

**T. C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KUZEYDOĞU ANADOLU VE DOĞU KARADENİZ BÖLGELERİNDE**  
**YAYILIŞ GÖSTEREN KAFKAS ARI IRKI (*Apis mellifera caucasica*)'NİN**  
**HİBRİTLEŞME DÜZEYİNİN SAPTANMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve GÜLEN**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK**

**TEMMUZ-2018**

**KARS**



T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KUZEYDOĞU ANADOLU VE DOĞU KARADENİZ BÖLGELERİNDE  
YAYILIŞ GÖSTEREN KAFKAS ARI IRKI (*Apis mellifera caucasica*)’NİN  
HİBRİTLEŞME DÜZEYİNİN SAPTANMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve GÜLEN**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK**

**Bu tez çalışması 2016-FM-12 noluproje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma  
Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**




**TEMMUZ-2018**

**KARS**

## TEZ ONAY

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı öğrencisi **Merve Gülen**'in Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “**Kuzeydoğu Anadolu ve Kuzeydoğu Karadeniz Bölgelerinde Yayılış Gösteren Kaflas Arı Irkı (Apis mellifera caucasica)’nın Hibritleşme Düzeyinin Saptanması**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda **jüri tarafından** Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek **oy birliği ile Kabul edilmiştir.**

.. / .. / 20..

	Adı ve Soyadı	İmza
<b>Başkan</b>	: Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK	
<b>Üye</b>	: Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK	
<b>Üye</b>	: Dr. Öğr. Üyesi Cem ÖZİÇ	
<b>Üye</b>	:	
<b>Üye</b>	:	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .. / .. / 20.. gün ve ...  
... / ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fikret AKDENİZ

**Enstitü Müdürü**

## ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

  
Merve GÜLEN

Temmuz-2018

## ÖZET

**Yüksek Lisans Tezi**

**KUZEYDOĞU ANADOLU VE KUZEYDOĞU KARADENİZ BÖLGELERİNDE  
YAYILIŞGÖSTEREN KAFKAS ARI IRKI (*A.mellifera caucasica*)  
HİBRİTLEŞME DÜZEYİNİN SAPTANMASI**

**Merve GÜLEN**

**Kafkas Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Genel Biyoloji Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK**

Canlılar alemindeki varlığını sürdüren türler evrimsel süreçlerini tamamlayarak sistematik sınıflandırmadaki yerini almıştır. Doğal ve yapay seleksiyonlar zamanla türler üzerindeki etkisini arttırarak yeni alttürlerin oluşumuna sebep olmuştur. Değişim sonrası oluşan alttürler arasında adaptasyon kabiliyetleri yüksek olan ırklar gelişimlerini tamamlayarak buldukları lokasyonlarda yayılmaya devam etmiştir. Yayılış gösterdikleri lokasyonların sınırları içerisine farklı türlerin girmesi sonucunda organizmalar hibrit alt türlere farklılaşmış ve saf ırk popülasyonları bölgesel ve genotipik olarak daralmaya başlamıştır.

Bu çalışmayla daha önce Dünyada ve Ülkemizde yayılış gösteren arı ırkları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda elde edilen verilere dayanarak Türkiye’de doğal lokasyonlarının Kuzey Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgeleri olduğu bildirilen Kafkas bal arısı (*A. mellifera caucasica*) ‘nın hibritleşme düzeyinin PCR tekniği ve filogenetik ağaçlandırma metodu kullanılarak tespit edilmesi amaçlanmıştır. Popülasyonlardaki seleksiyonların türler üzerindeki genotipik etkisinin düzeyi mitokondriyel DNA (mtDNA) molekülünün Sitokrom C Oksidaz I geni üzerinde çalışılarak tespit edilmiştir.

Kuzey Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde bulunan Kars, Ardahan, Erzurum Artvin ve Rize illerinin populasyonları hedef olarak seçilmiştir. Çalışma materyali olarak bu illerin sınırları içerisinde bulunan 57 arılıktan yaklaşık 450 ergin işçi arı örneği (her istasyondan yaklaşık olarak 7-8 adet arı örneği alınmıştır) toplanmıştır. Arılıklardan toplanan ergin işçi arı örneklerinin kalıtsal materyalleri fenolkloroform: izoamilalkol tekniği kullanılarak izole edilmiştir. İzolasyonları yapılan DNA örneklerinin PCR sonrası elde edilen ürünleri jel elektroforezinde koşturulduktan sonra agaroz jel görüntüleri alınarak dizi analizleri yapılmıştır. Dizi analizi verileri sonucu materyallerin akrabalık düzeyleri filogenetik ağaçlandırma modelinde değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Bal arısı, Kafkas arı ırkı, hibritleşme, PCR, filogenetik ağaçlandırma

## **ABSTRACT**

### **Graduate Thesis**

# **DETERMINATION of HYBRIDIZATION LEVEL of CAUCASION BEE (*APIS MELLIFERA CAUCASICA*) BREED WHICH IS SPREAD in NORTHEASTEM ANATOLICA and EASTERN BLACK SEA REGIONS**

**Merve GÜLEN**

**Kafkas University**

**Graudate School of Natural and Applied Sciences**

**Deperment of General Biology**

**Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK**

The species that survive their living in living world take part by completing their evolutionary process in systematic classification. Natural and artificial selections gradually by increasing their influence on species bring about formation of new subspecies. Among the sub-species that formed after the change, races with high adaptation abilities have continued to expand in their locations by completing their evolution. As a result of the entrance of different species within the boundaries of the locations where they are distributed, organisms have been differentiated to hybrid subspecies and pure race populations have begun to contract locally and genotypically.

As a result of this study on bee breeds which have already been spreading in the world and our country, are intended to be determined based upon data obtained from Turkey has been reported that the natural locations of the North Eastern and Eastern Black Sea

Caucasian honey's (*A.mellifera caucasica*) level of hybridization using the PCR technique and phylogenetic planting method. The genotypic effect of the selection on populations on the species was determined by studying the cytochrome C oxidase I gene of the mitochondrial DNA molecule.

The populations of Kars, Ardahan, Erzurum, Artvin and Rize which are located in North Eastern Anatolia and Eastern Black Sea regions are chosen as a goal. As study material approximately 450 adult worker bee samples were collected from 57 bees in the boundaries of these cities (approximately 7-8 bee samples were taken from each station). Hereditary materials of adult bee workers' samples collected from bees were isolated using fenolkloroform: isoamylalcohol technique. Isolation of the DNA samples obtained after PCR products, after running on gel electrophoresis, agarose gel images were taken and sequence analyzes were performed. As a result of sequence analysis, the kinship levels of the materials were evaluated in a phylogenetic afforestation model.

**Keyword:** Honeybee, *Apis mellifera caucasica*, hybridization, PCR, phylogenetic afforestation

**2018,43 Pages**



## TEŐEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sırasında araştırma olanağı sağlayan ve araŐtırmalarım sırasında desteğini esirgemeyen bilgi birikimi sayesinde arazi çalıŐmalarıma katılarak örnek toplamama yardımcı olan sayın danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK' a laboratuvardaki bilgi birikimlerini paylaŐan ve analizlerimin raporlanma aŐamasına kadar tüm çalıŐmalarım ile birebir ilgilenen sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Cem Özi' e tezimin desteklendiği proje ekibi arasında yer alan sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Doğan İLHAN' a eğitime birlikte baŐladıđım bitmek bilmeyen azmi ve baŐarısıyla yanımdan bir an olsun ayrılmayan yüksek lisans öğrencisi Cansen KADIRHAN' a teŐekkür ederim.

Son olarak eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve sabırla yanımda olmaya devam eden sevgili aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Merve GÜLEN

Kars, 2018

## İÇİNDEKİLER

<b>İÇ KAPAK</b> .....	<b>i</b>
<b>TEZ ONAY</b> .....	<b>ii</b>
<b>ETİK BEYAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>1</b>
1.1. Giriş .....	1
1.2. Mitokondri Organeli ve Mitokondriyel (mt DNA) Molekülü .....	4
1.2.1. Mitokondri Organeli ve Görevleri .....	4
1.2.2. Bal Aralarında Mitokondriyel (mtDNA) Molekülü .....	5
1.3. Genetik Çalışmalarda Hibritleşme Düzeyini Belirlemede Kullanılan Yöntemler ..	7
1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	7
1.3.2. Filogeni ve Filogenetik Ağaçlandırma .....	9
1.4. Bal Arısı ( <i>Apis mellifera Linneous</i> ) ve Sistematik Sınıflandırmadaki Yeri .....	11
1.4.1. Kafkas Bal Arısı ( <i>Apis mellifera caucasica</i> ) .....	14
1.4.2. Kafkas Bal Arısı ( <i>Apis mellifera caucasica</i> ) Morfolojik ve Davranış Özellikleri.....	17
1.5. Literatür Özetleri .....	19
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
2.1. Materyal .....	23
2.1.1. Canlı Materyal .....	23
2.1.2. Araç ve Gereçler .....	24
2.2. Yöntem.....	25
2.2.1. Genomik DNA izolasyon .....	25
2.2.2. PCR Tekniğinin Uygulanması .....	26
2.2.3. Elektroforez ve Görüntüleme Sistemi .....	28
2.2.4. Filogenetik Ağaçlandırma Metodunun Uygulanması .....	28

<b>3.BULGULAR.....</b>	<b>29</b>
3.1. Hedeflenen Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması .....	29
3.2. Dizi Analizi .....	29
3.3. Filogenetik Analiz .....	30
<b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>31</b>
<b>5.KAYNAKLAR.....</b>	<b>37</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>43</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.4:</b> <i>Apis mellifera</i> mtDNA.....	6
<b>Şekil 2.5:</b> Polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) tepkimesinde gerçekleşen aşamalar ..	8
<b>Şekil 2.6:</b> Vertikal pozisyonda çizilen filogenetik ağaç örneği .....	10
<b>Şekil 2.6:</b> Rutnerr et al. 1988, Alpatov et al. 1929. Kafkas arı ırkının yayılma alanı (Ahmet Güler'in 2009 yılında yaptığı çalışmadan değiştirilerek alınmıştır.) .....	16
<b>Şekil 4.1</b> Bazı <i>arı</i> türlerine ait COI geni için elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	29
<b>Şekil 4.2</b> <i>Kafkas arı</i> ırkının farklı türler ile yapılan filogenetik ağacı (1000 tekrarlı bootstrap ile oluşturulmuş ve Neighbor-joining yöntemi ile çalışan ClustalW ve MEGA5 programları kullanılmıştır). ....	30
<b>Şekil 5:</b> Yığılca bal arısı populasyonlarının gösterdiği filogenetik ağaçlandırma modülü (Kekeçoğlu, 2009). ....	32

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.1:</b> Bal arılarının taksonomisi (C.Linnaeus 1758).....	12
<b>Tablo 1.2:</b> Yeryüzünün farklı bölgelerinde adaptasyon süreçlerini tamamlamış <i>A.mellifera</i> alttürlerinin listesi (Ruttner 1992, Sheppard ve ark. 1997, Sheppard ve Meixner 2003). .....	14
<b>Tablo 2.1:</b> Bal arılarının alındığı bölgeler ve istasyon sayısı .....	23
<b>Tablo 2.2:</b> Çalışmada kullanılan araç gereçlerin listesi .....	24
<b>Tablo 2.3:</b> Elektroforez düzeneği ve agaroz jellerin hazırlanması için kullanılan stok ve tampon çözeltilerin listesi.....	25
<b>Tablo 2.4:</b> PCR reaksiyonunda kullanılan stok ve primerler (5 et al. 1993).....	27
<b>Tablo 2.5:</b> PCR düzeneğinin aşamaları ( Garnery et al.1993 ).....	27

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin nükleotidi
ATP	: Adenozin trifosfat
bç	: Baz çifti
bdH2O	: Bidestile su
C	: Sitozin nükleotidi
COI	: Sitokrom C oksidaz I
COII	: Sitokrom C oksidaz II
Cyt b	: Sitokrom b geni
dNTP	: Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ELB	: Effective cell lysis buffer
G	: Guanin nükleotidi
IrRNA	: Ribozomun büyük alt ünitesi
uL	: Mikrolitre
MgCO2	: Magnezyum klorür
mtDNA	: Mitokondriyel DNA molekülü
M	: Mol
NaCl	: Sodyum klorür
ng	: Nanogram
NLB	: Nükleik lysis buffer
PCR	: Polimerazın zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfzmi
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
T	: Timin nükleotidi
TBE	: Tris-borik asit-EDTA tampon çözeltisi
TE	: Tris edta tampon çözeltisi

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Hayvanlar aleminin %70'lik oranla en kalabalık sınıfını böcekler oluşturmaktadır. Böceklerin bir üyesi olan arılar dünyanın birçok yerinde ekonomik gelir kaynağı haline gelmiştir. Populasyonları temsil eden bireyler yaşamlarını koloniler halinde iş birliği yaparak sürdürürler. Kolonilerdeki bireyler nektar toplayarak propolis, arı sütü, balmumu, arı zehri gibi birçok ürünü doğaya ve insanlığa sunarlar. Tarihçesine bakıldığında zaman arıcılık mesleğinin ve arı kolonilerinin ürettiği ürünlerin insanoğlu tarafından kullanımının milattan önceki dönemlere dayandığı kanıtlanmıştır. Arı kolonilerinden elde edilen ürünler sağlık, kozmetik, gıda vb. birçok sektörde değişik formlarda karşımıza çıkmaktadır. Bal arılarının tozlaşmaya sağladığı katkı dünya üzerinde üretimine önem verilen bir tür olmalarını sağlamaktadır (Fıratlı ve Gençler 1994).

Arıcılık; fitocoğrafyanın sunduğu kaynaklardan yararlanarak, işçinin emeği, sabrı ve sahip olduğu bilgi birikimi ile birlikte canlı arı sayısını arttırabilme ve arı ürünleri elde edebilme becerisi olarak tanımlanabilir. Arıcılık coğrafik koşulların arı kolonilerinin yaşamsal faaliyetlerini sürdürmelerine izin verdiği her yerde yapılabilir. Arıcılık da canlı materyal ve ürün miktarını arttırmanın en önemli sebeplerinden biriside iyi bir gözlemci olabilmektir. Çalışma alanında kullanılan materyalin canlı olması yıl içerisinde yaptığımız çalışmalara karşı dikkat düzeyinizin yüksek olmasını gerektirir; çünkü yapacağınız küçük bir hata yıl içerisinde kolonilere karşı göstermiş olduğunuz tüm emeklerinizin heba olmasına neden olabilir (Sancak 2013).

Arıcılık tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de son dönemlerde tarımsal faaliyetleri içerisinde bulunduran sektörde pazar payı bakımından oldukça önemli seviyelere ulaşmıştır. Ülke ekonomisindeki etkisi yükselişe geçtikçe yeni yetiştiricilerin ve gen merkezlerinin oluşumunda da artışlar gözlenmeye devam etmektedir. Ülkemizin sahip olduğu fitocoğrafyanın zengin ürün yelpazesi arıcılık sektöründeki dalgalanmaların yükselişe geçmesinde büyük rol oynamaktadır. Sahip olduğu flora ve fauna çeşitliliğinden dolayı da birçok canlı türüne ev sahipliği yapmaktadır. Fakat tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de farklı gen kaynaklarının varyasyonel etkilerden ya da farklı coğrafik koşullardan dolayı yok olma riski vardır. Bundan dolayı yetiştirildikleri

coğrafyanın dışına çıkarılmayan yerli ırklar varyasyonel ve coğrafik değişimlere uğramış hibrit ırklara oranla adaptasyon gücü bakımından oldukça dirençlidirler ( Çelik 2015, Ertuğrul ve. 2000).

Doğaya ve insanoğluna yararlarının saymakla bitirilemeyeceği bu canlıların sahip olduğu gen kaynaklarının korunmasında insanların etkisi fazladır. Yerel arıcılığın kontrolü altında bulunan lokasyonlarda yapılan araştırmalar sonucu yerel ırkların saf döller olarak üremeye devam ettiği bildirilmiştir (Ruttner 1988).

Karakteristik özellikler bakımında üstün olan ırkların genotipik özelliklerini korumaları hibritleşmeden üremeye devam etmeleriyle bağlantılıdır. Fakat son dönemlerde göçer arıcılığın yaygınlaşmasıyla populasyonlar arası gen alış verişi arttığından dolayı aynı lokasyonlar içerisinde farklı ırk ve ekotiplerin oluştuğu belirtilmiştir (Kaftanoğlu ve ark., 1993; Öztürk ve ark., 1992).

Dünyada fizyolojik ve morfolojik özellikleri karşılaştırılarak taksonomik sınıflandırılmaları tamamlanmış 24 arı ırkı bulunmaktadır. Arı ırkları buldukları coğrafyada ekolojik dengenin gelişim ve değişim sürecine uyum sağlamak için farklı karakteristik özellikler geliştirirler. Bu özellikleri buldukları coğrafyaya olan hakimiyet güçlerini arttırarak diğer ırklardan üstün hale getirir. Bal arısı ırkları morfometrik ve genotipik özellikleri baz alınarak yapılan çalışmalar sonucunda 4 farklı grup altında toplanmıştır. Türler; batı bal arısı (*Apis mellifera Linneous*, 1758), doğu bal arısı (*Apis mellifera Fabricius*, 1793), dev arı (*Apis dorsata Fabricius*, 1793), cüce arı (*Apis florea Fabricius*, 1787) olarak sınıflandırılmıştır.

Batı bal arısı ırklarını kapsayan grup içerisinde toplamda 26 alt tür tespit edilmiştir. Batı bal arısı grubunu oluşturan arı ırkları Afrika, Avrupa ve Yakın Doğu'yu içine alan geniş bir yelpazeye sahiptir. Ülkemizde bulunan arı ırkları da bu grup içerisinde bulunmaktadır (Rutner et al. 1978, Rutner 1988).

Canlılardaki hibritleşme düzeyleri ve taksonomik sınıflandırmadaki yerlerinin tayin edilmesi için morfolojik özellikler, kan grupları, biyokimyasal genetik polimorfizmlerinin tayin edilmesi, filogenetik ağaçlandırmalardan yararlanılır.

Bal arılarının oluşturduğu populasyonlarda moleküler düzeyde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler klasik yöntemlere göre daha net ve açıklayıcıdır. Bundan dolayı bal



arılarının sistematik sınıflandırma ve varyasyonel etkilerinin açıklanması amacıyla yapılan çalışmalarda PCR tekniğinin kullanımı kaçınılmaz olmuştur (Whitfield et al. 2006).

PCR çalışılmak istenilen gen bölgesinin belirli primerler kullanılarak laboratuvar ortamında (invitro) çoğaltılması işlemine dayanan moleküler içerikli bir tekniktir. PCR düzeneğinin kurulum şartlarına ilk olarak 1987 yılında Karry Mullis değinmiştir. Karry Mullis tarafından ilk taslağının bilim dünyasına sunulduğu yöntem Saiki et al. (1985) tarafından geliştirilerek son halini almıştır. PCR tekniğinin kullanımının yayılmasıyla birlikte organizmalarda varyasyonlara bağlı etkilerin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalar artış göstermiştir. Bundan dolayı PCR tekniği moleküler biyoloji alanında gerçekleşen yeniliklerin ön basamağı olarak kabul edilmektedir. PCR birbiriyle bağlantılı 3 aşamanın defalarca tekrar edilmesine dayanmaktadır.

Genetik çeşitlilik var olan türlerin popülasyonlarının gen havuzu içerisindeki genetik özelliklerinin değişkenliklerini ifade eder. Organizmaların buldukları coğrafyaya adaptasyon süreçlerinde morfometrik ve genotipik açıdan türe özgü farklı karakteristik özellikleri gelişmeye başlar. Bu değişim ve gelişim süresine bağlı olarak aynı popülasyonları temsil eden türler arasında oluşan morfolojik ve fizyolojik farklılıklar yeni alttürlerin oluşumuna sebep olmuştur (Biodiversity).

Ekocoğrafya içerisinde yer alan sayısız türün gen havuzuna sağladıkları çeşitlilik bilim insanlarının canlıları farklı özellikleri bakımından değerlendirerek tanımlamaya yönlendirmiştir. Bilim insanlarının canlılığın gösterdiği çeşitliliğin yoğunluğuna karşı olan merakları sonucunda taksonomi bilimi doğmuştur. Taksonomik sınıflandırma ile yeryüzündeki türler kimliklerini kazanmış ve benzer olan özellikler baz alınarak ırklar gruplar halinde sistematize edilmiştir. Taksonomik sınıflandırmanın temelini canlıların evrimsel süreçte gösterdikleri gelişim ve değişim sonucu oluşan özellikler oluşturmaktadır. Canlılığın tabii tutulduğu evrimsel süreç filogeni; bu süreci inceleyen bilim dalı ise filogenetik olarak adlandırılmaktadır. Moleküler analizler sonrasında elde edilen sekans verilerin değerlendirilerek filogenetik ağaç modelleri oluşturulur. Bu sistemdeki temel amaç türler arası benzerlik ve farklılıkların raporlanmasıdır. Filogenetik ağaçlandırmada popülasyonları oluşturan türler arasındaki ilişkiyi belirlemek için kalıtsal materyaller, türe özgü proteinler, hücresel ve embriyolojik

düzeydeki benzerlikler gibi ırkı belirleyici özellikler ele alınır. Filogenetik ağaçlandırmalar da oluşan dallar popülasyonları arasındaki benzerlik ile ters orantılıdır (Haliki, 2016).

Bu tez çalışmasında, Kuzey Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde bulunan lokasyonlarda Kafkas bal arısı (*Apis mellifera caucasica*) ırkı olduğu düşünülen popülasyonlarındaki hibritleşme düzeyinin ve popülasyonlar arası atasal benzerliklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Moleküler ve filogenetik tekniklerden yararlanılarak yapılan çalışmada mitokondriyel DNA Sitokrom C oksidaz I genini içeren DNA bölgesi PCR tekniği kullanılarak çoğaltılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen veriler DNA sekanslama sonucunda raporlanmış ve filogenetik ağaçlandırma ile popülasyonların atasal benzerlik ve farklılıkları gösterilmiştir.

## **1.2. Mitokondri Organeli ve Mitokondriyel (mt DNA) Molekülü**

### **1.2.1. Mitokondri Organeli ve Görevleri**

Mitokondri organeli fitocoğrafya üzerinde yaşayan tüm ökaryotik canlılarda bulunur. Mitokondrinin organel olarak hücre içerisindeki tespiti Kolliker tarafından yapılmıştır. Organelin sistematik sınıflandırmadaki yeri ilk olarak Altman tarafından 1894 yılında belirtilmiştir. Mitokondri yapısal özellikleri bakımından değerlendirilerek Benden tarafından 1987 yılında “ipliksi granül” anlamına gelen mitokondrion terimiyle isimlendirilmiştir. Mitokondri (mitokondrion) yunanca “iplik (mitos)” ve “granül (chondrion)” anlamına gelen kelimelerden türemiştir. Hücre içerisindeki izolasyonları ilk defa Bensley ve Horer (1934) tarafından karaciğer hücrelerinden yapılmıştır.

Eugene Kennedy ve Albert Lehinger 1948 yılında mitokondrinin hücre içerisindeki görevinin oksidatif fosforilasyon olduğunu belirtmiştir. NASA et al. (1963) canlıların kalıtsal özelliklerini taşıyan DNA molekülünün sadece hücre çekirdeği içerisinde bulunabileceği düşüncesini mitokondri organelinin de kendine özgü kalıtsal materyal taşıdığını ispat ederek yıkmıştır.

Mitokondri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda evrimsel gelişim süreçleri tam olarak açıklanamamakla birlikte ortaya birçok teori çıkmıştır. Bu teoriler arasında en çok benimsenenlerden birisi endosimbiosiz adı verilen teoridir. Bu teori mitokondri

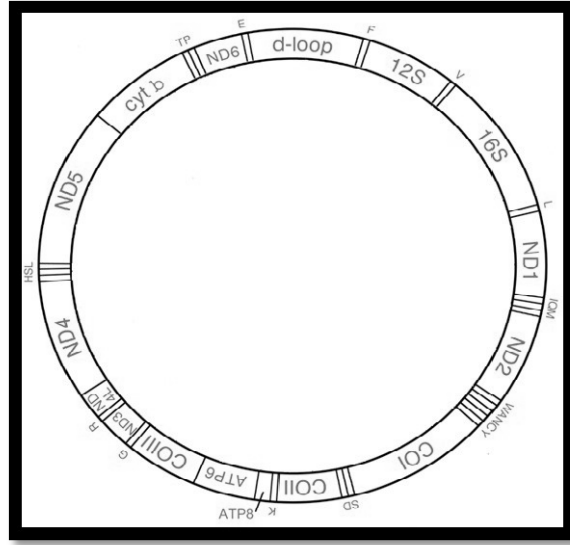
organelinin aerobik bakterilerin en ilkel ökaryotik hücrelerle endosimbiyotik birlikteliğinin sonucunda var olduğunu savunmaktadır. Mitokondri organelinin içerisinde bulunan DNA, moleküle özgü proteinlerin sentezlenmesinden sorumludur. Mitokondrilerde proteinlerin % 95' inden fazlası, çekirdek DNA, ribozom ile tRNA'nın varlığı, mitokondrinin iç zarına ait proteinlerin sentezlenmesi varsayılan endosimbiyotik teoriyi desteklemektedir (Kılıç 2005).

Ökaryotik hücrelerin enerji terminalleri olarak adlandırılan mitokondrilerin hücreler içerisindeki sayıları doku ve organların ihtiyaçlarına göre bir taneden binlerce sayıya kadar ulaşabilir. Canlı vücudunda bulunan Karaciğer hücreleri ve kasların gereksinim duydukları enerji çok fazla olduğundan bu dokular içerisinde bulunan hücrelerin mitokondrileri binlerce sayıya ulaşmaktadır. Mitokondri organelinin en önemli görevi hücre içerisindeki oksidatif fosforilasyon döngüsünü gerçekleştirerek canlı için gereksinim duyulan enerjiyi açığa çıkarmaktır. Böylece oksidatif fosforilasyon sonucunda oluşan yıkım ürünlerinden elde edilen elektronları moleküler oksijene aktarırken açığa çıkan enerji ile adenozin difosfat (ADP)'dan adenozin trifosfat (ATP) sentezini gerçekleştirir (Kılıç 2005).

### **1.2.2. Bal Aralarında Mitokondriyel (mtDNA) Molekülü**

Bal arıları Meyve sineği (*Drosophila yakuba*)' dan sonra mitokondriyal DNA (mtDNA) baz alınarak en fazla allozim polimorfizmi çalışılan hayvansal organizmalardan birisidir ( Mestiner 1969, Mestiner ve Cantel 1972, Brucner 1974).

Bal arılarında bulunan mitokondriyal DNA molekülü (mtDNA) 16800-1700 baz çifti uzunluğundadır. Dairesel yapıda olan molekülün DNA' sı tek zincirden oluşur ve toplamda 37 gen içerir. Mitokondriyel DNA 13 (bazen 12) protein, 22 taşıyıcı RNA (tRNA) , 2 ribozomal RNA (rRNA) kodlayan ve gen ürününün sentezinden sorumlu olan gen bölgeleri (exon) ve kodlamaya katılmayan sadece replikasyonu kontrol eden bölgeleri içermektedir. Mitokondriyel DNA molekülü fonksiyonel olmayan gen bölgelerini içermemektedir (Crozier 1993, Moritz 1994).



**Şekil 2.4:** Apis mellifera mtDNA

Mitokondriyel DNA (mtDNA) molekülünün filogenetik çalışmalarda öncelikli materyal olarak kullanılması evrimsel sürecini genomik (çekirdek) DNA molekülüne göre daha hızlı tamamlamasına dayandırılmıştır (Avize et. al. 1987). Mitokondriyel DNA molekülünün çalışmalardaki önceliğini belirleyen özelliklerinden biriside molekülün dairesel ve tek zincirli yapıda olmasıdır. Bu özelliğinden dolayı hücre bölünmesinden sonra replikasyon sırasında genomik DNA'daki gibi parça değişimi (crossingover) gerçekleşmediği için rekombinant döllerin oluşumu engellenir. mtDNA'nın kalıtsal orjininin anneye (maternal) ait olmasıda organelin önemli özelliklerinden birisidir. Mitokondriyel DNA molekülü yalnızca anneden alındığı için evrimleşme süreçte herhangi bir değişime uğramadan kalıtsal yapısı aynı şekilde korunmaya devam eder.

Arı ırkları da diğer canlılarda olduğu gibi maternal kalıtım molekülünü tüm bireylere aynı şekilde aktarır. Bunun sonucunda koloni içerisinde yer alan bütün bireyler aynı mitokondriyel kalıtıma sahip olurlar (Garnery et al., 1992). Farklı döllere aktarılması sırasında rekombinant yapılar oluşturulmaması bilim dünyasında geçmişe yönelik yapılan çalışmalarda mtDNA molekülünün kullanılmasını arttırmaktadır.

Mitokondriyel DNA molekülünün dokular içerisinde birden fazla kopyasının varlığı ve yapısal boyutlarının oldukça küçük olması da moleküler düzeyde yapılan çalışmalarda tercih sebepleri arasındadır (Dolaş ve ark., 2003, Smith 1991).

### 1.3. Genetik Çalışmalarda Hibritleşme Düzeyini Belirlemede Kullanılan Yöntemler

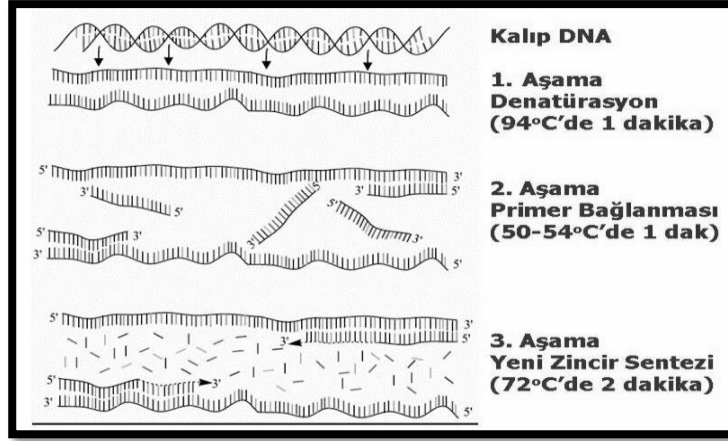
#### 1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Canlıların kalıtsal materyalleri olan DNA ve RNA moleküllerini oluşturan nükleotitler birbirlerine kovalent bağlarla bağlanarak polinükleotitleri oluştururlar. Tüm organizmaların kalıtsal materyallerinde bulunan polinükleotitler DNA molekülünün sarmal yapıda olmasını sağlamaktadır. Organizmalarda polinükleotitlerin oluşumundan sorumlu enzimler bulunmaktadır. DNA polinükleotidinin hücre içerisinde üretiminden sorumlu olan enzim ise DNA polimerazdır. Yapısal olarak tanımlanan polimeraz enzimlerinin tamamı DNA molekülünün 5'-3' yönünde bileşiminin tamamlanmasını sağlarlar (Fijalkowska ve ark., 2012).

*E. coli* bakterisiyle yapılan çalışmalar sonucunda DNA polimeraz enzimi ilk kez bir organizmadan soyutlanmış ve DNA polimeraz 1 enzimi olarak adlandırılmıştır (Gawel ve ark., 2008).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR-PZR) kalıtsal materyaller üzerinde yapılan çalışmalar sırasında istenilen gen bölgesinin türe özgü primerler kullanılarak laboratuvar ortamında (invitro) çoğaltılmasına dayanan moleküler bir tekniktir. PCR tekniğine adını veren DNA molekülünün oligonükleotidini sentezleyebilen PCR düzeneğinin çalışma basamaklarına ilk olarak 1983 yılında Karry Mullis değinmiştir. Karry Mullis tarafından bilim dünyasına sunulan yöntem Saiki et al. (1985) tarafından ileri boyutlara taşınmıştır. Canlılar üzerinde farklı hipotezler belirlenerek yapılan moleküler düzeydeki çalışmalar PCR tekniğinin kullanımının yayılmasıyla birlikte artmaya başlamıştır. PCR birbirlerini takip eden 3 aşamanın art arda yenilenmesiyle ilerleyen bir düzeneden oluşmaktadır. Kurulan düzeneğinin temeli bu 3 aşamaya dayanmaktadır;

1. Kalıtsal materyal olarak kullanılan DNA molekülünün eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (denatürasyon),
2. Analiz sırasında kullanılan türe özgü primerlerin komplementer DNA bölgesiyle hibrit oluşturması (annealing),
3. Oluşacak yeni eksenlerin sentezinin yapılması (extension) dir.



**Şekil 2.5:** Polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) tepkimesinde gerçekleşen aşamalar

PCR düzeneğinin ilk aşaması olan denatürasyon da elde edilen kalıp DNA'nın iki eksenini 94-95°C'lik sıcaklık uygulamasıyla birbirlerinden ayrılırlar. Bu aşamada kullanılan süre yapılan çalışmada geçerli olan prosedüre bağlı olarak 15 saniye ile birkaç dakika arasında değişiklik gösterebilir.

İkinci aşama olan hibrit oluşumu oligonükleotid primerlerin (6-30 bazlık) kalıp DNA üzerindeki tamamlayıcı (komplementer) sıralara eşlenmesi ve hibritleşme olayının gerçekleşmesiyle tamamlanır. Hibritlerin daha iyi oluşması için kalıp DNA ya bir önceki aşamada uygulanan sıcaklık değerinin düşürülerek ikinci aşama için ideal sıcaklığa getirilmesi gerekir. Annealing aşaması için uygun olan sıcaklık 55° C iken çalışmanın boyutuna göre 40-70 derece arasında değiştirilebilir. Primerlerin bağlanması için 55°C de 1-2 dakika bekletmek yeterlidir. Gerçekleşen reaksiyon sonucunda primerlerin tamamlayıcı DNA ile hibritlenmesi tamamlanmış olur.

Hibritlenen kalıp DNA'lar 72°C'ye kadar dayanabilen DNA polimeraz enzimi aracılığıyla 3'OH uçlarına deoksiribonükleotidleri ekleyerek oluşan yeni eksenleri kalıp sıraya tamamlayıcı olacak şekilde sentezlemektir. Son aşama DNA eksenlerinin sentezi olarak bilinmektedir. Bu aşama için ideal zaman aralığı ise 1-3 dakikadır.

Bu aşamaların sonunda primer bağlanma noktalarına sahip olan kalıp DNA ve üçüncü aşama sonucunda oluşan yeni DNA molekülü birbirinden ayrılır. Yeni oluşan DNA molekülleri bir sonraki döngü sırasında oluşacak yeni DNA molekülleri için kalıp görevini üstlenirler. Üç aşamadan oluşan PCR düzeneği yaklaşık 30-40 defa aynı

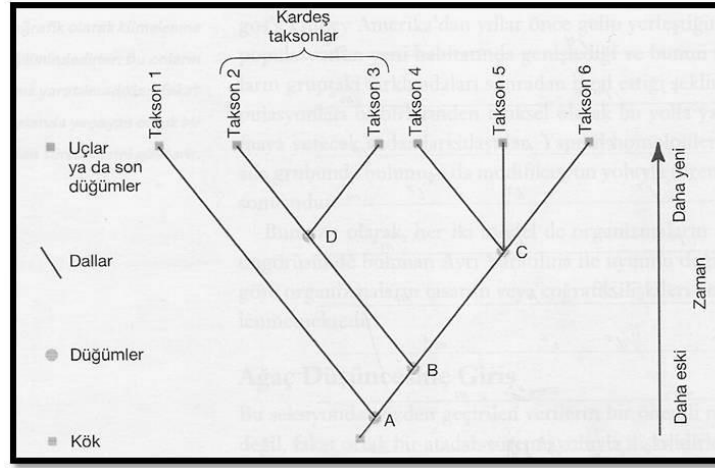
döngünün tekrar edilmesi ile tamamlanır. Böylece istenilen gen parçacığı invitro ortamda çoğaltılmış olur (MC Pherson and Miller, 2001).

PCR düzeneği sonucunda elde edilen ürünler elektroforetik yöntemler ve görüntüleme sistemleri ile tespit edilir.

### **1.3.2. Filogeni ve Filogenetik Ağaçlandırma**

Biyçeşitlilik ırkların sahip olduğu genetik karakterlerin yoğunluğunu ifade eder. Lokasyonlara yayılmış türlerin zamanla dış etmenlere maruz kalarak değişime uğramaları sonucu artmaktadır. Bu farklılıklar ırkların buldukları habitatlara adaptasyonu sürecinde de ortaya çıkmış olabilir. Sonradan edinilen ırka özgü karakteristik özellikler türlerin genellikle buldukları lokasyonlara daha çabuk yayılmalarında etkili olmuştur. Ekocoğrafya üzerinde durmaksızın gelişimine devam etmek de olan sayısız türün varlığı gen havuzuna geniş bir yelpaze sunmaya devam etmektedir. Irksal değişimlerin artması sonucunda yeni alttürlerin oluşmaya devam etmesi taksonomi biliminin doğmasına sebep olmuştur. Taksonomik sınıflandırmada türlerin evrimsel süreçte ki gelişim ve değişimleri filogeni kavramını ve dolayısıyla filogenetik bilimini doğurmuştur. Filogenetik araştırmalar sonucunda elde edilen veriler filogenetik ağaçlandırma metodları ile değerlendirilmektedir. Filogenetik ağaçlandırma metodlarının temeli türler arası benzerlik ve farklılıklara dayanmaktadır. Türler arası ilişkiyi tespit etmek için morfometrik ve moleküler düzeyde önemli olan karakteristik özellikler baz alınır. Filogeni kavramıyla hazırlanan ağaçlar bir düğüm ve bunu takiben popülasyonları oluşturulan ırklar arasındaki Atasal benzerlik ve farklılıklara göre çeşitli dallanmalar gösterir. Taksonomik açıdan değerlendirildiğinde canlılar arasındaki akrabalık dereceleri ortaya çıkar. Popülasyonlardaki Atasal benzerlikler ağaçların dallarıyla ifade edilirken; ırklar arasında ki varyasyonel benzerlikler ise düğüm bölgeleriyle gösterilir.

Filogenetik ağaçlardaki dallanmalar popülasyonları temsil eden türler arasındaki benzer karakterlerinin yüzdesiyle ters orantılıdır. Ağaç dallarında akrabalıkları belirlenen türlerin pekiştirilmesi için bu türlerle bağlantısı olmayan farklı bir türde yer alır. (Freeman ve ark., 1999, Haliki 2016)



**Şekil 2.6:** Vertikal pozisyonda çizilen filogenetik ağaç örneği

Vertikal ağaç metodunda yer alan veriler en alttan başlayıp yukarı ya doğru çıkılarak okunur. A harfi ile belirtilen düğüme yer alan popülasyon 1-6 bölümünde yer alan taksonların ortak atası olarak kabul edilir. Bu gruplardan biri takson 1 i temsil eden ırka dönüşürken diğeri ise 1-5 taksonlarının ortak atası olan B düğümüyle temsil edilen popülasyona evrimleşmiştir.

Ülkemizde bulunan arı ırklarında zamanla farklı sebeplerden dolayı değişik popülasyonların oluştuğu belirtilmiştir. Bu değişime neden olduğu düşünülen gezer arıcılığın lokasyonlarda bulunan yerel ırklar üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada Türkiye'nin 32 farklı bölgesinden ergin işçi arı örnekleri toplanmıştır. Morfometrik analizler kullanılarak yapılan çalışma sonucunda elde edilen verilerle önceki çalışmalarda coğrafik bölgeleri tanımlanan ülkenin Kuzey bölgelerinde yayılış gösteren *Apis mellifera caucasica*, Güneydoğu'da *Apis mellifera meda*, Güneybatıya doğru *Apis mellifera syriaca*, Trakya'da ki lokasyonlarda yayılış gösteren *Apis mellifera carniaca* ve Anadolunun diğer tüm kesimlerine hakimiyet kurduğu bildirilen *Apis mellifera anatolica* yerel ırklarının sahip olduğu genetik özelliklerin tam anlamıyla korunamadığı ve gen merkezlerinde değişiklikler gösterdiği saptanmıştır. Diskriminant fonksiyon analizi ve UPGMA tekniğiyle hazırlanan ağaç modeliyle edilen veriler değerlendirilmiştir. Çalışma sonucundaki verilerle Isparta, Ardahan, Gaziantep, Kahramanmaraş ve Zonguldak illerinde bulunan popülasyonlardan alınan örneklerin genetik benzerliklerinin olmadığı ve diğer tüm popülasyonlardan ayrı bir grup da yer aldıkları saptanmıştır. Kırklareli ve Iğdır ile İzmir, Van ve Hatay ile Hakkari, Antalya,



Muğla, Bilecik, Balıkesir ve Çanakkale illerindeki populasyonlarla aynı grup içerisinde yer aldıkları saptanmıştır. Çalışmadan elde edilen verilere dayanarak hazırlanan filogenetik ağaç modelinde oluşan gruplar daha önceki çalışma verileriyle örtüşmemektedir. Sonuç olarak ülke genelinde ekonomik gelir kaynağı olarak yapılan arıcılık faaliyetleri sırasında daha fazla ürün elde etmek amacıyla arıcılar tarafından üstün karakteristik özelliklere sahip olan türlerin kullanılma isteği lokasyonlardaki varyasyonların artışını önemli düzeyde etkilediği tespit edilmiştir (Kambur ve ark., 2018).

#### **1.4. Bal Arısı (*Apis mellifera* Linneous) ve Sistematik Sınıflandırmadaki Yeri**

Bal arıları yaşamsal faaliyetlerini koloni adı verilen topluluklar halinde devam ettirmeleri sosyal böcekler olarak tanımlanmalarına sebep olmuştur. Arı kolonilerini temsil eden bireyler morfolojik ve genetik özellikleri baz alınarak koloni içerisinde üç gruba ayrılırlar. Kraliçe arı (ana arı) koloni içerisinde bir tane bulunur. Beslenmedeki farklılıklarından dolayı koloni içerisindeki en iri bireydir. Kraliçe arı koloninin bir arada tutulması ve yavru oluşumunun devam etmesi için petek içerisine yumurta bırakmaktan sorumludur. Kolonilerde bulunan erkek arılar ise döllenmemiş yumurtaların gelişimiyle oluşur ve dişi arının bıraktığı yumurtaları döllenmekle görevlidir. Koloni içerisindeki bireylerin bakımı, kovanın temizliği ve havalandırılması, propolis, polen ve nektar toplaması gibi birçok görev ise dişi arılar tarafından yapılır. Dişi arılar işçi arılar olarak adlandırılırlar. Koloniyi temsil eden kraliçe ve dişi arılar döllenmiş yumurtalardan oluşur ve  $2n=32$  kromozoma sahiptirler. Döllenmemiş yumurtaların gelişmesiyle oluşan erkek arılar ise  $n=16$  kromozoma sahiptirler. Morfolojik ve biyometrik analizler sonucunda taksonomik sınıflandırmadaki yerini almış 10 arı türü bulunmaktadır (Ott 1996, Engel 1999).

Bal arıları (*Apis mellifera* L.) dünya üzerinde üç önemli kıtada yayılım göstermektedir. Populasyonları temsil eden türler buldukları coğrafyaya adaptasyon süreçlerinde geliştirdikleri karakteristik özellikleri ile birbirinden farklı tür ve alt türlerin oluşumuna sebep olmuşlardır. Yeryüzünde bulunan ve sistematik sınıflandırmada yerlerini belirlenmiş türlerin dışında buldukları lokasyonlara özgü özellikler taşıyan yerel ırklarda bulunmaktadır. Türlerinin tespit edilmesi için morfolojik, genetik ve fizyolojik özelliklere dayalı çeşitli çalışma yöntemleri geliştirilmiştir. Bilimsel

araştırmalarda yaygın olarak kullanılan moleküler düzeydeki çalışmalar ırkların genetik anlamda baskın olan özellikleri baz alınarak yapılır.

Bal arıları sistematik sınıflandırma içerisinde Hymenoptera takımında Apidea familyasında yer alır. C. Linnaeus 1758 yılında yaptığı çalışma sonucunda bal arılarının sistematik sınıflandırmadaki yerini belirlemiştir.

**Tablo 1.1:** Bal arılarının taksonomisi (C.Linnaeus 1758)

<b>Alem</b>	<b>Animalia (hayvanlar)</b>
<b>şube</b>	Arthropoda (eklem bacaklılar)
<b>Sınıf</b>	Insecta (bcekler)
<b>Takım</b>	Hymenoptera (zar kanatlılar)
<b>Familya</b>	Apidae (arılar)
<b>Cins</b>	<i>Apis</i> (bal arıları)
<b>Trler</b>	<i>Apis florea</i> <i>Apis dorsata</i> <i>Apis cerena</i> <i>Apis mellifera</i> <i>Apis nuluensis</i> <i>Apis laboriosa</i> <i>Apis koshevnikovi</i> <i>Apis nigrocincta</i> <i>Apis andreniformis</i>

Dnyada fizyolojik ve morfolojik zellikleri karşılaştırılarak taksonomik sınıflandırmaları tamamlanmış toplamda 24 arı ırkının varlığı tespit edilmiştir. Yeryznde yaşamlarını devam ettiren arı ırkları morfometrik ve biyometrik analizler sonucunda 4 farklı grup altında toplanmıştır.

Türler;

- 1) Batı bal arısı ( *Apis mellifera* Linneous, 1758),
- 2) Doğu bal arısı ( *Apis mellifera* Fabricius, 1793),
- 3) Dev arı ( *Apis dorsata* Fabricius, 1793),
- 4) Cüce arı ( *Apis florea* Fabricius, 1787) olarak sınıflandırılmıştır.

Batı bal arısını temsil eden grup içerisinde 26 alt türün varlığı tespit edilmiştir. Batı bal arısı olarak adlandırılan gruptaki arı ırkları Afrika, Avrupa ve Yakın Doğu'yu da içine alan geniş bir yelpazeye sahiptir. Ülkemizde bulunan arı ırkları da bu grup altında toplanmıştır (Rutner et al. 1978, Rutner 1988).

Yeryüzünün farklı coğrafik bölgelerinde hakimiyet kurmuş arı ırkları daha önceki çalışmalarda 3 grup altında toplanmıştır; fakat daha sonra canlıların evrimsel süreçte ki değişim ve gelişimleri göz önünde bulundurularak C grubu içerisinde yer alan bazı ırklar O grubu adı verilen yeni bir grup altında değerlendirilerek birbirlerinden morfometrik, moleküler, davranışsal vb. özellikler bakımından yapılan araştırmalar sonucunda birbirlerinden ayrılan bal arıları populasyonları (*Apis mellifera*) 4 grup altında toplanmıştır (Ruttner ve ark. 1988, 1992).

25 farklı arı ırkının tanımlanmasından sonra *A.m. ruttneri* ve *A.m.pamenella* olarak isimlendirilen iki farklı türün teşhisi sonucunda sistematik sınıflandırmada tanımlanan bal arısı ırkı 27 alttüre ulaşmıştır (Steppard ve ark. 1997, Steppard ve Meixner, 2003).

**Tablo 1.2:** Yeryüzünün farklı bölgelerinde adaptasyon süreçlerini tamamlamış *A. mellifera* alttürlerinin listesi (Ruttner 1992, Sheppard ve ark. 1997, Sheppard ve Meixner 2003).

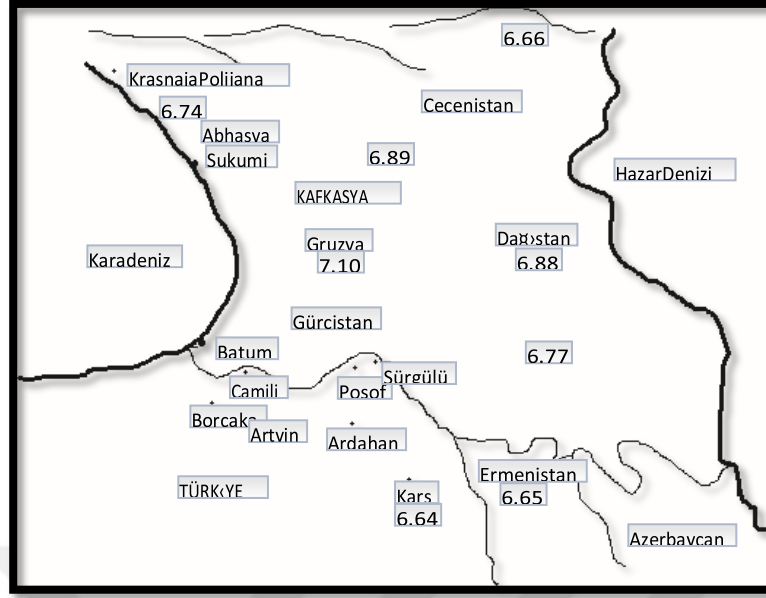
Irkların Adapte Olduğu Bölgeler	Irkların isimleri
Kuzeydoğu Akdeniz (Ortadoğu) lokasyonlarını oluşturan alttürler : O Kolu	<i>A. mellifera cypria</i> Pollman, 1879
	<i>A. mellifera syriaca</i> Buttel-Reepen, 1907
	<i>A. mellifera caucasica</i> Gorbachev, 1916
	<i>A. mellifera armeniacaca</i> Skorikov,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

#### 1.4.1. Kafkas Bal Arısı (*Apis mellifera caucasica*)

Dünya üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda birbirlerinden morfometrik ve genotipik özellikler açısından farklı oldukları kanıtlanan 24 bal arısı ırkı tanımlanmıştır. Belirlenen bu ırklar arasında da buldukları coğrafik bölgelerin ekolojik şartlarına adaptasyonları sonrasında gelişen karakteristik özellikleri ile diğer populasyonlardan farklılaşan yerel ırkların var olduğu bilinmektedir. Kafkas arı ırkı da göstermiş olduğu

adaptasyon gücü ve sahip olduğu karakteristik özellikleriyle üstün ırklar arasında yer almayı başarmıştır.

Kafkas arı ırkı popülasyonlarının varlığının tespit edildiği bölgeler; Çeçenistan, Abhasya, Dağıstan, Gürcistan, Ermenistan, Azerbaycan ve Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgeleri olarak tanımlanmıştır. Kafkas arı ırkı ismini diğer birçok ırk gibi yayılış gösterdiği coğrafyadan yani Kafkaslardan almıştır. Kafkas arı ırkı popülasyonları üzerine yapılan biyometrik analizler sonucunda ova ve dağ tipi olmak üzere iki alttüre ayrıldığı belirlenmiştir. Irka dair ilk tanımlama Kuzey Kafkasya sınırları içerisinde yer alan Mozdok bölgesinde ki popülasyonlardan alınan arı örneklerin materyal olarak kullanılması sonucunda yapılmıştır. Analizler sonucunda arı popülasyonlarına remipes adı verilmiştir. Günümüzde de remipes ırkı Kafkas arı ırkının ovalardaki lokasyonlara hakimiyeti sonucunda oluşan bir haploidi olarak bilinmektedir. Uzun zaman popülasyonlara verilen bu isim bilimsel olarak kullanılmamıştır. Kafkas ırkı bulunduğu coğrafyanın ismini Alman zoolog Polimanın Kafkaslardan topladığı materyaller üzerindeki çalışmaları sonucunda almıştır. Bu süreçten sonra Kafkas ırkı olarak adlandırılan türün ilk taksonomik sınıflandırmadaki yerini ise 1919 yılında Gorbachev belirlemiş ve ırk sistematikte ki yerini *Apis mellifera caucasica* olarak almıştır. Fakat dünya üzerinde sistematik çalışmalarda kullanılmak amacıyla toplanan materyaller üzerinde de birbirinden farklı birçok özellik tayin edilmesi yerel arıcılığın yerini gezginci arıcılığın almasına bağlı olduğu belirtilmiştir ( Alpatov, 1929; Blash ve ark., 1976; Boradachov ve ark., 1976, 1965; Dupraw, 1965; Goethe, 1940 ).



**Şekil 2.6:** Rutnerr et al. 1988, Alpatov et al. 1929. Kafkas arı ırkının yayılma alanı (Ahmet Güler'in 2009 yılında yaptığı çalışmadan değiştirilerek alınmıştır.)

Kafkaslarda varlığı tespit edilen arı ırkları üzerinde yapılan ilk araştırmalar sonucunda Kafkas arı ırkı (*Apis mellifera caucasica*)'nı ve Ermeni arı ırkı (*Apis mellifera armeniaca*)'nı oluşturan populasyonlar morfolometrik olarak birbirlerinden ayırt edilememiştir. Birbirinden farklı bu iki ırk belli bir süre aynı grup altında toplanmıştır (Skorikov 1929).

Kafkasyanın içinde bulundurduğu coğrafik bölgelerde Gri dağ arısı (*Apis mellifera caucasica Gorb.*) ve Ermenistan sınırları içerisinde de Sarı Trans Kafkas arısının (*Apis mellifera remipes Gerstöcker*) yayılış gösterdiği tespit edilmiştir (Alpatov 1929-1948).

Bu çalışmalar sonrasında varlığı tespit edilen ırklar üzerine daha geniş kapsamlı yapılan morfolometrik analizler sonucunda iki ırk *A. m. caucasica Gorbacher* ve *A. m. armeniaca* olarak taksonomik sınıflandırmadaki yerlerini almışlardır (Skorikov 1929).

Kafkasların alçak kesimlerinde bu iki arı ırkının hibritleşmesi ile farklı hibrit türlerin oluştuğu bildirilmiştir (Skorikov 1929, Alpatov 1948).

*Apis mellifera caucasica* ırkı arılarının adaptasyon kabiliyetleri göz önüne alındığı zaman en iyi oldukları coğrafik bölgenin Doğu Karadeniz olduğu bildirilmiştir

Morfolojik olarak incelendiği zaman *Apis mellifera caucasica* ve *Apis mellifera carnica* türlerinin birbirlerine benzedikleri ve her ikisinin de vücut yapılarının aynı boyutlarda olduğu bildirilmiştir. Bu iki arı ırkını oluşturan bireyler koyu renkli kitin tabakasına sahiptir (Ruttner, 1988).

#### **1.4.2. Kafkas Bal Arısı (*Apis mellifera caucasica*) Morfolojik ve Davranış Özellikleri**

Kafkas arı ırkının Türkiye'de Kuzeydoğu Anadolu ve Doğu Karadeniz kıyılarında bulunduğu belirtilmiştir (Ruttner 1998). Sahip olduğu biçim, büyüklük ve kıl örtüsü bakımından karniyol arasına benzer. Kitin rengi koyudur; fakat birinci karın halkası üzerinde kahverengi noktalar görülür. Bu özellikleriyle karniyol arı ırkından kolayca ayrılabilirler. Irkın sahip olduğu morfolojik ve davranışsal özellikleri şu şekilde sıralayabiliriz;

- ❖ Sahip oldukları kitin tabakası koyu esmer renktedir.
- ❖ Kitin tabakasını dış etmenlere karşı koruyan kıl örtüsü geniş ve kılları kısadır. Kıl uzunlukları en fazla 0.30-0.40 mm ulaşabilir.
- ❖ Bazı morfolojik ve davranışsal özellikleri bakımından Karniyol arı ırkına benzer özellikler taşıyan Kafkas arısının kıl örtüsü rengi Karniyol arısınıninkine göre daha açıktır.
- ❖ Koloniyi temsil eden dişi arıların kıl örtüsü rengi kurşuni griyken; erkek arıların thorax ( göğüs) kılları koyu siyah renktedir.
- ❖ Dağ ve ova tipi olmak üzere ikiye ayrılan Kafkas arı ırkının dağ tipinde tüm abdomen (karın) halkaları siyahtır. Birinci abdomen halkaları üzerinde kahverengi benekler görülür.
- ❖ Uzun dilleri aracılığıyla birçok bitkiden nektar toplayabilirler. Bu karakteristik özellikleriyle zorlu coğrafik koşullara sahip lokasyonlarda bile diğer ırklara göre daha üstün davranışlar sergileyerek bal verimliliklerini en üst seviyeye taşırlar.

- ❖ Yüksek miktarlarda propolis toplayabilir ve kullanabilirler. Propolisi kullanım miktarlarının fazla olmasından dolayı peteğe bulaştırma eğilimleri fazladır. Bu özellikleri ırka ait dezavantajlardan biridir.
- ❖ Kafkas ırkının en tipik özelliklerinden birisi de petek üzerindeki sakin davranışlarıdır.
- ❖ Sağlam koloniler oluştururlar ve ırkın popülasyonlarını teşkil eden birey sayılarında ki artış ilkbaharda zayıfken yavru verimleri yaz aylarında yükselişe geçer. Popülasyonlarının en iyi olduğu dönem yaz aylarıdır.
- ❖ Oğul verme meyilleri azdır.
- ❖ Kraliçe (ana) arı koloninin gelişimi sırasında 1100-1500 arasında yumurtayı petek gözlerine bırakabilir. Bir günlük kralı ve arı ağırlığı 90 mg iken; çiftleşme sonrası kraliçe arının ağırlığı 200 mg civarındadır.
- ❖ Koloni içerisinde ki düzenlemeler dişi arılar tarafından gerçekleşir. Koloni içerisindeki değişikliklere adaptasyon tüm bireyler tarafından sadece 1-2 saat içerisinde tamamlanır ve bireyler yaşamsal faaliyetlerini sürdürmeye devam ederler.
- ❖ Petek örme konusunda çok iyidirler. Petek gözleri koyu renkte ve iç bükeydir.
- ❖ Sonbahar aylarında kovan girişinde küçük bir delik bırakırlar.
- ❖ Nosema hastalığına karşı gösterdikleri hassasiyetten dolayı ülkemizin kuzey bölgelerinde kışlamaları ırkın popülasyon verimi açısından iyi olmamaktadır.
- ❖ Yağmacılığa meyilli olmalarına nazaran ırkı temsil eden bireyler kovanlarını çok iyi şekilde kullanır ve korurlar.
- ❖ Bal verimlerinin yüksek olması da ırkın sahip olduğu üstün özelliklerden birisidir.

Kafkas bal arısı ırkı göstermiş olduğu karakteristik özellikleriyle ekonomik açıdan tercih sebebi olmuş önemli *Apis mellifera* L. türleri arasında yer almaktadır (Ruttner 1998, Karacaoğlu ve ark.1998, Doğaroglu ve ark.1999, Dodoloğlu ve ark., 2000, Gösterit ve ark., 2012).



## 1.5. Literatür Özetleri

Bal arılarının (*Apis mellifera* L.) mitokondriyel DNA (mtDNA) moleküllerindeki farklılıkları belirlemek amacıyla yapılmıştır. 68 koloniden alınan arı örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Materyallerin mtDNA'ları izole edilmiş ve tespit edilen 19 mtDNA molekülü üç büyük filogenetik ırk içerisinde toplanmıştır. Bu dağılımlar Afrika'lı türler (*intermissa*, *manticola*, *scutellata*, *andonsonii* ve *capensis*) için A kolu, Kuzey Akdeniz alttürleri (*caucasica*, *carnica* ve *ligustica*) için C kolu ve batı türleri için M kolu olarak gruplandırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler daha önce yapılan benzer çalışmalardan elde edilen verilerle örtüşmektedir ( L.Garnery ve ark.,1992)

12 farklı alttürü temsil eden 302 koloniye ait örneğin materyal olarak kullanıldığı çalışmada türlerin mitokondriyal DNA'ları izole edilmiştir. mtDNA moleküllerinin sitokrom oksidaz 1 ve 2 (COI-COII) intergenik bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıp DraI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu çalışma yöntemiyle daha hızlı ve basit bir şekilde populasyonlara ait 21 farklı haplotip bulmayı başarmışlardır. Sonuç olarak elde edilen veriler değerlendirildiğinde C soyunun tüm kolonileri aynı bant modelini gösterdiği tespit edilmiş ve bu grup C1 olarak adlandırılmıştır. A ve M soylarına ait populasyonlar ise yaklaşık olarak 10 farklı haplotip dizilimi göstermiştir. (Garnery et al.,1993)

Artvin ili Borçka ilçesinde ekonomik gelir kaynağı olarak kullanılan bal arısı ırkının (*Apis mellifera* L.) ırkın morfolometrik yöntemler kullanılarak tanımlanması amaçlanan çalışmada birbirlerinden farklı üç arılıktan toplamda 24 ergin işçi arı örneği alınmıştır. 29 farklı morfolometrik karakter baz alınarak materyallerin biyometrik analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde bölgeye hakimiyet kurmuş ırkın adaptasyon süresinde zamanla değişime uğradığı ve Kafkas arı ırkının ekolojik bir türüne dönüştüğü belirtilmiştir (Güler, 2000a).

16 farklı noktada bulunan 84 koloniden alınan arı örnekleri 4 kesim enzimi ile muamele edilerek mtDNA molekülleri izole edilmiştir. Çalışmanın amacı populasyonlardaki varyasyonel değişimleri belirlemektir. Belirlenen 4 farklı haploid genomu Doğu Akdeniz mtDNA ırkıyla örtüştüğü dördüncü ve henüz literatürde tanımlanamayan haploid genomu da Suriye sınırına yakın bölgelerden alınan

materyallerde bulunmuştur. *Apis mellifera caucasica* ırkına ait genom dizilişinin sıklıkla görüldüğü bölgenin %98-100 bir oranla Gürcistan sınırına yakın bölgelerde olduğu ve türün varlığının Güney ve batıya doğru dik bir eğriyle azaldığı saptanmıştır (Güler, 2000b ).

Slovenya sınırları içerisinde belirlenen 10 bölgeden *Apis mellifera carnica* ırkına ait 269 arı örneği toplanmıştır. Arı örneklerinin moleküler analizlerle mtDNA molekülleri izole edilmiştir. MtDNA örnekleri DraI restriksiyon enzimi ile kesilmiş sitokrom COI-COII intergenik bölgeleri baz alınarak dizi analizleri yapılmıştır. Çalışma sırasında kullanılan örneklerin mtDNA'larının daha önce literatürde yer alan C soyunun yeni bir haploidi olarak değerlendirilmiş ve C2c olarak isimlendirilmiştir (Susnik et al. 2004).

Türkiye'de 55 farklı yöreden toplanan *A. m. anatolica*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica* ve *A. m. carnica* türlerinden olduğu bilinen örnekler mtDNA sitokrom COI ve 16S rDNA yönünden benzerlik tayinleri PZR-KPVP yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Morfometrik çalışmalar sonucunda ırklarla ilgili elde edilen veriler NTSYS paket programında, moleküler teknikler ile elde edilen mtDNA verileri ise REAP paket programı içerisinde değerlendirmeye alınmıştır. Morfometrik veriler ise UPGMA yöntemi kullanılarak filogenetik ağaçlandırmaları yapılmış ve *A. m. meda*, *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica* ırklarını temsil eden örnekler popülasyonun eksi ucunda yer almıştır. Sonuç olarak Grete Adası ( *A. m. adami* ), Trakya yöresi ve Kuzey Yunanistan'ın( *A. m. macedonica* ), Orta Yunanistan ( *A. m. cecropia* ) ile Güney Kıbrıs'ta ( *A. m. cypria* ) bulunan arı popülasyonları ile aralarında genetik bir benzerlik bulunamamış ve elde edilen verilere dayalı olarak Türkiye'deki bal arısı popülasyonlarının morfometrik açıdan gen havuzunda bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Analiz için kullanılan arı ırkları popülasyonlarının da doğu merkezli olduğu belirtilmiştir ( Kekeçoğlu, 2007 ).

Türkiye'de ekolojik koşulları farklı olan 20 lokasyon ele alınarak, burada bulunan arılıklardan toplamda 244 ergin arı örneği toplanmıştır. Bu materyallerin tanımlanmasında PCR-RCFP ve DNA dizi analizi tekniklerinden yararlanılmıştır. Mitokondriyal DNA sitokrom C oksidaz I ve II genlerinin kesilmesi için DraI restriksiyon enzimi kullanılmış ve 4 bantlık bir model elde edilmiştir. Belirlenen üç

bantlaşma (47/41/64/420 bç-C1; 47/40/64/419 bç-C2; 47/39/64-418 bç.) daha önce yapılan çalışmalar da tanımlananlarla benzeşirken bir bantlaşma (47/41/64-419 bç. ve 47/39/64-418 bç.) örneği ilk kez tanımlanmıştır. Sonuç olarak 4 banttan oluşan kesim modeli sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, Türkiye bal arısı popülasyonlarının Doğu Avrupa ve Akdeniz (C) genetik soyu içerisinde yer aldığı belirtilmiştir (F. Özdil, M.A. Yıldız; 2009).

İran'ın 15 farklı bölgesinden bölgeler arası genetik varyasyonun tespit edilmesi amacıyla 92 işçi arı örneği toplanmıştır. Örneklerin mtDNA' larının izolasyonları PCR-RFLP ve DNA dizi sekanslama yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. mtDNA sitokrom c oksidaz I ve oksidaz II arasında kalan intergenik bölge Hinfl ve DraI restriksiyon enzimleri ile muamele edilerek kesilmiştir. Dizi analiz yöntemi kullanılarak 4 değişik bantlaşma sergileyen 2 farklı haplotip bulunmuştur. Sonuç olarak İran bal arısı ırkının varyasyonel değişimin tespiti için kullanılan kesim enzimlerinin farklı ırklara kullanılmaması gerektiği kanısına varılmıştır (Özdil ve ark., 2009).

Türkiye'deki denizlerde bulunan Avrupa hamsisi popülasyonlarına ait genetik çeşitlilik düzeyi mtDNA ve mikrosatellit analizleri kullanılarak çalışılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere dayanarak hamsi popülasyonlarının denizler arasındaki geçiş sonrasında farklı genetik yapılanma sergiledikleri belirlenerek Türkiye sınırları içerisinde bulunan denizlerde 4 farklı grubun varlığı tespit edilmiştir. Birbirlerinden coğrafik olarak uzakta bulunan Karadeniz örneklerinin Ege ve Akdeniz popülasyonların dan farklı olduğu ispat edilmiştir ( Tuncay Şenol Ş., 2014).

Kafkas (*A. m. caucasica* ), İtalyan ( *A. m. ligustica* ), Karniyol (*A. m. carniaca* ) ve Anadolu (*A. m. anatolica*) ırkına ait örnekler toplanarak petri kapları içerisinde fiziksel ve kimyasal parçalama işlemleri yapılmıştır. Izoamil alkol yöntemi kullanılarak materyallerin DNA izolasyonları yapılmıştır. DNA'ları elde edilen örneklerle PCR uygulanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde yürütülerek dizi sekansları yapılmıştır. Filogenetik ağaç profilleri Clustal W (1.83) , dikey pozisyonda sıralanmış ve MEGA 5 programı ile hazırlanmıştır. Çalışma materyali olarak kullanılan 4 arı ırkının moleküler ve filogenetik özelliklerinin tayin edilmesi için yapılan bu çalışma sonrasında popülasyonların moleküler düzeyde %98 oranında benzer özellikler

gösterdiği; fakat filogenetik ağaçlandırma modelinde Kafkas arı ırkının farklı bir dallanma gösterdiği bildirilmiştir (Önk ve ark. 2016).



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Canlı Materyal

Bu tez çalışmasının materyalini Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde bulunan Kars, Erzurum, Ardahan, Artvin ve Rize illerinden belirlenen toplamda 57 istasyondan alınan canlı ergin işçi arı örnekleri oluşturmuştur.

**Tablo 2.1:** Bal arılarının alındığı bölgeler ve istasyon sayısı

İl	İlçe	İstasyon Sayısı
Kars	Merkez	18
	Arpaçay	6
	Digor	3
	Sarıkamış	4
	Selim	4
	Susuz	5
	Akyaka	3
Erzurum	Merkez	4
Ardahan	Merkez	3
	Posof	4
Artvin	Camili	2
Rize	Anzer	2
Toplam		58

Tabloda da görüldüğü üzere belirlenen istasyonlarda bulunan yerli ve gezer arıcıların kolonilerinden toplanan örnekler araştırma materyal olarak kullanılmıştır. Her bir arılıktan yaklaşık 7-8 örnek toplanmıştır. Bu örnekler içerisinde morfolojik olarak diğerlerin daha iri olan arı çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

### 2.1.2. Araç ve Gereçler

Arazi çalışmaları sırasında materyal olarak kullanılacak bal arısı örneklerin toplanması ve çalışmanın yapılacağı zamana kadar muhafaza edilmesi için cam kavanozlar, %70'lik etil alkol, pamuk, pens, makas, kloroform, etiket kullanılmıştır. Toplanan örnekler %70'lik etil alkole batırılmış pamuk ihtiva eden cam kavanozlar içerisinde etkisiz hale getirilmişlerdir. Laboratuvar ortamına getirilen örneklerin etil alkolde uzun süre kalarak zarar görmemesi için pens yardımıyla farklı kavanozlara aktarılmış ve -20°C' de muhafaza edilmişlerdir.

**Tablo 2.2:** Çalışmada kullanılan araç gereçlerin listesi

Adı/Modeli	Çalışmada Kullanım Amacı
Bidestile SafSu Cihazı	DNA izolasyonu ve PCR reaksiyonunda kullanılan tampon çözeltilerin hazırlanması
Nanodrop Spektrometre	İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık derecelerinin belirlenmesi
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	Tampon çözeltilerin hazırlanması
Çalkalayıcı(Vortex)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin kısa süreli santrifüj edilerek çöktürülmesi
Mikrosantrifüj	
Dijital Hassas Terazı	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerin ölçülmesi
Gradient Thermal Cyclers 96 Örneklık	Mikrosentetik lokusların çoğaltılması
Agaroz Jel Elektroforez Takımları	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespiti
Güç Kaynakları	Elektroforez sistemlerine elektrik ortamlarının sağlanması
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi	Elektroforez sistemlerinde koşutulan PCR ürünlerinde oluşan bantlaşmaların izlenmesi
Mikrodalga Fırın	Agaroz jellerin hazırlanması
Derin Dondurucu	Örnek ve çeşitli sarf malzemelerin uzun süreli saklanması
Derin Donduruculu Buzdolabı	Çeşitli tampon çözeltilerin saklanması
Otomatik Pipet Takımları	Kullanılan sıvı malzemelerin miktarlarına göre çekilmesi ve tayin edilmesi
Etüv	İnkübasyon sırasında kullanılır

**Tablo 2.3:** Elektroforez düzeneği ve agaroz jellerin hazırlanması için kullanılan stok ve tampon çözeltilerin listesi

<b>Tampon Çözelti</b>	<b>Molarite/Miktar</b>	<b>İçerik</b>
TE Tampon Çözeltisi	10 mM 1 mM	
DNA Yükleme Tampon Çözeltisi	1.5 ml 1.5 ml	
10X TBE Eletroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	1 litreye tamamlanır	Tris 0.5 M EDTA (pH 8) De iyonize bdH2O
1XTBE Elektroforez /Jel Tampon Çözeltisi	200 ml 2 litreye tamamlanır	10XTBE De iyonize bdH2O

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Genomik DNA izolasyon

Örneklerin genomik DNA izolasyonları fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi mevcut laboratuvar koşulları optimize edilerek elde edilmiştir. Çalışma şartları ve uygulanan prosedür aşağıdaki gibidir:

#### 1.Gün

-20°C' de tutulan örneklerin fiziksel parçalama sırasında parçalanması kolaylaştırmak için petri kaplarına alınmış ve 24-48 saat yumuşatma kaplarında bekletilmiştir. Buradan alınan örneklerin baş ve kuyruk kısımlarından ayrılmış ve göğüs (thorax) bölgesi bistüri yardımıyla parçalanmıştır. Parçalanmış örnekler 1.5 ml'lik şeffaf tüpler içerisine alınmıştır. Tüpler üzerine her bir örnek için 100 uL olacak şekilde ELB eklenerek pipetlenmiştir. Daha sonra eklenen ELB solüsyonunun örnekler daha hızlı etki edebilmesi ve parçalamanın kolaylaşması için tüpler 30 dakika buz içerisinde bekletilmiştir. Buz içerisinden alınan tüpler 10000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan üst sıvı (süpernatant) dökülerek, alt kısımda kalan tortu (pelet) üzerine 100 uLELB tamponu eklenmiştir. Tüpler 10000 devirde 10 dakika

tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant dökülmüştür. Pelet üzerine 100 uL NLB solüsyonu ve 50 uL Proteinaz-K eklenerek tüpler homojen hale gelinceye kadar vortexlenmiştir. Tüplerin üzerine 200 uL SDS eklenerek örnekler +37 °C’de bir gece boyu inkübasyona bırakılmıştır.

### *2.Gün*

İnkübasyondan alınan örnekler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra tüpler üzerine 500 uL- 6M NaCl solüsyonu eklenerek 15 saniye yüksek devirde vortexlenmiştir. Vortexlenen örnekler 10000 rpm’de santrifüjlenerek fazların ayrılması sağlanmış ve süpernatantlar yeni tüplere aktarılarak üzerlerine 1.5 ml tamamlayacak şekilde etil-alkol eklenmiştir. Tüpler altüst edildikten sonra -20’de 1 saat bekletilmiştir.

### *3.Gün*

-20’den alınan örnekler 10000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatantlar dökülerek kalan pelet üzerine 100 uL su eklenerek çözülmüştür. (Yoğunluğa bağlı olarak su miktarı arttırılabilir).

Genomik DNA izolasyonlarının miktar ve saflık kontrolleri Nanodrop Spektrofotometreden yararlanılarak yapılmış ve elde edilen veriler sonucunda 260/80 dalga boylarında 1.8-2.0 saflık derecesi ile miktar olarak 50 ng/ uL değerinin üzerinde bulunmuştur. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının kontrolleri %1’ lik agaroz jel içerisinde yatay elektroforez düzeneğinde yapılmıştır. Elde edilen DNA molekülleri PCR işlemi yapılırca kadar +4° C’ de muhafaza edilmiştir.

#### **2.2.2. PCR Tekniğinin Uygulanması**

Genomik DNA izolasyon yöntemi sonucunda elde edilen DNA molekülleri tRNA genini içeren COI ve COII geninin 5’ ucunu içeren intergenik bölgesi ve COII geninin 5’ ucunu içeren bölgesi PCR protokolü kullanılarak çoğaltılmıştır (Garnery et al. 1993).



**Tablo 2.4:** PCR reaksiyonunda kullanılan stok ve primerler (5 et al. 1993)

2,5 uL	DNA
2,5 uL	10×PCR Buffer
1,5 uL	MgCl
0,5 uL	dNTPs
0,5 uL	İleri primer
0,5 uL	Geri primer
0,2 uL	Taq polimeraz

Reaksiyon için kullanılacak kimyasallar laboratuvar ortamında toplamda 25 uL olacak şekilde optimize edilmiştir. Bunu için elde edilen kimyasal karışım üzerine toplam hacim 25 uL olacak şekilde su eklenerek ürünler PCR düzeneğinde işlem görmeye bırakılmıştır.

**Tablo 2.5:** PCR düzeneğinin aşamaları ( Garnery et al.1993 )

<b>94°C~1 dk</b>		Öndenatürasyon ( DNA eksenlerinin birbirinden ayrılması)
<b>94°C~1dk</b>	<b>30 döngü</b>	Denatürasyon (DNA eksenlerinin birbirinden ayrılması)
<b>48°C~1dk</b>	<b>30 döngü</b>	Bağlanma (Primerlerin komplementer DNA eksenlerine bağlanması)
<b>72°C~1dk</b>	<b>30 döngü</b>	Uzama (Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin yapılması)
<b>72°C~1dk</b>		Son uzama (Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin sonkez yapılması)

PCR işleminden sonra elde edilen PCR ürünleri 37°C'de gece boyu inkubasyona bırakılmıştır.

### **2.2.3. Elektroforez ve Görüntüleme Sistemi**

Elektroforez sistemindeki ilk aşama PCR sonucu elde edilen ürünlerin yükleneceği kuyucuların yer aldığı agaroz jelin hazırlanmasıdır. Bunun için JEL solüsyonu 250 ml olacak şekilde hazırlanmış ve DNA moleküllerinin oluşturduğu bantlaşmaları daha iyi görüntüleyebilmek için solüsyon içerisine Etidyum Bromid eklenmiştir (20 ml jel solüsyonu için 1ml EB eklenir). Hazırlanan jel elektroforez tankı içerisine döküldükten sonra kuyucukları oluşturacak taraklarda yerleştirilerek 40-45 dakika soğumaya bırakılmıştır. Jel hazır hale geldikten sonra taraklar çıkarılmış ve içerisine 1000 ml seyreltilmiş TBE tamponu eklenen elektroforez tankı içerisine oturtulmuştur. Daha sonra PCR ürünlerinin her biri için 2.5 uL jel loading boya eklenmiştir. Yükleme sırasında baştaki ve sondaki kuyucuklara 2 uL marker ve 10 uL DNA yüklemesi yapılmıştır. Elektroforez tankı güç kaynağı agaroz jelde DNA örnekleri 80 voltta 50 dakika yürütülecek şekilde ayarlanmıştır. PCR ürünlerindeki bantlaşmalar görüntüleme sisteminde incelenmiş ve bantlaşma modellerinin sekanslama amacıyla dizi analizleri yapılmıştır.

### **2.2.4. Filogenetik Ağaçlandırma Metodunun Uygulanması**

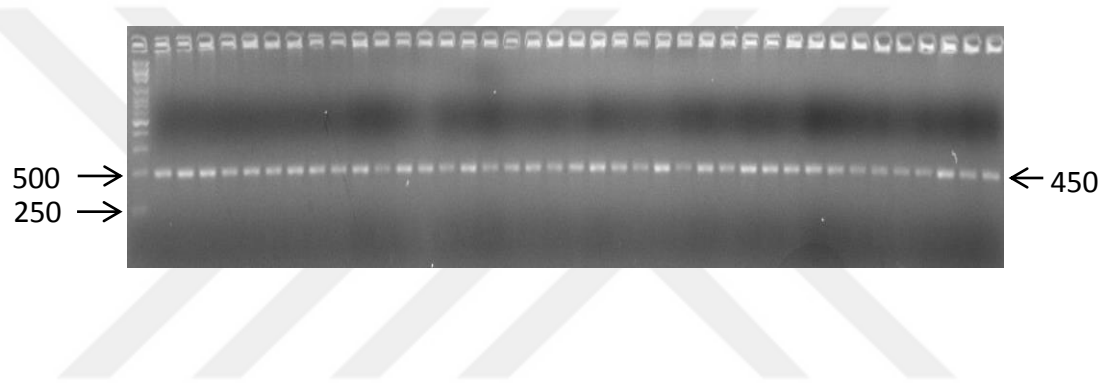
Dizi sekanslama sonucunda elde edilen verilerle çalışma materyalleri filogenetik ağaçlandırma metodu kullanılarak türlerdeki varyasyonel çeşitlilik belirlenmiştir.

### 3.BULGULAR

Mitokondriyal DNA dizi analizleri için gerekli olan total DNA, arı örneklerine ait dokulardan elde edilmiştir. Hedef gen bölgesi COI'in çoğaltılması için PCR yöntemi kullanılmıştır.

#### 3.1. Hedeflenen Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

Hedef gen bölgesi, COI evrensel primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri kalite ve büyüklük açısından kontrol edilmek üzere agaroz jelde yürütülerek jel fotoğrafları çekilmiştir.



**Şekil 4.1** Bazı arı türlerine ait COI geni için elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

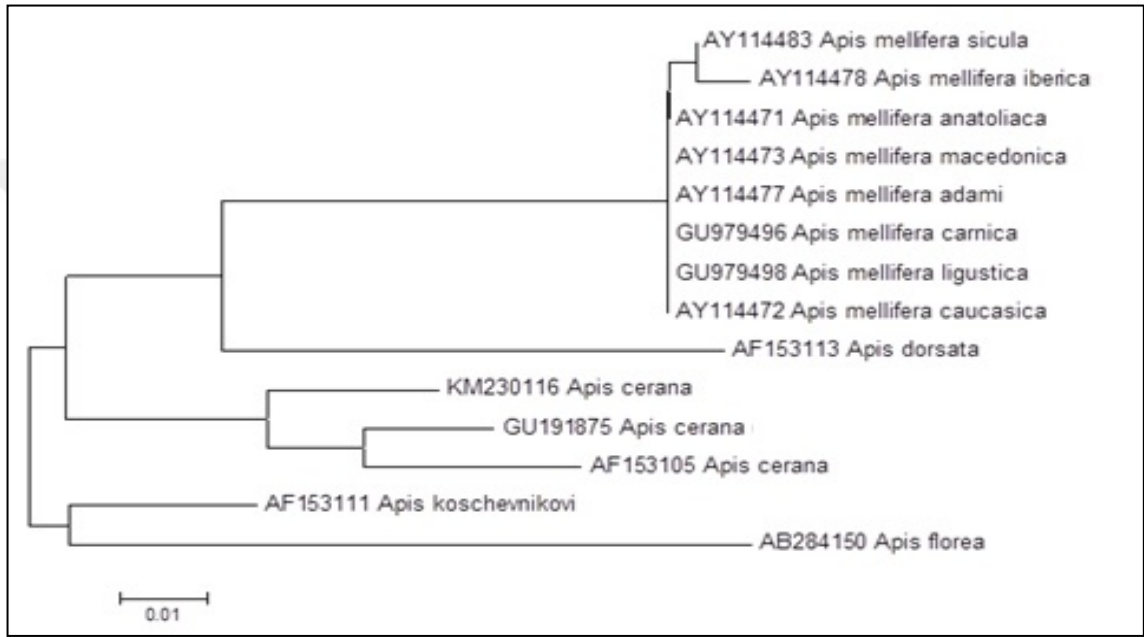
#### 3.2. Dizi Analizi

PCR sonucu elde edilen ürünler jelden saflaştırılmış ve beklenen tahmini ürün büyüklüğü olan 450 bp'lik ürünler elde edilmiştir. Saflaştırılan ürünler hizmet alımı ile dizi analizine tabi tutulmuştur. Nükleotid dizisi belirlenen PCR ürünleri NCBI veri tabanında analiz edilmiştir. Daha sonra arı türlerinin COI geninin evrimsel analizi yapılmıştır. Bunun için arı türlerinden elde edilen dizi analizi sonuçları kullanılarak, NCBI veri tabanından hangi türlere benzerlik gösterdiği incelenmiştir. Dizi analiz sonuçları elde edilen diziler ve yapılan filogenetik ağaç sonucu, örneklerin genel olarak sadece 3 lokaliteye ait türlerin Kafkas arı ırkı ile benzerlikler gösterdiği belirlenmiştir. Bu türün kendi içinde farklı lokalitelerden alınma kriteri göz önüne alınarak, bunlar arasındaki benzerliği belirlemek için nükleotid dizileri EBI veri tabanındaki dbcluster ile dikey hizalanmıştır. Dikey hizalama sonuçları kullanılarak elde edilen filogenetik

ağaç incelendiğinde ise farklı lokalitelerden alınan türler kendi içlerinde anlamlı bir fark göstermiştir.

### 3.3. Filogenetik Analiz

Dikey hizalama ve ağaç analizlerinin oluşturulabilmesi için ClustalW(1.83) veri hazırlanmasında kullanılmıştır. Filogenetik ağaç oluşturmak için MEGA programı kullanılmıştır.



**Şekil 4.2** Kafkas arı ırkının farklı türler ile yapılan filogenetik ağacı (1000 tekrarlı bootstrap ile oluşturulmuş ve Neighbor-joining yöntemi ile çalışan Clustal W ve MEGA5 programları kullanılmıştır).

#### 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Kuzey Kafkasya sınırları içerisinde bulunan Mozdok lokasyonlarında bulunan arı popülasyonları üzerine yapılan çalışma sonucunda Kafkas arı ırkının ilk tanımlaması yapılmıştır. Bulunan tür *remipes* olarak isimlendirilmiştir. Alman zoolog Poliman ise Kafkaslardan topladığı örnekler üzerindeki çalışması sonucunda tür yayılış gösterdiği bölgenin ismiyle adlandırılmıştır. Kafkas arı ırkının ilk sistematik sınıflandırması ise Gorbachev tarafından 1919 yılında yapılmıştır.

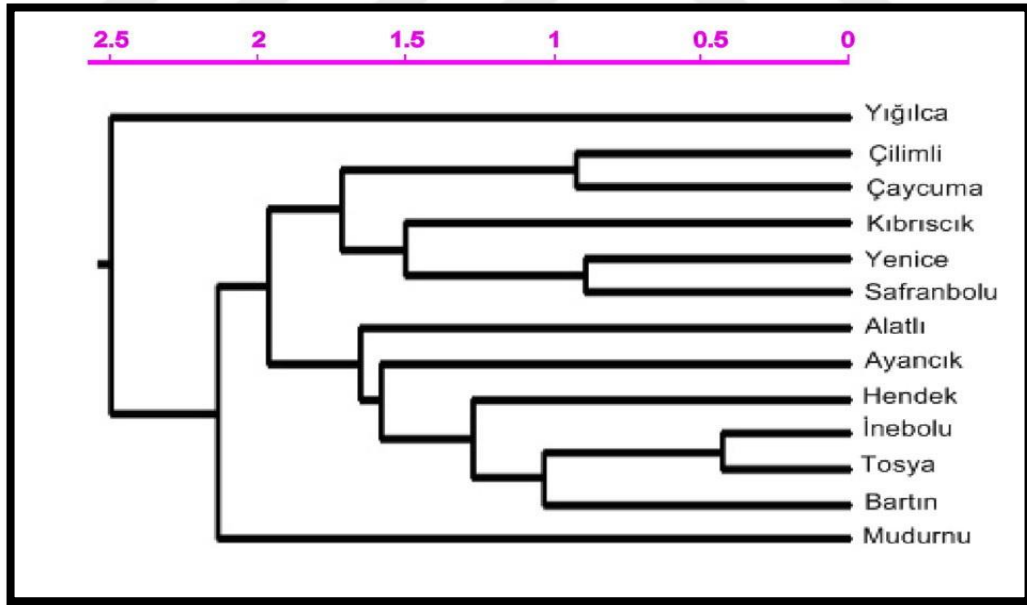
Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarla Kafkas arı ırkının doğal lokasyonlarının Kuzeydoğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgeleri olduğu belirtilmiştir. Zamanla ekolojik dengenin etkisiyle yerel ırk lokasyonlarının değiştiği ve yeni hibrit alttürlerin oluşumuyla genetik yapılarının korunamadığı belirtilmiştir (Ruttner 1988).

Kekeçoğlu ve arkadaşlarının 1994 yılında Orta Anadolu , Karadeniz geçit bölgesi ve Ardahan izole bölgelerinde bulunan bal arısı ekotiplerinin morfolojik özellikler bakımından incelenmesi amacıyla yapılan çalışmada 14 farklı arı popülasyonundan alınan örnekler çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Arı örnekleri morfolojik özelliklerini baz alarak yapılan çalışmada morfometrik yöntemlerden yararlanılmıştır Orta Anadolu arı popülasyonları türlerini morfolojik karakterler bakımından değerlendirilmesi sonucunda arı kolonilerinin çevre popülasyonlardan ayrıldığı görülmüş ve bölgeyi kapsayan çalışmalarla birlikte standart tiplerin elde edilebileceği savunulmuştur. Benzer özellikler bakımından Karadeniz geçit bölgesindeki popülasyonların tür tayinlerinin yapılmasının zor olduğu ve Ardahan izole bölgesindeki arı popülasyonlarına benzer en fazla bir lokasyonun bulunabileceği belirtilirken popülasyonların morfolojik karakterler bakımından Kafkas arı ırkının sahip olduğu değerlerin sınırları arasında kaldığı bildirilmiştir.

Güler ve arkadaşları tarafından 2008 yılında Sinop ili Türkeli yöresi bal arıları (*A. mellifera* L.)'nın morfolojik özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada ilçe sınırları içerisinde yer alan farklı lokasyonlardan toplanan 450 işçi arı örneği materyal olarak kullanılmıştır. Arıların tür teşhisinde morfometrik analizler kullanılarak yapılmıştır. Arı örnekleri arasında yüksek oranda morfolojik farklılıklar tespit edilmiştir. Popülasyonların morfometrik karakterleri arasında tutarsızlıklar saptanmıştır

ve arı kolonilerinin Kafkas (*Apis mellifera caucasica*) ve Anadolu (*Apis mellifera anatolica*) ırklarının morfolojik özelliklerinin farklılaşması sonucunda olduğu bildirilmiştir. Popülasyonlardaki bu değişimlerde ise ana arı kullanımındaki dengesizliğin etken olduğu kanısına varılmıştır.

Bu çalışmayla birlikte Batı Karadeniz bal arısı popülasyonlarında ki çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kekeçoğlu tarafından 2009 yılında Batı Karadeniz bölgesindeki 13 farklı koloniden alınan 650 işçi arı örneği çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Popülasyonları temsil eden arı örnekleri morfometrik karakterler ve mitokondriyal DNA molekülleri baz alınarak elde edilen veriler karşılaştırılarak çalışılmıştır. Morfometrik karakter olarak 18 landmark açısı kullanılmıştır. Mitokondriyal DNA'nın çalışılmak istenilen iki genom bölgesi ise RFLP yöntemiyle çalışılmıştır. 16 sRNA (965 bp) ve sitokrom COI bölgeleri PCR tekniğiyle çoğaltıldıktan sonra Dra I ve Ssp I restriksiyon enzimleriyle kesilmiştir. Analizler sonucu elde edilen verilere dayanarak Yığılca bal arısı popülasyonların'ın batı Karadeniz bölgesinde bulunan diğer tüm ırklardan ayrıldığı bildirilmiştir.



**Şekil 5:** Yığılca bal arısı popülasyonların'ın gösterdiği filogenetik ağaçlandırma modülü (Kekeçoğlu, 2009).

Koca tarafından 2012 yılında Ortadoğuda yayılış gösteren *Apis mellifera* L. alttürlerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada landmark ve outline metodları kullanılmıştır. Yeryüzünde bulunan O grubu popülasyonların'dan *A. mellifera anatolica*, *A. m. caucasica*, *A. m. cypriaca*, *A. m. meda*, *A. m. pomenella* alttürlerinin lokasyonların bulunduğu düşünülerek Türkiye, İran, Irak, Kıbrıs ve Kazakistan toplam 495 koloni örneği çalışma materyalleri olarak kullanılmıştır. Landmark metodu için için ön kanatta bulunan landmarkların 2 boyutlu Kartezyen koordinatları elde edilmiştir. Outline metodu için 7 kanat hücrelerinin şekil farklılıkları baz alınmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde ayrışım fonksiyon analizleri yapılan *A. m. caucasica*, *A. m. cypria*, *A. m. pomonella* ve *A. m. meda*'nın İran ve Irak'taki kolonileri birbirlerinden açık şekilde ayrılmıştır. *A. m. anatolica* kolonileri ve *A. m. meda*'nın Doğu ve Güneydoğu Anadolu kolonileri örtüşen kümeler gösterdiği saptanmıştır. Landmark metodunda kullanılan morfolojik karakterlerin ise popülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılan standart morfometrik analizlerin üzerinde olduğu belirtilmiştir (Koca, 2012).

Ünal 2016 yılında yaptığı çalışmada Trakya bölgesi sınırları içerisinde bulunan arılıklardan alınan ergin işçi arı örnekleri materyal olarak kullanılmış ve arı ırkları arasındaki genetik varyasyonun saptanması amaçlanmıştır. PCR-RFLP ve DNA dizi sekanslama yöntemlerinden yararlanılarak örneklerin mtDNA'ları izole edilmiş ve sitokrom C oksidaz I ve oksidaz II genleri arasındaki intergenik bölge XbaI restriksiyon enzimiyle kesilmiştir. Kesim sonrasında birbirinden farklı 3 haplotip elde edilmiştir. Kafkas (*A. m. caucasica*), Karniyol (*A.m.carnica*), Makedonya (*A. m. macedonica* ) ve Avrupa esmer arı (*A. m. mellifera* ) örnekleri belirlenen 3 farklı haplotip tiplenerek gruplara ayrılmıştır. Kafkas arı ırkı Tip 1 haploidi ile aynı grup içerisinde yer alırken Makedonya ve Karniyol arı ırkları ise Tip 2 ve Tip 3 haploidleri arasında gruplandırılmıştır. Sonuç olarak Trakya bölgesinde Tip 2 haploidinin yaygın olarak görüldüğü saptanmıştır.

Önk ve arkadaşları 2016 yılında Kafkas (*A. m. caucasica*), İtalyan ( *A. m. ligustica*), Karniyol (*A. m. carniaca*) ve Anadolu (*A. m. anatolica*) ırkına ait örnekler toplanarak petri kapları içerisinde fiziksel ve kimyasal parçalama işlemleri yapılmıştır. Izoamil alkol yöntemi kullanılarak materyallerin DNA izolasyonları yapılmıştır. DNA'ları elde edilen örneklerle PCR uygulanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde yürütülerek

dizi sekansları yapılmıştır. Filogenetik ağaç profilleri Clustal W (1.83), dikey pozisyonda sıralanmış ve MEGA 5 programı ile hazırlanmıştır. Çalışma materyali olarak kullanılan 4 arı ırkının moleküler ve filogenetik özelliklerinin tayin edilmesi için yapılan bu çalışma sonrasında popülasyonların moleküler düzeyde %98 oranında benzer özellikler gösterdiği; fakat filogenetik ağaçlandırma modelinde Kafkas arı ırkının farklı bir dallanma gösterdiği bildirilmiştir.

Kambur ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı çalışmada Türkiye arı ırkları biyoçeşitliliğindeki homozenizasyonunun tespit edilmesi amacıyla morfometrik yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Türkiye’de bulunan 32 farklı bölgeden alınan işçi ar örnekleri çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Morfometrik karakter olarak sağ ön kanatta bulunan 19 landmarka kullanılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde yerel ait lokasyonların bir kısmında korunma sağlandığı; fakat daha önce yapılan benzer çalışmaların sonucunda bildirilen lokasyonlardaki (Kuzeyde *A. m. caucasica*, Güneydoğuda *A. m. meda*, Güneybatıya doğru *A. m. syriaca* , Trakya’da *A. m. carniaca*, Anadolu’nun tüm kesimlerinde ise *A. m. anatolica*) farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Filogenetik ağaçlandırma metotlarına göre Isparta Ardahan Gaziantep Kahramanmaraş ve Zonguldak lokasyonlarından alınan örnekler birbirlerinden ve çalışmada kullanılan diğer tüm türlerden farklı bir gruplaşma gösterirken, Kırklareli ve Iğdır ile İzmir, Van ve Hatay ile Hakkari, Antalya, Muğla, Bilecik, Balıkesir, Çanakkale ile aynı kümede yer almışlardır. Yapılan çalışma sonucuyla önceki verilerin örtüşmediği ve biyoçeşitliliğin değişken yapıda olmasının sebebi ekonomik gelir kaynağı olarak yapılan arıcılık çalışmalarında ticari arı kullanımına dayandığı bildirilmiştir ( Kambur ve ark., 2018).

Bu çalışmada Kafkas arı ırkı (*Apis mellifera caucasica*)’nın hibritleşme düzeyinin saptanması amacıyla yapılan çalışmada daha önce yapılan çalışmalarla doğal lokasyonları olduğu belirtilen Kuzeydoğu Anadolu bölgenin sınırları içerisinde bulunan Kars, Ardahan, Erzurum ve Doğu Karadeniz bölgesinden Artvin ve Rize illerinde 11 farklı lokasyon istasyon olarak belirlenmiştir. Bu lokasyonlarda bulunan 58 arı kolonisinden (her koloniden yaklaşık 8-9) canlı ergin işçi arı örneği toplanmıştır. Popülasyonlar arası hibritleşme düzeyinin saptanması ve arı örnekleri arasında ki atasal benzerlik ve farklılıkları belirlemek için PCR tekniği ve filogenetik ağaçlandırma metodundan yararlanılmıştır.



Kars Merkez ve merkeze bağı köylerinin yerleşim yerlerinde bulunan yerel veya gezginci toplam 18 arı kolonisinden toplanan canlı ergin işçi arı örneklerinin PCR tekniğı ve agaroz jel görüntülerinin dizi analizleri değerlendirildiğinde Kars ve Ardahan illerinde örnek alınan istasyonların arı örneklerinin sergilediğı baz dizilimiyle Kafkas arı ırkı popülasyonlarının sahip olduğı baz diziliminin yüksek oranda benzediğı görülmüştür.

Ardahan ilindeki Merkez ve Posof ilçelerini kapsayan lokasyonlarda bulunan 6 koloniyi temsil eden örneklerin mtDNA moleküllerinin baz dizimleri değerlendirildiğinde ise tüm örneklerin gösterdiği sekans verilerinin Kafkas arı ırkı ile benzer dizilime sahip olduğı tespit edilmiştir.

Artvin ili Savşat ilçesinde bulunan Kafkas ana arı üretim merkezinden ve farklı bir lokasyondan alınan iki kolonideki çalışma materyallerinin agaroz jelde sergiledikleri bantlaşma modeli ve dizi sekanslama sonucunda elde edilen nükleotid dizilimlerinin de Kafkas arı ırkınıkiyle yüksek oranda benzediğı saptanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen verilerden bir diğesinde ise Kuzeydoğı Anadolu bölgesi içerisinde seçilen Erzurum ili ve Doğı Karadeniz bölgesinde bulunan Rize ilindeki lokasyonlardan alınan arı örneklerinin agaroz jelde görünen bantlaşma yapıları ve dizi analiz sekanslaması sonucunda elde edilen nükleotid dizilimlerinin Kafkas arı ırkı ile benzer özellikler göstermediğı görülmüştür.

Sonuç olarak daha önceki çalışmalarla yaptığımız çalışmada elde edilen veriler karşılaştırıldığında birbirleriyle benzer sonuçlar elde edildiğı görülmüştür. Saf Kafkas arı ırkının sahip olduğı mitokondriyel genom nükleotid diziliminin doğal yayılış alanları olarak kabul edilen Kuzeydoğı Anadolu ve Doğı Karadeniz bölgeleri içerisinde yer alan Kars, Ardahan ve Artvin illerindeki bazı lokasyonlarda varyasyonel, mutasyonel, coğrafik, ekolojik, doğal ve yapay seleksiyonları içinde barındıran çevresel ve insan kaynaklı faktörlerden etkilenmediğı ve bunun sonucunda ırkın sahip olduğı mitokondriyel genom nükleotid diziliminin korunduğı görülmüştür.

Arı popülasyonlarının atasal benzerlik ve farklılıkları sonucunda hazırlanan filogenetik ağaçlandırma modülünde ise sadece 3 lokaliteden alınan örneklerin Kafkas arı ırkı ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen verilere dayanarak Kafkas arı ırkı mtDNA molekülünün sahip olduğu baz diziliminin Kuzey doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde bulunan arı popülasyonlarında günümüzde de hala rastlanıyor olması bu bölgelerde birbirine yakın lokasyonlarda farklı ırkların yer aldığı popülasyonların bulunmamasına yada farklı popülasyonlar arasında herhangi bir gen alış verişinin bulunmamasına bağlanmıştır.



## 5.KAYNAKLAR

- Adam, B., (1987). Breeding the Honeybee A.Contribution to the Science of Bee Breeding. 118 pages.
- Alpatov, W.W., (1929). Biometrical studies on varition and the races of honeybee. Q. Rev. Biol., 4:1-58
- Avize, J.C., Arnold, J. and Ball, R.M., (1987). İntraspecific phylogeography;the mitokondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annu Rev. Ecol., 18;489-522
- Blash, G.D., Makarov, I.I., Sedikh, A.V., (1976). Zonal distribution of beş roces in USSR Genetics Selection and Reproduction of the Honey Bee Symposium On Beş Biology. Moscow. August.; 134-142
- Boradachov, A.V. and Boradachova, V.T., (1976). Correlative variability of the external morphological characters when crossing Central Russian with Caucasion beş. Genetics. Selection And Reproduction Of The Honey Bee Symposium On Bee Biology Moscow. August, 134-142.
- Botstein, D., White R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The Amerikan Journal of Yuman Genetics, 32;314-331
- Croizer, R.H. and Croizer, Y.C., (1993).The mitokondrial genome of the honeybee Apis mellifera: complete sequence and genome organaization. Genetics. 133;97-117.
- Çelik, Ş., (2015).Türkiye de bal üretiminin zaman serileri ile modellenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.19.cilt,3.sayı:377-382
- Deborah, R.S., (2002). Genetic Diversity in Turkish Honey Bees.Department of Ecology and Evulutionary Biology, University of Kansas, Lawrence, K.S:USA.

- Dodoloğlu, A., Genç, F., (2000). Kafkas ve Anadolu Balarısı (*Apis mellifera* L.) ırkları ile karşılıklı melezlerinin bazı fizyolojik özellikler. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Erzurum.
- Doğaroğlu, M., (1999). Modern arıcılık teknikleri. Anadolu matbaa. 296 s. İstanbul.
- Doğaroğlu, M., Özder, M., Polat, C., (1992). Türkiye de önemli bal arısı (*Apis mellifera* L.) ırk ve ekotiplerinin Trakya koşullarında performanslarının karşılaştırılması. Doğa Tr.J. of Veterinary and Animal Sciences, 16:403-414
- Dupraw, E.J., (1965). The recognition and hondling of honeybee specimens un Non-Lineon Taxonomy. Department of Zoology. University of California. Davis. Calif. U.S.A.J. Apic.Res:4(2):72-84.
- Ertuğrul, M., Akman., Dellal, G., Goncagül, T., (2000). Hayvan gen kaynaklarının korunması ve Türkiye hayvan gen kaynakları. Tr. Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. Ankara. s. 285-300
- Fıratlđ, Ç., Gençer, H.V., (1994). Dünya arıcılığı ve Türkiye'nin yeri. Tr. 2. Teknik Arıcılık Kongresi. 28: 20-28
- Fijalkowska, I.J., Schaaper, R.M., Jonczyk, P., (2012). DNA replication fidelity in *Esherichia coli*: a multi-DNA polymerase affair. FEMS Microbiol Rev 36(6): 1105-1121.
- Freeman, Ő., Herron, J.C., (1999). Evrimsel Analiz. Çıplak, B., Başıbüyük, H., Karaytuğ, Ő., Gündüz, İ., (eds), Palme yayıncılık, Ankara, 708 s.
- Garnery, L., Cornuet, J.M., Solignac, M., (1992). Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. Molecular ecology, Wiley online.
- Garnery, L., Solignac, M., Celebrano, G., Cornuet, J.M., (1993). A simple test using restricted PCR- amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. Experientia. 49(11):1016-1021.

- Gawel, D., Pham, P.T., Fijalkowska, I.J., Jonczyk, P., Schaaper, R.M., (2008). Role of accessory DNA polymerases in DNA replication in *Esherichia coli*: analysis of the dnaX36 mutator mutant . *J Bacteriol* 190(5): 1730-42.
- Genç, F., Dodologlu, O., (2003). Arıcılığın temel esasları, Ders kitabı. Atatürk üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset tesisi. Erzurum.
- Gençer, H.V., Fıratlı, Ç., (1999). Orta Anadolu ekotipleri (*A.m.anatolica*) ve Kafkas ırkı bal arısının (*A.m.caucasica*) bal arılarının morfolojik özellikleri. *Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences*, 23(1):107-113.
- Goetze, G., (1940). The best bee. Liedloff Loft Michaels Leipzig. Methods for selecting bees for ( great) length of tangle . *İnsectes sociaux*. 3(2):355-346.
- Griffiths, A.J.F. and ark., (1996). An introduction to genetik analiysis .6 th Ed., W.H. Freeman and Company , 916, Newyork.
- Griffiths, A.J.F. and ark., (2000). An. İntroduction to genetik analiysis. 7 th Ed., W.H. Freeman and Company, Newyork.
- Güler, A., (2000). Artvin Borçka Camili ( Macahel ) Yöresi Bal Arısı (*Apis mellifera L.*)' nın Morfolojik Özellikleri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Samsun.
- Güler, A., Kaftanoğlu, O., (1999). Türkiye de önemli bal arısı (*Apis mellifera L.*) ırk ve ekotiplerinin göçer arıcılık koşullarında performanslarının karşılaştırılması. *Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences* , 23(3): 577-581.
- Güler, A., Toy, H., (2008). Sinop il Türkeli yöresi bal arıları (*Apis mellifera L.*)'nın morfolojik özellikleri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü, Ziraat fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı., 55139. Samsun
- Kambur, M., Kekeçoğlu, M., (2017). Türkiye bal arısı (*Apis mellifera L.*) alttürlerinde genetik çeşitlilik kaybı. Düzce Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji bölümü. Düzce.

- Karacaoğlu, M., (1989). Orta Anadolu, Karadeniz geçit ve Ardahan izole bölgeleri arılarının bazı morfolojik özellikleri üzerinde bir araştırma. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karacaoğlu, M., Fıratlı, Ç., (1998). Studies in characteristics of Anatolian honey bee ecotypes (*A.m.anatolica*) and their crosses: I. Morphological Characters. Tr.J. of Veterinary and Animal Sciences, 22:17-21
- Kekeçoğlu, M., (2007). Türkiye bal arılarının mtDNA ve bazı morfolojik özellikleri bakımından karşılaştırılmasına yönelik bir araştırma.Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Kekeçoğlu, M., (2016). Türkiye klinikleri journal of Animal nutrition. Türkiyeklinikleri.com
- Kılıç, N., (2005). Lehninger Biyokimyasının ilkeleri. Nelson D.L. and M.M.Cox 3. Baskıdan çeviri.
- Koca, Ö.A., (2012). Ortadoğu da yayılış gösteren *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidea) alttürlerinin geometrik morfometri yöntemleriyle analizi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- McPherson, M.J. and Moller, S.G., (2001). PCR: The basics from background to bench, BIOS Scientific Publishers Limited 276p., Oxford.
- Mestriner, M.A., (1969). Biochemical polymorphisms in bees ( *Apis mellifera ligustica* ). Nature 223:188-189.
- Mestriner, M.A., Control, E.P.B., (1972). The P-3 and Est loci in the honey bee, *Apis mellifera*. Genetics 72:733-738.
- Moritz, R.F. and ark., (1986). A mitochondrial DNA polymorphism un honeybees. Eperientia , 42; 322-324.
- Önk. K., Sarı, M., Öziç, Ç., (2016). Kafkas (*Apis mellifera caucasica*), İtalyan (*Apis mellifera ligustica*) ve Anadolu (*Apis mellifera anatolica*) Irkı arıların

moleküler ve filogenetik özellikleri. 5. Muğla Uluslararası Arıcılık ve Çam Balı kongresi, 1-5 Kasım, Muğla.

Özbakır, Ö.G., (2011). Türkiye'nin Güneydoğu sınırboyu bal arısı popülasyonlarının (*Apis mellifera* L.) morfolojik özellikleri. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Özdil, F., Fakhri, B., Meydan, H., Yıldız, M.A., (2009). Mitochondrial DNA variation in the COXI-COXII intergenic region among Turkish and Iranian honey bees (*Apis mellifera* L. ) . HG Holl\_ Biochemical genetics.

Özdil, F., Yıldız, M.A., (2008). Mitokondriyel DNA sitokrom C Oksidaz I ile II arasındaki intergenik bölge (COI-COII intergenik bölge) bakımından Türkiye bal arısı popülasyonlarının tanımlanması. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(45):46-51.

Palmer, M.R., Smith, D.R., Kaftanoğlu, O., (2000). Turkish honeybees: Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mt DNA. The Journal of Heredity, 91 (1); 42-46.

Ruttner, F., (1988). Biogeography and taxonomy of honey beş. Springer Verlag,284pp. Berlin.

Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J., (1978). Biometrical statistical analysis of th geographic variability of *Apis mellifera* L. Apidologie, 9(4):363-381.

Sancak, K., Sancak, A.Z., Aygören, E., (2013). Dünya ve Türkiye de arıcılık. dergi park.gov.tr (05.07.2016)

Solak, M. ve ark., (2000). Moleküler genetik ve rekombinant DNA teknolojisi ( Temel Bilgiler). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırmalar Vakfi, 15:Afyon.

Tuncay, Ş.S., (2014). Mitokondri ve mikrosatellit DNA analizleriyle Türkiye denizlerindeki hamsi ( *Engraulis encrasiocolus* L. ) popülasyonlarının genetik

yapısının belirlenmesi. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

Ünal, G., (2016). Trakya Bölgesindeki Bal Arılarında ( *Apis mellifera* L. ) mt DNA sitokrom C oksidaz altbirim I (COI) geni analizi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ.

Whitfield, C.W. and ark., (2006). Thrice out of africa : Ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. Science, 314, 642-645.





## ÖZGEÇMİŞ

Adı- Soyadı: Merve GÜLEN

Doğum Yeri ve Tarihi: İZMİR - 07/04/1991

Yabancı Dili: İngilizce

İletişim (e-posta):

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Naci Şensoy Lisesi

Lisans : Kafkas Üniversitesi \_Fen-Edebiyat Fakültesi\_Biyoloji

Bölümü

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi \_Fen Bilimleri Enstitüsü\_Genel

Biyoloji ABD.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl :

Yayımları (SCI ve diğer) :

Diğer konular