

**TÜRKİYE BAL ARILARININ mtDNA
ve BAZI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ
BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILMASINA
YÖNELİK BİR ARAŞTIRMA**

Meral KEKEÇOĞLU

DOKTORA TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

**T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**TÜRKİYE BAL ARILARININ mtDNA ve BAZI MORFOLOJİK
ÖZELLİKLERİ BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILMASINA
YÖNELİK BİR ARAŞTIRMA**

Meral KEKEÇOĞLU

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

TEKİRDAĞ/2007

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL danışmanlığında, Meral KEKEÇOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 10/12/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyometri-Genetik Anabilim dalında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

İmza:

Üye: Prof. Dr. Muhittin ÖZDER

İmza:

Üye: Prof. Dr. Ferat GENÇ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Harun CERİT

İmza:

Üye: Doç. Dr. İrfan KANDEMİR

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(İmza)

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

Türkiye Bal Arılarının mtDNA ve Bazı Morfolojik
Özellikleri Bakımından Karşılaştırılmasına
Yönelik bir Araştırma

Meral KEKEÇOĞLU

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: M. İhsan SOYSAL

Bu çalışmada *A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* ve *A. m. carnica* ırklarını temsil eden 55 farklı yerleşimden bal arısı örnekleri 12 morfolojik karaktere göre morfometrik yöntem ve mtDNA'nın iki gen bölgesi (COI ve 16s rDNA) bakımından PZR-KPUP yöntemi ile incelenmiştir. Morfometri sonuçları NTSYS paket programında, mtDNA sonuçları ise REAP paket programında değerlendirilmiştir.

UPGMA yöntemi ile çizilen ağaç morfometrik bakımdan *A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* ve *A. m. carnica* ırklarını temsil eden dört temel bal arısı popülasyonu olduğunu göstermiştir. Buna göre ticari ve göçer arıcılığa rağmen Türkiye'de *Apis mellifera* çeşitliliğinin değişmediği görülmektedir.

Diğer taraftan COI ve 16srDNA gen bölgelerinin sırasıyla sekiz ve yedi restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu Türkiye'de iki yeni mtDNA haplotip grubunun bulunduğu belirlenmiştir. Buna göre *A. m. caucasica*, *A. m. meda* ve *A. m. anatoliaca* birbirlerine çok yakın ırklardır. Bu durum Türkiye'nin *Apis mellifera*'nın doğudan gen merkezi olması veya gen merkezine çok yakın olmasının bir sonucu olabilir.

Bu çalışmanın sonuçları benzer araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında Türkiye'deki bal arısı popülasyonlarının 16srDNA/DraI kesim sitesi dışında *A. m. adami* ile aynı kesim sitelerini taşıdığı görülmüştür. Yunanistan'ın kuzeyi (*A. m. macedonica*), Yunanistan'ın orta kesimleri (*A. m. cecropia*) ve Kıbrıs'ın kuzeyindeki (*A. m. cypria*) diğer arı ırklarından COI/NcoI, StyI ve 16srDNA/Sau3AI kesim siteleri bakımından farklı olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: mtDNA, PZR-KPUP, bal arısı (*Apis mellifera*), Türkiye,

2007,148sayfa

ABSTRACT

A Comparative Investigation of Honeybee Ecotypes of Turkey
By Means of mtDNA and Some Morphological
Traits

Ph.D. Thesis

Meral KEKEÇOĞLU

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Animal Science

Supervisor: M. İhsan SOYSAL

In this study honey bee population, corresponding these subspecies, *A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* and *A. m. carnica* from 55 different local areas of Turkey were surveyed with morphometric analysis using twelve characters and molecular analysis using PCR-RFLP method on two mtDNA gene segments (COI, 16srDNA). The results of the morphometrics analysis were statistically processed using NTSYS programme package; as concerning the results from mtDNA analysis, REAP package was being applied.

The trees obtained by UPGMA revealed four main groups of honey bee, *A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* and *A. m. carnica*, respect to morphometric. It was seen that morphometric structure of honey bee population from Turkey have been no changed even so migratory beekeeping and commercial breeding.

At the other hand diagnostic patterns of COI and 16srDNA gene segments digested with eight and seven restriction enzymes revealed two new mtDNA haplotypes in Turkey. According to these pattern, *A. m. caucasica*, *A. m. meda* and *A. m. anatoliaca* have the same maternal inheritance pattern. It may be due to Turkey is the eastern genetic center of *Apis mellifera* or near to genetic center.

Out of the 16srDNA/DraI restriction site patterns, our data being compared with those from previous analog studies showed that honey bee population from Turkey seems to be similar to the honey bee population from Grete Island (*A. m. adami*). However no more similarity between honeybee populations of Turkey included Thrace and populations Northern Greece's (*A. m. macedonica*), Central Greece's (*A. m. cecropia*) and southern Cyprus's (*A. m. cypria*).

Key words: mtDNA, PCR-RFLP, Honey bee (*Apis mellifera*), Turkey

2007,148pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
RESİMLER DİZİNİ.....	XII
SİMGE VE KISALTMALAR.....	XIII
1. GİRİŞ	14
1.1. Bal Arılarının Sınıflandırılması, Kökeni ve Dünya Üzerindeki Dağılımı.....	15
1.1.1. Sınıflandırılması.....	15
1.1.2. Tür, ırk, alt tür ve ekotip kavramları	16
1.1.3. Bal arılarının kökeni ve Dünya'ya yayılması	17
1.1.4. Orta Doğu'ya yayılmış olan <i>Apis mellifera</i> ırkları.....	21
1.2. Morfometrik ve Moleküler Teknikler ile <i>Apis mellifera</i> Irkları için Belirlenen Çeşitlilik	26
1.2.1. Morfometrik yöntemlere göre bal arılarının çeşitliliği	26
1.2.2. PZR-KPUP tekniği ve bu tekniğe göre <i>Apis mellifera</i> ırklarının araştırılması.....	32
1.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)	38
1.3.1. Niçin mtDNA?	40
1.3.2. <i>Apis mellifera</i> mtDNA'sı	41
1.3.3. mtDNA genomundaki farklılığa göre bal arısı ırklarının evrimsel tarihi ve filogenetiği.	44
1.4. Morfometrik, Biyokimyasal ve Moleküller Teknikler (PZR-KPUP, DNA dizi analizi)'e Göre Türkiye'deki Bal Arısı Çeşitliliği.....	51
1.4.1. Türkiye'deki arı ırklarını tanımlamak için yapılan bazı araştırma sonuçları.....	55
2. MATERYAL METOD	59

2.1. Materyal.....	59
2.2. Metod.....	61
2.2.1. Örneklerin alınması, laboratuvara taşınması ve muhafazası:	61
2.2.2. Örneklerin kodlanması:	63
2.2.3. Ölçüm için preperatların hazırlanması (Kanatlar, Bacaklar, Dil)	64
2.2.4. Morfometrik ölçümlerin alınması	66
2.2.4.1. Kanatlara ilişkin karakterlerin ölçülmesi	66
2.2.4.2. Bacaklara ilişkin ölçümlerin alınması.....	67
2.2.4.3. Dil Uzunluğunun Ölçülmesi.....	68
2.2.5. Morfometrik verilerin istatistiki analizi.....	69
2.2.6. mtDNA analizi	70
2.2.6.1. DNA izolasyonu	70
2.2.6.2. Elektroforez ile DNA'nın görüntülenmesi.....	73
2.2.6.3. DNA miktar tayini, spektrofotometrik yöntem	74
2.2.6.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve reaksiyon koşulları.....	75
2.2.6.5. Kesilmiş parçacık uzunluk polimorfzmi (KPUP).....	81
2.2.6.5.1. Restriksiyon enzimleri ile PZR ürünlerinin kesimi	84
2.2.6.5.2. Kesim reaksiyonun agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi.....	86
2.2.6.5.3. DNA parça uzunluklarının belirlenmesi	87
3. BULGULAR.....	88
3.1. Anket Sonuçları	88
3.2. Morfometrik Bulgular	90
3.2.1. Tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ve çok değişkenli varyans analizi (MANOVA).....	93
3.2.2. Ayrışım fonksiyon analizi.....	96
3.2.2.1. Koloni ortalamalarına göre ayrışım fonksiyon analizi.....	96
3.2.2.2. Kümeleme analizi	103
3.2.2.3. Örnek değerlerine göre ayrışım fonksiyon analizi.....	105
3.2.3. Regresyon analizi	111
3.3. mtDNA Çeşitliliği ile İlgili Bulgular	113
3.3.1. DNA izolasyonu ve PZR sonuçlarının gözlenmesi.....	113

3.3.2. Kesilmiş uzunluk parçacıklarının (KPUP) gözlenmesi	115
3.3.2.1. COI geni için KPUP.....	115
3.3.2.2. 16srDNA geni için KPUP	118
3.3.3. PZR-KPUP'ne ilişkin sonuçların istatistiki analizi	120
4. TARTIŞMA.....	123
5. KAYNAKLAR	134
EKLER.....	143
TEŞEKKÜR	147
ÖZGEÇMİŞ.....	148

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bal arılarının kökeni ve Dünya'ya yayılması	19
Şekil 1.2. Dünya'nın Orta Doğu bölgesinde yayılmış olan <i>Apis mellifera</i> ırkları	22
Şekil 1.3. Bal arısı türlerinin iki büyüklük karakterine (kübital indeks ve dil uzunluğu) göre morfometrik dağılımı	30
Şekil 1.4. <i>A. mellifera</i> 'nın <i>yemenitica-meda-mellifera</i> ırklarının 2 büyüklük karakteri (ön kanat uzunluğu ve T_{3+4}) bakımından morfometrik dağılımı	31
Şekil 1.5. M, C, A, O kollarındaki <i>A. mellifera</i> ırklarının 3 boyutlu ortamdaki dağılımı	31
Şekil 1.6. Örneklerin mtDNA'sının <i>EcoRI</i> enzimi ile kesimi sonucu oluşan bant örüntüsü (Smith,1990).....	33
Şekil 1.7. <i>Apis mellifera</i> mtDNA'sı.....	42
Şekil 1.8. mtDNA'nın Resitriksiyon Endonükleazlar ile kesim haritası	47
Şekil 1.9. <i>Apis mellifera</i> ırklarının COI-COII gen bölgesi için belirlenen 4 farklı uzunluk kombinasyonunun oluşumu	50
Şekil 1.10. Türkiye'de bulunan <i>Apis mellifera</i> ırklarının bölgelere göre dağılımı.....	54
Şekil 2.1. Örnekleme yapılan yeşimlerin harita üzerinde gösterilmesi.....	59
Şekil 2.2. Ön kanat karakterleri için ölçme sınırları	66
Şekil 2.3. Bacak karakterleri için belirlenen ölçme sınırları	68
Şekil 2.4. Dil uzunluğu (DU)'nu ölçme sınırları.....	69
Şekil 2.5. PZR'nun işleyişi.....	80
Şekil 2.6. Kesilmiş parçacık uzunluk polimorfizmi (KPUP)'ne ilişkin şematik gösterim	81
Şekil 3.1. Yetiştiriciliği yapılan arı ırklarının yüzde dağılımları.....	88
Şekil 3.2. Morfometrik özelliklere ilişkin ilk iki fonksiyona göre kolonilerin dağılımını gösteren serpilme diyagramı	101
Şekil 3.3. Dokuz populasyon için mahalonobis uzaklıklarına göre çizilen dendogramı	104
Şekil 3.4. Morfometrik özelliklere ilişkin İlk iki fonksiyona göre arıların dağılımına ilişkin serpilme diyagramı	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bal arısı ırklarının sınıflandırılması	15
Çizelge 1.2. Farklı bölgelere adapte olmuş farklı bal arısı ırkları	20
Çizelge 1.3. Morfometri çalışmalarında standart olarak kullanılan karakterler.....	28
Çizelge 1.4. Dünya'nın Orta Doğu bölgesinin arı ırklarına ilişkin bazı morfometrik veriler..	29
Çizelge 1.5. <i>Apis mellifera</i> populasyonlarında mtDNA ve PZR-KPUP tekniklerine dayanılarak yapılan araştırmalar.....	35
Çizelge 1.6. PZR-KPUP tekniğine dayanarak üç ana mtDNA haplotip grubunun tanımlanması	38
Çizelge 1.7. İnsan, maya, mısır, Drosophila ve bal arısı mtDNA'larının taşımış oldukları genler.....	39
Çizelge 2.1. Örnek kodlama çizelgesi.....	63
Çizelge 2.2. Morfometrik ölçümler için tutulan örnek kayıt cetveli	67
Çizelge 2.3. Primerler	76
Çizelge 2.4. Oniki Örnek İçin Hazırlanan PZR Reaksiyon Karışımı	77
Çizelge 2.5. PZR şartları	78
Çizelge 2.6. Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri, reaksiyon sıcaklık dereceleri ve tanıma bölgeleri	83
Çizelge 2.7. Restriksiyon enzimlerinin stok konsantrasyonları	84
Çizelge 2.8. COI geni için 12 örneğe göre hazırlanmış reaksiyon karışımları	85
Çizelge 2.9. 16srDNA geni için 12 örneğe göre hazırlanmış reaksiyon karışımları	85
Çizelge 3.1. Hangi arı ırkının yetiştiriciliğini yapıyorsunuz ve ana arıyı nereden temin ediyorsunuz sorusuna il ve ilçelere göre verilen genel cevaplar	89
Çizelge 3.2. Ellibeş yerleşim için kanat karakterlerinin ortalama ve standart hataları.....	91
Çizelge 3.3. Bacak karakterleri ve dil uzunluğunun ortalamaları ve standart sapmaları, örnekleme yapılan yerleşimlerin bulunduğu coğrafik konum ve deniz seviyesinden yükseklik	92
Çizelge 3.4. ANOVA ile grupların karşılaştırılması	93
Çizelge 3.5. SPSS ve S-PLUS paket programlarında farklı test ölçütlerine göre bölgesel grupların karşılaştırılması.....	94
Çizelge 3.6. Hotelling T ² 'ye göre grup ortalamalarının karşılaştırılması	95

Çizelge 3.7. %95 Güven aralığında Sidak metodu ile tüm karakterler için grupların çoklu karşılaştırılması.....	96
Çizelge 3.8. Dokuz coğrafik bölge populasyonun morfolojik karakterlerine ilişkin ortalama değerleri ve standart hataları	98
Çizelge 3.9. Morfolojik karakterlerin Wilk's lambda değerleri F test ve F önem düzeylerine ilişkin değerleri	99
Çizelge 3.10. Morfometrik karakterler için populasyon düzeyinde belirlenen özdeğerler, fonksiyonlara tekabül eden varyans düzeyleri, yığılmalı varyans ve kanonik korelasyon değerleri.....	100
Çizelge 3.11. Koloni ortalamalarına göre analize giren fonksiyonlara ilişkin yapı matrisi...	101
Çizelge 3.12. Bölgeleri temsil eden kolonilerin ayrışım fonksiyon analizinin sonuçlarına göre sınıflandırılması	103
Çizelge 3.13. Mahalonobis Uzaklıkları.....	104
Çizelge 3.14. Gruplandırmayı sağlayan morfolojik karakterler, ayırmayı sağladıkları sıra, Wilk's lambda değerleri F test ve F önem düzeylerine ilişkin değerleri	106
Çizelge 3.15. Populasyon düzeyinde belirlenen özdeğerler, fonksiyonlara tekabül eden varyans düzeyleri, yığılmalı varyans ve kanonik korelasyon değerleri.....	107
Çizelge 3.16. Analize giren fonksiyonlara ilişkin yapı matrisi	108
Çizelge 3.17. İlleri temsil eden örneklerin ayrışım fonksiyon analizinin sonuçlarına göre gruplandırılması.....	110
Çizelge 3.18. Morfolojik karakterlerin enlem, boylam ve yükseklikle ilgisi.....	112
Çizelge 3.19. COI gen bölgesine uygulanan enzimler, oluşan kesim örüntüsü ve parça uzunlukları.....	115
Çizelge 3.20. 16srDNA gen bölgesine uygulanan enzimler, oluşan kesim örüntüsü ve parça uzunlukları.....	118
Çizelge 3.21. Bölgelere göre mtDNA haplotipi	121
Çizelge 3.22. Enzim sınıfı, kesim yaptığı bölge sayısı ve bu bölgelerdeki toplam baz sayısı	121
Çizelge 3.23. Türk arı populasyonu için belirlenen mtDNA haplotipleri.....	122
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleriyle aynı gen bölgeleri bakımından incelenen 5 farklı <i>Apis mellifera</i> alt türünün karşılaştırılması	132

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Sintilasyon şişelerinde örneklerin muhafazası.....	61
Resim 2.2. Örneklerin laboratuvara Taşınması	63
Resim 2.3. Ölçüm için hazırlanmış kanatlar	64
Resim 2.4. Ölçüm için hazırlanmış bacaklar.....	65
Resim 2.5. Ölçüm için hazırlanmış olan diller.....	65
Resim 2.6. DNA izolasyonundan önce alkolün uzaklaştırılması	71
Resim 2.7. Birleştirilmiş PZR tüpleri	77
Resim 2.8. Çalışmada kullanılan PZR aleti (PTC-200).....	78
Resim 2.9. Doksanaltı-kuyucuk plakası.....	86
Resim 3.1. Toplam DNA ve PZR ürünlerinin jelde görüntüsü	114
Resim 3.2. COI geni için KPUP sonuçları	116
Resim 3.3. 16srDNA geni için KPUP sonuçları.....	119

SİMGE VE KISALTMALAR

ÖKU	Ön kanat uzunluğu
ÖKG	Ön kanat genişliği
a	a damarı
b	b damarı
Kİ	Kubital index
AKU	Arka kanat uzunluğu
AKG	Arka kanat genişliği
FU	Femur uzunluğu
TU	Tibia uzunluğu
BU	Basitarsus uzunluğu
BG	Basitarsus genişliği
DU	Dil uzunluğu
C	Doğu Avrupa
O	Orta Doğu
M	Batı Avrupa
A	Afrika
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)
KPUP	Kesilmiş parçacık uzunluk polimorfizmi (RFLP)
16srDNA	16s Ribozomal DNA
COI	Sitokrom oksidaz 1 geni
COI-COII	Sitokrom oksidaz 1- Sitokrom oksidaz 2 arası
nDNA	nükleer DNA
mtDNA	mitokondriyal DNA
dNTP	Deoksiniükleotittrifosfat
ANAVO	Tek değişkenli varyans analizi
MANOVA	Çok değişkenli varyans analizi
DFA	Ayrışım fonksiyon analizi
REAP	Resitriksiyon analiz programı
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean
ng	Nanogram
µl	mikrolitre

1. GİRİŞ

Arıcılık Anadolu'nun en eski üretim etkinliklerinden birisidir. Eskiden yalnızca aile ihtiyacını karşılayacak balı üretmek için yapılan arıcılık günümüzde ticari bir iş kolu haline gelmiştir. Arıcılığın diğer tarımsal iş kollarına göre doğaya daha fazla bağımlı bir faaliyet olduğu göz önünde tutulursa Türkiye zengin florası ve bölgeden bölgeye değişen iklim deseni nedenleriyle arıcılık için son derece avantajlı bir konumdadır. Ayrıca Türkiye Dünyada hiçbir yerde görülmeyen zengin arı çeşitliliğine sahiptir. Ancak sahip olduğu avantajları çok iyi kullanamamakta ve arıcılıktan beklenen fayda sağlanamamaktadır. Koloni sayısı bakımından dünya ülkeleri arasında 2. sırada yer alan Türkiye bal üretimi bakımından 4. sırada, koloni başına bal verimi bakımından yıllara göre değişmekle birlikte 2003 yılı itibariyle 9. sırada, bal dış satımı bakımından ise daha gerilerde kalmaktadır (Anonymous, 2004).

Türkiye yalnızca doğal zenginlikleri değil, aynı zamanda sahip olduğu arı gen kaynakları nedeniyle de arıcılıkta söz sahibi ülkeler arasında yer almaktadır. Mevcut koşullarda Türkiye'nin arıcılık alanında hak ettiği konuma ulaşabilmesi için en önemli silahı sahip olduğu bu gen kaynaklarıdır (Soysal, 2004). Ruttner (1988a), Anadolu'nun *Apis mellifera*'nın Yakın doğudan gen merkezi olduğunu bildirmiştir. Yapılan farklı bilimsel çalışmalarda da ülkemizde 5 ayrı bal arısı ırkının varlığından söz edilmektedir (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Smith 2002, Kandemir ve ark. 2006a). Ancak araştırma sonuçları arasında kesin bir görüş birliği bulunmamaktadır.

Diğer taraftan son yıllarda tüm Dünya'da olduğu gibi Türkiye'de de ekonomik yetiştiriciliğin gereği olarak Anadolu'nun sahip olduğu zenginliğinden yararlanmak üzere yoğun bir göçer arıcılık sistemi uygulanmaktadır. Bu sistem nedeniyle mevcut genotiplerin kendilerine özgü özelliklerini kaybettikleri ve genetik olarak saf materyal kalmadığı düşünülmektedir (Öztürk 1990, Kaftanoğlu ve ark.1993). Ancak bu melezlemenin etki düzeyi bilinmemektedir. Türkiye arı popülasyonlarının ıslahı konusunda da herhangi bir çalışma mevcut değildir. Genetik çeşitliliğin belirlenmesi gelecekte yapılacak ıslah ve seleksiyon çalışmalarının ilk adımını teşkil eder. Herhangi bir ıslah çalışmasından önce mevcut durumun tespit edilmesi ve mevcut genotiplerin morfolojik ve genetik yapılarına ilişkin değerlerin bilinmesi bir zorunluluktur (Soysal 2004).

Bu çalışma Türkiye bal arısı ırk ve ekotiplerini morfometrik ve genetik işaretleyiciler ile karşılaştırmalı olarak tanımlamak, sonuçları benzer çalışmalar ile birlikte değerlendirerek Türkiye'nin genetik çeşitliliğini ortaya koymak, gelecekte yapılacak ıslah ve seleksiyon

çalışmalarında kullanılmak üzere veri tabanı oluşturmak ve yerli gen kaynaklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

1.1. Bal Arılarının Sınıflandırılması, Kökeni ve Dünya Üzerindeki Dağılımı

1.1.1. Sınıflandırılması

Bal arıları Hymenoptera takımında Apidae familyası içinde yer alır. Linnaeus 1758 yılında bal arılarını “bal yapan” anlamına gelen *A. mellifera* olarak isimlendirerek tür düzeyinde sınıflandırmıştır (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. Bal arısı ırklarının sınıflandırılması

Alem	Animalia (hayvanlar)
Şube	Arthropoda (eklem bacaklılar)
Sınıf	Insecta (böcekler)
Takım	Hymenoptera (zar kanatlılar)
Familya	Apidae (arılar)
Cins	<i>Apis</i> (bal arıları)
Türler	<i>Apis florea</i> <i>Apis dorsata</i> <i>Apis cerana</i> <i>Apis mellifera</i>

Linnaeus 1758

Daha sonra Buttel-Reepen (1906), tarafından bal arısının (*A. mellifera*) tür düzeyinin altında üçlü isimlendirme ile sistematığı yapılmıştır. İlk yapılan araştırmalar sonucu dört *Apis* türü tanımlanmıştır. Bu türler, *Apis florea*, *Apis dorsata*, *Apis cerana* ve *Apis mellifera*'dır. Son yıllarda yapılan çalışmalar ise, bunların sayısının dört'ten fazla olduğunu göstermektedir. Yeni tanımlanan *Apis* türleri *Apis nuluensis*, *Apis laboriosa*, *Apis koshevnikovi*, *Apis nicrocincta*, *Apis andreniformis*'tir (Otis 1906).

Apis dorsata ve *Apis florea* dünyanın tropik bölgelerinde doğal olarak bulunan eski türlerdir. Bu türlerin kolonileri ağaç dallarında bulunur ve bunlar açık alanda koloni kurarak

yaşarlar. Bir diğer tropikal tür olan *Apis cerana* da doğal olarak ağaç kovuklarında yaşamaktadır. *Apis mellifera*'nın yuva yapımı ve haberleşmesi temelde *Apis cerana*'ya benzemektedir. Bu nedenle bu iki türün genetik olarak birbirlerine daha yakın iki tür olduğu anlaşılmaktadır (Ruttner 1988a).

Ayrıca alloenzim ve moleküler tekniklerle yapılan araştırma sonuçları da *A. m. mellifera* ve *A. m. cerana* türleri arasındaki filogenetik yakınlığı desteklemektedir (Smith ve ark. 2000, Sheppard ve Meixner 2003, Tan ve ark. 2006).

Alloenzim (İzoenzim), tek bir lokustaki bir enzim genine ait farklı alleller tarafından üretilen enzimin farklı formlarıdır. Farklı alleller tarafından üretilen bu enzimlerin fizyolojik işlevi değişmemekle birlikte elektroforetik olarak relatif yürüme hızları farklıdır. Buna dayanarak tür ve ırklar arası biyokimyasal farklılıklar elektroforetik olarak belirlenebilmektedir (Sheppard ve Smith 2000, Klug ve Cummings 2002).

1.1.2. Tür, ırk, alt tür ve ekotip kavramları

Avrupa, Afrika ve Batı Asya'da bal arılarının buzul çağıının etkisi ve bitki örtüsünün değişimiyle birlikte doğal olarak farklı coğrafik alanlara dağılımı *Apis mellifera* türünün çok geniş bir morfolojik ve davranış farklılığı göstermesi ile sonuçlanmıştır. Bu durum araştırmacılar arasında tür ve alt tür (ırk) tartışmalarının doğmasına neden olmuştur.

Tür kavramı türler arasındaki gen akışının azalması veya yok olması çiftleşmenin aynı türün bireyleri arasında olmasına, farklı türler arasında çifleşme eğiliminin olmamasına dayanmaktadır (Mayr 1942, Berlocher 1998).

Bir grup araştırmacıya göre alt tür (Irk) kavramı ise aynı tür içerisindeki çeşitliliğin coğrafik olarak dağılımı ile ilgilidir. Bazı araştırmacılara göre ise alt tür kavramı kalıtımla ilgilidir. Bu karşı görüşler nedeniyle bu terimin sistematikteki geçerliliği ve kullanımı hala sorgulanmaktadır (Wilson ve Brown 1953). Bu yüzden ırkların orijinlerine ilişkin sorular populasyonun alt gruplar veya alt populasyonlar haline gelirken gen frekanslarının nasıl farklılaştığı ile cevaplanabilir. Gen frekansının değişimini etkileyen faktörler göç, seleksiyon, izolasyon ve mutasyondur. İzolasyon bu bağlamda önemli bir amildir. Geçmişte coğrafik engeller nedeniyle izole populasyonlar oluşmuştur. Bu denli fazla sayıda *A. mellifera* ırkı (alt türünün)'nin oluşmasında buzul çağıındaki göçlerin ve coğrafik engeller nedeniyle izole populasyonların oluşmasının önemli bir etkisi olmuştur (Sheppard ve Smith 2000, Soysal 2004)

Morfolojik ve biyokimyasal karakterler kullanılarak birçok alt tür veya alt tür grupları tanımlanmıştır. Ancak bu alt türler arasında gen akışına karşı bir engel olmaması nedeniyle birçoğu kesin sınırlarla birbirlerinden ayırlanamamıştır. Bununla birlikte Eski dünya bal arılarıyla Yeni dünya bal arıları arasındaki farklılıklar, Doğu Avrupa, Batı Avrupa, Asya ve Afrika arıları arasındaki farklılıkların oldukça belirgin olduğu görülmektedir (Sheppard ve Smith, 2000).

Bal arılarında tür altındaki sınıflama için İngilizce karşılığı “subspecies” olan “alt tür” kavramı kullanılmaktadır. Alt türün zooteknik anlamda karşılığı “İrk”dir”. İrk altındaki sınıflamalar için ise “Ekotip” kavramı kullanılmaktadır. Zootekni’de ekotip kavramı “soy” ya da “varyete” terimleri ile ifade edilmektedir (Soysal 2004).

1.1.3. Bal arılarının kökeni ve Dünya’ya yayılması

Apis mellifera’nın kökenine ilişkin üç hipotez geliştirilmiştir (Rothenbuhler ve Kerr 1968, Wilson ve Brown 1953, Ruttner 1988a). Wilson ve Brown (1953), bal arılarının Afrika da ortaya çıktığını ve Orta doğu üzerinden Avrupa’ya yayıldığını ileri sürmektedir. Rothenbuhler ve Kerr (1968)’e göre balarılarını Asya’nın güneydoğusu veya Hindistan’da ortaya çıkmıştır. Ruttner (1988a), ise bal arılarının Hazar denizinin güney kıyılarında ortaya çıktığını ve Anadolu yolu ile Avrupa’ya ve Arap yarımadası boyunca Afrika’ya yayıldığını belirtmiştir.

Ruttner (1988a)’a göre *Apis mellifera* 50.000 yıl önce *Apis cerana*’dan ayrılmış oldukça genç bir türdür. İran, Pakistan ve Afganistan’da yapılan araştırmalar buradaki *A. mellifera* ve *A. cerana*’ya ilişkin örneklerin birbirine yakınlık derecesinin daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar bu iki türe ilişkin eski çağ popülasyonlarının burada birbirinden ayrıldığını yani *A. mellifera*’nın İran’dan köken aldığı hipotezini destekler niteliktedir.

Bugüne kadar tanımlanmış olan 27 *Apis mellifera* ırkı (alt türü) bulunmaktadır. Bu kadar çok *Apis mellifera* ırkının oluşumu tarihsel süreç içerisinde meydana gelen iklimsel değişiklikler nedeniyle küçük izole popülasyonların oluşumuna bağlanmaktadır (Smith 2002). Buzul çağında Avrupa coğrafyasının büyük bir bölümü bal arıları ve pek çok organizma için uygun olmayan bir iklime sahip olmuştur. Belki de bu kötü koşullar nedeniyle İtalya, İspanya ve Balkanlardaki *Apis mellifera* popülasyonlarının daha elverişli coğrafik alanlara (Asya ve Afrika) yayılarak küçük izole popülasyonlar oluşturduğu hipotezi ileri sürülmektedir (Ruttner 1988a, 1992, Hewitt 1996). Bu görüşlere göre buzul çağında farklı coğrafyalara sığınan küçük

izole popülasyonlar mutasyon, genetik sürüklenme ve doğal seleksiyonun etkisiyle morfolojik yapı, davranış özellikleri ve hastalıklara direnç bakımından farklılaşmışlardır. Küçük izole popülasyonlarda meydana gelen farklılıklar birbirlerinden bağımsız olarak yayılmış ve yeni ırkların oluşumuyla sonuçlanmıştır. Buzul çağına sona erip Avrupa'nın tekrar yaşanabilir bir iklime kavuşmasından sonra ise bu izole popülasyonlar atalarının çıktıkları Avrupa ülkelerine geri dönmüşler ve birbirleriyle gen alışverişinde bulunmuşlardır (Ruttner 1988a, Smith 1991).

Küçük izole popülasyonlarda genetik sürüklenmenin etkisinin daha yüksek olduğu, mutasyonun yeni bir tür ya da alt tür oluşumunda tek başına bir neden olamayacağı, ancak mutasyon, genetik sürüklenme, seleksiyon ve uyumun birlikte etkisiyle türleşmenin söz konusu olabileceği bilinen bir gerçektir (Klug 2002). Birçok araştırmacının da bildirdiği gibi bal arılarında bu denli geniş bir varyasyonun görülmesi bu bilimsel gerçeklerin bir sonucudur (Ruttner 1988a,b, 1992, Smith 1991, Hewitt 1996, Sheppard ve Smith 2000).

Araştırmalar buzul çağına sona ermesinden sonra bal arısı popülasyonlarının çeşitli kollardan farklı coğrafik alanlara yayıldığını göstermiştir:

1. İran'dan çıkıp Orta Doğu üzerinden Akdeniz'in doğusuna kadar yayılan popülasyonlar (C+O grubunu oluşturan popülasyonlar).
2. Afrika'nın kuzeyine ve Avrupa içerisine kadar yayılan popülasyonlar (M grubunu oluşturan popülasyonlar).
3. Afrika'nın kuzeyi hariç diğer kesimlerine yayılan popülasyonlar (A grubunu oluşturan popülasyonlar) olmak üzere üç ana grupta toplanırlar (Şekil 1.1.).

Çizelge 1.2. Farklı bölgelere adapte olmuş farklı balırsı ırkları

Irkların Adapte Olduğu Bölgeler	Irkların isimleri
Ortadoğu (Kuzeydoğu Akdeniz): O	<i>A. mellifera adamii</i> Ruttner, 1975
	<i>A. mellifera pomonella</i> Sheppard ve Meixner,2003
	<i>A. mellifera cypria</i> Pollman, 1879
	<i>A. mellifera syriaca</i> Buttel-Reepen, 1907
	<i>A. mellifera meda</i> Skorikov, 1929
	<i>A. mellifera caucasica</i> Gorbachev,1916 ^a
	<i>A. mellifera armeniacaca</i> Skorikov, 1929
	<i>A. mellifera anatoliaca</i> Maa, 1953*
Afrika (Tropical): A	<i>A. mellifera lamarkii</i> Cockerell, 1906 ^b
	<i>A. mellifera yemenitica</i> Ruttner, 1975
	<i>A. mellifera litorea</i> Smith, 1961
	<i>A. mellifera adonsonii</i> Latreille, 1804
	<i>A. mellifera scutellata</i> Lepeletier, 1835
	<i>A. mellifera monticola</i> Smith, 1961
	<i>A. mellifera capensis</i> Escholtz, 1821
	<i>A. mellifera unicolor</i> Latreille, 1804
Avrupa (Orta ve Doğu): C	<i>A. mellifera macedonica</i> Ruttner, 1988
	<i>A. mellifera ligustica</i> Spinola, 1806
	<i>A. mellifera carnica</i> Pollman, 1879
	<i>A. mellifera cecropia</i> Kieseweiter, 1860
	<i>A. mellifera sicula</i> Montagana, 1911
	<i>A. mellifera ruttneri</i> Sheppard ve ark., 1997
Avrupa (Batı ve Kuzey) Afrika (Kuzey): M	<i>A. mellifera mellifera</i> Linneaus, 1758
	<i>A. mellifera iberica</i> Goetze, 1964
	<i>A. mellifera major</i> Ruttner, 1978
	<i>A. mellifera sahariensis</i> Baldensperger, 1924
	<i>A. mellifera intermisa</i> Buttel-Reepen, 1906

(Ruttner 1992).

İlk yapılan araştırmalarda 25 *Apis mellifera* ırkı olduğu bildirilirken daha sonra yapılan araştırmalarda *A. m. ruttneri* (Sheppard ve ark. 1997) ve *A. m. pomonella* (Sheppard ve Meixner 2003)'nin tanımlanması ile ırk sayısı 27'ye çıkmıştır.

Bal arılarının dünya üzerindeki dağılımlarına bakıldığında, *A. mellifera* doğal olarak Afrika, Avrupa ve Batı Asya'da bulunurken *Apis florea*, *Apis dorsata*, *Apis cerana* ise doğal olarak Güney Asya'da yayılmaktadır. *Apis mellifera* eski dünyaya özgü olmasına rağmen günümüzde Antartika kıtası hariç tüm dünyaya dağılmış durumdadır. Bal arıları Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarına doğal olarak yayılırken Amerika kıtasına insan eliyle taşınmıştır. ilk olarak 1600'lü yıllarda Portekiz ve İspanya'dan Batı Avrupa arıları (*A. m. mellifera* ve *A. m. iberica*), daha sonra 1859-1922 yıllarında Doğu Avrupa arıları, Afrika arılarından çok önce

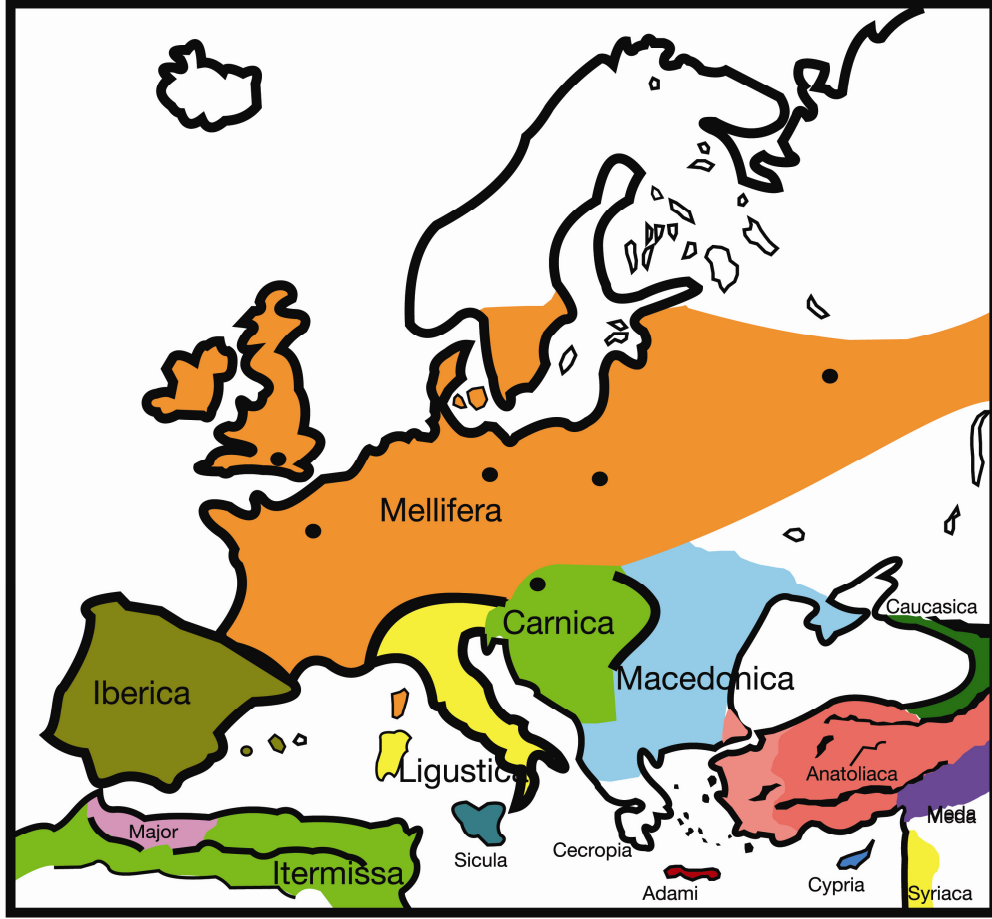
Amerika'ya sokulmuştur. Ancak Avrupa bal arıları tropik iklim koşullarına çok iyi uyum sağlayamamıştır. Afrika bal arıları (*A. m. scutellata*) Amerika'da baskın duruma gelmiştir (Sheppard ve Smith, 2000).

1.1.4. Orta Doğu'ya yayılmış olan *Apis mellifera* ırkları

Orta Doğu bal arıları morfometrik yapılarına göre değerlendirildiğinde Anadolu'nun batısındaki (İstanbul-İzmir-Bursa hattının batısı) bal arısı populasyonları morfometrik olarak Güneydoğu Avrupa, Orta Akdeniz ve Kuzey Afrika arılarıyla benzer bulunmuştur. Bu nedenle *Apis mellifera*'nın doğudan genetik merkezinin Anadolu olduğu belirtilmiştir (Ruttner, 1988a).

Orta Doğu bal arıları genel olarak değerlendirildiğinde, *A. m. syriaca* Orta Doğunun en küçük arısıyken *A. m. caucasica* en büyük arıdır. Gri Kafkas dağ arısı *A. m. caucasica* hariç tüm Orta doğu arıları sarı bantlıdır. İstisnalar çıkarıldığında Orta Doğu bal arıları zoocoğrafik varyasyon kuralına (Allen ve Rench kuralı) uymaktadır. Güney arı varyeteleri (*A. m. cypria* ve *A. m. syriaca*) kuzey arı varyetelerine göre daha küçük ve daha sarıdır. Buna karşılık *A. m. adami*, *A. m. caucasica* kadar büyük ve *A. m. armeniaca* (Ermeni arısı) kadar sarıdır.

İlk yapılan araştırmalarda 7 farklı Orta Doğu ırkı tanımlanmıştır. Daha sonra *A. m. pomonella*'nın tanımlanmasıyla Orta Doğu grubundaki ırk sayısı 8'e çıkmıştır (Sheppard ve Meixner, 2003), (Çizelge 1.2.) (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Dünya'nın Orta Doğu bölgesinde yayılmış olan *Apis mellifera* ırkları

Orta Doğu bal arıları morfometrik karakterlerine göre karşılaştırıldığında *A. m. cypria* ve *A. m. armeniaca*'nın *A. m. anatoliaca*'ya diğer üç *Apis mellifera* ırkından daha yakın bulunmuştur. *A. m. caucasica*-*A. m. armeniaca* ve *A. m. caucasica*-*A. m. meda* gruplarının coğrafik alanları diğerlerinin coğrafik alanlarına göre birbirlerine daha yakın olmakla birlikte bu alt türler morfometrik yapı bakımından birbirlerine çok daha uzak bulunmuşlardır. Louveaux (1969)'e göre benzer ekolojik koşullarda yaşamak için aynı morfolojik özelliklere sahip olmak gerekmez. Çok zıt iklim koşullarında morfolojik olarak benzer arılar bulunabilirken, aynı iklim koşullarında farklı morfolojik yapıda bal arıları da bulunabilir.

Anadolu arısı (*A. m. anatoliaca*) dış görünüş itibariyle İtalyan arılarıyla benzerlik göstermiştir. Yalnız Anadolu arılarının İtalyan arılarına göre tüm vücut parçaları bakımından biraz daha büyük olduğu belirtilmiştir. Anadolu arıları morfolojik bakımdan şu şekilde tanımlanmıştır: Abdomen ve tarsi geniş, ön kanat uzun, bacaklar ve kanatlar vücut

büyüklüğüne göre kısadır. Ön kanat uzunluğu yaklaşık 9.18 mm'dir. *Anatoliaca* genellikle sarıdır, fakat abdomendeki halkalar portakal rengindedir ve arka segmentte kahverengiye döner. En önemli karakteristik özelliklerinin ise kanat damarları ve damar açılarındaki farklılıklar olduğu belirtilmiştir (Maa 1953, Adam 1983).

Diğer bir ortadoğu alt türü *A. m. adami* (Girit arıları) Balkan arıları ve Anadolu arılarıyla karşılaştırmalı olarak incelendiğinde Girit arılarının Yunanistan arılarından daha çok Anadolu ve Doğu Akdeniz sahillerinin arıları (*A. m. syriaca*)'na benzer özellikler taşıdığı görülmüştür. Tüm Doğu Akdeniz arı popülasyonu morfometrik karakterlerine göre iki gruba ayrılmıştır: 1-*cypria-syriaca-anatoliaca* (batı popülasyonu)-*adami*-Ege adalarının diğer arıları, 2-*intermissa-sicula-carnica* (Ionian adalarındaki *carnica* benzeri ekotipler) *A. m. adami*, *cypria*, *syriaca* ve *anatoliaca* ile birlikte aynı grupta yer almıştır. *A. m. adami* aynı gruptaki diğer ırklara göre kubital index (KI:1.9) karakterinin çok küçük olması ve diğerlerine göre daha iri olması ile karakterize edilmiştir (Adam 1983). *A. m. adami* morfometrik karakterleri bakımından kolaylıkla tanımlanabilmesine rağmen coğrafik yaşam alanı bakımından doğu sınırı çizilememiştir. Doğu Ege adalarının (Karpathos, Rhodos, Chios, Lesbos, Kos) arıları ile *A. m. adami* arasındaki benzerlik çok yüksek bulunmuştur. Daha da ötesi batı Anadolu arıları ve Ege adalarının arıları arasında da dereceli olarak artan bir varyasyon olduğu görülmüştür. Bu durum coğrafik evrimleşmenin bir sonucu olarak gösterilmektedir. Ege adalarında Yunanistan'dan olduğu kadar Anadolu hayvan ırklarından da örnekler görülür. Bezoar keçisi ve iki kemirgen türünün hem Anadolu da hem de Girit adasında bulunması Girit adaları ile Anadolu'nun zoocoğrafik yakınlığına kanıt gösterilebilecek diğer bir örnektir (Ruttner 1980).

Ortadoğu grubunda yer alan diğer bir ada arısı da *A. m. cypria*'dır. Pollman (1889), ekzotik dış görünüşü nedeniyle bu arılar için gerçek bir "Apistic beauty" terimini kullanmıştır. *A. m. cypria*'nın coğrafik konumu nedeniyle komşu arı ırkları ile ortak özellikler gösterdiği belirtilmiştir. Vücut boyutları bakımından *A. m. anatoliaca*'dan küçüktür. Fakat dil daha uzun, kanatlar daha kısa, kubital index (CI=2.72) ise daha büyük bulunmuştur. *A. m. cypria*'nın karakteristik olarak şaşırtıcı seviyede doğurganlık özelliği gösterdiğine işaret edilmiştir (Adam, 1983).

A. m. adami-cypria-anatoliaca ile aynı grupta yer alan Suriye arısı, (*A. m. syriaca*) İsrail, Lübnan, Ürdün ve Suriye'de doğal olarak bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda tespit edildiğine göre, *A. m. syriaca* Avrupa ve Asya arılarının en küçüğüdür. Suriye arılarının savunma mekanizması inanılmaz derecede gelişmiştir. En önemli karakteristik özellikleri, çiftleşme periyodu sırasında kraliçe arılardan biri çiftleşip kuluçkaya

yatıncaya kadar kolonide birkaç düzine genç kraliçe arı bulundurmasıdır (Buttel-Reepen 1906). *A. m. cypria* ile karşılaştırıldığında dil, arka kanat ve abdominal terga daha kısa, tibia ise daha uzun bulunmuştur. Tergit ve scutellum açık sarı renkli ve kubital indeksi düşüktür. Basitarsal indekste diğer yakın doğu türlerinden daha düşük bulunmuştur.

Anadolu arısı ile İran arısının bulunduğu iki farklı coğrafya arasındaki çok dar bir alanda *A. m. syriaca* vardır. Bu nedenle *A. m. syriaca*'nın doğudan sınırı tam olarak çizilememiştir. Ruttner (1988a), Türkiye'nin güneyinde Hatay, Antakya yöresinde *A. m. syriaca*'nın bulunduğunu bildirmiştir. Eski çağlara ait bu bildirişler henüz göçer arıcılığın yaygın olmadığı dönemlerde yapılan araştırma sonuçları olduğundan önemlidir.

A. m. meda'nın coğrafik varyasyonunun araştırılması ile ilgili çalışmalarda İran, Irak ve Güneydoğu Anadolu'daki sınırlı bir alandan alınan örnekler bir grup oluştururken, Lübnan, İsrail, Kıbrıs Suriye populasyonlarına ilişkin örneklerin ayrı grup oluşturduğu görülmüştür. *A. m. meda*'nın yayılımı genel zoocoğrafik kurallara uymamaktadır. Çok farklı iklimi ve coğrafik özellikleri olan alanlara yayılmıştır. Güneydoğu Anadolu (Van gölünden Antakya'ya kadar)'da bulunan *A. m. meda* populasyonu dış görünüş itibariyle çok küçük olmaları, geniş bir metatarsiyeye sahip olmaları ve uzun dil karakterleri bakımından *A. m. cypria*'ya daha yakın ayrı bir grup özelliği göstermiştir (Skorikov, 1929b).

A. m. caucasica Gorb. (Gri Kafkas dağ arısı) tüm dünyada en fazla bilinen ve tercih edilen 4 bal arısından birisidir. Kafkaslarda, Karadeniz'in doğusunda, Rusya ve Azerbaycan'ın bir parçasında doğal olarak bulunduğu belirlenmiştir (Alpatov 1948, Bilash ve ark. 1976, Awetisjan 1978). Kafkaslardaki arılar ilk kez araştırılmaya başlandığında *A. m. armeniaca* ve *A. m. caucasica* birbirinden ayırt edilememiş her ikisi de *A. m. remipes* olarak tanımlanmıştır (Skorikov 1929a). Kafkasya'da Gri Kafkas dağ arısı (*A. m. caucasica* Gorb.) (Alpatov 1929, 1948); Ermenistan'da ise Sarı Trans Kafkas arısı (*A. m. remipes* Gerstöcker)'nın yayıldığı bildirilmiştir. Daha sonra yapılan ayrıntılı morfometrik çalışmalar ile Gri Kafkas dağ arısının "A. m. caucasica Gorbachev" olarak, sarı trans Kafkas (Ermeni arısı) arısının da *A. m. armeniaca* olarak taksonomik sınıflandırılması yapılmıştır (Skorikov, 1929b). Kafkas arılarının Kafkas dağlarından Karadeniz sahillerine Samsun'a kadar yayıldığı bildirilmiştir. Alçak kesimlerde ise *A. m. caucasica* ve *A. m. armeniaca* arasında hibrit türler olduğu ifade edilmiştir (Skorikov 1929a, Alpatov 1948).

A. m. caucasica'nın genel görünüş olarak *A. m. carnica*'ya benzediği bildirilmiştir. Bunların her ikisi de yaklaşık olarak benzer büyüklükte koyu renk arılardır. Kafkas arılarının dünya çapındaki ünü ise oldukça uzun dilli olmalarından kaynaklanır. Bu arılar *Apis mellifera* türünün en uzun dilli (7.22-7.52 mm) ırkıdır. Bu ırk için performans değerlendirmesi

yapıldığında Gri Kafkas dağ arısının en iyi performansı Doğu Karadeniz bölgesinde gösterdiği belirlenmiştir (Ruttner, 1988).

Diğer taraftan son zamanlarda keşfedilen *A. m. Pomonella*'nın da *A. m. anatoliaca*'ya benzerliği Türk bal arılarının orijini açısından dikkat çekici bir noktadır. Orta Asya'da Tien Shan dağlarında yaygın olarak bulunan *A. m. pomonella* morfometrik karakterler bakımından değerlendirildiğinde *A. m. anatoliaca* ile çok benzer alt türler oldukları tespit edilmiştir (Sheppard and Meixner, 2003). *A. m. pomonella*, *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica*'dan biraz daha küçüktür. Enli bir abdomen ve dar tomentum karakterleriyle tipik Orta Doğu arılarının özelliklerini (Ruttner 1988a, 1992) taşımaktadır. *A. m. caucasica* ve *A. m. armeniaca* ile karşılaştırdığımızda dili nispeten daha kısadır. Renk bakımından da *A. m. anatoliaca*'ya benzer bulunmuştur. Bu arıların tipik sıcak dağ arıları olduğu ve ayrıca saldırgan olmadıkları belirtilmiştir.

Bu alt tür son zamanlarda keşfedildiği için morfometrik tekniklerin yanı sıra moleküler tekniklerle de tanımlanmıştır. Morfometrik bakımdan hem O hem de C grubunun özelliklerini taşıırken, mtDNA nükleotit dizi analizine göre C grubu mtDNA haplotipinde olduğu belirlenmiştir.

Dünya üzerinde ekonomik değeri en yüksek ırklar olarak gösterilen İtalyan arısı (*A. m. ligustica*) ve Karniyol arıları (*A. m. carnica*)'da Doğu Avrupa grubunda yer almaktadır. *A. m. carnica* doğal olarak Viyana'dan Avusturya'ya, Dalmaçya sahillerine, tüm Yugoslavya ve Alplerin güneyine kadar yayılmıştır (Ruttner 1965). *A. m. carnica*, *A. m. caucasica* ile birlikte *Apis mellifera* ırklarının en büyük arılarından biridir. Morfolojik olarak Karniyol arısı (*A. m. carnica*)'nın İtalyan arısı (*A. m. ligustica*)'na benzediği fakat İtalyan arısının nispeten daha küçük ve daha uzun dilli olduğu belirlenmiştir. Kısa ve sık kıl örtüsü, yüksek kubital indeks değeri ve özellikle kanat damar açılarındaki farklılıklar nedeniyle *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*'dan kolaylıkla ayırtedilebilmekte fakat Balkan arılarından güçlkle ayırt edilebilmektedir. *A. m. carnica* mükemmel bir bal üreticisi ve en centilmen *Apis mellifera* ırkı olarak bilinir (Pollmann 1889).

A. m. caucasica'da olduğu gibi *A. m. carnica*'nın da farklı coğrafik lokasyonlara göre farklı varyeteler oluşturduğu belirlenmiştir. Avusturya'nın alçak kesimlerinde ve Slovenya'nın kuzeyindeki popülasyonların orijinal *A. m. carnica* olduğu belirtilirken Romanya-Yugoslavya-Macaristan'da *A. m. carnica* benzeri "Banat" arılarının olduğu belirtilmiştir (Adam 1983).

Bulgaristan ve Yunanistan'ın kuzey popülasyonlarının birlikte incelendiği tüm çalışmalarda bu iki ülkenin arı popülasyonu aynı grupta yer almıştır ve bu gruptaki arılar *A.*

m. macedonica'nın coğrafik bir alt türü olarak tanımlanmıştır (Ruttner 1965). Bulgaristan'ın Türkiye sınırına yakın kesiminde ve Yunanistan'ın Trakya kesiminde *A. m. macedonica* bulunmasına karşılık Türkiye sınırları içerisinde yer alan Trakya bölgesinde *A. m. macedonica*'nın izlerine rastlanmamıştır (Ruttner 1988a). Makedonya popülasyonunun sınırları oldukça kuzeye ve kuzeydoğuya (Yugoslavya, Bulgaristan ve Romanya)'ya kadar uzanmaktadır (Adam 1954, Ifantidis 1979).

A. m. macedonica'nın Avrupa ırklarına göre daha ince uzun bir yapısı olduğu ve oldukça koyu renk bir arı olduğu gözlenmiştir. Sıkı bir kış popülasyonu oluşturması ve propolis kullanımı gibi özellikler bakımından ise *A. m. carnica*'ya zıt bir davranış sergilediği belirlenmiştir. *A. m. macedonica* için çam üzerinde yaşayan biyolojik bir böcek olan "*Marchalina Helenica*"nın yapmış olduğu biyolojik salgı en önemli bal kaynağıdır (Adam 1954).

1.2. Morfometrik ve Moleküler Teknikler ile *Apis mellifera* Irkları için Belirlenen Çeşitlilik

1.2.1. Morfometrik yöntemlere göre bal arılarının çeşitliliği

Morfometrik teknikler hem ucuz hem de çok fazla uzmanlık istemeyen tekniklerdir. Ayrıca morfometrik tekniklerin ucuz olması ve kolay yapılabilmesi bu tekniklerin kullanımını biyokimyasal ve moleküler tekniklerin karşısında daha avantajlı kılmıştır (Sheppard ve Smith 2000). Diğer taraftan morfometrik karakterlere ilişkin gen ekspresyonlarının önemli derecede çevresel koşulların etkisi altında olması filogenetik araştırmalar için bir dezavantajdır. Bu nedenle güvenilir sonuçlar vermediği düşünülmektedir. Zoocoğrafik varyasyon kuralına göre yükseklerle çıktıkça kanat, bacak ve dil uzunluğu kısalır (Rench kuralı); soğuk iklim popülasyonlarında kıl uzunluğu daha fazladır (Allen kuralı). Dolayısıyla coğrafik konumları ve iklim yapıları benzer olan farklı lokasyonlarda aynı morfolojik yapıda bal arılarına rastlamak mümkündür (Alpatov 1929, Ruttner 1988a,b, Daly ve ark. 1991, 1995). Buna rağmen Temel Öğeler Analizi (PCA) ve Ayrışım Fonksiyon Analizi (DFA). gibi istatistiki yöntemler uygulanarak bir düzineden fazla morfometrik karaktere göre yapılan tanımlamalar tek bir enzim lokusu çalışılarak yapılan tanımlamalardan çok daha önemli ve güvenilir bulunmaktadır (Rinderer ve ark. 1990).

Morfolojik karakterler ile verimle ilgili özellikler arasında doğrusal bir ilişki olduğunun belirlenmesi ise ırk ve varyete tanımlamalarında morfometrik çalışmaları hala önemli kılan en önemli unsur olmuştur (Ruttner 1988a, Karacaoğlu ve Fıratlı 1998, Güler ve Kaftanoğlu 1999c).

Karacaoğlu ve Fıratlı (1998), kanat uzunluğunun bal verimi ile ilişkisi olduğunu bildirmiştir. Güler ve Kaftanoğlu (1999c) ise, koloni popülasyon gelişimi, kuluçka üretim etkinliği ve kovan ağırlık artışı gibi fizyolojik karakterler ile corbical alanı ve vücut büyüklüğü gibi morfolojik karakterler arasında doğrusal bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Bunlar ve benzer sonuçlar morfolojik karakterlerin tanımlanmasının gelecekte yapılabilecek ıslah ve seleksiyon çalışmaları açısından önemini vurgulamaktadır. Bu nedenle günümüzde moleküler teknikler ön plana çıkmış olsa da morfometrik karakterlere göre bal arılarının tanımlanması hala sürdürülmektedir.

Bal arısı popülasyonlarının coğrafik varyasyonuna ilişkin ilk yayınlanan çalışmalar, Rus ve Alman biyologlarına (Buttel-Reepen 1906, Alpatov 1929, Skorikov 1929b, Maa 1953, Goetze 1964, DuPraw 1965 ve Adam 1983) aittir. Bu çalışmalarda yalnızca vücut büyüklüğü, dil uzunluğu, renk ve davranış gibi önemli ölçüde çevresel faktörlerin etkisi altında olan karakterler incelenmiştir. Bilimsel anlamda kabul gören ilk morfometri çalışmaları ise, Ruttner (1988-1992) ile başlamış ve günümüze kadar gelmiştir.

Morfometrik yöntemler ile bal arılarının coğrafik varyasyonunu ortaya çıkarmak için birçok morfometrik karakter kullanılmıştır. Morfometrik çalışmalarda standart olarak kullanılan 36 tane morfometrik karakter Çizelge 1.3.'te verilmiştir (Ruttner 1987).

Çizelge 1.3. Morfometri çalışmalarında standart olarak kullanılan karakterler

Karakter Türü	Karakterler
Kıl	5. Tergit üzerindeki kıllar
	4. Tergit üzerindeki tomentumun genişliği,
	Tomentumun posterior çizgisinin genişliği
Büyüklik	Proboscis uzunluğu
	Femur uzunluğu
	Tibia uzunluğu
	Metatarsus uzunluğu ve genişliği
	3. ve 4. Tergit uzunluğu
	3. Siternit uzunluğu
	3. Siternit mum ayarlarının uzunluğu ve genişliği
	3. Siternit mum ayarları arasındaki uzaklık
	6. Siternit uzunluğu ve genişliği
Ön Kanat	Ön kanat uzunluğu ve genişliği
	Kübital A
	Kübital B
	Ön kanatta 11 açı: A4, B4, D7, E9, G18, I10, I16, K19, L13, N23, O26
Renk	2. 3. ve 4. Tergitte renklenme
	Scutellumda renklenme

Ruttner 1987

Bal arılarının sınıflandırılması ve taksonomisinin yapılmasında Ruttner (1987)'in belirttiği karakterlerin her biri önemlidir. Ancak morfometrik karakterlerin ölçümü önemli derecede iş gücü gerektiren yorucu çalışmalardır. İlerleyen süreç içerisinde yapılan çalışmalar bal arılarındaki fenotipik varyasyonu ortaya çıkarmak için tüm karakterlerin ölçülmesine gerek olmadığını göstermiştir. DuPraw, (1965) ırk tanımlamasının arıların ön kanat hücrelerindeki 13 açı ve kanat boylarının ölçülmesi ile yapılabileceğini, Cornuet ve Fresnaye (1989), Avrupa alt türlerinin kubital indeks, metatarsal indeks ve tergit rengine bakılarak tanımlanabileceğini ve bu amaç için 4 veya 5 karakterin yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Daly (1985) Afrika arıları için 19 karakter kullanmıştır. Ruttner ve ark. (1978) Afrika arılarında yaptıkları çalışmalarda elde edilen morfometrik verilere istatistiksel analizlerin uygulanabilmesi için 10 karakterin incelenmesinin yeterli olabileceğini belirtmişlerdir. Türk bal arılarında morfometrik varyasyonun araştırılmasında Darendelioğlu ve Kence (1992) 23, Kandemir ve ark. (1995) 12, Güler ve Kaftanoğlu (1999a) 21, Güler ve Kaftanoğlu (1999b) 20, Güler ve ark (2002) 19 morfometrik karakter kullanmıştır. Bu karakterlerden bazıları (KI,

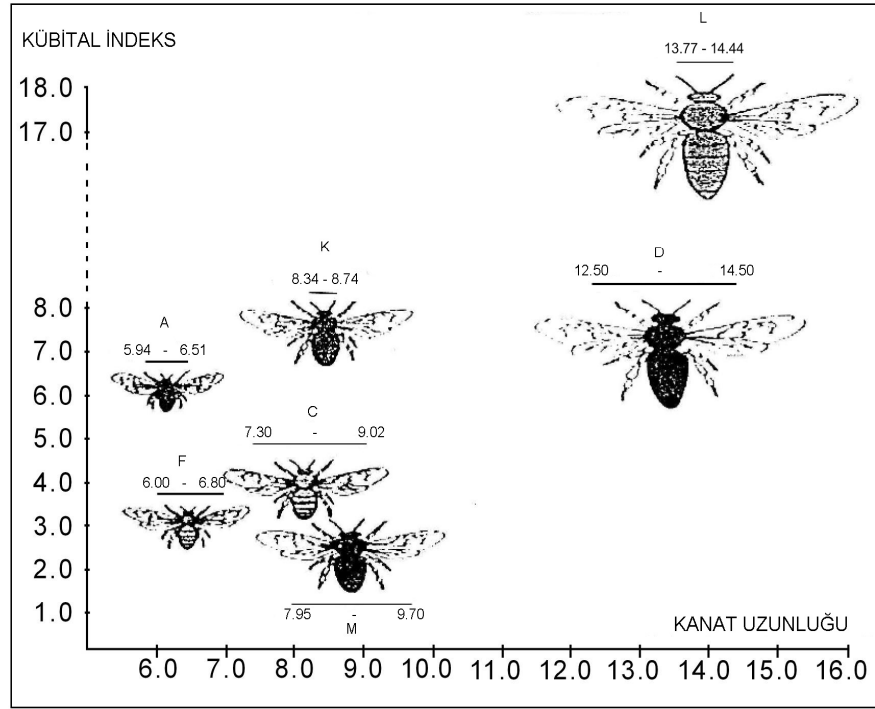
DU ve ÖKU) hemen hemen bütün alt türlerin araştırılmasında kullanılan ortak karakterler olmuştur (Çizelge 1.4.) (Ruttner 1988a).

Çizelge 1.4. Dünya'nın Orta Doğu bölgesinin arı ırklarına ilişkin bazı morfometrik veriler

<i>Apis mellifera</i> ırkları	KI	DU	ÖKU
<i>Carnica</i>	2.59	6.39	9.40
<i>Ligustica</i>	2.55	6.35	9.21
<i>Caucasica</i>	2.16	7.04	9.32
<i>Anatoliaca</i>	2.24	6.46	9.19
<i>Meda</i>	2.56	6.33	8.97
<i>Armeniaca</i>	2.61	6.64	9.07
<i>Macedonica</i> ^o	2.59	6.45	9.18
<i>Adami</i>	1.89	6.46	9.09
<i>Cypria</i>	2.72	6.39	8.87
<i>Pomonella</i> *	2.24	6.41	–
<i>syriaca</i>	2.28	6.19	8.48

*Sheppard ve Meixner 2003

Morfometrik karakterleri kullanarak türler ve aynı türün farklı popülasyonları arasındaki ayrımı en iyi ortaya koyma yolu, elde edilen verileri çok değişkenli istatistiksel analizler ile yorumlamaktır. Ruttner (1988-1992) ile başlayan süreçte, çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemlerinin (PCA ve DFA) gelişmesi ile bal arısı popülasyonlarında morfometrik verilere dayanarak coğrafik varyasyonun belirlenmesi en az moleküler tekniklere göre yapılan grüplama kadar güvenilir ve etkili olmuştur. (Ruttner ve ark. 1978, Cornuet ve ark. 1988, Cornuet ve Fresnaye 1989, Crewe ve ark. 1994). Bal arılarındaki varyasyonu görmek için kullanılan istatistiksel analizlerden en önemlileri, Temel Öğeler Analizi (PCA) ve Ayrışım Fonksiyon Analizi (DFA) gibi analizlerdir. Temel Öğeler Analizi ve Ayrışım Fonksiyon Analizi, morfometrik karakterler arasındaki korelasyona bağlıdır (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. Bal arısı türlerinin iki büyüklük karakterine (kübital indeks ve dil uzunluğu) göre morfometrik dağılımı

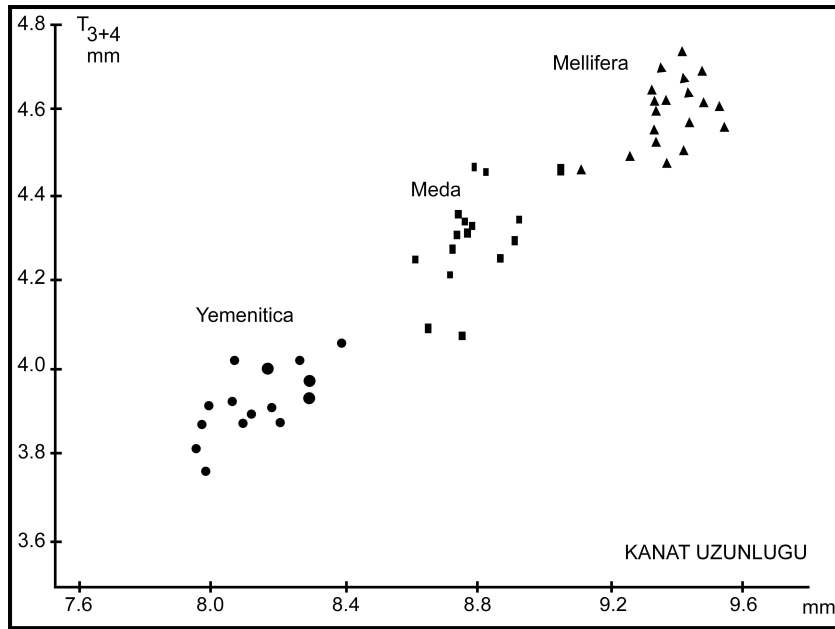
(A) *A. andreniformis*, (C) *A. cerana*, (D) *A. dorsata*, (F) *A. florea*, (K) *A. koshevnikovi*, (L) *A. laboriosa*, (M) *A. mellifera*

Bu karakterler arasındaki korelasyona bağlı olarak türler ve alt türler arasındaki dağılım ortaya çıkar (Şekil 1.3.). Ayrışım fonksiyon analizi (DF) için karakterler analiz öncesi gruplara ayrılır ve bu grupların oluşturduğu faktörler değişken kabul edilerek DFA yapılır. Değişken karakterleri bakımından birbirine benzer bireyler aynı gruba atanırlar. Böylece morfometrik karakterler arasındaki korelasyona bağlı olarak bireylerin gruplara dağılımı görülür.

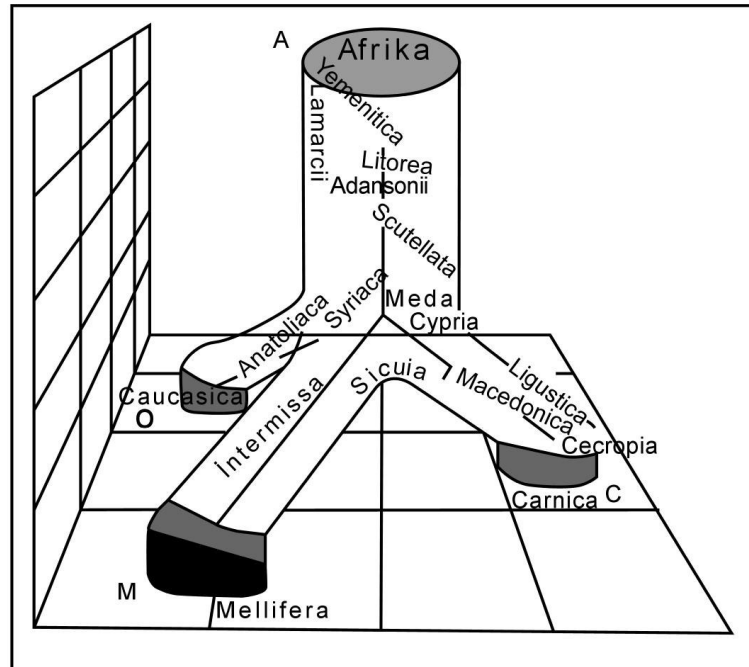
Morfometrik karakterlerin ölçülmesi sonucu elde edilen verilere diğer bal arılarına ilişkin veriler temel alınarak diskriminant fonksiyon analizi uygulanır. Günümüze kadar 27 ırkın tanımlanması ve sınıflandırılması bu şekilde yapılan morfometrik çalışmalar ile yapılmıştır.

Şekil 1.3.'de Ruttner (1988a) tarafından yapılan çalışmalar sonucu bazı bal arısı ırklarının kübital indeks ve ön kanat uzunluğu arasındaki korelasyona (PCA'ne göre) bağlı dağılımı görülmektedir.

Şekil 1.4.'te ise 3. ve 4. tergite ile ön kanat uzunluğuna bağlı olarak *A. m. meda*, *A. m. yemenitica*, *A. m. mellifera*'nın dağılımı görülmektedir.



Şekil 1.4. *A. mellifera*'nın *yemenitica*-*meda*-*mellifera* ırklarının 2 büyüklük karakteri (ön kanat uzunluğu ve T₃₊₄) bakımından morfometrik dağılımı



Şekil 1.5. M, C, A, O kollarındaki *A. mellifera* ırklarının 3 boyutlu ortamdaki dağılımı

Ruttner (1988a, 1992), morfometrik karakterlere bağılı olarak yaptığı temel ögeler analizi (PCA) ile *Apis mellifera* ırklarını Batı Akdeniz (M), Doğu Avrupa (C), Afrika (A) ve Ortadoğu (O) olmak üzere 4 temel kola ayırmıştır (Çizelge 1.2.). Şekil 1.5'e bakıldığında:

1. Batı Avrupa kolu (M): Kuzey ve Batı Avrupa'da dağılım gösteren ırkları ve kuzey Afrika ırklarını (Kuzey ve Batı Avrupa siyah arıları *Apis mellifera mellifera*, İspanya ve Portekiz arıları *A. m. iberica*, Kuzey Afrika arıları, *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis* ve *A. m. major*) içermektedir.
2. Tropikal Afrika kolu (A): Afrika'nın orta ve güney kesimlerinde dağılım gösteren ırkları (Mısır arısı *A. m. lamarckii*, Afrika'nın güneyinden *A. m. scutellata*, *A. m. capensis* ve diğere bazı Orta Afrika ırklarını ve Madagaskardan *A. m. unicolor*'ı) içermektedir.
3. Doğu Avrupa kolu (C): Kuzey Akdeniz ve Doğu Avrupa ırklarını (Avusturya ve Yugoslavya'dan *A. m. carnica* ve İtalyan arısı *A. m. ligustica*, Yunanistan ve Bulgaristan'dan *A. m. macedonica*, Yunanistan'ın orta ve güney kesimlerinden *A. m. cecropia* ve *A. m. sicula*, Yunanistan'ın kuzeyi ve Bulgaristan'dan *A. m. macedonica*) içermektedir.
4. Ortadoğu kolu (O): Doğu Akdeniz ve İran'da dağılım gösteren ırkları (Kafkaslardan ve Karadeniz bölgesinin doğusundan *A. m. caucasica*, Türkiye'den *A. m. anatoliaca*, Türkiye, İran, Irak Suriye'den *A. m. meda*, Girit adasından *A. m. adami*, Suriye'den *A. m. syriaca*, Kıbrıs'tan *A. m. cypria* ve Ermenistan'dan *A. m. armeniaca*) içermektedir.

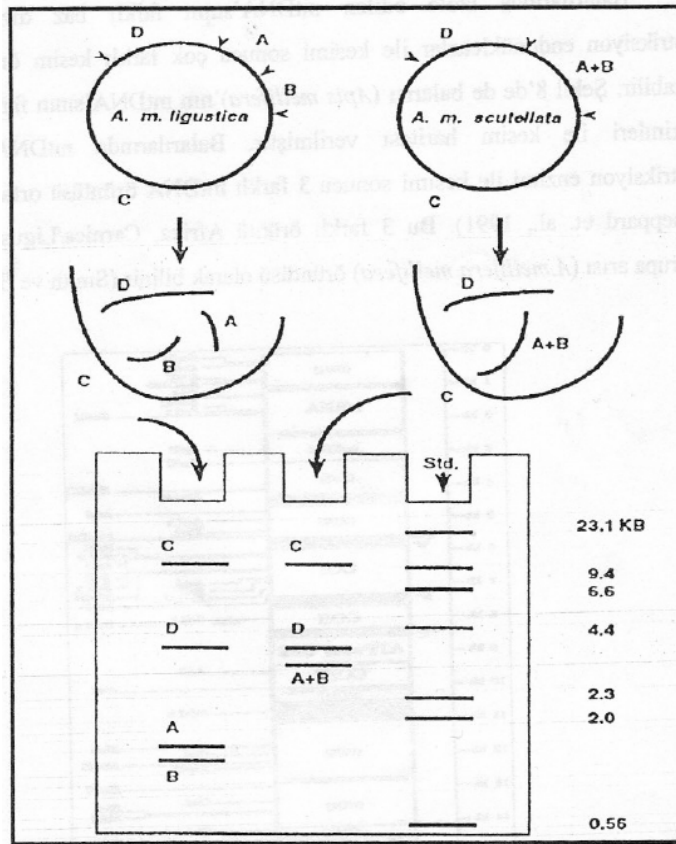
Daha sonra Sheppard ve ark. (1997) ve Sheppard ve Meixner (2003)'ın morfometrik verilere dayanarak yapmış olduğu gruplama, Ruttner (1988a, 1992)'ın yapmış olduğu gruplama ile aynı bulunmuştur.

1.2.2. PZR-KPUP tekniği ve bu tekniğe göre *Apis mellifera* ırklarının araştırılması

Çok farklı taksonomik sınıfların ya da popülasyonların birlikte çalışıldığı araştırmalar da mtDNA'nın tamamına ilişkin dizi analizi yapmak hem çok zordur hem de pratik değildir. Onun yerine mtDNA'nın belli bir segmentinin çalışılması taksonomik sınıfların karşılaştırılmasında daha uygun bir yöntemdir (Arias ve Sheppard, 1996 Sheppard ve Smith 2000). Bu nedenle belli bir gen bölgesinin çalışılmasına imkan sağlayan PZR-KPUP tekniği bir çok araştırmacı tarafından gerek Avrupa gerekse Afrika bal arılarındaki varyasyonu belirlemek için mtDNA ve nDNA ile yapılan çalışmalarda yaygın olarak tercih edilen bir yöntem olmuştur (Hall 1986, 1990, 1992a, 1992b, Hall ve Muralidharan 1989, Smith ve ark. 1989).

KPUP tekniği ilk olarak Southern Blot tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada nüklear DNA (nDNA)'nın klonlanan bir bölümüne uygulanmıştır. Radyoaktif problarla yapılan bir klonlama tekniği olan Southern blot (Southern 1975, Hall 1995), çok karmaşık ve zahmetli olması nedeniyle çok sayıda örnekle çalışılan populusyon genetiği ile ilgili çalışmalarda kullanılması uygun bir teknik değildir. Bu nedenle PZR ile çoğaltılan gen bölgesinin restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesi sonucu oluşturulan DNA bantlarının sayısı ve uzunluk varyasyonunun (KPUP) karşılaştırılması araştırmacılar arasında daha çok tercih edilen bir yöntem olmuştur (Suazo ve ark. 2002).

Restriksiyon endonükleaz enzimleri 4, 5, 6 bazlık özel dizileri tanır ve o bölgeye bağlanarak keser. *EcoRI* enzimi "GAATTC" den oluşan 6 bazlık diziyi tanır ve keser. Bu restriksiyon endonükleaz enzimi ile yapılan bir araştırmada *A. m. ligustica* mtDNA'sının *EcoRI* ile kesimi sonucu 4 farklı uzunlukta parçacık (A,B,C,D) oluşurken, *A. m. Scutellata* mtDNA'sının *EcoRI* ile kesimi sonucu 3 farklı uzunlukta parçacık (A+B,C,D) oluşmuştur (Smith,1991) (şekil 1.6.).



şekil 1.6. Örneklerin mtDNA'sının *EcoRI* enzimi ile kesimi sonucu oluşan bant rnts (Smith,1990)

Diğer türlerde daha az ya da daha çok fragment oluşabilir, böylece kesim sonucu oluşan fragmentlerin uzunluk ve sayısını karşılaştırarak farklı alt gruplara ait mtDNA farklılığı ortaya konulabilmektedir.

PZR-KPUP güvenilir, uygulanması kolay, diğer bazı tekniklere göre daha ucuz, hem de çok kısa sürede çok fazla örneğin çalışılabilmesi açısından daha avantajlıdır. Dizi analizi kadar olmamakla birlikte taksonomik sınıflandırmada mtDNA'nın KPUP metodu ile çalışılması *A. mellifera* ırkları için oldukça açıklayıcı sonuçlar vermiştir. PZR-KPUP metoduna dayanarak *Apis mellifera* alt türleri arasındaki mtDNA varyasyonunu belirlemek için yapılan araştırmalar Çizelge 1.5'de özetlenmiştir (Sheppard ve Smith 2000).

mtDNA genomunun farklı restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesim sonucu oluşan farklı bant profillerinin karşılaştırılmasına ilişkin ilk çalışmalar, PZR tekniği kullanılmadan doğrudan KPUP tekniği kullanılarak tüm mtDNA genomuna yönelik olarak yapılmıştır. Bu ilk araştırmalardan birinde Avrupa bal arıları (*A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carnica*)'nın mtDNA genomu 7 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi (*KpnI*, *AccI*, *BamH-I*, *Pst-I*, *Hind-III*, *EcoR-I*, *Bgl-I*) ile kesilerek bu ırkların söz konusu enzimlere ilişkin kesim bölgeleri bakımından farklı olup olmadığı araştırılmıştır. *Bgl-I* hariç diğer tüm enzimlerin oluşturduğu kesim örüntüsünün üç *Apis mellifera* ırkında da aynı olduğu görülmüştür. Yalnız *Bgl-I* enzimi ile kesim sonucu *A. m. caucasica*'da 4 bant oluşurken diğerlerinde iki bant oluşmuştur (Moritz ve ark. 1986).

İlerleyen yıllarda PZR tekniğinin geliştirilmesiyle birlikte tüm mtDNA genomu değil de genom üzerindeki bazı gen üniteleri çalışılmaya başlanmıştır. Bu gen üniteleri arasında araştırmacıların en fazla tercih ettiği gen bölgelerinden bazıları Ribozomal DNA'nın büyük alt ünitesi (I-sRNA), Sitokrom Oksidaz-I geni (COI), Sitokrom Oksidaz-b geni (*Cyt-b*) ve Malatdehidraz-2 geni (ND2) gen üniteleri ve COI-COII (protein kodlamayan gen bölgesi) gen bölgesi olmuştur (Hall ve Muralidharan 1989, Crozier ve ark. 1991).

Çizelge 1.5. *Apis mellifera* populasyonlarında mtDNA ve PZR-KPUP tekniklerine dayanılarak yapılan araştırmalar

Araştırıcılar	Örneğin alındığı Ülke	İrki	Koloni sayısı	Çalışılan gen	Uygulanan yöntem
Moritz ve ark. 1986	Avusturya Avusturya Avusturya	<i>A.m.ligustica</i>	3	mtDNA	KPUP(7 enzim)
		<i>A. m. carnica</i>	3		
		<i>A. m. caucasica</i>	3		
Smith 1988	Amerika Brezilya Meksika Fransa Rusya Almanya Almanya Almanya	Avrupa kök. bal arılar	3	mtDNA	KPUP(11 enzim)
		Afrika kök. bal arıları	5		
		Afrika kök. bal arıları	2		
		<i>A. m. mellifera</i>	2		
		<i>A. m. caucasica</i>	1		
		<i>A. m. carnica</i>	2		
		<i>A.m.ligustica</i>	2		
		<i>A.m.capensis</i>	2		
Smith ve Brown 1988	Amerika Brezilya	Avrupa kökenli	3	mtDNA	KPUP(10 enzim)
		Afrika kökenli	5		
Hall ve Muralidharan 1989	Amerika Meksika Meksika Venezuela Kosta Rika Güney Afrika	Avrupa kökenli	20	mtDNA	KPUP(<i>EcoRI</i> ve <i>Bgl-II</i>)
		Avrupa kökenli	6		
		Afrika kökenli	19		
		Afrika kökenli	10		
		Afrika kökenli	3		
		<i>A.m.scutellata</i>	10		
Smith ve ark. 1989	Norveç, İsveç, Danimarka, Fransa Avusturya, Slovenya, Crotsa, Almanya. İtalya Güney Afrika Meksika Venezualla Brezilya	<i>A. m. mellifera</i>	22	mtDNA	KPUP(15 enzim)
		<i>A. m. carnica</i>	17		
		<i>A.m.ligustica</i>	9		
		<i>A.m.scutellata</i>	19	mtDNA	KPUP(<i>EcoRI</i> ve <i>Bgl-II</i>)
		Afrika kökenli	39		
		Afrika kökenli	10		
		Afrika kökenli	10		
		Afrika kökenli	10		
		Afrika kökenli	10		
Smith ve Brown 1990	Avusturya, Slovenya, Croatia Norveç, İsveç, Danimarka,	<i>A. m. carnica</i>	15	mtDNA	KPUP(15 enzim)
		<i>A. m. mellifera</i>	9		
Cornuet ve ark. 1991		<i>A. m. mellifera</i> <i>A. m. carnica</i> <i>A. m. caucasica</i> <i>A.m.capensis</i> <i>A.m.ligustica</i>		Protein kodlamayan gen bölgesi	Nükleotit dizi analizi
Crozier ve ark. 1991		Afrika kökenli ve afrika kökenli olmayan		Cyt-b	KPUP (<i>Bgl-II</i>)
Hall ve Smith 1991	İtalya Avusturya, Slovenya Rusya Norveç, İsveç, Danimarka, Fransa İspanya Güney Afrika Güney Afrika	<i>A.m.ligustica</i>	18	Is rRNA, COI, COI-COII	PZR-KPUP(<i>EcoRI</i> , <i>HincII</i> , <i>XbaI</i>)
		<i>A. m. carnica</i>	14		
		<i>A. m. caucasica</i>	2		
		<i>A. m. mellifera</i>	11		
		<i>A.m.iberica</i>	28		
		<i>A.m.scutellata</i>	52		
		<i>A.m.capensis</i>	4		
Garnery ve ark. 1992	Fransa Avusturya Kafka dağları İtalya Morocca, Algeria. Güney Afrika İspanya Malawi Malawi Congo	<i>A. m. mellifera</i>	19	mtDNA, COI -COII	PZR-KPUP(16 enzim), Nükleotit dizi analizi
		<i>A.m.canica</i>	6		
		<i>A. m. caucasica</i>	3		
		<i>A.m.ligustica</i>	9		
		<i>A.m.intermissa</i>	3		
		<i>A.m.capensis</i>	1		
		<i>A.m.iberica</i>	15		
		<i>A.m.monticolo</i>	9		
		<i>A.m.scutellata</i>	2		
		<i>A.m.adansoni</i>	1		

Araştırmacılar	Örneğin alındığı Ülke	İrki	Koloni sayısı	Çalışılan gen	Uygulanan yöntem
Garnery ve ark. 1993	Skandinavya, İngiltere, Fransa İspanya İtalya (Sicilya) Algeria, Morocco Güney Afrika, Malawi Malawi Kongo Kafkas dağları İtalya İran Avusturya, Macaristan, İsviçre Türkiye	<i>A. m. mellifera</i> <i>A.m.iberica</i> <i>A.m.sicula</i> <i>A.m.intermissa</i> <i>A.m.scutellata</i> <i>A.m.monticola</i> <i>A.m.adasoni</i> <i>A. m. caucasica</i> <i>A.m.ligustica</i> <i>A. m. meda</i> <i>A. m. carnica</i> <i>A. m. anatoliaca</i>	138 75 2 6 22 11 2 3 12 2 4 2	COI-COII	PZR-KPUP (<i>DraI</i>)
Meixner ve ark. 1993	İtalya Avusturya, Slovenya İtalya	<i>A.m.ligustica</i> <i>A. m. carnica</i> Hibrid	10 42 10	mtDNA	PZR-KPUP (Senzim)
Moritz ve ark. 1994	G. Afrika, G. Afrika	<i>A.m.scutellata</i> ve <i>A.m.capensis</i>	102	COI-COII	PZR-KPUP (<i>DraI</i>)
Garnery ve ark. 1995	İspanya Moroco Moroco Moroco	<i>A.m.iberica</i> <i>A.m.intermissa</i> , <i>A.m.major</i> ve <i>A.m.sahariensis</i>	173 192	COI-COII	PZR-KPUP (<i>DraI</i>)
Arias ve Sheppard 1996	Avusturya Slovenya İtalya Yunanistan Fransa, İspanya ve Norveç Suriye Nijerya, Senegal G. Afrika Portekiz Morocco Mısır Kenya Morocco Kenya, G. Afrika İtalya (Sicilya)	<i>A. m. carnica</i> <i>A.m.ligustica</i> <i>A.m.macedonica</i> <i>A. m. mellifera</i> <i>A. m. meda</i> <i>A.m.adonsoni</i> <i>A.m.capensis</i> <i>A.m.iberica</i> <i>A.m.intermissa</i> <i>A.m.lamarcii</i> <i>A.m.monticola</i> <i>A.m.sahariensis</i> <i>A.m.scutellata</i> <i>A.m.sicula</i>	2 3 2 3 2 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2	tRNA ^{le} ve ND2	Nükleotit dizi analizi
Sheppard ve ark. 1996	Avusturya, Slovenya İtalya Fransa, Norveç Portekiz, İspanya Morocco Mısır Kenya Morocco Kenya	<i>A. m. carnica</i> <i>A.m.ligustica</i> <i>A. m. mellifera</i> <i>A.m.iberica</i> <i>A.m.intermissa</i> <i>A.m.lamarckii</i> <i>A.m.monticola</i> <i>A.m.saharensis</i> <i>A.m.scutellata</i>	16 11 14 46 23 25 10 11 16	mtDNA	KPUP (<i>EcoRI</i> , <i>HinfI</i>)
Smith ve ark. 1997	Türkiye	Anadolu bal arıları	65	ls rRNA, COI, COI-COII ,Cytb	PZR-KPUP
Sinacori ve ark. 1998	İtalya	<i>A.m.sicula</i>	16	mtDNA	KPUP (<i>EcoRI</i>)
Harizanis ve Bouga 2001	Girit	<i>A.m.adami</i>		ls rRNA, COI	PZR-KPUP
Palmer ve ark. 2000	Türkiye	Anadolu bal arıları	110	ls rRNA, COI, COI-COII ,Cytb	PZR-KPUP
Bouga ve ark. 2005	Yunanistan Güney Kıbrıs Ege adaları	<i>A.m.macedonica</i> <i>A.m.cecropia</i> <i>A.m.adami</i> <i>A.m.cypria</i>		ls rRNA, COI, ND5	PZR-KPUP

Araştırmacılar	Örneğin alındığı Ülke	İrki	Koloni sayısı	Çalışılan gen	Uygulanan yöntem
Kandemir ve ark. 2006a	Türkiye	<i>Anadolu bal arıları</i>		mtDNA	PZR-KPUP COI-COII/ <i>Dra</i> COI/ <i>Hinf</i> , <i>TaqI</i>
Kandemir ve ark. 2006b	Kıbrıs	<i>A.m.cypria</i>		ND2, COI-COII	PZR-KPUP
Kandemir ve ark. 2006c	Etiyopya, Mısır, Suriye, İran, Kıbrıs, Türkiye	<i>A.m.scutellata</i> <i>A.m.yemenitica</i> <i>A.m.monticola</i> <i>A..m.lamarcii</i> <i>A.m.syriaca</i> <i>A.m.meda</i> <i>A.m.cypria</i> <i>A.m.anatoliaca</i>		Cytb/ <i>Bgl</i> III, COI/ <i>Hinf</i> I	PZR-KPUP

PZR temeline dayanan KPUP metodunun *Apis mellifera* mtDNA'sına ilk uygulandığı çalışmalardan birinde de Smith ve ark. (1989), neotropikal Afrika arılarında *lrRNA/EcoRI* kesim sitesini araştırmışlardır. Smith'in bu çalışmasından sonra Hall ve Smith, (1991) hem Avrupa hem de Afrika bal arılarında *lrRNA/EcoRI* kesimini ayrıca *COI/HincII* ve *COI-COII/XbaI* kesim bölgelerini araştırmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda: *lrRNA/EcoRI* kesim bölgesinin yalnızca Doğu Avrupa arılarında, *COI/HincII* kesim bölgesinin de yalnızca Batı Avrupa arılarında olduğu görülmüştür. *COI-COII/Xba-I* kesimi sonucunda ise Doğu Avrupa, Batı Avrupa ve Kuzey Afrika arılarında farklı kesim örüntüleri olduğu bildirilmiştir. Doğu Avrupa arılarının bir grubunda 848 bp, diğer grubunda 195 ve 649 bp uzunluğunda iki bant, Kuzey Afrika arılarında (*iberica*, *intermissa*) 918 bp uzunluğunda tek bir bant görülmüştür. Batı Avrupa arılarında da 918 ve 1118 bp uzunluğunda iki farklı kesim örüntüsü oluşmuştur. Bu çalışma kapsamında Doğu Avrupa bal arılarında görülen iki farklı kesim örüntüsünün hibridizasyonun değil dublikasyonun bir sonucu olduğu belirtilmiştir. Nitekim daha önce dizi analizi yapılan *COI-COII* gen bölgesinin bazı gen ünitelerinin insersiyonu ve delesyonuyla oluştuğu bildirilmişti (Cornuet ve ark. 1991b),

Diğer bir çalışmada ise Crozier ve ark. (1991), Avrupa ve Afrika arılarının mtDNA genomunda *Cytb/BglIII* kesimini araştırmışlardır. Bu çalışmada Afrika arılarının *Cytb* geninde *BglIII* resitriksiyon enziminin tanıma bölgesinin bulunmadığı buna karşılık Avrupa arılarında bulunduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre Amerika'daki *Apis mellifera* populasyonunun yapısı değerlendirilmiştir. Araştırmada incelenen örnekler arasında kesim bölgesi taşımayan örneklerin bulunması Afrikalılaşmanın işareti olarak gösterilmiştir (Çizelge 1.6.).

Bu çalışmada Türkiye'nin *Apis mellifera* populasyonundaki varyasyonu belirlemek için tercih edilen *COI* (oksidasyondan sorumlu sitokrom oksidaz geni) ve *16s rDNA* (ribozomal DNA'nın büyük alt ünitesidir) gen bölgelerinin Crozier ve ark. (1991) tarafından nükleotit dizi analizi yapılmıştır. Bundan sonra birçok araştırmacı (Garnery ve ark. 1992, 1993,

Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a,b,c) tarafından bu gen bölgelerinin nükleotit dizilimi göz önünde tutularak PZR-KPUP metodu ile farklı restriksiyon endonükleaz enzimlerinin meydana getirdiği kesim örüntüleri incelenmiştir. Bu incelemelerin ortak sonucu olarak bu gen bölgelerindeki bazı kesim sitelerinin yalnızca Afrika, bazı kesim sitelerinin ise yalnızca Avrupa haplotip gruplarına özgü olduğu açığa çıkarılmıştır (Çizelge 1.6.).

COI gen bölgesinde *HincII* restriksiyon endonükleaz enziminin kesim sitesi bulunan mtDNA haplotipleri batı Avrupa orijinli (M); 1srRNA gen bölgesinde *EcoRI* kesim sitesi taşıyan mtDNA haplotipleri doğu Avrupa orijinli olarak tanımlanırken; COI ve 1s rDNA gen bölgelerinde bu restriksiyon enzimlerinin tanıma bölgelerine rastlanmayan bal arıları Afrika orijinli olarak tanımlanmıştır. COI-COII/*DraI* kesiminde ise alt türler arasında çok farklı kesim örüntüleri olduğu gözlenmiştir (Pinto ve ark. 2003).

Çizelge 1.6. PZR-KPUP tekniğine dayanarak üç ana mtDNA haplotip grubunun tanımlanması

PZR Böl.	Resitrik. Enzim	Kesim böl. Bulunan	Kesim böl. Bulunmayan	Araştırmacı
Cyt-b	<i>BglIII</i>	Afrika arıları hariç	Afrika arıları	Crozier ve ark. 1991
1rRNA	^a <i>EcoRI</i>	Doğu Avrupa arıları	Batı Avrupa	Hall ve Smith 1991
COI	<i>HincII</i>	Batı Avrupa arıları	Doğu Avrupa	Hall ve Smith 1991
COI	<i>XbaI</i>	Doğu Avrupa arıları	Batı Avrupa	Hall ve Smith 1991
COI	<i>HinfI</i>	<i>A.m.lamarccii</i>	Diğer gruplar	Nielsen ve ark. 2000
COI-COII	^b <i>DraI</i>	60 farklı mtDNA haplotipi var.		Garnery ve ark. 1993

a) Bazı *A.m.ligustica* varyetelerinde olmadığı belirlenmiştir.

b) Tüm mtDNA haplotip gruplarında ve grup içi alt türlerde farklı bir kesim örüntüsü oluşturmaktadır

1.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Mitokondri ökaryotik hücrelerde aerobik solunumdan sorumlu organeldir. Bu organeller hücre çekirdeğinden ayrı olarak kendilerine özgü DNA içerirler. Hücre çekirdeğinde yalnızca tek bir nDNA bulunurken mitokondri içerisinde birkaç kopya mDNA bulunmaktadır.

İnsan, hayvan ve böcek mtDNA'ları yaklaşık olarak 16.000-17000 bp uzunluğunda halkasal moleküldür. Bu türlerde mtDNA'nın 13 protein kodlayan gen (bazen 12) bölgesi, 22

tRNA geni ve 2 adet Ribozomal DNA (16S ve 12S) geni ve protein kodlamayan yalnızca replikasyon orijini içeren bazı gen bölgeleri (noncoding)'nden oluştuğu bilinmektedir (Anderson ve ark. 1982)

Memeli hayvanların mtDNA genomu genetik ekonomiye iyi bir örnektir. Nükleer DNA'dan farklı olarak genler arasında ya çok az kodsuz bölge bulunur ya da hiç bulunmaz. Maya mtDNA'sının sitokrom-b geni 5 intron bölgesi içerirken insan ve hayvan mtDNA'sında intron bölgesine rastlanmamaktadır. Yalnız replikasyonda H-zincirinin başlangıç bölgesi ve transkripsiyon için promotor yeri olan D-loop bölgesinde büyük bir kodsuz bölge belirlenmiştir. Kodlanamayan bölgeler (noncoding bölgeler:Pseudogenler) nükleotit sırası bakımından fonksiyonel gene çok benzerler. Fakat protein kodlamayan gen bölgeleri (pseudogenler)'nde durdurma (stop) ve anlamsız kodonlar, küçük delesyon ve insersiyonlar bulunur. Bundan dolayı bu bölgeler protein kodlamazlar (Klug ve Cummings 2002).

Apis mellifera ırklarının mtDNA genomunda da replikasyon orijininin, protein kodlanamayan bölge (pseudogen) olarak belirtilen COI-COII gen bölgesinde olduğu bildirilmiştir (Crozier ve Crozier, 1993). Replikasyon orijini omurgalı mtDNA'sının yalnızca ağır zincirinde yer alırken, *Apis mellifera* ve *Drosophila yakuba*'nın her iki zincirinde bulunur (Brown 1985, Wolstenholme ve ark. 1987).

Apis mellifera mtDNA'sı ile farklı türlerin mtDNA'ları arasında protein kodlayan genler ve bu genlerin düzeni bakımından çok az farklılıklar vardır (Çizelge 1.7.).

Çizelge 1.7. İnsan, maya, mısır, *Drosophila* ve bal arısı mtDNA'larının taşıdığı oldukları genler

Gen Ürünleri	İnsan	Maya	Mısır	<i>Drosophila</i>	Bal arısı
lrDNA	+	+	+	+	+
srDNA	+	+	+	+	+
5srDNA	-	-	+	-	-
tRNA	22	25	?	22	22
Replikasyon orijini(D-loop, SL)	2	7	?	+	+
Sitokrom oksidaz(COI,COII,COIII)	+	+	+	+	+
Apositokrom-b(Cyt-b)	+	+	+	+	+
NADH-dehidrogenaz(6 alt birim)	+	?	?	+	+
ATP sentetaz (6, 8ve 9)	+*	+	+	+*	+*

+:var, -:yok, *: altbirim 9 yok. Ayrıca mayalarda bazı RNAase genleri var (Topaktaş 2004)

NADH-dehidrogenazın alt birimleri'nin genleri sitrik asit döngüsü sırasında eksprese olurlar. Enerji zengin moleküllerdir ve yüksek transfer potansiyeline sahip birer çift elektron taşırlar. Krebs döngüsünün sonunda NADH, mitokondrilerin iç zarında bulunan elektron taşıma sisteminde oksijen tarafından oksitlenirler. Bu sırada açığa çıkan enerji oksidatif fosforilasyon ile Adenozin Tri Fosfat (ATP) yapımını sağlar. Cyt-b (Apistokrom b), COI, COII, COIII (Sitokrom oksidaz I'den III'e kadar olan alt birimlerin genleri) hem grubu içeren proteinlerdir. Solunum enzimleri olarakta bilinirler. İrDNA, ribozomal DNA genin büyük alt ünitesi, srDNA geni ise küçük alt ünitesinin genleridir. ATPaz 6, 8 ve 9, ATP sentetaz kompleksinin 6, 8 ve 9. alt birimlerinin genleridir. D-loop LSH, H ipliğinin sentezinin başlama noktası; SL ise L ipliğinin sentezinin başlama noktasıdır (Güenalp ve ark. 1986).

mtDNA'da nükleer DNA (nDNA)'da olduğu gibi histon gibi koruyucu proteinleri yoktur. Ayrıca etkili bir tamir mekanizmasından da yoksundurlar. Bu nedenle mtDNA mitokondrinin iç zarında meydana gelen oksidatif fosforilasyon sonucu olarak açığa çıkan oksijen radikalleriyle doğrudan ilişki içerisindedir. Oksidatif fosforilasyon sonucu iç membranda meydana gelen oksijen radikalleri alkilleyici ajanlardır. Bunların etkisiyle meydana gelen O6-metilguanin, Timinle (T) eşleşme özelliği gösterir. Bunun sonucu olarak C:G çiftleri T:A çiftleri ile yer değiştirir. Tamir mekanizması işlevsel olan hücrelerde mutasyonun tamirinden sorumlu O6-metil transferaz enzimi metil grubunu bir sistein yan zincirine taşır ve hücre membranından uzaklaştırır. Bu enzim kendi kendini yok eden enzim olarak da bilinir. Çünkü enzim metil grubunun son alıcısıdır ve görevini yaptıktan sonra inaktif olur (Daly 1985, Güenalp ve ark. 1986, Crozier ve Crozier 1993).

1.3.1. Niçin mtDNA?

mtDNA'nın yüksek kopya sayısına sahip olması onun en önemli özelliklerinden birisidir. Hücre çekirdeğinden farklı olarak her bir mitokondri organeli birkaç kopya mtDNA içerir. Dolayısıyla moleküler genetik çalışmaları için hayvansal dokulardan yeterince mtDNA izole etmenin mümkün olduğu bildirilmiştir (Rokas ve ark. 2003).

Moleküler teknikler ile yapılan çalışmalarda mtDNA'nın tercih edilmesinin bir diğer nedeni boyutunun küçük olmasıdır. Şimdiye kadar izole edilerek çalışılan mtDNA genomlarının 14.000 -39.000 bp arasında değiştiği görülmüştür (Smith 1991).

mtDNA genomu sadece böcekler arasında değil tüm hayvanlar alemi içerisinde önemli benzerlikler göstermektedir (Crozier ve Crozier 1992). Ayrıca mtDNA nükleer DNA gibi

kodlanmayan gen bölgeleri (İntron bölgeleri) içermediğinden farklı türler arasında mtDNA genomu bakımından karşılaştırma yapılması daha kolaydır (Brown 1985).

mtDNA'nın gen içeriği ve düzeni bakımından da evrim çalışmaları için çok önemli avantajlara sahip olduğu belirlenmiştir. Genellikle aynı taksonomik sınıfta yer alan canlılarda protein kodlayan genlerin genom üzerindeki yerlerinin bazı türler arasında değiştiği bazı türler arasında ise aynı olduğu görülmüştür. Hatta birbirlerinden geç dönemlerde ayrılarak meydana gelen farklı tür ya da alt türler arasında çoğu gen bölgeleri için nükleotit diziliminin bile aynı olduğu tespit edilmiştir (Moritz ve ark. 1986, Crozier ve Crozier 1992, 1993, Crozier ve ark. 1991).

mtDNA'nın üstünlüğünü ortaya koyan bir diğer faktörde mtDNA üzerindeki bir bölgenin evrimleşme hızıdır. mtDNA'nın farklı gen bölgelerinin evrimleşme hızları farklıdır. Bu nedenle farklı tür ve alt türlerin oluşumu ve birbirleriyle ilişkisini araştıran filogenetik çalışmalarda oldukça sık kullanılan iyi bir genetik araçtır Omurgasız hayvanların mtDNA'larında A+T nükleotitleri bakımından zengin protein kodlamayan gen bölgeleri çok hızlı evrimleşirken COI, COII ve rRNA gen bölgeleri çok yavaş evrimleşir. mtDNA üzerinde hızlı evrimleşen gen bölgeleri (COI-COII: protein kodlamayan gen bölgesi) ancak evrimleşmenin başlangıcındaki türleri birbirinden ayırmakta faydalıyken, çok iyi korunan (yavaş evrimleşen) gen bölgeleri türlerin çok eskiye dayanan geçmişi araştırmak için faydalıdır (Smith ve ark.1991).

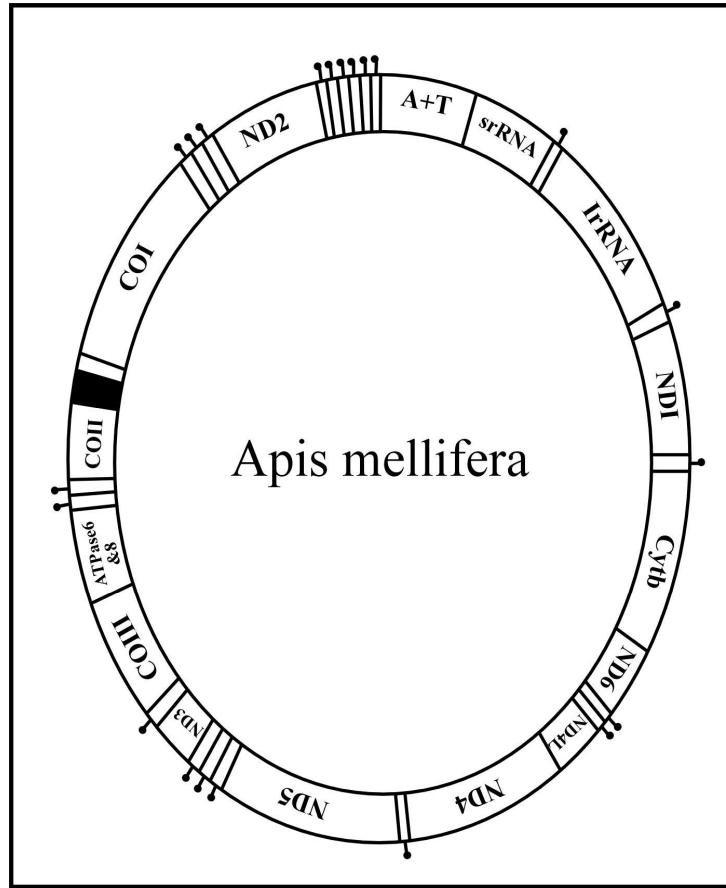
Populasyon biyolojisi çalışan araştırmacılar açısından mtDNA'nın en önemli özelliği ise maternal kalıtım materyali olmasıdır. Özellikle bal arılarının mtDNA varyasyonu bakımından araştırılması bu özellik nedeniyle çok yararlı sonuçlar vermektedir. Çünkü kolonideki tüm yavrular kraliçe arıya ait aynı mtDNA'yı taşırlar. Ayrıca mtDNA'nın anneden gelen kalıtım materyali olması ve rekombinasyon geçirmemesi (bitki mtDNA'sı hariç) nedeniyle hibrit bireylerin orijinlerini çalışmak için çok uygun bir tanımlayıcı genetik materyaldir (Lansman ve ark. 1983, Brown 1985, Gyllensten ve ark. 1985, Hall ve Muralidharan 1989, Smith ve ark. 1989).

1.3.2. *Apis mellifera* mtDNA'sı

Apis mellifera türü, *Drosophila yakuba*'dan sonra mtDNA materyali hakkında en fazla araştırma yapılan böcek grubudur. Aynı zamanda protein elektroforezi aracılığıyla alloenzim polimorfizmi çalışılan ilk organizmalar arasındadır (Mestriner 1969, Mestriner ve Contel 1972, Brückner 1974).

Apis mellifera mtDNA'sının nükleotit diziliminin çıkarılmasına yönelik ilk çalışmalarda tüm genomun değil yalnızca belirli bazı gen bölgelerinin dizi analizi yapılmıştır. Bu ilk çalışmalarda nükleotid dizi analizi yapılan gen bölgeleri şunlardır: IrRNA (Vlaşak ve ark. 1987), Cyt-c (COI, COII) ve 4 farklı tRNA geni (Crozier ve ark.1991), protein kodlamayan gen bölgesi (COI-COII) (Cornuet ve ark. 1991b), ATPase ve Cyt-b genleri (Crozier ve Crozier, 1992). Daha sonra Crozier ve Crozier (1993), tüm mtDNA genomunun nükleotit dizilimini belirleyerek *Drosophila yakuba* ve diğer bazı böceklerin mtDNA'sı ile karşılaştırmışlardır.

Apis mellifera mtDNA'sı yaklaşık olarak 16.000-17.000 bp uzunluğunda halkasal bir moleküldür. Bu organel 13 protein kodlayan gen bölgesi (NDI-ND6, Cyt-c (COI, COII, COIII), Cyt-b, ATPase-6,8, ND4L), 22 tRNA geni, 2 adet rDNA geni ve protein kodlamayan (noncoding) yalnızca replikasyon orijini içeren gen bölgeleri (COI-COII)'nden oluşmuştur (Smith ve Brown 1988, Smith 1991; Crozier ve Crozier 1992) (Şekil 1.7.).



Şekil 1.7. *Apis mellifera* mtDNA'sı

COI, COII, COIII genleri Cytochrom-b ve ATP_{ase}-6 ve ATP_{ase}-8 gen bölgelerinin *Drosophila yakuba* mtDNA'sı ile benzer pozisyonlarda olduğu görülmüştür. Yalnız 22 tRNA geninden 11'inin farklı pozisyonlarda olduğu ve yalnızca iki tRNA genin *Drosophila yakuba*'dan farklı bir antikodon taşıdığı belirlenmiştir. Ayrıca protein kodlayan genler, ribozomal ribonükleotit asit (rRNA) genleri ve kontrol bölgelerine ilişkin nükleotit dizilimi bakımından da *Drosophila yakuba* ile benzer olduğu görülmüştür. IrRNA geni ve srRNA gen bölgeleri nükleotit dizilimi bakımından sırasıyla %71,5 ve %68,3 düzeyinde *Drosophila yakuba* ile benzer bulunmuştur (Crozier ve Crozier 1993). Dolayısıyla IrRNA gen bölgesinin çok yavaş evrimleşen bir gen bölgesi olduğu görülmektedir.

Apis mellifera'da çoğu gen bölgelerinin ortak replikasyon ve ortak sonlanma bölgelerine sahip olduğu, bazı genlerin tamamlanmamış durdurma (stop) kodonu (T ve TA) nedeniyle poliadenilasyon kuyruğu (pAAAAA) ile sonlandığı belirlenmiştir. COI ve COII gen ünitelerinin her ikisi de tamamlanmamış terminasyon kodonları (T bazı) içerir ve translyasyon poliadenilasyon kuyruğu ile sonlandırılır. Tüm protein kodlayan genlerin başlangıç kodonlarının metionin (ATG, ATA) ve izolösin (ATC, ATT) aminoasitleri olduğu, bitiş kodonlarının da TAA olduğu belirlenmiştir. COI ve COII gen bölgeleri arasında yer alan tRNA_{Leu} ve tRNA_{Asp} üniteleri aynı stop kodonuna (TAA) sahiptir. Ayrıca ND2 ile tRNA_{Cys} ve ATP_{ase}-8 ile ATP_{ase}-6 bölgelerinin de birbirleriyle örtüştüğü görülür. Bu gözlemler *Apis mellifera* da polisistronik translyasyonun söz konusu olduğunu göstermektedir (Wolstenholme 1992). Bir gen ünitesi içerisinde diğer bir genin başlangıç (promotor) bölgesi bulunan genlerde bu tip translyasyon söz konusudur. Gen üniteleri birbirleri ile çakıştığı için de translyasyonun sonlanması poliadenilasyon kuyruğu ile olmaktadır (Crozier ve Crozier, 1993).

Nükleotit dizi analizi sonucunda *Apis mellifera* mtDNA'sının A+T bazlarınınca bir hayli zengin (%43.2 A, %41.7 T, %5.5 G ve %9.6 C) olduğu ve A,T bazlarının daha çok A+T zengin gen bölgesinde ve COI-COII (noncoding=pseudogen) bölgesinde yoğunlaştığı belirlenmiştir. Diğer türlere göre *Apis mellifera* mtDNA'sında A+T bazlarının daha fazla olmasının iki nedenden kaynaklanabileceği belirtilmiştir: Bunlardan biri mitokondrinin fonksiyonu nedeniyle oluşan alkilleyici ajanların, O6-metilguanin mutasyonlarına neden olması ve bu tip mutasyonlara karşı işlev gören DNA tamir mekanizması (metil-transferaz)'nın işlevsel olmaması (mitokondri içerisine taşınamaması)'dır. Diğeri ise *Apis mellifera*'da transversiyon tipindeki mutasyonlara karşı daha fazla eğilim olmasıdır (Crozier ve Crozier, 1993). Diğer türlerde daha çok transisyon tipi mutasyonlara eğilim vardır. Transisyon tipi mutasyonlarda Pürinler (A,G) pürinler ile, primidinler (C,T) primidinler ile

yer değiştirirken, transversiyon tipi mutasyonlarda ise pürinlerin primidinler ile ya da primidinlerin pürinler ile yer değiştirmesi söz konusudur. Dolayısı ile transversiyon tipi mutasyonlar yüksek oranda A=T çiftinin oluşumuyla sonuçlanacaktır. Diğer taraftan O6-metilguanin'in timinle eşleşme özelliği de yine aynı şekilde A=T çiftlerinin artışıyla sonuçlanacaktır (Klug ve Cummings 2002).

Yapılan araştırmalarda COI-COII gen bölgesi *Apis mellifera* alt türleri arasında gerek uzunluk gerekse gen ünitelerinin kombinasyonu (Q, PQQ, PQQQ) bakımından diğer gen bölgelerine göre önemli derecede varyasyon göstermiştir. Bu bölgeye ilişkin Cornuet ve ark. (1991)'nın ayrıntılı incelemeleri sonucu COI-COII gen bölgesinin %92 oranında AT nükleotidleri bakımından zengin olduğu, DNA helix yapısının bu bölgede stabilitesinin düşük olduğu ve bu gen bölgesinin bazı gen ünitelerinin insersiyonu veya delesyonu ile meydana gelmiş olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu özellikler nedeniyle replikasyon orijininin bu bölgede olabileceği belirtilmiştir. Bu bölgenin sekonder yapısının saç tokası şeklinde olması ve D-loop bölgesi içeriyor olması da bu düşünceyi destekler nitelikte bulunmuştur (Crozier ve Crozier 1993).

1.3.3. mtDNA genomundaki farklılığa göre bal arısı ırklarının evrimsel tarihi ve filogenetiği

mtDNA'nın yalnızca belli bir gen bölgesinin incelenmesine yönelik araştırmalarda mtDNA genomunun protein kodlamayan COI-COII gen bölgesi hem *Apis* türleri (*A. mellifera*, *A. cerana*, *A. flora*, *A. dorsata*, *Bombus leucorum*), hem de *Apis mellifera* ırkları arasındaki filogenetik araştırmalar için en çok tercih edilen ve en fazla varyasyonun gözleendiği gen bölgesi olmuştur. Bu gen bölgesi morfometri ve alloenzim varyasyonu bakımından birbirine çok yakın olduğu belirlenen *Apis mellifera* ile *Apis cerana*'nın genetik yakınlığını ve *Apis mellifera*'nın coğrafik orijininin belirlemek açısından son derece yararlı sonuçlar vermiştir.

Smith ve ark. (2000), Kore, Filipinler, Çin, Hindistan, Japonya'da doğal olarak yayılmış olan *Apis cerana* ve *Apis mellifera* mtDNA'sının COI-COII gen bölgesini karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Hindistan ve Srilanka'da yayılmış olan *Apis cerana*'nın COI-COII gen bölgesi diğer bölgelerde yayılmış olan *Apis cerana*'ninkine göre hem daha uzun hem de AT nükleotitleri bakımından daha zengin (*Apis mellifera*'da olduğu gibi) ve sekonder yapısı bakımından *Apis mellifera*'nın COI-COII gen bölgesine son derece benzer bulunmuştur. Buna karşılık Kore ve Filipinlerde COI-COII gen bölgesinin yok denecek kadar kısa olduğu görülmüştür. Çin'deki *Apis cerana* popülasyonlarının araştırılmasına yönelik

diğer bir çalışmada da (COI-COII/*Dra*I kesimi ve ND2 gen bölgesinin nükleotit dizi analizi yapılmış) Çin populasyonu Hindistan ve Sirilanka populasyonunda olduğu gibi Asya tipi mtDNA haplotipi göstermiştir (Tan ve ark. 2006).

Smith (1991)'in yaptığı bir araştırmaya göre *A. mellifera*, *A. cerana*, *A. florea*, *A. dorsata* ve *Bombus leucorum*'un tRNA^{leu}-COII gen bölgesinin nükleotit dizisi karşılaştırıldığında *A. mellifera* ve *A. cerana*, 3'-COI, tRNA^{leu} gen bölgelerine homolog ekstra bir bölge ile diğer bal arısı türlerinden ayrılmıştır. Bu araştırmada COI ve tRNA^{leu} gen bölgesinin duplikasyonu *A. mellifera* ve *A. cerana* türlerinin ortak özelliği olarak belirlenmiştir. Bu bakımından *A. cerana*'ya en yakın *Apis mellifera* grubunun ise Doğu Akdeniz grubu (*A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carnica* ve *A. m. lamarckii*) olduğu belirtilmiştir (Cornuet ve ark. 1991). Ayrıca Doğu Akdeniz (Doğu Avrupa) grubundaki *Apis mellifera* alt türlerinin ve *Apis cerana*'nın COI-COII gen bölgesi diğer gruplardan daha kısa bulunmuştur (Smith 1991). mtDNA varyasyonuna göre belirlenen bu araştırma sonuçları Ruttner (1988a)'ın *Apis mellifera*'nın orijini ve yayılmasına ilişkin hipotezini desteklemektedir (Çizelge 1.8.).

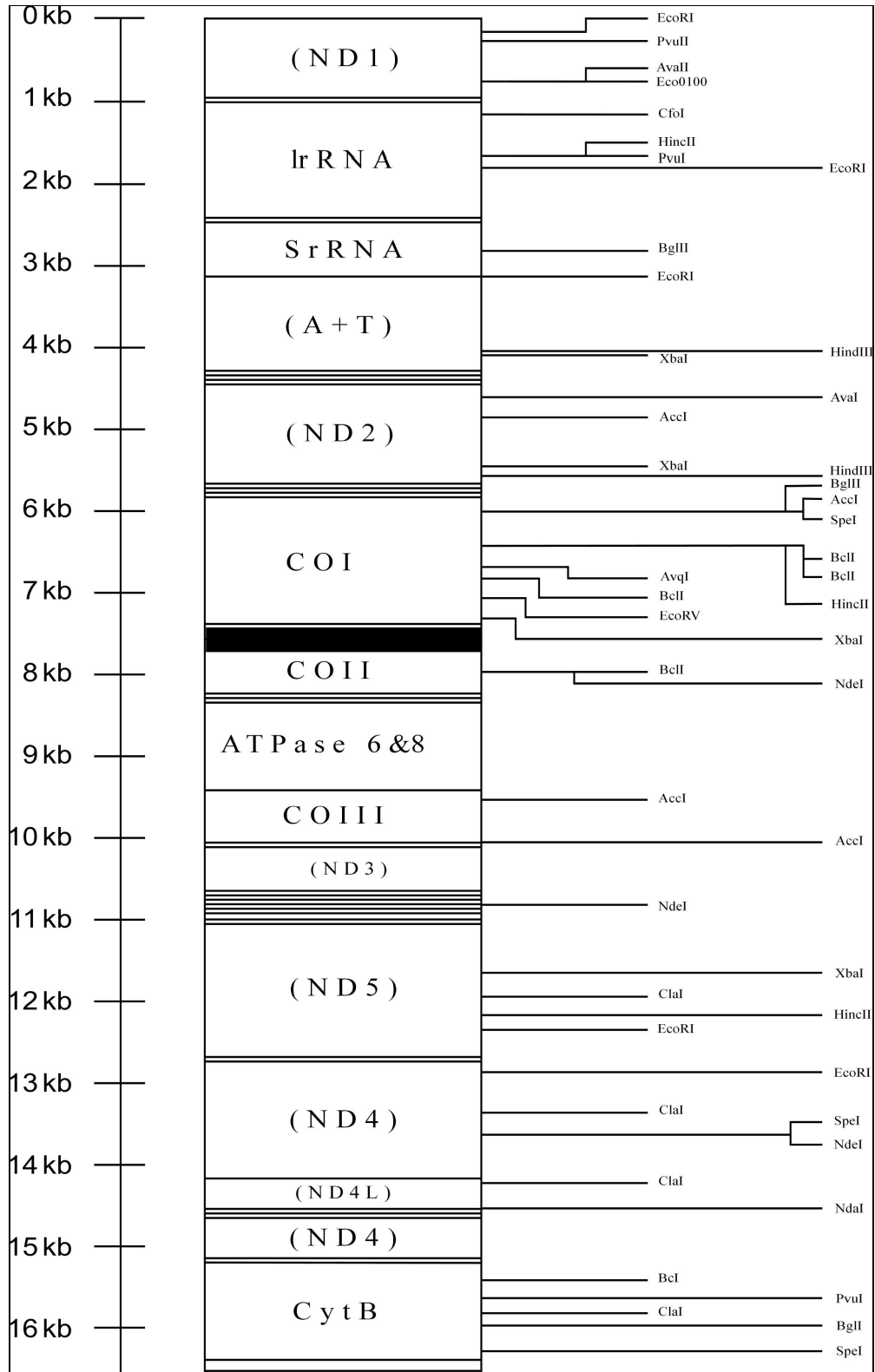
Çizelge 1.8. *Apis mellifera* ırklarının mtDNA büyüklüğüne göre sınıflandırılması

<i>Apis mellifera</i> tür ve ırkları	Uzunluk sınıfı	Bcl kesimi sonucu tRNA ^{leu} -COII
<i>A. cerana</i>	S	
<i>A. mellifera</i>	S	1.05 kb
<i>ligustica</i>	S	
<i>carnica</i>	S	
<i>caucasica</i>	S	
<i>lamarckii</i>	S	
<i>intermissa</i>	M	1.14 kb
<i>scutellata</i>	M	
<i>unicolor</i>	M	
<i>mellifera</i>	M	
<i>intermissa</i>	L	1.32 kb
<i>scutellata</i>	L	
<i>mellifera</i>	L	
<i>scutellata</i>	XL	1.56 kb
<i>mellifera</i>	XL	
<i>scutellata</i>	XXL	1.86 kb

Smith (1991)

mtDNA varyasyonuna göre bal arıları (*Apis mellifera*) arasındaki filogenetik ilişkiyi ortaya koymak için yapılan ilk çalışmalarda tüm mtDNA genomunun farklı restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu oluşan farklı bant profilleri karşılaştırılmıştır (Moritz ve ark. 1986; Sheppard ve Berlocher 1984a, Sheppard ve ark. 1991a,1991b, 1997). Daha sonraki yıllarda ise mtDNA'nın tamamı değil de yalnızca belli bir gen bölgesinin restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu oluşan farklı bant profillerinin karşılaştırılmasına dayanan araştırmalar yapılmıştır (Moritz ve ark. 1986, Cornuet ve Garnery 1991, Garnery ve ark. 1991, 1992, 1993, Arias ve Sheppard 1996). Bunların yanı sıra mtDNA'nın bazı gen bölgeleri (ND2, COI-COII)'nin nükleotit dizi analizi yapılarak, mikrosatellit bölgeleri incelenerek (Garnery ve ark. 1992, Estoup ve ark. 1995a,b,c, Frank ve ark. 1998) ve AFLP ve RAPD teknikleri kullanılarak, bal arılarının genetik varyasyonu araştırılmış ve bulunan farklılıklardan bal arılarının evrimsel tarihi hakkında yorumlar yapılmıştır.

Smith (1991)'in, bildirdiğine göre Ruttner'in morfolojik karakterlere dayanarak tanımlamış olduğu 24 *Apis mellifera* alt türünden 10'unun (Danimarka, Norveç, Fransa, İsveç ve Avusturya'dan *A. m. mellifera*; Almanya, Avusturya ve Yugoslavya'dan *A. m. carnica*, İtalya'dan *A. m. ligustica*, Gürcistan'dan *A. m. caucasica*; İspanya'dan *A. m. iberica*, Mısır'dan *A. m. lamarckii*, Madagaskar'dan *A. m. unicolor* ve Güney Africa Cumhuriyeti'nden *A. m. scutellata* ve *A. m. capensis*) mtDNA genomunun 6-bazlık özel dizileri tanıyan 16 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi (*AccI*, *Afl II*, *AvaI*, *BcII*, *BgIII*, *EcoO*, *EcoRI*, *EcoRV*, *HindII*, *HindIII*, *NdeI*, *PstI*, *PvuII*, *SpeI*, *XbaI* ve *XhoI*) ile oluşturduğu kesim örüntüsü incelenmiş ve söz konusu enzimlere ait kesim sitelerinin göreceli pozisyonlarına göre *Apis mellifera*'nın mtDNA genom haritası oluşturulmuştur (Smith ve Brown 1988, 1990; Smith 1991) (Şekil 1.8.).



Şekil 1.8. mtDNA'nın Resitriksiyon Endonükleazlar ile kesim haritası (Smith 1991)

mtDNA genom haritasına göre alt türler arasındaki ilişki istatistikî yöntemler sekans ayrılma yüzdesi ve UPGMA (Unweighted pair group analyse) ile değerlendirildiğinde üç ana mtDNA haplotip grubu belirlenmiştir (Smith 1991).

1. Doğu Akdeniz grubu (C) (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucasiaca* ve *A. m. lamarckii*),
2. Batı Avrupa grubu (M) (*A. m. mellifera* ve bazı *A. m. iberica* ırkları),
3. Afrika grubu (A) (*A. m. intermissa*, *A. m. scutellata*, *A. m. capensis* ve bazı *A. m. iberica* ırkları ile *A. m. unicolor*).

Kesilmiş uzunluk parçacıklarının polimorfizmi (KPUP:Restriction Fragment Length polymorphism) esas alınarak yapılan çalışmaların ortak sonucu olarak incelenen bal arısı popülasyonlarında yalnızca birkaç enzime ilişkin kesim sitelerinin (Cytb/BglIII, 1rRNA/EcoRI, COI/HincII, XbaI) varlığına ya da yokluğuna göre popülasyonların bu 3 ana mtDNA haplotip grubundan hangisine ait olduğunu tanımlamanın mümkün olabileceği belirlenmiştir (Çizelge 1.6.). Bundan sonraki çalışmalarda incelenen mtDNA bölgesinde yalnızca bu kesim sitelerinin varlığı, yokluğu ya da oluşturduğu kesim örüntüsü dikkate alınarak örneklerin Afrika orijinli mi, batı Avrupa orijinli mi yoksa doğu Avrupa orijinli mi olduğu kolayca belirlenmiştir (Hall ve Smith 1991, Garnery ve ark. 1993, Nielsen ve ark. 2000)

Aries ve Sheppard (1996), morfometrik olarak tanımlanmış 14 farklı *Apis mellifera* ırkı (Slovenya ve Avusturya'dan *A. m. carnica*, Fransa, İsviçre ve Norveç'ten *A. m. mellifera*, İtalya'dan *A. m. ligustica*, Yunanistan'dan *A. m. macedonica*, Suriye'den *A. m. meda*, Nijerya ve Senegal'den, *A. m. adonsonii*, Güney Afrika'dan *A. m. capensis*, Portekiz'den *A. m. iberica*, Morocco'dan *A. m. intermissa*, Mısır'dan *A. m. lamarcii*, Kenya'dan *A. m. monticola*, Morocco'dan *A. m. sahariensis*, Kenya ve Afrika'dan *A. m. scutellata*, İtalya'dan *A. m. sicula*)'nı ND2 gen bölgesinin nükleotit dizi analizine göre karşılaştırmıştır. Bu çalışmada mtDNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimine göre yapılan gruplamadan farklı olarak 3 değil 4 ana mtDNA haplotip grubu olduğundan söz edilmiştir.

Aries ve Sheppard (1996)'ın çalışmalarına paralel olarak Frank ve ark. (2000) özellikle 4. mtDNA haplotip grubunu tanımlamaya yönelik bir araştırma yapmışlardır. Araştırmada 5 farklı *Apis mellifera* ırkı (Lübnan'dan *A. m. syriaca*, Mısır'dan *A. m. lamarcii*, Morocco'dan *A. m. intermissa*, Fransa'dan *A. m. mellifera*, İtalya'dan *A. m. ligustica*)'nü COI-COII gen bölgesinin nükleotit dizisi bakımından, Suriye arılarını ise ayrıca ND2 gen bölgesinin nükleotid dizisi bakımından karşılaştırmışlardır. Sonuçlar Aries ve Sheppard (1996)'ın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. *A. m. syriaca* ve *A. m. lamarcii* diğerlerinden farklı fakat birbirlerine çok benzer nükleotit dizilimi ile dördüncü bir mtDNA haplotip

grubunu (O) temsil eden bir genetik yapı ortaya koymuşlardır. Frank ve ark. (2000)'nın yapmış olduğu araştırmada *A. m. intermissa*, *A. m. mellifera* ile aynı grupta değil diğer Afrika alt türleri ile aynı grupta yer alırken Suriye'den alınan bazı *A. m. meda* örnekleri de *A. m. syriaca* ve *A. m. lamarcii* ile birlikte Orta Doğu (O) grubunda yer almıştır. Dördüncü mtDNA haplotip grubunda (Ortadoğu (O)) Suriye'den *A. m. syriaca*, Mısır'dan *A. m. lamarcii* ve bazı *Apis mellifera meda* alt türleri yer almaktadır. "O" grubuna özgü mtDNA, tRNA^{Leu}-COII bölgesinin nükleotit dizilimine göre Afrika bal arılarının (P₀)'ne çok benzer bir P ünitesi (P=P₀'ın 5 baz delesyonu) ve örneğin alındığı coğrafik alana göre değişen Q ünitelerinden oluşmaktadır (Frank ve ark. 2000). Doğu Avrupa grubunda P ünitesinin bulunmadığı yalnızca Q ünitesinin bulunduğu; Afrika ve Batı Avrupa grupların da ise P ünitesi ve farklı uzunluk ve kombinasyonlarda Q ünitelerinin bulunduğu bilinmektedir.

COI-COII gen bölgesinde P ve Q ünitelerinin farklı kombinasyonları nedeniyle 4 ana mtDNA haplotip grubu (Afrika, Batı Avrupa, Doğu Avrupa ve Orta doğu)'nda farklı uzunluk varyasyonunun görülmesi Cornuet ve ark. (1991) tarafından iki farklı senaryo ile açıklanmıştır (Şekil 1.9).

A: Seneryo 1

Temel basamak	3'-COI	tRNA ^{leu}	AIS	5'-CO
---------------	--------	---------------------	-----	-------

Düplikasyon

1.Basamak	3'-COI	tRNA ^{leu}	AIS	3'-COI	tRNA ^{leu}	AIS	5'-COI
			P	Q1	Q2	Q3	

Delesyon

2.Basamak	3'-COI	tRNA ^{leu}	Q1	Q2	Q3	5'-COI
-----------	--------	---------------------	----	----	----	--------

B: Senaryo 2

Temel basamak

3'-COI	tRNA ^{leu}	AIS	5'-CO
--------	---------------------	-----	-------

Düplikasyon

1.Basamak

3'-COI	tRNA ^{leu}	3'-COI	tRNA ^{leu}	AIS	5'-COI
		Q1	Q2	Q3	

Düplikasyon

2.Basamak

3'-COI	tRNA ^{leu}	Q1	Q2	Q3	Q1	Q2	Q3	5'-COI
--------	---------------------	----	----	----	----	----	----	--------

Delesyon

3.Basamak

3'-COI	tRNA ^{leu}	Q3	Q1	Q2	Q3	5'-COI
		P				

Şekil 1.9. *Apis mellifera* ırklarının COI-COII gen bölgesi için belirlenen 4 farklı uzunluk kombinasyonunun oluşumu (Cornuet ve ark.1991)

Yukarıdaki şekle göre *Apis mellifera* alt türlerinde oluşan Q, PQ₁, PQ₂Q₃ ve PQ₁Q₂Q₃ dizilim kombinasyonları, COI ve tRNA^{Leu} genlerinin dublikasyonun sonucu gibi gözükmektedir. Q1=3-COI' bölgesine; Q2=tRNA^{leu} bölgesine; Q3=P ünitesine benzer bulunmuştur.

Tüm bu araştırma sonuçlarına göre *Apis mellifera* alt türlerinin morfometrik karakterlere, mtDNA'nın kesim haritasına ve nükleotit dizi analizine göre gruplanması birbirlerine göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklardan bazıları şunlardır: Anadolu arısı *A. m. anatoliaca* morfometriye göre yapılan sınıflandırmada Ortadoğu (O) grubunda yer alırken moleküler teknikler ile yapılan araştırmalarda C grubuna özgü mtDNA haplotipi sergilemiştir (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a). Diğer bir farklılık da morfometrik araştırmalar sonucu Afrika (A) grubunda yer alan *A. m. lamarcii*'nin mtDNA'sının restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimi sonucunda *A. m. carnica* ve *A. m. ligustica* ile birlikte C grubunda yer aldığı belirlenmesi, nükleotit dizi analizi bakımından ise Orta Doğu (O) grubunda yer alması olmuştur (Cornuet ve Fresnaye 1989, Arias ve Sheppard 1996). Morfometrik ve alloenzim varyasyonuna göre *A. m. intermissa* ve bazı kuzey Afrika alt türleri Batı Avrupa (M: *A. m. mellifera*) ırkları ile aynı grupta yer almaktadır. Oysa mtDNA sonuçlarına göre *A. m. intermissa* Orta Afrika arılarıyla birlikte aynı grupta yer almıştır (Arias ve Sheppard, 1996). KPUP analizine göre üç temel mtDNA haplotip grubu

olduğu belirlenirken nükleotit dizi analizine göre yine morfometrik verilere göre yapılan gruplamada olduğu gibi dört temel mtDNA haplotip grubu bulunduğu ancak morfometrik tanımlamaya göre O ve C gruplarının kompozisyonun farklı olduğu belirlenmiştir.

COI-tRNA^{leu} intergenik bölgesinin dizi analizine ilişkin sonuçlar ve mtDNA genomunun restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu oluşturulan genom haritası birlikte değerlendirildiğinde *Apis mellifera* alt türlerinin filogenetik akrabalığına ilişkin oldukça tanımlayıcı sonuçlara varılmıştır. Ancak tür ve ırklar arasındaki filogenetik akrabalığı belirlemek için mtDNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesi ya da dizi analizi yapılması yeterli değildir. Gerçek bir tanımlama yapabilmek için elde edilen verilerin istatistiki analiz yöntemleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir. En yaygın uygulanan istatistiki analiz yöntemi dizi ayrılma yüzdesinin belirlenmesidir (Nei ve Tajima 1983). Bu analizin temeli iki ayrı tür ya da alt tür arasında mutasyon nedeniyle oluşan nükleotit dizi farklılığını tahmin etme yüzdesine dayanmaktadır. Dizi ayrılma yüzdesi KPUP'nden ya da mtDNA üzerinde oluşturulan kesim haritasına ilişkin verilerden tahmin edilmektedir. Ancak %5'ten büyük sapmalar için KPUP'den dizi ayrılma yüzdesini tahmin etmek çok güvenilir bulunmamaktadır. KPUP sonuçları ile UPGMA metoduna dayanarak filogenetik akrabalığı gösteren ayrılma dendogramı oluşturulur. Bu dendogram majör mtDNA türünü ve veya türler arasındaki gruplaşmayı gösterir. Bu yöntemde restriksiyon endonükleaz enzimleri ile belirlenen kesim siteleri ölçülemeyen bir karakter olarak değerlendirilir ve bilgisayar programıyla sınıflama analizi yapılır (Smith 1991).

1.4. Morfometrik, Biyokimyasal ve Moleküller Teknikler (PZR-KPUP, DNA dizi analizi)'e Göre Türkiye'deki Bal Arısı Çeşitliliği

Türkiye'nin bal arısı popülasyonu ilk defa Buttell Reepen (1906) tarafından tanımlanmaya çalışılmıştır. Sadece Ege ve Marmara bölgelerinin arıları üzerinde bazı görüşlerin ileri sürüldüğü bu ilk girişimden sonra Bodenheimer (1941), Anadolu bal arılarını morfolojik yapılarına göre tanımlayarak Anadolu'yu farklı ekotiplerin bulunduğu 7 farklı coğrafik bölgeye ayırmıştır. Kuzeydoğudaki arı popülasyonunu *A. m. caucasica* Gorb. ve Sarı Trans Kafkas arısı olarak tanımlarken, Orta Anadolu'daki arıların tipik Anadolu arısı olduğunu belirtmiştir. Bodenheimer Elazığ yöresindeki arıları ise genel bir tanımlama ile *A. m. remipes* olarak yorumlamıştır. Türkiye'nin batısındaki (İstanbul-Bursa hattının batısı) arıların diğerlerinden farklı özellikler gösterdiği, diğer üç tipin Anadolu arısı, Kafkas arısı, Sarı Trans Kafkas arısı ve Suriye arısının ara formları olduğu belirtilmiştir.

Maa (1953)'da Anadolu arılarını morfometrik yapılarına göre karakterize ederek Anadolu arısını alt tür olarak *A.m.anatoliaca* sistematik adıyla ilk kez tanımlayan araştırmacı olmuştur.

Maa' nın çalışmalarından 30 yıl sonra, 1983 yılında Adam ülkemizdeki bal arılarını genel görünüm ve davranışlarına göre inceleyerek Bodenheimer'in bulgularına yakın sonuçlar ortaya koymuştur. Adam (1983)'a göre Türkiye'nin batısı, kuzey-doğusu, güney-doğusu ve Anadolu'nun merkezinde olmak üzere 4 belirgin bal arısı ırkı ve birçok alt ekotip bulunmaktadır. Bu bulgulara dayanılarak Anadolu'nun bal arısı ırklarının yuvası olduğu hatta topoğrafik yapısı nedeniyle Anadolu'da kapalı ceplerde oluşmuş özgün bal arısı ekotiplerinin bulunduğu ifade edilmiştir. Günümüzde moleküler tekniklere dayanılarak yapılan çalışmalar da. mtDNA/*EcoRI* kesimi sonucunda Balıkesir populasyonun diğerlerine göre farklı uzunlukta bir kesim örüntüsü oluşturması, morfometri ve enzim çalışmalarına göre Kırklareli, Muğla, Düzce ekotiplerinin bildirilmesi bu ifadeyi destekler niteliktedir (Kandemir ve ark. 2005, 2006a).

Apis mellifera'nın coğrafik dağılımına ilişkin bilimsel olarak kabul görmüş olan ilk çalışmalar Ruttner (1988a) tarafından yapılmıştır. Ruttner (1988a) Türkiye'de doğal olarak yayılmış 4 *Apis mellifera* alt türünün olduğunu belirtmiştir. Ruttner (1988a)'a göre Türkiye'nin kuzeydoğusundan Samsun'a kadar olan kesimde *A. m. caucasica* ekotipi, Güneydoğu'da *A. m. meda*, Güneyde Türkiye-Suriye sınırına yakın çok küçük bir alanda *A. m. syriaca*, Trakya da dahil olmak üzere Türkiye'nin geri kalan kısımlarında ise *A. m. anatoliaca* bulunmaktadır. Ayrıca Anadolu arıları, Balkan arıları ve diğer komşu ülke arılarıyla karşılaştırılarak incelenmiştir. Anadolu arıları oldukça sıkı bir grup oluştururken Bursa-İstanbul-Eskişehir-Isparta hattının batısında kalan grup Anadolu grubundan ayrı bir grup oluşturmuştur. Buradan alınan örnekler ayrı bir grup oluşturmakla birlikte bu örnekler ayrı bir ırk tanımlaması yapılmamıştır. Buradaki arı populasyonunun Doğu Ege adalarının etkisinde kaldığı vurgulanmıştır.

Birçok araştırmacı tarafından Türkiye'de bulunan arı ırkları morfometrik karakterleri ve alloenzim varyasyonu bakımından araştırılmış ve Ruttner (1988a)'ın bulgularına yakın sonuçlar bulunmuştur (Darendelioğlu ve Kence, 1992; Kandemir ve Kence 1995, Güler ve Kaftanoğlu 1999a,b,c, Güler ve ark. 1999, Kandemir ve ark.1995, 2000, Güler ve ark. 2002, Kandemir ve ark. 2003.).

Türkiye'de bulunan arı ırkları morfometrik ve mtDNA varyasyonun yanısıra *Apis mellifera* alt türlerinde polimorfik olduğu bilinen 6 farklı enzim lokusu (Mdh, Pgm, Hk, Est, Pgi ve Mi) bakımından da araştırılmıştır. Türkiye'de bulunan *Apis mellifera* populasyonları 4

enzim lokusu (Mdh, Pgm, Hk, Est) bakımından polimorfik bulunmuştur. Türkiye’de en fazla görülen alleller Mdh⁶⁵, Mdh¹⁰⁰, Pgm⁷⁵, Pgm¹⁰⁰, Est¹⁰⁰, Hk¹⁰⁰ olarak belirlenmiştir. Türk bal arıları Pgm lokusu dışında diğer enzim lokusları bakımından H-W (Hardy-Weinberg) eşitliğine uygun bulunmuştur. Ayrıca Trakya bölgesinde Mdh⁶⁵ frekansı yüksek bulunmuştur (Kandemir ve ark. 1995, 2000, 2005).

Bal arısı populasyonlarında en yaygın çalışılan sitoplazmik malatdehidrogenaz (Mdh1), enzim lokusu bakımından Doğu Avrupa, Batı Avrupa ve Afrika bal arıları arasında önemli allel frekans farklılığı görülmüştür. Türkiye’nin kuzeyinde özellikle Trakya bölgesinde yüksek oranda Mdh⁶⁵ alleli görülürken güneye doğru inildikçe Afrika bal arılarında dominant olduğu bilinen (Nunamaker ve Wilson 1981, Sheppard ve Huettel 1988, Sheppard ve Berlocher 1989, Meixner ve ark. 1994) Mdh1¹⁰⁰ (hızlı) frekansının arttığı görülmektedir. Mdh⁶⁵ allel frekansı Türkiye’nin kuzeyinden güneyine doğru inildikçe azalıyor ve hatta Türkiye’nin güneyinde hiç görülüyorken İran’da yeniden görülmektedir (Moradi ve Kandemir 2004).

Sheppard ve Smith (2000)’e göre Badino ve ark. (1988), Sheppard ve Huettel (1988) ırklar arasında, Sheppard ve Berlocher (1989) türler arasında alloenzim varyasyonunu araştırmışlar ve bu araştırma sonuçlarına dayanarak *Apis mellifera*’da izoenzim varyasyonun düşük olduğunu belirtmişlerdir. Yani genel olarak *Apis mellifera* grupları arasında alloenzim varyasyonu bakımından kesin bir sınır olmadığı belirtilmektedir. Örneğin Pgm¹⁰⁰, hem Türk bal arılarında hem Afrika bal arılarında görülüyor. Est¹⁰⁰, Türkiye’de, İtalya’nın kuzeyinde ve Afrika’da görülüyor. Yüksek frekansta Mdh¹⁰⁰ allel frekansı Afrika arılarına özgü (Sylvester 1982) olmasına rağmen bu allel gen frekansı *A. m. caucasica* ve *A. m. anatoliaca* alt türlerinde de %100’e yakın frekansta görülmektedir (Kandemir ve Kence 1995). Oysa gerek morfometrik gerek moleküler işaretleyiciler ile yapılan araştırma sonuçları, Afrika ve Doğu Avrupa bal arılarının birbirlerinden farklı olduğunu kesin olarak ortaya koymuştur. Pgm enzim lokusu ile yapılan bir başka çalışmada (Kence ve ark. 2006) belirlenen ilginç sonuç ise alloenzim polimorfizmine göre varyasyonun belirlenmesinin ne kadar doğru olabileceği şüphesini de beraberinde getirmiştir. Bu çalışmada yaz ve kış arılarında bile Pgm allellerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur. Kış arılarında %100 Pgm75/100 heterozigotluğu görülürken yaz arılarının bu enzim lokusu bakımından homozigot olduğu belirlenmiştir.

Gerek alloenzim gerekse morfometrik teknikler ile yapılan araştırmalara göre daha kesin sonuçlar veren moleküler teknikler ile yapılan farklı araştırma sonuçları Türkiye’de 5 farklı bal arısı (*Apis mellifera*) alt türünün olduğunu göstermiştir (Çizelge 1.9.) (Şekil 1.10.).

Çizelge 1.9. Türkiye’de bulunan 5 farklı *Apis mellifera* ırkı

<i>A. m. anatoliaca</i>	Ruttner 1988a; Smith ve ark. 1997; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a
<i>A. m. caucasica</i>	Ruttner 1988a; Smith ve ark. 1997; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a
<i>A. m. carnica</i>	Bodenheimer 1941; Smith ve ark. 1997; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a
<i>A. m. syriaca</i>	Ruttner 1988a; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a,c
<i>A. m. meda</i>	Ruttner 1988a



Şekil 1.10. Türkiye’de bulunan *Apis mellifera* ırklarının bölgelere göre dağılımı

Smith ve ark. (1997)’nin Türk bal arılarının mtDNA varyasyonu bakımından araştırılmasına ilişkin yaptığı ilk çalışmada, Gürcistan sınırına yakın yerlerden alınan örneklerin %77’si, Erzurum yakınlarından alınan örneklerin %29’u ve Van çevresinden alınan örneklerin ise %25’i *A. m. caucasica* mtDNA haplotipi ile uyumlu bulunurken Trakya bölgesinden alınan örnekler %24 oranında *A. m. carnica* mtDNA haplotipi ile uyumlu bulunmuştur.

Kafkas dağ arısı *A. m. caucasica*, Kafkas dağlarında, Kafkas vadisinin güneyinde, Kafkasya’nın küçük bir kesimindeki yüksek yerlerde, Gürcistan ve Azerbaycan’ın bir parçasında doğal olarak bulunur (Alpatov 1948, Bilash ve ark. 1976; Awetisjan 1978, Ruttner

1988a). Ruttner (1988a), morfometrik incelemeleri sonunda *A. m. caucasica*'ya benzer arıların Karadeniz sahillerinin Samsun'a kadar olan kesimlerinde de bulunduğunu ifade etmiştir. Fakat Kafkas'ın birçok varyetesinin bulunması nedeniyle bu arıların gerçek kaffas soyu olup olmadıkları tartışma konusu olmuştur (Ruttner 1988a). Güler (2001), Kafkas bölgesi olduğu bilinen Artvin yöresindeki *Apis mellifera* populasyonunu morfometrik yöntemler ile araştırmış ve buradaki arıların Kafkas ırkının yöreye uyum sağlamış bir ekotipi olduğunu bildirmiştir.

A. m. anatoliaca ve *A. m. caucasica*'nın mtDNA'ları dikkatli incelendiğinde iki tür arasında COI-COII gen bölgesinin nükleotit dizilimi bakımından çok büyük bir fark bulunmamıştır. Genel olarak Anadolu arıları bu gen bölgesinin nükleotit dizilimi bakımından *A. m. caucasica*'ya çok yakın olarak bulunmuştur (Palmer ve ark. 2000). Moleküler teknikler ile yapılan ilk çalışmalarda tüm mtDNA genomunun birçok farklı restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimi sonucu mtDNA genom haritası oluşturulmuş ve *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ve *A. m. carnica*'nın hemen hemen aynı kesim örüntüsünü oluşturduğu belirlenmişti (Smith 1991). Bu araştırma sonuçları *A. m. anatolica*'nın *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ve *A. m. carnica* ile aynı mtDNA haplotip grubunda olduğunu gösteriyor.

Ruttner (1988a) daha yıllar önce Türkiye'nin güneyinde Hatay, Antakya yöresinde *A. m. syriaca*'nın bulunduğunu bildirmişti. Son yıllarda yapılan araştırmalarda Hatay yöresinden alınan örneklerin mtDNA'larındaki protein kodlamayan gen bölgesi (COI-COII)'nin nükleotit dizi analizi yapılmış ve sonuçlar *A. m. syriaca* mtDNA'sındaki nükleotit dizilimi ile uyumlu bulunmuştur (O=ortadoğu grubu) (Kandemir ve ark. 2006, Palmer ve ark. 2000).

A. m. syriaca'nın Akdeniz'in doğu sahillerini içeren bazı kesimlerde, kuzey Negev çöllerinde, İsrail'in bazı kesimlerinde, Ürdün, Suriye ve Lübnan'da doğal olarak bulunduğu bilinmektedir (Ruttner 1988a). Lübnan'dan alınan *Apis mellifera* örneklerinin COI-COII gen bölgesinin nükleotit dizisi diğer mtDNA haplotip grupları (Doğu Avrupa, Batı Avrupa, Afrika) ile karşılaştırıldığında *A. m. syriaca*'nın nükleotit dizilimi bakımından diğer üç gruptan (C, M, A) da farklı olduğu, bu nedenle *Apis mellifera syriaca* alt türünün 4. bir mtDNA haplotip grubu (O)'nu temsil ettiği bildirilmiştir (Frank ve ark. 2000).

1.4.1. Türkiye'deki arı ırklarını tanımlamak için yapılan bazı araştırma sonuçları

Son yıllarda PZR-KPUP ve DNA-sekans gibi moleküler teknikler ile Türkiye'deki *Apis mellifera* ırklarına ilişkin yapılan araştırmaların ortak sonucu aşağıda özetlenmiştir (Çizelge 1.10).

Çizelge 1.10. Türk bal arılarında PZR-KPUP'ne göre gözlenen kesim örüntüsü

	<i>BglIII</i>	<i>EcoRI</i>	<i>XbaI</i>	<i>HincII</i>	<i>Hinf</i>	<i>Taq</i>	<i>DraI</i>	Araştırmacı
Cyt-b	+							Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006c.
1rRNA		+						Smith ve ark. 1997; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006; Özdil ve ark., 2006.
COI	+		+	-	-	+		Smith ve ark. 1997; Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a,c; Özdil ve ark. 2006.
COI-COII							+	Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006b; Özdil ve ark. 2006
mtDNA		+						Kandemir ve ark. 2006a

ND2 Dizi analizi	<i>A. m. anatoliaca</i> , <i>A. m. syriaca</i> ve <i>A.m.cypria</i> 'da farklı nükleotit dizileri belirlenmiştir.	Kandemir ve ark. 2006b
COI-COII Dizi analizi	Türk bal arılarında yalnızca Q segmenti görülürken yalnızca Hataydan alınan örneklerde PQ kombinasyonu belirlenmiştir	Palmer ve ark. 2000; Kandemir ve ark. 2006a

Çizelgede enzimlere ilişkin kesim bölgelerinin olup olmadığı +:var, -:yok şeklinde ifade edilmiştir.

Doğu Avrupa grubu (Doğu Akdeniz)'nda yer alan *Apis mellifera* ırkları (*A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ve *A. m. carnica*)'nin mtDNA genomunda *cytb/BglIII*, *COI/XbaI*, *1rRNA/EcoRI* kesim bölgeleri bulunmaktadır. Taksonomik sınıflandırmaya göre Türk bal arıları da aynı grup (Doğu Akdeniz mtDNA haplotip grubu)'da yer almaktadır ve aynı kesim bölgelerini taşımaktadır.

Türkiye genelinde incelenen bal arıları (*Apis mellifera*)'nın mtDNA genomunun COI gen bölgesi tek bir *XbaI* kesim bölgesi içermektedir. Buna karşılık Trakya'dan alınan örneklerin aynı gen bölgesinde ikinci bir *XbaI* kesim bölgesi taşıdıkları görülmüştür (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000). Daha önce yapılan araştırmalarda ikinci bir *XbaI* kesim bölgesine Avusturya ve Balkanlar'da *A. m. carnica* alt türünü temsil eden örneklerde rastlanmıştır (Smith ve Brown 1990, Meixner ve ark. 1993). İkinci *XbaI* kesim bölgesi taşıyan ve taşımayan işçi arı örneklerinin ileri derece de analizi için bu gen bölgesinin nükleotit dizilimi incelenmiştir. *COI/XbaI* bakımından farklılık gösteren bu iki grup arasında yalnızca tek bir nokta mutasyon farklılığı bulunmuştur İkinci *XbaI* kesim bölgesini taşıyan arılarda TCTAGA şeklinde olan nükleotit diziliminin, taşımayanlarda TTTAGA şeklinde olduğu görülmüştür. Hatay'dan alınan örneklerde *COI/XbaI* kesim bölgesine rastlanmamıştır. Aynı

zamanda bu kesim bölgesinin Afrika arılarında da bulunmadığı bilinmektedir (Smith ve ark. 1997).

1rRNA/*EcoRI* kesimi bölgesinin tüm Dünyada yapılan çalışmalar sonucu yalnız Doğu Avrupa arılarında (*A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica* ve *A. m. carnica*) bulunduğu, COI/*HincII* kesim bölgesinin de yalnızca Batı Avrupa arılarında olduğu bildirilmiştir. Türkiye'yi temsil eden *Apis mellifera* örneklerinde 1rRNA/*EcoRI* kesimi görülürken COI/*HincII* kesim bölgesine rastlanmamıştır. (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Özdil ve ark. 2006).

Türkiye'den alınan örneklerinin tüm mtDNA genomunun *EcoRI* restriksiyon enzimi ile kesiminde 3 farklı kesim örüntüsü oluşmuştur. Hatay'dan alınan örneklerde Afrika mtDNA haplotipi görülürken Türkiye'nin genelinde *A. m. ligustica/carnica* haplotipi görülmüştür. Balıkesir'den alınan örnekler ise çok farklı bir kesim örüntüsü oluşturmuştur (Kandemir ve ark. 2006a).

Türkiye'yi temsil eden örneklerin COI gen bölgesinin *HinfI* kesimi sonucu Hatay örneklerinin tümü Afrika mtDNA haplotipi sergilemiştir. COI gen bölgesinin *TagI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda ise *A.m.ligustica/carnica* ve Afrika gruplarını temsil eden iki farklı kesim örüntüsü oluşmuştur. Hatay örneklerinin Afrika mtDNA haplotipiyle uyumlu olduğu geri kalan tüm örneklerin ise *A.m.ligustica/carnica* haplotipi ile uyumlu olduğu ortaya çıkmıştır (Kandemir ve ark. 2006a).

COI-COII/*DraI* kesimi, tüm Doğu Avrupa bal arılarında dolayısıyla Türk bal arılarında farklı sayıda kesim örüntüsü oluşturmuştur (Frank ve ark. 1998, Pinto ve ark. 2003, Kandemir ve ark. 2006a, Özdil ve ark. 2006). Kandemir ve ark. (2006a)'nın araştırmaları sonucunda bu bölgenin *DraI* ile kesiminde Türk bal arılarının 7 farklı kesim örüntüsü oluşturduğu görülmüştür. Bunlardan 4'ü C (Doğu) grubu *Apis mellifera* alt türlerinde görülen ve Türkiye'de yaygın olan mtDNA haplotipi iken diğer 3'ü yalnızca Hatay'dan alınan örneklerde görülmüştür.

Apis mellifera ırklarını mtDNA varyasyonu bakımından araştırmak için sıklıkla tercih edilen protein kodlamayan gen bölgesi (COI-COII) nin dizi analizi Türkiye'nin *Apis mellifera* populasyonu içinde yapılmıştır. Batı Avrupa arılarında (*A. m. mellifera*, *A. m. iberica*) ve Afrika arılarında (Afrika arılarında P bölgesi P₀ olarak ifade edilmektedir ve diğer ırkların aynı gen bölgesine göre daha uzundur) P bölgesi ve bunu takip eden Q üniteleri bulunurken, Anadolu arılarının yer aldığı Doğu Avrupa (*A. m. ligustica*, *A. m. caucasica*, *A. m. carnica*, *A. m. anatoliaca*) grubunda yalnızca Q ünitelerinin bulunduğu ve P ünitesinin olmadığı tespit edilmiştir (Palmer ve ark. 2000).

COI-COII gen bölgesi *A. m. ligustica*'da ATTTCCCC baz dizisi ile başlamaktadır. *A. m. caucasica*'da ise ATTTCCC ile başlamaktadır. Türkiye'den alınan örnekler bu gen bölgesinin nükleotit dizilimi bakımından *A. m. caucasica*'nın nükleotit dizilimi ile uyumlu bulunmuştur (Palmer ve ark. 2000). Kandemir ve ark. (2006a) ise Hatay hariç Anadolu'nun geri kalan tüm kesimlerinin *A. m. ligustica/carnica* kesim örüntüsü oluşturduğunu ifade etmiştir. Kandemir ve ark. (2006a), Hatay'dan aldıkları örneklerin mtDNA genomunun COI-COII gen bölgesinden 639-641 bp uzunluğunda ve Türkiye'nin geri kalan tüm bölgelerinden alınan örneklerin COI-COII gen bölgesinden ise 570-572 bp uzunluğunda PZR ürünü elde etmişlerdir. Daha önce belirtildiği gibi Türk bal arılarının yer aldığı Doğu Avrupa grubu *Apis mellifera* ırklarının COI-COII gen bölgesinde yalnızca Q bölgesi görülmektedir. Bu nedenle daha kısa bir PZR ürün meydana gelmektedir.

Yukarıdaki araştırma sonuçları dikkatli olarak incelendiğinde moleküler tekniklere dayanılarak belirlenen genetik varyasyonun morfometrik analiz sonuçlarına göre belirlenen varyasyondan bazı farklılıklar gösterdiği göze çarpar. Ruttner'ın morfometrik özelliklere dayanarak yaptığı sınıflamada Anadolu arısı *A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. armeniaca* ve *A. m. adami* ile birlikte Orta Doğu (O) grubunda yer almıştı (Ruttner 1992). Oysa mtDNA varyasyonuna ilişkin araştırma sonuçlarına göre *A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. carnica* ve *A. m. ligustica* ile birlikte Doğu Avrupa (C) grubunda yer almaktadır (Garnery ve ark. 1993, Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a).

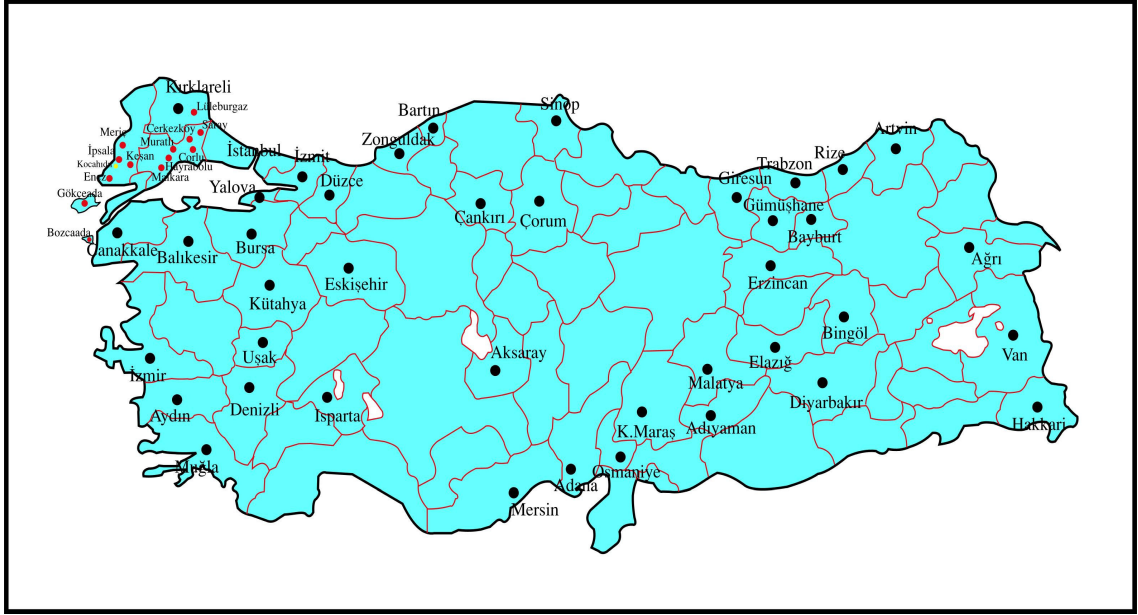
Diğer bir farklılık da morfometrik verilere dayanılarak Anadolu arısından farksız olduğu belirtilen Trakya arılarının, Anadolu arısı (*A. m. anatoliaca*)'dan farklı bir mtDNA haplotipi sergilemesidir. Trakya arıları Avusturya ve Slovenya *A. m. carnica* örneklerinde olduğu gibi (Smith ve Brown 1990, Meixner ve ark. 1993) mtDNA'nın COI-COII gen bölgesinde iki *XbaI* kesim sitesi içermesi nedeniyle Türkiye'nin diğer bölgelerindeki arılardan ayrı bir grup oluşturmuştur (Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a). Ayrıca Trakya arıları morfometrik ve alloenzim karakterleri bakımından da Avusturya'dan alınan örnekler ile birlikte aynı grupta yer almıştır (Kandemir ve ark. 2005).

Morfometrik verilere göre *A. m. syriaca* Türkiye'de bulunan diğer ırklardan *A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica* ve *A. m. meda* ile birlikte Orta Doğu grubunda yer almaktadır. Ancak moleküler tekniklere dayanılarak yapılan araştırmalar sonucu *A. m. syriaca* ırkının farklı bir mtDNA haplotipi sergilediği görülmüştür (Franck ve ark. 2000).

2. MATERYAL METOD

2.1. Materyal

Temel çalışma materyalimiz olan bal arısı Türkiye'nin 7 bölgesini temsil eden 55 farklı yerleşimden temin edilmiştir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Örnekleme yapılan yerleşimlerin harita üzerinde gösterilmesi

Çalışmanın ERASMUS programı çerçevesinde Atina Ziraat Üniversitesi Arıcılık ve İpekböcekçiliği laboratuvarında yürütülmüştür. Başlangıçta araştırmaya ilişkin yapılan planlamada Türkiye'nin tüm illerinden örnekleme yapılması kararlaştırılmıştır. Ancak ERASMUS programı çerçevesinde Atina Ziraat Üniversitesine gidilmesi zorunlu olan tarihe kadar yalnızca Şekil 2.1.'de gösterilen yerleşimlerden örnekleme yapılabilmektedir.

Trakya bölgesinde Edirne'ye bağlı Keşan ilçesinden 3 arılıktan, Tekirdağ'a bağlı Saray ilçesinden 2 arılıktan, Kırklareli merkezden 2 arılıktan; Kocahıdır, İpsala, Enez ve Meriç ilçelerinden 1'er arılıktan; Çerkezköy, Muratlı, Çorlu, Malkara Hayrabolu ilçelerinden 1'er arılıktan; Kırklareli'nin Lüleburgaz ilçesinden bir arılıktan, İstanbul'un Avrupa yakasındaki Çatalca ilçesinden bir arılıktan örnek alınmıştır.

Marmara Bölgesi'nden İzmit, Düzce, Yalova, Bursa, Balıkesir, Çanakkale illerinden 1'er aralıktan ve Çanakkale'ye bağlı Gökçeada ve Bozcaada'dan 2'şer aralıktan örnek alınmıştır.

Karadeniz bölgesinden Rize, Bayburt, Trabzon, Gümüşhane, Giresun, Çorum, Sinop, Çankırı, Bartın, Zonguldak illerinden 1'er aralıktan; Doğu Anadolu bölgesinden Artvin, Ağrı, Erzincan, Bingöl, Van, Hakkari, Elazığ, Malatya illerinden 1'er aralıktan; Güneydoğu Anadolu bölgesinden Adıyaman, Diyarbakır illerinden; Akdeniz bölgesinden Kahramanmaraş, İçel, Adana, Osmaniye; Isparta illerinden; Orta Anadolu Bölgesinden Eskişehir ve Aksaray illerinden; Ege bölgesinde Kütahya, Uşak, Denizli, Aydın, Muğla, İzmir illerinin tümünden Muğla hariç birer aralıktan, Muğla'da 2 aralıktan örnek alınmıştır.

Toplam 62 aralık, her aralıktan 5'er koloni ($62 \times 5 = 310$) olmak üzere toplam 310 koloni ve her koloniden 10'ar adet işçi arı olmak üzere ($310 \times 10 = 3100$ adet işçi arı) toplam 3100 adet işçi arı örneği alınmıştır. Fakat çalışma kapsamında her aralıktan yalnızca 3'er koloni araştırma materyali olarak kullanılmıştır. mtDNA varyasyonunun araştırılmasına yönelik bölümde ise morfolojik olarak tanımlanmış olan her üç koloniden ikisinin mtDNA analizi yapılmıştır.

Bu çalışmada örnekleme yapılan yerleşimler literatürler ışığında Türkiye'de yaşadığı bildirilen bal arısı ırklarını temsil edecek şekilde belirlenmiştir. Anadolu ve Avrupa arasında geçit bölgesi olan Trakya kesiminden çok sayıda örnek alınmıştır. Trakya bölgesinde *A. m. carnica* grubundan arı ırklarının bulunduğu bildirilmektedir (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2005). Literatürlere göre buradan daha fazla örnek alınarak farklı genetik işaretleyicilerle çalışılması ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda yapılan tüm araştırmaların aynı görüşü destekleyip desteklemediğinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu nedenle özellikle de Meriç sınırından çok sayıda örnekleme yapılarak komşu ülke bal arılarıyla da karşılaştırılmıştır.

Adalar genel olarak izole bölgeler olduğu için arı populasyonlarının kara populasyonlarından farklı olabileceği ve bir örnek olduğu düşünülür. Bunun için Gökçeada ve Bozcaada'dan da (2'şer aralıktan) daha fazla örnek alınarak çalışılmıştır.

Karadeniz ve Doğu Anadolu'dan daha fazla örnekle çalışılmasının nedeni ise araştırmacıların Doğu Anadolu'da Artvin'den Van gölüne kadar olan kesimde ve Karadeniz'in de kuzeydoğusundan Samsun'a kadar olan kesimde *A. m. caucasica* bulunduğunun bildirmesinden (Ruttner 1988a, Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000) kaynaklanmıştır.

Muğla arısının ise farklı bir ekotip olduğunun belirtilmesi nedeniyle buradan da iki aralıktan örnek alınarak incelenmiştir.

2.2. Metod

2.2.1. Örneklerin alınması, laboratuvara taşınması ve muhafazası:

Örnek almaya gitmeden önce arıların konulacağı sintilasyon şişeleri hazırlanmıştır. Şişeler yarısına kadar %96'lık alkolle doldurularak alınacak örnek hakkındaki bilgileri yazmak için üzerlerine etiket yapıştırılmıştır.

Morfometri ve mtDNA analizinde kullanılacak işçi arı örneklerini temin etmek için 41 ayrı il (Çanakkale, Balıkesir, Bursa, Kocaeli, Kırklareli, İstanbul, Yalova, Düzce, Zonguldak, Bartın, Çankırı, Sinop, Çorum, Trabzon, Gümüşhane, Rize, Bayburt, Giresun, Kütahya, İzmir, Aydın, Muğla, Uşak, Denizli, Eskişehir, Aksaray, Adıyaman, Diyarbakır, Isparta, Mersin, Adana, Osmaniye, Kahramanmaraş, Erzincan, Elazığ, Malatya, Bingöl, Ağrı, Van, Hakkari, Artvin), iki ada (Bozcaada ve Gökçeada); Tekirdağ'a bağlı 6 ilçe (Çerkezköy, Malkara, Çorlu, Hayrabolu, Muratlı, Saray) ve Edirneye bağlı 5 ilçe (Enez, İpsala, Keşan, Meriç, Kocahıdır) ve Kırklareli'ne bağlı bir ilçe (Lüleburgaz) 'ye gidilerek sabit arıcılık yapılan arılıklar ziyaret edilmiştir.

Örnek almak için ziyaret edilen her arılıkta birbirine çok yakın olmayan 5 ayrı kovan belirlenmiştir. Şişe üzerindeki etikete kovan numaraları örneğin alındığı il, ilçe ve arıcının adı yazılmıştır. Gidilen her arılıkta 5 ayrı kovandan 10'ar adet olmak üzere bir arılığı temsilen toplam 50 adet (5x10=50) işçi arı örneği alınmıştır. Arılar bir pens aracılığıyla tek tek alınarak içerisinde %96'lık alkol bulunan sintilasyon şişelerine konulmuş ve şişelerin ağzı sıkıca kapatılmıştır. Örnekler bu şekilde kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Resim 2.1.).



Resim 2.1. Sintilasyon şişelerinde örneklerin muhafazası

Aynı zamanda çalışma sonunda elde edilecek sonuçları arıcıların bildirişleriyle karşılaştırmak amacıyla her arıcıya yetiştiriciliğini yaptığı arısı hakkında tanımlayıcı bilgiler verebileceği bir form doldurtulmuştur. Düzenlenen bu formlardaki sorulardan arı ırkı ve ana arının nereden sağlandığına ilişkin cevaplardan çalışmanın yürütülmesi ve araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde yararlanılmıştır. Araştırmada örnekleme yapılan birimlere ilişkin tanıtıcı bilgi formu aşağıda verilmiştir.

Bilgi formu:

Örneğin Alındığı Kurum veya Kişi Adı					
Eğitim Durumu		İlkokul	Lise	Üniversite	Diğer
Kaç Yıldır Arıcılık Yapılıyor					
İş Tlf:		GSM:		Ev Tlf:	
Örneğin Alındığı	İl:	İlçe:		Köy/Belde:	
Örneğin ırkı	Kafkas Arısı	Anadolu Arısı	Karniyol Arısı	İtalyan Arısı	Bilinmiyor
Ana Arının Sağlandığı Yer					
Kurum Adı:		Kişi Adı:		Kendiniz	
Örneğin Alındığı Koloniden 1 Yılda Alınan Ortalama Ürün Miktarı					
Bal:	Bal mumu:	Propolis:	Polen:	Arı zehiri:	
Göçer arıcılık			Sabit arıcılık		
Eğer arı türünüz yukarıda ki türlerden farklı ise bunu belirtiniz. Ayrıca arıcılık konusunda ki kendi düşüncelerinizi kısaca yazınız.					

Araştırmanın tamamı Atina Ziraat Üniversitesi, Arıcılık ve İpekböcekçiliği laboratuvarında yürütülmüştür. Dolayısı ile 310 adet koloniden ibaret alkol içerisindeki arıları Türkiye’den Atina’ya sağlıklı bir şekilde taşıyabilmek için sintilasyon şişelerine uygun bölmeler içeren kutular hazırlanmıştır (Resim 2.2.).



Resim 2.2. Örneklerin laboratuvara Taşınması

2.2.2. Örneklerin kodlanması:

Örnekler laboratuvara taşındıktan sonra karışıklığı önlemek için örneklere kodlama yapılmıştır. Örnek alınan her yerleşimdeki farklı aralıklar a, b, c, d, e olarak, farklı koloniler de 1, 2, 3, 4, 5 şeklinde kodlanmıştır. Örneklere ilişkin tüm bilgiler zaten örnek alma işlemi sırasında sintilasyon şişelerinin üzerine yazılmıştır. Sintilasyon şişeleri üzerine yazılmış olan bu bilgiler 310 koloni için hazırlanmış olunan kodlama çizelgesine tek tek işlenmiştir. Aşağıda örnek olarak bu çizelgenin yalnızca küçük bir bölümü verilmiştir (Çizelge 2.1.)

Çizelge 2.1. Örnek kodlama çizelgesi

Sıra No	koloni	Yer	COI	Is rDNA	Morfometri
1	1a	Gökçeada	X	X	X
2	2a	“	X	X	X
3	3a	“	X	X	X
4	4a	“	X	X	X
5	5a	“	X	X	X
6	1b	“			
7	2b	“			
8	3b	“			
9	4b	“			
10	5b	“			

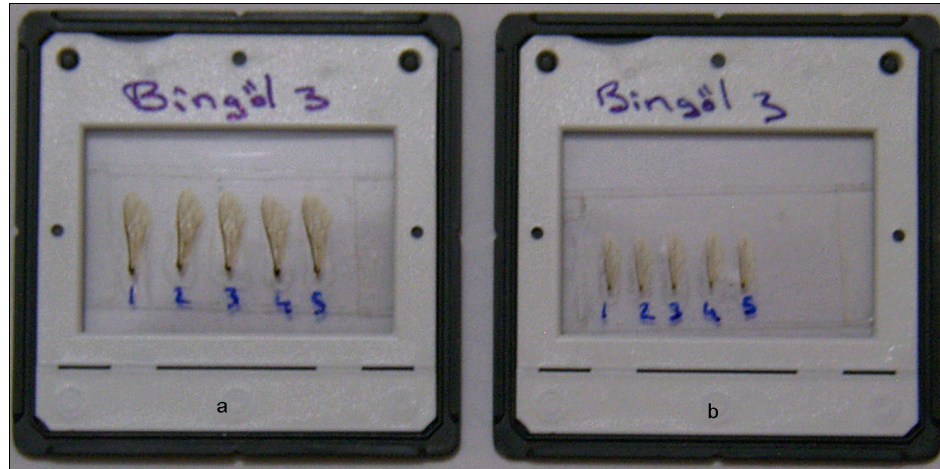
Örnek kodunun hemen yanındaki sütunda örneğin alındığı il ya da ilçe adı, diğer sütunlarda çalışılan gen bölgeleri ve morfometri kısmı yer almaktadır. Böylece analizi yapılan her örnek ve örneğe ilişkin hangi analizlerin yapıldığı çizelgeden işaretlenerek çalışmanın sağlıklı bir şekilde ilerlemesi sağlanmıştır.

2.2.3. Ölçüm için preparatların hazırlanması (Kanatlar, Bacaklar, Dil)

İşçi arılar 96%'lık alkolden alınarak baş ve vücut kısımları bir makas yardımıyla ayrılmıştır. Dillerin (Proboscis) ölçümü için baş kısmı 30%'lik alkol içerisinde, kanat ve bacakların ölçümü için de vücut kısmı 70%'lik laktik asit içerisinde 24 saat dinlenmeye bırakılmıştır. Bu işlemin yapılması dokuların yumuşatılması içindir. Böylece dil, kanat ve bacak gibi ölçümü yapılacak organlar zarar görmeden kolayca koparılabilmştir.

Kanatlar:

% 70'lik laktik asit içerisinde dinlendirilen vücut kısmından ön ve arka kanatlar bir pens yardımıyla koparılarak içerisinde su bulunan petri kabına bırakılmıştır. Kanatlar petri kabından yine bir pens aracılığıyla tek tek alınarak 5x5 cm'lik slayt çerçevesi üzerine düzgün bir şekilde konulmuş ve saydam bir bant aracılığı ile sabitlenmiştir (Resim 2.3.). Sabitleme işleminden önce kanatlar ile birlikte slayt çerçevesi üzerine taşınan fazla su hassas bir peçeteye dikkatlice kenarlardan emdirilerek uzaklaştırılmıştır. Aksi takdirde fazla su ve hava kabarcıkları yanlış ölçümlere neden olacaktır.



Resim 2.3. Ölçüm için hazırlanmış kanatlar

(a:ön kanat, b:arka kanat)

Bacaklar:

Bacaklar yine ince uçlu bir pens aracılığıyla vücuttan ayrılarak su bulunan petri kabına bırakılmıştır. Daha sonra petri kabından tek tek alınarak düz mikroskop lamı üzerine düzgün bir şekilde yerleştirilmiştir. Bacakların lam üzerine sabitlenmesi için entellan kullanılmıştır. Cam bir çubukla alınan entellan lam üzerindeki bacakların yüzeyini tamamiyle kaplayacak şekilde konularak kurumaya bırakılmıştır (Resim 2.4)



Resim 2.4. Ölçüm için hazırlanmış bacaklar

Diller (Propocis):

Dil ince uçlu bir pens aracılığı ile alt çeneye bağlantılı kök kısmı ile birlikte çıkarılarak içerisinde 96%'lık alkol bulunan petri kabına bırakılmıştır. Diller lam üzerine sabitlenmeden önce kanat ve bacaklardan farklı olarak alkol içerisinde kısa bir süre bekletilerek alkolün etkisiyle mümkün olduğunca uzamasını sağlanmıştır. Petri kabından mikroskop lamı üzerine çıkarılan diller entellan ile mikroskop lamı üzerine sabitlenerek ölçüme hazır hale getirilmiştir (Resim 2.5.).



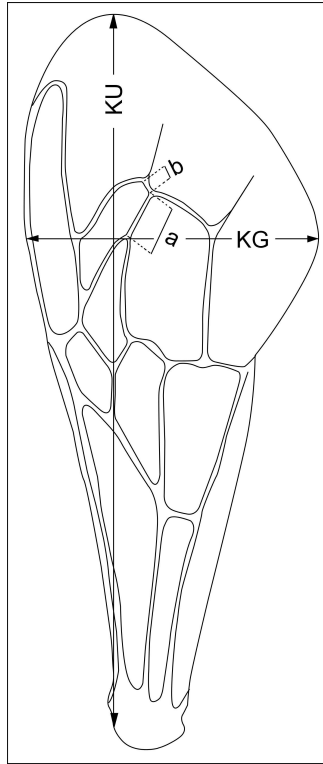
Resim 2.5. Ölçüm için hazırlanmış olan diller

2.2.4. Morfometrik ölçümlerin alınması

2.2.4.1. Kanatlara ilişkin karakterlerin ölçülmesi

Kanatlara ilişkin karakterlerin ölçümü 32 kat büyütülerek yapılmıştır. Büyütme işleminde referans olarak 1 cm'lik düzgün karelere bölünmüş slayt çerçevesi kullanılmıştır. Her ölçüm öncesi projektör bu referans slayt ile 32 kat büyütme yapabilecek şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca her şeye rağmen olası bir hatayı önlemek için tüm ölçümler bitinceye kadar projektörün yeri değiştirilmemiştir.

Slayt projektör ile 32 kat büyütülerek ekrana yansıtılan kanatlarda, ön kanat uzunluk ve genişliği, arka kanat uzunluk ve genişliği ve a, b damar uzunlukları olmak üzere toplam 6 karakter bir cetvel aracılığıyla ölçülmüştür. Şekil 2.2.'de Rutner, (1988a)'ın belirlemiş olduğu sınırlara göre ön kanatta ölçülen karakterler gösterilmektedir. Arka kanat uzunluk ve genişliğine ilişkin ölçümlerde ön kanatta olduğu gibi yapılmıştır.



(Ruttner, 1988a)

Şekil 2.2. Ön kanat karakterleri için ölçme sınırları
(KU: kanat uzunluğu, KG: kanat genişliği, a,b: damar uzunlukları)

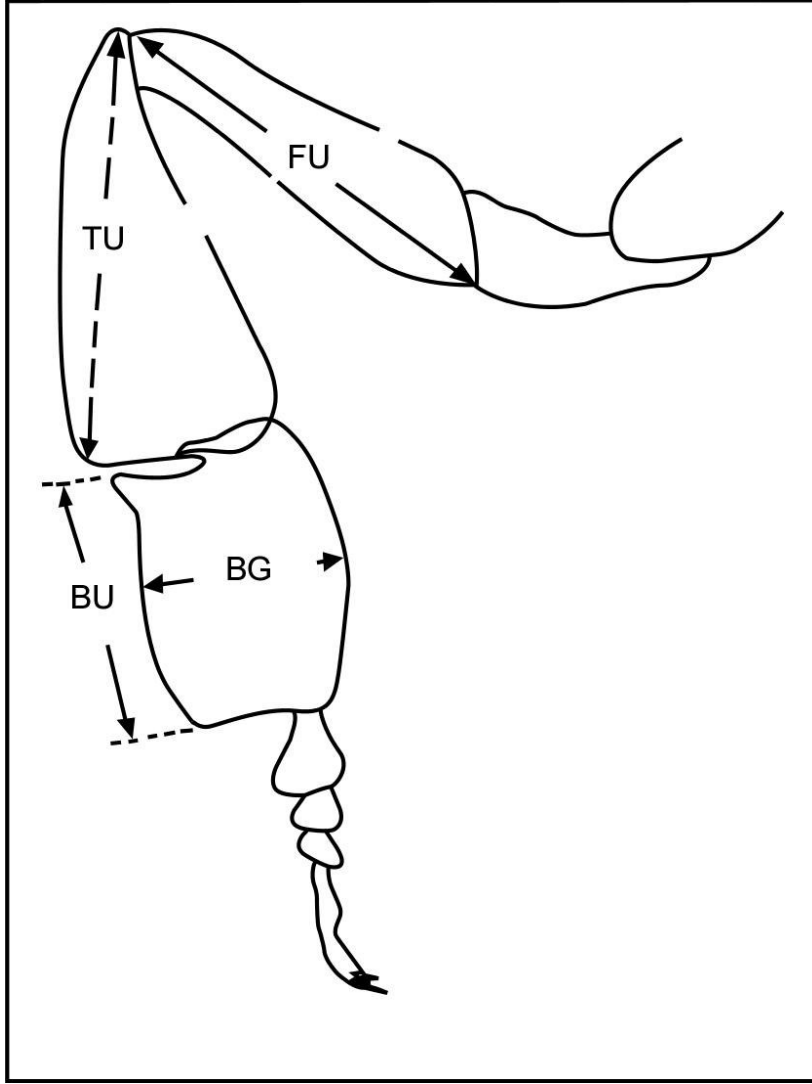
Ölçüm sonucu belirlenen uzunluk değerleri her koloni için ayrı ayrı düzenlenen kayıt cetveline yazılmıştır (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Morfometrik ölçümler için tutulan örnek kayıt cetveli

enez													
	ön kanat (cm)					arka kanat (cm)		bacak (cm)				dil (cm)	
	uzunluk	genişlik	a	b	a/b	uzunluk	genişlik	femur u.	tibia u.	basit u.	basit g	dil uzunluğu	
1	28,0	10,0	1,9	0,7	2,7	20,3	5,7	52,0	61,0	41,0	25,0	55,0	
2	28,6	10,5	2,0	0,9	2,2	21,5	5,9	52,0	65,0	45,0	24,0	55,0	
3	28,0	9,5	1,5	0,7	2,1	20,2	6,2	54,0	64,0	40,0	24,0	55,0	
4	29,3	10,0	2,0	0,7	2,9	20,1	5,8	52,0	60,0	40,0	20,0	65,0	
5	28,3	9,5	1,8	0,8	2,3	20,5	6,0	44,0	61,0	41,0	25,0	65,0	
6	28,7	10,3	2,0	0,7	2,9	20,5	6,0	55,0	65,0	40,0	23,0	65,0	
7	28,7	10,3	1,6	0,7	2,3	20,9	6,0	54,0	64,0	40,0	22,0	66,0	
8	28,7	10,0	1,9	0,7	2,7	19,9	6,0	50,0	60,0	40,0	21,0	55,0	
9	28,2	10,0	1,7	0,8	2,1	19,5	6,0	50,0	59,0	40,0	21,0	55,0	
10	29,0	10,4	1,9	0,8	2,4	20,5	6,1	50,0	60,0	41,0	22,0	65,0	
11	28,2	10,0	1,8	0,9	2,0	20,4	6,2	50,0	61,0	40,0	22,0	65,0	
12	28,6	10,0	1,9	0,9	2,1	20,0	6,3	51,0	61,0	42,0	22,0	65,0	
13	28,5	9,9	1,9	0,9	2,1	20,5	6,2	50,0	63,0	41,0	23,0	63,0	
14	28,4	9,9	1,8	0,8	2,3	20,5	6,0	54,0	65,0	42,0	22,0	63,0	

2.2.4.2. Bacaklara ilişkin ölçümlerin alınması

Bacaklara ilişkin karakterleri ölçme işlemi yine Ruttner (1988a)'ın belirlemiş olduğu sınırlar esas alınarak yapılmıştır (Şekil 2.3.). Ölçüm için hazırlanan preparatlar ölçekli stereomikroskop altında 20 kat (20x) büyütülerek femur, tibia, basitarsus uzunluğu ve basitarsus genişliği olmak üzere toplam 4 bacak karakterinin ölçümü yapılarak kayıt cetveline işlenmiştir.



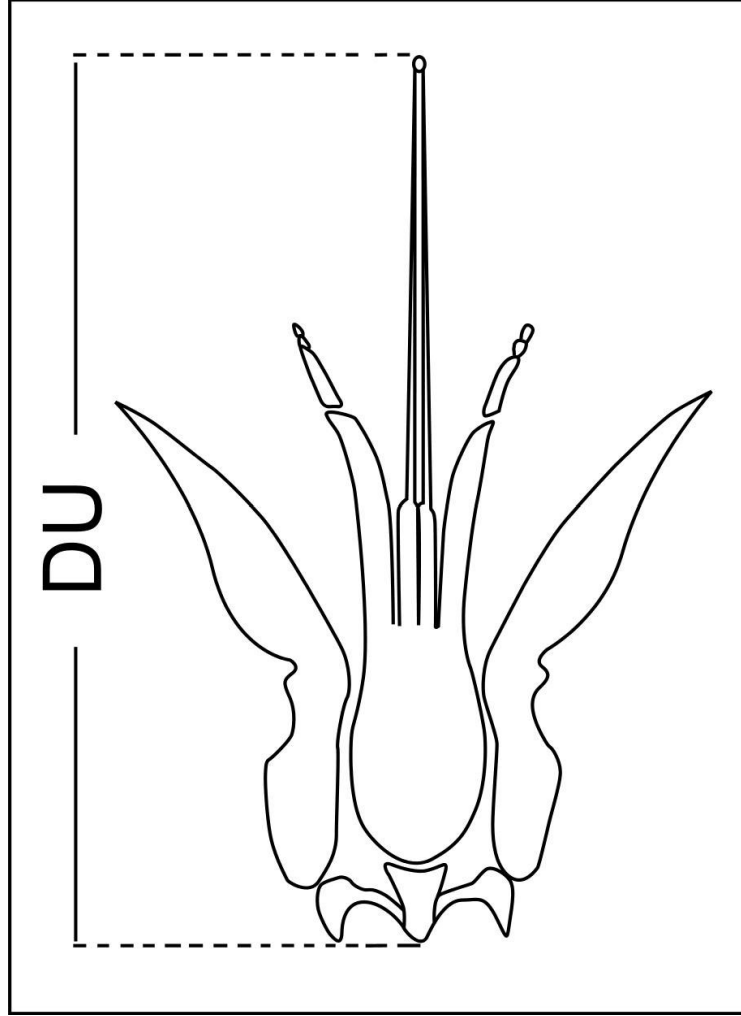
(Ruttner, 1988a)

Şekil 2.3. Bacak karakterleri için belirlenen ölçme sınırları

(FU: femur uzunluğu, TU: tibia uzunluğu, BU: basitarsus uzunluğu, BG: basitarsus genişliği)

2.2.4.3. Dil Uzunluğunun Ölçülmesi

Dillerin ölçümü de ölçekli stereomikroskop altında 10 kat (10x) büyütülerek Şekil 2.4.'de gösterilen sınırlara göre yapılmıştır.



(Ruttner, 1988a)

Şekil 2.4. Dil uzunluğu (DU)'nu ölçme sınırları (Ruttner, 1988a)

2.2.5. Morfometrik verilerin istatistiki analizi

Arıların kanat, bacak, dil organlarına ilişkin morfometrik karakterlerin ölçümleri “cm” cinsinden yapılmıştır. Ancak şimdiye kadar yapılan araştırma sonuçlarının birimleri “mm” olarak bildirilmiştir. Bu nedenle öncelikle tüm verilerin EXCEL’de “mm”ye standardizasyonu yapılmıştır. Daha sonra koloni ortalamaları ve bireysel verilere göre veri dosyaları hazırlanarak SPSS.15 paket programında ve S-PLUS.2000 (Venables ve Ripley 1999) paket programında diskriminant analizi (DA) yapılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca diskriminant analizi ile elde edilen sonuçlar SPSS paket programında tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ve coğrafik yapı ile değişkenler arasındaki ilişkinin derecesini belirlemek

için regrasyon analizi yapılarak desteklenmiştir. Diskriminant analiz tekniği yardımıyla, sınıflama modeline bağlı olarak diskriminant fonksiyonu sayısı ve bunların toplam varyansı izah yönünden göreceli önemleri, genotipler arasında varsa morfolojik varyasyon düzeyi ve kanonik diskriminant fonksiyonları yardımıyla iki boyutlu bir düzlem içerisinde grup ortalamalarının yerinin saptanması ve gerçek grup üyeliği ile tahmin edilen grup üyeliği belirlenmiştir (www.SPSS.com.tr).

Ayrıca S-PLUS.2000’de yapılan Ayırma (diskriminant) analizinde grup ortalama vektörleri arasındaki Mahalanobis uzaklığı (D^2) hesaplanarak UPGMA (Sneath ve Sokal 1973) metodu ile grupların birbirine yakınlığını gösteren dendogram çizilmiştir. UPGMA (Unweighted Pairs Group Method with Arithmetic Mean) ile Türkiye’deki örneklenen bal arısı populasyonları ölçülen morfometrik karakterler bakımından fenotipik benzerliklerine göre gruplandırılmıştır.

Değerlendirme, 182 kolonin ortalamaları ve 12 morfolojik karakter üzerinden, yapılmıştır. Daha sonra ayrıca 55 lokal bölge için bireysel verilere diskriminant analizi uygulanarak lokal bölge populasyonlarının iki boyutlu ortamda dağılımı ve grup üyelikleri belirlenmiştir.

2.2.6. mtDNA analizi

mtDNA analizi için uygulanan moleküler tekniklerin hepsi (DNA ekstraksiyonu, PZR, KPUP ve elektroforez) her defasında 12 örnek çalışılacak şekilde uyarlanmıştır. Böyle bir uyarılmanın yapılması iki nedene dayanılarak yapılmıştır. Bunlardan biri populasyon düzeyinde yapılan araştırmalarda çok fazla örnekle çalışıldığından zamanı en verimli şekilde kullanmak ve mümkün olduğunca çok sayıda örneğin analizini en kısa zamanda tamamlamak temel prensiplerden biridir. Bu çalışmada da bu temel prensip ilke edinilerek toplam 110 adet işçi arı örneğine ilişkin mtDNA analizleri kısa sürede tamamlanmıştır. Diğer faktör ise çalışmada kullanılan bazı laboratuvar malzemelerinin (birleştirilmiş PZR tüpleri ve kesim reaksiyonunda kullanılan 96-kuyucuk plakası) böyle bir uygulama yapılmasına olanak sağlaması olmuştur (Resim 2.7 ve Resim 2.8).

2.2.6.1. DNA izolasyonu

Çalışma kapsamında 55 lokal bölgeyi temsilen 1’er aralıktan 2’şer koloni ve her koloniden de 1’er adet işçi arı örneğinin mtDNA analizi yapılmıştır. Ayrıca zaman zaman

olumsuz sonuçlanan bazı örneklerden yeniden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu yapılacak 110 koloni 12'şerli gruplara ayrılarak her defasında 12 adet işçi arı örneğinden DNA izolasyonu yapılacak şekilde bir planlama yapılmıştır.

Örnekler alkol içerisinde muhafaza edildiğinden dolayı izolasyon öncesi alkolün örnek üzerinden uzaklaştırılması sağlanmıştır. Bu işlem için örnekler, önceden bölmelere ayrılarak numaralandırılmış olan jelatin üzerinde evaporasyon fırınına konulmuş ve yaklaşık 30 dak. kadar evaporasyon fırınında bekletilerek alkolün uçması sağlanmıştır (Resim 2.6.).



Resim 2.6. DNA izolasyonundan önce alkolün uzaklaştırılması

İlk 24 örneğin toplam DNA izolasyonu kit (DNAeasy doku kiti: cat no G9 504) ile, geri kalan tüm örneklerin DNA izolasyonu ise klasik DNA ekstraksiyon protokolü (Phenol-Kloroform-izoamil alkol) ile yapılmıştır.

a) Kit ile DNA izolasyon protokolü (DNAeasy doku kiti, Cat No G9 504):

Evaporasyon fırınından çıkarılan örnekler ependorf tüplerinin içerisine konularak üzerlerine hangi örneğe ait olduğunu belirten bir numara verilmiş ve hangi örneğin hangi numara ile ifade edildiği laboratuvar defterine kaydedilmiştir.

1. Örneklerin her biri baş ve toraks kısmından kesilerek 25 mg gelecek şekilde hassas terazide tartılmıştır.

Protokol 25 mg'a göre uygulanacağı için yaklaşık 25 mg olmasına dikkat edilmiştir.

2. Ependorf içerisindeki her bir örneğin üzerine 180 µl PBS solusyonu konulmuş ve plastik spatula (ezici) aracılığı ile parçalanarak homojenize edilmiştir.
3. Homojenize edilmiş örneklerin üzerlerine 20 µl proteinaz-K ve 200 µl buffer-AL eklenerek elle karıştırılmıştır.
4. Daha sonra 70 °C 'lık inkübatöre konularak 10 dak bekletilmiştir.
5. İnkübatörden alınan örneklerin üzerine 200 µl ethanol eklenerek vortexle karıştırılmıştır.
6. Elde edilen homojen karışım DNAeasy kolonlara alındı ve 8000 rpm'de 1 dak santrifüj edilmiştir.
7. Altaki tüpler atılarak Spin DNAeasy kolonlar (üstteki kısım) yeni tüplere alındı. Üzerlerine 500 µl AW1 buffer eklenerek. 8000 rpm'de 1 dak santrifüj edilmiştir.
8. Yine alttaki tüpler atılarak üstteki spin DNAeasy kolonlar yeni tüplere alınmış ve üzerlerine 500 µl AW2 buffer eklenerek 13000 rpm'de 3 dak santrifüj edilmiştir.
9. Spin DNAeasy kolonlar yeni tüplere alınarak üzerlerine 100 µl Buffer AE eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dak bekletildikten sonra 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra kolon içerisindeki pelet üzerine 50 µl buffer-AE eklenerek tekrar 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu aşamaya kadar DNA üst tüp içerisinde kaldığından üstteki tüp alınmıştır. Fakat son aşamada DNA altta toplandığından üstteki tüpler atılarak alttaki tüpler alınmıştır.

İçerisinde DNA bulunan tüplerin üzerine hangi örneğe ait olduğu ve o günün tarihi yazılarak -20 °C 'de muhafaza edilmiştir.

Bu protokolda sözü geçen spin kolonlar tüm buffer ve solusyonlar DNAeasy doku kitinin içerisinde ticari olarak bulunmaktadır.

b) Klasik DNA İzolasyon Protokolü

Protokol Hunt ve Page (1992)'e göre uygulanmıştır.

1. Örneklerin baş ve toraks kısımları kesilerek önceden hazırlanan 1.5 ml 'lik ependorf tüplerine yerleştirilmiştir.
2. Tüplere 200 µl lysis solusyonu I eklenmiştir.
3. 1 µl proteinaz K eklendi ve sterilize edilmiş plastik bir eziciyle iyice homejenize edilmiştir. Plastik ezici her bir işlem sonrası diğer örnekte kullanılmadan önce iki ayrı kapta distile suyla yıkanmış ve laboratuvarında kullanılmak üzere hazırlanmış özel bir kağıt mendil ile silinmiştir. Kontaminasyonla ilgili bir şüphe duyulduğunda plastik spatula mutlaka değiştirilmiştir.

4. Homojenizasyon işlemine viskos bir yapı oluşuncaya kadar devam edilmiş, viskos yapı alan örnekler önceden 55-60 °C'ye ayarlanmış inkübatöre konularak 1-4 saat inkübe edilmiştir.
5. Daha sonra 50 µl lysis solusyonu II eklenerek 55 °C 'de 10 dak. daha inkübe edilmiş, inkübasyon sonunda hızlı bir şekilde buz üzerine alınmıştır.
(*Bundan sonraki basamaklardaki tüm işlemler buz üzerinde yürütülmüştür.*)
6. Önce 250 µl Kloroform:İzoamil alkol (24:1); ardından süratle 250 µl Fenol eklenmiş ve her bir tüp elle çevrilerek iyice karışması sağlanmıştır.
7. Örnekler 13000 rpm'de 10 dak. santrifüj edilmiştir.
8. Üstteki faz (yaklaşık 150 µl) pipetle dikkatlice alınarak yeni ependorf tüplerine aktarılmıştır.
9. 150 µl kloroform izoamil alkol eklenmiştir.
10. 13000 rpm'de 2 dak. santrifüj edilmiştir.
11. Üstteki faz (yaklaşık 130 µl) pipet aracılığıyla yeni tüplere alınmıştır.
12. Her bir tüpe 1/10 hacim (13µl) NaAc (PH:5.2) ve iki hacim (260µl) soğuk etanol (% 99) eklenerek elle iyice karışması sağlandıktan sonra -70°C'de 15 dak bekletilerek DNA'nın çökmesi sağlanmıştır.
13. 8000 rpm'de 20 dak. santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası etanol uzaklaştırılmıştır.
14. Pelet tekrar 1 dak 8000 rpm'de santrifüj edildikten sonra ependorf dibinde kalan alkol pelete dokunmadan pipet aracılığıyla uzaklaştırılmıştır.
15. Pelet hiç alkol kalmayacak şekilde kurutulduktan sonra 75 µl sterilize edilmiş saf H₂O eklenerek peletin iyice çözülmesini sağlamak için 65 °C'de 5-10 dak inkübe edilmiştir.
16. İnkübasyon sonrası örneklerin bulunduğu ependorfların üzerine gerekli bilgiler ve o günün tarihi yazılarak -20 °C'ye ayarlı derin dondurucuda kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

Her DNA ekstraksiyonu sonrasında toplam DNA izolasyonlarının olup olmadığı %2'lik agoroz jel elektroforezi ile UV ışığı altında görüntülenerek test edilmiştir.

2.2.6.2. Elektroforez ile DNA'nın görüntülenmesi

%0,8'lik Agoroz Jelin Hazırlanması: Agoroz eritilmeden önce agorozun döküleceği jel kabı hazırlanarak jel tarağı düzgün bir şekilde yerleştirilmiştir.

1 gr agaroz hassas terazide tartılarak bir erlen içerisine konulmuş ve üzerine 50 ml TBE (0.5x) eklenerek mikrodalga fırına yerleştirilmiştir. Agaroz tam olarak eridikten sonra erlen mikrodalga fırından alınarak magnetik karıştırıcı üzerinde elle tutulacak sıcaklık seviyesine getirilmiş ve önceden hazırlanmış jel kabına dklmştir. 30 dakikalık donma sresinden sonra jel kabı jelle birlikte içerisinde 0.5X TBE tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

Örneklerin kuyulara yüklenmesi işleminde, izole edilen total DNA rneklerinden 5-8 μ I alınarak 3.5 μ I yükleme tamponu (loading buffer:Bromphenol blue) ile ependorf tüpü içerisinde karıştırılmıştır. Karışım otomatik transfer pipetler aracılığıyla jel kuyularına yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 85V/85mA koşullarında 45 dakika srdrlmştir.

Jelin UV için Hazırlanması ve DNA'nın gözlenmesi: Süre sonunda jel, dikkatlice alınarak geniş bir çalkalama kabına yerleştirilmiştir. Jele yüklenen örneklerin yüklenme yönünün karıştırılabileceği düşünülerek çalkalama kabının kenarları önceden numaralandırılarak işaretlenmiştir. Jel, bir numaralı tarafa örneğin yüklenmeye başlandığı taraf gelecek şekilde kaba yerleştirilerek üzerine 350 ml distile su konulmuş, ardından 18 μ l EtBr eklenerek 30 dakika kadar otomatik çalkalayıcı üzerinde çalkalanmaya bırakılmıştır. Yaklaşık yarım saat sonra kabın içerisindeki su dikkatlice dökülerek uzaklaştırılmıştır. Jelin bulunduğu kabın kapağı örtülerek bir poşet içerisinde karanlık odaya götürülmüş ve UV ışığı altında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir.

UV ışığının zararlı etkisine minimum düzeyde maruz kalmak için karanlık odada çok uzun süre kalmamaya zen gösterilmiştir. Ayrıca EtBr kanserojen etkiye sahip son derece tehlikeli bir kimyasal olduğundan tüm bu işlemler yapılırken çok dikkatli çalışılmıştır. Birçok laboratuvarda yapıldığı gibi EtBr jel kabına dökülen agarozu değil çalkalama kabı içerisindeki suya ilave edilmiştir. Böylece yalnızca çalkalama kabı EtBr ile kontamine olmuştur. Bu alkalama kabı bir poşet içerisinde herkesin ulaşamayacağı bir yerde muhafaza edilerek her aşamada çift eldiven giyilmiş ve herhangi bir kontaminasyon şüphesinde eldiven değiştirilmiştir.

2.2.6.3. DNA miktar tayini, spektrofotometrik yöntem

İzole edilen DNA moleküllerinin saflığı ve miktarının tayini spektral ve elektroforetik yöntemler ile Olgun ve Topal (1999)'a göre yapılmıştır.

Spektral yöntemlerin esası şuna dayanmaktadır: Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyundaki ışığı maksimum emme özelliği taşıdığından, bu dalga boyundaki emme derecesi nükleik asitlerin miktarının bir ölçüsüdür. Bir optik densite çift iplikli DNA için 50µg/ml'dir ve çift iplikli DNA miktarının belirlenmesinde aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = 260\text{nm'deki OD} \times \text{sulandırma oranı} \times \text{katsayısı (50)}$$

Spektral ölçüm yapılmadan önce spektrofotometre sıfırlanır. Sıfırlama işlemi DNA ne ile sulandırılacaksa onunla yapılır. Bu çalışmada DNA distile su ile sulandırıldığından sıfırlama yapılırken distile su kullanılmıştır.

Quartz küvete 1ml ddH₂O konarak spektrofotometreye yerleştirildi ve makine sıfırlanarak ölçüme hazır hale getirildi. Daha sonra Quartz küvetlere 995µl ddH₂O + 5µl DNA kondu ve spektrofotometreye yerleştirilerek ölçüm yapıldı. Spektrofotometrede okunan değer 5µl'deki DNA miktarıdır. Dolayısıyla bu miktar göz önünde tutularak kullanılan DNA çözeltisi içerisinde kaç ng DNA olduğu hesaplanarak stok DNA'dan kaç µl alınacağı belirlenmiştir. PZR işleminde toplam karışım 50 µl'dir. 50 µl'lik reaksiyon karışımı için gereken DNA miktarı 1-5 ng'dır. Genel olarak DNA 1-1.8 ng/µl arasında bulunmuştur. DNA miktarı daha az bulunan örneklerin PZR reaksiyon karışımı hazırlanırken toplam DNA'nın miktarı yükseltilir.

2.2.6.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve reaksiyon koşulları

Polimeraz zincir reaksiyonu spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan invitro bir yöntemdir. 1983 yılında Karry Mullis tarafından geliştirilen PZR tekniği günümüzde DNA klonlama, kalıtsal hastalıkların teşhisi, analık-babalık tayini, DNA parmak izi çıkarma, soy kütüğü belirleme, türler ve ırklar arası polimorfizmin belirlenmesi gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Soysal 2006, Temizkan ve ark. 1999).

Bu çalışmada PZR tekniği kesilmiş uzunluk polimorfizmine (KPUP) göre incelenecek olan CO-I (sitokrom oksidaz-I) ve 16s rDNA (16s ribozomal DNA) gen bölgelerinin çoğaltılması için uygulanmıştır. Kalıp DNA olarak kullanılan COI geni, mtDNA üzerinde 1794-3359 nükleotid dizisi arasında bulunur. Ancak çalışmada 2095-3123 nükleotid dizisi arasındaki 1028 bç'lik kısım kalıp olarak kullanılmıştır. 16s rDNA geni ise mtDNA üzerinde

13291-14661 nükleotid dizisi arasında bulunur. Çalışmada 14443-13479 nükleotid dizisi arasındaki 964 bç'lik kısım kalıp olarak kullanılmıştır.

Literatür araştırmasında çoğaltılacak gen bölgesine spesifik primerlerin Nielsen ve ark. (1994, 1999) tarafından dizayn edildiği belirlenmiştir. Bu nedenle yeniden primer dizaynı yapılmamıştır. Primer çiftlerinin nükleotid dizilimi Çizelge 2.3'te verilmiştir. Bu primerler ticari bir firmadan (BioLab) ısmarlanarak PZR için kullanılabilir hale getirilmiştir.

Çizelge 2.3. Primerler

COI	primer I (geri) 5' AAT CTG GAT AGT CTG AAT AA 3' primer II (ileri) 5' GAT TAC TTC CTC CCT CAT TA 3
16s rDNA	primer I (geri) 5' GTA CCT TTT GTA TCA GGG TTG A 3' primer II (ileri) 5' CAA CAT CGA GGT CGC AAA CATC 3'

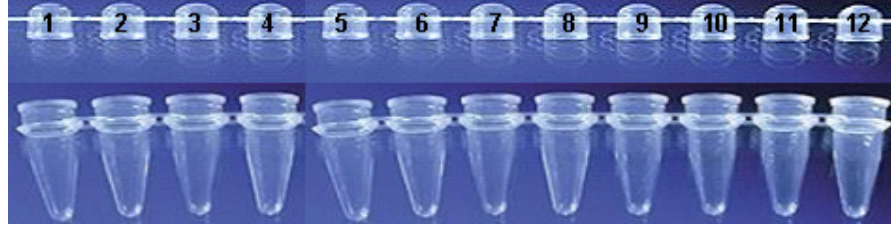
Nielsen ve ark. 1994, 1999

Günümüz şartlarında teknoloji kullanımının yaygınlaşmasına paralel olarak incelenecek gen bölgesinin nükleotid dizilimi biliniyorsa çeşitli programlar vasıtasıyla kolaylıkla primer dizaynı yapılabilmektedir. *Apis mellifera* mtDNA'sının nükleotid dizilimi Crozier ve Crozier (1993) tarafından belirlenmiştir. Bu nedenle *Apis mellifera* mtDNA'sının araştırılacak her bir gen bölgesi için kolaylıkla primer dizaynı yapılabilmektedir. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, <http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer>).

PZR yöntemi Saiki ve ark. (1988)'na göre yapılmıştır buna göre her bir örnek için PZR reaksiyonu 2.4 ünite *Taq* polimeraz, 5 µl 10X reaksiyon tamponu, 5 µl dNTP (2 mM) karışımı, 3 µl MgCl₂ (2 mM), yaklaşık 100 ng DNA, her bir primerden 0.68 µM ve toplam hacmi 50 µl'ye tamamlayacak kadar ddH₂O bileşenlerinden oluşmaktadır. Ancak diğer laboratuvar işlemlerinde olduğu gibi PZR işleminde de her defasında 12 örneğin PZR'ı aynı anda yapılmıştır. Reaksiyonun bileşenleri ve kullanılan miktarlar kalıp DNA hariç her örnek için aynı olduğundan önce 12 örneğe göre H₂O, dNTP, 10X Tampon, Primerler, MgCl₂ ve *Taq*-polimeraz'ı içeren ortak bir reaksiyon karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. Oniki Örnek İçin Hazırlanan PZR Reaksiyon Karışımı

Reaksiyon Bileşenlerinin				
Cinsi	Stok konsantrasyon	12 örnek için Alınan miktar μI	1 örnek için alınacak miktar μI	Final konsantrasyon
H ₂ O		420	30	
Tampon	10X	70	5	1X
dNTP	2 mM	70	5	0.2 mM
Primer I	10 μM	47.6	3.4	0.5 μM
Primer II	10 μM	47.6	3.4	0.5 μM
MgCl ₂	50 mM	6.72	3	1.5 mM
<i>Taq</i> -polimeraz	5 U/ μl	42	0.58	1.5-2.5 Unite
Total DNA	her örnek için 2 μl			



Resim 2.7. Birleştirilmiş PZR tüpleri

Çizelge 2.4.'de verilen reaksiyon karışımı 1.5 ml'lik ependorf tüpü içerisinde karıştırıldıktan sonra Resim 2.7.'de görülen birleştirilmiş PZR tüplerine her örnek için 48 μl olacak şekilde paylaştırılmıştır. Bundan sonra her örneğin kendi kalıp DNA'larından 2'şer μl eklenerek toplam hacim 50 μl 'ye tamamlanmıştır. Buharlaşma riskine karşı bitkisel yağ (mineral oil) kullanılmamıştır. Bunun yerine reaksiyon bileşenlerinin miktarları buharlaşma payı göz önünde tutularak hesaplanmıştır. Çok gözlü PZR tüpleri, kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra Çizelge 2.5.'deki PZR şartlarına göre otomatik olarak ayarlanmış olan PZR cihazına yerleştirilmiştir (Resim 2.8.).

Çizelge 2.5. PZR şartları

Sınırlı ön denatürasyon →	94 °C’de → 4 dakika	
DNA zincirlerinin ayrılması→	94 °C’de → 1 dakika	35 döngü
Primerlerin bağlanması →	55 °C’de → 1 dakika	
DNA zincirlerinin sentezi →	72 °C’de → 2 dakika	
final sentez →	72 °C’de→ 6 dakika	



Resim 2.8. Çalışmada kullanılan PZR aleti (PTC-200)

Kalıp DNA'nın reaksiyonun başlangıcında tam olarak denatüre edilmesi için sınırlı ön denatürasyona gereksinim duyulmaktadır. Çünkü tam olmayan denatürasyonlar hem ilk yükseltgenme siklusunda kalıp DNA'nın kullanım etkinliğini azaltmakta oldukça az bir PZR ürünü oluşabilmektedir.

Yükseltgeme döngüsü, üç farklı sıcaklık ve bunların döngüsel tekrarlarından ibarettir: Denaturasyon, primer bağlanması, yeni DNA'nın sentezi

Hedef DNA'nın denatürasyonunda primerlerin çoğaltılacak DNA'ya bağlanabilmesi için çift iplikli DNA'nın iki ipliği açılarak tek iplikli hale gelir. Bu aşama için sıcaklık 94 °C'ye, süre ise yaklaşık 1 dakikaya ayarlanmıştır.

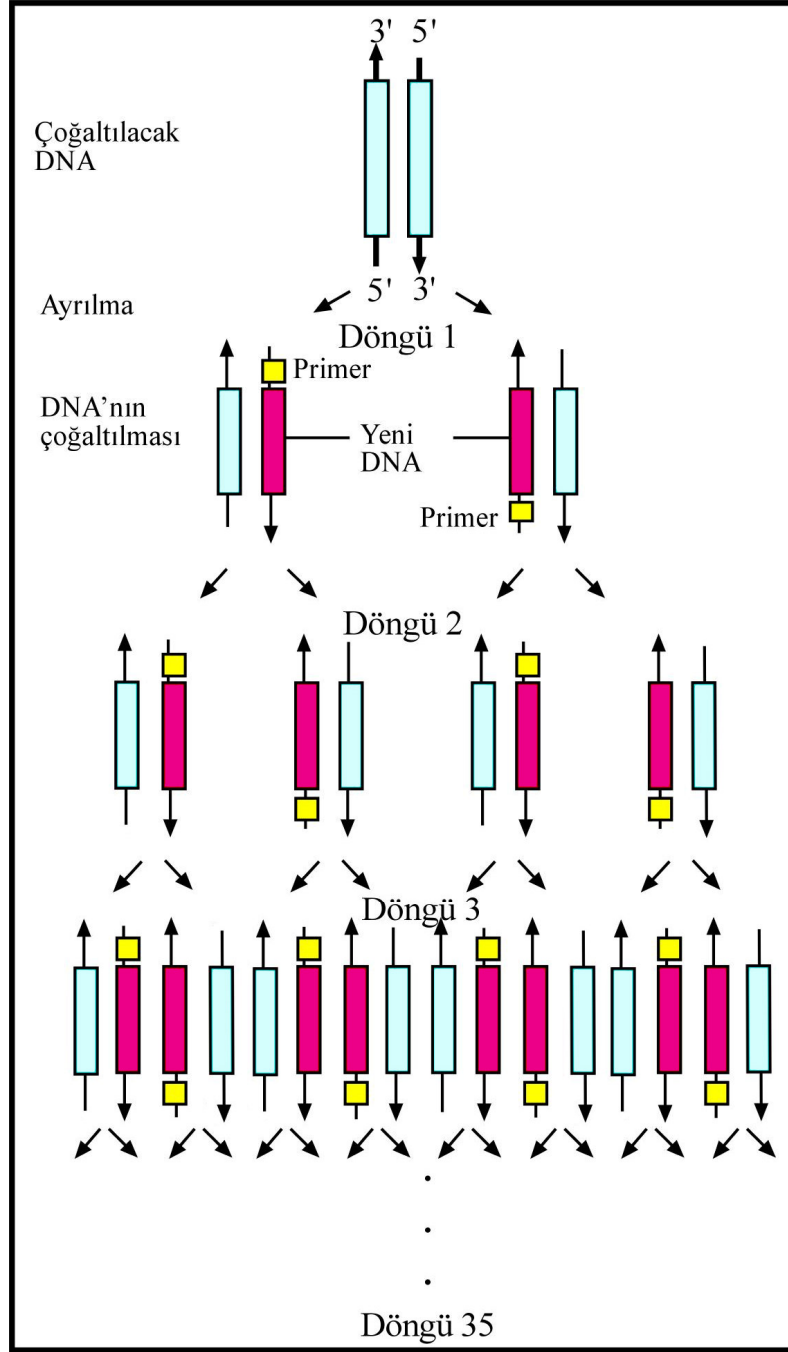
Primerlerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı (annealing) yükseltgenmede önemli bir etkidir. Özgün primerlerin tek iplikli formdaki DNA'ya bağlanabilmesi için uygun sıcaklık (T_m) aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır:

$$T_m = [(A+T\text{'lerin sayısı}) \times 2 + (G+C\text{'lerin sayısı}) \times 4]$$

Apis mellifera mtDNA'sında AT içeriğinin yüksek olması nedeniyle primerlerin kalıp DNA'ya bağlanma sıcaklığı düşüktür.

DNA polimeraz enzimi ortamda bulunan serbest dNTP'leri kullanarak kalıp DNA'ya uygun gelen dNTP'leri primerin 3'-ucundan başlayarak ekler. Böylece orijinal kalıp DNA'nın aynısı sentezlenmeye başlanır. Bu aşama için gereken sıcaklık Taq DNA polimeraz enzimi için 72 °C'dir. DNA sentezi aşamasındaki süre, kalıp DNA'nın uzunluğuna bağlı olarak belirlenir. Taq-polimeraz enzimi 1 dakikada 0.5 kb'lık DNA parçasını amplifiye edebilmektedir. Çalışmada amplifiye edilmesini istediğimiz gen bölgesi yaklaşık 1 kb olduğundan sentez aşaması 2 dakikaya ayarlanmıştır.

Her yükseltgenme döngüsü her biri diğerine bağlı ve farklı sıcaklıklar gerektiren kalıp DNA zincirlerinin ayrılması, primerlerin bağlanması ve DNA zincirlerinin sentezi olmak üzere üç ardışık reaksiyondan oluşur. Yükseltgenme döngüsü 35 kere tekrarlanır ve her tekrar sonucu oluşan yeni DNA'larda bir sonraki basamakta diğerleri ile birlikte kalıp DNA olarak kullanılır. Bu nedenle yükseltgenme aşamasında kalıp DNA üssel olarak (2ⁿ) çoğalır. Şekil 2.5.'de yalnızca ilk üç döngüye kadar PZR'ın işleyişi şematize edilmiştir.



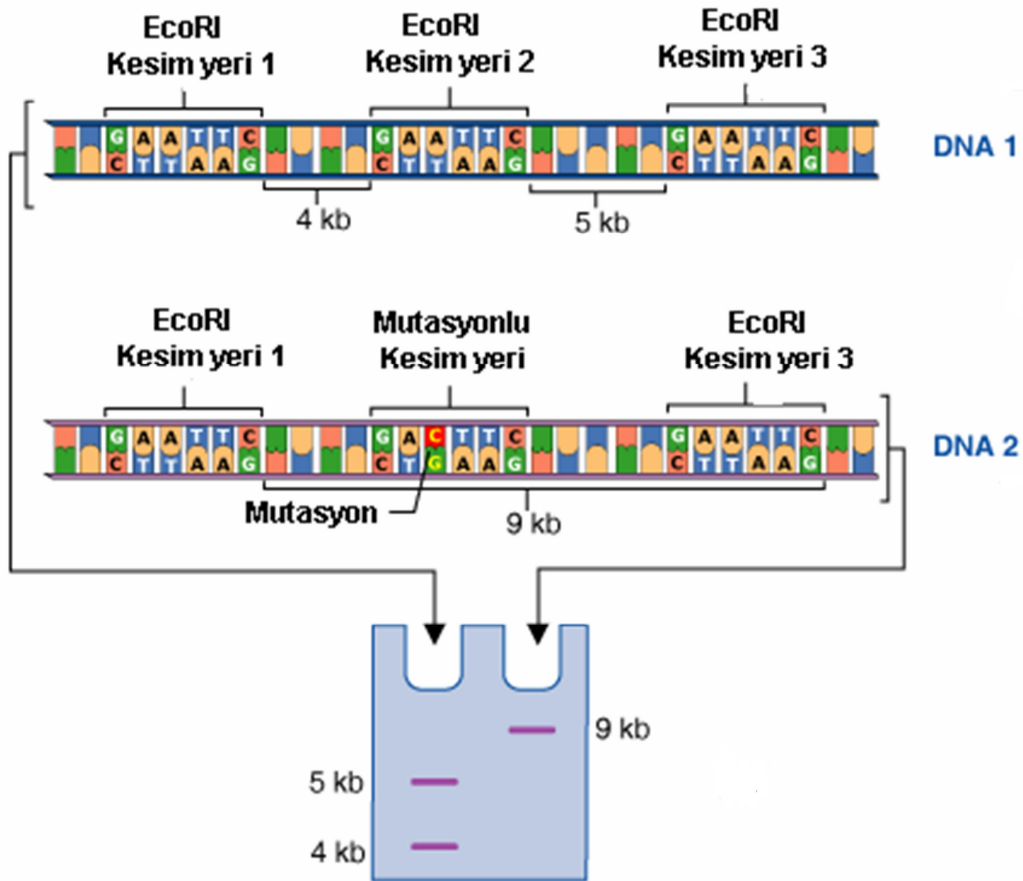
Şekil 2.5. PZR'nun işleyişi

Son polimerizasyon (final sentez) aşamasından sonra yeni sentezlenmiş PZR ürünün uçlarının doldurulması için, örnekler genellikle 72 °C'de 5-6 dakika kadar daha inkübe edilmektedir.

PZR işlemleri yaklaşık 3 saat sürmüştür. Süre sonunda PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile test edildikten sonra istenildiğinde kullanılmak üzere +4°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2.6.5. Kesilmiş parçacık uzunluk polimorfizmi (KPUP)

Spesifik tanıma bölgelerine özgü restriksiyon endonükleaz enzimleri ile farklı uzunluk ve baz kombinasyonlarındaki DNA bölgelerinin kesilmesi (fosfodiester bağının degradasyonu) sonucu farklı bireyler için aynı gen bölgesine ilişkin farklı uzunlukta ya da farklı sayıda kesilmiş DNA parçacıkları gözlenebilmektedir. Böylece aynı tür veya ırk içerisinde farklı genetik yapıdaki bireyler tespit edilebilmektedir (Housman 1995).



Şekil 2.6. Kesilmiş parçacık uzunluk polimorfizmi (KPUP)'ne ilişkin şematik gösterim

Yukarıdaki şekilde tek bir nokta mutasyon nedeniyle aynı gen bölgesinin kesilen uzunluk parçacıklarının nasıl değiştiği görülmektedir. İkinci kesim bölgesinde “A” nükleotidi “C” ile yer değiştirmiştir. Bunun sonucu olarak *EcoRI*'ın tanıma dizisi (GAATTC) değişmiş ve 2. kesim bölgesinde kesim olmamıştır. Bu nedenle mutasyon nedeniyle farklılaşan ikinci bireyin DNA'sı 9 kb uzunluğunda tek bir bant vermiştir (Şekil 2.6.) (<http://en.wikipedia.org/wiki>).

KPUP yönteminin uygulanması restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kullanımına dayanmaktadır. Restriksiyon endonükleaz enzimleri, farklı uzunluk ve baz kombinasyonlarından oluşan baz sıralarını tanırlar. TipI, TipII, TipIII olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. Moleküler biyolojik uygulamalarda en yaygın kullanılan enzimler Tip II grubundaki enzimlerdir. Bu gruptaki enzimler, 4,5,6,7 veya 8 baz çiftlik bölgeyi tanırlar. Restriksiyon enzimleri (RE) ile yapılan kesim sonucunda tanıma bölgeleri içindeki baz sıralarından kesim yapan enzimler, yapışkan (cohesive) veya küt (blunt) uç oluştururken, tanıma bölgeleri dışından kesim yapan enzimler ise sadece yapışkan uç oluşturma özelliğine sahiptirler (Temizkan ve ark. 1999).

Çalışmada kullanılan enzimler, optimum sıcaklık koşulları ve tanıma bölgeleri Çizelge 2.6.'da verilmiştir. Bu enzimlerden *BstI*, *DraI*, *HincII*, *SspI* küt uç oluştururken; tanıma bölgesinin dışından kesim yapan restriksiyon enzimleri (*FokI*, *SaU3a*, *BclII*, *StyI*, *NcoI*, *XhoI*) yapışkan uç oluşturmaktadır.

Çizelge 2.6. Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri, reaksiyon sıcaklık dereceleri ve tanıma bölgeleri

Enzim	Sıcaklık	Tanıma Bölgesi
<i>SspI</i>	37°C	5'....AATATT....3' 3'....TTATAA....5'
<i>SaU3aI</i>	37 °C	5'....GATC....3' 3'....CTAG....5'
<i>FokI</i>	37 °C	5'....GGATG(N)....3' 3'....CCTAC(N)....5'
<i>Sty I</i>	37 °C	5'....CCTTGG....3' 3'....GGAACC....5'
<i>BcII</i>	37 °C	5'....TGATCA....3' 3'....ACTAGT....5'
<i>NcoI</i>	37 °C	5'....CCATGG....3' 3'....GGTACC....5'
<i>BstUI</i>	37 °C	5'....CGCG....3' 3'....GCGC....5'
<i>XhoI</i>	37 °C	5'....C.TCGAG....3' 3'....GAGCT.C....5'
<i>HincII</i>	37 °C	5'....GTPAC....3' 3'....CAPTG....5'
<i>AluI</i>	37 °C	5'....AGCT....3' 3'....TCGA....5'
<i>DraI</i>	37 °C	5'....TTTAAA....3' 3'....AAATTT....5'
<i>EcoRI</i>	37 °C	5'....GAATTC....3' 3'....CTTAAG....5'
<i>PstI</i>	37 °C	5'....CTGCAG....3' 3'....GACGTC....5'

BioLabs.(www.neb.com)

Restriksiyon enzimlerinin DNA üzerinde kesim aktivitesi gösterebilmeleri için sıcaklık, pH, reaksiyon tamponu gibi bazı optimal koşulların sağlanması gerekir. Bu koşullar restriksiyon enzimlerine göre değişmektedir. Mezofilik bakterilerden elde edilen restriksiyon enzimleri genellikle 37-40 °C'de aktif olmaktadır. Optimum kesim aktivitesi için diğer önemli bir konu da kullanılacak enzim ve kesilecek DNA miktarlarının doğru belirlenmesidir.

Optimal reaksiyon koşullarında 1µg DNA'nın tamamının kesimini gerçekleştiren enzim miktarı “bir ünite” olarak tanımlanır (Çizelge 2.7).

Çizelge 2.7. Restriksiyon enzimlerinin stok konsantrasyonları (U/ml)

Restriksiyon Enzimleri	Stok Konsantrasyon (U/ml)
<i>SspI SaU3aI FokI</i>	4000
<i>AluI</i>	8000
<i>HincII BcII, StyI, NcoI, Bstul</i>	10000
<i>PstI EcoRI DraI XhoI</i>	20000

Kesim reaksiyonlarında star aktivitesini önlemek için enzime uygun reaksiyon tamponları kullanılmakta ve 10 µl'lik reaksiyonlarda 5 µg dan daha çok DNA kesilmesinden kaçınılmaktadır. Star aktivitesi RE'nin uygun olmayan koşullarda özel kesim dizilerine benzer dizilerden kesim yapmaları sonucunda istenmeyen fragmentlerin oluşması olarak tanımlanmaktadır.

2.2.6.5.1. Restriksiyon enzimleri ile PZR ürünlerinin kesimi

PZR ile çoğaltılan DNA segmentlerinden COI, 8 farklı enzimle (*SSpI, Sau3aI, FokI, BcII, StyI, NcoI, Bstul, XhoI*); 16srDNA geni 7 farklı enzimle (*SaU3aI, SspI, HincII, AluI, DraI, EcoRI, PstI*) kesilmiştir. DNA izolasyonu ve PZR işleminde olduğu gibi kesim işleminde de protokol bir defada 12 PZR ürünün kesimi yapılacak şekilde düzenlenmiştir.

COI genin PZR ürünleri 8 restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesileceğinden her bir enzim reaksiyonu için 8 ayrı ependorf tüpü Çizelge 2.8'de verilen enzim sırasına göre numaralandırılarak hazırlanmıştır. Bu gen bölgesinin kesiminde kullanılacak her bir enzim için hazırlanan reaksiyon karışımları 12 örneğe pay edilmek üzere toplam reaksiyon karışımı olarak hazırlanarak pay edilmiş mıştır.

Çizelge 2.8. COI geni için 12 örneğe göre hazırlanmış reaksiyon karışımları

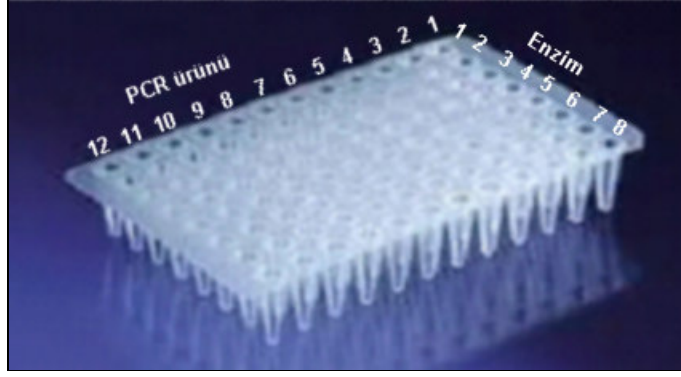
Reaksiyon Bileşenleri	<i>SspI</i>	<i>SaU3aI</i>	<i>FokI</i>	<i>BcII</i>	<i>StyI</i>	<i>NcoI</i>	<i>BstUI</i>	<i>XhoI</i>
H ₂ O (µl)	80	78.6	80	87.4	85.6	87	87	90.5
Tampon (µl)	14	14	14	14	14	14	14	14
Enzim (µl)	14	14	14	7	7	7	7	3.5
BSA (µl)		1.4			1.4			

16srDNA genin PZR ürünleri de 7 restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesileceğinden 16srDNA genin kesim reaksiyonları için 7 ayrı ependorf tüpü Çizelge 2.9.'da verilen enzim sırasına göre hazırlanmıştır. 16srDNA bölgesinin kesiminde kullanılacak her bir enzim için hazırlanan reaksiyon karışımları da 12 örneğe göre hazırlanmıştır (Çizelge 2.9.)

Çizelge 2.9. 16srDNA geni için 12 örneğe göre hazırlanmış reaksiyon karışımları

Reaksiyon bileşenleri	<i>SaU3aI</i>	<i>SspI</i>	<i>HincII</i>	<i>AluI</i>	<i>DraI</i>	<i>EcoRI</i>	<i>PstI</i>
H ₂ O (µl)	78.6	80	85.6	85.6	90.5	90.5	90.5
Tampon (µl)	14	14	14	14	14	14	14
Enzim (µl)	14	14	7	7	3.5	3.5	3.5
BSA (µl)	1.4		1.4				

Daha sonra hazırlanan bu reaksiyon karışımları Resim 2.9.'daki kesim reaksiyonlarının gerçekleştirileceği 96-kuyucuk plakasına COI geni için 7.5µl reaksiyon karışımı, 2.5µl PZR ürünü; 16srDNA için 5µl reaksiyon karışımı, 5µl PZR ürünü olacak şekilde paylaştırılmıştır.



Resim 2.9. Doksanaltı-kuyucuk plakası

Reaksiyon karışımındaki buharlaşmayı önlemek için 96-kuyucuk plakasının üzeri iyice kapatılmıştır. Daha sonra bir köpük üzerine yerleştirilerek önceden 37.5°C'ye ayarlanmış inkübatörde 2.5-3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda inkübatörden alınan örnekler önceden hazırlanmış jele hemen yüklenebilmektedir. Eğer inkübasyon sonrasında hemen yüklenmeyecekse +4 C°'de yükleninceye kadar muhafaza edilebilmektedir.

2.2.6.5.2. Kesim reaksiyonun agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi

Kesim reaksiyonu sonucunda oluşan fragmentlerin boyutları toplam DNA ve PZR ürünlerine göre çok daha küçük olduğundan kesim reaksiyonu sonucu oluşan parçaları görüntülemek için %2'lik agaroz jel hazırlanmıştır.

2%'lik agaroz jelin hazırlanması ve elektroforez işlemi ve DNA'nın gözlenmesi:

Önce 5.2 gr agaroz tartılarak bir erlen içerisine konulmuştur. Agaroz üzerine 0.5X TBE'den 260 ml eklenerek agarozun erimesi için erlen mikrodalga fırına yerleştirilmiştir. Erlen fırından çıkarıldıktan sonra sıvı haldeki agaroz magnetik karıştırıcı üzerinde elle tutulacak sıcaklık seviyesine getirilerek önceden hazırlanmış jel kasetine dökülmüş ve jel tarağı yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra (yaklaşık 15-20 dakika sonra) tarak çıkarılmış ve jel kasetle beraber 0.5X TBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Son olarak 3.5 µl DNA 7 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak otomatik pipet aracılığı ile kuyulara yüklenmiş ve 160 volt'ta 1.5 saat süreyle yürütülmüştür. Süre sonunda jel büyük bir kab içerisine alınarak üzerine 350 ml distile su konulmuştur. Su içerisine 18 µl EtBr (1µg/ml) eklenerek çalkalanmaya bırakılmıştır. Yaklaşık 30 dakika (bu süre daha uzun tutulabilir) çalkalandıktan sonra kab içerisindeki su dökülerek jel UV ışığı altında görüntülenmiştir. Görüntüleme işlemi

sirasında her bir jelin resmi çekilmiştir. Çekilen bu resimlerde DNA parçalarının yürüme uzaklıkları ile aynı resimdeki referans DNA parçacıklarının yürüme uzaklıkları karşılaştırılarak DNAfrag 3.03 paket programı ile parça uzunlukları hesaplanmıştır.

2.2.6.5.3. DNA parça uzunluklarının belirlenmesi

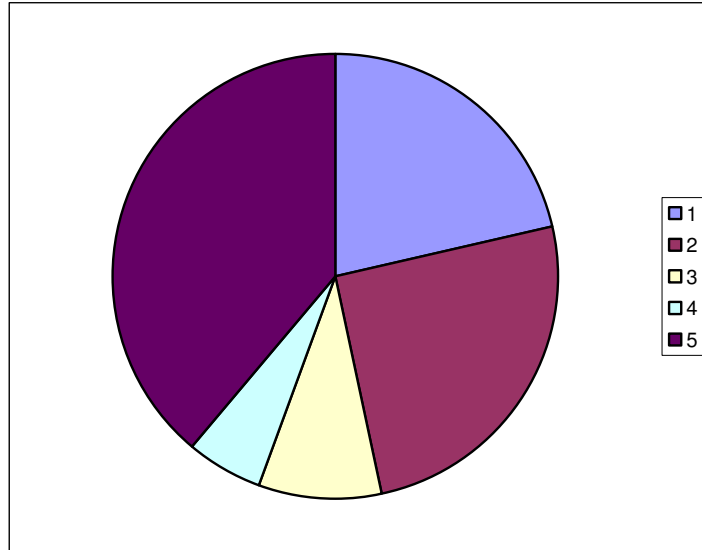
DNA parçalarının uzunluğu aynı jelde yürütülen referans PZR işaretleyicisi (marker)'sine göre DNAfrag 3.03 (Nash, 1991) paket programı kullanılarak belirlenmiştir. Bu paket programa göre KPUP sonucu oluşan parçaların uzunluklarını belirlemek için çekilen resimlerden işaretleyiciye ait fragmentlerin kaçncı cm'de olduğu belirlenerek paket programın ilgili bölümüne yazılmıştır. Ardından kaç bp uzunluğunda olduğu bilinmeyen örneklere ilişkin parçacıkların kaçncı cm'de olduğu belirlenerek yazılmıştır. Referans işaretleyiciye ait parçaların herbirinin kaç bç uzunluğunda olduğu bilindiğinden program örneklerin ve referans işaretleyicinin jel üzerindeki relatif ilerleme hızlarını karşılaştırarak örneklere ilişkin DNA parçalarının kaç bp uzunluğunda olduğunu otomatik olarak hesaplamıştır.

3. BULGULAR

3.1. Anket Sonuçları

Örnek alma aşamasında örnekleme yapılan yerleşimlerdeki arıcılık ve arı ırkları ile ilgili genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla anket formu doldurtulmuştur. Çalışma sonunda mtDNA ve morfometrik analiz sonuçları arıcıların bu anket formlarındaki bildirişleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Gidilen 55 yerleşimde 10'ar arıcı ile görüşülerek yapılan anket çalışmasına ilişkin sonuçlar ayrı bir çalışma konusu olarak değerlendirilerek makale (Kekeçoğlu ve ark. 2007) haline getirilmiş ve yayınlanmıştır. Bu nedenle tez kapsamında yalnızca bulguları değerlendirmek için önem teşkil eden arı ırklarını ve ana arıyı tanımlayıcı nitelikteki cevaplara yer verilmiştir (Çizelge 3.1).

“Hangi arı ırkının yetiştiriciliğini yapıyorsunuz?” sorusuna arıcılardan %21.33'ü Kafkas, %25.33'ü Anadolu, %9.01'i Karniyol, %5.33'ü Melez, %33'ü ise bilmiyorum cevabını vermiştir (Şekil 3.1.). Geriye kalan %6'lık kısımda ise Muğla'daki arıcılar Muğla arısı ve Trakya'daki arıcılardan Trakya arısı, bazı arıcılardan da yöreye özgü saf arı şeklinde özel cevaplar gelmiştir.



Şekil 3.1. Yetiştiriciliği yapılan arı ırklarının yüzde dağılımları
(1:Kafkas, 2:Anadolu,3:Karniyol, 4: Melez, 5. Bilinmiyor)

Çizelge 3.1. Hangi arı ırkının yetiştiriciliğini yapıyorsunuz ve ana arıyı nereden temin ediyorsunuz sorusuna il ve ilçelere göre verilen genel cevaplar

il sıra	İl ve ilçeler	Yet. Yap. ırk	Ana arının nereden alındığı
1	Malkara	Bilmiyorum	Kendisi 10
2	Hayrabolu	Karniyol, Trakya, yerli, kara arı ırkı bilinmiyor	Kendisi 15 3
3	Murathı	Karni yol, Bilmiyorum	Kendisi 20
4	Çerkezköy	Anadolu, Bilinmiyor	Kendisi 5, 3 35
5	Çorlu	Anadolu, Bilinmiyor	Kendisi, TKV 15
6	Saray	Trakya, melez, bilinmiyor	Kendisi 24 35
7	Lüleburgaz	Bilinmiyor, Kafkas,	*Kendisi, Özel kuruluş, Artvin 20
8	Kırklareli(merk)	Karniyol	Kendisi 5 4
9	Keşan	Bilinmiyor, Kafkas kırması,	Kendisi 40 30
10	Meriç	Bilinmiyor	Kendisi
11	Kocahıdır	Bilinmiyor	Kendisi
12	İpsala	Bilinmiyor	Kendisi
13	Enez	Anadolu, Bilinmiyor	Kendisi
14	İstanbul	Anadolu	Özel kuruluş
15	Bursa	Anadolu	Kendisi 15
16	Düzce	Anadolu ekotipi	Kendisi 24
17	Yalova	Kafkas	Özel kuruluş
18	Çanakkale	Anadolu	Kendisi 15
19	Bozcaada	Bilinmiyor	Kendisi 3 5 karakovanda üretim
20	Gökçeada	Anadolu	Kendisi 16
21	Balıkesir	Anadolu	kendisi 25
22	İzmit	Kafkas, Anadolu	Kendisi
23	Aksaray	Kafkas, Karniyol	Kendisi, özel kuruluş (Mersin)18 24
24	Eskişehir	Bilinmiyor	Kendisi 20
25	İzmir	Anadolu, bilinmiyor	Kendisi
26	Muğla	Muğla arısı	Kendisi 34
27	Uşak	Anadolu	kendisi
28	Kütahya	Anadolu	kendisi 17
29	Denizli	İtalyan, bilinmiyor	Kendisi, özel kuruluş 39
30	Aydın	Anadolu	Kendisi
31	Çankırı	Anadolu	Kendisi 16
32	Zonguldak	Bilinmiyor (yöreye özgü)	Kendisi
33	Bartın	Bilinmiyor	Kendisi 20
34	Sinop	Anadolu	Kendisi 8
35	Çorum	Kafkas	Özel kuruluş
36	Gümüşhane	Kafkas	özel kuruluş 26
37	Bayburt	Bilinmiyor	kendisi
38	Rize	Kafkas	Kendisi 14
39	Giresun	Kafkas, Anadolu	kendi özel kuruluşu 20
40	Trabzon	Kafkas	Macahel (Ardahan üret. ist.)
41	Artvin	Kafkas	Macahel (Ardahan üret. ist.)
42	Hakkari	Bilinmiyor	Kendisi 10
43	Van	Anadolu	kendisi
44	Bingöl	Yöreye özgü	Kendisi ilkel tip karakovan 50†
45	Elazığ	Kafkas	Kendisi ana arı üretiyor 15
46	Erzincan	Kafkas, Ana-Kaf melez	Ardahan üretim ist (Macahel) 20
47	Ağrı	Kafkas	Ardahan üretim ist. 10
48	Malatya	Kafkas, Kafkas melezi	Özel kuruluş 13
49	Isparta	Yerli	Kendisi
50	Osmaniye	Kafkas, Anadolu	TKV, kendisi 35
51	Mersin	Kafkas	Kendisi
52	Adana	Bilinmiyor	özel kuruluş 2
53	Maraş	Anadolu	Kendisi 20
54	Adıyaman	Anadolu	Kendisi 25
55	Diyarbakır	Anadolu	Kendisi 30

“Ana arıyı nereden temin ediyorsunuz?” sorusuna arıcıların %53’kendim doğal olarak üretiyorum cevabını verirken, %14’ü ticari olarak ana arı yetiştiren bazı özel kuruluşların

isimlerini vermiştir. %3'ü vakıf nitelikli kuruluşlardan aldığını, %2'si başka bir yetiştiriciden aldığını, %2'si de Ardahan Arıcılık Enstitüsünden temin ettiğini belirtmiştir.

3.2. Morfometrik Bulgular

Çalışmanın materyalini Türkiye'nin 55 lokal bölgesindeki 182 koloniden alınan işçi arı örnekleri oluşturmuştur. Toplam 888 işçi arı örneğinden 12 morfolojik karaktere ilişkin ölçümler alınarak elde edilen veriler SPSS.15 paket programında hem her değişkenin bağımsız (ayrı) değerlendirildiği varyans analizi (ANOVA) hem de tüm değişkenlerin aynı anda dikkate alındığı çok değişkenli varyans analizi (MANOVA) ile değerlendirilerek gruplar karşılaştırılmış diskriminant analizi (DA) ile de grupların birbirlerinden ayrıştırılmaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca regresyon analizi yapılarak morfolojik karakterlerin coğrafik konumla ilgisi belirlenmiştir.

Örnek alınan yerel bölge sayısının fazla olması nedeniyle analiz sonuçlarının değerlendirilmesinin güç olacağı düşünülerek 55 il ve ilçe coğrafik bölgelerine göre 9 gruba (Trakya, Marmara, İç Anadolu, Ege, Batı Karadeniz, Doğu Karadeniz, Doğu Anadolu, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu) ayrılmış ve analizler koloni ortalamaları esas alınarak bu 9 bölge popülasyonu için yapılmıştır. 55 yerel bölgenin coğrafik gruplara dağılımı literatür bildirişlerine göre farklı *Apis mellifera* alt tür ve ekotiplerinin coğrafik dağılımı göz önünde tutularak yapılmıştır. Ayrıca yine literatür bildirişlerine göre morfometrik çalışmalarda örnek değerleri yerine koloni ortalamalarının kullanılmasının daha uygun olduğuna dair bildirişler dikkate alınmıştır (Ruttner 1978; Adam 1987; Daly 1985; Rinderer 1990). Fakat bölgesel gruplara uygulanan diskriminant analizi ile lokal bölge popülasyonlarının tek tek birbirlerinden farklılığı belirlenemediğinden daha sonra 55 lokal bölge popülasyonu için bireysel değerleri esas alınarak ayrıca diskriminant fonksiyon analizi uygulanmıştır. Böylece bölgeler ve iller arasındaki varyasyon sırasıyla koloniler arası ve koloniler içi varyasyon dikkate alınarak ortaya çıkarılmıştır.

Çizelge 3.2. ve 3.3.'de yerel bölge popülasyonlarını temsil eden örnek sayısı ve morfolojik karakterlerine ilişkin ortalama ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 3.2. Ellibeş yerleşim için kanat karakterlerinin ortalama ve standart hataları

İller	N	ÖKU*			ÖKG*			a*			b*			KI			AKU*			AKG*		
		X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx
Malkara	15	9,03	±	0,05	3,19	±	0,02	0,58	±	0,02	0,23	±	0,01	2,54	±	0,13	6,31	±	0,05	1,89	±	0,01
Hayrabolu	15	8,82	±	0,04	3,09	±	0,02	0,54	±	0,02	0,23	±	0,01	2,39	±	0,09	6,11	±	0,08	1,82	±	0,03
Muratlı	15	9,04	±	0,06	3,15	±	0,01	0,57	±	0,01	0,23	±	0,01	2,53	±	0,13	6,47	±	0,04	1,91	±	0,01
Çerkezköy	15	9,06	±	0,04	3,15	±	0,02	0,55	±	0,02	0,24	±	0,01	2,34	±	0,14	6,35	±	0,03	1,88	±	0,01
Çorlu	15	9,04	±	0,04	3,19	±	0,02	0,56	±	0,01	0,24	±	0,01	2,44	±	0,13	6,42	±	0,04	1,89	±	0,01
Saray	30	8,99	±	0,03	3,18	±	0,02	0,55	±	0,01	0,24	±	0,01	2,28	±	0,07	6,31	±	0,04	1,89	±	0,01
Lüleburgaz	10	8,94	±	0,06	3,09	±	0,02	0,47	±	0,02	0,24	±	0,01	1,99	±	0,12	6,20	±	0,07	1,85	±	0,02
Kırklareli	30	8,95	±	0,04	3,13	±	0,01	0,55	±	0,01	0,25	±	0,01	2,24	±	0,06	6,33	±	0,03	1,89	±	0,01
Keşan	45	9,00	±	0,03	3,12	±	0,02	0,55	±	0,01	0,25	±	0,00	2,26	±	0,06	6,29	±	0,03	1,90	±	0,01
Meriç	13	8,81	±	0,06	3,15	±	0,03	0,56	±	0,01	0,25	±	0,01	2,27	±	0,10	6,28	±	0,06	1,89	±	0,01
Kocahıdır	14	8,95	±	0,03	3,17	±	0,01	0,55	±	0,02	0,25	±	0,01	2,25	±	0,11	6,34	±	0,04	1,90	±	0,01
İpsala	14	8,86	±	0,05	3,12	±	0,02	0,55	±	0,01	0,24	±	0,01	2,31	±	0,09	6,28	±	0,04	1,86	±	0,01
Enez	14	8,91	±	0,03	3,13	±	0,02	0,57	±	0,01	0,25	±	0,01	2,36	±	0,08	6,37	±	0,04	1,88	±	0,01
İstanbul	15	9,14	±	0,05	3,11	±	0,03	0,54	±	0,01	0,23	±	0,01	2,39	±	0,06	6,40	±	0,06	1,88	±	0,02
Bursa	13	9,01	±	0,09	3,19	±	0,04	0,55	±	0,02	0,29	±	0,01	1,93	±	0,09	6,40	±	0,04	1,89	±	0,02
Düzce	15	9,26	±	0,07	3,29	±	0,03	0,52	±	0,01	0,24	±	0,01	2,28	±	0,12	6,60	±	0,04	1,99	±	0,02
Yalova	15	9,09	±	0,05	3,19	±	0,03	0,54	±	0,02	0,24	±	0,01	2,27	±	0,14	6,36	±	0,04	1,89	±	0,01
Çanakkale	15	8,99	±	0,05	3,18	±	0,02	0,51	±	0,01	0,24	±	0,01	2,22	±	0,13	6,27	±	0,04	1,86	±	0,01
Bozcaada	30	8,94	±	0,03	3,18	±	0,02	0,54	±	0,01	0,26	±	0,01	2,16	±	0,07	6,31	±	0,03	1,92	±	0,01
Gökçeada	30	9,04	±	0,04	3,15	±	0,02	0,52	±	0,01	0,23	±	0,01	2,30	±	0,07	6,32	±	0,04	1,91	±	0,02
Balıkesir	15	8,79	±	0,06	3,05	±	0,03	0,54	±	0,02	0,23	±	0,01	2,42	±	0,15	6,29	±	0,06	1,85	±	0,02
İzmit	15	9,10	±	0,05	2,93	±	0,08	0,54	±	0,02	0,23	±	0,01	2,45	±	0,09	6,47	±	0,03	1,90	±	0,01
Aksaray	15	9,00	±	0,05	3,11	±	0,03	0,51	±	0,01	0,23	±	0,01	2,31	±	0,08	6,44	±	0,04	1,88	±	0,01
Eskişehir	15	9,01	±	0,03	3,18	±	0,01	0,53	±	0,02	0,26	±	0,01	2,10	±	0,14	6,42	±	0,04	1,88	±	0,01
İzmir	15	8,76	±	0,11	3,17	±	0,03	0,50	±	0,01	0,24	±	0,01	2,14	±	0,11	6,32	±	0,05	1,89	±	0,01
Muğla	30	8,97	±	0,03	3,10	±	0,02	0,55	±	0,01	0,25	±	0,01	2,31	±	0,10	6,32	±	0,03	1,87	±	0,01
Uşak	15	8,90	±	0,04	3,14	±	0,02	0,54	±	0,01	0,26	±	0,01	2,17	±	0,11	6,24	±	0,05	1,85	±	0,02
Kütahya	15	9,08	±	0,05	3,13	±	0,02	0,57	±	0,02	0,23	±	0,01	2,58	±	0,10	6,31	±	0,04	1,86	±	0,01
Denizli	13	9,05	±	0,04	3,09	±	0,02	0,54	±	0,01	0,23	±	0,01	2,41	±	0,17	6,40	±	0,04	1,88	±	0,03
Aydın	4	8,95	±	0,07	3,07	±	0,09	0,52	±	0,02	0,21	±	0,02	2,25	±	0,09	6,30	±	0,10	1,90	±	0,02
Çankırı	10	9,14	±	0,04	3,23	±	0,03	0,51	±	0,01	0,24	±	0,01	2,20	±	0,12	6,28	±	0,04	1,91	±	0,02
Zonguldak	10	9,11	±	0,07	3,15	±	0,02	0,51	±	0,02	0,25	±	0,01	2,09	±	0,14	6,51	±	0,07	1,87	±	0,04
Bartın	15	9,27	±	0,04	3,21	±	0,02	0,53	±	0,01	0,29	±	0,01	1,89	±	0,12	6,56	±	0,04	1,91	±	0,02
Sinop	15	9,15	±	0,04	3,18	±	0,02	0,54	±	0,01	0,21	±	0,01	2,57	±	0,06	6,47	±	0,04	1,93	±	0,02
Çorum	15	9,00	±	0,03	3,17	±	0,02	0,56	±	0,01	0,25	±	0,01	2,35	±	0,13	6,33	±	0,04	1,84	±	0,01
Gümüşhane	15	9,16	±	0,04	3,20	±	0,02	0,54	±	0,01	0,26	±	0,01	2,14	±	0,10	6,50	±	0,04	1,89	±	0,01
Bayburt	15	9,22	±	0,04	3,19	±	0,02	0,56	±	0,01	0,23	±	0,01	2,50	±	0,15	6,43	±	0,04	1,89	±	0,01
Rize	15	9,16	±	0,04	3,17	±	0,02	0,53	±	0,01	0,25	±	0,01	2,15	±	0,09	6,55	±	0,04	1,88	±	0,02
Giresun	15	9,11	±	0,02	3,07	±	0,03	0,51	±	0,02	0,26	±	0,01	1,96	±	0,07	6,60	±	0,04	1,90	±	0,01
Trabzon	15	9,24	±	0,03	3,25	±	0,02	0,52	±	0,01	0,24	±	0,01	2,21	±	0,09	6,56	±	0,04	1,95	±	0,02
Artvin	15	8,96	±	0,48	3,29	±	0,02	0,52	±	0,01	0,25	±	0,01	2,15	±	0,11	6,58	±	0,04	1,94	±	0,01
Hakkari	15	8,92	±	0,06	3,11	±	0,03	0,54	±	0,02	0,23	±	0,01	2,41	±	0,09	6,31	±	0,05	1,86	±	0,01
Van	15	9,05	±	0,03	3,17	±	0,01	0,54	±	0,01	0,27	±	0,01	2,01	±	0,08	6,43	±	0,03	1,92	±	0,01
Bingöl	15	8,78	±	0,05	3,09	±	0,01	0,54	±	0,01	0,21	±	0,01	2,63	±	0,15	6,20	±	0,05	1,84	±	0,02
Elazığ	15	9,25	±	0,05	3,22	±	0,02	0,55	±	0,01	0,25	±	0,01	2,19	±	0,09	6,39	±	0,06	1,91	±	0,02
Erzincan	15	9,18	±	0,04	3,21	±	0,01	0,52	±	0,02	0,26	±	0,01	2,07	±	0,12	6,40	±	0,05	1,92	±	0,01
Ağrı	15	9,18	±	0,04	3,24	±	0,02	0,55	±	0,02	0,24	±	0,01	2,32	±	0,13	6,50	±	0,04	1,92	±	0,01
Malatya	15	9,04	±	0,05	3,16	±	0,03	0,54	±	0,01	0,24	±	0,01	2,25	±	0,11	6,30	±	0,06	1,89	±	0,01
Isparta	15	9,10	±	0,04	3,17	±	0,02	0,52	±	0,02	0,23	±	0,01	2,36	±	0,18	6,45	±	0,04	1,90	±	0,02
Osmaniye	15	8,83	±	0,03	3,06	±	0,03	0,54	±	0,02	0,24	±	0,01	2,38	±	0,13	6,19	±	0,04	1,78	±	0,02
Mersin	15	9,07	±	0,04	3,20	±	0,03	0,53	±	0,01	0,25	±	0,01	2,12	±	0,11	6,40	±	0,05	1,90	±	0,01
Adana	8	8,87	±	0,05	3,14	±	0,04	0,54	±	0,02	0,21	±	0,01	2,56	±	0,22	6,25	±	0,08	1,84	±	0,04
Maraş	15	8,94	±	0,05	3,13	±	0,02	0,54	±	0,02	0,26	±	0,01	2,11	±	0,09	6,23	±	0,04	1,83	±	0,01
Adıyaman	15	8,94	±	0,08	3,14	±	0,05	0,55	±	0,02	0,24	±	0,01	2,38	±	0,11	6,33	±	0,07	1,81	±	0,02
Diyarbakır	15	8,86	±	0,04	3,09	±	0,02	0,55	±	0,02	0,25	±	0,01	2,26	±	0,15	6,41	±	0,03	1,88	±	0,02
Toplam	888	9,02	±	0,01	3,15	±	0,00	0,54	±	0,00	0,24	±	0,00	2,27	±	0,02	6,37	±	0,01	1,89	±	0,00

N:koloni sayısı, X:ortalama Sx:standart hata, *Ölçüm birimi "mm"dir.

Çizelge 3.3. Bacak karakterleri ve dil uzunluğunun ortalamaları ve standart sapmaları, örnekleme yapılan yerleşimlerin bulunduğu coğrafik konum ve deniz seviyesinden yükseklik

Sıra No	İller	N	FU*			TU*			BU*			BG*			DU*			E	B	Y		
			X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx	X	±	Sx					
1	Malkara	15	2,74	±	0,01	3,28	±	0,04	2,11	±	0,03	1,20	±	0,01	6,33	±	0,14	41	27	210		
2	Hayrabolu	15	2,67	±	0,02	3,05	±	0,02	2,02	±	0,03	1,18	±	0,02	5,15	±	0,10	41	27	18		
3	Muratlı	15	2,69	±	0,03	3,14	±	0,03	2,18	±	0,02	1,20	±	0,01	5,97	±	0,16	41	28	79		
4	Çerkezköy	15	2,72	±	0,02	3,29	±	0,07	2,02	±	0,04	1,18	±	0,02	5,97	±	0,18					
5	Çorlu	15	2,67	±	0,02	3,06	±	0,10	2,07	±	0,04	1,16	±	0,05	6,03	±	0,14					
6	Saray	30	2,65	±	0,02	3,13	±	0,02	2,08	±	0,02	1,19	±	0,01	6,03	±	0,13	41	28	151		
7	Lüleburga	10	2,67	±	0,03	3,01	±	0,04	2,07	±	0,03	1,18	±	0,02	5,90	±	0,18	41	27	76		
8	Kırklareli	30	2,62	±	0,02	3,13	±	0,03	2,04	±	0,02	1,15	±	0,01	5,68	±	0,13	42	27	199		
9	Keşan	45	2,67	±	0,02	3,11	±	0,02	2,07	±	0,02	1,21	±	0,02	6,13	±	0,09	41	27	97		
10	Meriç	13	2,52	±	0,01	3,00	±	0,03	2,08	±	0,03	1,10	±	0,02	6,28	±	0,05	41	26	22		
11	Kocahıdır	14	2,69	±	0,02	3,19	±	0,02	2,13	±	0,03	1,19	±	0,02	6,45	±	0,12					
12	İpsala	14	2,61	±	0,02	3,09	±	0,03	2,06	±	0,02	1,10	±	0,02	6,21	±	0,12	41	26	36		
13	Enez	14	2,56	±	0,04	3,10	±	0,03	2,05	±	0,02	1,13	±	0,02	6,12	±	0,13	41	26	3		
14	İstanbul	15	2,57	±	0,03	3,07	±	0,05	2,11	±	0,03	1,23	±	0,04	5,83	±	0,11	41	29	24		
15	Bursa	13	2,70	±	0,02	3,17	±	0,04	2,06	±	0,01	1,23	±	0,02	5,55	±	0,17	40	29	188		
16	Düzce	15	2,81	±	0,03	3,23	±	0,01	2,18	±	0,02	1,20	±	0,05	6,25	±	0,14	41	31	168		
17	Yalova	15	2,67	±	0,03	3,25	±	0,05	2,13	±	0,03	1,26	±	0,03	6,09	±	0,17	41	30	0		
18	Çanakkale	15	2,68	±	0,03	3,11	±	0,03	2,16	±	0,03	1,19	±	0,02	5,35	±	0,12	40	26	0		
19	Bozcaada	30	2,70	±	0,03	3,20	±	0,03	2,08	±	0,02	1,24	±	0,01	6,00	±	0,13	40	26	1		
20	Gökçeada	30	2,63	±	0,03	3,15	±	0,03	2,13	±	0,03	1,18	±	0,02	5,53	±	0,09	40	26	135		
21	Balıkesir	15	2,66	±	0,03	3,17	±	0,02	2,16	±	0,04	1,18	±	0,03	5,20	±	0,16	40	28	136		
22	İzmit	15	2,72	±	0,02	3,08	±	0,02	2,12	±	0,03	1,19	±	0,02	5,89	±	0,15	41	30	0		
23	Aksaray	15	2,66	±	0,03	3,20	±	0,05	2,10	±	0,03	1,21	±	0,01	6,14	±	0,22	38	34	1044		
24	Eskişehir	15	2,75	±	0,02	3,23	±	0,04	2,08	±	0,02	1,26	±	0,03	6,50	±	0,12	40	30	870		
25	İzmir	15	2,67	±	0,03	3,17	±	0,04	2,08	±	0,03	1,20	±	0,02	5,61	±	0,16	38	27	37		
26	Muğla	30	2,67	±	0,02	3,10	±	0,02	2,09	±	0,02	1,14	±	0,01	5,99	±	0,15	37	28	632		
27	Uşak	15	2,72	±	0,05	3,01	±	0,06	2,11	±	0,03	1,23	±	0,02	5,81	±	0,18	39	29	956		
28	Kütahya	15	2,72	±	0,02	3,22	±	0,03	2,10	±	0,02	1,23	±	0,04	5,61	±	0,19	39	30	935		
29	Denizli	13	2,72	±	0,02	3,15	±	0,04	2,12	±	0,03	1,20	±	0,02	5,65	±	0,18	38	29	418		
30	Aydın	4	2,98	±	0,13	3,00	±	0,00	2,00	±	0,00	1,25	±	0,00	4,98	±	0,02	38	28	57		
31	Çankırı	10	2,71	±	0,03	3,12	±	0,05	2,07	±	0,03	1,24	±	0,02	5,77	±	0,22	41	34	723		
32	Zonguldak	10	2,73	±	0,01	3,13	±	0,04	2,08	±	0,02	1,20	±	0,01	5,02	±	0,01	41	32	96		
33	Bartın	15	2,65	±	0,04	3,12	±	0,04	2,11	±	0,03	1,14	±	0,03	6,26	±	0,20	42	32	12		
34	Sinop	15	2,64	±	0,03	3,15	±	0,05	2,12	±	0,03	1,19	±	0,01	5,95	±	0,19	42	35	0		
35	Çorum	15	2,74	±	0,01	3,23	±	0,02	2,07	±	0,02	1,20	±	0,01	6,83	±	0,07	41	35	864		
36	Gümüşha	15	2,69	±	0,02	3,09	±	0,02	2,00	±	0,02	1,20	±	0,02	6,36	±	0,18	40	39	1228		
37	Bayburt	15	2,63	±	0,03	3,14	±	0,04	2,00	±	0,00	1,16	±	0,02	5,71	±	0,19	40	40	1924		
38	Rize	15	2,70	±	0,02	3,16	±	0,04	2,13	±	0,03	1,24	±	0,02	6,72	±	0,19	41	41	1		
39	Giresun	15	2,70	±	0,03	3,16	±	0,04	2,04	±	0,02	1,22	±	0,01	6,49	±	0,14	41	38	0		
40	Trabzon	15	2,81	±	0,03	3,12	±	0,03	2,09	±	0,02	1,19	±	0,02	5,87	±	0,19	41	40	191		
41	Artvin	15	2,74	±	0,02	3,24	±	0,03	2,12	±	0,02	1,23	±	0,02	6,49	±	0,14	41	42	386		
42	Hakkari	15	2,57	±	0,02	3,04	±	0,03	2,07	±	0,03	1,14	±	0,03	5,45	±	0,15	38	44	1504		
43	Van	15	2,71	±	0,03	3,29	±	0,04	2,09	±	0,02	1,19	±	0,01	5,69	±	0,19	39	43	1727		
44	Bingöl	15	2,56	±	0,03	3,08	±	0,03	2,07	±	0,03	1,05	±	0,02	5,97	±	0,13	39	40	1139		
45	Elazığ	15	2,71	±	0,03	3,24	±	0,04	2,10	±	0,03	1,20	±	0,03	5,81	±	0,24	39	39	1121		
46	Erzincan	15	2,63	±	0,03	3,07	±	0,04	2,02	±	0,02	1,19	±	0,02	6,57	±	0,14	40	39	1186		
47	Ağrı	15	2,76	±	0,01	3,24	±	0,02	2,14	±	0,02	1,19	±	0,01	6,16	±	0,18	40	43	1641		
48	Malatya	15	2,72	±	0,02	3,19	±	0,03	2,13	±	0,04	1,17	±	0,02	5,64	±	0,23	38	38	975		
49	Isparta	15	2,72	±	0,01	3,18	±	0,03	2,04	±	0,01	1,25	±	0,02	6,52	±	0,17	38	31	1085		
50	Osmaniye	15	2,61	±	0,03	3,11	±	0,04	2,05	±	0,02	1,08	±	0,02	6,21	±	0,12	37	36	110		
51	Mersin	15	2,70	±	0,04	3,19	±	0,04	2,10	±	0,03	1,20	±	0,02	5,65	±	0,14	37	35	0		
52	Adana	8	2,64	±	0,09	2,94	±	0,07	2,12	±	0,06	1,14	±	0,04	6,53	±	0,20	37	35	13		
53	Maraş	15	2,66	±	0,02	3,18	±	0,04	2,10	±	0,03	1,22	±	0,01	6,57	±	0,07	38	37	654		
54	Adıyaman	15	2,64	±	0,04	3,16	±	0,05	2,05	±	0,02	1,19	±	0,02	6,17	±	0,23	38	38	685		
55	Diyarbakır	15	2,65	±	0,03	3,17	±	0,04	2,10	±	0,02	1,20	±	0,02	6,46	±	0,16	38	40	663		
Total			Toplam			888	±	2,68	±	0,00	3,15	±	0,01	2,09	±	0,00	1,19	±	0,00	5,99	±	0,02

E: Enlem B: Boylam Y: Yükseklik (www.astroloji.com/enlem-boylam) *Ölçüm birimi "mm"dir.

3.2.1. Tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ve çok değişkenli varyans analizi (MANOVA)

Varyans analizinde incelenen morfometrik karakterlerin her biri tek tek ele alınarak gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirildiğinde yalnızca ÖKU (0.001), AKU (0.000), AKG (0.006) ve DU (0.000) gibi karakterlerin grupları birbirinden ayırmak için diğer karakterlere göre daha fazla önemli olduğu görülmüştür ($P<0.01$) (Çizelge 3.4). SPSS paket programında yapılan diskriminant analizine göre belirlenen Çizelge 3.11'deki yapı matrisi incelendiğinde, iki boyutlu ortamda kolonileri birbirinden ayırmada etkili olan ilk iki fonksiyon üzerinde de bu dört morfolojik karakterin etkili olduğu görülür.

Çizelge 3.4. ANOVA ile grupların karşılaştırılması

	Guplar arası	Kareler top.	sd	Kareler ort.	F	P
ÖKU	"	.872	8	.109	3.693	.001*
ÖKG	"	.098	8	.012	1.642	.116
A	"	.013	8	.002	1.492	.163
B	"	.001	8	.000	.235	.984
Kİ	"	.512	8	.064	.646	.738
AKU	"	.866	8	.108	5.891	.000*
AKG	"	.050	8	.006	2.835	.006*
FU	"	.113	8	.014	1.737	.093
TU	"	.099	8	.012	.963	.467
BU	"	.056	8	.007	1.319	.237
BG	"	.061	8	.008	1.772	.086
DU	"	8.040	8	1.005	4.012	.000*

* $P<0.05$

Karakterlerin her biri bakımından hangi grupların birbirinden farklılığının önemli olduğunu belirlemek için ise Post-Hoc test analizi ile grupların ikili karşılaştırmaları yapılmıştır. ÖKU bakımından Trakya grubu ile Batı Karadeniz ve Doğu Karadeniz grupları arasındaki farklılık sırasıyla 0.37 ve 0.007 düzeyinde önemli bulunurken; Ege grubu ile Doğu Karadeniz grubu arasındaki farklılık 0.021 düzeyinde önemli bulunmuştur ($P<0.05$). AKU bakımından Doğu Karadeniz grubu ile Trakya grubu Marmara grubu, Ege grubu, Doğu Anadolu ve Akdeniz grupları arasındaki farklılık sırasıyla 0.000, 0.001, 0.000, 0.003 ve 0.000

düzeyinde önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). AKG bakımından Akdeniz grubu ile Marmara ve Doğu Karadeniz grubu arasındaki farklılık sırasıyla 0.015 ve 0.017 düzeyinde önemli bulunurken ($P < 0.05$); DU bakımından Marmara grubu ile Doğu Karadeniz ve Akdeniz grupları arasındaki farklılık ise 0.011 ve 0.014 düzeylerinde önemli bulunmuştur.

Tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ile gruplar, her bir morfolojik karakter tek tek ele alınarak karşılaştırılmaktadır. Ancak morfolojik karakterlerin birbirleri ile olan ilişkisi bilindiğinden tüm karakterlerin aynı anda değerlendirildiği çok değişkenli varyans analizi (MANOVA)'ne göre yapılan değerlendirmeler daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu nedenle gruplar bütün değişkenler bazında ortalamalarının aynı olup olmadığı bakımından test edilmiştir. Özelliklerin tümü aynı anda dikkate alındığında hangi grupların birbirlerinden farklı olduğunu belirlemek için çok değişkenli varyans analizi (MANOVA) yapılmıştır. Koloni ortalamaları esas alınarak dört farklı test ölçütüne (Pillai's Trace, Wilks' Lambda, Hotelling's Trace, Roy's Largest Root) göre yapılan değerlendirme sonucu en az bir karakter bakımından grup ortalamaları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.001$) (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. SPSS ve S-PLUS paket programlarında farklı test ölçütlerine göre bölgesel grupların karşılaştırılması

Gruplar	Test türü	İsta. Değ.	F	Sd ₁	Sd ₂	p
	Pillai's Trace		1.794	3.527	108.000	1530.000
		0.8762	1.7322	96	1352.0	0.000028238
Wilks' Lambda		.000	30.491	108.000	1191.899	.000
		0.3735	1.8063	96	1101.6	0.000008172
Hotelling's Trace		6397.617	9491.116	108.000	1442.000	.000
		1.1182	1.8665	96	1282.0	0.000002047
Roy's Largest Root		6396.626	90618.864	12.000	170.000	.000
		0.4630	6.5201	12	169.0	0.000000002

Sd₁ ,hip. serbestlik derecesi, Sd₂, hata serbestlik derecesi Birinci satırdaki değerler SSPS paket programında elde edilen değerler, ikinci satırdaki değerler ise S-PLUS paket programında belirlenen değerler

Dört farklı test ölçütüne göre grup ortalamalarının birbirinden farklı olduğu belirlendikten sonra S-PLUS paket programında Hotelling T² 'ye göre grupların ikili karşılaştırmaları yapılmıştır. Çizelge 3.6.'da yalnızca ortalamaları arasındaki fark önemli olan gruplar ve bu grupların F test ve P önem düzeyine ilişkin sonuçlar verilmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 3.6. Hotelling T² 'ye göre grup ortalamalarının karşılaştırılması

Gruplar	F	sd1	sd2	P
A-DK	2.597	12	162	0.0034
A-E	1.929	12	162	0.0342
A-M	2.963	12	162	0.0009
BK-E	1.820	12	162	0.0487
BK-T	1.994	12	162	0.0277
DA-DK	2.750	12	162	0.0020
DK-E	3.947	12	162	0.0000
DK-M	4.250	12	162	0.0000
DK-T	4.540	12	162	0.0000
GDA-M	1.895	12	162	0.0382
M-T	2.479	12	162	0.0052

Ortalamaları arasındaki fark istatistik'i bakımdan önemli bulunan grupların hangi karakterlere göre farklı olduğu ise S-PLUS paket programında Hotelling T² 'ye göre sidak metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu metoda göre grup ortalamaları %95 güven aralığında sıfırı içeren gruplar aynı, içermeyenler farklıdır (Çizelge 3.7.). Başka bir ifadeyle birinci ve ikinci grubun ortalaması aynı ise gruplar birbirinden farksız demektir. Bu ifade $H_0:\mu_1-\mu_2=0$ şeklinde formülize edilebilir.

Çizelge 3.7. %95 Güven aralığında Sidak metodu ile tüm karakterler için grupların çoklu karşılaştırılması

karakterler	Gruplar	Tahmin edilen değer	Standart hata	Alt sınır	Üst sınır	Önem düzeyi
ÖKU	DK-T	0.17800	0.04720	0.0408	0.3140	****
ÖKU	BK-E	0.18700	0.0612	0.0099	0.3650	****
ÖKU	BK-T	0.17400	0.0535	0.0186	0.3290	****
ÖKU	A-DK	-0.17900	0.0601	-0.3530	-0.0052	****
AKU	A-DK	-0.23200	0.0474	-0.3700	-0.0950	****
AKU	DK-DA	-0.17500	0.0435	-0.3010	-0.0486	****
AKU	DK-E	0.19100	0.0558	0.0297	0.3530	****
AKU	DK-E	0.22500	0.0440	0.0970	0.3520	****
AKU	DK-T	0.22400	0.03730	0.1160	0.3320	****
AKU	DK-M	0.17000	0.0397	0.0548	0.2850	****
AKG	A-M	-0.05180	0.0146	-0.0942	-0.0094	****
AKG	A-DK	-0.05750	0.0164	-0.1050	-0.0098	****
DU	A-E	0.59000	0.1710	0.0946	1.0900	****
DU	DK-M	0.53200	0.1470	0.1070	0.9570	****
DU	DK-E	0.56900	0.1630	0.0979	1.0400	****
DU	A-M	0.55300	0.1560	0.1010	1.0000	****

**** P<0.000

3.2.2. Ayrışım fonksiyon analizi

3.2.2.1. Koloni ortalamalarına göre ayrışım fonksiyon analizi

Koloni ortalamalarına göre dokuz coğrafik bölge populasyonun 12 morfolojik karakterlerine ilişkin tanımlayıcı (descriptive) değerler ve genel ortalamaları Çizelge 3.8.'de verilmiştir. Buna göre Güneydoğu Anadolu populasyonu (GDA) en kısa ön kanat uzunluğu (ÖKU: 8.896)'na sahipken Doğu Karadeniz (DK) populasyonu en uzun kanat uzunluğu (9.141)'na sahip bulunmuştur. Arka kanat uzunluğu (AKU) ve arka kanat genişliği (AKG)

bakımından ise en yüksek ortalama (6.538, 1.908) Doğu Karadeniz popülasyonu için tespit edilirken, en düşük ortalama (6.306, 1.850) Akdeniz popülasyonu için tespit edilmiştir. Dil uzunluğu bakımından ise en düşük ortalama Marmara grubunda görülürken en yüksek ortalama İç Anadolu grubunda görülmüştür. Bu sonuçlara göre Doğu Karadeniz grubu kanat uzunlukları bakımından diğer gruplardan daha yüksek bir ortalamaya sahipken Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu daha düşük bir ortalamaya sahiptir.

Genel bir değerlendirme yapıldığında Anadolu'daki bal arılarının morfometrik karakterler bakımından geniş bir varyasyon gösterdikleri ve stabil olmadıkları anlaşılmaktadır. (Kandemir ve ark. 2005, Dodoloğlu ve Genç 2004, Güler ve ark 1999 ve Kaftanoğlu ve ark., 1993). En yüksek dil uzunluğu (DU:6.83) Çorum ili için tespit edilmiştir. Ancak buradan örnek alınan arıcının bildirişine göre burada Kafkas ırkının yetiştiriciliği yapılmaktadır. 6.83 değeri Ruttner'ın *A. m. caucasica* ve *A. m. armeniacacaca* için bildirmiş olduğu 7.05-6.65 değerleri arasında yer almaktadır. En düşük kübital indeks değeri Bartın ili için tespit edilmiş olup Ruttner'ın *A. m. adami* için bildirdiği kübital indeks değeri ile birebir aynıdır. En büyük ÖKU (9.27) değeride Bartın ili için tespit edilmiştir

Çizelge 3.8. Dokuz coğrafik bölge popülasyonun morfolojik karakterlerine ilişkin ortalama değerleri ve standart hataları

Karakter	Trakya		Marmara		İç Anadolu		Ege		B. Karadeniz		D. Karadeniz		D.Anadol		Akdeniz		G.D.Anado	
	ort	S. Sap	ort	S. Sap	ort	S. Sap	ort	s. sap	ort	S. Sap	ort	S. Sap	Ort	S. Sap	ort	S. Sap	ort	S. Sap
*ÖKU	8.963	0.120	9.030	0.168	9.007	0.124	8.950	0.169	9.137	0,120	9.141	0.301	9.058	0.194	8.961	0.135	8.896	0.211
*ÖKG	3.145	0.059	3.146	0.134	3.146	0.079	3.121	0.057	3.188	0,047	3.195	0.079	3.170	0.072	3.145	0.096	3.111	0.130
*a	0.551	0.038	0534	0.034	0.520	0.028	0.541	0.031	0.532	0,029	0.530	0.028	0.541	0.024	0.535	0.032	0.551	0.038
*b	0.243	0.024	0.242	0.027	0.241	0.021	0.242	0.029	0.248	0,035	0.248	0.022	0.244	0.024	0.240	0.029	0.245	0.033
Kİ	2.309	0.230	2.264	0.279	2.207	0.242	2.311	0.300	2.230	0,325	2.185	0.285	2.273	0.240	2.306	0.337	2.323	0.378
*AKU	6.314	0.144	6.368	0.149	6.430	0.123	6.315	0.108	6.435	0,124	6.538	0.080	6.363	0.150	6.306	0.140	6.372	0.145
*AKG	1.884	0.043	1.902	0.050	1.878	0.017	1.872	0.029	1.891	0,048	1.908	0.039	1.894	0.040	1.850	0.073	1.847	0.079
*FU	2.652	0.076	2.678	0.094	2.707	0.065	2.694	0.048	2.690	0,091	2.714	0.073	2.664	0.097	2.664	0.111	2.648	0.127
*TU	3.125	0.123	3.161	0.109	3.213	0.109	3.125	0.122	3.153	0,088	3.151	0.063	3.166	0.121	3.121	0.122	3.165	0.136
*BU	2.074	0.073	2.120	0.079	2.087	0.071	2.098	0.060	2.092	0,070	2.064	0.063	2.089	0.087	2.080	0.072	2.075	0.040
*BG	1.173	0.062	1.210	0.075	1.232	0.087	1.188	0.045	1.189	0,059	1.207	0.049	1.162	0.066	1.178	0.085	1.197	0.066
*DU	6.016	0.452	5.743	0.38	6.320	0.252	5.787	0.434	6.055	0,766	6.274	0.586	5.898	0.505	6.295	0.422	6.313	0.634

*Ölçüm.birimi.“mm” dir.

MANOVA sonuçlarından grupların morfometrik bakımdan birbirlerinden farklılığı hakkında genel bilgi edinmek mümkün olmuştur. Ancak bireylerin ve kolonilerin çok boyutlu ortamda gruplara dağılımını belirlemek için diskriminant analizi yapılmıştır. Diskriminant analizinde öncelikle koloni ortalamaları esas alınarak varyasyonun büyük bir kısmını izah edebilecek düzeyde anlamlı daha az sayıda ayırıcı karakterler tespit edilmiştir. Grupların morfolojik açıdan ayırımında daha fazla önemli olan karakterler, Wilk's lambda değerleri, F test ve F önem düzeyine ilişkin değerler Çizelge 3.9 verilmiştir.

Çizelge 3.9. Morfolojik karakterlerin Wilk's lambda değerleri F test ve F önem düzeylerine ilişkin değerleri

Karakterler	Wilks' Lambda değeri	F değeri	Önem düzeyi
ÖKU	.854	3.693	.001*
ÖKG	.929	1.642	.116
a	.935	1.492	.163
b	.989	.235	.984
Kİ	.977	.520	.840
AKU	.786	5.891	.000*
AKG	.884	2.835	.006*
FU	.926	1.737	.093
TU	.957	.963	.467
BU	.943	1.319	.237
BG	.924	1.772	.086
DU	.844	4.012	.000*

Koloni ortalamalarına göre diskriminant analizinde grupların ayırımını yapmak için, arka kanat uzunluğu (AKU), dil uzunluğu (DU), ön kanat uzunluğu (ÖKU) ve arka kanat genişliği (AKG) sırasıyla 0.000, 0.000, 0.001 ve 0.006 düzeyinde daha fazla önemli bulunmuştur. Populasyonları ayırmada etkili olan karakterler ve önem düzeyleri belirlendikten sonra 9 coğrafik bölge populasyonun 12 morfolojik karaktere göre sınıflandırılmalarını sağlayan diskriminant fonksiyonları belirlenmiştir. Analize giren fonksiyon sayıları, değişkenlere ait kanonik diskriminant fonksiyonlarının göreceli önemleri,

özdeğerleri (eigen), izah edilen varyans yüzdeleri, yığılmalı varyans yüzdeleri ve kanonik korelasyon düzeyleri koloni ortalamalarına göre belirlenmiş ve Çizelge 3.10.'da sunulmuştur.

Çizelge 3.10. Morfometrik karakterler için populasyon düzeyinde belirlenen özdeğerler, fonksiyonlara tekabül eden varyans düzeyleri, yığılmalı varyans ve kanonik korelasyon değerleri

Fonksiyon sayısı	Özdeğeri	Varyasyon düzeyi	Yığılmalı varyasyon	Kanonical korelasyon	Wilk's lambda değeri	Önem düzeyi(p)
1	.463	41.4	41.4	.563	.374	.000*
2	.280	25.0	66.4	.468	.546	.025*
3	.137	12.2	78.7	.347	.699	.441
4	.102	9.1	87.8	.304	.795	.719
5	.089	8.0	95.8	.286	.876	.893
6	.024	2.1	97.9	.153	.954	.995
7	.022	2.0	99.9	.146	.977	.984
8	.002	.1	100.0	.039	.998	.998

*P<0.05

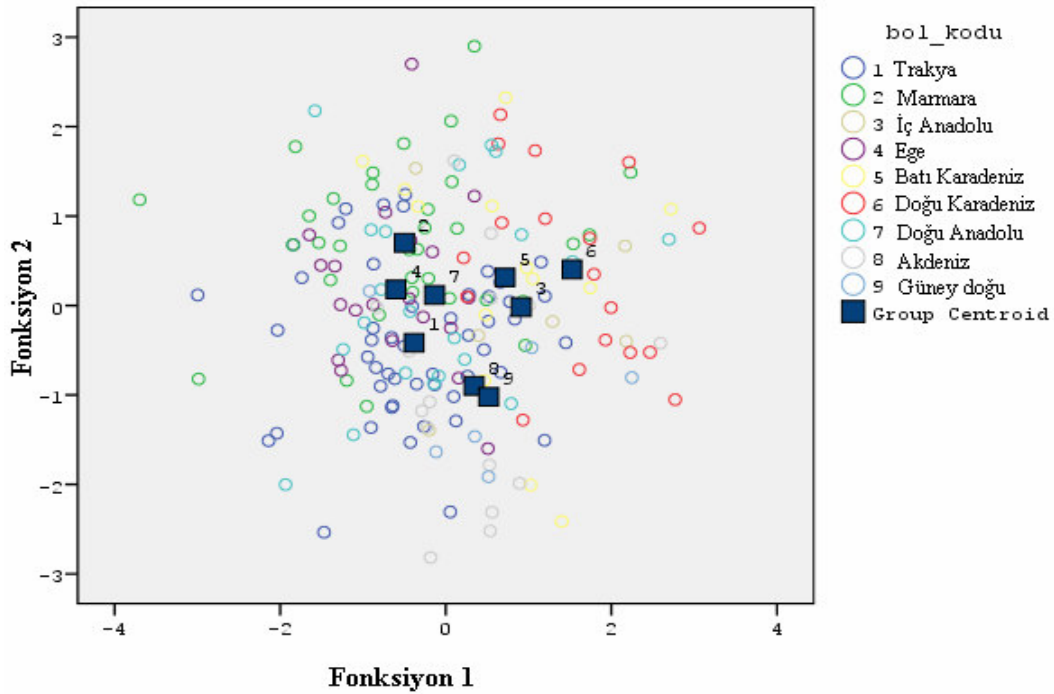
Çizelge 3.10. incelenirse ilk 8 diskiriminant fonksiyonu analize girmiş fakat yalnızca ilk iki fonksiyon sırasıyla 0.000 ve 0.025 düzeyinde önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Çizelge 3.11'de verilen yapı matrisi incelendiğinde birinci diskiriminant fonksiyonu üzerinde AKU ve DU'nun; ikinci diskiriminant fonksiyonu üzerinde ise ÖKU ve AKG 'nin etkili olduğu görülür. 0.000 ve 0.025 düzeyinde anlamlı olan bu iki fonksiyon toplam varyasyonun %66.4'ünü açıklamaktadır.

Çizelge 3.11. Koloni ortalamalarına göre analize giren fonksiyonlara ilişkin yapı matrisi

	Fonksiyonlar							
	1	2	3	4	5	6	7	8
AKU	.647(*)	.494	-.089	-.168	-.185	.344	-.077	-.163
DU	.501(*)	-.466	-.040	-.233	.033	-.257	.216	.065
AKG	.049	.565(*)	-.442	-.231	-.298	-.057	.117	.036
ÖKU	.386	.500(*)	-.440	.159	.160	-.035	.104	.410
ÖKG	.282	.170	-.463(*)	.063	.069	-.162	.127	.114
FU	.152	.303	.405(*)	.360	-.226	-.254	-.308	.277
BU	-.169	.303	.132	-.123	.435(*)	.041	.235	-.222
a	-.202	-.295	-.253	-.051	-.312	.570(*)	.034	.208
TU	.111	.181	-.026	-.372	.323	.035	-.517(*)	.480
BG	.127	.308	.508	-.301	-.006	-.093	.353	.534(*)
b	.105	.034	-.161	-.016	-.049	.247	.037	.364(*)
Kİ	-.174	-.181	.034	.052	-.004	.133	.020	-.201(*)

*Fonksiyonları temsil eden morfometrik karakterleri göstermektedir

İlk iki fonksiyon üzerinde etkili olan bu karakterlerin önemliliği ilk başta yapılan ANOVA ile desteklenmiştir.



Şekil 3.2. Morfometrik özelliklere ilişkin ilk iki fonksiyona göre kolonilerin dağılımını gösteren serpilme diyagramı

Diskriminant analizinin son aşamasında ilk iki kanonik diskriminant fonksiyonu esas alınarak serpilme diyagramı çizilmiştir (Şekil 3.2.). Bu diyagramda ilk iki diskriminant fonksiyonuna göre kolonilerin iki boyutlu ortamda dağılımı görülmektedir. Bölgesel grupların ayırımında etkili olan ilk iki fonksiyondan birinci fonksiyon toplam varyasyonun %41.4'ünü, ikinci fonksiyon ise %25'ini açıklamaktadır. Serpilme diyagramı incelenecek olursa ilk yedi grubun grup merkezlerinin birbirinden tamamen ayrıldığı, ancak sekizinci grubun (Akdeniz popülasyonu) grup merkezinin dokuzuncu grup (Güney doğu Anadolu popülasyonu) tarafından örtüldüğü görülür. *A. m. anatoliaca*'yı temsil eden İç Anadolu grubu *A. m. meda*'yı temsil eden ve birbiriyle örtüşerek tek bir grubu temsil eden Akdeniz-Güneydoğu Anadolu grubu ile *A. m. caucasica*'yı temsil eden Doğu Karadeniz ve Batı Karadeniz grubunun merkezinde yer almıştır Türkiye'nin batı popülasyonlarını oluşturan Trakya (1), Marmara (2) ve Ege popülasyonlarının grup merkezleri birbirine diğer gruplara olandan daha fazla yakındır. Buradan anlaşılacağı üzere Anadolu'nun doğu ve batı popülasyonları birbirlerinden tamamen farklıdır.

Serpilme diyagramında grup merkezlerinin birbirinden ayrılması popülasyonları oluşturan genel olarak kendi grubunu temsil ettiğini göstermektedir Ancak aynı popülasyonları temsil eden kolonilerin sıkı bir kümeleşme oluşturduğu sınırlarla belirlenebilecek bir ayırışım olmamıştır. Serpilme diyagramı üzerinde farklı coğrafik gruplara ait koloniler arasında önemli derecede iç içe girmeler olmuştur. Ancak serpilme diyagramı örnek alınan arıcıların bildirişleri, regresyon analizinin sonuçları, gruplar içi örnekleme yapılan lokal bölgelerin coğrafik konumları göz önünde tutularak değerlendirildiği zaman koloniler arası iç içe geçmelerin bu faktörler nedeniyle meydana gelen doğal bir sonuç olduğu anlaşılmıştır.

Günümüz ticari yetiştiricilik koşullarında Türkiye'nin bal arısı çeşitliliğinin göçer arıcılık ve ticari ana arı yetiştiriciliğinden etkilenmemesi mümkün değildir. Bölümün başında örnek alınan arıcılara uygulanan anket çalışmasının genel değerlendirilmesi verilmiştir. Buna göre arıcıların önemli derecede Kafkas ırkına yöneldiği ve ticari olarak ana arı satın alırken de yine Kafkas ana arısını tercih ettiği görülmektedir. Doğu Anadolu grubunun Batı grubuyla birlikte yer alması da göçer arıcılığın bir sonucu olarak yorumlanmıştır

Ayırma fonksiyonlarına göre tahmin edilen grup üyelikleri ve gerçek grup üyelikleri arasındaki uyum ise Çizelge 3.12.'de özetlenmiştir. Koloni ortalamalarına uygulanan diskriminant analizi sonucuna göre tüm kolonilerden (182) %62.1'i ait oldukları gruba girmişlerdir. Sırasıyla grup üyelikleri Trakya %74, Marmara %52, İç Anadolu %50, Ege %55, Batı Karadeniz %54 Doğu Karadeniz %78, Doğu Anadolu %52, Akdeniz % 47 ve

Güneydoğu Anadolu için %100 bulunmuştur. Trakya bölgesindeki 50 koloniden 37'si kendi grubuna girerken 3'er koloni Marmara ve Doğu Anadolu bölgesine, 2'şer koloni İç Anadolu, Ege bölgesi ve Güneydoğu Anadolu bölgesine 1 koloni de Akdeniz bölgesine girmiştir. Güneydoğu Anadolu'dan alınan tüm örnekler kendi grubunda kaldığından grup üyeliği %100 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.12. Bölgeleri temsil eden kolonilerin ayrışım fonksiyon analizinin sonuçlarına göre sınıflandırılması

Böl. Kodu	Tahmin Edilen Grup Üyeliği									Toplam
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	37 %74	3	2	2	0	0	3	1	2	50
2	6	17 %52	1	2	0	2	4	0	1	33
3	1	0	3 %50	0	0	0	0	0	2	6
4	7	0	0	11 %55	0	0	0	1	1	20
5	0	2	0	1	7 %54	0	0	1	2	13
6	0	0	2	1	0	14 %78	1	0	0	18
7	6	2	0	1	0	1	11 %52	0	0	21
8	2	2	0	1	1	0	2	7 %47	0	15
9	0	0	0	0	0	0	0	0	6 %100	6

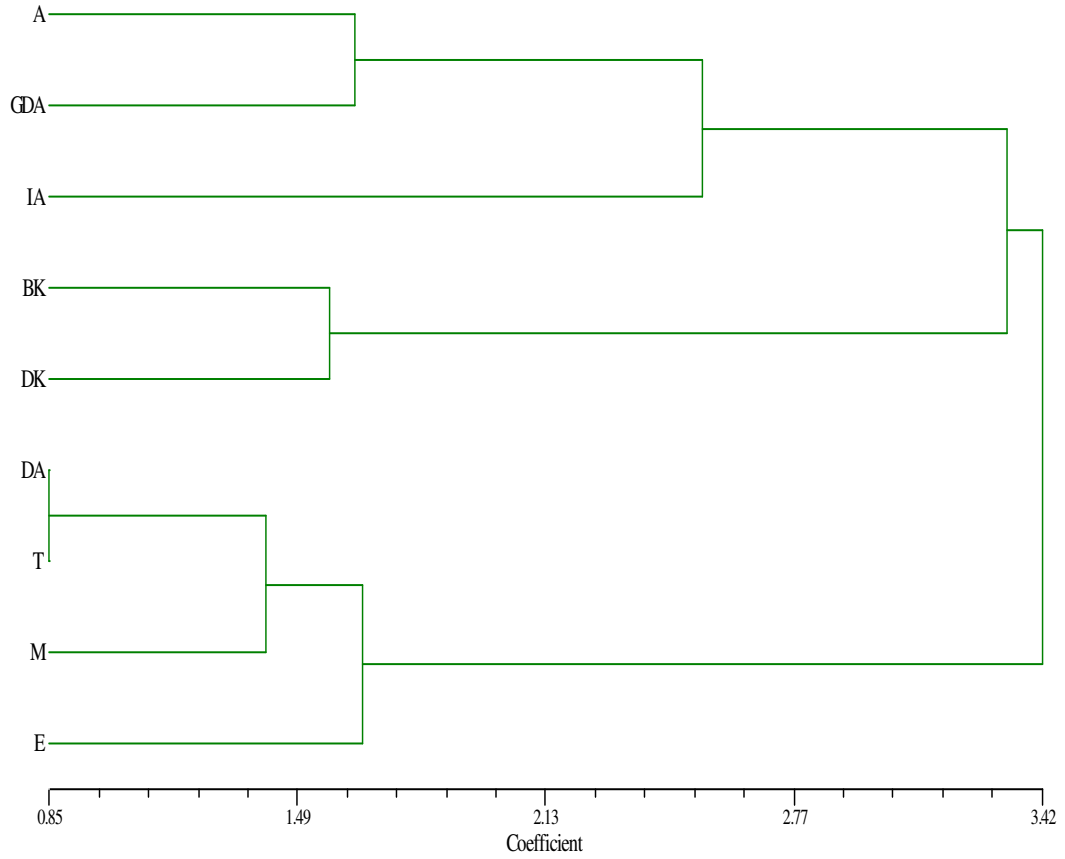
a % 62,1Tahmin edilen grup üyeliği

3.2.2.2. Kümeleme analizi

Son olarak S-PLUS paket programında grup ortalama vektörleri arasındaki mesafenin ölçüsü olan mahalnobis uzaklıkları (D^2) hesaplanarak grupların ikili karşılaştırmaları yapılmış ve mahalnobis uzaklıklarına ilişkin matris kullanılarak UPGMA metoduna göre dendogram çizilmiştir (Çizelge 3.13. ve Şekil 3.3.).

Çizelge 3.13. Mahalonobis Uzaklıkları

	A	BK	DA	DK	E	GDA	M	T	IA
A	0								
BK	1.985667	0							
DA	2.149421	1.176641	0						
DK	4.067983	1.572698	3.63679	0					
E	2.885236	2.960477	2.00066	5.339902	0				
GDA	1.63551	3.883875	3.931268	4.639567	4.404063	0			
M	3.683004	2.327158	1.211589	4.677167	1.405681	4.785421	0		
T	1.651098	2.476973	0.84558	4.395976	1.564641	2.77466	1.598648	0	
IA	2.721619	2.971183	3.571975	2.407653	4.438856	2.350591	3.456269	3.589555	0



Şekil 3.3. Dokuz popülasyon için mahalonobis uzaklıklarına göre çizilen dendogramı

(DA:Doğu Anadolu, T:Trakya, BK:Batı Karadeniz, M:Marmara, E: Ege DK: Doğu Karadeniz, A:Akdeniz, GDA:Güneydoğu Anadolu, İA:İç Anadolu)

UPGMA metoduna göre 3 ana *Apis mellifera* grubu belirlenmiştir (Şekil 4.3.). Bu gruplardan birinde *A. m. caucasica*'yı temsil eden Doğu Karadeniz (DK), Batı Karadeniz (BK) ile birlikte bir grup oluşturmuştur. Diğer grupta *A. m. anatolica*'yı temsil eden İç Anadolu (İA), *A. m. meda*'yı temsil eden Akdeniz (A) ve Güneydoğu Anadolu (GDA) ile birlikte diğer grubu oluşturmuştur. Son grupta ise Ege (E) ve buna bağlı Marmara (M), Trakya (T) ve Doğu Anadolu (DA) popülasyonlarının bulunduğu görülmektedir. Ağaç dikkatli incelendiğinde *A. m. anatolica* grubunun *A. m. meda* grubu ile birlikte bir grup olduğu ve *A. m. caucasica* grubuna çok yakın olduğu görülmektedir. Türkiye'nin batı popülasyonunu temsil eden üçüncü grubun ise her iki gruptan da çok ayrı bir grup olduğu göze çarpıyor. Ruttner (1988a), Türkiye'nin kuzeydoğu'sunda *A. m. caucasica*, güneydoğu'sunda *A. m. meda*, Orta Anadolu'da *A. m. anatolica* olmak üzere üç temel ırk olduğunu Türkiye'nin batısında (İstanbul-Bursa-Eskişehir-Isparta hattının batısı) ise *A. m. anatolica*'dan farklı bir ekotip olduğunu bildirmiştir. Ayrıca daha o dönemlerde yapılan gruplamada da *A. m. meda* ve *A. m. anatolica*'nın kısmen örtüştüğü bildirilmiştir. Bu dendogram bazı farklılıklar dışında Ruttner (1988a)'ın bildirişi ile tamamen uyumlu bulunmuştur. Bu farklılıklardan bazıları şunlardır. Doğu Anadolu (DA) ve Trakya (T) birlikte bir grup oluşturmuştur. Bu durumun göçer arıcılığın bir sonucu olabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan Doğu Karadeniz (DK)'in Batı Karadeniz (BK) ile birlikte bir grup oluşturması Kafkas ırkının yetiştiriciliğine ağırlık verilmesinin etkisi olabilir. Sonuç olarak bu ağaç ve kolonilerin çok boyutlu ortamda dağılımı birlikte değerlendirildiğinde ticari ve göçer arıcılığa rağmen Türkiye bal arısı çeşitliliğinin yok olmadığı söylenebilir.

Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesinin grup merkezleri birbirleri ile çakışmıştır. Rutner (1988a)'ın bildirişleri göz önünde tutulursa Akdeniz ve Güneydoğu'dan örnek alınan coğrafik alan *A. m. syriaca* ile *A. m. meda* ve hatta *A. m. anatolica*'nın örtüştüğü çok hassas bir coğrafik alandır. Dolayısıyla bu iki popülasyonun grup merkezlerinin birbirleri ile çakışması ve birlikte bir grup oluşturmaları Ruttner (1988a) bildirişi ile uyumludur.

3.2.2.3. Örnek değerlerine göre ayrışım fonksiyon analizi

Çalışmada 55 lokal popülasyondan örnekleme yapıldığı belirtilmiştir. Dolayısı ile bu lokal popülasyonların birbirlerinden farklılığı sorgulanabilir düşüncesiyle 55 lokal popülasyon

için ayrıca diskriminant fonksiyon analizi yapılmıştır. Ancak bu defa her bir lokal bölgeye ilişkin koloni sayısının az olması göz önünde tutularak koloni ortalamaları yerine örnek değerleri esas alınmıştır. Diskriminant analizinin uygulanması sonucunda 55 lokal popülasyonunu morfolojik bakımından ayırmada etkili olan karakterlerin Wilks lambda değerleri, F test ve F önem düzeyine ilişkin değerleri Çizelge 3.14’de verilmiştir. Bireysel verilere göre diskriminant analizinde popülasyonların ayırımını yapmada a damar karakteri 0.02 düzeyinde önemli bulunurken diğer tüm karakterler 0.000 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 3.14. Gruplandırmayı sağlayan morfolojik karakterler, ayırmayı sağladıkları sıra, Wilk’s lambda değerleri F test ve F önem düzeylerine ilişkin değerleri

Karakterler	Wilks’ Lambda	F	p
ÖKU	.853	2.650	.000
ÖKG	.732	5.639	.000
A	.902	1.675	.002
B	.849	2.733	.000
Kİ	.877	2.164	.000
AKU	.728	5.768	.000
AKG	.776	4.464	.000
FU	.772	4.560	.000
TU	.816	3.471	.000
BU	.865	2.403	.000
BG	.805	3.737	.000
DU	.711	6.271	.000

Popülasyonları ayırmada etkili olan karakterler belirlendikten sonra 55 lokal bölge popülasyonun 12 morfolojik karaktere göre sınıflandırılmalarını sağlayan diskriminant fonksiyonları belirlenmiştir. Değişkenlere ait kanonik diskriminant fonksiyonlarının göreceli önemleri, analize giren fonksiyon sayıları, özdeğerleri (eigen), izah edilen varyans yüzdeleri, yığılmalı varyans yüzdeleri ve kanonik korelasyon düzeyleri bireysel verilere göre ayrı ayrı hesaplanarak Çizelge 3.15’de sunulmuştur. Buna göre 12 diskriminant fonksiyonun analize

girdiği ancak ilk 9 fonksiyonun 0.000 düzeyinde, 10. fonksiyonun ise 0.28 düzeyinde anlamlı olduğu görülür ($P < 0.05$).

Çizelge 3.15. Populasyon düzeyinde belirlenen özdeğerler, fonksiyonlara tekabül eden varyans düzeyleri, yığılmalı varyans ve kanonik korelasyon değerleri

Fonksiyon	Özdeğer	% Varyans	Yığılmalı varyans %	Wilks' Lambda	Önem düzeyi(p)	Kanonik korelasyo
1	.637	23.9	23.9	.100	.000	.624
2	.465	17.4	41.4	.164	.000	.563
3	.314	11.8	53.1	.240	.000	.489
4	.271	10.2	63.3	.315	.000	.462
5	.198	7.4	70.7	.401	.000	.407
6	.184	6.9	77.6	.480	.000	.394
7	.157	5.9	83.5	.568	.000	.368
8	.124	4.6	88.2	.658	.000	.332
9	.111	4.2	92.4	.739	.000	.317
10	.082	3.1	95.4	.821	.028	.275
11	.066	2.5	97.9	.888	.163	.250
12	.055	2.1	100.0	.947	.347	.229

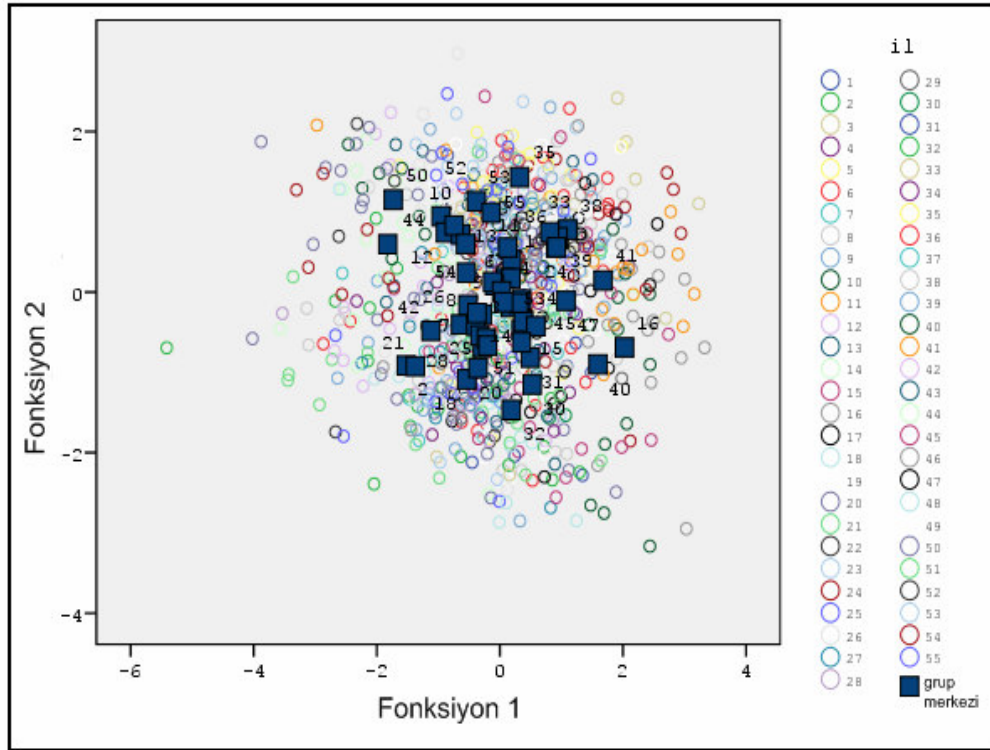
Çizelge 3.16.'daki yapı matrisine göre birinci diskriminant fonksiyonu üzerinde AKU, ikinci fonksiyon üzerinde DU, üçüncü fonksiyon üzerinde ÖKG, dördüncü fonksiyon üzerinde BG, beşinci fonksiyon üzerinde TU, altıncı fonksiyon üzerinde b damar uzunluğu, yedinci fonksiyon üzerinde FU, sekizinci fonksiyon üzerinde BU, dokuzuncu fonksiyon üzerinde AKG ve onuncu fonksiyon üzerinde a damar uzunluğunun etkili olduğu görülmektedir. Anlamlı bulunan bu on fonksiyon toplam varyasyonun %95.4'ünü açıklamaktadır.

Çizelge 3.16. Analize giren fonksiyonlara ilişkin yapı matrisi

	Fonksiyonlar											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AKU	.629(*)	.045	-.526	.175	.008	.222	.057	-.031	-.146	-.095	-.323	.327
DU	.305	.808(*)	-.044	-.150	.061	-.418	-.031	.034	.105	-.121	.131	-.076
ÖKG	.535	.026	.557(*)	.504	-.076	-.063	.150	-.160	-.162	.179	-.179	-.006
BG	.366	-.167	.155	-.488(*)	.199	-.144	-.410	.150	-.437	.313	.064	.180
TU	.275	.028	.182	.030	.845(*)	.306	-.086	.036	-.124	-.167	.118	-.128
b	.188	.188	.201	-.091	-.271	.564(*)	-.195	.517	.031	-.107	-.240	-.337
FU	.457	-.256	.113	-.415	.305	-.051	.526(*)	.261	.305	-.088	.012	.020
BU	.075	-.137	-.141	.265	.342	-.370	-.010	.680(*)	-.089	.297	-.231	-.142
AKG	.506	-.197	-.064	.373	-.023	-.037	-.465	.024	.517(*)	-.092	.188	.178
a	-.109	.159	.045	-.003	.246	.129	-.041	-.153	.439	.600(*)	-.477	.280
ÖKU	.390	-.069	-.196	.079	-.034	.120	.053	-.270	.004	.528	.122	-.644(*)
Kİ	-.203	-.025	-.144	.106	.342	-.312	.193	-.418	.185	.479	.071	.481(*)

* fonksiyonları temsil eden değişkenleri göstermektedir.

İki boyutlu ortamda illerin dağılımını gösteren serpilme diyagramı ilk iki kanonik diskriminant fonksiyonu esas alınarak çizilen diskriminant fonksiyonu esas alınarak çizilmiştir.



Şekil 3.4. Morfometrik özelliklere ilişkin İlk iki fonksiyona göre arıların dağılımına ilişkin serpilme diyagramı

Serpilme diyagramı üzerin de örnek değerlerine göre illerin dağılımı incelendiğinde Düzce (16), Balıkesir (21) ve Hayrabolu (2), Lüleburgaz (7), Aydın (30), Osmaniye (50), Trabzon (40), Artvin (41), ve Zonguldak (32), Bingöl (44) populasyonlarının kenara ait ayrı gruplar oluşturduğu görülmüştür.

Batı Karadeniz'i temsil eden lokal bölge populasyonlarının herbiri (Çorum (35), Çankırı (31), Zonguldak (32)) ayrı ayrı gruplar oluşturmuşlardır. Ağrı (47) ve Elazığ (45) ve Sinop (34) populasyonları birlikte bir grup oluşturmuştur. Mersin (51) ve Isparta (49) ayrı ayrı farklı gruplarda yer alırken Osmaniye (50), Adana (52) ve Maraş (53) birlikte bir grup oluşturmuşlardır. Diyarbakır (55) Akdeniz grubu ile birlikte bir grup oluştururken Adıyaman (54) populasyonun bunlardan ayrı bir grup oluşturduğu görülmektedir.

Ayırma fonksiyonlarına göre tahmin edilen grup üyelikleri ve gerçek grup üyelikleri arasındaki uyum belirlenerek Çizelge 3.17.'de özetlenmiştir. Bireysel veriler esas alınarak yapılan diskriminant analizi sonucuna göre tahmin edilen grup üyeliği % 83 bulunmuştur. Yani bireylerin büyük bir çoğunluğu gözlemlenen ait oldukları gruba girmişlerdir. Grup üyeliği %100 olan lokal bölgeler Malkara, Hayrabolu, Meriç, Kocahıdır, İpsala, Düzce, Çanakkale, Aksaray, Aydın, Zonguldak, Çorum, Gümüşhane, Bayburt, Giresun, Erzincan, Ağrı, Malatya, Mersin ve Adana'dır.

3.2.3. Regresyon analizi

Mahalonobis uzaklıklarına göre çizilen ağaç (dendogram) Ruttner (1988)'ın bildirişi ile uyumlu olarak Türkiye'de dört temel *Apis mellifera* ırkının (*A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* ve Batı Anadolu popülasyonu) bulunduğunu göstermiştir. Diskriminat analizine göre kolonilerin çok boyutlu ortamda dağılımı incelendiğinde ise koloniler arasında önemli derecede iç içe geçmeler olduğu gözlenmiştir. Ancak mahalonobis uzaklıklarına göre çizilen ağaç (dendogram) daha 1941'li yıllarda yapılan araştırma sonuçları ile benzerlik gösterdiğine göre farklı popülasyonlara ilişkin koloniler arasında iç içe geçmelerin olması yalnızca göçer ve ticari arıcılığın bir sonucu olamaz. Dolayısıyla gözlenen sonucun Türkiye'nin coğrafik yapısıyla da ilgili olabileceği düşünülmüştür. Önceki araştırma sonuçlarında da benzer bildirişlere rastlanmıştır. Farklı bölgelerde olupta benzer iklim koşullarına sahip lokal popülasyonlar morfometrik olarak benzerlik göstermiştir. Bolu iklimin Karadeniz iklimine benzemesi nedeniyle buradan alınan örnekler morfometrik olarak birbirine benzer bulunmuştur (Kandemir ve ark. 2005). Ya da aynı il içerisinde coğrafik yapı farklılığının bulunmasının bir sonucu olarak Artvin yöresinin bal arısıyla ilgili tanımlamada yalnızca Artvin ili sınırları içinde bile morfometrik bakımdan birbirinden farklı *A. m. caucasica* varyetelerinin bulunduğu bildirilmiştir (Güler, 2001).

Bunlara dayanarak incelenen 12 morfolojik karakter bakımından gözlenen varyasyonun enlem boylam ve deniz seviyesinden yükseklikle ilgisini araştırmak üzere regresyon analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3.18'de özetlenmiştir. Buna göre ÖKU, ÖKG, AKU AKG, ve DU gibi karakterlerin enlem ve boylam ile ilgisi önemli bulunurken deniz seviyesinden yükseklik ile ilgisinin önemli olmadığı belirlenmiştir. Dolayısıyla morfolojik yapı bakımından popülasyonların farklılaşmasında coğrafik konumun önemli etkisi olduğu görülmektedir. Çizelge 3.18 incelendiğinde ÖKU, ÖKG, AKU, AKG'nin enlem ile olan ilişkisinin sırasıyla 0.001, 0.018, 0.002 ve 0.002 düzeyinde önemli olduğu görülürken AKU'nun boylam ile ilişkisi 0.000 düzeyinde, DU'nun boylam ile ilişkisi 0.031 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 3.18. Morfolojik karakterlerin enlem, boylam ve yükseklikle ilgisi

Bağımlı değ.	Reg. Sabiti (&)	Enlem	P	Boylam	P	Yükseklik	P
ÖKU	7.118	0.461	0.001*	0,294	0,068	0,175	0,286
ÖKG	2.479	0.342	0.018*	0,245	0,152	0,143	0,413
a	0.504	0.096	0.523	-0,201	0,268	0,305	0,105
b	0.138	0.206	0.175	0.134	0,460	0,030	0,872
Kİ	1.593	0.095	0.534	-0.52	0,776	0,198	0,296
AKU	4.786	0.399	0.002*	0.585	0,000*	-0,177	0,257
AKG	1.416	0.455	0.002*	0.158	0,346	0,046	0,789
FU	2.749	-0.045	0.770	0.058	0,755	-0,044	0,818
TU	2.734	0.162	0.273	0.126	0,478	0,221	0,228
BU	2.074	-0.001	0.996	0.103	0,565	-0,305	0,104
BG	1.101	0.089	0.563	-0.075	0,684	0,052	0,785
DU	3.261	0.161	0.271	0.387	0,031*	-0,120	0,507

▽ * P< 0.05

$Y = \& + b.X$ bu formülde Y bağımlı değişkenleri; X bağımsız değişkenleri (enlem, boylam ve yükseklik); & regresyon sabitini; b ise eğim parametresini ifade ediyor. Formüle göre tabloda yer alan regresyon sabiti bağımsız değişkenin sıfır değeri için bağımlı değişkenin ortalamasıdır.

Bulunulan coğrafik konuma göre önemli derecede değişen bu karakterlerin daha önce ANOVA ve MANOVA'nde de gruplar arasındaki farklılığın oluşmasında da ÖKG hariç en fazla önemli olan karakterler olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu sonuç incelenen populasyonların morfometrik bakımdan ayrılmasında coğrafik konumun önemli bir etken olduğunu desteklemektedir.

3.3. mtDNA Çeşitliliği ile İlgili Bulgular

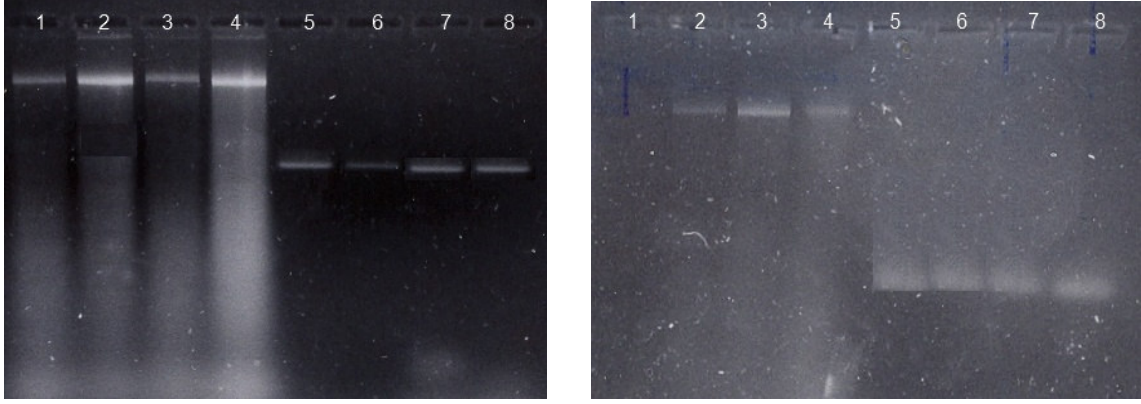
3.3.1. DNA izolasyonu ve PZR sonuçlarının gözlenmesi

55 farklı yerel popülasyonun her birinden 3'er kolonin morfolometrik ölçümleri yapılarak tanımlanmıştır. Muğla, Keşan, Saray, Kırklareli, Bozcaada, Gökçeada'dan ise daha fazla örneğin morfolometrik ölçümleri yapılmıştır. Aynı popülasyonların mtDNA varyasyonu bakımından da tanımlanması için morfolometrik olarak tanımlanmış üç koloniden ikisinin mtDNA genomunun COI ve 16srDNA gen bölgeleri incelenmiştir. Üç koloni arasından ikisinin seçimi Çizelge 3.1'de verilen anket sonuçları göz önünde tutularak yapılmıştır.

Örneğin anket sonuçlarına göre Isparta'daki arıcı örnek alınan kolonilerden birinin Kafkas ırkını diğerlerinin de Anadolu ırkını temsil ettiğini belirtiyor ise iki farklı arı ırkını temsil eden kolonilerin mtDNA bakımından bir farklılık taşıyıp taşımadığı araştırılmıştır.

Her popülasyonu temsilen iki koloniden 1'er işçi arı örneği alınmak suretiyle her defasında 6 popülasyonu temsilen toplam 12 işçi arı örneğinin DNA izolasyonu yapılmıştır. Zaman zaman olumsuz sonuçlanan bazı örneklere ilişkin DNA ekstraksiyonlarının yeniden denenmesi de göz önünde tutulursa 120'den fazla işçi arı örneğinden toplam DNA elde edilmiştir. Materyal metod kısmında gerekçesi belirtildiği gibi moleküler tekniklerin uygulandığı işlemlerin hepsinde örnekler 12'şerli gruplar halinde çalışılmıştır. Her defasında 12 örneğe ilişkin DNA izolasyonun agaroz jel elektroforezi ile test edilmesi zor ve zaman alıcı bir işlemdir. Ayrıca Resim 4.1b'de 1. örnekte olduğu gibi bazen total DNA izolasyonu agaroz jel elektroforezi ile görüntülenemeyen örneklerden de çok iyi PZR ürünü elde edilebilmektedir. Dolayısıyla doğrudan PZR aşamasına geçildi. PZR yapıldıktan sonra tesadüfen seçilen 2 ya da 4 örneğin PZR ürünleri aynı örneklerin DNA izolasyonları ile birlikte %0.8'lik agaroz jel-elektroforezi ile test edildi.

Resim 3.1a'da COI genin PZR ürünleri ve bu PZR ürünlerinin elde edildiği toplam DNA örneklerinin görüntüsü; Resim 3.1b'de ise 16srDNA genin PZR ürünleri ve bu PZR ürünlerinin elde edildiği toplam DNA örneklerinin görüntüsü yer almaktadır.



1. a

b

Resim 3.1. Toplam DNA ve PZR ürünlerinin jelde görüntüsü

- a) 1,2,3,4, Tesadüfen seçilen 4 örneğin total DNA'sı; 5,6,7,8 COI genin PZR ürünleri
b) 1,2,3,4, Tesadüfen seçilen diğer 4 örneğin total DNA'sı; 5,6,7,8 16srDNA genin PZR ürünleri

Yukarıdaki resimlerde bazı örneklerin daha parlak bazı örneklerin ise zayıf bant vermesi DNA miktarları ile ilgilidir. Fakat Resim 3.1a'da daha keskin tek bir bant oluşmasının bu örneklere ilişkin DNA izolasyonlarının DNA doku kiti ile yapılmış olduğundan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Kit ile daha temiz DNA elde edilebiliyor. Dolayısıyla RNA ve protein artıklarının tamamen uzaklaştırıldığı DNA ve bu DNA'lardan elde edilen PZR ürünleri jel üzerinde daha keskin bir görüntüsü oluşturmuştur.

Bu çalışmada kullanılan primerler ile toplam 16800 kb uzunluğunda olan mtDNA genomunun COI geninden 1028 bp uzunluğunda; 1s rDNA geninden ise 968 bp uzunluğunda PZR ürünleri elde edildi. Bu PZR ürünlerinin 13 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonucu bu enzimlerin mtDNA genomu üzerinde toplam 78 nükleotidden ibaret olan 15 tanıma sitesi olduğu DNAfrag 0.3 paket programı ile belirlenmiştir.

3.3.2. Kesilmiş uzunluk parçacıklarının (KPUP) gözlenmesi

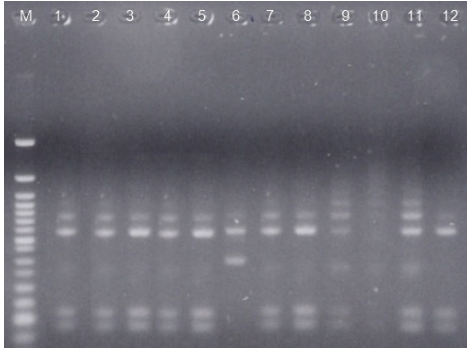
3.3.2.1. COI geni için KPUP

COI geni için 55 farklı popülasyonun herbirinden 2'şer koloni için 8 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi (*SspI*, *Sau3AI*, *FokI*, *Bcl I*, *Nco I*, *StyI*, *BstUI*, *XhoI*) ile kesim yapılmıştır. Eskişehir popülasyonu hariç diğer tüm popülasyonları temsil eden örnekler her bir enzim için A tipinde kesim bir profili oluşturmuştur. Eskişehir popülasyonunda ise *SspI* enzimi için A ve B tipinde iki farklı kesim örüntüsü oluşurken diğer enzim kesimleri bakımından incelenen tüm popülasyonlarda A tipinde kesim profili oluşmuştur. (Çizelge 3.19 ve Resim 3.2).

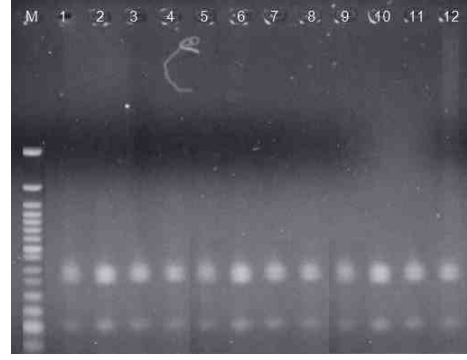
Burada tüm enzimler ile kesim sonucu popülasyonlarda genel olarak görülen kesim örüntüsü A tipi olarak yorumlanırken, A tipinden farklı olarak meydana gelen ikinci bir kesim örüntüsü B tipi olarak yorumlanmıştır.

Çizelge 3.19. COI gen bölgesine uygulanan enzimler, oluşan kesim örüntüsü ve parça uzunlukları

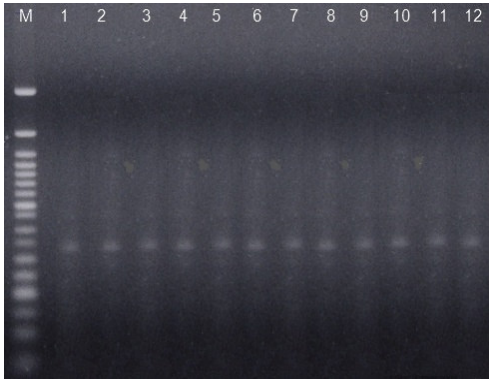
<i>SspI</i>			<i>Sau3AI</i>		<i>FokI</i>		<i>BclII</i>		<i>NcoI</i>		<i>StyI</i>		<i>BstUI</i>		<i>XhoI</i>	
bç	A	B	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A
580		—	371	—	476	—	465	—	1028	—	1028	—	1028	—	616	—
487	—		349	—	425	—	326	—							412	—
439		—	280	—	127	—	237	—								
277	—		28	—												
264	—															



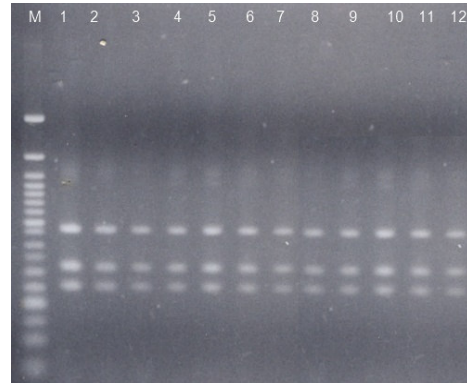
a) COI/*SspI*



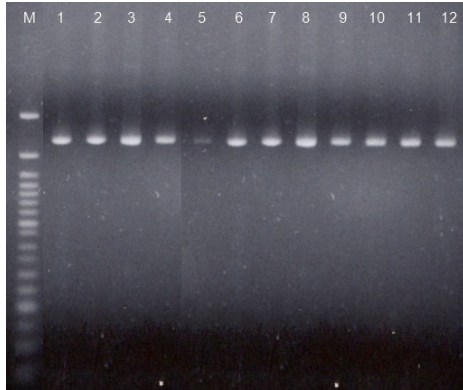
b) COI/*Sau3aI*



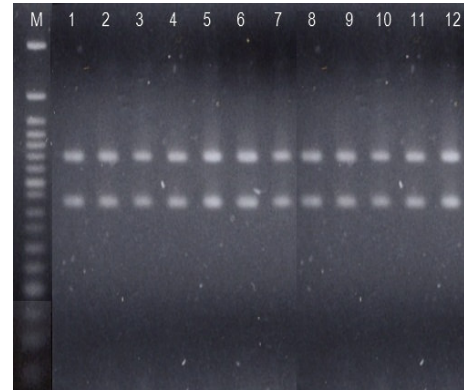
c) COI/*FokI*



d) COI/*BclII*



e) COI/*NcoI*, *StyI*, *Bstul*



f) COI/*XhoI*

Resim 3.2. COI geni için KPUP sonuçları

Burada tezin kapsamını çok fazla genişleteceğinden dolayı 110 örneğe ilişkin KPUP sonuçlarını gösteren jel görüntülerinin tümüne yer verilmemiştir. Yalnızca her bir enzimi temsil eden birer jel görüntüsüne yer verilmiştir.

Resim 3.2a'da *SspI* enziminin COI genin PZR ürünlerine uygulanması sonucu meydana gelen kesim örüntüsü görülmektedir. Bu jel görüntüsündeki 6. örnek Eskişehir popülasyonunu temsil etmektedir. Eskişehir'den alınan örnekler bu enzim ile 580 ve 439 bp uzunluğunda iki bant oluşturmuştur. Diğer tüm örnekler ise 487, 277 ve 264 bp uzunluğunda 3 bant oluşturmuştur.

Resim 3.2b, *Sau3A I* enziminin yine COI genine uygulanması sonucu meydana gelen kesim örüntüsünü göstermektedir. Bu enzimle kesim sonucunda 371, 349, 280 ve 28 bp uzunluğunda 4 bant oluştu. 371 ve 349 bp uzunluğundaki iki bant hemen hemen aynı uzunlukta olduğundan birbirine çok yakındır ve bu nedenle tek bir bant gibi görüntü vermiştir.

Diğer taraftan 28 bp uzunluğundaki bant çok küçük olduğundan çoğu zaman jelde çok net bir görüntü oluşturmamıştır. Ancak bazı jel görüntülerinde ve kesim sonucu oluşan DNA bantlarının uzunlukları DNAfrag-0.3 paket programında hesaplanırken tespit edilmiştir.

Resim 3.3c'de *FokI* ile yapılan kesim sonuçları görülmektedir. Bu enzimle yapılan kesim çalışmasında başlangıçta sürekli sorun yaşanmıştır. Fakat daha sonra kesim reaksiyonu için hazırlanan reaksiyon karışımından 8.5 µl ve PZR ürününden 1.5 µl kullanılarak yapılan kesim reaksiyonu çok iyi sonuçlar vermiştir. Büyük bir olasılıkla enzim miktarının az geldiği düşünülerek yapılan modifikasyon başarılı olmuştur. *FokI* ile kesim sonucunda meydana gelen 476 ve 425 bp uzunluğundaki bantlarda uzunluk olarak benzer olduğundan jel üzerindeki yürüme hızları hemen hemen aynıdır bu nedenle birbirine çok yakındır ve tek bir bant gibi görüntü vermiştir.

COI geni üzerinde iki tanıma bölgesi bulunan *BclI* enzimi ile kesim sonucu 465, 326, 237 bp uzunluğunda üç bant meydana gelmiştir (Resim 3.2d).

NcoI, *StyI* ve *Bstul* enzimleri ile COI genin kesimi sonucu incelenen tüm popülasyonların 1028 bp uzunluğunda tek bir bant oluştuğu görülmüştür (Resim 3.2e). COI genin PZR ürünü 1028 bp uzunluğunda olduğuna göre Türk bal arısı popülasyonlarının mtDNA genomunun COI geninde bu enzimlerin tanıma bölgelerinin olmadığı tespit edilmiştir. Jel görüntüleri her üç enzim için tüm örneklerde aynı olduğundan hepsini temsilen burada yalnızca birine yer verilmiştir.

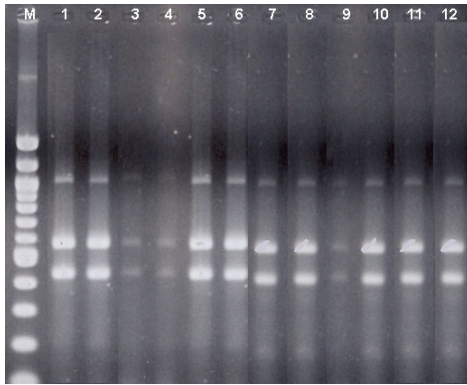
XhoI enzimi ile kesim sonucu incelenen tüm örneklerde 616 ve 412 bp uzunluğunda iki bant oluşmuştur (Resim 3.2f).

3.3.2.2. 16srDNA geni için KPUP

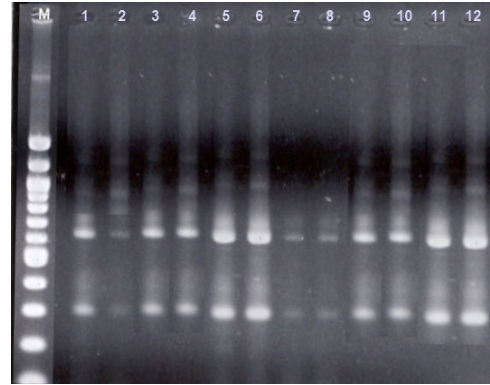
mtDNA'nın COI geni için incelenen tüm örnekler aynı zamanda 1s rDNA geni bakımından da araştırılmıştır. Bu gen bölgesi için 7 restriksiyon endonükleaz enzimi (*Sau3AI*, *SspI*, *HincII*, *AluI*, *DraI*, *EcoRI*, *PstI*) ile kesim yapılmıştır. 16srDNA genin söz konusu 7 enzimle kesimi sonucunda incelenen populasyonlar arasında bir varyasyon olmadığı gözlenmiştir. Tüm populasyonlar mtDNA'nın 16srDNA geni üzerinde kesim bölgeleri araştırılan bu enzimler bakımından A tipinde tek bir kesim örüntüsü oluşturmuştur (çizelge 3.20) (Resim 3.3).

Çizelge 3.20. 16srDNA gen bölgesine uygulanan enzimler, oluşan kesim örüntüsü ve parça uzunlukları.

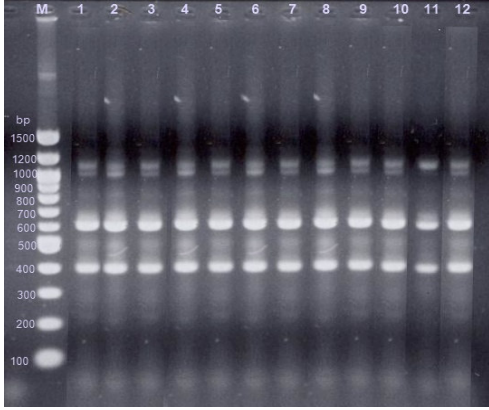
<i>Sau3AI</i>		<i>SspI</i>		<i>HincII</i>		<i>AluI</i>		<i>DraI</i>		<i>EcoRI</i>		<i>PstI</i>	
bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A	bç	A
548	—	628	—	598	—	572	—	964	—	492	—	621	—
416	—	336	—	366	—	392	—			472	—	343	—



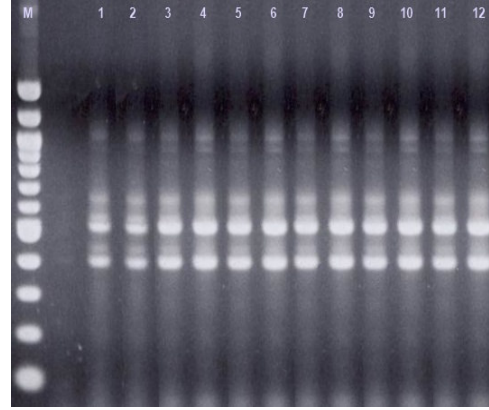
a) 16srDNA/*Sau3A*



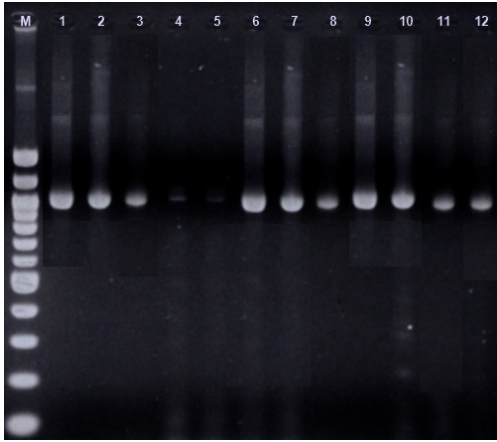
b) 16srDNA/*SspI*



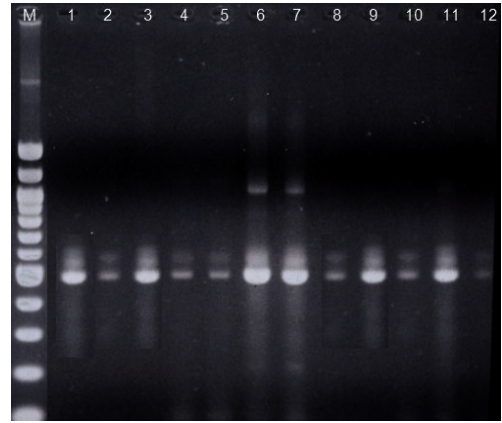
c) 16srDNA/*Hinc* II



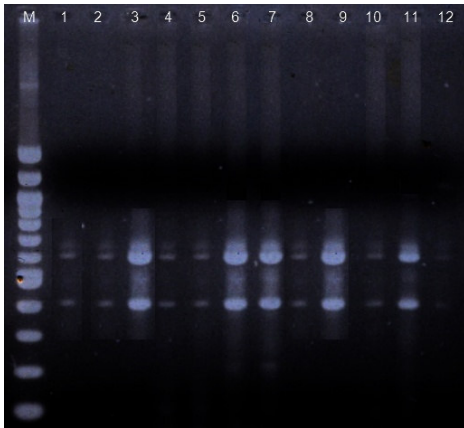
d) 16srDNA/*Alu* I



e) 16srDNA/*Dra* I



f) 16srDNA/*Eco*RI



g) 16srDNA/*Pst*I

Resim 3.3. 16srDNA geni için KPUP sonuçları

Resim 3.3a'da *SaU3A* ile 1s rDNA genin kesimi sonucunda tüm örnekler 548 ve 416 bp uzunluğunda iki bant oluşturmuştur. Tüm örneklerde aynı tip kesim örüntüsü gözlenmiştir. Resim 3.3'te a, b, c, d resimlerinde en üstte yaklaşık 968 bp uzunluğunda üçüncü bir bant görülmektedir. Bu bant kesilmeden kalan PZR ürünüdür.

İncelenen tüm örneklerde *SspI* ile kesim sonucunda 628 ve 316 bp uzunluğunda iki bant (resim 3.3b); *HincII* ile kesim sonucunda 598 ve 366 bp uzunluğunda iki bant (Resim 3.3c); *AluI* ile kesim sonucunda 572 ve 392 bp uzunluğunda iki bant (resim 3.3d); *EcoRI* ile kesim sonucunda 492 ve 472 bp uzunluğunda iki bant (Resim 3.3f); *PstI* ile kesim sonucunda 621 ve 343 bp uzunluğunda iki bant (Resim 3.3g) meydana gelmiştir.

16srDNA genin üzerinde kesim bölgeleri araştırılan enzimlerden yalnızca *DraI* enziminin kesim bölgesine rastlanmamıştır. *Dra-I* kesimi sonucunda yaklaşık 968 bp uzunluğunda tek bir bant meydana gelmiştir. 16s rDNA genin PZR ürünü 968 bp uzunluğundadır; yani incelenen örneklerde 16srDNA genin *DraI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi olmamıştır (Resim 3.3e.). Diğer taraftan *A. m. macedonica*, *A. m. ligustica*, *A. m. cyprus*, *A. m. cecropia*'da ise bu kesim bölgesine rastlanmaktadır.

Resim 3.3e'de 4. ve 5. örneklerin zayıf bant vermesi PZR ürünün az olmasından ya da pipet hatasından kaynaklanmış olabilir. Aynı durum Resim 3.3f ve Resim 3.3g'de zayıf bant veren örnekler içinde söz konusudur. Fakat bantlar zayıfta olsa agaroz jel elektroforezinde gözlenebilmiştir. Bu nedenle bu örneklere ilişkin analizlerin yeniden yapılmasına gerek duyulmamıştır. Ancak örneklerden birine ait bantlar hiçbir şekilde gözlenemediğinde ya da şüpheli olduğu düşünüldüğünde kesim reaksiyonları yeniden yapılmıştır. Çalışmada şüphe duyulan her örnek en az iki en çok üç kez yeniden KPUP yöntemi ile denenmiş, gerekirse PZR ürünü agaroz jel elektroforezi ile test edilmiştir.

3.3.3. PZR-KPUP'ne ilişkin sonuçların istatistiksel analizi

COI ve 16srDNA gen bölgeleri sırasıyla 8 ve 7 restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildiğinde bu gen bölgelerinde 16srDNA/*DraI* ve COI/*NcoI*, *StyI*, *Bstul* kesim bölgelerinin bulunmadığı, COI genin 5 enzime ilişkin kesim bölgesini taşıdığı, 16srDNA genin de 6 enzime ilişkin kesim bölgesini taşıdığı tespit edilmiştir. Bu nedenle kesim bölgelerine göre kaç farklı mtDNA haplotip grubu olduğu kesim bölgeleri bulunan enzimlere göre değerlendirilmiştir. Türkiye'deki bal arılarının COI ve 16srDNA gen bölgelerinde *NcoI*, *StyI*, *Bstul* ve *DraI* restriksiyon enzimlerinin kesim bölgelerine rastlanmamıştır. Geri kalan restriksiyon enzimlerinin ise en az bir kesim bölgesi bulunmaktadır. Bu enzimlerin

oluşturduğu kesim tipleri literatür bildirişlerine göre değerlendirilerek çalışmada kullanılan genetik işaretleyicilere göre Türkiye’de kaç farklı mtDNA haplotipi bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge.3.21.).

Çizelge 3.21. Bölgelere göre mtDNA haplotipi

Enzim	M	T	BK	DK	DA	GDA	E	A	İA	
<i>Sau3A</i>	B	B	B	B	B	B	B	B	B	16srDNA
<i>SspI</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>Hinc II</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>EcoRI</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>Pst I</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>Alu I</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>Sau3A</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	COI
<i>Fok</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>Bcl I</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<i>SspI</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	B	
<i>Xho I</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	

Kesim bölgesi bulunan restriksiyon endonükleaz enzimlerinin ilgili gen bölgelerinde kaç bazlık DNA dizilerini tanıdığı, her bir enzimin ilgili gen bölgesinde tanıyabildiği toplam bölge sayısı ve bu bölgelerin içerdiği toplam nükleotid sayısı Çizelge 3.22’de verilmiştir. Bu çizelgede 6 bazlık DNA dizilerini tanıyan enzimlerin tanıdığı ortalama bölge sayısının 7.50 olduğu bu bölgelerdeki toplam baz sayısının 45 olduğu görülmektedir. 4 bazlık DNA dizilerini tanıyan restriksiyon endonükleaz enzimlerinin tanıdığı ortalama bölge sayısı 7.0 ve bu bölgelerdeki toplam baz sayısı 28.00’dir.

Çizelge 3.22. Enzim sınıfı, kesim yaptığı bölge sayısı ve bu bölgelerdeki toplam baz sayısı

Enzim sınıfı	Ortalama bölge sayısı	Baz sayısı
4.0	7.00	28.00
4.6	0.00	0.00
5.0	0.00	0.00
5.3	1.00	5.33
6.0	7.50	45.00

15 kesim bölgesine göre kaç farklı mtDNA haplotip grubu bulunduğu REAP paket programı (McElroy ve ark. 1991)'nda Nei ve Tajima (1983)'nin dizi ayrılma yüzdesinin tahmin edilmesi metoduna göre belirlenmiştir. 16srDNA/Sau3A kesimi sonucunda Türkiye'den alınan örneklerin tümünde 548 ve 416 bç uzunluğunda iki bant oluşmuştur. Aynı kesim şekli daha önce yalnızca Girit arılarında (*A. m. adami*) görülmüştür. Yunanistan arıları ve Güney Kıbrıs arılarında ise bu enzime ilişkin kesim bölgesine rastlanmamıştır. (Harizanis ve Bouga 2001; Bouga ve ark. 2005). 16srDNA/Sau3A kesimine göre (548 ve 416 bç) meydana gelen mtDNA tipini B tipi olarak nitelendirmişlerdir (Bouga ve ark. 2005). Diğer taraftan bu çalışmada COI/SspI göre belirlenen kesim tipi (B tipi) ise yalnızca Türk bal arılarına özgü bulunmuştur. Bunlar göz önünde tutularak elde edilen veriler REAP paket programında değerlendirildiğinde Türkiye'de T1 ve T2 olmak üzere yalnızca iki farklı mtDNA haplotipi bulunduğu belirlenmiştir. Marmara, Ege, Karadeniz, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz popülasyonlarında T1 tipi görülürken T2 tipi yalnızca Orta Anadolu popülasyonunda görülmüştür. Türkiye'de görülen T1 ve T2 mtDNA tiplerinin daha önceki araştırmalarda rastlanmayan yeni haplotipler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3. 23.).

Çizelge 3.23. Türk arı popülasyonu için belirlenen mtDNA haplotipleri

	16srDNA						COI				
	<i>Sau3A</i>	<i>SspI</i>	<i>Hinc II</i>	<i>EcoRI</i>	<i>Pst I</i>	<i>Alu I</i>	<i>Sau3A</i>	<i>Fok I</i>	<i>Bcl I</i>	<i>Ssp I</i>	<i>XhoI</i>
T1	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T2	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A

T1.BAAAAAAAAAAAAA

T2.BAAAAAAAAAABA

4. TARTIŞMA

Bu araştırmada Türkiye’deki bal arısı ekotipleri mtDNA ve kimi morfolojik özellikleri bakımından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Araştırma bulguları arıcıların bildirişleri ve lokal bölgelerin coğrafik konumları birlikte dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Önceki araştırma sonuçlarında Türkiye’nin kuzeydoğusunda, Artvin’den Samsun’a kadar olan kesimde, doğal olarak *A. m. caucasica* alt türü ve Trakya bölgesinde *A. m. carnica* bulunduğu bildirilmiştir (Ruttner 1988a, Güler ve Kaftanoğlu 1999a,b, Güler ve ark. 1999, 2002, Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a). Araştırma bulgularının bu literatür bildirişlerine göre yorumlanabilmesi için çalışma kapsamında örnekleme yapılan 55 lokal bölge 9 coğrafik gruba (Trakya, Marmara, İç Anadolu, Ege, Batı Karadeniz, Doğu Karadeniz, Doğu Anadolu, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu) ayrılmıştır. Bu grupta Marmara bölgesi, Trakya ve Marmara, Karadeniz bölgesi’de Doğu Karadeniz ve Batı Karadeniz olarak incelemeye alınmıştır.

Morfolojik karakterlere göre yapılan incelemede bölgesel populasyonları temsil eden gruplara ilişkin koloni ortalamaları öncelikle tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. En fazla ayrımı hangi karakterlerin yaptığını belirlemek için her değişkenin tek tek ele alındığı tek değişkenli varyans analizi (ANOVA)’ne göre en iyi morfolojik ayrımın diğer araştırmacıların (Ruttner ve ark. 1978, Alpatov 1929, Goetze 1940, Dupraw 1965) bildirişleriyle de uyumlu olarak kanat ve dil ölçümleri ile mümkün olabileceği belirlenmiştir. En büyük varyasyonun kanatta mevcut karakterlerde belirlenmiş olması Türkiye arı genotiplerinin morfolojik tanım ve ayrımında kanat özelliklerinin öncelikli öneme sahip olduğunu göstermekte olup yapılacak ıslah çalışmalarında hat oluşturmada ve saflığın denetiminde avantaj sağlayacağı söylenebilir.

Populasyonları temsil eden gruplar koloni ortalamaları esas alınarak 12 morfolojik karaktere göre MANOVA (çok değişkenli varyans analizi) ile karşılaştırıldığında en az bir karakter bakımından tüm grupların birbirinden farklılığı önemli ($P<0,01$) bulunmuştur. Daha sonra kolonilere ve ayrıca bireysel verilere ayrı ayrı diskriminant analizi uygulanarak sırasıyla kolonilerin ve arıların iki boyutlu ortamda dağılımı gözlenmiştir. İki boyutlu ortamda kolonilerin dağılımına bakıldığında, ilk 7 gruptaki (T, M, İA, E, BK, DK, DA) coğrafik populasyonların grup merkezlerinin birbirinden ayrı olduğu, 8. ve 9. gruptaki (A, GDA) populasyonların ise grup merkezlerinin çakıştığı gözlenmiştir. Türkiye’de 8 farklı ekotip olduğunu gösteren bu sonuç Bodenheimer (1941)’in Türkiye’de 7 farklı ekotip bulunduğuna

ilişkin bildirişi ile uyumludur. Bireysel verilere diskriminant analizi uygulanarak arıların iki boyutlu ortamda dağılımı incelendiğinde, Düzce(16), Balıkesir(21) ve Tekirdağ/Hayrabolu(2), Kırklareli/Lüleburgaz (7), Aydın (30), Osmaniye (50), Trabzon (40), Artvin (41), ve Zonguldak (32), Bingöl (44) gibi bazı yerel bölge populasyonlarının diğerlerinden ayrı kenara ait guplar oluşturduğu gözlenmiştir. Bu yerel populasyonların çoğu morfometrik özellikleri bakımından diğer örneklerden farklı bulunması kendi yöresinin coğrafik koşullarına uyumun bir sonucu olarak yöreye özgü bal arısı ekotiplerinin geliştiğini destekler niteliktedir. (Öztürk 1990, Settar 1983, Karacaoğlu 1989, Kaftanoğlu ve ark. 1993). Bu yerel bölge ekotiplerinin koruma altına alınması ileride yapılacak ıslah ve seleksiyon çalışmaları için zorunludur. Çünkü yapılan birçok araştırmanın sonucu olarak ırklar arası melezlemeler yerine ekotipler arası melezlemelerin daha faydalı sonuçlar vereceği önerilmektedir (Ruttner 1984, 1988a)

Grup ortalama vektörleri arasındaki mahalonobis uzaklıkları esas alınarak UPGMA metoduna göre çizilen dendograma genel olarak bakılırsa Doğu Anadolu'nun Trakya ile birlikte bir grup oluşturması dışında Türkiye'nin doğu ve batısının tamamen birbirinden ayrıldığı görülmektedir. Doğu kolunda üç temel *Apis mellifera* genotipinin yer aldığı görülmektedir. *A. m. caucasica*'yı temsil eden Doğu Karadeniz (DK), Batı Karadeniz (BK) ile birlikte bir grup oluştururken; *A. m. anatolica*'yı temsil eden İç Anadolu (İA) *A. m. meda*'yı temsil eden Akdeniz (A) ve Güneydoğu Anadolu (GDA)'ya çok yakın ayrı bir grup oluşturmuştur. Batı kolunda Trakya (T) ve Marmara (M) birlikte Ege (E)'ye bağlı ayrı bir oluşturmuştur. Ancak bu grupta Trakya'nın kısmen Marmara grubundan da farklılaştığı görülüyor. Ruttner (1988a), Türkiye'nin kuzeydoğu'sunda *A. m. caucasica*, güneydoğu'sunda *A. m. meda*, Orta Anadolu'da *A. m. anatoliaca* olmak üzere üç temel ırk olduğunu Türkiye'nin batısında (İstanbul-Bursa-Eskişehir-Isparta hattının batısı) ise *A. m. anatoliaca*'dan farklı bir ekotip olduğunu bildirmiştir. Aynı şekilde Adam (1983), Türkiye'nin kuzeyinde, batısında güneydoğusunda ve İç Anadolu'da dört temel *Apis mellifera* alt türünün bulunduğunu bildirmiştir Bu çalışmada ortaya çıkan sonuçlar Türkiye'de göçer ve ticari arıcılığın yaygın olmadığı dönemlerde yapılan araştırma sonuçları ile neredeyse aynı çıkmıştır. Dolayısıyla Türkiye'de hala genetik çeşitliliğin korunduğunu destekler niteliktedir.

Doğu Karadeniz grubunun morfolojik karakterlerine ilişkin belirlenen ölçüm değerleri Ruttner (1988a)'ın *Apis mellifera caucasica* için bildirmiş olduğu değerler ile uyuşmamıştır. Morfometrik ölçüm sonuçları istatistiki olarak değerlendirildiğinde Rize ilinde saf yetiştiricilik yapılan arılıktan alınan örneklerin ortalama dil uzunluğu (DU) 6.72 mm bulunurken göçer arıcıların giriş çıkışının engellenemediği Artvin ili için dil uzunluğu 6.49

mm olarak tespit edilmiştir. En düşük DU ise Bayburt ilinden alınan örneklerde 5.71 mm. olarak belirlenmiştir. Rutner (1988a)'ın *A. m. caucasiaca* için bildirmiş olduğu standart dil uzunluğu 7.04 mm. iken KU 9.32 mm'dir. Dolayısı ile bu değer önceki araştırmaların belirlemiş oldukları uzunluk değerleriyle de uyuşmamaktadır. Karacaoğlu ve Fıratlı (1998), DU:6.7 mm ve KU:9.24 mm olarak bildirirken Güler ve ark. (2002)'nin Doğu Karadeniz'deki Kafkas ekotipi için bildirmiş olduğu DU:6.5-6.7 mm, KU:9.13-9.38 mm arasındadır.

Güler ve ark. (2002)'nin bildirdiğine göre 1990-1995 yılında Artvin ticaret odasının Gürcistan'dan Kafkas ırkı ana arı ithal edip bazı yörelerde dağıttığı tespit edilmiştir. Getirilen ana arıların ıslah edilmiş materyal olduğu ve Artvin yöresinde dil uzunluğunun düşmesinde etkili olmuş olabileceği düşünülmüştür.

Kafkas ırkıyla ilgili araştırmalar sonucu Alpatov (1948); Bilash ve ark. (1976); Awetisjan, (1978) ve Ruttner (1988a), Kafkas arılarının Kafkas dağlarından Karadeniz sahillerine Samsun'a kadar yayıldığını bildirirken *A. m. caucasica*'nın birçok farklı ekotipi olduğundan da söz etmişlerdir. Bu araştırmacılar alçak kesimlerde *A. m. caucasica* ve *A. m. armeniaca* arasında hibrit türler olduğunu ifade etmişlerdir (Skorikov 1929a; Alpatov, 1948). Bu çalışmanın ve diğer araştırmacıların bildirmiş olduğu morfometrik değerlere göre Doğu Karadeniz bölgesinin Kafkas ekotipi bu geçiş türüne daha yakın morfometrik değerler taşımaktadır. Ayrıca daha 1920'li yıllarda yapılan morfometrik araştırmalarda Gri Kafkas dağ arısı olarak bilinen *A. m. caucasica* (Gorbachev 1916) ve Sarı trans Kafkas arısı olarak bilinen *A. m. armeniaca*'yı (Skorikov, 1929a) birbirinden ayırt etmekte de güçlük çekilmiştir. Aynı zamanda yapılan morfometrik analizler sonucunda *A. m. armeniaca* ve *A. m. anatoliaca*'nın aynı skorda yer aldığı da görülmüştür. Dolayısıyla bu çalışmanın Doğu Karadeniz popülasyonu ile ilgili sonuçları önceki araştırmacıların sonuçları ve arıcıların bildirişleriyle karşılaştırıldığında bölge popülasyonun önemli derecede göçer ve ticari arıcılığın etkisinde olmasına rağmen UPGMA metoduna göre çizilen ağaca göre Bodenheimer (1941) ve Ruttner (1988a) bildirdiği gibi Kafkas ırkını temsil eden ayrı bir grup oluşturduğu görülmüştür.

Trakya bölgesindeki *Apis mellifera* popülasyonu daha önce Bodenheimer (1941) tarafından *A. m. carnica* grubu olarak tanımlanmıştır. Ayrıca birçok araştırmacı da Trakya bölgesinde Avusturya'ya özgü *Apis mellifera carnica* ırkının olduğunu bildirmiştir (Smith ve ark 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2000, 2005) Bireysel verilere diskriminant analizi uygulandığında, Kırklareli'nin Lüleburgaz ilçesinden alınan örnekler ve Tekirdağ'ın Hayrabolu ilçesinden alınan örnekler diğer lokal bölge popülasyonlarından ayrı bir grup oluşturmuştur. Fakat çalışma kapsamında Trakya bölgesi için belirlenen morfometrik ölçüm

değerleri göz önüne alındığında daha önce Karniyol arı ırkı (*A. m. carnica*) için belirlenen değerler ile uyuşmadığı görülmüştür. *A. m. carnica* yüksek kubital index değeri ile dikkati çeker (Pollmann 1889). Bu çalışmada Trakya bölgesinde en yüksek KI değeri bakımından Malkara (2.54) ve Muratlı (2.53) populasyonları ilk sırada yer alırken daha önce Kandemir ve ark. (2000)'nin Kırklareli populasyonu için bildirdiği KI değeri (2.74)'nin aksine Trakya bölgesinin en düşük kubital index değeri Kırklareli (2.24) ve Lüleburgaz (1.99) populasyonlarında görülmüştür. Ancak anket sonuçları incelenecek olursa, Trakya ekotipinin yanısıra Lüleburgaz'da Kafkas ırkının yetiştiriciliği ve Kırklareli'nde Anadolu ırkının yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada bulunan düşük KI değeri göçer ve ticari arıcılığın bir sonucu olabilir. Adam (1983), *A. m. caucasica*'da olduğu gibi *A. m. carnica*'nın da farklı coğrafik lokasyonlara göre farklı varyeteler oluşturduğunu bildirmiştir. Avusturya'nın alçak kesimlerinde ve Slovenya'nın kuzeyindeki populasyonların orijinal *A. m. carnica* olduğunu Romanya-Yugoslavya-Macaristan'da *A. m. carnica* benzeri "Banat" arılarının bulunduğunu bildirmiştir. *A. m. carnica*'nın diğer varyetelerinin bulunduğu coğrafik sınırları belirlemek için Bulgaristan, Yunanistan ve Karadeniz sahillerinden örnekleme yapılarak incelendiğinde Bulgaristan ve Yunanistan'dan alınan örneklerin birbirine yakın ayrı bir grup oluşturduğu belirlenmiştir. Eski yıllarda yapılan bu araştırma sonuçlarında Türkiye'ye batıdan sınır iki ülkede Avusturya, Yugoslavya ve Macaristan da bulunandan farklı bir *A. m. carnica* ekotipi olduğu bildiriliyor. Arıcıların genel bildirişleri, UPGMA metoduna göre çizilen ağaçta Batı Anadolu populasyonun Doğu populasyonundan çok farklı bir dış grup oluşturması ve diğer gruplara göre en yüksek KI değerinin Trakya populasyonu için belirlenmesi göz önünde tutulursa Trakya'daki arı populasyonu için Anadolu'nun *carnica* grubuna yakın coğrafik bir ekotipi denilebilir. Bu sonuç Ruttner (1988a)'ın bildirişleri, Güler ve Kaftanoğlu (1999a)'nın bulguları ve Doğaroğlu (2007)'nin ve Giray (2007)'in sözlü ifadeleri ile de uyuşmaktadır. Giray (2007) Kırklareli ekotipinin korunması ile ilgili yapılan panelde Kırklareli ekotipinin Avusturya *A. m. carnica*'sından daha üstün Trakya'ya özgü bir ekotip olduğunu belirtmiştir.

Güneyde Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu populasyonlarının grup merkezleri kısmen örtüşmüştür. Mersin hariç buradaki lokal bölge populasyonları *A. m. meda*'da olduğu gibi uzun dil ve kısa kanat uzunluğu ile dikkati çekmiştir. Önceki araştırma sonuçlarında Anadolu arısı ile Suriye arısının bulunduğu iki coğrafya arasındaki dar bir alanda *A. m. meda* bulunduğu bildirilmiştir (Ruttner, 1988a; Skorikov, 1929b). Ruttner, (1988a)'ın *A.m. meda* için bildirdiği KU 8.96, DU 6.33 ve KI 2.56'dır. Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3 incelenecek olursa özellikle Adana populasyonun KI değeri *A.m.meda* ile birebir aynı çıkmıştır. Adana

populasyonun KU 8.87 ± 0.05 mm. ve DU 6.53 ± 0.20 mm. ve KI 2.56'dır. Bu çalışmada Maraş'da saf yetiştiriciliğin yapıldığı koloniler için belirlenen DU 6.57 ± 0.07 mm. ve KU 8.94 ± 0.05 mm.'dir. Akdeniz grubunda yer alan Isparta populasyonuna ilişkin DU (6.52 ± 0.17 mm.) ve KU (9.10 ± 0.04 mm.) değerleri standart hata göz önünde tutulduğunda Ruttner (1988a)'ın *A. m. anatoliaca* için bildirmiş olduğu DU (6.46 mm.) ve KU (9.18 mm.) değerlerine daha yakın çıkmıştır. Doğu Anadolu'da Ağrı için belirlenen 9.18 mm kanat uzunluğu ise Ruttner'in *A. m. anatoliaca* için bildirmiş olduğu 9.19 mm değeri ile aynıdır. Bu sonuçlar çoğu araştırmacının (Öztürk 1990, Settar 1983, Budak 1992) ileri sürdüğü gibi göçer arıcılık nedeni ile Türkiye'de saf ırk kalmadığı olgusu ile uyuşmamaktadır. Ülkemizin çoğu lokal bölgelerinde farklı morfolojik ve genetik yapı gösteren, kendi içerisinde saf olarak kabul edilebilecek ve daha önce belirlenmiş genotipik özellikleri ile benzerlik içerisinde olan arı populasyonları hala mevcuttur. Morfolojik karakterler tek tek incelendiğinde, elde edilen değerlerin, daha önce bildirilen değerlerin bazıları ile uyuşup bazıları ile uyuşmaması genotipleri temsil eden kolonilerin yerel bölge farklılığı, örnek sayısı, ölçümde yararlanılan ekipman ve ölçümü yapan kişi farklılığı ile ilgisi olabilmektedir. Ancak her şeye rağmen bazı bölgelerdeki genetik varyasyonun son yıllarda hızlanan göçer ve ticari arıcılığın sonucu olarak hibritleşme etkisi ile değişmeye başladığı açıkça ortadadır. Türkiye arıcılığının geleceği açısından mevcut gen kaynaklarının orijini oldukları bölgelerde lokal sahalar oluşturularak veya yapay tohumlama alt yapısına sahip araştırma enstitüleri ve üniversitelerde muhafazası zorunludur.

Morfometrik karakterler bakımından grupları birbirinden ayırmak için yapılan DA'ne göre Türkiye'de 8 farklı ekotip olduğu belirlenmiştir. Bal arılarının doğaya son derece bağlı böcekler olduğu bilinen bir gerçektir. Bu denli geniş bir varyasyon görülmesinde, Türkiye'nin eşsiz coğrafik yapısı ve bölgeden bölgeye değişen iklim şartlarının da etkisi olabilir. Bu düşünceyle morfolojik karakterlerin coğrafik konumla olan ilgisi araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan regrasyon analizi sonucu bölgesel grupları ayırmada diğer karakterlere göre daha fazla önemli olduğu belirlenen AKU, ÖKU, ÖKG, AKG ve DU gibi karakterlerin enlem ve boylam ile arasındaki ilişki $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Dolayısı ile bu ilişki bölgesel ekotiplerin populasyon oluşturdukları bölgenin coğrafik yapısına bağlı olarak farklı morfolojik yapı ve kendilerine ait ayırt edici yapıyı ortaya koyduklarını göstermektedir. Güler ve ark. (2002), aynı bölgede konum olarak birbirine çok yakın iki ildeki *Apis mellifera caucasica* populasyonlarının bile farklı morfolojik yapıda olduğunu bildirmiştir. Kaldığı farklı bölgelerde birbirinden çok farklı ekotiplerin gelişme olasılığı çok daha yüksek bir ihtimaldir. Kandemir ve ark. (2000)'nin yapmış olduğu bir araştırmada 8 farklı morfometrik karakterin

boylam ile ilgisi önemli bulunurken; Amssalu ve ark, (2004)'nın enlem, boylam ve yüksekliğin morfolojik yapı ile ilişkisini araştırdığı bir çalışmada da bu değişkenlere göre morfolojik olarak 5 farklı grup belirlenmiştir. Dolayısıyla bu araştırma sonuçları bir çok araştırıcının bildirdiğinin aksine lokal popülasyonlar arasında i ie geemelerin yalnızca geçer arıcılığın sonucu olmadığını, aynı zamanda o bölgenin bulunduğu coğrafik konum ve iklim yapısıyla da yakından ilgili olduğunu düşündürmektedir. Örneğin Bolu ikliminin Karadeniz bölgesine benzemesi popülasyonlar arasında son derece benzer bir morfolojik yapı oluşmasıyla sonuçlanmıştır (Kandemir ve ark. 2005). Farklı bölgelerde olupta aynı iklim koşullarına sahip ya da aynı enlem ve boylamda yer alan lokal bölgelerde morfolojik bakımdan benzer arıların bulunması yüksek bir ihtimaldir (Louveaux 1969).

Çalışma kapsamında örneklenen 55 lokal bölgeyi temsilen 2'şer koloni (55x2=110) mtDNA'ya göre incelendiğinde yalnızca Eskişehir'den bir koloni hariç Türkiye'nin geri kalan lokal bölgelerindeki *Apis mellifera* popülasyonları arasında bir varyasyon gözlenmemiştir. Ancak COI ve 16srDNA gen bölgelerindeki on beş kesim bölgesine göre istatistiki değerlendirme yapıldığında, Türkiye'de yalnızca iki farklı mtDNA haplotip grubu olduğu belirlenmiştir. Bu gruplamada yalnızca *A. m. anatoliaca*'yı temsil eden Orta Anadolu popülasyonu T2 mtDNA tipindeyken, bunun dışındaki popülasyonların tümü (T, M, E, BK, DK, GDA, A, DA) T1 mtDNA haplotipinde yer almıştır. T1 ve T2 mtDNA haplotipleri Yunanistan, Girit adası, diğer Ege adaları ve Güney Kıbrıs bal arıları için yapılan eşdeğer araştırma sonuçlarında belirlenen haplotipler ile karşılaştırıldığında her iki haplotipin de yeni bir mtDNA tipi olduğu görölmüştür.

Morfometrik, alloenzimik ve moleküler teknikler ile şimdiye kadar yapılan araştırmaların ortak sonucu olarak Türkiye'de 5 ayrı *Apis mellifera* ırkının (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. meda*, *A. m. syriaca*, *A. m. anatoliaca*)'nın yaşadığı bildirildiğine göre (Ruttner 1988a, Smith ve ark 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006a) bu çalışmada mtDNA'ya göre 5 farklı ırkı temsil edecek kadar geniş bir varyasyon bulunamamasının nedenleri ne olabilir? *Apis mellifera*'nın orijinini belirlemeye yönelik ilk hipotezlere göre *Apis mellifera* Hazar denizinin güneyinden köken almış ve Türkiye üzerinden Avrupa'ya yayılmıştır (Ruttner ve ark. 1978, Ruttner 1988a, Smith,1991). Son yıllarda bildirilen bazı görüşlere göre ise *Apis mellifera*'nın İran'dan değil Afrika'dan köken aldığı düşünülmektedir. Sonuç olarak ister İran olsun ister Afrika Türkiye konum olarak *Apis mellifera*'nın gen merkezine çok yakındır. Yani Ruttner (1988a)'ın bildirdiği gibi Anadolu *Apis mellifera*'nın doğudan gen merkezi konumundadır. Ayrıca Türkiye'nin güneyinde hem O hem de C grubu mtDNA haplotip grubunun birlikte bulunması ve C ile O grubundaki bal

arılarının burada kolonize olup daha sonra farklı kollardan yayıldığını bildiren görüşler Türkiye'nin gen merkezine yakın olabileceği hipotezini destekler niteliktedir (Smith ve ark.1997, Palmer ve ark. 2000, Frank ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2005, Kandemir ve ark. 2006a,b,c.).

Geçmişte morfometriye göre yapılan araştırma sonucunda da *A. m. anatoliaca*, altı farklı *A. mellifera* ırkı (*A. m. armeniaca*, *A. m. meda*, *A. m. adami*, *A. m. caucasica*, *A. m. syriaca* ve *A. m. cypria*)'nın merkezinde yer almıştır. Bu grupta *A. m. anatoliaca* ve *A. m. meda* kısmen örtüşürken *A. m. armeniacacaca*'da bu iki ırk arasında yer almıştır (Ruttner, 1988a). Bu çalışmada UPGMA'ya göre çizilen ağaçta da *A. m. anatoliaca* ve *A. m. meda* birbirine çok yakın çıkmıştır. Dolayısıyla bu sonuç bu alt türlerin aynı mtDNA haplotipinde olduğunu düşündürmektedir.

Kandemir ve ark. (2006a) yapmış olduğu araştırma sonucunda küçük bazı gruplar dışında (Kastamonu, Van, Ardahan) genel populasyonun COI-COII/*Dra*I kesim örüntüsüne göre diğer çalışmalarda rastlanmayan eşsiz bir mtDNA haplotipi (*A. m. anatoliaca*) sergiledikleri belirlenmiştir. Ayrıca yine aynı araştırma kapsamında mtDNA/*Eco*RI ve COI/*Hinf*I,*Taq*I kesim polimorfizmi bakımından Hatay dışında populasyonlar arasında bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada belirlenen iki farklı mtDNA tipinin (T1 ve T2)'de daha önce rastlanmayan yeni haplotipler olduğu belirlenmiştir. Ancak çalışma kapsamında Hatay'dan örnekleme yapılamadığından Hatay populasyonu ilgili bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Türkiye bal arılarında COI-COII gen bölgesine ilişkin yapılan incelemeler sonucu orijine bakılmaksızın bu gen bölgesinin (Trakya da dahil olmak üzere) daha önce *A. m. caucasica*'da tespit edildiği gibi ATTTCCC- dizilimi ile başladığı belirtilmiştir. Kafkası temsil eden Kuzeydoğu populasyonunda ise COI-COII gen bölgesi yine aynı nükleotit dizisi ile başlamakta ancak daha sonra Q3 segmentinde görülen bir nükleotit değişimi (A:T) nedeniyle farklılaşmaktadır. Acaba bu yalnızca mutasyonun bir sonucu olabilir mi? Anadolu bal arıları C tipi mtDNA haplotip grubundaki bal arılarının atası olabilir mi? Eğer öyleyse bu çalışmada mtDNA'ya göre çok büyük bir varyasyon bulunamaması doğal bir sonuçtur.

Diğer taraftan COI-COII/*Dra*I bakımında Kastamonu'da daha önce *A. m. carnica*'da görülen C2a mtDNA haplotipinin, Ardahan ve Van'da ise daha önce *Apis mellifera caucasica*'da görülen C2b mtDNA haplotipinin bulunduğu bildirilmiştir (Kandemir ve ark. 2006a). Morfometri ve enzim polimorfizmine göre Kırklareli ve Edirne populasyonlarının *A. m. carnica* grubundan olduğu bildirilirken (Kandemir ve ark. 2000; 2005), mtDNA'ya göre iki COI/*Xba*I kesim sitesinin belirlenmesi nedeniyle Tekirdağ populasyonun *A. m. carnica*

grubundan olduğu bildirilmiştir (Smith ve ark. 1997). Yapılan son araştırmalarda da Balıkesir (mtDNA/*EcoRI*) ve Kastamonu (COI-COII/*DraI*) populasyonları için farklı mtDNA haplotipleri tespit edilirken (Kandemir ve ark. 2006a); bu çalışmada Eskişehir (COI/*SspI*) populasyonu için farklı bir mtDNA haplotipi belirlenmiştir. Türkiye’de farklı *Apis mellifera* ırklarının ve birçok yeni mtDNA haplotiplerinin izlerini gösteren bu sonuçlar, Türkiye’nin gen merkezine yakın olmasının bir sonucu olabilir mi? yoksa zaman içerisinde aşamalı olarak gerçekleşen mutasyon ve seleksiyonun bir sonucu mudur? Bunun net olarak belirlenebilmesi bu çalışmada olduğu gibi Türkiye bal arısı populasyonunun komşu ülke populasyonları ve Afrika arılarıyla karşılaştırmalı olarak incelenmesi ile mümkün olabilir.

Yapılan araştırmalarda mtDNA’nın çok iyi korunan COI, 16srDNA gen bölgeleri, birbirinden çok ayrı türler (*Apis mellifera* ve *Drosophila yakuba*) arasında bile nükleotid dizilimi bakımından son derece benzer bulunmuştur (Cornuet ve ark. 1991, Crozier ve Crozier 1993). Buna dayanarak COI, 16s rDNA gen bölgelerinin aynı mtDNA haplotip grubunda bulunan *Apis mellifera* ırkları (*A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. anatoliaca* ve *A. m. meda*) arasında daha fazla benzer bulunabileceği söylenebilir. Doğru bir filogenin oluşturulması için eldeki soruna uygun gen bölgelerinin çalışılması da çok önemlidir. Eğer amaç son türleşme olaylarını oluşturmaksa çok hızlı evrimleşen diziler kullanılmalıdır. Aksi durumda bu çalışmada olduğu gibi birbirine çok yakın *Apis mellifera* populasyonları arasında hiçbir farklılık bulunamayacaktır (Sheppard ve Smith 2000, Klug ve Cumming 2002). mtDNA’nın farklı gen bölgelerinin evrimleşme hızı farklıdır. Çalışma kapsamında tercih edilen gen bölgeleri (COI ve 16srDNA) çok yavaş evrimleşen gen bölgeleridir. Dolayısıyla arı ırklarının çok eskiye dayanan kökenini araştırmak için uygun olmakla birlikte birbirlerine çok yakın alt türler (Aynı mtDNA haplotip grubunda)’in ayırımını yapmak için çok açıklayıcı bir bilgi kaynağı değildir (Smith 1991, Sheppard ve Smith 2000,). Yani yalnızca bu araştırma için tercih edilen genetik işaretleyicilere ve gen bölgelerine dayanarak Türkiye’deki *Apis mellifera* populasyonları arasında mtDNA bakımından kesin olarak fark yoktur denilemez.

mtDNA yalnızca bal arılarının araştırılmasında değil diğer türlerin araştırılmasında da sıkça tercih edilen bir işaretleyici olmuştur. Sığır ırklarının mtDNA ve protein polimorfizmi bakımında araştırılmasına yönelik bir çalışmada sığır ırkları arasında mtDNA bakımından çok ufak farklılıklar dışında bir varyasyon bulunmadığı bildirilmiştir (Avisé ve Lansman 1983). Diğer bir araştırmada da çok çeşitli organizmada, sitokrom-c’nin aminoasit dizisi ile ilgili veriler toplamaşlardır. Sitokrom-c ökoryatların mitokondrilerinde bulunan solunum pigmentidir. Sitokrom-c’nin aminoasit dizisi evrim süresince çok yavaş değiştiğinden İnsan ve şempanzedeki aminoasit dizisi birbirinin özdeşi bulunmuştur. İnsan ve Rehesus maymunu

arasındaysa yalnızca bir aminoasit farklılığı dışında bir fark bulunamamıştır (Fitch ve Margoliash 1967).

Bu çalışmada, Türkiye'nin bal arısı çeşitliliğini PZR-KPUP yöntemi ile araştırmak için tercih edilen gen bölgeleri (COI ve 16srDNA) ve genetik işaretleyiciler daha önce komşu ülke Yunanistan bal arıları (*A. m. macedonica*, *A. m. cecropia*, *A. m. adami*), Güney Kıbrıs bal arısı (*A. m. cypria*) ve İtalyan arısı (*A. m. ligustica*)'nı moleküler teknikler ile tanımlamak için tercih edilmiş olan gen bölgeleri ve genetik işaretleyicilerin aynısıdır. Dolayısıyla Türkiye'nin bal arısı popülasyonu ile komşu coğrafyalardaki bal arısı popülasyonlarını mtDNA'ya göre karşılaştırmak adına son derece yararlı sonuçlar alınmıştır (Çizelge 4.1). Türk bal arıları mtDNA'nın incelenen gen bölgelerinde COI/*NcoI*, *StyI* ve 16srDNA/*DraI*,*SaU3a* kesim bölgelerini içermemesi bakımından *A. m. macedonica*'dan ayrılmıştır. Diğer taraftan Türkiye bal arısı popülasyonu 16srDNA/*SaU3a* ve 16srDNA/*DraI* kesim bölgelerine göre Girit arıları (*A. m. adami*) dışında diğer ırklar (*A. m. macedonica*, *A. m. cecropia*, *A. m. cypria*)'dan farklı bulunurken, 16srDNA/*DraI* kesim bölgesi bakımından beş *Apis mellifera* ırkları (*A. m. adami*, *A. m. ligustica*, *A. m. cypria* ve *A. m. macedonica*)'ndan da ayrılmıştır. Yani bu çalışma kapsamında incelenen örneklerde 16srDNA gen bölgesinde *DraI* restriksiyon endonükleaz enzimine ilişkin kesim sitesinin bulunmaması yalnızca Türkiye bal arılarına özgü bulunmuştur. Daha da önemlisi Smith (1991), COI/*XhoI* kesim bölgesinin Afrika arılarına özgü olduğunu bildirmiştir. Avusturya, Yugoslavya ve Almanya'dan alınan *A. m. carnica* örneklerinde, İtalya'dan alınan *A. m. ligustica* örneklerinde ve *A. m. mellifera* örneklerinde bulunmuyorken, Afrika'dan alınan *A. m. scutellata* örneklerinde ve Mısır'dan alınan *A. m. lamarci* örneklerinde bulunmaktadır.

Daha yıllar önce Yunanistan'ın Trakya kesiminde *A. m. macedonica* bulunmasına karşılık Türkiye'nin Avrupa kesiminde *A. m. macedoniaca* alt türünün bulunmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada *A. m. anatoliaca*, *A. m. adami*, *A. m. ligustica* ve *A. m. cypria*'nın mtDNA'ya göre birbirlerine Yunanistan arılarına olduğundan daha fazla benzer oldukları belirlenmiştir. Yapılan karşılaştırmada Adam (1954)'ın morfometrik verilere dayanarak Girit arılarının Yunanistan arılarından daha çok Batı Anadolu'nun ve Doğu Akdeniz sahillerinin arı popülasyonuna benzediğine ilişkin bildirişinin mtDNA varyasyonuna görede doğru olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleriyle aynı gen bölgeleri bakımından incelenen 5 farklı *Apis mellifera* alt türünün karşılaştırılması

	SspI	FokI	HincII	DraI	AluI	Sau3AI	BclI	PstI	EcoR	XhoI	NcoI	SlyI	
<i>A. m. anatolica</i>	+	+				+	+			+	-	-	COI
			+	-	+	+		+	+				16s rDNA
<i>A. m. macadonica*</i>	+	+				+	+			+	+	+	COI
			+	+	+	-		+	+				16s rDNA
<i>A. m. adami*</i>	+	+				+	+			+	-	-	COI
			+	+	+	+		+	+				16s rDNA
<i>A. m. cecropia*</i>	+	+				+	+			±	-	-	COI
			+	+	+	-		+	+				16s rDNA
<i>A. m. ligustica</i>	+	+				+	+			+	-	-	COI
			+	+	+	?		+	+				16s rDNA
<i>A. m. cyprica</i> (Güney Kıbrıs)*	+	+				+	+			+	-	-	COI
			+	+	+	-		+	+				16s rDNA

* Bouga ve ark., 2005 •Harizanis ve Bouga, 2001 ± Söz konusu kesim siteleri nadir olarak görülmektedir.

Aynı zamanda bu çalışmanın morfometrik analiz sonuçları da Girit arılarının Türkiye bal arılarına benzerliğinin Yunanistan bal arılarına olduğundan daha fazla olduğunu göstermiştir. Son olarak *A. m. adami* popülasyonu için yapılan morfometrik araştırmalarda DU:5.99, ÖKU:9.07 ve KI:2.30 bulunmuştur (Harizanis ve Bouga 2001). Bu çalışmada ise, Türkiye bal arısı popülasyonları için bulunan ortalama DU:5.99, ÖKU:9.02, KI:2.27 olarak bulunmuştur. Türkiye'nin bir çok lokal bölgesi için tespit elden morfometrik değerlerin Ruttner'ın bazı Afrika arıları (*A. m. lamarckii*, *A. m. intermissa*) için bildirmiş olduğu değerlere daha yakın olduğu görülmüştür.

Franck ve ark. (1998), Batı Avrupa arılarının orijinlerinin araştırılmasına yönelik çalışmaları sonucu diğer araştırmacılar farklı bir görüş ortaya koymuşlardır. Önceki araştırmacılar İspanya'da "A" haplotipinin bulunmasını Batı Avrupa ve Kuzey Afrika gen entegrasyonunun bir sonucu olarak yorumlamışlardır. Frank ve ark. (1998) ise Afrika orijinine ilişkin bulguların mutasyon ve seleksiyonun bir sonucu olarak meydana gelen benzerlikten ibaret olduğunu, gen entegrasyonunun söz konusu olmadığını bildirmişlerdir. Daha önce *A. m.*

scutellata'nın dört ayrı varyatesinde ve *A. m. lamarcii*'de bulunan ancak *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* (Avusturya, Slovenya ve Yugoslavya'dan) ve *A. m. mellifera* varyetelerinde görülmeyen *XhoI* restriksiyon endonükleaz enzimine ilişkin kesim bölgesinin (COI/*XhoI*) Türk bal arılarında bulunması Franck ve ark. (1998)'nin araştırmasında olduğu gibi yalnızca mutasyon ve seleksiyonun bir sonucumu yoksa Türkiye bal arısı popülasyonu ile Afrika arıları arasında bir gen entegrasyonu mu söz konusudur?

Genetik çeşitlilik içeren popülasyonun bireyleri hastalıklara direnç, duyarlılık ve benzeri konularda farklılık gösterirler. Gelecekte meydana gelecek olan çevresel değişikliklere hangi ırkın daha iyi uyum göstereceği, ya da hangi ırkın genetik yapısının hastalıklara direnç bakımından üstün nitelikli olduğuna şimdiden karar verilemez (Ertuğrul ve Aşkın 1988; Soysal 2004). Örneğin Türkiye'de de varlığından söz edilen Suriye arısı *A. m. syriaca*, hırçın ve bal verimi düşük olduğu ifade edilerek geri plana itilmiş yok olma tehlikesiyle yüz yüze bırakılmıştır. Halbuki *A. m. syriaca*'nın çiftleşme periyodu sırasında kısa bir süre monogomi alışkanlığını bırakması genç kraliçe arılardan biri çiftleşip kuluçkaya yatıncaya kadar kolonide birkaç düzine genç kraliçe arı bulundurması olağanüstü bir davranıştır ve ana arı yetiştiriciliğinde kullanılabilecek çok önemli bir avantajdır (Ruttner 1988a). Tabiki bazı fizyolojik ve davranış özellikleri bakımından *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica* gibi zaten genetik yapısı üstün ırkların önemi göz ardı edilemez. Ancak kışlatma ve üretim dönemlerinde yaşama gücü ve bulunduğu çevreye uyumu bakımından yerli ırkların üstünlüğü de göz ardı edilemez (Genç ve ark. 1999, Doğaroğlu ve ark. 1992). Bu nedenle tüm gen kaynakları önemlidir.

Özgün arı ırklarının fizyolojik ve davranış özelliklerinin belirlenerek tanımlanması ve korunması zorunludur. Ancak bunun için öncelikle mevcut çeşitliliğin belirlenmesi gerekmektedir. Bu araştırmadan bu amaç için yararlı sonuçlar alınmıştır. Bundan sonra yapılacak olan bu tür çalışmalar ile birlikte yerel ırkların tanımlanması ve korunması için veri tabanı oluşturulmasında yararlanılacak faydalı bir kaynak olarak kullanılabilir. Ayrıca ileriki yıllarda yapılacak araştırmalarda hangi lokal bölgelerin ağırlıklı olarak çalışılması gerektiği konusunda araştırmacılar için yönlendirici olabilir.

5. KAYNAKLAR

- Alpatov WW (1929). Biometrical studies on variation and races of the honeybee *Apis mellifera* Rev. Biol. 4:1-58.
- Alpatov WW (1948). The races of honeybees and their use in agricultur. (In Russian) Sredi prirodi 4, 1-65.
- Adam Br (1954). Bee breeding. Bee World 35: 4-13, 21-29, 44-49.
- Awetisjan GA 1978. Apiculture, Apimondia Publishing house, Bucharest in: Awetisjan GA, Gubin WA, Davydenko IK (1969). Selection of Carpathian bees. Proc. Int. Beekeep. Cong. 22:366-371.
- Anderson S, De Bruijn MH, Coulson AR, Eperon IC, Sanger F, Young IG (1982). Complete sequence of bovine mitochondrial DNA, conserved features of mammalian mitochondrial genome. J. Mol. Biol. 156, 683-717.
- Avise J.C, Lansman RA (1983). In Evolution of Genes and Proteins.p.147. Eds M. Nei and RK Koehn. Sinauer. (In Moritz RFA, Hawkins CF, Crozier RH, Badino G, Celebrano G, Manino A, İfantidis (1988). Allozyme variability in Greek honey bees (*Apis mellifera* L.). Apidologie 19,377-386.
- Adam Br. (1983). In search of the best strains of bees. Dadant Sons, Hamilton Illinois.
- Arias MC, Sheppard WS (1996). molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L) inferred from mitochondrial DNA Sequence. Molecular Phelogenetics and Evolution Vol. 5, No. 3 June. Pp. 557-566.
- Amssalu B, Nuru A, Radloff SE, Hepburn HR, (2004). Multivariate morphometric analysis of honeybees (*Apis mellifera*) in the Ethiopian region, Apidologie 35:71-81.
- Anonymous 2004. FAO year book 2004. Country statistics about honeybees and products. (www.fao.org).
- Bodenheimer FS (1941). Studies on the honeybee and beekeeping in Turkey. Merkez Ziraat Mücadela Enstitüsü, Ankara.
- Bilash GD, Makarov H, Sedich AW (1976). Geographic classification of honeybee races in the USSR. Apimondia Symp Genetics Selection Reproduction, Pp:140-150.
- Brown WM, (1985). The mitochondrial genome of animals. In Molecular Evolutionary Genetics, MacInterre RJ, ed Plenum Pres: New York, Pp:95-130.
- Buttel-Reepen H. (1906). Apistica. Beitrage zur Systematic, Biologie, sowie zur geschichtlichen und Geographischen Verbreitung der Honigbiene (*Apis mellifera* L), ihrer Varietaten und der übrigen *Apis*-Arten. Veroff Zool Mus Berlin 118-120.
- Budak ME (1992). Ülkemizde çeşitli kurumlarca yetiştirilen ana arılar ile oluşturulan kolonilerin fizyolojik, morfolojik ve davranışsal farklılıklarının araştırılması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, doktora tezi, Ankara.
- Berlocher SH (1998). Origins:A brief history of research on speciation, pp.3-18. In Howard DJ, Berlocher SH (eds), Endless forms: species and speciation, Oxford University Prees, Oxford, England.
- Bouga M, Harizanis P, Kılıas G, Alahiotis, S (2005). Genetic divergence and phylogenetic relationships of honeybee *Apis mellifera* (*Hymenoptera* :*Apidae*) populations from Greece and Cyprus using PCR-RFLP analysis of three mtDNA segments, Apidologie 36: 335-344.
- Bodur C, Kence M, Kence A (2006). Microsatellite analysis revealed the maintenance of genetic identity of subspecies of *Apis mellifera* L. In Turkey in spite of intensive

- migratory beekeeping. Second European Conference of Apidology. Prague, Czech Republic 10-14 September.
- Cornuet J, Fresnaye J (1989). Biometrical study of honey bee populations from Spain and Portugal. *Apidologie* 20:93-101.
- Cornuet JM, Garnery L (1991). Genetic Diversity in *Apis mellifera*, in: Smith, DR. Ed. Diversity in the genus *Apis*. Westview Press, Boulder, Co.
- Cornuet JM, Garnery L, Solignac M (1991). Putative origin and function of the intergenic region between COI and COII of *Apis mellifera* L. *Mitochondrial DNA Genetics*, 1128:393-403.
- Crozier YC, Koulianos S, Crozier RH (1991). An improved test for Africanized honey bee mitochondrial DNA. *Experientia* 47: 968-969.
- Crozier RH, Crozier YC (1992). The Cytochrome-b and ATPase genes of honeybee mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.* 9(3): 474-482.
- Crozier RH, Crozier YC (1993). The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: Complete sequence and genome organization, *Genetics* 133:97-117.
- Crewe, RM, Hepburn HR, Moritz RFA (1994). Morphometric analysis of 2 southern African races of honey bee. *Apidologie*, 25: 61-70.
- Çakmak I, Fuchs S, Nentchev P, Meixner M, (2006). Morphometric analysis of honey bees in Northern Turkey. Second European Conference of Apidology, p:60-61, Prague, Czech Republic 10-14 September.
- Daly HV (1985). Insect morphometrics. *Ann. Review of Entomology*, 30:415-438.
- Daly HV, Hoelmer K, Gambino P (1991). Clinal geographic variation in feral honey bees in California, USA. *Apidologie* 22: 591-609.
- Daly HV, Danka RG, Hoelmer K, Rinderer TE, Buco SM (1995). Honey bee morphometrics: linearity of variables with respect to body size and classification tested with European worker bees reared by varying number of nurse bees. *J. Apic. Res.* 34: 129-145.
- Darendelioğlu Y, Kence A (1992). Morphometric study on population structure on honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera:Apidae). *Türkiye 2. Entomoloji Kongresi Bildirileri*, 387-396.
- Doğaroğlu M, Özder M, Polat C (1992). Türkiye'deki önemli bal arısı (*Apis mellifera*) ırk ve ekotiplerinin Trakya koşullarında performanslarının karşılaştırılması. *Doğa-Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences* 16: 403-414
- Dodoloğlu A, Genç F (2004). Kafkas ve Anadolu bal arısı (*Apis mellifera* L.) ırkları ile karşılıklı melezlerinin morfolojik özellikleri. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Isparta, sdu.edu.tr, (2007).
- DuPraw E (1965). Non-Linear taxonomy and the systematics of honey bees. *Syst. Zool.* 14:1-24.
- Ertuğrul M, Aşkın Y (1988). Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması. Prof. Dr. Orhan Düzgüneşin "Meslekte 50. Yıl Semineri". Ankara.
- Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1995a). Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140: 679-695.
- Estoup A, Tailliez C, Cornuet JM, Solignac M (1995b). Size homoplasy and mutational processes of interrupted microsatellites in two bee species, *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Apidae). *Mol. Biol. Evol.* 12: 1074-1084.
- Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1995c). Microsatellite variation in honeybee identification. *Rev. Brazil. Genetic*, 11, 287-297.
- Fitch WM, Margoliash E (1967). Construction of Phylogenetic Trees. *Science* 15:279-284.

- Franck P, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1998). The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): New insight from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution*, 52:1119-1134.
- Franck P, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (2000). Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. *Apidologie*, 31:167-180.
- Francisco FO, Silvestre D, Arias MC (2001). Mitochondrial DNA characterization of five species of *Plebeia* (*Apidae: Meliponini*): RFLP and restriction maps. *Apidologie* 32, 323-332.
- Garnery L, Vautrin D, Cornuet JM, Solignac M (1991). Phylogenetic relationships in the genus *Apis* inferred from mitochondrial DNA sequence data. *Apidologie*.
- Garnery L, Cornuet JM, Solignac M (1992). Evolutionary history of the honeybee (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA analysis, *Molecular Ecology*, 3, 145-154.
- Garnery L, Solignac M, Celebrano G, Cornuet JM (1993). A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia*, 36, 649-650.
- Garnery L, Mosshie EH and Cornuet JM (1995). Mitochondrial DNA variation in Moroccan and Spanish honey bee populations. *Mol. Ecol.* 465-471.
- Genç F, Dülger C, Dodoloğlu A, Kutluca S (1999). Kafkas, Orta Anadolu ve Erzurum bal arısı (*Apis mellifera* L.) genotiplerinin Erzurum koşullarındaki bazı fizyolojik özelliklerinin karşılaştırılması. *Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences* 23: ek sayı 4, 645-650.
- Gençer HV, Fıratlı Ç (1999). Orta Anadolu ekotipleri (*Apis m. anatoliaca*) ve Kafkas ırkı (*Apis mellifera caucasica*) bal arılarının morfolojik özellikleri *Türk J. Vet Anim Sci* 23:107-103.
- Gorbachev AN (1916). The grey mountain Caucasian bee (*Apis m. caucasica*) and its place among other bees in: Ruttner, 1988. *Biogeography and taxonomy of honeybees* Springer Verlag, Berlin
- Goetze G (1940). Die beste Biene. Liedloff Loth Michaelis Leipzig in: Ruttner, 1988. *Biogeography and taxonomy of honeybees*. Springer Verlag, Berlin.
- Goetze G (1964). Die Honigbiene in natürlicher und künstlicher Zuchtauslese. Parey, Hamburg in: Ruttner, 1988. *Biogeography and taxonomy of honeybees*. Springer Verlag, Berlin.
- Gromisz M (1975). Morphological Evaluation of Bees In Breeding Apiaries The Years. *Apic. Abst.* 342/75.
- Günalp A, Ayter Ş, Lülecı G, Kart A, Sakız M (1986). *Tıbbi Biyoloji ders kitabı*, Hacettepe yayınları, 2. baskı.
- Güneş HS (1994). Trakya Bölgesi Bal Arılarının Bazı morfoloji Karakterleri Üzerine Çalışmalar. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi.
- Güler A, Kaftanoğlu O (1999a). Türkiye'deki önemli bal arısı ırk ve ekotiplerinin morfolojik özellikleri-I. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23:Supply. 3:565-575.
- Güler A, Kaftanoğlu O (1999b). Türkiye'deki önemli bal arısı ırk ve ekotiplerinin morfolojik özellikleri-II. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23:Supply. 3:571-575.
- Güler A, Kaftanoğlu O (1999c). Türkiye'deki önemli bal arısı (*Apis mellifera* L.) ırk ve ekotiplerinin morfolojik karakterler açısından ilişkilerinin diskriminant analiz yöntemiyle saptanması. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23:565-575.
- Güler A, Kaftanoğlu O, Bek Y, Yeninar H (1999). Türkiye'deki önemli bal arısı (*Apis mellifera* L.) ırk ve ekotiplerinin göçer arıcılık koşullarında performanslarının karşılaştırılması, *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23 Ek sayı 3:565-575.

- Güler A (1999). Türkiye'nin bazı bal arısı (*Apis mellifera L.*) genotiplerinde verimi etkileyen morfolojik ve fizyolojik karakterler üzerinde araştırmalar, Türk. J. Vet. Anim. Sci. 23 Ek sayı 2:393-399.
- Güler A (2001). Artvin Borçka Camili (Macahel) yöresi bal arısı (*Apis mellifera L.*)'nın morfolojik özellikleri. Türk. J. Vet. Anim. Sci. 25:473-481.
- Güler A, Akyol E, Gökçe M, Kaftanoğlu O (2002). Artvin ve Ardahan yöresi bal arıları (*Apis mellifera L.*)'nın bazı morfolojik özellikler yönünden ilişkilerinin belirlenmesi. Türk. J. Vet. Anim. Sci. 26:595-603.
- Gyllensten U, Wharton D, Wilson AC (1985). Maternal inheritance of mitochondrial DNA during backcrossing of two species of mice. *J. Hered.* 76: 321-324.
- Hall HG (1986). DNA differences found between Africanized and European honey bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83:4874-4877.
- Hall HG, Muralidharan (1989). Evidence from mitochondrial DNA that African honey bees spread as continuous maternal lineages. *Nature (Lond)* 339: 213-215.
- Hall HG (1990). Parental analysis of introgressive hybridization between African and European honeybees using nuclear DNA RFLPs. *Genetics* 125:611-621.
- Hall HG, Smith DR (1991). Distinguishing African and European honeybee matrilineages using amplified mitochondrial DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* vol.88, pp: 4548-4552.
- Hall HG (1992a). DNA studies reveals processes involved in the spread of New World African honeybees. *Fla Entomol.* 75:51-59.
- Hall HG, (1992b) Further characterization of nuclear DNA RFLP markers that distinguish African and European honeybees. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 19: 163-175.
- Hall HG (1995). Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses: distinguishing African and European honey bees, pp. 333-366. In J. P. Clapp (ed.), *Molecular methods for species identification, methods in molecular biology*, vol 50 Humana, Totawa, NJ.
- Harizanis P, Bouga M (2001). Structure of the Bee from Crete Island (Greece), Apimondia conference held in Slovenia.
- Hewitt GM (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.* 58: 247-276.
- Housman D (1995). Human DNA polymorphism. *N Eng J Med.* 332:318-320
- Hunt JG, Page Jr. ER (1992). Patterns of inheritance with Rapid molecular markers reveal novel types of polymorphism in the honey bee. *Theor. Appl.Genet.* 85: 15-20.
- Ifantidis MD (1979). Morphological characteristics of the Grek honeybee *Apis mellifera cecropia*. *Proc. Int.Beekeep Congr* 27:285-291;292-294.
- Kaftanoğlu O, Kumova U, Bek Y (1993). GAP Bölgesinde çeşitli Balarısı (*Apis mellifera L.*) ırklarının performanslarının saptanması ve bölgedeki mevcut arı ırklarının ıslahı olanakları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi GAP yayınları No:74. Adana.
- Kandemir İ, Kandemir G, Kence M, İnci A, Kence A (1995). Morphometrical and electrophoretic discrimination of honeybees from different regions of Turkey. XXXIV. International Apicultural congress in Apimondia, 14-19 August Llusanne, Switzerland.
- Kandemir İ, Kence A, (1995). Allozym variability in a central Anatolian honeybee (*Apis mellifera L.*) population, *Apidologie* 26: 503-510.
- Kandemir İ, Kence M, Kence A (2000). Genetic and Morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera*) population of Turkey. *Apidology*, 31: 343-356.
- Kandemir İ, Kence M, Kence A (2005). Morphometric and electrophoretic variation in different honeybees (*Apis mellifera*) population. *Turk J Vet Anim Sci* 29: 885-890.

- Kandemir İ, Kence M, Sheppard WS, Kence A (2006a). Mitochondrial DNA variation in honey bee (*Apis mellifera L.*) populations from Turkey. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 45(1): 33-38.
- Kandemir İ, Pinto MA, Meixner MD, Sheppard WS (2006b). Hinf-I digestion of cytochrome oxidase I region is not a diagnostic test for *A. m. Lamarckii*. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 4: 747-749.
- Kandemir İ, Meixner MD, Özkan A, Sheppard WS, (2006c). Genetic charecterization of honey bee (*Apis mellifera cypria*) populations in northern cyprus.
- Karacaoğlu M (1989). Orta Anadolu, Karadeniz Geçit ve Ardahan İzole Bölgeleri Arılarının Bazı Morfolojik Özellikleri Üzerine BirAraştırma. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karacaoğlu M, Fıratlı Ç (1998). Bazı Anadolu bal arısı ekotipleri (*Apis m. anatoliaca*) ve melezlerinin özellikleri I, morfolojik özellikleri *Turk J. Vet Anim Sci* 22:17-21.
- Karacaoğlu M, Fıratlı Ç (1999). Bazı Anadolu Bal arısı Ekotipleri (*Apis mellifera anatoliaca*) ve melezlerinin özellikleri II, koloni gelişimi ve üretimi *Turk J. Vet Anim Sci* 23 Ek sayı 1:7-14.
- Kence M, Güldüren Z, Kence A (2006). Seasonal variation of Pphosphoglucomutase (PGM) enzyme polymorphism in honeybees (*Apis mellifera L.*) of Turkey. Second European Conference of Apidology. Praguea, Czech Republic 10-14 September.
- Kekeçoğlu M, Gürcan EK, Soysal MI (2007). Türkiye’de arıcılık ve bal üretimini etkileyen bazı faktörler üzerine bir araştırma. *Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty*, 4(2):227-236.
- Klug WS. and Cummings MR (2002). *Genetik Kavramlar*, 6. basım. Palmer yayıncılık.
- Lansman R, Avise JC, Huettel MD (1983). Critical experimental test of the possibility of ‘paternal leakage’ of mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 1969-1971.
- Linnaeus C (1758). *Systema Naturae*. 10th edn. *Holmiae Laur Salvii*, in Ruttner F (1988). *Biogeography and taxonomy of honeybees* Springer Verlag, Berlin
- Louveaux J (1969). Ecotypes in honeybees. *International Apicultural Congress (Apimondia)* 22:499-501.
- Maa TC (1953). An inquiry into the systematics of the *Tribus Apidini* or honeybees (*Hymenoptera*). *Treubia* 21: 525-640.
- Markosjan AA, Akopjan NM, Abgarov GB (1976). Characteristics of the yellow *Armeniaca* bee. *Proc Apimondia Symp Genetics Selection Reproduction*: 173-175.
- Mackinley AG (1986). A mitochondrial DNA polimorphizm in honeybees (*Apis mellifera L.*), *Experientia* 42, Birkhauser Verlag, CH4010 Basel Switzerland.
- Mayr E (1942). *Systematics and origin of species*. Columbia University Pres, New York.
- McMichael M, Hall HG (1996). DNA RFLPs at a highly polimorphic locus distinguish European and African subspecies of the honey bee *Apis mellifera L.* And suggest geographical orijins of New World honey bees. *Mol. Ecol.* 5: 403-416.
- McElroy D, Moran P, Bermingham E, Konfield J, (1991) The Resitricion Enzyme Analysis Package, version 4.0 University of Maine, Orono, M.E. REAP, <http://bioweb.wku.edu/faculty/MCElroy>
- Mestriner MA (1969). Biochemical polymorphisms in bees (*Apis mellifica ligustica*). *Nature* 223: 188-189.
- Mestriner MA, Contel EPB, (1972). The P-3 and Est loci in the honeybee, *Apis mellifera*. *Genetics* 72: 733-738.
- Meixner M, Sheppard WS, Poklukar J, (1993). Asymetrical distribution of a mitochondrial DNA polimorphism between two introgressing honey bees races. *Apidologie* 24: 147-153.

- Meixner MD, Sheppard WS, Dietz A, Krell R (1994). Allozyme variability honeybees from Kenya. *Apidologie*, 25: 188-202.
- Moritz RFA, Hawkins CF, Crozier RH, Mackinley AG (1986). A mitochondrial DNA polymorphism in honeybees (*Apis mellifera* L.), *Experientia* 42, Birkhauser Verlag, CH4010 Basel Switzerland.
- Moritz C, Dowling TE, Brown WM (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA. Relevance for population biology and systematics. *Ann Rev. Ecol. Syst.* 18: 269-292.
- Moritz RFA, Cornuet JM, Kryger P, Garnery L, Hepburn HR (1994). Mitochondrial DNA variability in South African honeybees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 25:169-178.
- Moradi M, Kandemir İ (2004). Morphometric and Allozyme Variability in Persian Bee Population from the Alburz Mountains, Iran. *Iranian Int. J. Sci.* 5(2), 2004, p.151-166.
- Nash, JHE (1991). DNA-frag program version 3.03, National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario, Canada.
- Nei M, Tajima F (1983). Maximum likelihood estimation of the number of nucleotide substitutions from restriction sites data. *Genetics* 105: 207-217.
- Nielsen D, Page RE Jr, Crosland MWJ (1994). Clinical variation and selection of MDH alloenzymes in honey bee populations, *Experientia* 50: 867-871.
- Nielsen D, Ebert PR, Hunt JG, Guzman-Novoa E, Kinnee SA, Page RE Jr (1999). Identification of Africanized Honeybees (*Hymenoptera: Apidae*) Incorporating Morphometrics and an Improved Polymerase Chain Reaction Mitotyping Procedure, *Ann. Entomol. Soc. Am.* 92: 167-175.
- Nielsen DI, Ebert PR, Page RE, Hunt GJ, Guzman-Novoa E (2000). Improved polymerase chain reaction-based mitochondrial genotype assay for identification of the Africanized honey bee (*Hymenoptera: Apidae*). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 1-6
- Nunamaker RA, Wilson WT (1981) Comparison of MDH allozyme patterns in the African honey bee (*Apis m. adansonii* L) and electrophoretic detection of Africanized honey bees (*A. m. scutellata*) in Guatemala and Mexico based on malate dehydrogenase allozyme patterns. *J. Kans Entomol. Soc.*, 57: 622-631.
- Oldroyd BP, Smolenski AJ, Cornuet JM, Wongsiri S, Estoup A, Rinderer TE, Crozier RH (1996). Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis dorsata* (*Hymenoptera: Apidae*). *Ann. Entomol. Soc. Ame.*, 89: 276-283.
- Olgun A, Topal A (1999). DNA'nın Analizi. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler, Temizkan G, Arda N, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi, BİYOGEN, yayın no:1.
- Otis GW (1906). Distribution of recently recognized species of honeybees (*Hymenoptera: Apidae: Apis*) in Asia. *J. Kansas Entomol. Soc.*, 69: 311-333.
- Öztürk, AY (1990). Morphometric Analysis of some Turkish Honeybees (*Apis mellifera* L.) Master of Philosophy University of Wales College of Cardiff, UK.
- Özdamar K (2002). Paket programlar ile istatistiksel veri analizi (Çok değişkenli analizler). Yayın no:2 (4. baskı).
- Özdil F, Yıldız MA, Meydan H, Gençer HV (2006). Genetic structure of Turkish Honeybee Populations Based on RAPD and mtDNA RFLP markers. Second European Conference of Apidology. Prague/Czech Republic, 10-14 September.
- Page RE, Fondrk MK, Hunt GJ, Novoa-Guzman E, Humphries MA, Nguyen K, Greene AS (2000). Genetic dissection of honeybee (*Apis mellifera* L.) foraging behavior. *The American Genetic Association*, 91: 474-479.
- Palmer MN, Smith DR, Kaftanoğlu O (2000). Turkish Honeybees: Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *The Journal of Heredity*, 91(1).

- Pollmann A, (1889). Wert der verschiedenen Bienenrassen und deren Varietaten. 2nd edn Voigt, Berlin Leipzig (1st edn with description of *A. m. carnica* 1879).
- Pinto MA, Johnston JS, Rubink WL, Coulson RN, Patton JC, Sheppard WS (2003). Identification of Africanized honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) mitochondrial DNA: Validation of a Rapid Polymerase Chain Reaction-Based Assay. *Entomological Society of America*, 96(5): 679-684.
- Rinderer TE (1986). *Bee Genetics and Breeding*, Academic Press, Orlando, Florida, 426p.
- Rinderer TE, Daly HV, Sylvester HA, Collins AM, Bucu SM, Helmich RL, Danka RG (1990). Morphometric differences among Africanized and European honey bees and their hybrids (*Hymenoptera: Apidae*). *Ann. Entomol. Soc. Ame.*, 83: 346-351.
- Rokas A, Ladoukakis E, Zouros E (2003). Animal mitochondrial recombination revisited. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18 (8): 411-417.
- Rothenbuhler WC, Kerr WE (1968). Bee genetics' *Ann. Rev. Genet*, 2: 413-438.
- Ruttner F (1965). Versuch einer Charakterisierung der Carnica-Biene nach ihrem Flügelgeader. *Ustav Vedeckotech Inf MZLVH*, 165-172. Praha.
- Ruttner F, Tassencourt L, Louveaux J (1978). Biometrical-Statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 9: 363-381.
- Ruttner F (1980). *Apis mellifera adami*, *Apidologie* 11: 385-400.
- Ruttner F (1984). Races of bees. Ed. Dadant and Sons. *The Hive and the Honey Bee*. Dadant and Sons. Inc. Illinois. Pp: 19-38.
- Ruttner F (1987). *Breeding techniques and selection for breeding of honeybee*. Northern bee Boks. Mytholmroyd, UK.
- Ruttner F. (1988a). *Biogeography and taxonomy of honeybees* Springer Verlag, Berlin.
- Ruttner F (1988b). *Breeding Tecnique and selection for Breeding of Honey bee*. G.bread and Sons. Led. Brighton U.K.
- Ruttner F (1992). *Naturgeschichte der Honigbienen*, Ehrenwirth Verlag, München, Germany in: Ruttner F. (1988). *Biogeography and Taxonomy of honey bees*. Verlag, Berlin. 310p.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoeffel S, Scharf S, Higuchi GT, Mullis KB, Erlich HA (1988). Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Settar A (1983). Ege Bölgesi arı tipleri ve gezginci arıcılık üzerine araştırmalar. Doktora tezi. Ege Ziraai Araştırma Enstitüsü, Menemen, İzmir.
- Sheppard WS, Berlocher SH (1984). Enzyme polymorphism in *A. m. mellifera* from Norway. *J. Apic. Res.*, 23: 64-69.
- Sheppard WS, Huettel MD 1988. Biochemical genetic markers, intraspecific variation and population genetics of honey bee, *Apis mellifera*, pp. 281-286.
- Sheppard WS, Berlocher SH (1989). Allozyme variation and differentiation among four *Apis* species, *Apidologie* 20, 419-431.
- Sheppard WS, Soares AE, Dejong D, Shimanuki H (1991a). Hybrid status of honey bee populations near the historic origin of Africanization in Brazil. *Apidologie*, 22: 263-652.
- Sheppard WS, Molinderer TE, Mazzolli JA, Stellzer JA, Shimanuki H (1991b). Gene flow between African and European-derived honey bee populations in Argentina. *Nature*, 349: 782-784.
- Sheppard WS, Rinderer TE, Meixner MD, Yoo HR, Stelzer JA, Schiff NM, Kamel SM, Krell R (1996). Hinf1 variation in mitochondrial DNA of Old World honey bee races. *J. Hered.* 87: 35-40.
- Sheppard WS, Arias MC, Grech A, Meixner MD (1997). *Apis mellifera ruttneri*, a new honey bee subspecies from Malta. *Apidologie* 28:287-293.

- Sheppard WS, Smith DR (2000). Identification of African-Derived Bees in The America: A Survey of Methods. *Ann. Entomol. Soc. Am* 93(2): 159-176.
- Sheppard WS, Meixner MD (2003). *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie* 34:367–375.
- Sinacori A, Rinderer TE, Lancaster V, Sheppard WS (1998). A morphological and mitochondrial assessment of *Apis mellifera* from Palermo, Italy. *Apidologie* 29:481-490.
- Skorikov AS, (1929a). Beitrage zur Kenntnis der Kenntnis der kaukasischen Honigbienenrassen. *Rep Appl Entomol* 4:1-59.
- Skorikov AS, 1929b. Eine neue Basis für eine Revision der Gattung *Apis* L. *Rep Appl Entomology*, 4: 249-264.
- Smith DR, Brown WM (1988). Mitochondrial DNA resitricition site polimorphism in American and Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experientia*, 44: 257-260.
- Smith DR, Brown WM, Taylor ORJr (1989). Neotropical Africanized bees have African mitochondrial DNA. *Nature (Lond)*, 339: 213-215.
- Smith DR, Brown WM, (1990). Resitricition endonuclease cleavage site and lenght polimorphism in mitochondrial DNA of *Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera carnica* (*Hymenoptera:Apidae*). *Ann of Entomological Society of America*, 83: 81-88.
- Smith DR, (1991). Mitochondrial DNA and honey bee biogeography in: Smith, DR.(ed) *Diversity in the genus Apis* Boulder, CO Westview, pp. 131-176.
- Smith DR, Slaymaker A, Palmer M, Kaftanoğlu O, (1997). Turkish honey bees belong to the east Mediterranean mitochondrial lineage. *Apidologie*, 28, 269-274.
- Smith DR, Villafuerte L, Otis G, Palmer MR (2000). Biogeography of *Apis cerana* F. and *A. nigrocincta* Smith: insight from mtDNA studies. *Apidologie*, 31: 265-279.
- Smith DR, (2002). Genetic Diversity in Turkish Honey bees. *Apicultural Research, Review. Uludag Bee Journal*, August.
- Sneath PHA, Sokal RR (1973). *Numerical Taxonomy: The principle and pratice of numerical clasification*. W. H. Freeman, San Francisco.
- Soysal İ (2004). *Autochthonous Breeds of Domestic Animals in Türkiye (Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarımız)*, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Zootekni Bölümü Tekirdağ, (misoysal@ttnet.net.tr).
- Soysal İ (2006). *Genetik, Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Biyometri-Genetik A.B.D. Dördüncü baskı*, ISBN: 9944-5405-0-1.
- Southern EM (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments detected by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98: 503-517.
- SPSS for Windows, Release 15.0. Standard Version, SPSS Inc., (www.SPSS.com.tr).
- Suazo A, Lee ML, Hall HG (2002). A Locus with Resitricition Fragment-Lenght Polymorphisms Characteristic of African and European Honey Bee (*Hymenoptera:Apidae*) Groups of Subspecies. *Ann. Entomological Society of America* 95(1) 115-124.
- Suazo A, Hall HG (2002). Nuclear DNA-RFLPs that distinguish African and European honey bee groups of subspecies II: conversion of long PCR markers to standard PCR. *Biochemical Genetics*, Vol. 40, No. 7/8.
- Tan K, Meixner MD, Fuchs S, Zhang X, He S, Kandemir İ, Sheppard W.S, Koeniger N (2006). Geographic distribution of the eastern honeybee, *Apis cerana* (*Hymenoptera:Apidae*), across ecological zones in China: morphological and molecular analyses. *Systematics and Biodiversity*, 4: 473-482.
- Temizkan G, Yılmaz S, Arda N, Öztürk M, Arı Ş, Ertan H, Olgun A, Sarıkaya A (1999). *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. BİYOGEM, yayın No:1

- Wilson EO, Brown WL (1953). The subspecies concept and its taxonomic application. *Syst. Zool.*, 2: 97-111.
- Venables WN, Ripley BD (1999). *Modern Applied Statistics with S-PLUS*. Third Edition Springer. ISBN 0-387-98825-4.
- Wolstenholme DR, MacFarlane JL, Okimoto R, Clary DO, Wahleithner JA (1987). Bizarre tRNA inferred from DNA sequences of mitochondrial genomes of nematode worms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 1324-1328.
- Wolstenholme DR (1992). Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *Int. Rev. Cytol.* 141.
- Vlasak I, Burgschwaiger S, Kreil G (1987). Nucleotide sequence of the large ribosomal RNA of honeybee mitochondria. *Nucleic Acids Res.*, 15: 2388.

EKLER

Ek.1 Yararlanılan Araçlar, Kimyasallar ve Çözeltiler

A) Morfometrik Analiz İçin Yararlanılan Araç ve Kimyasallar

a) Araçlar:

Plate

Makas

İnce uçlu pens

Slayt

Mikroskop lamı

Slayt projektör (KODAK slayt projeksiyon FF lens 75-120 f/3.5)

Mikroskop stereoskop (Olympus VMZ 11x-4x, 272475)

b) Kimyasallar:

Alkol 30% (70 ml H₂O + 30 ml Alkol)

Laktik asit 70% (30 ml H₂O + 70 ml laktik asit)

Entellan,(Merck)

B) mtDNA Analizinde Yararlanılan Araç ve Kimyasallar

a) Araçlar:

Buzdolabı

Mikrodalga Fırın

İnkübatör

Magnetik Karıştırıcı

Evaporatör

Derin dondurucu (Nuair, U.S.A, -86 Ultralow Freezer, SN PO7K-476316-PK)

Elektroforez Sistemi (Biogen, Apelex, FRANCE, SN 280800)

Hassas Terazı (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42-90908239)

Jel Görüntüleme Sistemi (Uvitec, Biolab, EEC, SN MO1-2467)

Kar Makinası (Angelontonia, ITALIA, SN 25183/00)

Vortex (YellowLine TTS2, USA)

Sanrifüj (Eppendorf, GERMANY, 5414 D, SN 5425-40112)

Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)

pH Metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)

Otomatik Termocycle Sistem (PTC 200 (Peltier Thermal cycler) DNA engine, MJ.

Otoklav (Hırayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

Eppendorf tüpleri (1.5 ml'lik ve 0.5 ml'lik)

Transferpipetler (10, 100 ve 1000 µL'lik)

96-Well plate

b) Kimyasallar ve Çözeltiler

DNA ekstraksiyonunda Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler:

TAB 2% (hexadecyltrimethylammonium bromide), Sigma-Aldrich Co.

Lysis solüsyonu I (low salt buffer):1 % CTAB, 50 Mm Tris-HCl (pH 8),

10 mM EDTA, 0.75 M NaCl

Lysis solüsyonu II (1%CTAB, 50 mM Tris-HCl, 10Mm EDTA, 1,5 M NaCl

Proteinaz K (poteinaz K from Tritirachium album), Bioproducts.

HCl (MB 36,44)

Fenol, Sigma-Aldrich Co.

Sodyum Klorür (NaCl) (MB 58.44), Merck.

Kloroform (Chloroform)

24:1 Kloroform: isoamil alkol (chloroform:isoamyl alcohol)

25:24:1 phenol:choloroform:isoamyl alcohols

2 M Tris-HCl (ph 8) (Tris aminomethane)

5 M HCl

(Sodium acetate) CH₃COONa·3H₂O (MB 136.08), Merck.

Tris (hydroxymethyl) aminomethane C₄H₁₁NO₃ (MB 121.1), Serva, Bioproducts Partnership.

TE (Tris-EDTA) [10Mm Tris-HCl (pH 7.6), 0.3Mm EDTA]

99.8% C₂H₅OH (MB 46.07), Merck

(isoamyl alcohol)

c) PZR (polimeraz zincir reaksiyonu)'nda kullanılan Primer ve kimyasallar:

16sRNA primer I (geri) 5' GTA CCT TTT GTA TCA GCG TTG A 3'

16sRNA primer II (ileri) 5' CAA CAT CGA GGGGT CGC AAA CAT C 3'

COI primer I (geri) 5' AAT CTG GAT AGT CTG AAT AA 3'

COI primer II (ileri) 5' GAT TAC TTC CTC CCT CAT TA 3'

10X PZR buffer (MgCl₂), invitrogen.

dNTP (100mM dATP #440, 100 Mm dCTP #441, 100 mM dGTP #442, 100 mM dTTP #443), N.E. Biolabs.

50 mM MgCl₂, Invitrogen.

(Taq DNA Polymerase) (5u/μL), Promega.

d) Elektroforez için Kullanılan Kimyasallar:

EDTA (disodium C₁₀H₁₄N₂O₈Na₂ 2HO (MB 372.5), Serva, Bioproducts Partnership.

Ficoll 400 MrCa 400000, Serva.

Xylene Cyanole FF C₂₅H₂₇N₂O₆S₂Na, Sigma-Aldrich Co.

Agaroz (ultra pure DNA grade agarose), invitrogen.

H₃BO₃ (Boric acid) (MB 61.83), Merck.

EtBr (etidyum bromide) 10mg/ML, Sigma-Aldrich Co.

3',3'',5',5'',-tetrabromophenolsulfonephthalein (Bromophenol Blue), Sigma-Aldrich Co.

NaOH (sodium hydroxide pellets) (MB 58.44), Merck.

3x TBE (4,448gr NaOH, 64.8gr Tris, 33gr boric acid).

0.5x TBE (420 mL 3x TBE, 1980mL distile su).

Ek 2 Kullanılan Çözelti ve Solusyonların Hazırlanması

0.5 M EDTA:

18,61 g EDTA 80 ml distile suda çözülür. Yaklaşık 2 g NaOH peleti eklenir (pH ayarı için) ve manyetik karıştırıcıda çözülür. PH'sı NaOH ile 8'e ayarlanır. Distile su ile 100ml'ye tamamlanarak otoklav yapılır.

% 1 Etidyum Bromide (EtBr):

1 mg Ethidium Bromide 100 ml distile suda çözülür. Işık geçirmeyen renkli şişede aliminyumfolyo ile iyice sarılarak saklanır.

0,1 N'lik NaOH çözeltisi:

0,4 g NaOH 100 ml distile su ile çözülür ve oda ısısında saklanır.

2M Tris-HCl:

24.2 g TrisBase 50 ml distile suda çözülür. PH'sı 8-8.3'e ayarlanır. 100 ml'ye distile su ile tamamlanıp otoklav yapılır.

5 M NaCl çözeltisi:

29,22 gNaCl 80 ml distile suda çözülür. Distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak otoklav yapılır.

1.2 M NaCl Çözeltisi:

5 M NaCl'den 24 ml alınıp 100 ml distile su ile tamamlanır.

100 µI Loading buffer'ın hazırlanması (Blue Juice):

0,25 g bromophenol blue, 0,25 g Xylenol, 20 g ficol, 2 ml 10 mM EDTA (0,5) karıştırılır ve saf su ile 100 m'ye tamamlanır.

Proteinaz-K:

0,02 mg proteinaz-K tartılarak önceden otoklavlanmış steril bir ependorf tüpü içerisine konur ve üzerine 1 ml steril H₂O ilave edilir ve buzlukta muhafaza edilir.

3 NaAc (sodyum asetat), (pH: 5.2):

60 ml distile su otoklavlanmış boş bir şişeye konur. 40.84 g NaAc tartılarak içine konur. Çalkalanarak erimesi sağlanır. Asetik asit ile pH: 5.2-5.4'e ayarlamak çok hassas bir işlemdir. Bu nedenle asetik asit yavaş yavaş eklenmelidir. PH ayarlaması sırasında hacim asetik asit ile 100 ml'ye ulaşacaktır.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, her zaman olduğu gibi, tez çalışmam süresince beni yönlendiren ve sorunların çözülmesinde her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. M. İhsan Soysal'a, Yard. Doç. Dr. Eser Kemal Gürcan'a ve tüm zootekni ailesine teşekkür ederim.

Ayrıca her aşamada yardımlarını esirgemeyen Zonguldak Karaelmas Üniversitesi öğretim üyesi Doç Dr. İrfan Kandemir'e ve Yıldız Teknik Üniversitesi İstatistik Bölümü öğretim üyesi Gülhayat Gölbaşı'na istatistiki analizlerin yapım aşamasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez dönemi boyunca laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Atina Ziraat Üniversitesi Arıcılık ve İpekböcekçiliği laboratuvarından Dr. Maria Bogua'ya ve Prof. Dr. Pascalis Harizanis'e teşekkür ederim.

Eşim Şahin Selim KEKEÇOĞLU'na, her konudaki desteğinden dolayı teşekkür ederim. Şekillerin çiziminde yardımcı olan Ali Kekeçoğlu'na, manevi desteği ile yanımızda olan annemiz Gülseren Kekeçoğlu'na teşekkür ederim.

Son olarak yalnızca bu tez için değil bu aşamaya gelmemde karşılığı ödenemeyecek emeklerinden dolayı annem Şerife BİLGİLİSOY'a teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenimimi Adana Hayriye Kemal Kusun İlkokulunda, orta öğrenimimi Adana İstiklal Ortaokulunda dereceyle tamamladım. 1993 yılında Adana Paksoy Kız Lisesinden mezun oldum. Yüksek öğrenimime Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümünde başladım. Buradaki öğrenimimi başarıyla tamamladıktan sonra 1997 yılında kazandığım Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulunda yüksek öğrenimine devam ettim. 2000-2003 yıllarında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Biyometri-Genetik Anabilim dalı'nda yüksek lisans eğitimimi tamamladım ve 2003-2004 eğitim yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyometri-Genetik Anabilimdalında Doktora eğitimime başladım. Şu an hala doktora eğitimime devam etmekteyim.