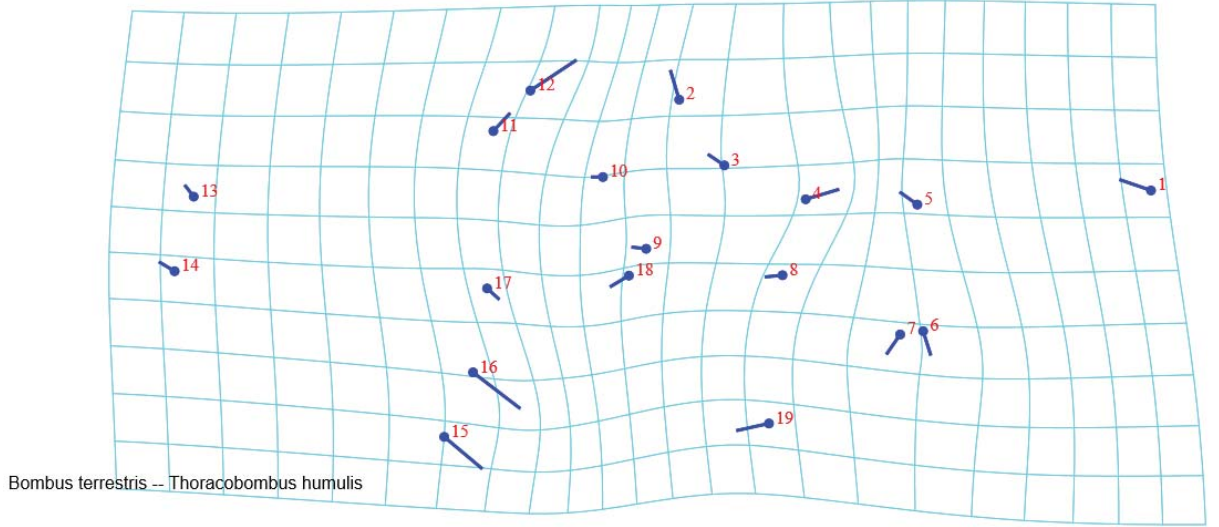
Şekil 4.16. *B. niveatus* ile *B. humilis* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



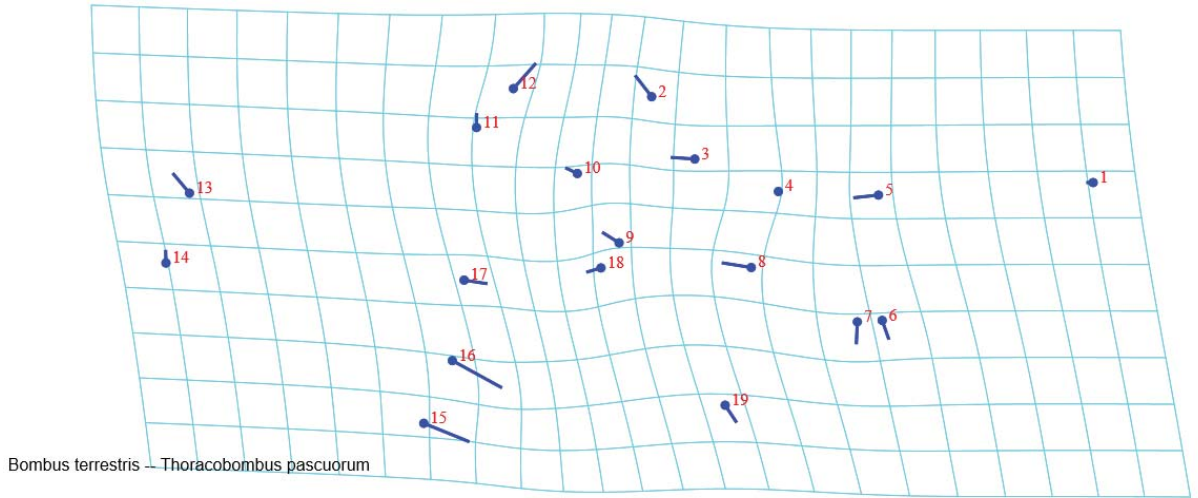
Şekil 4.19. *B. niveatus* ile *B. zonatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



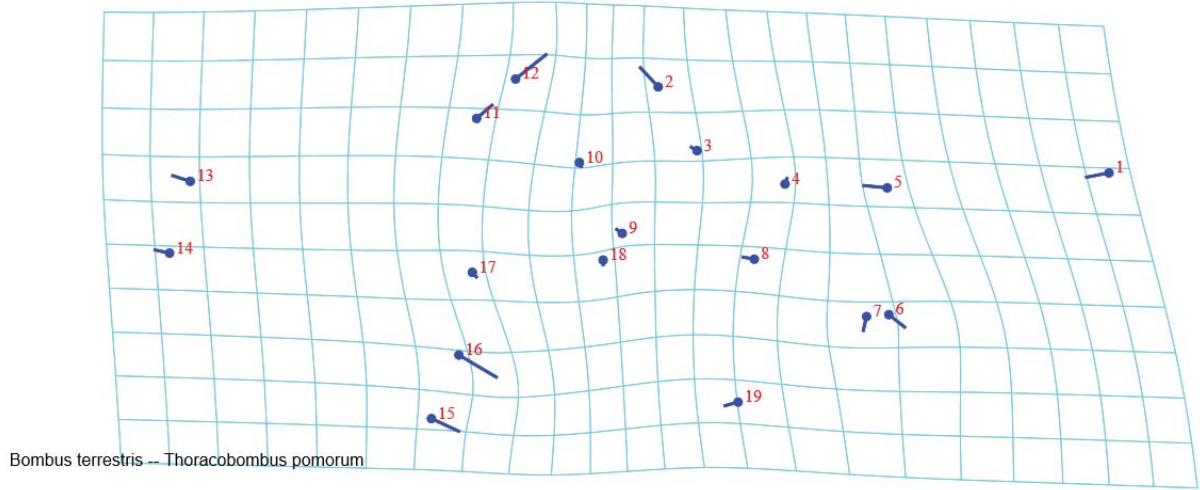
Şekil 4.20. *B. terrestris* ile *B. argillaceus* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



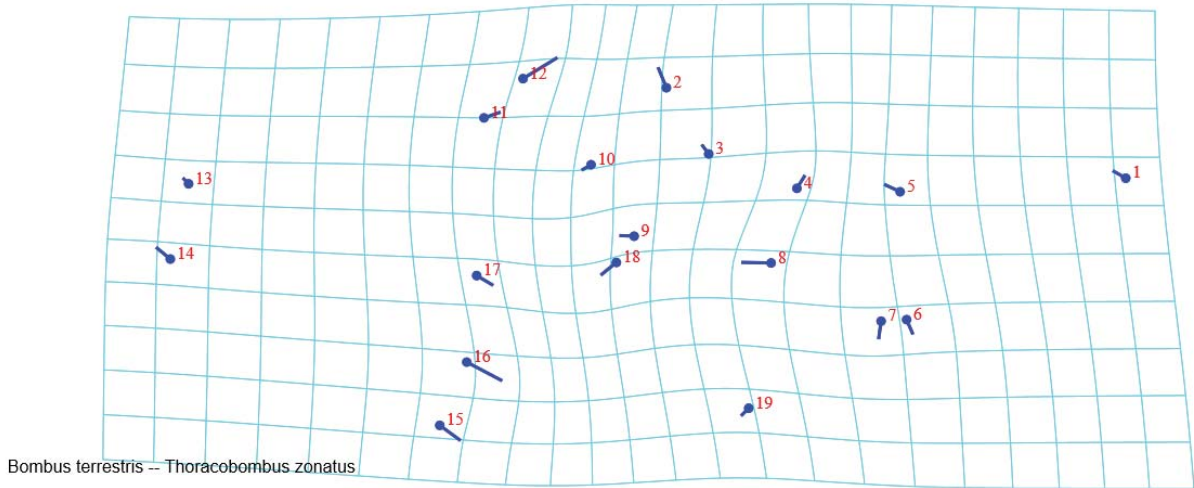
Şekil 4.21. *B. terrestris* ile *B. humilis* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



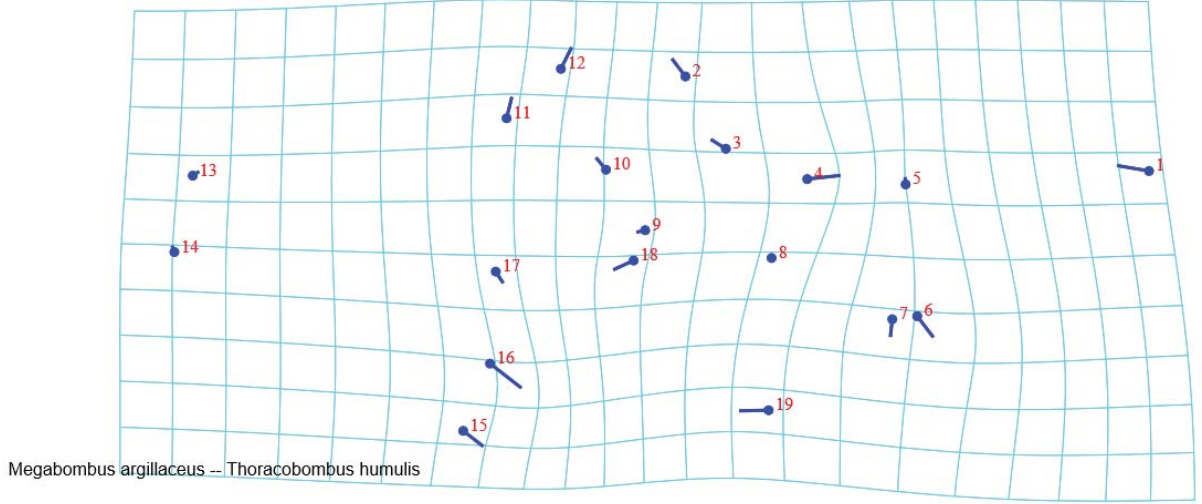
Şekil 4.22. *B. terrestris* ile *B. pascuorum* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



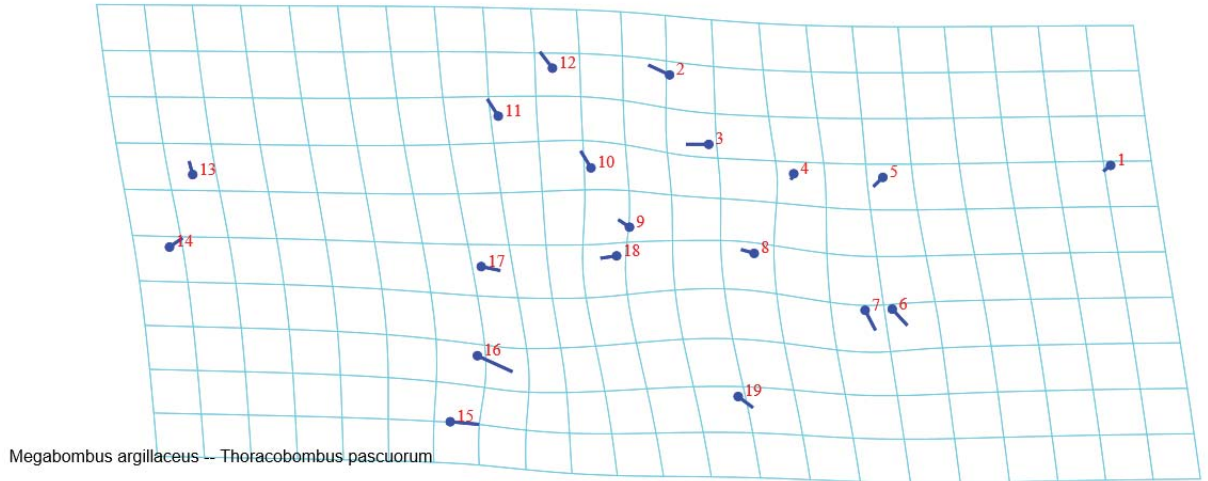
Şekil 4.23. *B. terrestris* ile *B. pomorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



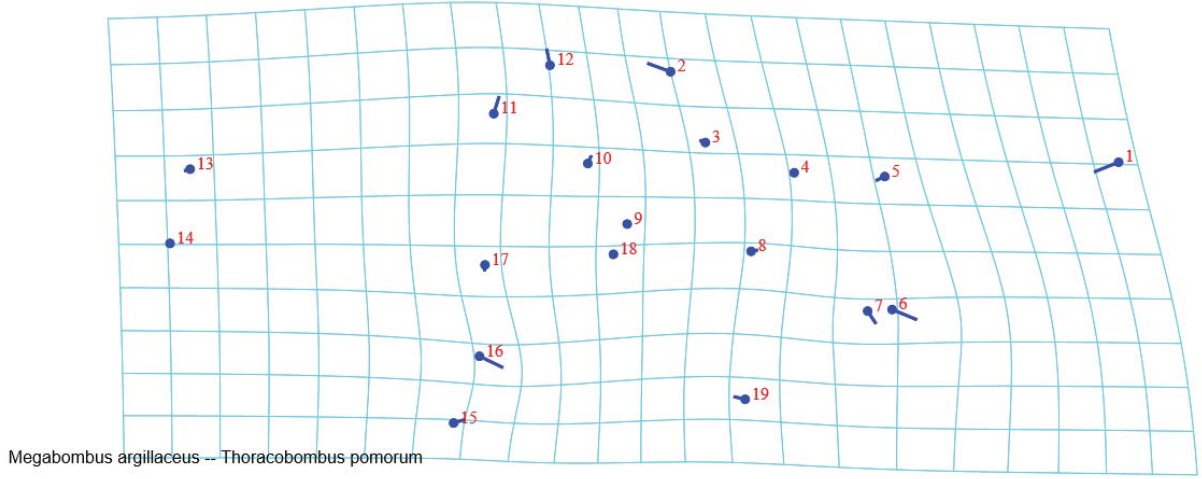
Şekil 4.24. *B. terrestris* ile *B. zonatus* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



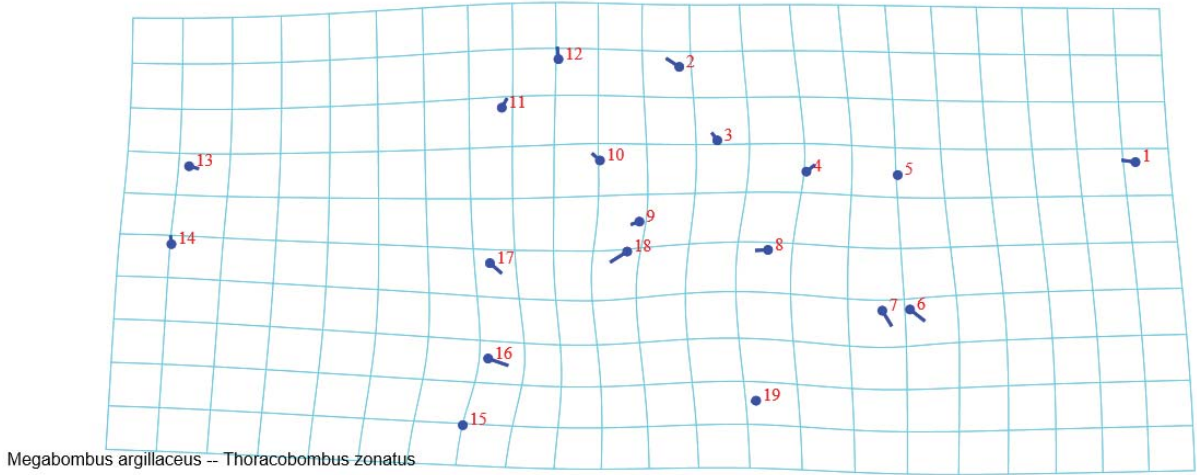
Şekil 4.25. *B. argillaceus* ile *B. humilis* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



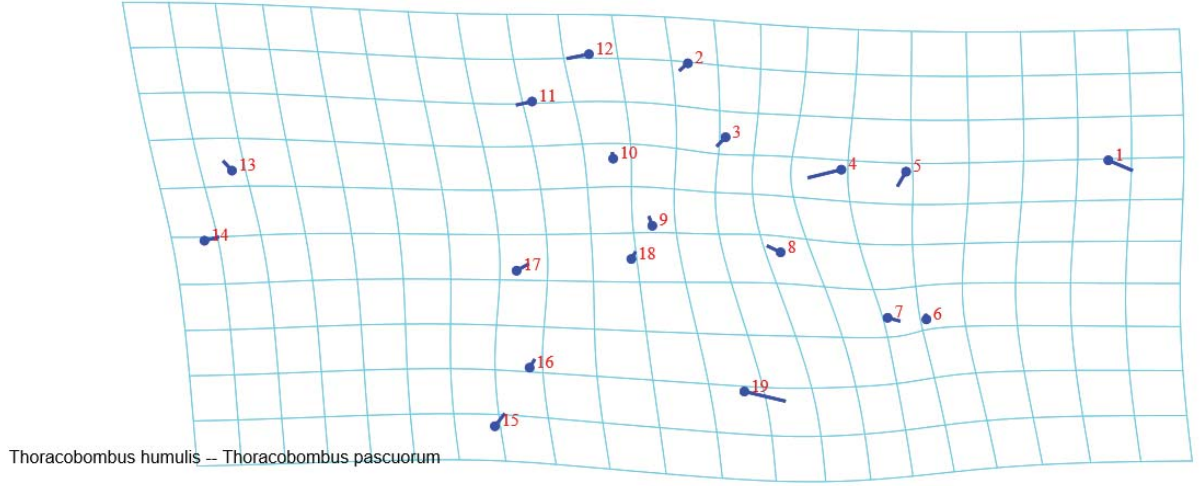
Şekil 4.26. *B. argillaceus* ile *B. pascuorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



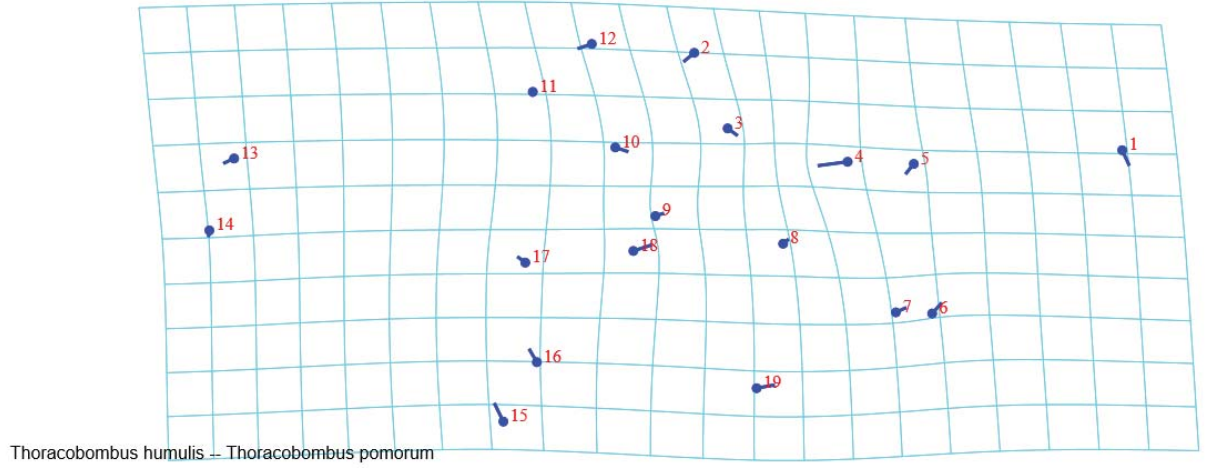
Şekil 4.27. *B. argillaceus* ile *B. pomorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



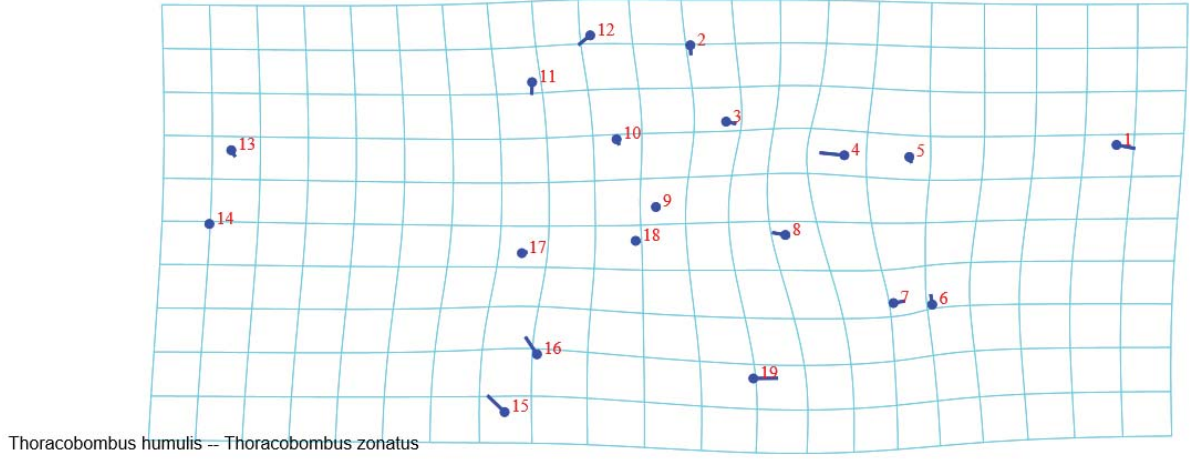
Şekil 4.28. *B. argillaceus* ile *B. zonatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



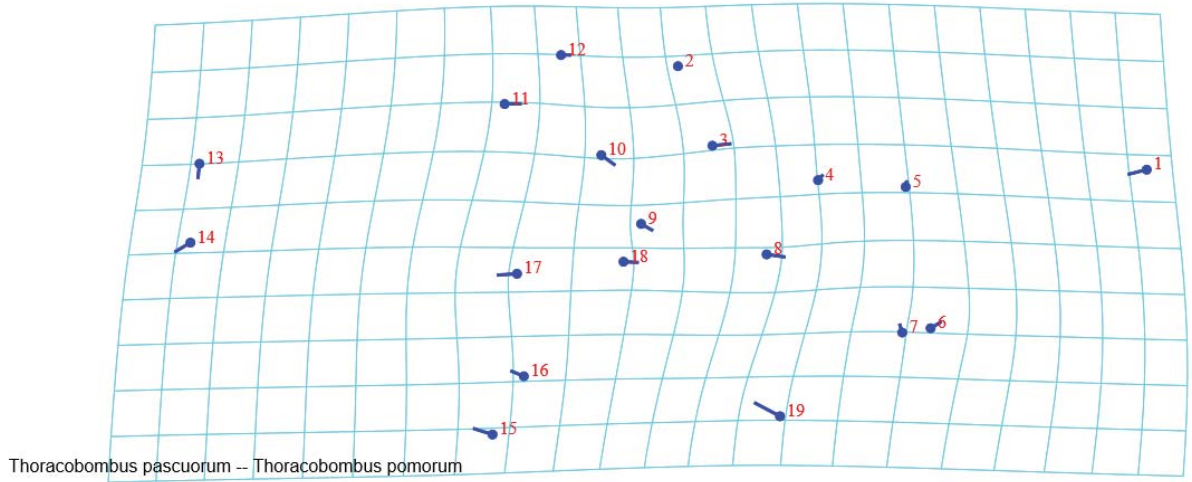
Şekil 4.29. *B. humilis* ile *B. pascuorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



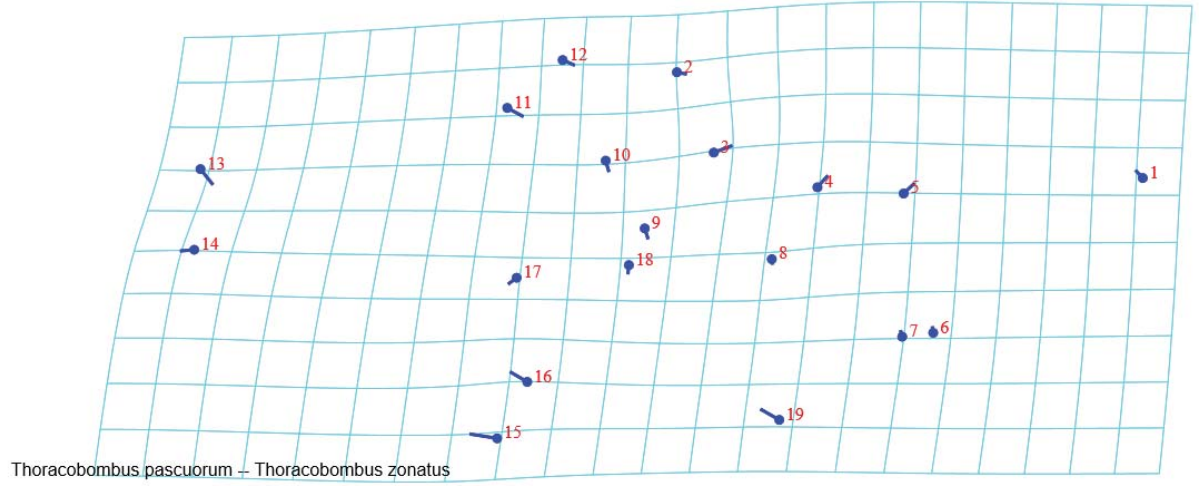
Şekil 4.30. *B. humilis* ile *B. pomorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (iki kez ekzejere edilmiştir).



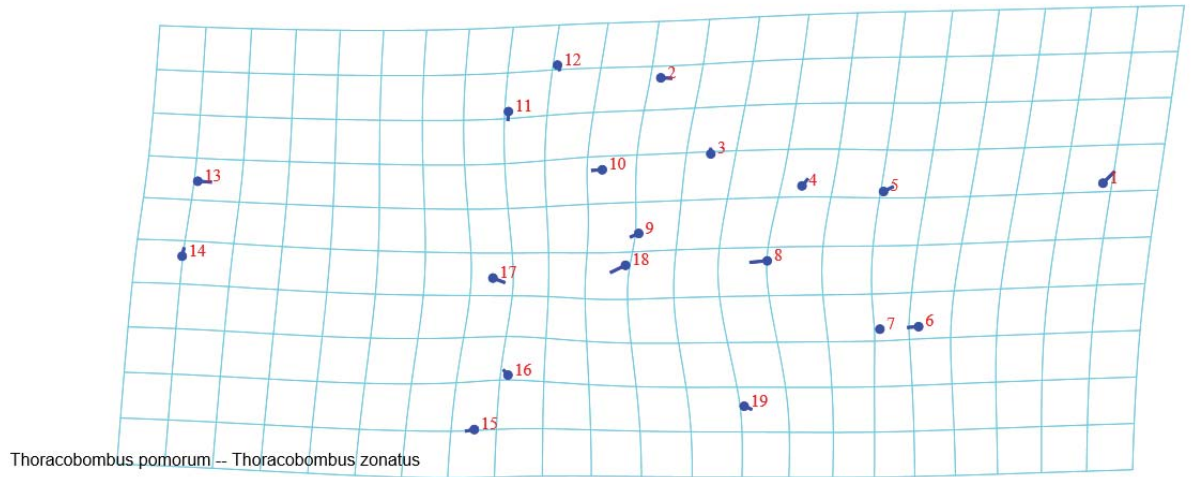
Şekil 4.31. *B. humilis* ile *B. zonatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (İki kez ekzejere edilmiştir).



Şekil 4.32. *B. pascuorum* ile *B. pomorum* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (İki kez ekzejere edilmiştir).



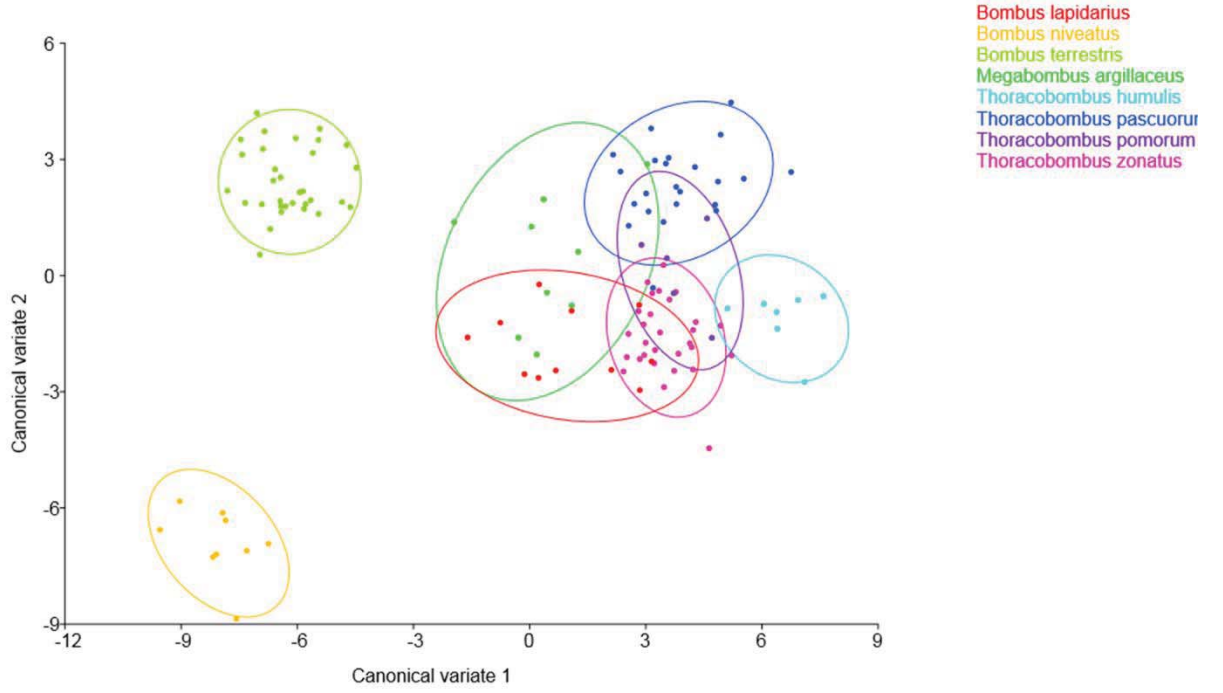
Şekil 4.33. *B. pascuorum* ile *B. zonatus* türleri arasındaki belirgin farklılığı gösteren deformasyon gridi (İki kez ekzejere edilmiştir).



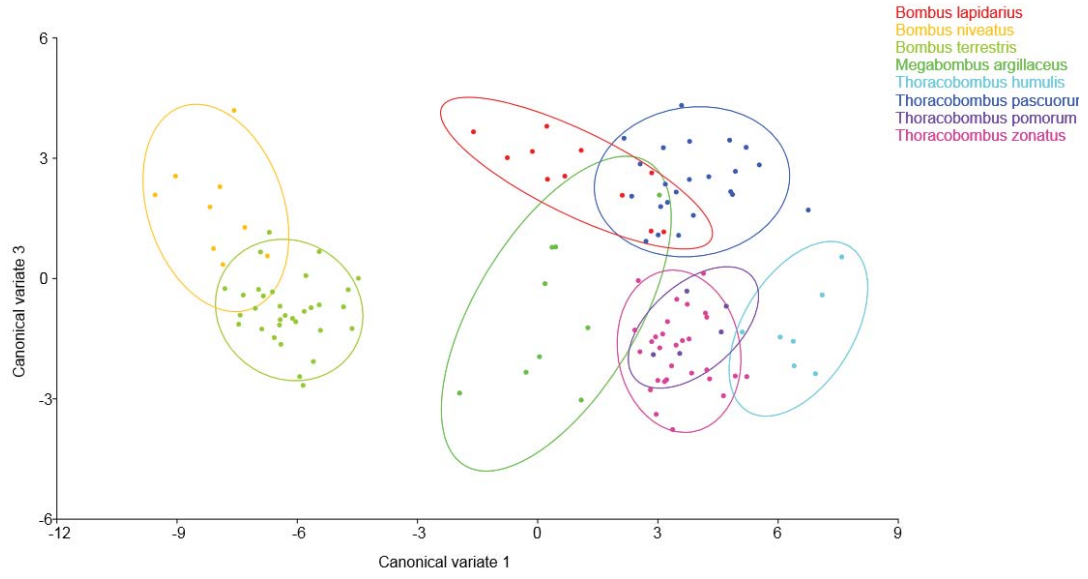
Şekil 4.34. *B. pomorum* ile *B. zonatus* türleri arasındaki düşük farklılığı gösteren deformasyon gridi (İki kez ekzejere edilmiştir).

Morpho J [78] programında Kanonik Varyans Analizi (CANOVAR), dişi bireylerin ön kanatlarında tür ve altcinsler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek için, bireylerin ilk üç kanonik değişken (CV1, CV2 ve CV3) üzerindeki dağılım grafikleri (Şekil 4.35, Şekil 4.36 ve Şekil 4.37) ve CVA tabanlı kümeleşme çizelgeleri özetlenmiştir.

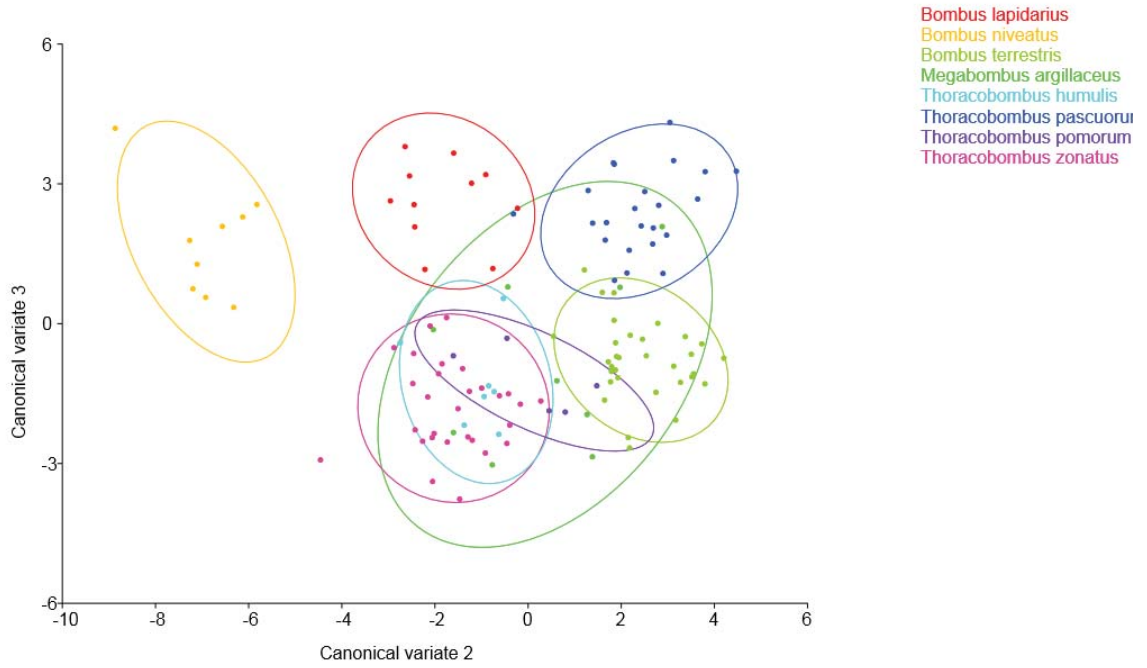
Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, gruplar arası varyasyonla ilgili olarak 1. kanonik varyansın varyasyonun %60,792'sini açıkladığı ve temel belirleyici özellikte olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6). 2. kanonik varyansın ise varyasyonun %18,295'ini açıkladığı görülmektedir. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonun %87,23'ü açıklanmaktadır.



Şekil 4.35. Dişi bireylerin ön kanatlarında CV1 ve CV2 değişkene göre dağılım grafiği.



Şekil 4.36. Dişi bireylerin ön kanatlarında CV1 ve CV3 değişkene göre dağılım grafiği.



Şekil 4.37. Dişi bireylerin ön kanatlarında türlerin CV2 ve CV3 değişkene göre dağılım grafiği.

Çizelge 4.6. CVA sonucunda elde edilen özdeğerler, varyans (%) ve kümülatif varyans (%) tablosu.

	Özdeğerler	% Varyans	% Kümülatif Varyans
1.	24,7629847	60,972	60,972
2.	7,43044549	18,295	79,267
3.	3,23389914	7,963	87,23
4.	1,6446486	4,049	91,279
5.	1,41368904	3,481	94,76
6.	1,28400582	3,162	97,922
7.	0,84413133	2,078	100

4.3.COI Gen Bölgesi DNA Dizi Analizi Sonuçları

173 örnek içerisinde morfolojik tür teşhisleri yapılan ve bu gruplar içerisinde seçilen temsili örneklerin COI gen bölgesi DNA Dizileri BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) kullanılarak GenBank'daki dizilerle test edilmiş, GenBank'daki dizilerle karşılaştırılarak giriş (Accession) kodları Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. BLAST programında karşılaştırılarak tespit edilen türlere ait giriş kodları.

Tür Kısaltması	BLAST programından karşılaştırılarak tespit edilen türler	BLAST programında karşılaştırılarak tespit edilen türe ait giriş (accession) kodu
B_terre1	<i>Bombus terrestris</i>	GU085204.1
B_terre2	<i>Bombus terrestris</i>	KT164618.1
B_pasc1	<i>Thoracobombus pascuorum</i>	KT164630.1
B_pasc2	<i>Thoracobombus pascuorum</i>	KT074033.1
B_camp	<i>Bombus campestris</i>	GU705898.1
B_lapid	<i>Bombus lapidarius</i>	KT074032.1
B_sibi1	<i>Bombus sibiricus</i>	MH998258.1
B_sibi2	<i>Bombus sibiricus</i>	MH998258.1
B_sibi3	<i>Bombus sibiricus</i>	MH998258.1
B_sibi4	<i>Bombus sibiricus</i>	MH998258.1
B_vesta	<i>Bombus vestalis</i>	KT074038.1
B_terre3	<i>Bombus terrestris</i>	GU085204.1

Bu çalışmada COI gen bölgesi DNA dizileri sonuçlarında *B. (Megabombus) argillaceus* türüne ait dizi okunmadığı için bu türe ait moleküler veri elde edilememiştir.

Bombus (s.l) cinsine ait bireylerintür içi ve türler arası genetik uzaklıklar, MEGA5.05 [84] programında K2P nükleotid süstitüsyon modeli kullanılarak, morfolojik verilere göre taksonlar atanarak hesaplanmış ve türler arası genetik uzaklık (K2P) Şekil 4.38’de gösterilmiştir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2	0.001											
3	0.111	0.109										
4	0.113	0.111	0.001									
5	0.181	0.179	0.125	0.123								
6	0.155	0.157	0.150	0.153	0.217							
7	0.130	0.128	0.124	0.126	0.216	0.133						
8	0.132	0.130	0.126	0.128	0.218	0.135	0.001					
9	0.132	0.130	0.126	0.128	0.218	0.135	0.001	0.000				
10	0.132	0.130	0.126	0.128	0.218	0.135	0.001	0.000	0.000			
11	0.198	0.195	0.159	0.162	0.125	0.237	0.194	0.196	0.196	0.196		
12	0.004	0.003	0.113	0.116	0.185	0.163	0.132	0.135	0.135	0.135	0.202	

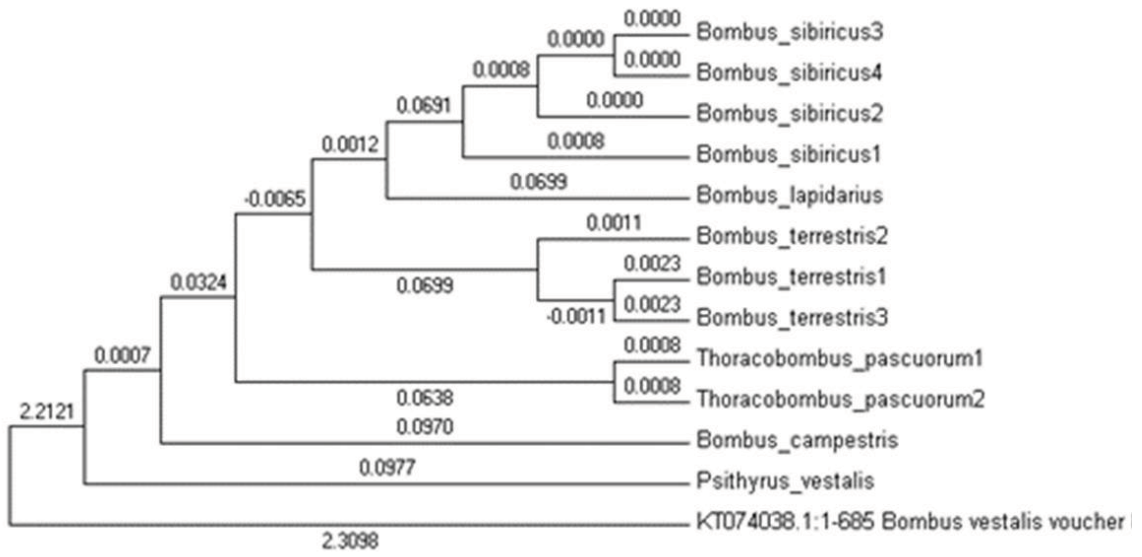
Şekil 4.38. *Bombus* (s.l.) cinsine ait türlerin türler arası genetik uzaklığı (K2P)

Morfolojik tür teşhisi yapılan örneklerin, COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçları birbirleriyle karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.8’de gösterilmekte olup 1, 2, 3, 4, 6, 7 8, 9 ve 10 deney kod numaralı örneklerin morfolojik ve COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçları birbirleriyle örtüşmektedir. 5, 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 deney kod numaralı örneklerin morfolojik tür teşhislerininise; COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçları ile örtüşmediği görülmektedir.

Çizelge 4.8. COI gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçları.

Deney Kodu	Morfolojik karakterlerine göre teşhis edilen tür	Eşey Bilgileri	Morfometrik olarak diğer türlerden ayrılma	COI gen bölgesi DNA dizilerine göre teşhis edilen tür
1	<i>Bombus terrestris</i>	♀	Tam	<i>Bombus terrestris</i>
2	<i>Bombus terrestris</i>	♂	-	<i>Bombus terrestris</i>
3	<i>Thoracobombus pascuorum</i>	♀	Kısmen	<i>Thoracobombus pascuorum</i>
4	<i>Thoracobombus pascuorum</i>	♂	-	<i>Thoracobombus pascuorum</i>
5	<i>Thoracobombus zonatus</i>	♀	Kısmen	<i>Bombus campestris</i>
6	<i>Bombus lapidarius</i>	♀	Tam	<i>Bombus lapidarius</i>
7	<i>Bombus niveatus</i>	♀	Tam	<i>Bombus sibiricus</i>
8	<i>Bombus niveatus</i>	♂	-	<i>Bombus sibiricus</i>
9	<i>Bombus niveatus</i>	♀	Tam	<i>Bombus sibiricus</i>
10	<i>Bombus niveatus</i>	♂	-	<i>Bombus sibiricus</i>
11	<i>Psithyrus sylvestris</i>	♂	-	<i>Psithyrus vestalis</i>
12	<i>Psithyrus vestalis</i>	♂	-	<i>Bombus terrestris</i>

Elde edilen DNA dizileri ile oluşturulan Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Dendrogram) Şekil 4.39'da verilmektedir. Morfolojik karakterlere bakılarak teşhisi yapılan *Psithyrus vestalis*'in, *Psithyrus sylvestris*'in, *Bombus niveatus*'un ve *Bombus zonatus*'un morfolojik olarak yanlış teşhis edildiği ağaçtaki yeri ile de kendini göstermektedir. Moleküler çalışma sonucuna göre; Morfolojik olarak *B. sylvestris* olarak teşhis edilen türün *B. vestalis*; *B. vestalis* olarak teşhis edilen türün *B. terrestris*; *Bombus niveatus* olarak teşhis edilen türün *Bombus sibiricus*; *B. zonatus* olarak teşhis edilen türün de *B. campestris* olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.39. DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Dendrogram).

5. TARTIŞMA

Bombus cinsi türleri arasında renk desenlenmeleri bakımından benzerlik görülmesine [87] rağmen tür içi renk desenlenmelerinin farklılık göstermesi bombus taksonomisinde karışıklığa neden olmaktadır [88]. Taksonomik çalışmalarda sadece klasik yöntemler kullanıldığında türler ya da popülasyonlar çakışabilmektedir [89]. Bu durum taksonomistleri başka yöntemler geliştirmeye ve uygulamaya yönlendirmiştir.

Coğrafik farklılaşma üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla genetik temelli olup tür içi ve türler arası morfolojik farklılaşma üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Geleneksel morfometrik çalışmaların tür içi ayırmda kesin sonuç vermemesi morfolojik yaklaşımlara olan ilgiyi azaltmaktadır [90].

Bombus taksonomisinde morfolojik teşhis kriterlerinde çeşitli varyasyonların ortaya çıkması ile birlikte klasik yöntemlerin yerini yeni çalışmalar almaya başlamıştır. *Bombus* arıları için geleneksel morfometrik ve sayısal taksonominin ilk uygulamaları Plowright ve Stephen'ın [91] *Bombus* ve *Psithyrus*'un evrimsel ilişkisi üzerine çalışmaları ile olmuştur [92]. *Bombus* taksonomisinde moleküler tekniklerin uygulanmaya başlaması sorunlu grupların çözülmesinde daha kullanılır hale gelmiştir. [25, 33, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99] DNA çalışmaları, allozim çalışmaları, eşeysel feromon analizi gibi kladistik yöntemlerin ve morfometri gibi alternatif yöntemlerin kullanılması bombus taksonomisine ışık tutmuştur [19]. Geometrik morfometrik yöntemi sadece sistematik çalışmalarda değil ekolojik çalışmalarda da etkin bir şekilde kullanılmaktadır [55]. Bu yöntem geleneksel morfometrik yöntemlerle karşılaştırıldığında pekçok yönden avantajlı görülmektedir [52]. *Bombus* arısı taksonomisinde geometrik morfometrik teknikler Klingenberg vd. [100], Aytekin vd. [19], De Meulemeester vd. [101], Wappler vd. [102] ve Barkan ve Aytekin [103], Koyuncu [104] tarafından başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Bu çalışmada Ankara ili ve çevresi *Bombus* (s.l.) cinsine ait 173 bireyde geleneksel morfolojik yöntemlerin yanı sıra, *Bombus* (s.l.) cinsine ait 125 dişi bireyin ön kanatlarında geometrik morfometri uygulanmıştır. Sağ ön kanatlarda daha önce Aytekin vd.'de [19] belirlenmiş olan noktalarda bazı değişiklikler yapılarak 19 adet

landmark yerleştirilmiş ve kanat şekilleri ortaya konulmuştur. Tür içi ve türler arasındaki yakınlıklar, benzerlikler ve farklılıklar incelenerek *Bombus* (s.l.) cinsi içerisindeki türlerin sınırlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, toplam 173 örnek üzerinde yapılan morfolojik teşhislere göre 10 tür (*B. terrestris*, *B. (Megabombus) argillaceus*, *B. (Thoracobombus) pascuorum*, *B. (Thoracobombus) zonatus*, *B. (Thoracobombus) pomorum*, *B. (Thoracobombus) humilis*, *B. (Melanobombus) lapidarius*, *B. (Psithyrus) sylvestris*, *B. (Psithyrus) vestalis* ve *B. (Sibiricobombus) niveatus*) belirlenerek incelenmiştir.

B. terrestris türü aynı altcinsin türleri ile karıştırılabilmektedir. Dişilerinde toraksta yakadaki kılların koyu sarı olması, interalar bantının parlak ve siyah kıllarla kaplı olması Aytekin'in [43] yapmış olduğu morfolojik teşhislerle örtüşmektedir. Ayrıca tez örnekleri Hacettepe Üniversitesi Morfometri Laboratuvarı'ndaki koleksiyon örnekleriyle karşılaştırıldığında da bu bireylerin *B. terrestris* türüne ait olduğu sonucuna varılmıştır.

B. argillaceus özellikle *B. terrestris* ile birlikte görülen yaygın ve tipik bir Doğu-Akdeniz türüdür [105]. *B. argillaceus*'un dişilerinin tüy desenleri abdomenin tamamında siyah renkte olup bu renklenme ile diğer türlerden belirgin şekilde ayırt edilebilmektedir.

B. pascuorum türünün Türkiye'de üç adet alttürü bulunmaktadır: Bunlar *olympicus*, *paphlagonicus* ve *rehbinderi*'dir. Bu çalışmada Ankara ili ve çevresine ait bireyler toplandığından alt tür seviyesinde teşhis yapılmamış olup *B. pascuorum* türüne ait örnekler diğer türler arasından interalar bantının olmaması ve koyu kırmızı tüy renklenmeleri göstermesi ile ayırt edilmiştir. *B. pascuorum* türü bireylerinin Hacettepe Üniversitesi Morfometri Laboratuvarı'ndaki koleksiyon örnekleriyle karşılaştırıldığında, bireylerinin *B. pascuorum* olduğu sonucuna varılmıştır.

B. zonatus türü bireylerinde tüy renklenmesi daha spesifiktir. Tüylerinin tipik sarı tonu ile *B. zonatus*, *Thoracobombus* (s.str.) içerisindeki diğer türlerden kolaylıkla ayrılmaktadır.

B. humilis Illiger, 1806 politipik bir türdür ve Türkiye’de çok sayıda alttürü bulunmaktadır. Bu tür içerisinde *ssp. insipidus*, *ssp. aurantiacus*, *ssp. nigrinus* (=tristis) ve *ssp. erzicanensis* olmak üzere 4 alttür bulunmaktadır [106]. Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Morfometri Laboratuvarı’nda yapılan karşılaştırmalarla, bileşik gözlerin arasında sarı renkte kılların varlığı ve toraksın tamamının siyah renkte kıllarla kaplı olması bu bireylerin *B. humilis* olduğu sonucuna varılmıştır.

B. pomorum türü *ssp. canus* ve *ssp. pomorum* ile karakterize olmaktadır. Morfometri Laboratuvarı’ndaki koleksiyon örnekleriyle karşılaştırıldığında yakadaki kıllarda dağınık halde seyrek beyaz kılların varlığı, abdomenin 1. ve 2. tergumlarının siyah kıllarla kaplı olması bu bireylerin *B. pomorum* türüne ait olduğu sonucuna varılmıştır.

B. niveatus oldukça karakteristik bir türdür. Erkek bireylerde gözler iri olup antenler uzun yapıdadır. Her iki eşeyde de proboscis son derece uzundur. Vücuttaki tüyler kısa yapıda düzgündür. Daha doğuda bulunan ve beyaz-bantlı (*ssp. niveatus*) ile batıda yayılan sarımsı-bantlı (*ssp. vorticosus*) olmak üzere iki farklı alttür bilinmektedir [105]. Bu çalışmada tüy desenlenmelerine bakılarak bireylerin *B. niveatus* olduğu tespit edilmiştir.

Yayılış bölgesi oldukça dar olan *B. (Melanobombus) lapidarius ssp. nominal* alttürünün Anadolu’nun batısındaki dağlarda; *B. lapidarius caucasicus* Kuzeydoğu Anadolu, Transkafkasya ve İran’ın kuzeyinde yayılış göstermekte olup, *B. lapidarius eriophorus* ise; yalnızca Kafkasya’da yayılış sergilemektedir [105]. Bu çalışmada Morfometri Laboratuvarındaki koleksiyonda bulunan *Bombus lapidarius* örnekleriyle karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

Aytekin’in [43] yapmış olduğu çalışmada Türkiye’de yayılış gösteren ve yuva paraziti olan *B. (Psithyrus) vestalis*, *B. (Psithyrus) campestris* ve *B. (Psithyrus) sylvestris* türlerinin Ankara çevresi Beynam Atatürk Ormanları’nda bu üç türün varlığına dikkat çekmiştir. Bu türlere ait tüy renklenmelerinin olağanüstü çeşitlilik göstermesi morfolojik teşhisini zorlaştırmaktadır.

Yapılan morfolojik teşhisle *B. sylvestris* türü yanlış teşhis edilmiş olup moleküler sonuçlar bu türün aslında *B. vestalis* olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca morfolojik teşhis sonucu *B. vestalis* olarak tanımlanan türün moleküler çalışma sonucuna göre; *B. terrestris* türü olduğu; *Bombus niveatus* türünün moleküler çalışma sonuçlarına göre *Bombus sibiricus* türü olduğu ve *Bombus zonatus* türünün ise; *Bombus campestris* türü olduğu moleküler çalışma sonuçlarıyla karşılaştırılarak doğrulanmıştır.

Dişi bireylerin ön kanatlarında gerçekleştirilen geometrik morfometrik çalışmalarda 8 türe ait 125 birey analiz edilmiştir. Dişi bireylerde elde edilen görece warp'lara göre en yüksek görece katkısı olan landmarkların 7. ve 9. landmarklar olduğu, en düşük görece katkısı olan landmarkın ise 1.landmark olduğu, varyans değerlerinde ise 15 ve 16. landmarkların en yüksek varyans değerine, 17. landmarkın en düşük varyansa sahip olduğu belirlenmiştir.

Türler arasında ön kanatlardaki deformasyonlarda İkili gruplarda en çok deformasyonun *B. terrestris*, *B. argillaceus*, *B. pascuorum* ve *B. zonatus* türlerinde, en az deformasyonun da *B. niveatus* *B. pomorum*, *B. humulis* ve *B.lapidarius* türlerinde olduğu gözlenmiştir.

Dişi bireylerde gerçekleştirilen Temel Ögeler Analizi'nde PC1 - PC2 ve PC1-PC3'te *B. pascuorum*, *B. zonatus*, *B. terrestris* ve *B. humulis* türlerine ait bireyler diğer türlere ait bireylere göre daha belirgin kümeler oluşturmuşlardır *B. pascuorum* ve *B. niveatus* türlerine ait bireyler diğer türlere göre daha uzakta çıkmışlardır. PC2-PC3'te (Şekil 4.6), PC1-PC2 (Şekil 4.4) ve PC1-PC3'ten (Şekil 4.5) farklı olarak *B. niveatus* ve *B. terrestris* türüne ait bireyler diğer türlerle iç içe geçmiş durumdadır. Temel Ögeler Analizi'nde PC1 - PC2'de (Şekil 4.4) morfolojik tür teşhisi ile alt gruplara ayrılan bireylerde *B. terrestris*, *B. pascuorum* ve *B. zonatus* kümelerine ait bireylerde sapma olduğu, bazı bireylerin küme dışında kaldığı görülmüştür. Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, kanat biçim varyasyonu 34 eksenle açıklanmıştır (Çizelge 4.2). Buna göre, 1. temel bileşen varyasyonun %16,414'ünü açıkladığı, 2. temel bileşenin ise varyasyonun 11,626'sını açıkladığı

görülmüştür. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonunun ancak %38,604'ünü açıkladığı görülmüştür. PCA değerlerine ait toplam varyans 0,00055353'tür. Temel Öğeler Analizi sonuçlarına göre; ilk üç temel bileşenin varyasyonu açıklamada yetersiz kaldığı ve bireylerin birbirinden anlamlı bir şekilde ayrılmadığı görülmüştür.

CVA'de ise *B. terrestris* ve *B. niveatus* türünün diğer türlerden uzakta yer aldığı, *B. pascuorum* ile *B. pomorum*, *B. zonatus*, *B. humulis*, *B. argillaceus* ve *B. lapidarius* türlerinin birbirlerine yakın bulunduğu gözlenmiştir. Hesaplanan tek ve kümülatif değerler incelendiğinde, gruplar arası varyasyonla ilgili olarak 1. kanonik varyansın varyasyonun %60,792'sini açıkladığı ve temel belirleyici özellikte olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6). 2. kanonik varyansın ise varyasyonun %18,295'ini açıkladığı görülmektedir. Bununla birlikte, ilk üç temel bileşen birlikte ele alındığında kanat biçim varyasyonunun %87,23'ü açıklanmaktadır. Her ne kadar Temel Öğeler Analizi bireyleri birbirinden ayırmada yani tür sınırlamalarındaki varyasyonu anlamlı bir şekilde açıklamada yetersiz kalsa da Kanonik Varyans Analizi altcinsleri birbirinden ayırmada varyasyonun %87,23'ünün anlamlı bir şekilde açıkladığı sonucuna varılmıştır.

173 örnek içerisinde morfolojik tür teşhisleri yapılan ve bu gruplar içerisinde seçilen 12 temsili örneklerin COI gen bölgesi DNA dizileri elde edilmiştir. Bu aşamada morfolojik olarak yapılan tür teşhislerinin moleküler veriler ile doğrulanması amaçlanmıştır. Seçilen bazı örneklerde ilgili gen bölgesinin amplifikasyonu başarılı sonuçlanmadığından moleküler veri elde edilmemiştir. Bu nedenle tür teşhisi gerçekleştirilen tüm gruplara ait moleküler doğrulama elde edilmemiştir. DNA dizileri ile yapılan tür teşhisi morfolojik olarak yapılan tür teşhislerinin güvenilir bir yol olmadığını ortaya koymuştur.

Bu çalışma sırasında, morfolojik olarak gerçekleştirilen tür teşhisinin morfometrik ve moleküler yöntemlerle doğruluğu sınanmıştır. Bazı gruplar morfometrik olarak ayrılmış ve ayrı küme oluşturan tüm bireyler morfolojik olarak aynı tür olarak teşhis edilmiştir. Ancak, morfometrinin *Bombus* (s.l.) cinsi türlerini ayırma konusunda yeterince güçlü bir yöntem olmadığı elde edilen sonuçlarda kendini göstermiştir.

Moleküler sonuçlar ise; morfolojik tür teşhisinin tek başına yeterli bir yöntem olmadığını ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar *Bombus* cinsine ait tür teşhislerinde morfolojik ve moleküler tür teşhislerinin mutlaka bir arada kullanılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.



6. KAYNAKLAR

- [1] UNESCO, Education for Sustainable Development Information Brief: Biodiversity. Vertebrate Taxonomy Ontology.
- [2] G.G. Simpson, Principles of animal taxonomy, Systematic Biology in Philosophy of Biology, **1961**.
- [3] E. Mayr, P.D. Ashlock, Principles of systematic zoology, Second Edt., McGraw-Hill Inc., New York, **1991**, 475p.
- [4] D. L. J. Quicke, Principle and techniques of contemporary tax-onomy. Chapman & Hall, Glasgow, **1993**.
- [5] E. Mayr, Systematics and the Origin of Species. Columbia University Press, New York, New York, **1942**.
- [6] K. De Queiroz, Species concepts and species delimitation. Systematic Biology, 56, 879–886, **2007**.
- [7] T. Lecocq, S. Dellicour, D. Michez et al., Scent of a break-up: phylogeography and reproductive trait divergences in the red-tailed bumblebee (*Bombus lapidarius*). BMC Evolutionary Biology, 13, 263, **2013a**.
- [8] T. Lecocq, N. J. Vereecken, D. Michez et al., Patterns of genetic and reproductive traits differentiation in mainland vs. Corsican populations of bumblebees. PLoS ONE, 8, e65642, **2013b**.
- [9] R.J. Whittaker, J. M. Fernández-Palacios, Island Biogeography – Ecology, Evolution, and Conservation, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford, **2007**.
- [10] D. Bickford, D. J. Lohman, N. S. Sodhi et al., Cryptic species as a window on diversity and conservation. Trends in Ecology and Evolution, 22, 148–155, **2007**.
- [11] C. D. Michener, Classification of the Apidae (Hymenoptera). University of Kansas Natural History Museum Special Publication, 54, 75–164, **1990**.
- [12] P. H. Williams, An annotated checklist of bumble bees with a analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini). Bulletin of the Natural History Museum (Entomology), 67, 79–152, **1998**.
- [13] N. M. Hines, P. H. Williams, Mimetic colour pattern evolution in the highly polymorphic *Bombus trifasciatus* (Hymenoptera: Apidae) species complex and its comimics. Zoological Journal of the Linnean Society, 166, 805–826, **2012**.
- [14] U. Jinbo, T. Kato, M. Ito, Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology, Entomological Science, 14, 107–124, **2011**.
- [15] C. Eardley, R. Urban, Catalogue of Afrotropical Bees (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes), **2010**.

- [16] O.W. Richards, The Subgeneric Divisions of the Genus *Bombus* Latreille (Hymenoptera: Apidae), Bulletin of the British Museum (Natural History) (Entomology), 22, 210–276, **1968**.
- [17] H. Özbek, Doğu Anadolu'nun bazı yörelerinde Bombinae (Hym.: Apoidea, Bombidae) türleri üzerinde taksonomik ve bazı biyolojik çalışmalar, Atatürk Üniversitesi Basımevi, **1983**, 70 pp.
- [18] P. Rasmont, Catalogue Commenté des Bourdons de la région Ouest-Paléarctique (Hymenoptera, Apoidea, Apidae), Notes Fauniques de Gembloux, 7, **1983**, 71 pp.
- [19] A. M. Aytekin, M. Terzo, P. Rasmont, N. Çağatay, Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille), Annales de la Société Entomologique de France (Nouvelle série), 43 (1), 95-102, **2007**.
- [20] M. S. Engel, T. R. Schultz, Phylogeny and Behavior in Honey Bees (Hymenoptera: Apidae), Annals of the Entomological Society of America. Vol. 90, No: 1, 43-53, **1997**.
- [21] B. Heinrich, Bumblebee Economics, Cambridge, MA: Harvard University Press, **1979**.
- [22] P. H. Williams, S. A. Cameron, H. M. Hines, B. Cederberg, P. Rasmont, A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*). Apidologie 39: 46-74, **2008**.
- [23] P. Rasmont, Sözlü görüşme, Université de Mons-Hainaut, Mons, Belçika, **2009**.
- [24] J. B. Free, Insect Pollination of Crops, (2nd Edition ed.), Academic Press, London, UK, **1993**.
- [25] H. M. Hines, S. A. Cameron, P. H. Williams, Molecular phylogeny of the bumble bee subgenus *Pyrobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*) with insights into gene utility for lower-level analysis, Invertebrate Systematics, 20, 289-303, **2006**.
- [26] D. Grimaldi, M. S. Engel, Evolution of the Insects. Cambridge, New York, Melbourne: Cambridge University Press, **2005**.
- [27] D. J. Borror, C. A. Triplehorn, N. F. Johnson, An Introduction to the Study of Insects, Saunders College Publications, Philadelphia, **1989**, 875p.
- [28] M. J. Sharkey, Phylogeny and classification of Hymenoptera. In: Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy Zootaxa 1668, 521-48, **2007**.
- [29] C. D. Michener, The Social Behavior of the Bees. Harvard University Press, **1974**, 404 p.
- [30] C. D. Michener, The Bees of the World, Baltimore, Johns Hopkins University Press, **2000**, 913p.

- [31] M. S. Engel, A Monograph of the Baltic Amber Bees and Evolution of the Apoidea (Hymenoptera), Bulletin of the American Museum of Natural History, No: 259, **2001**.
- [32] H. M. Hines, Historical biogeography, divergence times, and diversification patterns of bumble bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). Systematic Biology 57: 58-75, **2008**.
- [33] S. A. Cameron, H. M. Hines, P. H. Williams, A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). Biological Journal of the Linnean Society 91: 161-188, **2007**.
- [34] C. B. Muller, J. A. Shykoff, G. U. Sutliff, Life history Patterns and Opportunities for Queen Worker Conflict in Bumblebees (Hymenoptera:Apidae). Oikos.; 65 (2). 242-248, **1996**.
- [35] J. A. Shykoff, C. B. Muller, Reproductive decisions in Bumblebee Colonies. The Influence of Worker mortality in *Bombus terrestris* (Hymenoptera-Apidae) Functional Ecology; 9(1): 106-112, **1995**.
- [36] D. V. Alford, A Study of the Hibernation of Bumble Bees (Hymenoptera: Bombidae) in Southern England. Journal Of Animal Ecology, 38, 149-170, **1969**.
- [37] M. Beekman, P. Van Stratum, Does The Diapause Experience of Bumble Bee Queens, *Bombus terrestris*, Effect Colony Characteristics? Ecological Entomology, 25, 1-6, **2000**.
- [38] P. H. Williams, A preliminary cladistic investigation of relationships among the bumble bees (Hymenoptera, Apidae). Systematic Entomology 10: 239- 255, **1985**.
- [39] P. H. Williams, The bumble bees of the Kashmir Himalaya (Hymenoptera: Apidae, Bombini).Bulletin of the British Museum (Natural History) (Entomology) 60: 1-204, **1991**.
- [40] P. H. Williams,) An annotated checklist of bumble bees with an analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Bulletin of The Natural History Museum* (Entomology) 67: 79-152, **1998**.
- [41] N. P. Barkan, *Türkiye Thorocobombus Altcinsi (Hymenoptera: Apidae, Bombus Latreille) Türleri Üzerinde Sistemik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, 123 pp, **2010**.
- [42] H. Özbek, Erzurum civarında yonca (*Medicago sativa* L.) ve korunga (*Onobrychis sativa* L.)'daki polinatör arılar (Apoidea:Hym.) bunların faaliyetleri, meyve ve tohum bağlamaya etkileri. *Atatürk Üniv. Yay. No. 516, Zir. Fak. Yay. No. 235, Aras. Serisi No. 152*, Erzurum (Doçentlik Tezi), **1979**.
- [43] A. M. Aytekin, Ankara İli ve İlçeleri Apidae Familyası Üzerinde Sistemik Araştırmalar ve Bunların Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisindeki Polinatör Etkileri Üzerine Ön Çalışmalar, Mastır Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **1996**, 83p.

- [44] S. Büyükkafadar, *Megabombus* Dalla Torre, 1880 altcinsi (Hymenoptera. Apidae, *Bombus* Latreille) türleri üzerinde sistematik araştırmalar ve *Bombus* arılarının örtü altı tarımda tozlaştırıcı etkileri üzerine çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, **2014**, 100pp.,
- [45] D. V. Alford, *Bumblebees*. Davis-Poynter, London, **1975**.
- [46] W. P. Stephen, G. E. Bohart, P. F. Torchio, *The Biology and External Morphology of Bees*; Agricultural Exp. Sta., Oregon State University, Corvallis, **1969**, 140p.
- [47] T. Pawlikowski, *A Field Guide to Identification of Bumblebees* (Hymenoptera: Apidae: Bombini) in Poland, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikolaja Kopernika, Torun, **1999**, 30p.
- [48] O. E. Prys-Jones, S. A. Corbet, *Bumblebees*, Cambridge University Press, Cambridge, **1987**, 86p.
- [49] P. H. Williams, Natural History Museum, *Bombus*, Male Genitalia www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/bombus/genitalia.html (Temmuz, **2014**).
- [50] M. J. West-Eberhard, Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu. Rev.*, **1989**.
- [51] R. Gadagkar, K. Chandrashekara, Behavioral diversity and its apportionment in a primitively eusocial wasp. pp. 108_124. In: Ananthakrishnan, T.N., Whitman, D. (Eds.), *Insect Phenotypic Plasticity. Diversity of Responses*. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, **2005**, p. 213.
- [52] D. C. Adams, F. J. Rohlf, D. E. Slice, Geometric morphometrics: Ten years of progress following the "Revolution", *Italian Journal of Zoology*, 71, pp. 5-16, **2004**.
- [53] F. J. Rohlf, L. F. Marcus, A revolution in morphometrics. *TREE* 8 (4), 129-132, **1993**.
- [54] R. R. Sokal, F. J. Rohlf, *Introduction to biostatistics*. Freeman: San Fransisco, **1973**, 368 p.
- [55] M. L. Zelditch, D. L. Swiderski, H. D. Sheets, W. L. Fink, *Geometric morphometrics for biologists: A primer*, Elsevier Academic Press, New York, **2004**, 443 p.
- [56] F. L. Bookstein, *Morphometric tools for landmark data*, Cambridge University Press, **1991**, 435p.
- [57] N. Macleod, Landmarks, localization, and the use of morphometrics in phylogenetic Analysis, *In Fossils, phylogeny, and form: an analytical approach*, (editors G. Edgecombe, J. Adrain, and B. Lieberman), Kluwer Academic/Plenum, New York, pp. 197–233, **2001**.

- [58] I. L. Dryden, K. V. Mardia, Statistical Shape Analysis, John Wiley and Sons, **1998**.
- [59] T. M. Boyce, M. E. Zwick, C. F. Aquadro, Mitochondrial DNA in the bark weevils: size, structure and heteroplasmy, *Genetics*, 123, 825–836, **1989**.
- [60] D. R. Wolstenholme, Animal mitochondrial DNA: structure and evolution, *International Review of Cytology*, 141, 173–216, **1992**.
- [61] J. L. Boore, Animal mitochondrial genomes, *Nucleic Acids Research*, 27, 1767–1780, **1999**.
- [62] C. M. R. Fauron, D. R. Wolstenholme, Extensive diversity among *Drosophila* species with respect to nucleotide sequences within the adenine + thymine rich region of mitochondrial DNA molecules, *Nucleic Acids Research*, 11, 2439–2453, **1980**.
- [63] J. L. Boore, D. Lavrov, W. M. Brown, Gene translocation links insects and crustaceans, *Nature*, 392, 667–668, **1998**.
- [64] D. L. Lewis, C. L. Farr, L. S. Kaguni, *Drosophila melanogaster* mitochondrial DNA, completion of the nucleotide sequence and evolutionary comparisons, *Insect Molecular Biology*, 4, 263–278, **1995**.
- [65] K. Inohira, T. Hara, E. T. Matsuura, Nucleotide sequence divergence in the A+T-rich region of mitochondrial DNA in *Drosophila simulans* and *Drosophila mauritiana*, *Molecular Biology and Evolution*, 14, 814–822, **1997**.
- [66] S. Renfu, J. H. Nick, H. Campbell, S. C. Barker, Numerous gene rearrangements in the mitochondrial genome of the wallaby louse, *Heterodoxus macropus* (Phthiraptera), *Molecular Biology and Evolution*, 18, 858–865, **2001**.
- [67] C. Simon, F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu, P. Flook, Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene-sequences and a compilation of conserved polymerase chain-reaction primers, *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 651–701, **1994**.
- [68] S. Y. Cha, H. J. Yoon, E. M. Lee, M. H. Yoon, J. S. Hwang, B. R. Jin, Y. S. Han, I. Kim, The complete nucleotide sequence and gene organization of the mitochondrial genome of the bumblebee, *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidae), *Gene*, 392, 206–220, **2007**.
- [69] D. C. S. G. Oliveira, R. Raychoudhury, D. V. Lavrov, J. H. Werren, Rapidly evolving mitochondrial genome and directional selection in mitochondrial genes in the parasitic wasp *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Molecular Biology and Evolution*, 25(10), 2167–80, **2008**.
- [70] B. Heinrich, Bumblebee Economics. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, **2004**.

- [71] T. E. Murray, U. Fitzpatrick, M. J. F. Brown, R. J. Paxton, Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs. *Conservation Genetics*, 9, 653–666, **2008**.
- [72] A. Estoup, A. Scholl, A. Pouvreau, M. Solignac, Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology*, 4, 89–94, **1995**.
- [73] C. Reber Funk, R. Schmid-Hempel, P. Schmid-Hempel, Microsatellite loci for *Bombus* spp. *Molecular Ecology*, 6, 83–86, **2006**.
- [74] E. Stolle, M. Rohde, D. Vautrin, et al., Novel microsatellite DNA loci for *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources*, 9, 1345–1352, **2009**.
- [75] F. J. Rohlf, TpsUTIL1.44. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, **2009**.
- [76] F. J. Rohlf, TpsDIG2.12. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, **2008**.
- [77] F. J. Rohlf, TpsSMALL1.20. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, **2003**.
- [78] P. C. Klingenberg, MorphoJ, http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_guide/frameset.htm?index.htm (Ocak, **2014**).
- [79] F. J. Rohlf, TpsSUPER 1.14. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, **2009**.
- [80] O. Folmer, M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, R. Vrijenhoek, DNAprimers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299, **1994**.
- [81] K. Mullis, F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, H. Erlich, Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: Couto, M.M.B., Vogels, J.T.W.E., Hofstra, H., Huis in't Veld, the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51, 263–273, **1986**.
- [82] R. K. Saiki, D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis et al., Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487–491, **1988**.
- [83] K. Mullis, The unusual origin of the polymerase chain reaction. (1991) *The 16S/23S ribosomal spacer region as a target for PCR*. *Scientific American*, 263, 56–65, **1990**.
- [84] K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar, "MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood,

evolutionary distance, and maximum parsimony methods," *Molecular Biology and Evolution*, vol.28,no.10,pp.2731–2739, **2011**.

[85] J. D. Thompson, D. G. Higgins, T. J. Gibson, CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Research*, 22, 4673–4680, **1994**.

[86] F. J. Rohlf, TpsRELW1.45. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, **2007**.

[87] P. H. Williams, The distribution of bumblebee colour patterns world-wide: possible significance for thermoregulation, crypsis, and warning mimicry, *Biological Journal of the Linnean Society* 92, 97–118, **2007**.

[88] P. H. Williams, Y. Tang, J. Yao, S. A. Cameron, The bumblebees of Sichuan (Hymenoptera: Apidae, Bombini), *Systematics and Biodiversity*, 7 (2), pp.101–190, **2009**.

[89] O. W. Richards, The subgeneric divisions of the genus *Bombus* Latreille (Hymenoptera: Apidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, 22, pp. 209-276, **1968**.

[90] P. Alibert, B. Moureau, J. L. Dommergues, B. David, Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. *Zoologica Scripta* 30(4): 299-316, **2001**.

[91] R. C. Plowright, W. P. Stephen, A numerical taxonomic analysis of the evolutionary relationships of *Bombus* and *Psithyrus* (Apidae: Hymenoptera), *Canadian Entomologist*, 105, pp. 733-743, **1973**.

[92] R. E. Owen, Applications of Morphometrics to the Hymenoptera particularly Bumble bee (*Bombus*: Apidae), *Morphometrics*, 1-30, **2009**.

[93] S. A. Cameron, P. H. Williams, Phylogeny of bumble bees in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): congruence of molecular and morphological data, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28,pp 552- 563, **2003**.

[94] S. Koulianos, P. Schmid-Hempel, Phylogenetic relationships among bumblebees (*Bombus*, Latreille) inferred from mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome Oxidase I sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*,14, 335–341, **2000**.

[95] B. V. Pedersen, A phylogenetic analysis of cuckoo bumblebees (*Psithyrus*, Lepeletier) and bumblebees (*Bombus*, Latreille) inferred from sequences of the mitochondrial gene cytochrome oxidase I, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5:289–297, **1996**.

- [96] B. V. Pedersen, European bumblebees (Hymenoptera: *Bombini*)–phylogenetic relationships inferred from DNA sequences, *Insect Systematics and Evolution*, 33: 361–386, **2002**.
- [97] A. M. Aytekin, N. Çağatay, Systematical Studies on Megabombus (Apidae: Hymenoptera) Species in Central Anatolia, *Turkish Journal of Zoology*, 27, 195–204, **2003**.
- [98] A. Kawakita, T. Sota, J. S. Ascher, M. Ito, H. Tanaka, M. Kato, Evolution and phylogenetic utility of alignment gaps within intron sequences of three nuclear genes in bumble bees (*Bombus*), *Molecular Biology and Evolution*, 20, 87–92, **2003**.
- [99] A. Kawakita, T. Sota, M. Ito, J. S. Ascher, H. Tanaka, M. Kato, D. W. Roubik, Phylogeny, historical biogeography, and character evolution in bumble bees (*Bombus*: Apidae) based on simultaneous analysis of three nuclear gene sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 799–804, **2004**.
- [100] C. P. Klingenberg, A. V. Badyaev, S. M. Sowry, N. J. Beckwith, Inferring developmental modularity from morphological integration: analysis of individual variation and asymmetry in bumblebee wings, *American Naturalists*, 157, 11–23, **2001**.
- [101] T. De Meulemeester, A. M. Aytekin, I. Valterova, P. Rasmont, *Landmark based geometric morphometrics analysis of wing shape as a tool for Bombus s.str. taxonomy (Hymenoptera: Apidae)*, 6th Symposium National de Morphometrie et Evolution des Formes, Montpellier, May 27–28, France, 49 pp., **2009**.
- [102] T. Wappler, T. De Meulemeester, A. M. Aytekin, D. Michez, M. Engel, Geometric morphometric analysis of a new Miocene bumble bee from the Randeck Maar of southwestern Germany, *Systematic Entomology*, 37, 784–792, **2012**.
- [103] N. P. Barkan, A. M. Aytekin, Systematical studies on the species of the subgenus *Thoracobombus* (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille) in Turkey, *Zootaxa*, 3737(2), 167-183, **2013**.
- [104] K. Koyuncu, Türkiye *Bombus* altcinsi (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille, s. str.) Türleri Üzerinde Sistematiik Araştırmalar ve Bunların Tozlaştırmacı Etkileri Üzerine Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, **2014**.
- [105] P. Rasmont, A. M. Aytekin, O. Kaftanoğlu, D. Flagothier, Atlas Hymenoptera, <http://zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/page.asp?id=103>, **2009** (Temmuz, **2014**).
- [106] H. Özbek, On the Bumblebee Fauna of Turkey: III. The Subgenus *Thoracobombus* D.T. (Hymenoptera, Apidae, Bombinae), . Ent. Res. Soc. 2(2): 43-61, **2000**.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/~~DOKTORA~~ TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
B,YOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 27/08/2019

Tez Başlığı / Konusu: "ANKARA İLİ VE ÇEVRESİ BOMBUS (S.LATO) LATREILLE (HYMENOPTERA: APIDAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE BÜTÜNLEŞİK TAKSONOMİK ARAŞTIRMALARI"

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 73 sayfalık kısmına ilişkin, 20/08/2019 tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %8 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Refika GÜNALP

Öğrenci No: N15229270

Anabilim Dalı: Uygulamalı Biyoloji

Programı: Biyoloji

Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

27/08/2019

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Nevin KESKİN

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Refika GÜNALP

Doğum Yeri : Adana

Doğum Yılı : 1988

Medeni Hali : Evli

Eğitim

Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Uygulamalı
Biyoloji A.B.D.

Lisans : Çukurova Üniversitesi

Lise : Bursa Malcılar Lisesi

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi

2015 – 2016 : Teknokent A.Ş.'de Biyolog

2017 - Halen : Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği Proje Sorumlusu