

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



DOĞAL VE TİCARİ *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE)
POPULASYONLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN MİKROSATELİT
MARKERLER VE mtDNA KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

EYLÜL 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**DOĞAL VE TİCARİ *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE)
POPULASYONLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN MİKROSATELİT
MARKERLER VE mtDNA KULLANILARAK BELİRLENMESİ**

Bahar ARGUN KARSLI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

EYLÜL 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞAL VE TİCARİ *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE)
POPULASYONLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN MİKROSATELİT
MARKERLER VE mtDNA KULLANILARAK BELİRLENMESİ**

Bahar ARGUN KARSLI

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK- 2016-1568 nolu proje ile desteklenmiştir.**

EYLÜL 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL ve TİCARİ *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE)
POPULASYONLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN MİKROSATELİT
MARKERLER ve mtDNA KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 27/09/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

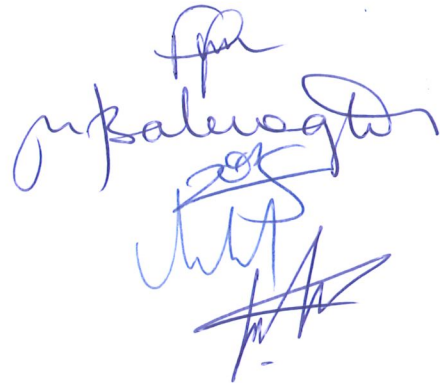
Prof. Dr. Fehmi GÜREL (Danışman)

Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Prof. Dr. Ayhan GÖSTERİT

Doç. Dr. Özgür KOŞKAN



ÖZET

DOĞAL VE TİCARİ *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE) POPULASYONLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİNİN MİKROSATELİT MARKERLER VE mtDNA KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bahar ARGUN KARSLI

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Eylül 2018, 166 sayfa

Bombus terrestris L. Türkiye ve özellikle de Akdeniz Bölgesi doğal faunasında en yaygın bulunan bombus türüdür. Aynı zamanda *B. terrestris* arısı kitlesel olarak büyük ölçeklerde üretilmekte ve Türkiye dahil çok sayıda ülkede ticari olarak tozlaşmada kullanılmaktadır. Türkiye’de her yıl yaklaşık olarak üç yüz bin adet ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada yedi doğal (Aksu, Kumluca, Demre, Geyikbayırı, Termesos, Bayatbademler ve Faselis) ve yedi ticari populasyon (TP1-TP7) olmak üzere toplam 14 populusyona ait, 408 *B. terrestris* işçi arı örneğinde genotipik yapı yirmi mikrosatelit lokus ve iki mitokondriyal DNA gen bölgesi (COI ve cytb) kullanılarak incelenmiştir. Mikrosatelit lokuslardan elde edilen bulgular, ticari ve doğal populusyonlarda genetik çeşitliliğin yeterli seviyelerde olduğunu, populusyonlar arası genetik farklılaşmanın ise önemsiz olduğunu (ikişerli F_{ST} değerleri: 0.014-0.045; $p>0.05$) göstermektedir. Populusyonlarda yüksek akrabalık (ortalama F_{IS} : 0.234) nedeniyle heterozigot eksikliğine bağlı Hardy-Weinberg dengesinden sapma görülmüştür. Structure analizinde en iyi K değerine göre populusyonlar dört ana kümeye ayrılmıştır. Ancak bu dört ana küme arasında geçişlerin olduğu ve populusyonların kesin sınırlarla birbirinden ayrılmadığı tespit edilmiştir. mtDNA analizlerinde, COI gen bölgesine göre iki, cytb gen bölgesine göre 6 haplotip belirlenmiştir. mtDNA analizlerinde, tüm populusyonlarda *B. t. dalmatinus* alttürüne ait genotipler saptanırken, *B. t. terrestris* alttürüne ait genotipler bazı ticari populusyonlar ile seralara yakın populusyonlarda yoğun olarak belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular tozlaşma amacıyla ticari olarak üretilen bombus arılarının doğal populusyonlar ile etkileşimde olduğuna işaret etmekte ve son yıllarda populusyonlar arasındaki gen akışı ve doğal bombus populusyonlarının genetik yapısındaki değişim ile ilgili kaygıları desteklemektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Bombus arısı, genetik çeşitlilik, genetik özellikler, mikrosatelit, mtDNA, doğal *B. terrestris* populusyonu.

JÜRİ: Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Prof. Dr. Ayhan GÖSTERİT

Doç. Dr. Özgür KOŞKAN



ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC CHARACTERISTICS OF NATIVE AND COMMERCIAL *Bombus terrestris* (HYMENOPTERA: APIDAE) POPULATIONS BY USING MICROSATELLITE MARKERS AND mtDNA

Bahar ARGUN KARSLI

PhD Thesis in Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Fehmi GÜREL

September 2018; 166 pages

Bombus terrestris L. is the most common bumble bee species found in Turkey and especially in the Mediterranean Region natural fauna. On the other hand *B. terrestris* is reared extensively today on a mass scale and is widely spread commercially in many countries including Turkey where it is used as a pollination agent. Approximately 300 000 commercially produced *B. terrestris* colonies have been used every year in Turkey. In this study, a total of 408 worker bee samples were collected from 7 native *B. terrestris* populations (Aksu, Kumluca, Demre, Geyikbayırı, Termesos, Bayatbademler and Faselis) and 7 commercial reared populations (TP1-TP7). The genetic characteristics of the native *B. terrestris* populations were investigated by using twenty microsatellite markers and two mitochondrial genes (COI and cytb). Microsatellite analysis showed adequate levels of genetic diversity in both commercial and native populations, while base on the Pairwise F_{ST} values genetic differentiation between populations did not differ significantly (0.014-0.045; $p > 0.05$). Depending on the heterozygous deficiency, populations deviated from Hardy-Weinberg equilibrium due to high inbreeding (mean F_{is} : 0.234). According to the best K value in structure analysis, the populations are separated into four distinct clusters. However, there are transitions between these four main clusters and it has been determined that populations could not be clearly separated from each other. In mtDNA analysis, two haplotypes for COI gen region and six haplotypes for cytb gene region were found. In mtDNA analysis, genotypes belonging to the subspecies *B. t. dalmatinus* were determined in all populations, while genotypes belonging to the subspecies *B. t. terrestris* were intensively determined in some commercial populations and nearby greenhouse populations. Our results imply that native bumble bee populations interact with commercially produced bumble bees. These findings support concern about gene flow between populations and altering the genetic structure of native bumble bee populations in recent years.

KEYWORDS: Bumble bee, genetic variation, genetic characteristics, microsatellite, mtDNA, native *B. terrestris* population.

COMMITTEE: Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Prof. Dr. Ayhan GÖSTERİT

Doç. Dr. Özgür KOŞKAN



ÖNSÖZ

Bombus arıları, Türkiye biyolojik zenginliğinin önemli bir parçasıdır. Türkiye’de farklı iklim ve floraya uyum sağlamış çok sayıda bombus türü, alttürü ve ekotipi bulunmaktadır. Araştırmacıların yaptığı az sayıda çalışma ile yaklaşık 50 adet bombus türü tanımlanmıştır. Ancak, Türkiye’deki bombus türlerinin mevcut durumu, ülke genelindeki dağılımı, populasyon yoğunlukları ve genetik özellikleri birkaç çalışma ile gündeme gelmiştir. Günümüzde doğal ekosistemin giderek bozulması arıların besin kaynaklarının ve yuva yerlerinin azalmasına yol açmakta ve bu olumsuz gelişmeler de küçük, izole populasyonların yok olma tehdidi ile karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır. Çevre faktörlerinin yanı sıra populasyonların genetik yapıları da bu süreci hızlandırmaktadır. Genetik çeşitliliğin azalması ve populasyonlar içindeki akrabalık seviyelerinin artışı doğal populasyonlar için ciddi bir tehdittir. Bu nedenle bombus populasyonlarının genetik çeşitlilik ve özelliklerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Bombus terrestris, Akdeniz Bölgesi’nde ve özellikle de Antalya ili ve çevresinde bulunan en yaygın bombus türüdür. Bu tür son yıllarda kitlesel olarak üretilmekte ve seracılık sektöründe tozlaşma amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, farklı damızlık stoklardan üretilen ve tozlaşma amacıyla seracılık sektöründe kullanılan *B. terrestris* kolonilerinde çok sayıda ana arı ve erkek arı üretilmektedir. Bu ana ve erkek arılar sera dışına çıkabilmekte, doğal populasyonlara ait ana ve erkek arılarla çiftleşebilmekte ve koloni oluşturabilmektedir. Özetle, *B. terrestris* ticari olarak kullanılmaya başlandıktan kısa bir süre sonra, yuva yeri ve besin kaynakları bakımından yerel arı populasyonları ile rekabet, yerel bombus alttür ve ekotipleri ile melezlenme, parazit ve patojenlerin yayılması gibi doğal ekosisteme zarar verebilecek etkileri ile dikkat çekmiştir. Her yıl Akdeniz Bölgesi’nde yaklaşık üç yüz bin ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır. Özellikle bu bölgedeki doğal populasyonların genetik yapılarında açılma olma olasılığı oldukça yüksektir. Bu nedenle, bölgedeki doğal populasyonların genetik yapısının incelenmesi ve korunması gerekmektedir. Bu çalışmada literatürde mevcut çalışmaların iki katı mikrosatelit marker kullanılarak daha detaylı bilgiler elde edilmiş ve daha açık bir gruplama yapılmıştır. Ayrıca mikrosatelit verilerini desteklemek ve ekotip düzeyinde ayırım yapabilmek amacıyla mtDNA gen bölgeleri de çalışmaya dahil edilmiştir.

Bu konuda çalışma fırsatı sunan ve tezin her aşamasında desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fehmi Gürel’e, hem laboratuvarlarını kullanmama izin veren hem de tezin olgunlaşmasına destek veren tez izleme komitesi üyesi değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Murat Soner Balcıoğlu’na ve Sayın Prof. Dr. Kemal Karabağ’a ve laboratuvarında çalışmanın bir bölümünü tamamladığım Sayın Prof. Dr. Bülent Uzun’a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, teze maddi kaynak sağlayan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederim.

Son olarak da her zaman yanımda olan ve tezin her aşamasında desteğini gördüğüm eşim Taki Karslı’ya ve oğullarım Toprak ve Tuna Karslı’ya çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iv
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	8
2.1. <i>Bombus terrestris</i> Arısının Genel Özellikleri	8
2.2. <i>Bombus terrestris</i> 'in Doğal Yaşam Döngüsü	9
2.3. <i>B. terrestris</i> 'in Ekonomik Önemi ve Seracılık Seköründe Kullanımı	11
2.4. Mikrosatelit Markerler	12
2.5. Mitokondriyal Genomun (mtDNA) Yapısı ve mtDNA Markerler	15
2.6. Mitokondriyal DNA Analizinde Kullanılan Yöntemler	17
2.6.1. Mitokondriyal DNA dizi analizi	17
2.7. Türkiye' de <i>Bombus</i> Arısı Taksonomisi ve Genetiği Konusunda Yapılan Çalışmalar	19
2.8. Dünya'da <i>Bombus</i> Arılarında Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Çalışmalar	23
3. MATERYAL VE METOT	39
3.1. Materyal	39
3.1.1. Çalışmada kullanılan arı materyali ve örnekleme	39
3.1.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	41
3.2. Metot	42
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu	42
3.2.2. Genomik DNA miktarının hesaplanması.....	43
3.2.3. Mikrosatelit lokusların belirlenmesi ve PCR'da kullanılacak primerler	43
3.2.4. PCR işlemi ile mikrosatelit bölgeleri içeren lokusların çoğaltılması	46
3.2.5. mtDNA gen bölgelerinin belirlenmesi ve PCR'da kullanılacak primerler.....	47
3.2.6. PCR işlemi ile mtDNA gen bölgelerinin çoğaltılması	47
3.2.7. Agaroz jel elektroforezi	48
3.2.7.1. Elektroforez çözeltisi	48
3.2.7.2. Jelin hazırlanması.....	48

3.2.7.3. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi	48
3.2.7.4. Elektroforez işlemi	49
3.2.8. Mikrosatelit genotiplerin tespiti.....	49
3.2.9. Populasyon yapısı ve genetik varyasyonun değerlendirilmesi	51
3.2.9.1. Genetik varyasyon analizleri.....	51
3.2.9.1.1. Allelik varyasyon	51
3.2.9.1.2. Allel genişliği (AG).....	52
3.2.9.1.3. Ortalama allel sayısı (Na).....	52
3.2.9.1.4. Etkili allel sayısı (N_e)	52
3.2.9.1.5. Gözlenen heterozigotluk (H_o).....	52
3.2.9.1.6. Beklenen heterozigotluk (H_e)	52
3.2.9.1.7. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)	52
3.2.9.1.8. Özgün (Private) allel	53
3.2.9.2. Akrabalı yetiştirme katsayısı (F_{is}) ve F-istatistikleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST})..	53
3.2.9.2.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (F_{is})	53
3.2.9.2.2. F-istatistikleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST}) ve ikişerli F_{ST} değerleri	53
3.2.9.3. Genetik farklılıklar	54
3.2.9.3.1. Gen akışı (N_m).....	54
3.2.9.3.2. Genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST})	55
3.2.10. Moleküler varyans analizi (AMOVA).....	55
3.2.11. Genetik mesafe tahmini ve filogenetik ağaç oluşturma.....	55
3.2.11.1. Nei'nin genetik uzaklık (D_A) metodu	55
3.2.12. Faktöriyel uygunluk analizi (FCA).....	56
3.2.13. Genetik yapı analizi (Structure).....	56
3.2.14. SNP haplotiplerin belirlenmesi ve istatistik analizleri	56
4. BULGULAR	58
4.1. DNA İzolasyonu ve PCR İşleminden Elde Edilen Bulgular.....	58
4.2. Mikrosatelit Analizlerinden Elde Edilen Bulgular.....	59
4.2.1. Genetik Çeşitlilik Parametreleri	60
4.2.1.1. Lokus seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri	60
4.2.1.2. Populasyon seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri.....	65
4.2.1.3. Grup seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri	71

4.2.2. F-istatistikleri (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}), gen akışı (N_m) ve özgün allel değerleri.....	72
4.2.3. Populasyonlar arası genetik farklılaşma	74
4.2.4. Moleküler varyans analizi (AMOVA).....	77
4.2.5. Kümeleme analizleri.....	77
4.2.5.1. Nei'nin genetik mesafe değeri ile oluşturulan UPGMA dendogramı	77
4.2.5.2. Faktöriyel uygunluk analizi (FCA)	78
4.2.5.3. Genetik yapı analizi (Structure)	79
4.3. mtDNA Analizlerinden (COI ve cytb) Elde Edilen Bulgular	80
4.3.1. mtDNA COI gen bölgesi için elde edilen bulgular	80
4.3.1.1. COI gen bölgesi varyasyonu, haplotip ve nükleotit özellikleri.....	82
4.3.1.2. mtDNA COI gen bölgesi için genetik farklılaşma ve NJ ağacı	83
4.3.1.3. mtDNA COI gen bölgesi için moleküler varyans analizi	86
4.3.2. mtDNA cytb gen bölgesi için elde edilen bulgular	87
4.3.2.1. cytb gen bölgesi varyasyonu, haplotip ve nükleotit özellikleri.....	88
4.3.2.2. mtDNA cytb geni için genetik farklılaşma ve NJ ağacı.....	90
4.3.2.3. mtDNA cytb gen bölgesi için moleküler varyans analizi	94
5. TARTIŞMA	95
6. SONUÇ	105
7. KAYNAKLAR	110
8. EKLER.....	130
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Doğal Ve Ticari *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) Populasyonlarının Genetik Özelliklerinin Mikrosatelit Markerler Ve mtDNA Kullanılarak Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerkere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

27/09/2018

Bahar ARGUN KARSLI

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	: Adenin
AG	: Allel genişliği
Bç	: Baz çifti
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
CO ₂	: Karbondioksit
D	: Genetik mesafe
'D	: Doğu
D _A	: Genetik uzaklık
ddH ₂ O	: Deyonize su
Dk	: Dakika
Fis	: Akrabalı yetiştirme katsayısı
F _{IS}	: Alt populasyonlardaki ortalama akrabalık katsayısı
F _{IT}	: Tüm populasyonlar için fiksasyon indeksi
F _{ST}	: Alt populasyonlar arası genetik farklılık
G	: Guanin
g	: Gram
G _{ST}	: Genetik farklılaşma katsayısı
H _e	: Beklenen heterozigotluk
H _o	: Gözlenen heterozigotluk
'K	: Kuzey
kb	: Kilo baz
Km	: Kilometre
Lt	: Litre

M	: Molar
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
M	: Metre
m ²	: Metre kare
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nano gram
N _a	: Allel sayısı
N _e	: Etkili allel sayısı
NaCl	: Sodyum klorür
ng	: Nanogram
-OH	: Hidroksi grubu
Rpm	: Rotation per minute (devir/dakika)
T	: Timin
T _m	: Erime sıcaklığı
V	: Volt
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
≈	: Yaklaşık

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
ANOVA	: Varyans Analizi
BM	: Bayesian Metot
B.h.	: <i>Bombus hypocrita</i>
B.o	: <i>Bombus occidentalis</i>
B.t	: <i>Bombus terrestris</i>
BGD	: Bitki Gelişim Düzenleyicisi
COI	: Cytochrome oxidase I
COII	: Cytochrome oxidase II
Cytb	: Cytochrome b
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dATP	: Di Adenin Trifosfat
dCTP	: Di Sitozin Trifosfat
dGTP	: Di Guanin Trifosfat
dNTP	: Deoksinükleotid Trifosfat
dTTP	: Di Timin Trifosfat
ddATP	: Di Deoksi Adenosin Trifosfat
ddCTP	: Di Deoksi Sitozin Trifosfat
ddGTP	: Di Deoksi Guanin Trifosfat
ddNTP	: Di Deoksinükleoside Tri Phosphate
ddTTP	: Di Deoksi Timin Trifosfat
EDTA	: Ethylene Daimin Tetra Acetic Acid
FCA	: Faktöriyel Uygunluk Analizi

gDNA	: Genomik Deoksiribonükleik Asit
ML	: Maximum Likelihood
MP	: Maximum Parsimony
NJ	: Neighbour Joining
ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
OG	:Dış Grup
PAGE	: Polialrilamid Jel Elektroforez
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SARA	: Risk Türleri Yasası
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SMPs	: Sefalik Salınım Bezleri
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SSR	: Single Strand Repeats
Tag	: Thermus Aquaticus
TAE	: Tris Acetate EDTA
TBE	: Tris Borat EDTA
TBR	: Tree Bisection Reconnection
tRNA	: Transfer Ribonükleik Asit
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
U	: Unite
UV	: Ultra Viole
vd	: ve diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bombus arısının doğal yaşam döngüsünün şematik gösterimi	9
Şekil 2.2. Homolog kromozomlar arasında eşit olmayan parça değişimi.....	13
Şekil 2.3. Replikasyon kayması ile mikrosatelit mutasyon modeli	14
Şekil 2.4. mtDNA'nın yapısı.	15
Şekil 2.5. Sanger metodu ile DNA dizi analizi	17
Şekil 2.6. Otomatik DNA dizileme	18
Şekil 2.7. Tek nükleotid polimorfizmi.....	19
Şekil 3.1. Arı örneklerinin % 95'lik alkol içerisinde muhafazası.....	40
Şekil 3.2. Bombus arı örneklerinin DNA izolasyonu için hazırlanması.....	42
Şekil 3.3. Fragment analiz cihazı ve örnek yüklenen plate.....	50
Şekil 3.4. Fragment analiz cihazında bir plakadaki grupların görüntüsü	51
Şekil 4.1. <i>B. terrestris</i> arılarından izole edilen DNA'lara ait agaroz jel görüntüsü.....	58
Şekil 4.2. B118 lokusu PCR jel görüntüsü	58
Şekil 4.3. BT10 lokusu PCR jel görüntüsü.....	58
Şekil 4.4. B100 lokusu PCR jel görüntüsü	59
Şekil 4.5. BTMS0082 lokusu PCR jel görüntüsü	59
Şekil 4.6. mtDNA cytb gen bölgesi PCR jel görüntüsü.....	59
Şekil 4.7. Fragment analiz cihazında okumalara ait bir görüntü	60
Şekil 4.8. <i>B. terrestris</i> populasyonlarında moleküler varyans yüzdeleri	77
Şekil 4.9. <i>B. terrestris</i> populasyonlarında yapılan UPGMA dendogramı	78
Şekil 4.10. <i>B. terrestris</i> populasyonlarında FCA analizi görüntüsü	78
Şekil 4.11. Structure Harvester programında elde edilen en yüksek ΔK değeri.....	79
Şekil 4.12. <i>B. terrestris</i> populasyonlarında Structure analizi	80
Şekil 4.13. mtDNA COI gen bölgesi için BLAST görüntüsü	81
Şekil 4.14. mtDNA COI gen bölgesi ile oluşturulan Neighbour-Joining (NJ) ağacı	85
Şekil 4.15. <i>B. terrestris</i> bireylerinde COI gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç	86
Şekil 4.16. mtDNA cytb gen bölgesi için BLAST görüntüsü	87
Şekil 4.17. mtDNA cytb gen bölgesi ile oluşturulan Neighbour-Joining (NJ) ağacı	90
Şekil 4.18. <i>B. terrestris</i> bireylerinde cytb gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç	93

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Örneklere ait bazı tanımlayıcı bilgiler	40
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi.....	41
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan mikrosatelit lokuslara ait bazı tanımlayıcı bilgiler ..	44
Çizelge 3.4. PCR reaksiyon karışımı, miktar ve markaları.....	46
Çizelge 3.5. mtDNA gen bölgesine ait primer dizileri ve bazı özellikleri.....	47
Çizelge 3.6. Uygulanan PCR programı	47
Çizelge 3.7. Elektroforez ve agaroz jellerinin hazırlanmasında kullanılan stok ve tampon çözeltilerin bileşimleri.....	48
Çizelge 3.8. DNA marker yükleme karışımı	49
Çizelge 3.9. Fragment analizinde uygulanan çoklu gruplar ve allel genişlikleri.....	50
Çizelge 4.1. Tüm bireylerde 20 lokus için genetik çeşitlilik parametreleri.....	65
Çizelge 4.2. Populasyonlarda 20 lokus için genetik çeşitlilik parametreleri.	71
Çizelge 4.3. <i>B. terrestris</i> populasyonlarında F - istatistikleri (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}).....	73
Çizelge 4.4. <i>B. terrestris</i> populasyonları arasında elde edilen ikişerli F_{ST} değerleri	75
Çizelge 4.5. Populasyonlar arasında genetik uzaklık (DA) ve benzerlik değerleri	76
Çizelge 4.6. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları	77
Çizelge 4.7. Structure Harvester programında elde edilen en yüksek ΔK değeri.....	79
Çizelge 4.8. İstatistik analizlerde kullanılan 633 bç'lik nükleotit dizisi.....	81
Çizelge 4.9. mtDNA COI bölgesine ait haplotipler	82
Çizelge 4.10. mtDNA COI gen bölgesi için tespit edilen haplotip (Hd) ve nükleotit çeşitliliği (π), nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değerleri.....	82
Çizelge 4.11. COI bölgesi için populasyonlarının genetik farklılaşma katsayıları.....	99
Çizelge 4.12. mtDNA COI gen bölgesinin AMOVA analiz sonuçları.....	87
Çizelge 4.13. İstatistik analizlerde kullanılan 428 bç'lik nükleotit dizisi.....	88
Çizelge 4.14. mtDNA cytb bölgesine ait haplotipler	89
Çizelge 4.15. mtDNA cytb gen bölgesi için tespit edilen haplotip (Hd) ve nükleotit çeşitliliği (π), nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değerleri.....	89
Çizelge 4.16. cytb bölgesi için populasyonlarının genetik farklılaşma katsayıları.....	91
Çizelge 4.17. mtDNA cytb gen bölgesinin AMOVA analiz sonuçları.....	94

1. GİRİŞ

Çiçekli bitkiler, meyve ve tohum üretmek için tozlaştırıcılara gereksinim duymaktadırlar. Tozlaştırıcılar ve tozlaşmadan sonra oluşan meyve ve tohumlar yeryüzündeki ekosistemin başlıca üretkenliğini sağlamakta ve diğer yaşamı destekleyen unsurlarla birlikte besin zincirinin temelini oluşturmaktadırlar (Klein vd. 2007; Gallai vd. 2009; Ollerton vd. 2011). Hymenoptera (Zar Kanatlılar) takımının Apidae familyasında yer alan 20 binden fazla arı türü hem doğal hem de tarımsal ekosistemlerdeki en önemli tozlaştırıcılardır (Michener 2007; Danforth 2007). Tozlaşmadaki rollerinden dolayı faydalı böcekler içinde yer alan arı türlerinin yalnız %5'i sosyal arılardır. Büyük koloniler oluşturdıkları için tozlaşmada etkin rol alan ve en yaygın bulunan sosyal arılar ise bal arısı ve bombus arılarıdır. Günümüzde bal arısı ve bombus arısının bazı türleri insanlar tarafından yetiştirilmekte ve ticareti yapılmaktadır. Bal arıları yaygın olarak bal üretimi ve arı ürünleri için yetiştirilirken, bombus arıları doğal yetişen ve kültürü yapılan pek çok bitkinin tozlaşmasında oldukça önemli bir role sahip olmaları nedeniyle ticari olarak üretilmekte ve özellikle örtü altı yetiştiricilikte tozlaşmayı sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Farklı iklim ve habitat koşullarına iyi uyum sağlayan bombus arıları, dünyanın ılıman bölgelerinden Kutup Dairesi'ne kadar uzanan geniş bir coğrafyada yaygın olarak bulunmaktadır (Richards 1973; Williams 1998; Michener 2007; Williams vd. 2014). Dünyada 250'nin üzerinde Bombus türü olduğu tahmin edilmektedir (Williams 1998; Benton 2000; Cameron vd. 2007). Az sayıda yapılan çalışma sonucunda 47 bombus türü tanımlanan ülkemiz tür sayısı bakımından en zengin ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye'nin hemen hemen her yerinde; en doğusundan en batısına, kuzeyinden güneyine, deniz seviyesinden 4000 metre yüksekliğe kadar olan geniş bir alanında bombus türlerine rastlanmıştır (Özbek 1979, 1983, 1990, 1997; Aytekin 2001; Rasmont vd. 2009). Ülkemizde 9.000'in üzerinde çiçekli bitki türü ve 2.000'den fazla arı türü bulunmaktadır (Özbek 1997). Ülkemizin iklim koşulları, topoğrafik yapısı ve yeryüzündeki konumu bitki örtüsünü ve buna bağlı olarak diğer canlıları çeşitli ve bol kıldığı gibi, arı faunasının da çok zengin olmasını sağlamıştır.

Günümüzde kutuplar dışında bütün dünyada yetiştiriciliği yapılan bal arıları, en kolay ve en ucuz temin edilen tozlaştırıcılardır. Ancak, Kuzey Amerika'da ve Avrupa'da bal arısı kolonilerinin ve arı yetiştiricilerinin azalması bal arısı ile tozlaşmanın uzun süre sürdürülebilirliğini tehdit etmektedir. Son 50 yılda, ticari tozlama talebi %300 oranında artmasına karşın, yönetilen bal arısı kovanlarında sadece %45'lik bir artış olmuştur (Aizen vd. 2008). Ayrıca bal arıları soğuk havalarda, domates gibi titreşim gerektiren bitkilerde ve örtü altı alanlarda etkili tozlaşma yapamamaktadır. Bu nedenle değişik yaban arısı türlerinin kültüre alınması ve bunlardan daha fazla yararlanılmasına yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Tentcheva vd. 2004; Gallai vd. 2009). Bombus arılarının tozlaştırıcı olarak önemleri 1900'lü yılların başında anlaşılmış ve birçok yem bitkisi tohumunun üretiminde bombus arıları kullanılmıştır. Ancak bombus arılarının kitlesel üretimi, domates seralarında tozlaşma amacıyla kullanılan mekanik yöntemler ve bitki gelişimini düzenleyici maddeler yerine bombus arılarının kullanılabileceği anlaşıldıktan sonra, 1980'li yılların sonlarında Avrupa'da gerçekleşmiştir. Çok çeşitli bitki türlerini ziyaret eden bombus arıları büyük, güçlü ve tüylü bir gövdeye sahiptir. Bal arılarına göre daha uzun dilleri vardır ve zor tozlanan uzun tüplü çiçeklerde bile tozlaşma yapabilmektedirler. Vücut büyüklükleri, titreşimli

tarlacılık davranışları ve düşük sıcaklıklarda çalışabilmeleri tarım için değerli özelliklerdir. Başarılarını uçuş kaslarını hızlı bir şekilde hareket ettirerek vızıltıyla tozlama yeteneğine borçlulardır (Buchmann 1983). Bu tozlama hareketi çiçek ve anterlerin titremesine neden olur ve böylece polen hasatının verimliliği artar (Winter vd. 2006). Özellikle de Leguminosae ve Solanaceae familyaları için etkin tozlaştırıcılardır. Sonuç olarak bombus arılarının tozlaşma amacıyla örtü altı yetiştiricilikte kullanımları iri vücutları, yüksek tarlacılık kapasiteleri, düşük sıcaklık ve ışık yoğunluğunda çalışabilmeleri, daha sakin olmaları, sera dışına daha az çıkma eğilimi göstermeleri ve kitlesel üretimlerinin yapılabilmesi gibi özellikleri nedeniyle giderek yaygınlaşmaktadır (Goodwin ve Steiner 1997; Williams 1998; Benton 2000; Gösterit ve Gürel 2005; Gürel ve Gösterit 2009).

Sera içi koşullara iyi uyum sağlayan ve etkin tozlaşma yapan bombus arılarının kullanılması ile elde edilen ürünlerin hem miktarı hem de kalitesi artmakta ve ürünler daha yüksek fiyatla satılabilmektedir. Ayrıca bombus arısı kullanılmasıyla birlikte seralarda kullanılan zirai ilaçlara sınırlama getirilmekte, hormon olarak bilinen bitki gelişimini düzenleyici (BGD) madde kullanımından kaynaklanan kalite ile ilgili sorunlar da ortadan kalkmakta ve daha sağlıklı üretim yapılmaktadır. Bombus arıları domates, biber, patlıcan, kavun, karpuz, kabak çilek, kiraz, avokado, kivi, ayçiçeği, yonca üçgül gibi birçok kültür bitkisinin tozlaşmasında kullanılabilmesine karşın ticari üretilen kolonilerin %95'i dünyada ve Türkiye'de örtü altı domates yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Ravestijn ve Sande 1991; Abak vd. 1995; Dimou vd. 2008). Kitlesel üretim için birçok bombus türü denenmesine karşın, ticari olarak beş türün yetiştiriciliği yapılmaktadır. Özellikle Avrupa'da diğer türlere oranla daha yaygın yayılım gösterdiği, kolay elde edilebildiği, daha büyük koloni oluşturduğu ve yıl boyu yetiştiriciliğe (kitlesel üretime) daha uygun olduğu için ticari yetiştiricilikte en çok tercih edilen tür *Bombus terrestris*'tir. Ticari olarak üretilen kolonilerin %90'ından fazlasını *B. terrestris* türü oluşturmaktadır. Bu tür doğal olarak Avrupa, Kuzey Afrika'nın kıyı kesimi ve Batı ve Orta Asya'da bulunmaktadır. Hollanda ve Belçika'da iki firma tarafından 1980'li yılların sonlarında kitlesel üretimi başarılan ve başlangıçta yalnız bu ülkelerde tozlaşma amacıyla kullanılan *B. terrestris* günümüzde de az sayıda firma tarafından üretilmesine karşın Avustralya ve Kuzey Amerika dışında bütün kıtalarda 60'dan fazla ülkede kullanılmaktadır (Goka 1998; Wildmer vd. 1998; Hingston vd. 2002). *B. impatiens*, *B. occidentalis*, (Kuzey Amerika), *B. ignitus* (Japonya, Güney Kore, Çin) ve *B. lucorum* (Çin) kitlesel olarak üretilen ve Kuzey Amerika ve Asya'nın bir bölümünde, daha sınırlı bir alanda tozlaşma amacıyla kullanılan türlerdir (Velthuis ve Doorn 2006; Rasmont vd. 2008).

B. terrestris türünün doğal olarak çok geniş bir coğrafyada bulunması, büyük ölçeklerde kitlesel olarak üretilmesi, birçok ülkede tozlaşma amacıyla kullanılması ve moleküler tekniklerdeki gelişmeler alttürlerine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu türün çok sayıda alttürü tanımlanmıştır (Velthuis ve Doorn 2006; Rasmont vd. 2008). Bu alttürlerden birçoğu ticari üretimin ilk yıllarında küçük miktarlarda yetiştirilmiştir. Ancak Türkiye'de de yaygın olarak bulunan *B. t. dalmatinus* alttürü koloni oluşturma oranının yüksek ve koloni popülasyonunun daha büyük olması gibi ticari yetiştiricilik açısından üstün özelliklere sahip olduğu anlaşıldıktan sonra kitlesel üretim için en çok tercih edilen alttür olmuştur (Chittka vd. 2004; Velthuis ve Doorn 2006; Rasmont vd. 2008). *B. t. dalmatinus* alttürü Güneydoğu Fransa, Kuzey İtalya, Balkan Yarımadaı,

Türkiye ve Kuzey İran için yerel iken (Rasmont vd. 2008), Japonya, Şili, Arjantin, Tasmanya (Avustralya), İngiltere gibi birçok ülke için yabancı bir alttürdür ve bu ülkelere tozlaşmada kullanılmak amacıyla insanlar tarafından götürülmüştür (McFadyen ve Lloyd 2006; Goka 2010). Canlı organizmaların dünyadaki coğrafik engelleri aşma oranı insanların katkısı sonucunda tahmin edilemeyecek bir bölgeye ulaşmıştır. Yeni giren veya ithal edilen türlerin bir bölümü insan sağlığı için yararlı ve çok az çevresel zarara yol açmalarına karşın, bir bölümü de yeni çevrelerine hızlıca yayılmış, ekonomik ve ekolojik sorunlara yol açmıştır. Bu nedenle yeni türlerin girişi önerilirken bunların yayılma ve zararlı olma potansiyelleri de dikkatli bir şekilde incelenmektedir (Schmid-Hempel vd. 2007). Doğal yayılma alanlarının ötesinde çok hızlı yayılma potansiyeline sahip olan türlerden birisi de *B. terrestris*'tir. Bu tür önemli ekolojik esneklik göstererek farklı habitatlarda ve olumsuz koşullar altında da gelişimini sürdürebilmektedir (Dafni 1998). *B. terrestris* türünün hızlı yayılmasında ve ekolojik esneklik göstermesinde sosyal bir canlı olması, koloni yaşamı sürdürmesi ve çok sayıda bitkiden nektar ve polen kaynağı olarak faydalanmasının yanı sıra yaşam döngüsünü ve koloni gelişimini bulunduğu ortama göre düzenleme yeteneği de etkilidir. Bu yeteneği çok farklı iklim ve coğrafya koşullarında yaşamasına katkı sağlamaktadır. *B. terrestris* türünün yayılmasına ve bulunduğu bölgeye kolay uyum sağlamasına; her ana arının bir erkek arı ile çiftleşmesi, çiftleşmelerin bal arılarında olduğu gibi çok özel koşullar gerektirmemesi ve tüm bombus türleri içinde en kalabalık koloniler oluşturması gibi özellikleri de katkı sağlamaktadır (Gürel ve Gösterit 2001a). *B. terrestris* kolonilerinde koloni yaşam ömrü, üretilen işçi arı, erkek arı ve ana arı sayıları bakımından önemli farklılıklar gözlenmektedir (Gürel vd. 1999; Gürel ve Gösterit 2009). Bazı koloniler koloni ömrünün başında ana, erkek veya her iki cinsiyeti birden üretirken, kolonilerden bazıları da koloni ömrünün sonuna doğru çok sayıda ana arı üretmekte ve bir bölümü de çok sayıda erkek arı üretebilmektedir. Çok büyük farklılıklar olmasına karşın kolonilerde yaklaşık yüze yakın ana arı ve bunun birkaç katı erkek arı üretilmektedir. Bir koloninin serada tozlaşma amacıyla kullanım süresi yaklaşık iki aydır. Bu sürenin sonuna doğru kolonilerde işçi arı üretimi biterken çok sayıda yeni ana arı ve erkek arı üretimi başlamaktadır (Gürel 1999; Gürel ve Gösterit 2007). Ticari üretilmiş koloniler daha fazla ana arı üretmekte ve lokal popülasyonlara oranla daha rekabetçi olmaktadır ve böylece muhtemelen seradan çıktıklarında onların yerini alabilmektedirler (Ings vd. 2005, 2006). Bu nedenle ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonilerinin yeni alanlara yayılması ve doğada popülasyonlarının artmasından kaynaklanan yuva yeri ve besin kaynakları bakımından yerel arı popülasyonları ile rekabet, yerel bombus alttür ve ekotipleri ile melezlenme, parazit ve patojenlerin yayılması gibi doğal ekosisteme zarar verebilecek etkileri ile ilgili önemli bulgular elde edilmiştir.

Laboratuvar denemeleri *B. terrestris*'in Japon yerel türü *B. hypocrita sapporoensis* ve *B. ignitus* ile melezlenebileceğini göstermiştir. Ayrıca *B. h. sapporoensis* ve *B. h. hypocrita* ana arılarının yaklaşık %30'unun doğada *B. terrestris* erkek arıları ile çiftleştiği tahmin edilmektedir. Böylece melezlenme ile yerel türlerin genetik yapılarında istenmeyen açılmalar olabilmektedir (Goka vd. 2001; Inoue vd. 2008; Kanbe vd. 2008; Kondo vd. 2009; Tsuchida vd. 2010). Günümüzde Güney Doğu Avrupa orijinli *B. t. dalmatinus* dünya genelinde ticareti yapılan bir tür olmuştur. Kuzey Amerika'da *B. terrestris*'in ithalatına izin verilmemektedir ve yaygın şekilde *B. impatiens* türü kullanılmaktadır. *B. t. dalmatinus* kullanımı İngiltere ve İrlanda da

endemik olan *B. t. audax* gibi alttürlerin saflığını tehdit etmektedir (Ings vd. 2006; Goulson 2010). *B. terrestris* arılarının yayılmasının önemli etkilerinden birisi de parazit yayılmacıları içinde taşınmasıdır. İlave bir risk de yerel bombus türlerinin düşük direnç gösterecekleri parazitlere maruz kalmalarıdır. Dünya genelinde doğal bombus arı populasyonları azalmaktadır ve bombus türlerinin %11'i yok olma tehlikesi altındadır (Bertsch vd. 2010; Williams vd. 2012a; 2014; Maebe vd. 2013; 2015). Bombus arılarının azalışı yalnız biyolojik çeşitliliğin ve ekosistemin korunması açısından bir sorun değil aynı zamanda bitkisel üretim bakımından da sorun oluşturmaktadır. Habitat kaybı, pestisit kullanımı gibi birkaç faktörün bu azalışta önemli rol oynadığı belirtilmekle birlikte artan parazit baskısı da önemli bir faktör olarak rol oynamaktadır. Araştırmalar ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonilerinin doğal *B. terrestris* kolonilerinden daha yüksek oranda çeşitli patojenleri taşıdığını göstermektedir. Nitekim ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonilerinin kullanıldığı seraların yakınlarından toplanan arı örneklerinde daha uzaktan toplanan arı örneklerine oranla patojenlerin yaygınlığı daha yüksek bulunmuştur (Arbetman vd. 2013; Murray vd. 2013). Ticari bombus arısı yetiştiriciliğinde, yüksek konukçu yoğunluğu, sınırsız besleme ve uygun çevre koşulları parazitlerin gelişimi için de ideal ortamı oluşturarak ticari üretilmiş bombus arısı kolonilerinde parazit yükünü artırmaktadır (Colla vd. 2006; Schwarz vd. 2012; Graystock vd. 2013). Parazitlerin bir diğer önemli özelliği generalist oluşlarıdır. Sadece *B. terrestris* türünde değil Avrupa ve Kuzey Amerika'da birçok bombus türüne ait doğal populasyonlarda görülmüştür. Bu nedenle parazitlerin doğal bombus populasyonlarına yayılması doğal populasyonlarda dramatik sonuçlar doğuran enfeksiyonlara yol açabilmektedir. (Fitzpatrick vd. 2007; Grixti vd. 2009; Arbetman vd. 2013). Ticari Bombus arılarının en temel tehditlerinden biri de, yuvalama alanlarında ve gıda kaynaklarında kayıplara neden olan habitat değişikliğine yol açmalarıdır (Goulson vd. 2008; Williams ve Osborne 2009). İnsanlar tarafından değiştirilmiş alanlardaki polinatörlerin ekolojisi üzerine yapılan araştırmalar, doğal alanlarda bozulmanın artmasının ve monokültür tarımın yaygınlaşmasının bombus arı populasyonlarında azalmaya yol açtığını ortaya koymaktadır (Larsen vd. 2005). Bombus arısı yuva yoğunluklarını inceleyen moleküler tabanlı çalışmalara göre, insan kaynaklı arazi değişimlerinin sadece bombus arılarının populasyon dinamiklerini değil, populasyon düzeyinde genetik çeşitlilik ve dağılımını etkileyebileceğini de göstermektedir (Jha ve Kremen 2013).

B. terrestris Türkiye ve Akdeniz Bölgesi doğal faunasında en yaygın bulunan bombus türüdür. Bu tür Türkiye'de çok geniş bir habitatta, temel vejetasyon tiplerinde tozlaşma yapmaktadır (Özbek 1997). Ülkemizde *B. terrestris* türünün muhtemelen birkaç ekotip ve alttürünün bulunduğu ve bunların her birinin kıyı bölgelerinden yüksek dağlık alanlara kadar özel ekolojik koşullara uyum sağladığı tahmin edilmektedir. Anadolu'da *B. terrestris* populasyonları 0-2200 metre aralığında ve %80'ini de 2-1510 metre yükseklikte tespit edilmiştir (Rasmont ve Flagathier 1996) Toroslar'da ise populasyonların %75'i 500 metrenin altında bulunmuştur (Kaftanoğlu 2000). Akdeniz ve Ege Bölgesi sahil kesiminde yapılan bir çalışmada, toplanan *B. terrestris* arıları *B. t. dalmatinus* olarak tanımlanmışken (Yeninar vd. 2000), başka bir çalışmada Trakya ve Batı Anadolu'da *B. t. dalmatinus* ve Güney Anadolu'da *B. t. lucoformis* olmak üzere muhtemelen Türkiye'de iki alttür bulunduğu ancak bu iki alttürü taksonomik olarak ayırmanın ve kesin yayılma sınırlarını belirlemenin de kolay olmadığı bildirilmiştir (Özbek 1997). Ayrıca farklı bölgelerden toplanan yerel *B. terrestris* ana arılarının

koloni gelişim özelliklerinde de farklılıklar saptanmıştır. Ege ve Akdeniz kıyı bölgelerinde yerel *B. terrestris* ana arıları diyapozdan sonbaharda çıkarken, iç bölgelerde ve Avrupa’da ilkbaharda çıkmaktadırlar (Yeninar vd. 2000; Gürel vd. 2008).

Türkiye’de ticari *B. terrestris* kolonilerinin domates seralarında tozlaşma amacıyla kullanımına 1997-1998 sera üretim döneminde Antalya’da başlanmıştır. Örtü altı yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı bölgelerde ve özellikle Akdeniz sahil bölgesinde *B. terrestris* kolonilerine olan talep yıldan yıla olağanüstü artış göstermiş kullanılan koloni sayısı 2016-2017 sera üretim döneminde 250 bin adete ulaşmıştır (Gürel ve Gösterit 2007; Gürel vd. 2017). Ancak ticari olarak kullanılan *B. terrestris* kolonileri yabancı firmalardan sağlanan ana arılardan üretilmektedir ve bu ana arıların genetik kökeni bilinmemektedir. Bu nedenle, Türkiye yerli bombus populasyonlarının doğal genetik yapısının farklılaşmaya açık olduğu belirtilebilir. Özellikle Akdeniz sahil kesiminde çok sınırlı bir alanda yılda yüz binlerce ticari koloninin kullanıldığı ve *B. terrestris*’in uyumu, rekabet yeteneği ve ekolojik esnekliği düşünüldüğünde Akdeniz Bölgesi’ndeki yerel *B. terrestris* populasyonlarında melezlenme riskinin oldukça yüksek olduğu çok açıktır. Bu nedenle yerli *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısının ve populasyonlar arasındaki gen akışının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Gösterit ve Gürel 2005; Gürel vd. 2008). Yerli ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapılarının tanımlanması, populasyonlar arasındaki gen akışı ve melezlenme seviyelerinin belirlenmesi ve yerel populasyonların korunmasına yönelik önerilerin sunulması çalışmanın öncelikli amaçlarıdır.

Ülkemizde gerek ticari bombus arılarının yaygın kullanımı gerekse hızlı şehirleşmenin sebep olduğu doğal yaşam alanlarının kaybı nedeniyle, yerel *B. terrestris* populasyonları zamanla yok olma riski taşımaktadır. Arıların doğal yaşam alanı olan arazilere sürekli artan hızda seraların kurulması ya da yeni konutların yapılması bu riskleri doğrular niteliktedir. Özellikle, bu doktora çalışması kapsamında arı örneklerinin alındığı Akdeniz Bölgesi doğal yapısından uzaklaşarak çok hızlı değişen bir bölge haline gelmiştir. Akdeniz Bölgesi ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonilerinin en yaygın kullanıldığı, üretiminin yapıldığı ve doğal bombus populasyonlarının bulunduğu bir bölge olmasına rağmen, bu arıların genetik yapısı, çeşitliliği ya da türün korunmasına yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Türkiye’de, *B. terrestris* populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanması ve genetik yapılarına yönelik olarak gerçekleştirilen araştırmalara 2000’li yıllarda başlanmıştır. Bu çalışmalardan birinde AFLP (Gürel ve Basım 2003) diğerlerinde ise mikrosatelit ve mtDNA (Beton 2004; Karlı 2011; Gürel vd. 2011; Taşbaş 2017) markerlerden yararlanılmıştır. İlk çalışmada AFLP yönteminden yararlanılarak Batı Akdeniz ve Ege Bölgesi’ndeki yerel *B. terrestris* populasyonlarının genetik özelliklerinin tanımlanması ve ithal edilen ticari bombus arılarıyla yerel populasyonlar arasında melezlenme olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır. Ancak çalışma sonrası ne populasyonlar içinde ne de populasyonlar arasında yeterli seviyede genetik çeşitliliğe rastlanılmamıştır. İkinci çalışma, ilk kez mikrosatelit markerlerin kullanıldığı bir yüksek lisans tez çalışmasıdır (Beton 2004). Tezde, Ankara ve Kıbrıs populasyonlarının genetik yapılarının tanımlanması ve karşılaştırılması amacıyla 4 adet (B11, B100, B124 ve B126) mikrosatelit lokus kullanılmış ve genotiplerin belirlenmesi poliakrilamid jel (PAGE) elektroforez sistemiyle yapılmıştır. Lokus başına 7-12 arasında allel tespit edilirken, ortalama heterozigotluk değerleri Ankara ve Kıbrıs için

sırasıyla 0.667 ve 0.848 olarak belirlenmiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda mikrosatelit lokus sayısı daha fazladır. Örneğin, yürütülen bir yüksek lisans çalışmasında Karslı (2011) Antalya-Kemer, Antalya-Termessos ve Adana doğal *B. terrestris* populasyonlarını temsil eden 107 adet işçi arı örneği toplamda 10 mikrosatelit lokus (BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126) bakımından tanımlanmıştır. Antalya-Kemer, Antalya-Termessos ve Adana populasyonlarında sırasıyla gözlenen allel sayısı (Na), 10.3, 9.8 ve 9.2, etkili allel sayısı (Ne), 6.4, 5.7 ve 5.8, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.73, 0.71 ve 0.70 ve beklenen heterozigotluk (He) 0.75, 0.72 ve 0.74 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Antalya-Kemer, Antalya-Termessos ve Adana populasyonlarının incelenen on mikrosatelit lokus bakımından Hardy-Weinberg genetik dengesinde oldukları bildirilmiştir.

Gürel vd. (2011)'nin sonuçlandığı TÜBİTAK projesinde ise, Türkiye'deki 14 farklı doğal populasyondan (Antalya-Kumluca, Antalya-Aksu, Antalya-Termessos, Antalya-Kemer, Adana, Muğla, Aydın, Çanakkale, Zonguldak, Ordu, Rize, Ankara, Eskişehir ve Bursa) ve 4 adet de ticari firma populasyonundan toplanan toplam 863 adet *B. terrestris* işçi arı örneğinde on mikrosatelit marker kullanılarak *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısının tanımlanması ve ticari populasyonlardan doğal populasyonlara gen akışının olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ticari firma kolonilerinden ve doğadan toplanan örneklerin DNA analizi, incelenen her iki grubun da ortak atalardan türediğini ve *B. t. dalmatinus* alttürüne ait olduklarını göstermiştir. Ancak farklı yükselti ve alanlardan toplanan *B. terrestris* örneklerinde ekotip düzeyinde tanımlama yapmak mümkün olmamıştır. Son olarak da mtDNA gen bölgelerindeki varyasyonlardan yararlanılarak ticari ve doğal *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapılarının değerlendirildiği yüksek lisans tez çalışmasında, Taşbaş (2017) doğal alanlardan, seracılık faaliyetlerinin yoğun yapıldığı alanlardan, seraların yakın çevresinden ve ticari üretim yapan 5 firmadan, 30'ar adet işçi arı örneği toplamıştır. Örneklerin DNA izolasyonları yapılmış ve COIb ve Cytb gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. Ardından her bir DNA örneğinin sekansı yaptırılarak, SNP haplotipler belirlenmiştir. Haplotip verilerine göre yapılan varyans analizleri *B. terrestris* populasyonlarının birbirlerine oldukça benzer olduğunu göstermiştir. Populasyonlar arası farklılık populasyonlar içi farklılığa göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum da populasyonların ortak atadan gelme ihtimalinin yüksek olduğunu işaret etmektedir. Filogenetik ilişkileri gösteren dendogramlara dayanılarak, doğal populasyonlar ile ticari firmalar ve sera bölgelerindeki populasyonların farklı dallarda kümelendiği bildirilmiştir.

Bombus arıları, dünya genelinde en iyi örneklenen böcek gruplarından birisi olmasına karşın (Williams 1998) morfolojik özellikleri alışılmadık bir şekilde benzerlik göstermektedir. Bombus arılarında tür ve alttürlerin tanımlanması, ayırt edici morfolojik karakterlerin eksikliği ve kıl rengi desenlerindeki değişkenlik nedeniyle genellikle zordur (Michener 2007; Williams 2007). Bu nedenle, bombus arılarının alttür ve ekotip düzeyindeki tanımlamalarında yalnızca morfolojik özellikleri kullanmak yeterli olmamaktadır. Türlerin tanımlanması, türler arası ve tür içi farklılıkların belirlenmesinde son yıllarda başvuru en etkin yöntemlerden birisi mikrosatelit markerler, bir diğeri ise mtDNA gen bölgelerinden yararlanmaktır. Her iki yöntem de oldukça duyarlıdır ve bombus tür ve alttürlerinin tanımlanmasında yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, örneklenen *B. terrestris* populasyonlarını birbirinden ayırmak ve genetik yapılarını belirlemek için önceki çalışmalarda (Estoup vd. 1995, 1996; Funk vd. 2006; Stolle vd. 2009) yaygın olarak kullanılan 20 adet polimorfik lokus (BT10, B11, B96, B100, B, B118, B119, B124, B126, BT26, BT28, B132, BT06, BT09, BT20, BTMS0033, BTMS0119, BTMS0131, BTMS0082, BTMS0124 ve BTMS0045 markerleri) kullanılmıştır. Özellikle, mtDNA barkodu morfolojik özelliklere dayalı güncel ve geleneksel yöntemleri desteklemek için önerilmiştir (Hebert vd. 2004). Genel olarak hayvanlar için, bu yöntem mitokondriyal gen sitokrom C oksidaz I (COI) bölgesinin dizilimine dayanmaktadır. Yakın tarihli çalışmalar, *Bombus* cinsi de dahil olmak üzere çok çeşitli taksonların tanımlanmasında bu moleküler yöntemi başarılı bir şekilde kullanmıştır (Murray vd. 2008; Williams 2011; Williams vd. 2012a). Sunulan bu çalışmada, yukarıda belirtilen mikrosatelit markerlere ilave olarak, önceki çalışmalarda yaygın ve başarılı bir şekilde kullanılan ve alttür seviyesinde ayırım yapılmasına imkan tanıyabilen cytb gen bölgesi için CB1-CB2 primerleri ve COI gen bölgesi için HCO2198-LCO1490 primerleri kullanılmıştır.

Yukarıda özetlenen çalışmaların tamamında doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapıları tanımlanmıştır. Ancak ticari ve doğal populasyonlar arasında önemli bir genetik farklılık saptanamamış ve tek başına mikrosatelitler ya da mtDNA yetersiz bulunmuştur. Gerçekleştirilen bu doktora tezinde Türkiye’de ticari üretilen *B. terrestris* populasyonları ile seralara yakın ve uzak alanlardaki doğal *B. terrestris* populasyonlarında genetik yapı, çeşitlilik ve farklılaşma mikrosatelit markerler ve mtDNA gen bölgesindeki varyasyonlardan yararlanılarak incelenmiştir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aynı bölgelerde daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır. Bu sayede gerek ülkemiz gerekse dünya için önemli olan ve üzerinde çok yoğun tartışmaların yapıldığı *B. terrestris* türünün yayılma potansiyelleri, yerel populasyonların yok olma tehlikeleri hakkında bilimsel verilere ulaşılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. *Bombus terrestris* Arısının Genel Özellikleri

Bombus arıları zar kanatlılar (Hymenoptera) sınıfı, Apidae familyası ve Bombinae alt familyası içinde önemli bir grubu oluşturmaktadır. Dünya üzerinde 239 bombus türü saptanmıştır. Almanya'da 36, İngiltere'de 25, Kuzey Amerika'da 30 (Williams 1998; Benton 2000; Michener 2007; Cameron 2007; Rasmont vd. 2008), Türkiye'de ise 47 bombus türü tanımlanmıştır. (Özbek 1983, 1990, 1997; Aytekin 2001; Rasmont vd. 2009). *Bombus* arıları içinde *B. terrestris*, *B. lucorum*, *B. ignitus*, *B. impatiens* ve *B. occidentalis*'in kitlesel olarak ticari yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu türlerin içinde ticari yetiştiriciliği en çok yapılan, doğada en yaygın görülen ve üzerinde en fazla bilimsel çalışma yapılan tür ise *B. terrestris*'tir. Doğal olarak Avrasya'da koloni oluşturan *B. terrestris* arısı bütün kıta Avrupa'da, kuzeyde İskoçya'ya ve İskandinavya'nın güneyine kadar (58 °N) güneyde ise Akdeniz'in güneyi, İtalya, Malta, Türkiye ve İspanya'ya kadar (28-37 °S) geniş bir alana yayılmıştır. Kuzey Afrika ve Atlantik adalarında da koloni oluşturduğu bilinmektedir (Wildmer vd. 1998; Goka vd. 2001; Hingston vd. 2002).

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

B. terrestris türünün doğal olarak çok geniş bir coğrafyada bulunması, büyük ölçeklerde kitlesel olarak üretilmesi, birçok ülkede tozlaşma amacıyla kullanılması ve moleküler tekniklerdeki gelişmeler alttürlerine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu türün *B. t. dalmatinus* (Balkanlar, Türkiye ve Asya), *B. t. terrestris* (Orta ve Batı Avrupa), *B. t. audax* (İngiltere), *B. t. lusitanicus* (İspanya), *B. t. canariensis* (Kanarya Adalar), *B. t. africanus* (Kuzey Afrika), *B. t. xanthopus* (Korsika Adası), *B. t. sassaricus* (Sardunya Adası) ve *B. t. calabricus* (Sicilya-İtalya) olmak üzere çok sayıda alttürü tanımlanmıştır (Velthuis ve Doorn 2006; Rasmont vd. 2008). Bu alttürlerden *B. t. canariensis*, *xanthopus* ve *sassaricus*' un daha saldırgan, *sassaricus*, *lusitanicus* ve *dalmatinus*' un daha büyük koloni oluşturma *canariensis*'in ise daha hızlı nektar toplama özelliğinin olduğu bildirilmektedir. Bu alttürlerden birçoğu ticari üretimin ilk yıllarında kullanılmıştır. Ancak, Türkiye faunasında yaygın olarak bulunan *B. t. dalmatinus* alttürü koloni oluşturma oranının yüksek, koloni popülasyonunun daha büyük olması gibi ticari yetiştiricilik açısından üstün özelliklere sahip olduğu anlaşıldıktan sonra kitlesel üretim için en çok tercih edilen alttür olmuştur (Chittka vd. 2004; Ings vd. 2005; Velthuis ve Doorn 2006; Rasmont vd. 2008). Bu alttür Güneydoğu

Fransa, Kuzey İtalya, Balkan Yarımadaı, Türkiye ve Kuzey İran'da doğal olarak bulunmakta ve populasyon oluşturmaktadır (Rasmont vd. 2008).

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

2.2. *Bombus terrestris*'in Doğal Yaşam Döngüsü

Toprak altında koloni oluşturan *Bombus terrestris* arılarında koloni yaşamı sürekli değil bir dönemle sınırlıdır. Bombus arıları da bal arıları gibi ana, erkek ve işçi arıdan oluşan koloni düzeni içinde yaşarlar ve kendi aralarında işbölümü yapmaları nedeniyle sosyal böcekler içinde yer alırlar. Bombus türlerinde büyük ölçüde benzer bir koloni yaşam döngüsü gözlenmektedir (Şekil 2.1). Sonbaharda çiftleşen ve yuvayı terk eden ana arıların her biri toprak altına girerek ilkbahara kadar hareketsiz bir şekilde diyapoz (fizyolojik uyku dönemi) olarak adlandırılan süreci geçirirler. İlkbaharda havaların ısınması ile ana arı uyanır ve toprak altındaki kışlama yerinden çıktıktan sonra ilk birkaç hafta çiçekleri ziyaret ederek polen ve nektarla beslenir ve koloniyi kurmak için uygun bir yer arar. Ana arı genellikle yuva yeri olarak terk edilmiş fare ya da diğer küçük memeli yuvalarını tercih eder. Ana arı yeterli polen topladığında yumurta gözü yaparak yığın halinde yumurtlar. Yığın içindeki yumurta sayısı türden türe ve aynı tür içinde ana arıdan ana arıya değişmektedir. *B. terrestris*'in ilk yumurta kümelerinde 3-15 adet arasında yumurta bulunabilmektedir. Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra ana arı tarafından bal ve polen karışımı bir gıdayla beslenirler. Beslenmesi tamamlanan larva koza örür ve pupa devresine girer. Ana arı bu pupalar üzerine ikinci yumurta kümesini yumurtlar. (Prys-Jones ve Corbert 1991; Gencer vd. 1998; Kearns ve Thomson 2001).



Şekil 2. 1. Bombus arısının doğal yaşam döngüsünün şematik gösterimi (Anonim 1).

Yuvadaki ilk yumurta kümesinde genellikle işçi arılar yetiştirilir. İşçi arılar çıktıktan birkaç gün sonra yiyecek toplamaya başlarlar. İkinci yumurta kümesindeki larvaların bakım ve beslenmesini bu işçi arılar yaparlar. Kolonide ilk işçi arılar çıktıktan sonra ana arının yumurtlama hızı ve bir göze yumurtladığı yumurta sayısı artar ve bunun sonucu kolonideki işçi arı sayısı da artar. Genellikle koloni gelişimi zirveye ulaştığı zaman ana ve erkek arılar üretilmeye başlanır. *B. terrestris* kolonilerinde ana arılar ortalama $6,1 \pm 0,4$ gün erkek arılar ise $12,1 \pm 1,3$ günde çiftleşme olgunluğuna gelmektedirler (Tasei vd. 1998). Bombus kolonilerinde erkek arılar 2-4 günlük yaşta yuvadan ayrılırlar ve geri dönmezler. Yaşamlarının geri kalan kısmını yuva dışında geçirirler. Genç ana arılar ise bir iki hafta yuvada kalırlar ve kolonide besin yetersizse tarlacılık faaliyetinde bulunurlar. Ana arılar erkek arılarla güneşli bir günde kovan dışında çiftleşirler. Ancak bombus arıları bal arılarının aksine kapalı ortamda da çiftleşebilmektedirler. Koloni yaşamının sonlarına doğru yaşlı işçi arılar öldüğü için populasyon sürekli azalmaktadır. Genç ana arılar çiftleştikten ve vücutlarında yağ dokusu gelişimini tamamladıktan sonra kışlama yeri bulmak için yuvadan ayrılırlar. Yuvada çok az sayıda işçi arı ve yaşlı ana arı kalır. Bir süre sonra bu bireylerde ölür ve koloni yaşamı sona erer. Böylece koloni yaşamı bir mevsimle sınırlanmış olur (Şekil 2.1).

Yukarda çok kısa ve basit olarak açıklanan bu döngü aslında, türlere ve arıların yaşadığı çevre koşullarına göre değişen karmaşık bir süreçtir (Heinrich 1979). Çevresel faktörler bombus arılarının doğal yaşam alanlarında yararlandıkları bitkilerin çiçeklenme zamanları ve diğer ekolojik faktörleri de içermektedir. Kuzey Avrupa’da ana arılar toprak sıcaklığı 5°C ’nin altına düştüğünde diyapoz sürecine girmekte ve ilkbaharda (Mart-Mayıs) toprak sıcaklığı $6-7^{\circ}\text{C}$ olduğunda diyapozdan çıkmaktadırlar. *B. terrestris* arıları 3-8 ay arasında değişen süreyle diyapozda kalabilmektedirler. Yeni Zellanda gibi daha sıcak bölgelerde 3-4 ay diyapozda kalan arılar Kuzey Avrupa gibi soğuk bölgelerde 6-8 ay diyapozda kalabilmektedir. Ayrıca ılıman ve nemli iklim bölgelerinde yılda iki generasyonun da olabileceği belirtilmektedir (Beekman vd. 1998). Türkiye florasında yaşayan *B. terrestris* kolonilerinin yaşam döngülerinde de çok büyük varyasyon gözlenmektedir. Ege ve Akdeniz sahil kesiminde doğal yaşam alanlarında Ekim-Aralık aylarında diyapozdan çıkan *B. terrestris* ana arıları iç bölgelerde Şubat-Mayıs aylarında çıkmaktadır.

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

ana ve erkek arı yetiştirme zamanı ve miktarını etkilediği tahmin edilmektedir (Duchateau ve Velthuis 1988; Gösterit ve Gürel 2005). Diyapozun kontrolü ile ilgili olarak seleksiyon, ana arılara CO₂ uygulaması ve soğuk ortamda bekletme gibi yöntemler uygulanmaktadır. Ticari firmalar kısa süreli (1-4 ay) soğuk ortamda (0-5 °C) bekletme ve CO₂ uygulaması ile bu süreci kontrol etmektedirler (Beekman vd. 1998; Gürel vd. 2001b). Yüksek koloni oluşturma, hızlı koloni gelişimi, kalabalık işçi arı popülasyonu ve koloni yaşamının sonuna doğru ana ve erkek arı üretimi ticari yetiştiricilikte aranılan en önemli özelliklerdir. Az sayıda firma tarafından doğaya bağlı kalmadan yıl boyu kitlesel üretimleri yapılan bombus arılarının kitlesel yetiştiriciliği ile ilgili ayrıntılı bilgiler de ticari kaygılardan dolayı tam olarak açıklanmamaktadır. Seralarda kullanılan bir kolonide sağlıklı bir ana arı, 50-60 adet işçi arı ve açık-kapalı yavru alanı olması tozlaşma amacıyla kullanmak için yeterli olmaktadır. Bir koloni tozlaşmada kullanılan bitkiye göre 1500-2000 m² sera alanında yaklaşık 45 gün süre ile kullanılabilir. Bu sürenin sonunda yuvada işçi arı üretimi sona erdiği, ana arı ve/veya erkek arı üretimi başladığı için diğer bir ifade ile koloni yaşamı sona yaklaştığı için seradaki koloninin yenilenmesi gerekmektedir. (Duchateau ve Velthuis 1988, Velthuis ve Van Doorn 2006).

2.3. *Bombus terrestris*'in Ekonomik Önemi ve Seracılık Sektöründe Kullanımı

Bombus arıları iri ve tüylü vücutları, yüksek tarlacılık kapasiteleri, düşük sıcaklık ve ışık yoğunluğunda çalışabilmeleri, daha sakin olmaları ve sera dışına daha az çıkma eğilimi göstermeleri gibi özellikleri nedeniyle örtü altı yetiştiricilikte bal arılarına göre daha başarılı olmuşlardır ve tozlaşma amacıyla örtü altı yetiştiricilikte kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır (Goodwin ve Steiner 1997; Williams 1998; Benton 2000). *Bombus* arılarının tozlaştırıcı olarak önemleri 1900'lü yılların başında anlaşılmış ve birçok yem bitkisi tohumunun üretiminde *bombus* arıları kullanılmıştır. Ancak *bombus* arılarının kitlesel üretimi, domates seralarında tozlaşma amacıyla kullanılan mekanik yöntemler ve bitki gelişimini düzenleyici maddeler yerine *bombus* arılarının kullanılabilmesi anlaşıldıktan sonra, 1980'li yılların sonlarında Avrupa'da gerçekleşmiştir (Hughes 1996). Hollanda ve Belçika'da iki firma tarafından 1987 yılında kitlesel üretimi başarılan ve başlangıçta yalnız bu ülkelerde tozlaşma amacıyla kullanılan *B. terrestris* günümüzde de az sayıda firma tarafından üretilmesine karşın Avustralya ve Kuzey Amerika dışında bütün dünyada kullanılmaya başlanmıştır (Goka 1998; Wildmer vd. 1998; Hingston vd. 2002).

Dünya'da yılda iki milyon adetten fazla ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır (Velthuis ve Van Doorn 2006; Lecocq vd. 2016). *B. terrestris* kolonileri domates, biber, patlıcan, kavun, karpuz, kabak, çilek, kiraz, avokado, kivi, ayçiçeği, yonca, üçgül gibi birçok kültür bitkisinin tozlaşmasında kullanılabilmesine karşın ticari üretilen kolonilerin %95'i dünyada ve Türkiye'de örtü altı domates yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Sera içi koşullara iyi uyum sağlayan ve domates bitkisinde etkin tozlaşma yapan *bombus* arılarının kullanılması ile meyve bağlama oranı, meyve iriliği, meyvedeki tohum sayısı ve bir örnekliklik gibi meyve özelliklerinde iyileşmeler olmakta, elde edilen ürünlerin hem miktarı hem de kalitesi artmakta ve ürünler daha yüksek fiyatla satılabilmektedir (Fisher ve Pomeroy 1989; Eijende 1994; Gürel vd. 1998; Gürel vd. 1999). Ayrıca *B. terrestris* arısı kullanılmasıyla birlikte seralarda kullanılan zirai ilaçlara sınırlama getirilmekte, hormon

olarak bilinen bitki gelişimini düzenleyici madde kullanımından kaynaklanan kalite ile ilgili sorunlar da ortadan kalkmakta ve daha sağlıklı üretim yapılmaktadır. Tozlaşmanın tamamen arılar tarafından sağlanması nedeniyle işçilik için harcanan zaman ve masraflar da en aza indirilebilmektedir.

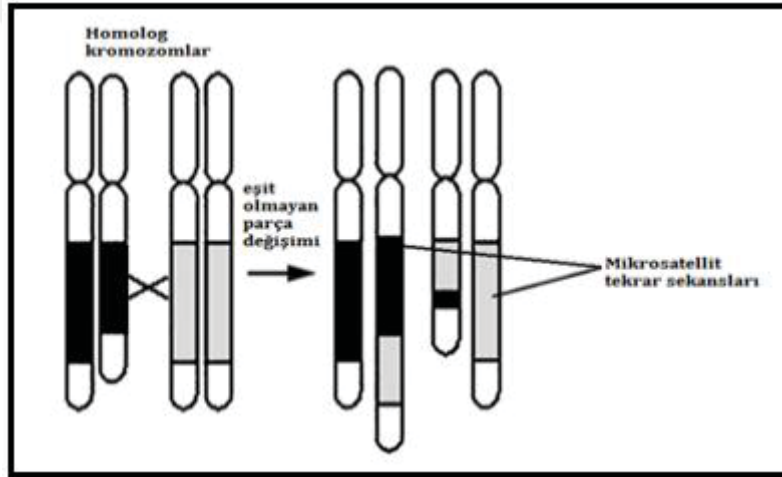
Bombus arıları, ülkemiz bilim insanlarının gündemine 1989-1992 yıllarında Ege Bölgesi'nden binlerce *B. terrestris* ana arı ve yuvasının doğadan toplatılarak yurt dışına götürülmesi ile gelmiştir (Özbek 1991; Ruijter 1997). Akrabalığı önlemek, kan tazeleme yapmak ve kontrollü yetiştirmeye oranla daha ekonomik olması nedeni ile bazı yabancı firmalar doğadan arı toplatmıştır. Bu uygulama ile *B. terrestris* doğal populasyonlarının azalacağı ve böylece birçok bitkide tozlaşma yetersizliği ve verim kaybı olacağı düşünülmüş ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı doğadan arı yuvalarının sökülmesini ve ana arıların toplanmasını yasaklamıştır. Türkiye önemli bir seracılık ülkesi olduğu için bombus arılarının seracılık sektöründe kullanıma olanakları araştırılmış ve birkaç yıl süren tanıtım çalışmalarından sonra birçok ülkeyle eş zamanlı olarak Türkiye'de de bombus arıları tozlaşma amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Türkiye'deki bazı firmalar Hollanda ve Belçika'da bombus arılarını üreten firmalarla işbirliği yaparak bombus kolonilerini ithal etmeye başlamışlardır. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı firmalara sınırlı ithalat izni vermiş ve bombus kolonilerinin kısa zaman içinde ülkemizde de üretilmesini talep etmiştir (Gürel 1999). Koloni ithalatına sınırlama getirilmesi, bombus arılarına olan talebin sürekli artması ve maliyetlerin yüksekliği yabancı ortakların Türkiye'de yatırım yapmasını hızlandırmış ve firmalar koloni yerine yurt dışındaki ortaklarından ana arı alarak Türkiye'deki işletmelerinde koloni üretmeye başlamışlardır. Daha sonra firmalar ana arı üretimini de Türkiye'de yapmak için gerekli yatırımları başlatmışlardır. Son yıllarda, bu firmalar gerekli yatırımları yaparak ana arı üretimi de olmak üzere yetiştiricilikteki bütün aşamaları Türkiye'de gerçekleştirerek seracılık sektörünün tozlaşmadaki bombus arısı talebini karşılamakta ve ülke tarımına önemli katkılarda bulunmaktadırlar (Gürel ve Gösterit 2007).

Türkiye'de ticari *B. terrestris* kolonilerinin domates seralarında tozlaşma amacıyla kullanımına 1997-1998 yıllarında başlanmıştır ve 1500-2000 dekar sera alanında 3500-4000 adet koloni kullanılmıştır. Örtü altı yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı bölgelerde ve özellikle Akdeniz sahil bölgesinde *B. terrestris* arısına olan talep yıldan yıla önemli artış göstermiş; 2008-2009 sera üretim döneminde 50 bin dekar sera alanında yaklaşık 100 bin adet ticari üretilmiş bombus kolonisi kullanılmış, bu değerler 2016-2017 sera üretim döneminde ise 125 bin dekar sera alanına ve 250 bin adet koloniye ulaşmıştır (Gürel ve Gösterit 2007; Gürel vd. 2017). Son yıllarda seracılık faaliyetlerinin artması, ticari rekabetten dolayı bombus kolonilerinin fiyatındaki düşüş, tüketicinin arılı domatese olan ilgisi, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın bombus arısı kullanan örtü altı üreticilerine verdiği destek gibi sebeplerden dolayı bombus arısı kullanımına olan talep artmış ve çiftçilerin arı kullanımını tam olarak benimsemesinde etkili olmuştur (Gösterit ve Gürel 2014).

2.4. Mikrosatelit Markerler

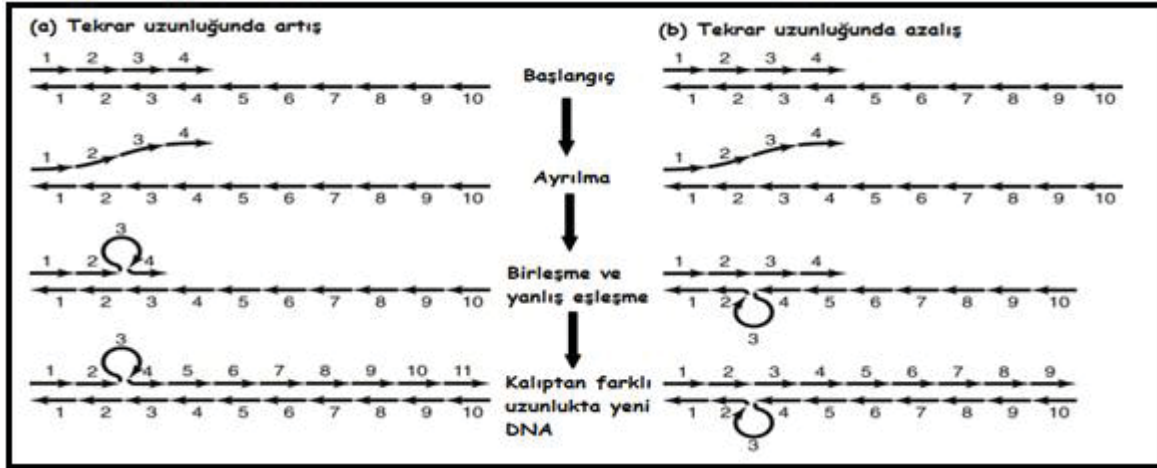
Mikrosatelitler tüm ökaryotik genomda intron ve ekzon bölgelerinde bulunabilen, genellikle 1-6 bp uzunluğunda, değişken sayılarda tekrar eden kısa DNA parçalarıdır. Tüm genomun %3'nü oluşturan ve genellikle mono (tekli), di (ikili), tri

(üçlü), tetra (dörtlü), penta (beşli) ya da hekza (altılı) şeklinde tekrar eden nükleotidlerden oluşan tekrar birimlerdir. Tekrar birimlerinin sağındaki ve solundaki bölgelere flanking bölgesi denilmektedir. Mikrosatelit polimorfizmini belirlemek için tekrar bölgesinin PCR ile çoğaltılmasında flanking bölgesinin bilinmesi ve bu bölgelere uygun primer sentezlenmesi gerekmektedir (Arif vd. 2010; Klug vd. 2011; Abdul-Muneer 2014). Mikrosatelitler tekrar sayılarındaki farklılıklar nedeniyle oldukça polimorfiktir. Bu polimorfizmin kaynağı ise, mikrosatelit bölgelerindeki yüksek mutasyon oranıdır. Mikrosatelitlerde her generasyonda lokus başına mutasyon oranı 10^{-3} - 10^{-4} arasında değişmektedir. İki önemli olayın mutasyon oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir. Bunlardan birincisi, krossing-over sırasında eşit olmayan parça değişimi sonucu oluşan yeni kombinasyonlar (Şekil 2.2) diğeri ise, replikasyon sırasındaki DNA eksen kayması (slippage) ya da diğer bir ismi ile replikasyon kaymasıdır (Şekil 2.3). Mikrosatelit mutasyonlarının meydana gelmesinde slippage mekanizmasının eşit olmayan parça değişimine göre daha etkili olduğu düşünülmektedir (Beuzen vd. 2000; Schlotterer ve Harr 2001; Joukhadar ve Jighly 2012).



Şekil 2. 2. Homolog kromozomlar arasında eşit olmayan parça değişimi (Jain vd. 2014)

Replikasyon kayması DNA'nın replikasyonu sırasında DNA iplikçiklerinin ayrılmasından sonra yeni zincirin sentezlenmesi esnasında mikrosatelitlerin tekrarlı yapısından dolayı tekrar bölgelerini içeren kısımların yanlışlıkla eşleşerek bir ilmik yapısı oluşturmalarıdır. DNA polimeraz enzimi bu ilmik yapısındaki nükleotidleri göremediğinden yeni zincirde bir delesyon oluşmaktadır. Bu nedenle oluşan yeni DNA iplikçğinde kalıp DNA'ya göre bir ya da birkaç tekrar motifi eksilir. Ancak bu durumun terside meydana gelebilir. DNA polimeraz kalıp zincirde bulunmayan nükleotidleri tekrar tekrar yerleştirerek yeni sentezlenen zincirde eşleşmeyen ilmik oluşturacak şekilde bir ya da daha fazla sayıda nükleotidin insersiyonuna neden olabilir. Bu durumda yeni sentezlenen DNA zincirinde bir ya da birkaç tekrar motifi fazla olabilir. Özetle, DNA replikasyonu tamamlandığında yeni oluşan DNA iplikçğinde kayıplar ya da artışlar olabilir. Mikrosatelit lokuslarda replikasyon kaymasının yoğun olmasının nedeni tekrar bölgelerinin doğasından ve DNA polimeraz enziminin aktivitesinin zayıf olmasından kaynaklıdır. Normalde DNA replikasyonu sırasındaki yanlış eşleşmeler DNA polimerazın hata okuma yeteneği sayesinde yanlış eşleşme tamir mekanizmaları tarafından düzenlenir. Ancak bu durumda bile küçük bir kısım mutasyon olarak kalabilir (Ellegren 2004; Klug vd. 2011).



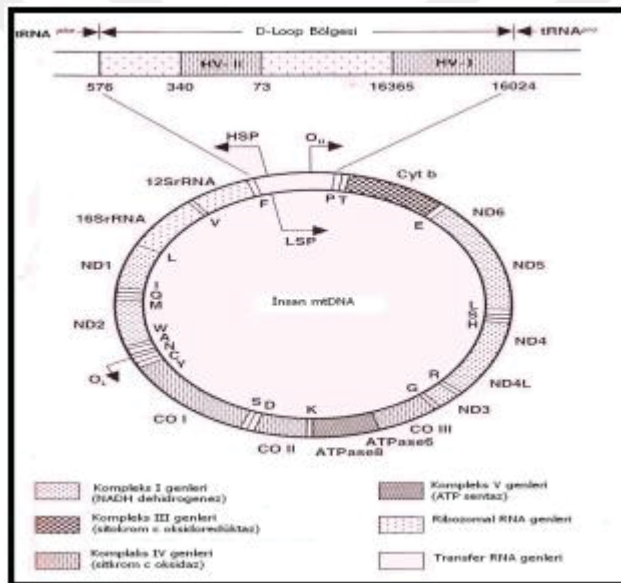
Şekil 2. 3. Replikasyon kayması ile mikrosatelit mutasyon modeli (Ellegren 2000)

Mikrosatelit marker yöntemi çalışılmak istenilen lokusta tekrar birimlerini içeren bölgenin PCR ile çoğaltılması, daha sonra bu çoğaltılan PCR ürünlerinin elektroforetik olarak ayrılmasıdır. PCR ile çoğaltılan tekrar birimlerinin büyüklüklerinin belirlenmesinde geçmiş yıllarda çoğunlukla poliakrilamid jel kullanılırken (Andrew Symons vd. 2000), günümüzde daha çok kapiller sistemler tercih edilmektedir. Kapiller sistemlerin maliyeti poliakrilamid jele göre yüksektir. Ancak uygulamada sağladıkları kolaylıklar ve güvenilirliklerinin yüksek olması gibi nedenlerden ötürü tercih edilmektedir. Yeni mikrosatelit lokusların belirlenmesinde primer dizaynı için tekrarlı bölgelerin sağındaki ve solundaki flanking bölgelerinin bilinmesi zorunluluğu bir dezavantajdır. Ama bu sorun DNA dizi analizi sayesinde çözülmektedir.

Bombus arısı ile ilgili genetik çalışmalarda kullanılmak amacıyla çok sayıda mikrosatelit marker geliştirilmiştir. Estoup vd. (1993, 1995, 1996) tarafından geliştirilen 13 adet mikrosatelit lokus (B10, B11, B96, B100, B101, B116, B118, B119, B121, B124, B126, B131 ve B132) bombus türlerinin genetiği ile ilgili konularda yapılmış çok sayıda çalışmada yaygın olarak kullanılmıştır. Bu lokuslara ilave olarak son yıllarda Funk vd. (2006) tarafından geliştirilen 44 mikrosatelit lokusun *B. terrestris* türü için yüksek derecede polimorfizm gösterdiği saptanmıştır. Buna karşın haritalama çalışmaları için genom içinde daha yoğun tekrarlanabilir marker dizilerinin olması istenmektedir. Bu nedenle Stolle vd. (2009) hem haritalama hem de populasyon genetiği çalışmalarını daha güvenilir kılmak için *B. terrestris* türünde polimorfik olan 123 yeni mikrosatelit lokus saptamışlardır. Bu lokuslardan 34 adedi *B. terrestris* dışındaki 9 bombus türü için de test edilmiş ve bunlardan 25 tanesi en az bir türde polimorfizm göstermiştir. Kısacası, moleküler araçların tercihleri zamanla değişse de, mikrosatelitler genetik varyasyonun belirlenmesi için seçilen önemli markerlerden biri haline gelmiştir. Genomda bol bulunmaları, düşük maliyetli olmaları, türler arası kullanılabilirlikleri ve genetik analizlerin çoğuna uygulanabilirliği gibi üstünlüklerinden dolayı oldukça başarılı bulunmuştur (Sunnucks 2000).

2.5. Mitokondriyal Genomun (mtDNA) Yapısı ve mtDNA Markerler

Mitokondri çok sayıda enzimi sentezleyebilen, kendine özgü DNA molekülü ve ribozomu olan çift hücre membranına sahip ve ökaryotik hücrelerin enerji üretim görevini üstlenen bir organeldir (Boore 1999). Sayıları enerji ihtiyacına göre, hücreden hücreye değişen mitokondriler, 1-7 mikrometre uzunluğunda, çubuk şeklinde ve 2-3 mikrometre çapında yapılardır. Birçok hücrede sayıları 200-400 arasında iken, kas ve sperm hücresi gibi enerji ihtiyacı fazla hücrelerde sayıları milyonları bulmaktadır (Karol vd. 2000; Kobilinsky 2005). Mitokondriyal proteinlerin %2'si mitokondriyal genom tarafından sentezlenirken, %98'i nükleer gen tarafından sentezlenerek, mitokondriye taşınmaktadır. Hayvan mtDNA'sı 16.569 baz çifti içeren küçük, çift zincirli, dairesel bir moleküldür ve 2 adet ribozomal RNA geni (16S ve 12S rRNA), 22 adet transfer RNA geni ve 13 adet protein geni olmak üzere toplam 37 gen içermektedir. Ayrıca kodlanmamış bir bölgesi vardır. Bu bölge 'A+T'ce zengin kontrol bölgesi olup, replikasyon ve transkripsiyondan sorumludur (Şekil 2.4.).



Şekil 2. 4. mtDNA'nın yapısı (Matsuda vd. 2007).

mtDNA kendini yarı korunumlu (semikonservatif) olarak eşlemektedir ve hücrenin bir organeli olmasına rağmen yarı otomatik bir genetik sistemi bulunmaktadır (Klug vd. 2011). Mitokondrinin kendi replikasyonunu gerçekleştirecek DNA polimeraz enzimi (mtDNA polimeraz) mevcuttur. mtDNA'da genel olarak rekombinasyon görülmediği için tek bir lokus gibi (haploid) kabul edilmektedir ve mutasyonla değişimlerin oluşması dışında generasyonlar boyunca değişmeden kalmaktadır (Carrecado vd. 2000; Dastan 2006). mtDNA, maternal kalıtım (anne tarafından aktarılma) göstermektedir. Spermin stoplazma içermemesi ve mitokondrilerinin fertilizasyona katılmayan kuyruk kısmında toplanması nedeniyle zigottaki mitokondriler sadece yumurtaya aittir. Anne tüm çocuklarına mtDNA'sını aktarırken, sadece kız çocuklar bunu ikinci kuşağa aktarabilmektedir. Yani, annenin mtDNA'sında var olan polimorfizm çocuklarına aynen aktarılmaktadır. Böylece, mtDNA'da meydana gelen mutasyonlar ile bireyler ve türler arasındaki farklılıkların takibi kolaylaşmaktadır. Hem maternal kalıtım göstermesi hem de rekombinasyon görülmemesi nedeniyle mtDNA

nesiller boyunca değişmeden aktarılmaktadır ve bu özelliğinden faydalanılarak kimliklendirme, populasyon genetiği, filogenetik çalışmalar, tür içi/türler arası genetik benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkarılması yapılabilmektedir (Avise 2004; Kobilinsky vd. 2005). Özetle, bu özelliği sayesinde antropolojik çalışmalarda, evrim ile ilgili araştırmalarda, göç yollarının belirlenmesinde önemli bir avantaja sahiptir.

mtDNA çekirdek DNA'ya oranla 10 kat fazla mutasyon oranı göstermektedir. Mutasyon hızının bu kadar yüksek olmasının nedeni, mtDNA'da histon proteinleri bulunmaması nedeniyle kimyasal etmenlerden çok daha fazla etkilenmesi, mtDNA'nın aerobik metabolizması esnasında oluşan süperoksit, hidroksi radikaller, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen metabolitlerinin mtDNA'da hasara neden olup mutajenik etki göstermesi ve mtDNA'nın çekirdek DNA gibi etkin bir tamir sistemine sahip olmaması şeklinde açıklanmaktadır (Çıtak 2000). Mitokondriyal genetik materyalin daire şeklinde olması ve ikili sarmalda tek bir DNA molekülünün bulunması nedeniyle çekirdek DNA molekülünde homolog kromozomlar arasında gerçekleşen parça değişimi meydana gelmemektedir. Bunun sonucunda döllerde yeni kombinasyonlar oluşmamaktadır. Döllerde yeni kombinasyonların oluşmaması, genetik markerlerin çok düşük sıklıklarda (2×10^{-8}) gerçekleşen mutasyona uğramasına sebep olmakta ve markerlerin sabit kalmasını sağlamaktadır (Özdil 2007). Mutasyon sıklığının düşük olduğu mtDNA molekülünde meydana gelen genetik varyasyonun sebepleri nükleotid eksilmesi (deletion), nükleotid eklenmesi (insertion), nükleotid dönüşümleri (substitution) ve belirli gen bölgelerinde DNA parçalarının farklı uzunluklarda olması olarak özetlenebilir (Moritz vd. 1986; Solognac 1991). Genel olarak mtDNA markerleri; anaya ait (maternal) kalıtım modellerinin izlenmesi, alttür içerisindeki haplotiplerin belirlenmesi, populasyonların tanımlanması, populasyonlar içi/arası genetik varyasyon düzeylerinin hesaplanması, populasyon ve ekotiplerin orjinlerinin belirlenmesi, populasyonlar arasındaki gen akışı ve hibritlenme seviyelerinin tahmin edilmesi, populasyonların coğrafi dağılımlarının ortaya konması ve populasyonların genetik benzerlik ve farklılıklarından yararlanılarak filogenetik ilişkilerin tespit edilmesi çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı mtDNA molekülü fonksiyonel olarak yaklaşık 37 gen, filogenetik olarak ise çok sayıda genin var olduğu tek bir bağlantı grubundan meydana gelmiş süpergen olarak tanımlanmıştır (Moritz vd. 1986).

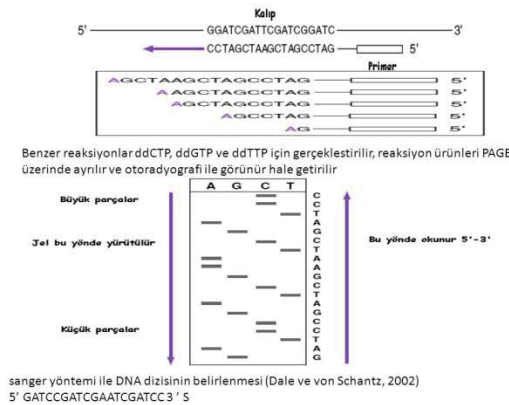
mtDNA seviyesinde var olan genetik çeşitlilikten yararlanılarak populasyonların tanımlanması amacıyla sitokrom oksidaz b (cytb), sitokrom oksidaz I (COI), sitokrom oksidaz II (COII), COI-COII arası intergenik bölge vb. gen bölgelerinde PCR-RFLP ve dizi analizi markerleri geliştirilmiştir. Belirlenen mtDNA PCR-RFLP markerlerinin sayısının az olmasına rağmen, özellikle aynı grup içinde yer alan türler arasındaki evrimsel ilişkilerin ortaya konulmasında ve haplotiplerin belirlenmesinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. COI bölgesi tRNA^{Leu} ve tRNA^{Trp} arasında yer alan 1560 bp uzunluğunda mitokondriyal solunumda elektron transferini sağlayan enzimin üretiminden sorumludur. Cytb bölgesi ise mitokondrinin solunum ile ilgili zincirinde elektron iletiminden sorumlu, tRNA^{Ser} ile ND6 genleri arasında bulunan 1149 bp'lik bir lokustur (Özdil 2007). mtDNA COI gen bölgesi elektron transfer zincirinde görevi olması nedeniyle yüksek derecede korunmaktadır ve tarafsız bir bölgedir. Bu sebeple, COI gen bölgesi evrensellik göstermektedir. Böylece bu gen bölgesi referans alınarak oluşturulan primerler, türlerin çoğunluğunda DNA barkodlama amacıyla

kullanılabilmektedir. Ayrıca COI gen bölgesi, populasyon genetiği çalışmalarında genetik varyasyon ve farklılaşma derecesinin ölçümü için de marker olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Öksüz 2014). mtDNA'nın tamamı incelendiğinde ayırım gücünün artacağı bilinen bir gerçektir. Ancak, mtDNA'nın tamamının dizinlenmesi de pratik olmadığından ve uzun zaman aldığından dolayı tercih edilmemektedir. Günümüzde, mtDNA'nın ayırım gücünü arttırmak amacıyla kodlayan ve kodlama yapmayan bölgelerde tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) inceleyen yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır (Nilsson vd. 2008).

2.6. Mitokondriyal DNA Analizinde Kullanılan Yöntemler

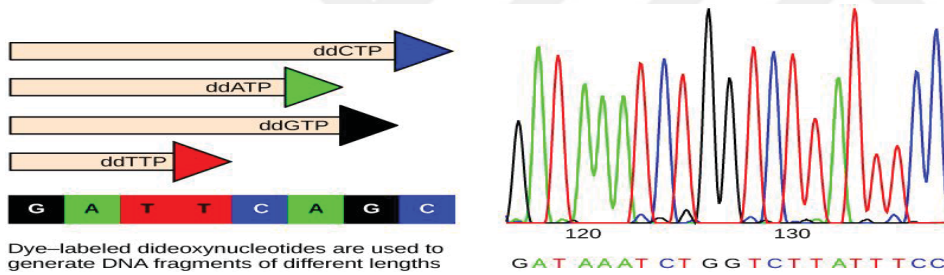
2.6.1. Mitokondriyal DNA dizi analizi

DNA dizilemesinde farklı teknikler kullanılsa da sıklıkla kullanılan yöntem zincir sonlandırma yöntemidir. Zincir sonlandırma prensibine dayalı olan ve en fazla tercih edilen teknik ise Sanger dideoksi yöntemidir. Bu yöntem 1970'li yıllarda İngiliz bilim adamı Frederick Sanger tarafından geliştirilmiştir. Sanger yönteminde, DNA çeşitli yöntemler ile izole edilmekte, PCR ile çoğaltılmakta ve elektroforetik aşamada ayırım gerçekleştirilerek genotip tayinine gidilmektedir. Dizi analizinde, PCR ile zincir uzama reaksiyonu için kalıp olarak tek iplikli DNA, primer, DNA polimeraz, floresan veya radyoaktif işaretli dNTP'ler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), PCR tamponu ve değiştirilmiş dNTP'ler olan ddNTP kullanılmaktadır. Zincir uzaması sırasında eğer uzayan zincire dNTP yerine ddNTP bağlanırsa sentez durmaktadır. Çünkü ddNTP'lerin 3' uçlarında -OH grubu bulunmamaktadır ve uzayan zincire bir sonraki nükleotid eklenemediğinden sentez sonlanmaktadır. Bu olay dört nükleotid için farklı tüplerde gerçekleştirilmektedir ve her tüpün içinde farklı uzunluklarda aynı ddNTP ile sonlanan zincirler meydana gelmektedir. Çoğaltma işleminden sonra elektroforetik ayırım yapılmaktadır. Her bir tüpte yer alan ve farklı ddNTP'ler ile sonlanmış olan zincir grupları, hazırlanmış olan jelde farklı kuyucuklara yüklenmekte ve elektroforez yapılmaktadır. En küçük olan DNA parçası en uzağa giderken, en büyük olan ise jelde en az yürüyendir. Buna göre, jelde aşağıdan yani, en küçük DNA parçası ilk olarak okunmaya başlanarak hemen sonrasında gelen bant okunur ve işleme bu şekilde tüm bantlar okununcaya kadar devam edilmektedir (Sanger 1977). Bu metotta belirleme otoradyografi ile olmaktadır ve hatalı okuma ihtimali yüksektir (Şekil 2.5).



Şekil 2. 5. Sanger metodu ile DNA dizi analizi (Dale ve von Schantz 2002)

Yıllar içinde çalışmalar devam etmiştir ve 1982 yılında Akiyoshi Wada DNA dizi analizinin otomatik olarak yapılmasını önererek robotlar geliştirmişlerdir. 1987 yılında da Leroy Hood ve Lloyd Smith tarafından DNA dizi analizinde kullanılacak tam otomatik bir makine bulunmuştur. Son yıllarda ise, otomatik DNA dizilemesi daha çok tercih edilmektedir. Otomatik dizilemede dedektör ve bilgisayar programı kullanıldığından insanlardan kaynaklanan hatalar en az düzeye inmektedir. Otomatik dizi analizinde genelde kapiler elektroforez cihazları ve floresan boyalarla işaretli ddNTP'ler kullanılmaktadır. ddNTP'ler (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) farklı floresan boyalarla işaretlenerek sentez tek tüpte gerçekleştirilebildiğinden elektroforez tek kuyuda yapılabilir. Farklı renklerdeki floresan boyalar farklı dalga boylarında ışıma yapmaktadır. Floresan boyalarla işaretli ddNTP'ler ile sonlanan DNA parçaları dedektör tarafından belirlenmekte ve böylece dizileme yapılmaktadır (Şekil 2.6) Tek reaksiyonda dizileme yapılabilmesi hem zaman kaybını önlemektedir hem de daha pratiktir. Günümüzde otomatik dizi analizi yapabilmek için çeşitli ticari kitler geliştirilmiştir. DNA dizi analizleri genom haritalarının oluşturulması, mutasyonların saptanması, kalıtsal hastalıkların meydana gelme ve tedavi süreçleriyle ilgili mekanizmaların anlaşılması, tür içi ve türler arası genetik ilişkilerin araştırılması, gen ve allellerin fonksiyonel yapılarının ortaya çıkartılması ve biyolojik hayatı kontrol eden genlerin ve kalıtsal şifrenin belirlenmesi gibi önemli çalışmalarda etkin bir şekilde kullanılmaktadır.



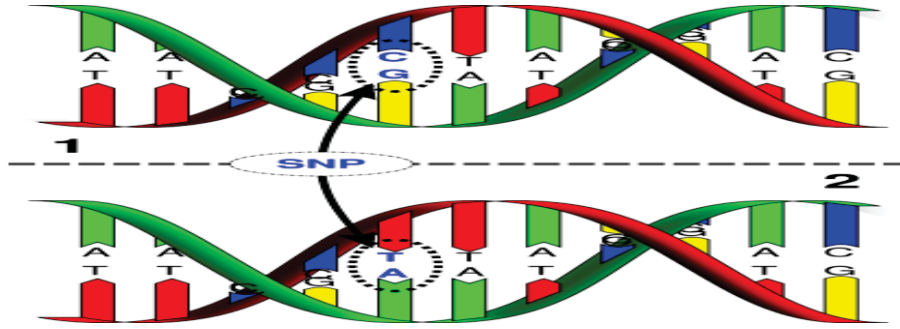
Şekil 2. 6. Otomatik DNA dizileme (Anonim 2)

2.6.2. SNP (Single nucleotide polymorphism-tek nükleotid polimorfizmi)

SNP'ler yaygın olarak bireyler arasında DNA dizisinde meydana gelen tek bazlık değişimlerdir ve genomda en sık görülen polimorfizmdir. Tek nükleotid polimorfizmleri genomda promotor, intron veya ekzon bölgelerinde bulunabilmektedir. Bu nokta değişikliklerini tespit eden yöntemler, bir veya birkaç bazlık küçük insersiyon ya da delesyonları da tespit edebilmektedir. Yani, SNP'ler yeni polimorfizmleri taramak ve saptamak için kullanılmaktadır.

Bir baz çiftinin başka bir baz çiftiyle yer değiştirmesi sonucu oluşan SNP'ler çoğunlukla transisyon sonucu oluşsalar da transversiyonlar sonucu da oluşmaktadırlar. Yani, pürin (G/A) nükleotidinin veya pirimidin (C/T) nükleotidinin yer değiştirmesi (transisyon), bir pürin nükleotidi ile bir primidin nükleotidi veya tersi şeklindeki yer değiştirmeler (transversiyon), DNA zincirine tek baz eklenmesi (insersiyon) veya eksilmesi (delesyon)'de SNPs markerlerinin meydana gelmesine sebep olan faktörlerdendir (Şekil 2.7). Ancak, her tek baz değişimi SNP olarak kabul edilmemektedir. Geniş ve herhangi bir popülasyonda tek baz değişiminin frekansı %1'den büyük ise bu değişim SNP, %1'den küçük ise mutasyon olarak

adlandırılmaktadır. Küçük seçilmiş populasyonlarda da bazı özel aleller SNP olarak değil de mutasyon olarak değerlendirilmektedir (Borsting vd. 2007).



Şekil 2. 7. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP: Single Nucleotide Polymorphism)

SNP'lerin büyük çoğunluğu tekrar bölgelerinde bulunmaktadır ve ortalama 1331 bazda 1 kez görülmektedir. Bu nedenle, diğer moleküler yöntemlere göre her lokusta çok daha fazla marker elde edilmektedir. Kodlayan bölge dışında bulunan SNP'ler düzenleyici bölgelerde yer alıyorsa gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Eğer SNP gen bölgesinde yer alıyorsa genler tarafından kodlanan proteinlerin hücresel fonksiyonlarını etkileyebilir ve proteinleri oluşturan aminoasitlerin kodonlarında değişikliğe neden olarak farklı proteinlerin oluşmasına sebep olabilmektedir (Borsting vd. 2007). Kodlayan bölgede yer alan SNP'ler sessiz mutasyonlara neden olursa sentezlenecek proteinin fonksiyonunu değiştirmediğinden fenotipik bir etki oluşmamaktadır. Ancak, SNP markerleri gen ürününün karşılığı bulunan bölgelerde bulunursa doğrudan fenotipi etkilemektedir (Beuzen vd. 2000).

Günümüzde moleküler genetik alanındaki gelişmelere paralel olarak SNP markerlerin tercihi ve kullanımı da artmıştır. Gerek tıp alanında gerekse biyoloji ve ziraat alanındaki moleküler çalışmalarda yoğun bir şekilde kullanılmaktadırlar. Özellikle, kompleks hastalıklardaki genlerin belirlenmesinde, farmakoloji alanında ilaçların değişik cevaplarının analizinde, biyoteknolojik çalışmalarda, evrim genetiği ve adli bilimlerde önem kazanmışlardır (Quintans vd. 2004). Son yıllarda çiftlik hayvanı türlerini kapsayan moleküler çalışmalar da SNP markerleri üzerine yoğunlaşmıştır. Birçok populasyon genetiği çalışmasında, tartışmalı tür ve alttürlerin incelenmesinde, yeni türlerin tanımlanmasında, nesli tükenen ya da sayıları azalan türlerin tespitinde ve genetik kökenlerin araştırıldığı filogeni çalışmalarında tercih edilmektedirler (Williams vd. 2012a; 2012b; Moreira vd. 2015; Williams vd. 2016; Sheffield vd. 2016).

2.7. Türkiye’de Bombus Arısı Taksonomisi ve Genetiği Konusunda Yapılan Çalışmalar

Bombus arıları ile ilgili çalışmalar dünyada yaklaşık yüz yılı aşkın bir süredir yapılmasına karşın, ülkemizde yirmi yıl öncesine kadar sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Bombus arılarının Türkiye’de tozlaşma amacıyla kullanımının yaygınlaşması ve özellikle Akdeniz ve Ege Bölgesi’ndeki doğal *Bombus terrestris* ana arı ve yuvalarının yabancı firmalarca toplanarak yurt dışına götürülmesi, araştırma kurumlarının dikkatini çekmiş ve bombus arıları ile ilgili çalışmaların artmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar bombus arılarının tozlaşmadaki önemleri, kontrollü koşullarda yetiştirme teknikleri, yerel populasyonların yaşam döngüleri, koloni gelişimi

ve bitki tercihleri, sistematigi ve hastalıkları konularında yoğunlaşmıştır. Araştırmaların büyük bir çoğunluğu Akdeniz, Süleyman Demirel ve Çukurova Üniversiteleri Ziraat Fakülteleri ile Hacettepe ve ODTÜ Biyoloji Bölümleri'nde yürütülmüştür.

Bombus arılarında yakın zamana kadar morfolojik özellikleri kullanarak taksonomik çalışmalar yapan tek araştırmacı Prof. Dr. Hikmet Özbek olmuştur. Özbek (1979, 1983, 1990) yaptığı çalışmalarda özellikle Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan bombus arılarını incelemiş, Türkiye'de 50'ye yakın tür tanımlamış, bazı türlerin yayılma alanlarını, biyolojilerini ve bitki tercihlerini belirlemiştir. Özbek (1997) *B. terrestris* türünün Türkiye'nin özellikle kıyı bölgeleri olmak üzere çok geniş bir kısmında yaygın olarak bulunduğunu ve bu türün tozlaşma yaptığı bitkileri saptamıştır. Araştırmacı Türkiye'de bu türün *B. t. dalmatinus* ve *B. t. lucoformis* olmak üzere muhtemelen iki alttürünün bulunduğunu fakat bu alttürlerin kesin yayılma sınırlarını saptamanın ve bu alttürleri morfolojik yöntemlerle taksonomik olarak ayırmanın çok güç olduğunu belirtmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesi'nin Adana, Hatay ve Mersin ili ve çevrelerindeki farklı flora ve ekosistemlerde bombus türlerinin incelendiği faunistik çalışmada ise Bombinae alt familyasına bağlı 7 tür ve 6 alttür olmak üzere on üç farklı genotip belirlenmiş ve *B. terrestris* türünün en yoğun görülen tür olduğu ve deniz seviyesinden 1560 metre yüksekliğe kadarki rakımda bu türe rastlandığı belirtilmiştir (Aslan ve Şekeroğlu 1996). Aytekin vd. (2003) Bulgaristan, Yunanistan ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları ana arı ve işçi arılara ait 157 *B. terrestris* örneğini altı enzim sistemi ve 28 morfolojik karakter kullanarak *B. t. lucoformis* ve *B. t. dalmatinus* alttürlerine ayırmaya çalışmışlardır. İncelenen tüm lokuslar bakımından her iki taksanın da monomorfik olduğu gözlenmiş ve herhangi bir heterozigota ya da farklı elektromorfa rastlanmamıştır. Malik enzim dışında tüm enzim sistemleri bakımından eş bantlar tespit edilmiştir. Bu çalışmada gerek elektroforetik mobilite gerekse klasik morfometrik analiz yolu ile elde edilen bulgular *B. t. lucoformis* ve *B. t. dalmatinus*'u ayrı alttürler olarak tanımlayacak yeterlilikte farklılıkları içermemiştir.

Aytekin ve Çağatay (1999) tarafından Ankara ili ve ilçelerindeki Bombinae alt familyasına ait türlerin incelendiği başka bir çalışmada dokuz tür belirlenmiş ayrıca türlerin dağılım haritaları ve ziyaret ettikleri bitki türleri de saptanmıştır. Aynı araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada ise Ankara'daki bombus arısı doğal populasyonlarının çiçek tercihleri ve bombus arılarında saptanan parazit ve mikroorganizmalar incelenmiştir. *B. terrestris* türünde *Acarus farris* (Acaridae) ve *Nosema bombi* belirlenmiştir (Aytekin vd. 2002). Çağatay vd. (2000) tarafından sonuçlandırılan bir projede ise, Ankara ili ve ilçelerinden toplanan arı örneklerinde Apidae familyası içerisinde yer alan Bombinae ve Psithyrinae alt familyalarına ait on iki tür morfometrik ve moleküler yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Moleküler incelemelerde yatay-nişasta jel elektroforezi ile malat dehidrogenaz, malik enzim, fosfoglukomutaz, fosfoglukoz izomeraz, esteraz ve heksokinaz olmak üzere altı enzim sistemi analiz edilmiş ve on iki türün ayrımı net bir şekilde belirlenmiştir. Araştırmacılar sistematik açıdan sorunlu olan gruplarda moleküler yöntemlerin kullanılmasının daha uygun olabileceğini bildirmişlerdir. Aytekin ve Çağatay (2002) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise Erzurum, Artvin, Ankara, Rize, Trabzon, Eskişehir ve Konya illerinden toplanan 1758 bombus arısı morfometrik özellikler kullanılarak tanımlanmıştır. Çalışmada *Kallobombus* ve *Melanobombus*'un tamamen ve

Thoracobombus altcinsinin de bunlar ile kısmen iç içe geçtiği, *Megabombus* altcinsinin ise daha belirgin biçimde ayrılabilirdiği saptanmıştır.

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

Türkiye doğal *B. terrestris* populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik olarak gerçekleştirilen araştırmalardan birisinde AFLP (Gürel ve Basım 2003) diğerlerinde ise mikrosatelit markerler ve mtDNA gen bölgelerinden yararlanılmıştır. (Beton 2004; Karşı 2011; Gürel vd. 2011; Taşbaş 2017). Gürel ve Basım (2003) tarafından tamamlanan TÜBİTAK projesi kapsamında AFLP yönteminden yararlanılarak Batı Akdeniz ve Ege Bölgesi'ndeki *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasına çalışılmış ve ayrıca ithal edilen ticari *B. terrestris* arıları ile doğal *B. terrestris* populasyonları arasında olası melezlemelerin olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır. Tamamlanan araştırma projesinde, belirtilen hedeflere varılmasında kullanılan AFLP yönteminin ve markerlerinin yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Ülkemizde mikrosatelit markerlerin bombus arı populasyonlarının tanımlanmasında ilk kez kullanıldığı yüksek lisans tez çalışmasında Adana, Antakya, Ankara, Bartın, Samsun ve Kıbrıs'ı temsil eden toplam 86 işçi, 10 ana ve 119 erkek *B. terrestris* arı örnekleri incelenmiştir. B11, B100, B124 ve B126 mikrosatelit lokusları bakımından sadece Ankara ve Kıbrıs populasyonlarındaki polimorfizmin tespit edilmesine çalışılmıştır. Üzerinde durulan lokuslar bakımından ortalama heterozigotluk değerinin Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla yaklaşık olarak 0.84 ve 0.68 olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonucunda Ankara ve Kıbrıs *B. terrestris* populasyonlarının birbirlerinden farklı genetik yapılar da olduğu ifade edilmiştir (Beton 2004) Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda mikrosatelit marker sayısı artırılmıştır. Karşı (2011)'nin yüksek lisans tez çalışması ve Gürel vd. (2011)'nin yaptığı TÜBİTAK projesinde yaygın olarak kullanılan on adet marker ile çalışma yapılmıştır. Yüksek lisans tez çalışması kapsamında Antalya-Kemer, Antalya-Termessos ve Adana doğal *Bombus terrestris* populasyonlarını temsil eden toplam 107 adet işçi arı örneği BT06, BT09, BT20, B100, B116, B118, B119, B121, B124 ve B126 mikrosatelit lokusları bakımından tanımlanmıştır. Antalya-Kemer, Antalya-Termessos ve Adana populasyonlarında sırasıyla gözlenen allel sayısı (Na), 10.3, 9.8 ve 9.2, etkili allel sayısı

(Ne), 6.4, 5.7 ve 5.8, gözlenen heterezigotluk (Ho) 0.73, 0.71 ve 0.70 ve beklenen heterozigotluk (He) değerleri, 0.75, 0.72 ve 0.74 olarak belirlenmiştir. Genetik mesafe değerlerine göre çizilen dendrogramda, Termesos ve Adana populasyonları birbirine daha benzer bulunmuştur ve populasyonların Hardy-Weinberg genetik dengesinde oldukları tespit edilmiştir.

TÜBİTAK projesinde (Gürel vd. 2011), 14 adet Türkiye doğal populasyonundan (Antalya-Kumluca, Antalya-Aksu, Antalya-Termesos, Antalya-Kemer, Adana, Muğla, Aydın, Çanakkale, Zonguldak, Ordu, Rize, Ankara, Eskişehir ve Bursa) ve 4 adet ticari firmadan toplanan toplam 863 adet *B. terrestris* işçi arı örneğinde on mikrosatelit marker kullanılarak *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısının tanımlanması ve ticari populasyonlardan doğal populasyonlara gen akışının olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. İncelenen populasyonların tamamı değerlendirildiğinde ortalama gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterezigotluk (Ho), beklenen heterezigotluk (He) ve Fis değeri sırasıyla $Na=8.9\pm1.5$, $Ne=5.4\pm0.9$, $Ho=0.614\pm0.080$, $He=0.721\pm0.064$, $Fis=0.149\pm0.094$ olarak tahmin edilmiştir. Populasyonlar Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermemişlerdir. Her generasyon populasyonlar arasında göç eden bireylerin sayısı ortalama 8.0 olarak tahmin edilmiştir. Populasyonlar içinde populasyonlar arasındakinden çok daha fazla genetik varyasyon saptanmıştır. Ticari firmalardan ve doğadan toplanan örneklerin DNA analizi, incelenen her iki grubun da ortak atalardan türediğini ve *B. t. dalmatinus* alttürüne ait olduklarını göstermiştir. Ancak farklı lokasyonlardan toplanan *B. terrestris* örneklerinde ekotip düzeyinde tanımlama ve ayırım yapmak mümkün olmamıştır.

Ülkemizde en son yapılan çalışmada ise mtDNA gen bölgelerindeki varyasyonlar sonucu oluşan SNP haplotiplerden yararlanılarak doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısı tanımlanmıştır (Taşbaş 2017). Bu yüksek lisans tez çalışmasında, doğal alanlardan (Bayatbademler, Faselis, Termesos), yayla seracılığının birkaç yıl önce yapılmaya başlandığı Geyikbayırı bölgesinden, seracılık faaliyetlerinin yoğun yapıldığı ve bu faaliyetlerde ticari *B. terrestris* kolonilerinin en yoğun kullanıldığı Aksu, Demre ve Kumluca'da seraların yakın çevresinden ve ticari üretim yapan 5 firmadan, 30'ar işçi arı örneği toplanmıştır. Proje materyalini oluşturan 12 populasyonu temsilen COIb ve Cytb gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış ve 180'er DNA örneğinin sekansı yaptırılarak, SNP haplotipler belirlenmiştir. mtDNA COIb gen bölgesi için belirlenen DNA nükleotid dizisinde bulunan SNP'lere göre 40 haplotip tespit edilmiştir. Haplotip verilerine göre yapılan varyans analizleri COIb için tespit edilen toplam varyasyonun %28,54'ünün populasyonlar arasında ve %71,46'sının populasyonlar içinde olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde cytb gen bölgesi için sonuçlar incelendiğinde, 29 haplotipin varlığı gösterilmiştir. Haplotip sonuçlarına göre yapılan varyans analizleri cytb için tespit edilen toplam varyasyonun %24,52'sinin populasyonlar arasında ve %75,48'inin populasyonlar içinde olduğu belirlenmiştir. Bu durum, 12 farklı *B. terrestris* populasyonun birbirlerine oldukça benzer olduğunu göstermiştir. Gruplar arası farklılığın düşük olması ise, populasyonların ortak atadan gelme ihtimalinin yüksek olduğunu işaret etmektedir. Filogenetik ilişkileri gösteren dendrogramlara bakıldığında ise, doğal populasyonlar ile ticari firmalar ve sera bölgelerindeki populasyonların farklı dallarda kümelendiği görülmektedir.

2.8. Dünya’da Bombus Arılarında Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

Son dönemlerde genetik biliminde meydana gelen hızlı gelişmelerle çok sayıda moleküler marker tanımlanmıştır. Bu markerlerin çoğu mikrosatelit ve mtDNA lokusları içindeki dizi farklılıklarından türetilmiş ve çok çeşitli organizmalara uygulanmıştır. Moleküler markerler kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda türlerin biyolojisi, ekolojisi, davranışı, populasyon dinamiği ve evrimi hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır. Bombus arılarında da populasyon genetiği araştırmaları çoğunlukla mikrosatelit markerler kullanılarak yapılmıştır. 1984-2014 yılları arasında bombus arılarıyla yapılan 53 genetik çalışmanın %68’i mikrosatelitler, %23’ü mtDNA dizileri, %4’ü nükleer gen dizileri ve %13’ünde allozimler kullanılmıştır (Woodard vd. 2015). İkinci en yaygın veri türü olan mtDNA dizileri, çoğunlukla nükleer genler veya mikrosatelitlerle bağlantılı olarak taksonomik ve filocoğrafik çalışmalar için kullanılmıştır. Kısaca, bombus arıları için geliştirilen çok sayıda mikrosatelit ve mtDNA markerleri kullanılarak; populasyonların genetik yapılarının belirlenmesi, populasyonlar arasındaki genetik farklılık ve benzerliklerden yararlanarak filogenetik ilişkilerin saptanması, genom haritalaması, populasyonlara ait demografik ve genetik parametrelerin tahmin edilmesi, populasyonlar arasındaki gen akışı ve melezlenme seviyelerinin belirlenmesi, taksonomik olarak tartışmalı tür ve alttürlerin tanımlanması, populasyonlardaki genetik daralmanın ve azalan arı populasyonlarının saptanması ve bu azalışta genetik faktörlerden kaynaklanan etkilerin belirlenmesi gibi birçok konuda yeni ve önemli bilgilere ulaşılmıştır (Koulanos 1999; Gerloff vd. 2003; Darvill vd. 2006; Inoue vd. 2008; Kanbe vd. 2008; Kim vd. 2009; Kondo vd. 2009; Wolf vd. 2010; Coppee 2010; Moreira vd. 2015).

Mikrosatelitler ve mtDNA markerleri kullanılarak yapılan ilk çalışmalar genellikle Avrupa’da çok yaygın bulunan *B. terrestris* türü üzerinde yoğunlaşmıştır. Çalışmalarda, birbirlerinden izole olmuş farklı coğrafi bölgelerde bulunan *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapıları tanımlanmıştır. Avrupa kıtası içinde *B. terrestris* populasyonlarının yaygın olması ve izolasyon oluşumuna sebep olacak coğrafi bariyerlerin bulunmaması nedeniyle, kıta içinde populasyonlar arasındaki genetik farklılık fazla değilken, çeşitli Kanarya ve Akdeniz adalarındaki populasyonların farklı olduğu tespit edilmiştir (Estoup vd. 1996; Wildmer vd. 1998; Moreira vd. 2015). Estoup vd. (1996) *B. terrestris* türünün kıta ve ada populasyonlarındaki genetik farklılaşmayı belirleyebilmek için Avrupa kıtasından 8, Akdeniz adalarından 5 ve Tenerife adasından bir populasyonda 10 mikrosatelit lokusu ve COII mitokondriyal gen dizisini incelemişlerdir. İncelenen populasyonların çoğunda 10 mikrosatelit sekizi yüksek seviyede polimorfizm göstermiştir. Sonuçta ada populasyonlarının genetik yapısı kıta populasyonlarından kesin olarak ayrılmış, fakat kıta içindeki *B. terrestris* populasyonları arasında önemli bir genetik farklılık bulunmamıştır. Bazı araştırmacılar da morfolojik ve kıl rengi yapısındaki farklılıklara bağlı olarak, Kanarya adalarındaki ve Mader adasındaki bombus arısı populasyonlarını *B. terrestris*’ten farklı olarak *B. canariensis* ve *B. maderensis* olarak ayrı türler gibi ya da *B. terrestris*’in alttürleri olarak tanımlamaktadır. Widmer vd. (1998) bu adalardaki bombus populasyonları ile kıtasal *B. terrestris* populasyonlarının filocoğrafik ilişkilerini değerlendirmek için dört Kanarya adasının her birinden bir populasyon ve Mader adasından bir populasyonla 9 mikrosatelit lokustaki ve mitokondriyal cytb genindeki varyasyonu incelemişlerdir.

Adalar arasında ve adalarla-kıta arasındaki genetik farklılıklar önemli seviyede bulunmuştur. Mikrosatelitler, Kanarya adaları popülasyonlarının farklılığını güçlü olarak desteklerken, Mader adasındaki popülasyon Avrupa kıtasındaki *B. terrestris* popülasyonlarına genetik olarak daha benzer bulunmuştur. Çünkü Mader adası popülasyonu kıtasal *B. terrestris*'in en yaygın haplotipini paylaşmaktadır.

B. terrestris'in genetik yapısıyla ilgili çalışmalar çoğunlukla Güney Avrupa adaları ve Avrupa Kıtası üzerinde yoğunlaşmıştır. Kuzey Avrupa popülasyonlarının genetik özellikleri çok daha az çalışılmıştır. Ayrıca bombus arılarının dağılımında İngiliz Kanalı ve İrlanda Denizi'nin rolü de daha önceden araştırılmamıştır. Moreira vd. (2015)'nin kuzey popülasyonları üzerinde yoğunlaşan çalışması özellikle, İngiliz ve İrlanda *B. terrestris* popülasyonlarının durumunu incelemektedir. Bu çalışmada yoğun olarak İrlanda, İngiltere ve Man adasından popülasyonlar örneklenmiş ve üç tanınmış alttürün (*dalmatinus*, *lusitanicus* ve *terrestris*) aralıklarını içeren bölgelerle anakaradaki Avrupalı popülasyonlar karşılaştırılmıştır (Rasmont vd. 2008). Güney Avrupa'dan gelen popülasyonlar da ticari stoklar için kurucu popülasyonların muhtemel kaynağı olarak kabul edilmiştir. Ek olarak analizlere iki ticari firmadan ve Yeni Zellanda'dan birer örnek eklenmiştir. Sonuçta, *B. terrestris*'in genetik yapısı 22 yabancı popülasyon ve 2 ticari yetiştirilen popülasyonda 8 mikrosatelit lokus ve iki mitokondriyal gen kullanılarak incelenmiştir. Mikrosatelit sonuçlarına göre, Man adası ve İrlanda'daki genetik çeşitlilik ve gözlenen heterozigotluk düşük iken, Avrupa kıtası ve ticari yetiştirilen popülasyonlarda nispeten yüksektir. Fst tahminleri popülasyonlar arasında önemli farklılaşma olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bayesian kümeleme analizlerine göre ise, İrlandalı popülasyonlar büyük ölçüde İngiliz ve kıta popülasyonlarından farklılaşmıştır. Veriler İrlanda ve İngiltere popülasyonları arasındaki gen akışında İrlanda Denizi ve hakim güney batı rüzgarlarının önemli bir coğrafi bariyer görevi gördüğünü göstermektedir. Ayrıca, Man adasından İrlanda'ya göç olduğu da saptanmıştır. Francisco vd. (2016)'nin yaptığı benzer bir çalışmada da Güneydoğu Brezilya'da yaygın ve doğal olarak bulunan *B. morio*'nun adalar ve anakaradaki popülasyonları arasındaki çeşitlilik ve izolasyon düzeyleri incelenmiştir. *B. morio* güçlü uçuş kabiliyetine sahip, polilektik bir türdür. Güneydoğu Brezilya ise karadan farklı büyüklük ve uzaklıktaki birçok kıta adasını kapsamaktadır. Bu adalar, arı popülasyonları da dahil olmak üzere izole olmuş popülasyonların genetik özelliklerini incelemek için doğal bir ortam sağlamaktadır. Adalardan toplanan 24 popülasyondan 659 örnek, iki mitokondriyal gen (COI ve cytb) ile tüm bireyler ise, 14 mikrosatelit lokusun genotiplendirmesi ile analiz edilmiştir. Beklenenin aksine, genetik çeşitlilik yüksek bulunmuş ve tek bir ada dışında, ada popülasyonlarının genetik faktörler yüzünden yok olma tehlikesinde olmadığı belirtilmiştir.

B. terrestris'in beş tanesi coğrafi olarak izole olmuş 9 alttürü bilinmektedir (Rasmont vd. 2008): *B. t. africanus* Krüger (Kuzey Afrika), *B. t. audax* Harris (İngiliz Adaları), *B. t. canariensis* Pérez (Kanarya Adaları), *B. t. sassaricus* Tournier (Sardunya), *B. t. xanthopus* Kriechbaumer (Korsika, Capraia Adası ve Elba Adası). Sonraki 4 alttür ise simpatrik türleşme göstermişlerdir: *B. t. calabricus* Krüger (Güney İtalya ve Sicilya), *B. t. dalmatinus* Dalla Torre (Güneydoğu Fransa, Kuzey İtalya, Balkan Yarımadası, Ukrayna, Anadolu, Transkafkasya Kafkaslar, Kuzey İran, Güney Ural, Alai, Altai), *B. t. lusitanicus* Krüger (Güney-Batı Fransa, İber Yarımadası, Balear Adaları ve Madeira), *B. t. terrestris* Latreille (Avrupa kıtası). *B. t. dalmatinus* ve *B. t.*

terrestris büyük ihtimalle ticarileştirilmiş esas Avrupalı alttürlerdir, bu alttürlerin orjini Avrupa'nın kuzeyinde Belçika ile Hollanda (*ssp. terrestris*) ve Avrupa'nın güneyinde Yunanistan ile Türkiye'dir (*ssp. dalmatinus*). Coppee vd. (2008)'nin sunduğu bir çalışmada *B. t. canariensis*, *B. t. sassaricus* ve *B. t. xanthopus* erkeklerinin dişileri çekmek için salgıladıkları hormonlar arasında yüksek varyasyon saptamışlardır. Spesifik Eş Tanıma Sistemine dahil olan bu feromonlar, türe özgüdür ve gözlemlenen varyasyonların belirli farklılıklara karşılık gelebileceğini önermektedir. Ne yazık ki, *B. terrestris* ile ilgili yapılan bu ve yukarıda belirtilen genetik çalışmalar da alttürler hakkındaki eksik bilgileri tamamlamaya yetmemiştir. Bu çalışmalara göre çeşitlilik ve farklılaşmalar kıta populasyonlarına göre ada populasyonlarında daha fazladır. Bu nedenle, Coppee vd. (2010) mitokondriyal DNA (COI, cytb) dizileri kullanarak filogenetik analizler yapmışlar ve dokuz *B. terrestris* alttürünün taksonomik durumunu tekrar incelemişlerdir. Maximum Parsimoni (MP), Bayesian Metot (BM) ve Maximum Likelihood (ML) analizleri *xanthopus* ve *africanus* + *canariensis* güçlü desteklenmiş iki ayrı bazal monofiletik grup oluştururken, diğer populasyonlar tek bir monofiletik grup oluşturmuştur. Kıtasal populasyonlar arasında ortak coğrafi bir farklılaşma desenleri vurgulanmamıştır. Bununla birlikte BM analizinde, *lusitanicus* ve *audax* + *sassaricus* örnekleri de kıta örneklerinden ayrılarak iyi desteklenmiş iki monofiletik grubu oluşturmuşlardır.

B. pascuorum, *B. terrestris* türüne benzer şekilde Avrupa'da geniş alanlara yayılmış ve *B. terrestris* türü ile aynı bölgelerde de sıklıkla görülen bir bombus türüdür. Pirounakis vd. (1998) ile Widmer vd. (1999) Avrupa'nın farklı bölgelerinden topladıkları *B. pascuorum* örneklerinde genetik çeşitliliği araştırmışlardır. *B. pascuorum*'da bütün kıta Avrupa'sı boyunca populasyonlar birbirine benzer fakat bu populasyonlarla İtalya Alplerinin güneyindeki populasyonlar farklı bulunmuştur. Bu farklılığın, Alplerin kuzey ve güney arasında bir bariyer oluşturmasından kaynaklanabileceği, *B. terrestris* türünde ise kraliçe arıların çok daha iri olmasından dolayı daha uzun mesafelere uçabildikleri ve bu nedenle Alpleri geçerek populasyonlar arasındaki farklılaşmaları azalttıkları düşünülmektedir. Asya kıtasında Çin, Japonya ve Kuzey Kore'de hem doğal olarak bulunan hem de ticari yetiştiriciliği yapılan *B. ignitus*'da biyolojisi ve tozlaştırıcı etkisi ile *B. terrestris*'e benzemektedir. Ayrıca tüm dünya üzerinde ihracatı yapılmaktadır. Shao vd. (2004) farklı yerel populasyonlar arasındaki genetik yapıyı analiz etmek için dokuz mikrosatelit lokus ve cytb gen bölgesini kullanmışlardır. Çin, Güney Kore ve Japonya'da üç lokasyondan toplanan örneklerde cytb geninde varyasyon gözlemlenmezken, mikrosatelit analizine göre ise kıta populasyonlarının kendi aralarında homojen bir genetik yapıya sahip oldukları, buna karşılık kıta populasyonları ile uzak ada populasyonları arasındaki genetik farklılığın fazla olduğu ifade edilmiştir. Tokoro vd. (2010)'de COI gen bölgesiyle yaptığı çalışmayla Japon populasyonlarının genetik özelliklerinin Güney Kore ve Çin populasyonlarından farklı olduğunu doğrulamışlardır. Ancak, bu sonuç Kore ve Çin'den gelen birer popülasyona dayanarak yapıldığı için ilave populasyonlar kullanılarak daha fazla bilgi gerektirmektedir. Bu nedenle, Oh vd. (2013) çalışmasında Güney Kore'de dokuz bölgeden toplam 88 *B. ignitus* örneği toplamış ve COI geninin yanısıra nükleer ITS2 dizisini de kullanmışlardır. Sekans bilgileri, Güney Koreli populasyonlardaki genetik çeşitlilik ve genetik yapının analizi için kullanılırken, Koreli populasyonların Japon populasyonlara göre coğrafi çeşitliliğini daha iyi anlamak için COI dizileri Tokoro vd. (2010)'nin sonuçlarıyla birleştirilmiştir. Bu verilerin tamamı, Güney Kore

ve Çin'deki *B. ignitus*'un genetik olarak büyük bir grup olduğunu, ancak Japonya'daki bireylerin kabaca diğer bir gruba ayrılabilirdiğini göstermektedir. Kore yarımadasında doğal olarak bulunan ve hakkında araştırmalar yapılan türlerden biri de *B. ardens* türüdür. Yoon vd. (2003) ve Kim vd. (2009) ise Kore yarımadasının farklı bölgelerinde farklı yıllarda bu bombus türüyle çalışma yapmışlardır. Bu çalışmaların ilkinde, yedi bölgeden toplanan örneklerden 44 adet *B. ardens*'in COI gen bölgesinin nükleotit dizisini belirlemişler ve dört haplotip saptamışlardır. Ancak haplotiplerden birinin frekansının oldukça yüksek olması nedeniyle genetik çeşitliliğinin düşük olduğunu belirtmişlerdir. İkinci çalışmada ise, Kore yarımadasında 15 farklı bölgeden toplam 160 adet *B. ardens* örneği toplanmış ve bu örneklerde 658 bp'lik mitokondriyal COI genini sekanslamışlardır. Analiz sonuçlarında toplam 8 haplotip, 8 değişken nükleotit elde edilmiş ancak bir haplotip bütün bölgelerde yaygın olarak dağılım göstermiştir. Tüm bireyler arasında çok düşük genetik farklılıklar saptanmıştır. Sonuç olarak, Kore yarımadasında bulunan *B. ardens* populasyonlarının biyocoğrafik bariyerlere maruz kalmadığı ve rastgele çiftleşmelerle oluştuğu belirlenmiştir.

Eski ve Yeni Dünya bombus arıları yoğun bir şekilde moleküler filogenetik ve populasyon genetiği çalışmalarına konu olmuştur. Meksika ve Orta Amerika, dünyadaki en çok biyolojik çeşitlilik gösteren bölgeler arasında yer almakta ve morfolojik ve genetik çeşitliliğin yüksek seviyelerde bulunduğu birçok türü barındırmaktadır. Bu bölgenin dağlık topografyasında türleşmeyi teşvik etme potansiyeline sahip izole ada habitatları bulunmaktadır. Burada 19 farklı bombus arısı türü (Labougle 1990) tanımlanmasına rağmen, bu grubun filoğrafik ve genetik yapısını inceleyen çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Duennes vd. (2012) Meksika ve Orta Amerika genelinde yaygın olarak bulunan *B. ephippiatus*'da ilk çalışmayı yapmışlardır. *B. ephippiatus*'un diğer bombus türlerindeki gibi vücut yapısı homojendir, ancak tür içi sergilediği renk polimorfizmi nedeniyle soy ağacı sınırları konusunda belirsizlikler vardır. Ayrıca Güney Meksika ve Kuzey Guatamala'yla sınırlandırılmış bir tür olan *B. wilmattae* ve sadece Meksika'nın kuzeyinde bulunan *B. impatiens* ile taksonomik olarak ilişkileri tartışmalıdır. Mitokondriyal COI ve nükleer kodlanan gen bölgelerinden elde edilen DNA dizilerinin filogenetik analizi, bu üç taksonun filogenisini, (*B. impatiens*, (*B. ephippiatus*, *B. wilmattae*)) şeklinde göstermiştir. Çalışılan sekiz mikrosatelit markerden elde edilen veriler *B. ephippiatus* populasyonları arasındaki kapsamlı coğrafi genetik farklılık ve izolasyon kalıplarını ortaya koyarak çok sayıda bağımsız soyağacı oluşturmuştur. Bu soyağaçları sadece coğrafi ve habitat değişimi değil, aynı zamanda türlerdeki farklı renk desen gruplarına da karşılık gelmektedir. Günümüzde, *B. ephippiatus* Meksika'da sera ürünleri tozlaştırılmasında kullanmak amacıyla doğadan toplatılmakta ve ticari olarak da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Duennes ve Vandame (2015) Uluslararası Doğa Koruma Birliği Kırmızı Listesinde *B. ephippiatus* için "En Az Endişe" olarak belirlendiyse de, bu türün ekonomik önemi arttıkça ticari polinasyon için toplatılması ve bölgeler arası hareketi mevcut genetik çeşitliliğe zarar verebileceğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak, ticari şirketlerin ABD'den *B. impatiens* gibi türleri bu bölgeye sokması ve bu türlerin bölgeye yerleşmesi de yüksek seviyede bir risk oluşturmaktadır. Çünkü ticari türler, hastalık ve patojen barındırmakta, yaban arılarına, arazi kullanım değişikliğine ve yaşam alanının kaybına neden olmaktadır (Colla vd. 2006; Kondo vd. 2009; Yoon vd. 2009; Arbetman vd. 2012; Morales vd. 2013). Son olarak, Duennes vd. (2017) *B. ephippiatus* ve onunla aynı taksonda yer alan *B. wilmattae*'nin populasyonları arasındaki genetik ve morfolojik farklılaşma ve

türleşmenin coğrafik modellerini araştırmışlardır. COI dizisinden, 12 mikrosatelit marker genotip verilerinden ve kanat ölçümlerinin morfometrik verilerinden yararlanmışlardır. *B. ephippiatus*'taki genetik izolasyon ve morfolojik farklılık modellerine göre, yine bu türün birden çok bağımsız soyağacı oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, *B. ephippiatus*'un Meksika ve Orta Amerika'da ticari bir tozlaştırıcı olarak geliştirilmesi ve dağıtımı için önemli bulunmuştur.

Avrupa'ya özgü ve yüksek değerli ürün tozlaşması için yaygın olarak kullanılan *B. terrestris*, düzenli aralıklarla kendi doğal alanları dışındaki ülkelere ihraç edilmektedir. 1980'lerden beri de seralarda kullanılan ticari bombus arılarının doğal tür ve alttürler ile rekabeti ve melezlenmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Ono 1998; Goulson ve Hanley 2004; Hingston 2006; Inoue vd. 2008; Williams ve Osborne 2009; Kanbe vd. 2008; Yoon vd. 2009). Son yıllarda, Japonya'daki yerli tür ve alttürlerin sayısında belirgin bir azalma söz konusu olmuştur. Japon yerli türler *B. h. sapporoensis* ve *B. h. hypocrita* kraliçelerinin yaklaşık %30'unun arazide *B. terrestris* erkekleriyle çiftleştikleri gözlemlenmiştir. Kanbe vd. (2008) bu durumu araştırdıkları çalışmalarında, ticari *B. terrestris* ile yerli *B. h. sapporoensis* arasında laboratuvar şartlarında hibrit oluşumunu değerlendirmişlerdir. Mikrosatelit marker verileriyle destekledikleri çalışmada oluşan hibritlerin tamamının haploit kromozom taşıdıkları ve yaşama yeteneklerinin bulunmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaya benzer yine laboratuvar ortamında *B. terrestris* ve *B. ignitus* arasındaki hibridizasyon da Yoon vd. (2009) tarafından incelenmiştir. *B. terrestris* kraliçesinin *B. ignitus* erkek arısı ile çiftleşme ve yumurtlama yüzdeleri, *B. ignitus*'un tür içi çiftleşmesinden daha yüksek bulunmuştur. *B. ignitus* kraliçesi *B. terrestris* erkek arısı ile çiftleşirildiğinde *B. ignitus* işçisi ve *B. ignitus* erkek fenotipi üretilirken, *B. terrestris* kraliçesinin *B. ignitus* erkek arısı ile çiftleştirilmesi sonucunda da *B. terrestris* erkekleri üretilmiştir. Ebeveyn ve hibrit fenotipler için mitokondriyal COI genini kullanan genetik testler, türler arası hibridizasyonda mitokondriyal DNA'nın anneden kalıtıldığını göstermiştir. Kısacası, *B. ignitus* ile *B. terrestris* arasında türler arası hibridizasyon meydana gelmektedir; bu da hibridizasyonun, yerli bombus arılarının rekabet ve genetik kirliliğini olumsuz bir şekilde etkileyeceğini göstermektedir. Ticari olarak yetiştirilen bombus kolonilerinden doğal bombus populasyonlarına doğru onların doğal genotipini değiştirebilecek herhangi bir gen akışının olup olmadığı belirlenmesi amacıyla, Polonya'da 3 sera ve seranın çevresindeki doğal populasyonları temsil eden bombus arıları materyal olarak kullanılmıştır. Mikrosatelit DNA verileri kullanılarak, seralardan alınan örneklerle yakın/komşu populasyonlar arasında güçlü genetik bir etkileşim bulunmuştur. Ayrıca sera populasyonlarına daha uzak mesafedeki populasyonlar genetik etkileşimden daha az etkilenmişlerdir (Kraus vd. 2011). Japonya'da da benzer şekilde, Tokoro vd. (2010) yerel Japon bombus arılarında genetik bozulma riskini ve dışarıdan gen akışını belirlemek için Japonya, Çin ve Kore'den topladıkları örneklerin mtDNA COI geni üzerinde çalışma yapmışlar ve 15 haplotip belirlemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda, Japon adalarında bulunan arıların yerel olduğu ve Asya kıtasından bir gen akışının olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçların aksine, Kuzey Amerika'nın hem doğal hem de ticari türü olan *B. impatiens* türünde yapılan mikrosatelit analizler sonucunda ticari ve doğal *B. impatiens* ler arasında genetik etkileşimin meydana gelmediği ve ticari stoklara %75 oranında genotip yenilemesi yapıldığı bildirilmiştir. Yani, ticari bombus arılarından yabancı bombus arılara kadar yaygın bir yayılmanın bulunmadığı,

doğal alanlarda ticari bombus arılarının oluşmadığı ve yabancı arıların ekinleri tozlaştırdığı bir tarımsal ortamı belgelemişlerdir (Suni vd. 2017).

B. terrestris sadece etkin bir tozlaştırıcı değil, aynı zamanda yüksek derecede istilacı bir türdür. Ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonileri doğal popülasyonlara oranla daha fazla ana arı üretebilmektedir. Böylece seradan doğaya çıkan ana arılar kolaylıkla doğal kolonilerin alanlarını istila edebilmektedir (Goka vd. 2001; Goulson vd. 2008). Örneğin, 1992 yılında ilk kez Tazmania'da görülen bu tür, son yıllarda adanın çoğuna yayılmıştır. Schmid-Hempel vd. (2007) mikrosatelit marker verileriyle *B. terrestris* popülasyonlarının genetik yapılarını değerlendirmişler ve dar boğazdan sonra bile kendi kendini meydana getirme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ticari olarak kullanılan yabancı tozlaştırıcıların doğadaki sayılarının artışı doğal bombus türlerine ait popülasyonların azalmasına sebep olmaktadır. Benzer şekilde, ticari *B. ruderatus* ve *B. terrestris* önce Şili'ye ve daha sonra Arjantin'in Patagonya bölgesine götürülmüştür. Patagonya'da yapılan kapsamlı bir araştırmada, bölgeye girişinden beş yıl sonra, oldukça istilacı olan *B. terrestris*, en bol ve yaygın bombus türü haline gelmiştir. Bu duruma paralel olarak da yerel *B. dahlbomii* türünün coğrafi olarak geri çekildiği rapor edilmiştir. Ayrıca, Kuzey Patagonya'nın endemik bitkisi *Alstroemeria aurea*'nın tozlaştırıcıları üzerinde yapılan 20 yıllık bir anket, *B. ruderatus* ve *B. terrestris*'in, eskiden en çok kullanılan polinator olan *B. dahlbomii*'nin yerini aldığını göstermektedir. İstilacı bombus arılarının yerli gen kaynaklarına verdiği zararlar göz önünde bulundurularak, gen kaynaklarının korunmasına yönelik çalışmalar yapılmalıdır (Morales vd. 2013). Ancak, biyolojik kontrol kullanımına getirilen sıkı düzenlemelerin aksine, bombus arı hareketleri büyük oranda risk değerlendirmesi yapılmadan gerçekleştirilmektedir. İngiltere yerel *B. t. audax* popülasyonuna sahip olmasına rağmen, *B. t. dalmatinus*'un ticari kolonileri düzenli olarak ithal edilmektedir ve ssp. *audax*'ın alttür seviyesinde genetik çeşitliliğinin kaybına ilişkin tartışmalar gündeme gelmiştir. Bu nedenle, İngiltere ve İrlanda da bulunan *B. t. audax* alttürünü korumak için ithalatta kısıtlama yapılmaktadır. Çünkü *B. t. audax*'ın tozlaşmada kullanılmak üzere ithal edilen *B. t. dalmatinus*'la melezlenmiş olabileceği ve yerel bu alttürün kaybedilebileceği endişesi oluşmuştur (Goulson 2010). Bununla birlikte, Birleşik Krallık'a ithalatın ölçeği (yılda 10.000 koloni) göz önüne alındığında, ticari olarak seralarda kullanılan kolonilerden bazı *B. t. dalmatinus* kraliçelerinin doğaya kaçmış olabileceği de düşünülmektedir. *B. t. dalmatinus*'un Güney İngiltere'de doğada yuva kurmuş olabileceğine dair kanıtlar ortaya çıkmasına rağmen, bilimsel bir değerlendirme yapılmamıştır (Ings vd. 2006). Owen vd. (2016) İngiltere'de *B. t. dalmatinus* seralardan kaçarak doğada yuva kurma riskini bilimsel olarak ilk inceleyen araştırmacılar olmuştur. Sonuçlar, *B. t. dalmatinus*'un güneydeki ılıman kış şartlarında sağ kalabileceğini ve potansiyel olarak *B. t. audax*'ın yerine geçebileceğini göstermektedir. Ancak, kuzeyde daha soğuk kış şartlarında *B. t. audax* avantajlı duruma geçmektedir.

Yaşam alanlarının tahribatı, arazi kullanım değişiklikleri, şehirleşme ve tek tip tarımın yaygınlaşması gibi nedenler bombus arıları da dahil olmak üzere çok sayıda tozlaştırıcı böcek türünün yok olmasına zemin hazırlamaktadır. Bombus kolonilerinin az sayıdaki bireylerden oluşması ve yayılma alanlarındaki belirsizlik bombus türlerinin yok olma hızını arttıracak önemli faktörlerden biridir. Bu amaçla doğada mevcut bombus popülasyonlarının büyüklüklerinin, dağılımlarının ve genetik çeşitliliklerinin tespit edilmesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Herrmann vd. (2007) *B.*

pascuorum'da, Darvill vd. (2010) ise *B. jonellus* ve *B. muscorum* türlerinde yarı doğal habitatlar ve çiçekli araziler içindeki, dağılma/yayılma yetenekleri, koloni yoğunluğu, akrabalı yetiştirme ve populasyon yapısı özellikleri üzerinde durarak, çiçekli arazilerin bombus arısı sayısını arttırıcı yönde olumlu etkilediği sonucuna varmışlardır. Belirtilen araştırmalarda arazi gözlemleriyle belirlenen koloni yoğunluğunun bombus arılarının yayılma yetenekleri ile ilişkili olmadığı, yuva sayısındaki artıştan kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlara ilave olarak, F-istatistiklerinden yararlanılarak populasyonun yapısı ve yaşam gücü hakkında da temel bilgilerin elde edildiği ifade edilmiştir. Dreier vd. (2014)'de Güney İngiltere ve Birleşik Krallık'ta yaygın bulunan 4 bombus türü (*B. terrestris*, *B. lapidarius*, *B. pascuorum* ve *B. hortorum*) ve daha az görülen bir türün (*B. ruderatus*) arazi kullanım değişimine gösterdiği tepkiyi ölçmek amacıyla mikrosatelit markerlerden yararlanılmışlardır. Bombus türlerinin çiçekli tarımsal bölgeleri seçtikleri ve aralarındaki akrabalık derecesinin yok denecek kadar az olduğu belirtilmiştir. *B. ruderatus* populasyonunun allel sayısı, heterozigotluk değeri ve koloni yoğunluğu nispeten daha düşük tespit edilmiştir. *B. lapidarius*, *B. hortorum* ve *B. ruderatus*'ta yeni kurulan populasyonlar arasında mesafe ile belirgin izolasyon bulunmazken, *B. terrestris* ve *B. pascuorum*'da zayıf da olsa tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, yaygın bulunan ya da azalmakta olan arı populasyonları dar ölçekli tarımsal arazilerde düşük seviyelerde genetik yapı sergilemektedir. Bu araştırmaların yanı sıra, şehirleşmenin bombus arıları üzerindeki gelişim etkileri de çalışma konusu olmuştur. Schochet vd. (2016) *B. californicus*, *B. melanopygus* ve *B. vosnesenskii* türlerine ait bireyleri gözlemlemiştir. Kentsel alanlardaki bombus populasyonlarının azalmasını, yeterli besin kaynakları ve yuvalama alanlarının azlığı gibi sebeplere bağlamaktadırlar. Bu çalışmada incelenen kentsel araziler çoğunlukla yerli bitki örtüsünden yoksun, süs bitkilerini bulundurmaktadır. *B. vosnesenskii* türünün diğer bombus türlerine göre çok sayıda bitkiden nektar ve polen topladığı ve yerli olmayan pek çok bitki türünden faydalandığı gözlenmiştir. Bunun aksine, diğer iki tür herhangi bir kentsel arazi içinde hiç görülmemiştir. Eldeki sonuçlar, kentsel alanların bombus türlerinin tamamı değil, bazıları açısından yeterli çiçek kaynakları barındıracağını göstermektedir.

Genetik verilerin analizinde kullanılan yeni yöntemler, populasyon geçmişinin yeniden yapılandırılması ve dağılma modellerinin ölçümünü mümkün kılmaktadır. Goulson vd. (2011) İskoçya'nın batı adalarında, bir ada model sistemiyle, *B. hortorum* arısının populasyon yapısını etkileyen günümüzdeki ve geçmişteki faktörleri mikrosatelit markerler kullanarak incelemiştir. Darvill vd. (2010)'nin önceden yaptıkları bir çalışmada, *B. jonellus* ve *B. muscorum*'un mesafeye göre önemli derecede izole oldukları, ancak uygulanan model uyumunun zayıf olduğu belirtilmiştir. *B. hortorum* çok uzun dilli, diğer arıların beslenemediği derin tüplü çiçeklerden beslenen sıradışı bir türdür. Son 60 yıldır Batı Avrupa'da en uzun ve orta dili bombus türlerinin sayısı belirgin bir şekilde azalırken, besin azalışına rağmen bu türün kalıcılığının nedeni açıklanamamıştır. Çalışmada kullanılan mikrosatelit verilerine göre, Batı İskoçya'daki *B. hortorum* populasyonları yakın adaların gruplarını işgal eden farklı genetik kümeler olarak görülmektedir. Populasyon yapısı da daha önce bu ada grubunda incelenen diğer bombus türlerinden daha yüksektir. Populasyonlar mesafeye göre önemli ölçüde izole olmuşlardır. Uygulanan modele göre, sığ denizlerle ayrılmış populasyonların, daha derin denizlerle ayrılmış olanlardan genetik olarak daha benzer olduğu belirtilmiştir. Kuzey Amerika'da da, bir zamanlar çok yaygın görülen bombus türlerinin bazılarının

sayısı ciddi aralıklarla azalırken, bazı türler sabit kalmıştır. Azalan ve sabit türlerin farklı genetik çeşitlilik veya populasyon parçalanması durumunu incelemek için, azalan iki (*B. occidentalis* ve *B. pensylvanicus*) ve sabit kalan dört (*B. bifarius*; *B. vosnesenskii*; *B. impatiens* ve *B. bimaculatus*) bombus türünün geniş aralıklı genetik varyasyon modeli mikrosatelit marker verileri kullanılarak değerlendirilmiştir. Lozier vd. (2011)'nin yaptıkları bu çalışma sonucunda, sabit ve azalan türler arasında gen akışında tutarlı farklılıklar bulunmamış ve tüm türler geniş aralıklı mesafelerde zayıf genetik farklılaşma göstermiştir. Ayrıca, *B. occidentalis* ve *B. bifarius*'un diğer türlerden daha güçlü genetik farklılık sergilediği belirtilmiştir.

Bombus arıları gibi önemli tozlaştırıcıların dünya çapında azalması ciddi bir tehdittir. Kuzey Avrupa ovalarında yaşayan *B. veteranus*'da azalan bombus arısı türleri için iyi bir örnektir. Bundan bir yüzyıl önce Belçika'da en bol bulunan bombus arılarından biri iken, 1950'lerden bu güne kadar azalmaya başlamış ve bu tür neredeyse kaybolmuştur. Bu azalışın bir sonucu olarak, bu türe ait populasyonlar giderek daha küçülmüş ve yeni tehditler gündeme gelmiştir. İlk olarak, genetik çeşitlilikte azalma saptanmıştır. İkincisi ise, akrabalığın artması ve bunun sonucu olarak, kısır diploid veya triploid erkeklerin ortaya çıkması olmuştur (Duchateau vd. 1994; Whitehorn vd. 2009). Yüksek akrabalık ve düşük genetik çeşitlilik üreme, hayatta kalma ve hastalıklara direnci azaltarak yok oluşu hızlandırmaktadır. Bu nedenle, populasyon genetiği bombus arısı azalışını genetik parametrelerle ilişkilendirmek için kullanılmıştır. Bunun için tarihsel verilere de ihtiyaç duyulmaktadır. Maebe vd. (2013) azalan *B. veteranus* arısının sabitlenmiş müze örneklerini genotiplendirmek için sekiz mikrosatellit lokus kullanmışlardır. Azalma meydana gelmeden önceki 30 yıllık numuneler toplanmış ve bu periyot boyunca allel zenginliği, heterozigotluk ve akrabalı yetiştirme katsayılarının nasıl tepki verdiği analiz edilmiştir. İlgili zaman periyotlarında toplanan örneklerde düşük genetik çeşitlilik ve akrabalık tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara dayanarak, düşük genetik çeşitlilik ve akrabalığın *B. veteranus*'un Belçika'da yok oluşuyla doğrudan ilişkili olmadığı bildirilmiştir. Ancak, akrabalı yetiştirmeyle, diploid erkeklerin ortaya çıkmasının, bu azalışta dolaylı bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. Müze örneklerinin moleküler çalışmalarda kullanılması; zaman içerisinde populasyonlarda meydana gelen genetik değişiklerin anlaşılmasını kolaylaştırmakta ve ayrıca azalan ve istikrarlı türlerin tarihsel ve güncel populasyonlarında genetik çeşitliliğin benzer olup olmadığı konusunda daha fazla bilgi elde edilmesini sağlamaktadır. Maebe vd. (2015) azalan yedi bombus türünün ve daha istikrarlı dört türün müze örneklerini mikrosatelit lokuslarla genotiplendirerek, genetik çeşitlilik düzeylerini araştırmışlardır. İstikrarlı *B. pascuorum* türünde genetik çeşitlilik ve populasyon yapısı çalışılan üç dönem boyunca sabit kalmıştır. Bununla birlikte, azalmakta olan bombus arısı türlerinin populasyonları, büyük düşüşleri öncesinde istikrarlı türlerden çok daha düşük bir genetik çeşitlilik göstermişlerdir. Bu durum, azalan bombus arısı türlerinin yeni populasyonlarında da gözlemlenen genetik çeşitlilik azalmasının yalnızca populasyonların azalmasından kaynaklanmadığına işaret etmektedir. Azalan türlerdeki tarihsel düşük genetik çeşitlilik, bu türlerin daha nadir olduklarını ve yaban arısı azalmasına neden olan temel sebeplere karşı daha savunmasız kaldıklarını göstermiştir.

Dünya'daki karasal peyzajlarının çoğu, insanlar tarafından biyoçeşitlilik açısından önemli etkilere sebep olabilecek şekilde değiştirilmektedir. Bombus arıları, doğal ve ekili peyzaj alanlarında en etkin tozlayıcılardan biridir, ancak genellikle

insanlar tarafından değiştirilmiş habitatlarda yok olmaktadır. Özellikle de, yuvalama alanlarında ve gıda kaynaklarında kayıplara neden olabilecek habitat değişikliklerinden etkilenmektedirler (Goulson vd. 2008; Williams ve Osborne 2009). Buna rağmen, bombus arısı gen akışını destekleyen veya sınırlayan doğal ve insan tarafından değiştirilmiş habitatların rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. İnsanlar tarafından değiştirilmiş peyzaj alanlarındaki tozlaştırıcı ekolojisi üzerine yapılan araştırmalar, arazi kullanım yoğunluğu veya bozulmalar arttıkça bombus arılarının sayısının azalma eğiliminde olduğunu ortaya koymaktadır (Larsen vd. 2005). Jha ve Kremen (2013) çalışmasında, insanların arazi kullanımının bölgesel (200 km) genetik farklılık modellerini etkileyip etkilemediğini belirlemek ve arıların ince ölçekli yerel yayılım göstermesi (1-20 km) ile ilişkili olup olmadığını araştırmak için sarı yüzlü bombus arısı *B. vosnesenskii*'nin genetik yapısını incelemişlerdir. Araştırma doğal, tarımsal ve kentsel/kenar mahalle yaşam alanlarının peyzaj alanlarında gerçekleştirilmiş ve ağaçlık alanlar, ormanlık ve arka bahçelerde, kentleşmiş veya yoğun tarımsal üretim yapılan alanlara oranla daha yüksek yuvalama yoğunlukları bulunduğu belirtilmiştir. Sonuçlar, *B. vosnesenskii*'nin önemli yerel dağılım sergilediğini ve bölgesel gen akışının kentleşmeyle beraber önemli ölçüde sınırlı olduğunu göstermektedir. Bu araştırma, insan kaynaklı peyzaj özelliklerin sadece bombus arılarının populasyon dinamiklerini değil, populasyon düzeyinde genetik çeşitlilik ve dağılımı etkileyebileceğini de göstermektedir. Jha (2015)'nin bir çalışmasında da, ABD'nin güneybatısındaki sahil boyunca *B. vosnesenskii*'nin genetik yapısı 21 populasyon ve 12 mikrosatelit markerler kullanılarak incelenmiştir. Doğal okyanusal engellerin ve çağdaş insan koşullarındaki yaşam alanlarının arı gen akışını sınırladığına dair güçlü kanıtlar bulunmuştur. Ada populasyonlarında heterozigotluk ve allelik zenginlik daha düşük iken, özel allel zenginliği anakaradaki populasyona kıyasla daha yüksektir. Yapılan analizler, okyanusların ve dağların değil, insan arazi kullanımının, *B. vosnesenskii* gen akışını engellediğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, yerli tozlayıcıların dağılımı boyunca, kalıcılıklarını arttırmak ve tozlaştırıcılıklarını devam ettirebilmeleri için uygun yaşam alanlarının korunmasının önemini güçlendirmektedir. Son olarak, Schenau ve Jha (2017)'da Kuzey Amerika'nın batısındaki istikrarlı bir bombus arısı türü olan *B. vosnesenskii*'nin erkeklerini kullanarak bölgesel ve yerel mekansal genetik yapıyı incelemişlerdir. Spesifik olarak, üç farklı mekansal ölçekte (saha, peyzaj ve bölgesel ölçekler) ve iki ayrı biyo-bölgenin (ada ve anakara) populasyon genetiğini araştırmışlardır. Özellikle, saha ölçeğinde, akrabalığın derecesi ve modellerini anlamak için diploid erkek frekansları araştırılmıştır. Gen akışını artıran ve aracılık eden erkek ve kraliçe arılar olduğu için erkek bireylerin durumunun araştırılması sosyal arıların genetik yapısını saptamada önemlidir. Anakara populasyonlarında ada populasyonlarına kıyasla daha yüksek düzeylerde diploid erkek arı saptanmıştır ve yetersiz yuvalama ortamına sahip ülkelerde diploidlik artmıştır. Sonuçta, bölge genelinde düşük ama önemli düzeyde genetik farklılaşma bulunmuştur.

Bombus arıları, büyük, parlak renkli oldukça aktif ve dikkat çekici olmaları nedeniyle, dünya genelinde en iyi örneklenen böcek gruplarından biridir (Williams 1998). Bu arılar, morfolojik olarak oldukça benzer olmasına rağmen, renk düzeninde etkileyici bir değişkenlik göstermektedir (Michener 2007; Williams 2007). Bu nedenle, iki yüzyıldan fazladır yapılan çalışmaların sonucunda, birçoğunun statüsünün belirsiz kaldığı bol miktarda nominal takson tespit edilmiştir (Williams 1998). Taksonun durumu, bu değerli tozlayıcıların bir kısmının veya çoğunun azalması nedeniyle önemli

bir sorun haline gelmiştir ve bu durum da tüm bombus türlerinin incelenmesinin gerekliliğini ortaya çıkarmıştır (Williams ve Osborne 2009). İncelemelerde özellikle sayısı azalan ya da çok sayıda nominal taksonun varlığı nedeniyle karışıklık oluşturan gruplara öncelik verilmiştir. Bunlardan biri tüm Avrupa ve Kuzey Amerika'da bazı türlerinin sayısı azalan *Subterraneobombus* alt genusudur. Ayrıca, alt genus türlerinin çoğunluğunun bulunduğu Asya'da benzer şekilde renklendirilmiş nominal taksonlar dizisi nedeniyle sürekli karışıklık vardır. Bu nedenle, Williams (2011)'de morfoloji ve mtDNA COI verilerinden yararlanarak *Subterraneobombus* alt genusu türlerini revize etmişlerdir. Holarktik ve kuzeydoğu bölgelerinden toplanan 1550 örnekten 11 tür tespit edilmiştir. Takson kavramları büyük ölçüde dört tür için değiştirilmiş, yedi lektotip ve dört yeni sinonim tanımlanmıştır. Ancak, COI verileri geleneksel morfolojik türlerin teşhisine yardımcı olurken, yeni ve doğal olan şüpheli türlerin tanımlanmasını sağlayamamıştır. Williams vd. (2013)'de bir sonraki çalışmada, Avrupa'da nesli tükenme tehlikesinde olan *cullumanus* grubundaki türlerin durumunu belirlemek için, son 20 yıllık müze örneklerinin COI dizilerini de kullanmışlardır. Sonuçlar, bir Nearctic *rufocinctus*-grubu (*B. rufocinctus*) ve *B. semenoviellus*, *B. cullumanus* L. ve *B. unicus* türlerini içeren bir Palaearctic *cullumanus* grubunu desteklemektedir. *B. cullumanus*'un Avrupa'da bölgesel bir koruma önceliği olmasına rağmen, Asya'da yaygın bulunduğu için, genetik olarak daha belirgin olan ve Rusya'da çok daha küçük bir nüfusa sahip görünen *B. unicus*'a küresel olarak koruma önceliğinin verilmesi önerilmiştir. Günümüzde de birçok tür ciddi azalmalar göstermekte, bu nedenle koruma uzmanları hangilerinin dahil olduğunu kesin olarak bilmek istemektedir.

Bombus arılarında türler içindeki renk modellerinin değişkenliği nedeniyle tür tanımlamaları oldukça zordur. Renk deseni evrimi, mitokondriyal genlerde bile yüksek oranlarda bulunmuştur (Hines ve Williams 2012). Ayrıca, renk desenleri coğrafya ve yaşam alanına bağlı olarak, bombus arısı türleri arasında benzerlik göstermektedir (Williams 2007; Duennes vd. 2012; Lozier vd. 2013). Bu nedenle, tür örneklerine erişim olmaksızın, türlerin güvenilir şekilde tanımlanması zordur. Sonuç olarak, yeni renk desenlerine sahip bireyler kolaylıkla yeni türler için yanlış yönlendirilmektedir. Günümüzde, mtDNA ile morfolojik veri setlerinin birlikte kullanımı sayesinde hem yeni tür tanımlamaları yapılmış hem de morfolojik olarak karıştırılan ticari ve doğal bombus türlerindeki belirsizlikler de çözülmüştür. Örneğin, *B. hypocrita* türü hem Çin hem de Japonya'da ticari tozlaştırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, mtDNA COI barkodlarının Bayesian yöntemlerle filogenetik analizi sonucunda, Kuzey Çin'deki bombus arılarının aslında Rus kökenli *B. patagiatus* türü olduğu, Japonya'daki arıların ise gerçek *B. hypocrita* türü olduğu tespit edilmiştir. Böylece, tozlaştırıcı türlerin genetik kaynaklarını korumak için, *B. patagiatus*'un Çin'den Japonya'ya ve *B. hypocrita*'nın Japonya'dan Çin'e geçişi engellenmiştir (Williams vd. 2012c). Asyalı bombus arılarının tanınal morfolojik karakterleri yeterince açıklanmadığı için, bölgedeki türler birbirleriyle karıştırılmaktadır. *B. koreanus*, *B. consobrinus* Dahlbom'a benzer morfolojiye sahip, Megabombus alttürüne ait orta boylu ve uzun dilli bir bombus arısıdır. Huang vd. (2015) *B. koreanus*'un dağılımı, renk-desen varyasyonu ve besin bitkilerini tanımlamak için örnekler toplamışlar ve COI dizileriyle çalışmışlardır. *B. koreanus*'un daha yakın zamanda ayrılmış türlerden biri ve *B. consobrinus*'a ait kardeş türlerinden biri olduğunu bulmuşlardır. DNA verileri, önceden bilinmeyen renk modellerine sahip örneklerin de *B. koreanus*'a ait olduğunu göstermiştir. İşçiler için dokuz ve kraliçe için üç tane farklı renk örneği tanımlamışlardır. Sonuçlar, COI

barkodlama yönteminin yakından ilişkili taksonu incelemek ve değişken renk modelleri olan türlerin tanınması için etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Günümüzde yapılan araştırmaların çoğunda, bombus türlerinin morfolojileri benzer olarak değerlendirilmiştir. Bu durumun tersine, Brezilyalı bombus türleri yüksek özgül değişkenlik göstermekte ve simpatrik türlerde renk düzeninde paralellik görülmektedir. Francoso vd. (2016)'de moleküler ve morfolojik verileri birlikte kullanarak, Brezilya'nın kuzeydoğusunda yeni bir tür tanımlamışlardır. *B. applanatus* (*Thoracobombus*) türünün vücudu tamamen siyah kıllarla kaplıdır ve daha yakın veya simpatrik türlerden ayırt edilebilir bir morfoloji göstermektedir. Aynı zamanda, yeni türler de dahil olmak üzere Brezilya bombus türlerinin tanımlanması için bir anahtar geliştirmişlerdir. Benzer şekilde, Kanada veya ABD'de yeni bir bombus türü tanımlandığından bu yana yaklaşık 90 yıl geçmiştir. *Alpinobombus* subgenusu içinde bulunan bombus arıları esasen kutuplarda da yaşamaktadırlar ve Arktik Bölge ile ilişkilidirler. Tecrübeli bombus arısı uzmanlarından bazıları bu grubun çeşitli revizyonlarını yapmışlardır, ancak bu grup, bombus türleri için olağandışıdır; çünkü her revizyon tür sayısı üzerinde farklı bir sonuca ulaşmıştır (Richards 1931; Skorikov 1937; Loken 1973; Milliron 1973). Araştırmacılar tarafından yapılan açıklamaya göre, bombus arısı türlerini tanımlamak için kullanılan farklı kıl rengi kalıplarının, bu grupta atalar arası bir polimorfizm olarak ortaya çıktığı, daha sonra dişiler tarafından miras alındığı yönündedir (Williams vd. 2015). Ayrıca türler morfolojik olarak şüpheli olup, tanımlamayı daha da zorlaştırmaktadır. *Alpinobombus* subgenusu içindeki türlerin varyasyonunu araştırmak için, Williams vd. (2015) moleküler verileri ilk kullananlar olmuşlardır. Sonuçlar, *B. neoboreus* ile birlikte olan ve şimdiye kadar adı henüz bilinmeyen türler için güçlü bir destek bulma konusunda önceki revizyonlardan farklı bulunmuştur. Williams vd. (2016)'de sitokrom c oksidaz alt birim I barkodlarının analizi, morfolojik ve renk özelliklerine dayanarak yeni bir tür olan *B. kluanensis*'i keşfetmişlerdir. Şimdilik bu türe ait olduğu düşünülen 247 dişi örneği bilinmektedir. Böylece, *Alpinobombus*'un tüm dünyadaki alt türlerinin bir kontrol listesi sağlanmıştır.

Bombus s. str. altgenusu, birçok ılıman tozlaştırıcı topluluğunu kapsamakta ve ticari bombus arısı tozlaştırıcı türlerinin çoğunu içermektedir. Aynı zamanda da, çok sayıda şüpheli tür barındırmaktadır ve tür tanımlama ve sınırlandırması morfolojik yöntemlerle zor olmaktadır. Kısa süre önce DNA'ya dayalı tanımlama yöntemlerinin ortaya çıkmasıyla, tür durumları yeniden gözden geçirilmeye başlanmıştır. Williams vd. (2012a) ilk kez morfoloji ve COI marker dizilerini birlikte değerlendirerek, *Bombus s. str.* subgenusunun tamamını içeren ilk incelemeyi yapmışlardır. 33 ülkedeki 279 lokaliteden yapılan örnekleme sonucu toplam 17 tür ve 7 lektotip tespit etmişlerdir. Avrupa'da, bu altgenusun beş farklı türü, *B. terrestris*, *B. lucorum*, *B. cryptarum*, *B. magnus* ve *B. sporadicus* olduğu düşünülmektedir. *B. terrestris* ve *B. sporadicus*'un taksonomik durumu yaygın olarak kabul edilmektedir (Williams 1998). Diğer üç tür üzerinde zorluklar ortaya çıkmaktadır: *B. cryptarum*, *B. lucorum s. str.* ve *B. magnus*, genellikle *lucorum* kompleksini oluşturmak üzere gruplandırılmıştır. Bossert vd. (2016)'de Avusturya'daki *B. lucorum* kompleksinin kesin tür kompozisyonu ve dağılımını, COI verileri ile güvenilir tür tanımlamaya dayalı olarak araştırmışlardır. Yaşam alanı kullanımı incelenerek yükseklik ve iklim farklılaşmasının ilk kapsamlı incelemesi yapılmıştır. Sonuçlar, *B. lucorum* kompleksindeki üç ayrı genotipik grubu desteklemektedir. *B. lucorum* ve *B. cryptarum*, *B. lucorum*'un en bol ve en yaygın tür

olduğu ülke genelinde çeşitli alanlarda bir arada bulunmaktadır. Çalışma Avusturya'da *B. magnus*'un varlığı hakkında hiçbir kanıt sunmamaktadır. Daha az yaygın olan *B. cryptarum* türü, ağırlıklı olarak yüksek dağlarda görülmüştür ve 2100 metre yüksekliklerin üzerindeki baskın türlerdendir. Dahası, *B. cryptarum* ormanda neredeyse yoktur ve Avusturya'da *B. lucorum*'a kıyasla daha soğuk iklime sahip habitatlarda nispeten daha fazladır. Ayrıca, sonuçlar *B. lucorum* ve *B. cryptarum*'da çok düşük intraspesifik bir genetik varyasyona işaret etmektedir. COI kısmi sekansları tür tanımlamada taksonomide yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, tür tanımlamasının geçerliliği nadiren test edilmiştir. Örneğin, DNA dizilerindeki atalara ait polimorfizmler, filocoğrafik farklılık, mitokondriyal introgresyon ve hibridizasyon veya *Wolbachia* enfeksiyonu gibi faktörler aracılığıyla mitokondriyal kalıtım bozulmaktadır. Dahası, DNA barkodlama veya başka herhangi bir mitokondriyal DNA işaretleyici sisteminin kullanımı, taksonlar arasındaki hibritlerin saptanmasına izin vermemektedir. Avrupa bombus arısı *B. lucorum s. lato*, üç şüpheli türü, yani *B. cryptarum*, *B. lucorum s. str.* ve *B. magnus*'u temsil ettiği varsayılan üç farklı mitokondriyal DNA soyunu içermektedir. Üç varsayımsal türün nükleer gen havuzlarının ayırt edilip edilmediğini test etmek için *lucorum* kompleksinin 304 simpatrik üyesi yedi nükleer mikrosatelit lokusla İrlanda adasında yayılmış 11 lokaliteden genotiplendirilmiştir. Multi lokus genotipler, üç mtDNA soyuna büyük oranda karşılık gelen üç ayrı gruba kümelenmiştir: *B. cryptarum*, *B. lucorum s. str.* ve *B. magnus*. Nükleer genotipik verilere mitokondriyal haplotipin iyi oturması, bu üç bombus arı taksonunun üremeye izole türler olduğu ve sözde DNA barkodlarını kullanarak tür kimliğinin doğruluğu sağlanmıştır (McKendrick vd. 2017).

Bombus arılarının korunmasında en önemli adımlardan biri, endişe verici türlerin dağılımını ve özel yaşam öyküsü gereksinimlerini (yaşam alanı ve bitki tercihleri, yuvalama şartları, iklim nişi, vb.) bilmektir. Bununla birlikte, türlerin durumunu değerlendirebilme ve koruma-kurtarma stratejileri geliştirebilme, özellikle de şüpheli türler için hangi türün veya genusun dahil olduğunu bilmeye bağlıdır. (Murray vd. 2008; Williams 2011; Williams vd. 2012b, 2012c, 2013; Carolan vd. 2012; Lecocq vd. 2015a; Scriven vd. 2015). Bombus arıları, Kuzey Amerika'da taksonomik olarak iyi çalışılmış olmasına rağmen çoğu zaman birçok tür tarafından paylaşılan benzer renk düzenlerine sahip şüpheli gruplar oluşturmuşlardır (Owen ve Plowright 1980, 1988; Williams 2007; Murray vd. 2008; Lecocq vd. 2011; Carolan vd. 2012; Williams vd. 2014; Huang vd. 2015). Bu nedenle, dünyada tanınan 250'den fazla bombus arı türünün bulunması ve 2800'den fazla isim önerilmesi kaçınılmaz olmuştur (Williams 1998). Geçtiğimiz on yıl içinde, çeşitli Kuzey Amerika arılarında bolluk ve dağılımda hızlı düşüşler yaşanmıştır. Özellikle de, *B. affinis* (Cresson), *B. cryptarum* (Fabricius), *B. franklini* (Frison), *B. occidentalis* (Greene) ve *B. terricola* (Kirby) gibi tanınmış türleri temsil eden *Bombus* Latreille alt genusunda en belirgin olmuştur (Bertsch vd. 2010; Williams vd. 2012b, 2014). Bu türlerden *B. franklini*, coğrafi olarak en sınırlı, en nadir türlerdendir ve şimdi neslinin tükendiği düşünülmektedir (Thorp 2005). *B. affinis*'de son on yılda yalnızca bir avuç örnek gözlemlenmiştir ve kuzeydoğuda Kuzey Amerika'daki hızlı düşüşünden dolayı çok fazla dikkat çekmiştir (Colla ve Packer 2008; Grixti vd. 2009; Cameron vd. 2011). Bu tür bir zamanlar Kanada'nın güneyinde en sık rastlanan arılardan biri olduğu halde, Kanada'da Wildlife Statüs Komitesi ve Federal Risk Türleri Yasası (SARA) tarafından tanınan "Tehlike Altındaki" tür statüsüne sahiptir (COSEWIC 2010). Kuzey Amerika'daki subgenusun en yaygın üyesi olan *B.*

terricola (Williams vd. 2014) ve kardeş türü *B. occidentalis* (Williams vd. 2012a; Owen ve Whidden 2013)'de azalış göstermektedir. Hem *B. occidentalis* hem de *B. terricola*, Kanada'da koruma statüsü değerlendirmesi için düşünülmekte ve her ikisi de Birleşik Devletlerde endişe yaratmaktadır (Evans vd. 2008; Cameron vd. 2011). Sheffield vd. (2016) Kuzey Amerika'da koruma endişesi taşıyan *B. occidentalis* ve *B. terricola*'nın taksonomisi, renk deseni ve coğrafi dağılımını incelemişlerdir. COI dizilerinden elde edilen haplotiplere göre *B. occidentalis* ile *B. terricola* iki monofiletik grubu içermektedirler. Güneyde *B. o. occidentalis*, kuzeyde ise *B. o. mckayi* olarak adlandırılmışlardır. *Bombus o. mckayi*, bilindiği kadarıyla yalnızca bir bantlı renk deseniyle tanınırken, *B. o. occidentalis* hem bantlı hem de bantsız renk düzenlerinde görülmektedir. *B. o. occidentalis* popülasyonu, *B. o. mckayi*'ye göre daha çok düşüş göstermiştir. Bu nedenle, iki alttürün koruma ve yönetim amacıyla ayırt edilmesi ve onların ayırımına dair kanıtları sunmak önemli hale gelmiştir.

Bir türün tanımlanması, biyolojideki en karmaşık ve tartışmalı kavramlardan biridir. Tür durumunu belirlemek için birçok yol araştırılmıştır. Hymenoptera sistematikçileri (Engel 2011) morfoloji (Michener 1951; Pekkarinen 1982; Williams 1998), geometrik morfometri (Aytekin vd. 2007), allozim tabanlı modeller (Pamilo vd. 1997), DNA (Koulianos ve Schmid-Hempel 2000; Hines vd. 2006; Bernasconi vd. 2010) veya kimyasal ekoloji (Svensson 1979; Bertsch vd. 2005; Rasmont vd. 2005; Martin vd. 2008) kullanarak taksonomik durumu tanımlamaya çalışmaktadırlar. Morfolojik yaklaşım en erken, en kolay ve türleri tanımlamak için kullanılan en yaygın yöntem olmuştur (Loken 1984; Bolton 1995; Michez ve Eardley 2007). Ancak, biyolojik türe tam olarak yansıyan objektif morfolojik karakterlerin belirlenmesi zordur (Bickford vd. 2007). Son yıllarda, türlerin durumunu değerlendirmek için genetik karakterler daha fazla dikkate alınmaktadır (Leache ve Fujita 2011). Yeni türleri tanımlamak ya da bütünleyici bir taksonomik çerçeveye dahil etmek için DNA barkodlama çalışmalarının geliştirilmesi bu eğilimi desteklemektedir (Hebert vd. 2003; Yassin vd. 2007; Gibbs 2009). Aynı zamanda genetik yaklaşım, tür sınırlarının oluşturulmasında tartışmalı bir konu olmuştur. Analiz edilen DNA dizileri keyfi olarak seçilmektedir, oysaki çiftleşme izolasyonu, kullanılan genetik işaretlerin farklılaştırılmasından daha hızlı gerçekleşebilmektedir (Avise 2000; Trewick 2008; Symonds vd. 2009; Bauer vd. 2011). Kimyasal özellikler, başta türlere özgü sekresyon (Lockey 1991), türlerin ayrılmasında yararlı olabilir. *Bombus* arıları arasında, eşeysel işaretleme feromonları (Sefalik salınım bezleri SMPs), türlere özgü ön çiftleşme davranışında önemli rol oynamaktadır ve son derece türe özgüdür (Bergman 1997; Valterova ve Urbanova 1997). Bu nedenle, pek çok araştırmacı bu kimyasal belirteçleri tür durumunun çözümünde kullanmışlardır (Bergström vd. 1981; Rasmont vd. 2005; Coppee vd. 2008; Lecocq 2009; Lecocq vd. 2009).

Günümüzde türlerin tanımı ve sınırlandırılması çalışmalarındaki mevcut eğilim, türlerin morfolojik, kimyasal, moleküler ve ekolojik ayırt edilmesine yönelik çoklu kanıt yaklaşımını takip etmek olmuştur (Burns vd. 2008; Fisher ve Smith 2008; Smith vd. 2008). Bütünleştirici taksonomi adı verilen yöntemle, farklı karakterlerden gelen tamamlayıcı veri kümelerini dikkate alarak, daha güçlü desteklenen taksonomik hipotezlerin tanımlanması amaçlanmaktadır. İlk defa Lecocq vd. (2011) bütünleştirici bir yaklaşım izleyerek, iki nadir ve şüpheli *bombus* arısının taksonomik durumunu belirlemek için moleküler, kimyasal ve morfolojik kriterleri birlikte kullanmışlardır. İki

simpatrik takson; *B. barbutellus* ve *B. maxillosus* birkaç morfolojik karakter (çoğunlukla kanat koyuluğu ve kıl uzunluğu) tarafından ayırt edilmektedir. Bu morfolojik karakterler, örneklerin olası statüsünü oluşturmak için kullanılmıştır. Bir nükleer gen, uzatma faktörü 1 α (EF-1 α), bir mitokondriyal gen, COI ve eşeysel işaretleme feromonlarının kimyasal veri setinden oluşan kombine bir moleküler veri seti geliştirilmiştir. Moleküler veriler ile maksimum olasılık ve Bayesian filogenetik analizleri, kimyasal verilerle ise kümeleme yapılmıştır. Ortaya çıkan filogenetik ağaçlar, iki takson arasında tutarlı bir ayrım göstermemiştir. Ancak, geleneksel morfolojik kriterleri kullanarak yapılan tespitler, örnekleri iki taksona ayırmıştır. Morfolojik kriterlerin türler arası varyasyonlarla ilişkili olduğu sonucuna varılmış ve *B. maxillosus*, *B. barbutellus*'un bir sinonimi olarak kabul edilmiştir. Adalarda yaşayan populasyonların çoğunlukla anakaradaki akrabalarına kıyasla daha düşük düzeylerde genetik varyasyon ve eko-morfolojik ayrışma gösterdiği savunulmaktadır. Bugüne kadar morfolojik ve genetik faktörler bakımından adasal farklılaşma incelenmiş olsa da kimyasal verileri de kapsayan bütünlleştirici yaklaşım çok az dikkat çekmiştir. Lecocq vd. (2013)'de iki sintopik bombus arısı türünün çiftleri üzerinde adalı olma etkisini araştırmışlardır: ilki filogenetik olarak ilgili olan türleri (*B. terrestris* ve *B. lucorum*), diğeri ekolojik olarak etkileşen türleri (*B. terrestris* ve onun özel yuva paraziti *B. vestalis*) içermektedir. Her bir bombus arısı türü için, ada (Korsikalı) ile anakara (Avrupa) populasyonlarının varyasyon ve farklılaşması modelleri moleküler ve eşeysel işaretleme feromonlarından oluşan veri setleriyle analiz edilmiştir. Sonuçlar, Korsikalı bombus arılarının genetik olarak farklılaştığını ve teorik beklentilerin aksine, bombus arılarının ada populasyonlarının anakaradaki populasyonlara benzer genetik varyasyon seviyeleri sergilediğini göstermektedir. Aynı zamanda, birçok ada çok sayıda endemik türü barındıran önemli biyoçeşitlilik merkezleridir. Ancak, ada faunası yüksek oranda yok olma tehlikesi altına girmekte ve korunmaları için sayısız koruma planları geliştirilmektedir. Bu koruma planları genellikle endemik taksonların oluşumu ve miktarı temelinde değerlendirilmektedir. Pratik açıdan bakıldığında, bu durum devlet kurumlarının ve sivil toplum kuruluşlarının koruma önlemlerini başlatmasını zorlaştırmaktadır. Lecocq vd. (2015a)'nin çalışmasında, Korsikalı bombus arılarını moleküler ve eko-kimyasal kriterler temelinde eğitici ve uygulamacı bütünlleştirici bir taksonomik yaklaşımla incelemişlerdir. Sonuçlar adadaki iki Korsikalı taksonun endemik tür olarak kabul edilebileceğini, diğeri beşinin ise alttür olarak düşünülebileceğini göstermektedir. Böylece, Uluslararası Doğa Koruma Birliği Kırmızı Listeleri, Korsika bombus arılarını yeni taksonomik hipotezine göre yeniden gözden geçirmekte ve türlerin değerlendirilmesinde değişiklikler önermektedir.

Bombus arıları gibi yakından ilişkili türler arasındaki taksonomik sınırların belirlenmesi, çoğunlukla tanısal morfolojik karakterlerin yeterli olmaması nedeniyle engellenmektedir (Bickford vd. 2007). Örneğin bombus arılarında farklı türler morfolojik olarak çok benzer olabilirken, aynı türün örnekleri olağanüstü şekilde farklı olabilmektedir (Michener 1990; Williams 1998; Hines ve Williams 2012). Kanat şekli, DNA veya eko-kimyasal özellikler gibi ayırık morfolojik karakterler için alternatif özellikler kullanarak bombus türü taksonomisini açıklığa kavuşturma yönünde birçok girişim yapılmıştır. Yine de her yaklaşımın kendi sınırları vardır. Lecocq vd. (2015b) taksonomik statüsü tartışmalı olan *B. lapidarius* grubu ile çalışmışlardır. Bu grubu değerlendirmek için kanat şeklinin geometrik morfometrisi, genetik farklılaşma, dizi tabanlı türlerin sınırlandırılması yöntemleri ve kafatası labial bez salgılarının

farklılaşmasından elde edilen veriler kullanılmıştır. Sonuçlar, kanat şekline dayalı analizlerin bir küme tanımlamadığını göstermektedir. Buna karşılık, moleküler yöntemler ve kafatası labial bez sekresyonlarına dayalı analizler birbiriyle uyumlu bulunmuştur ve *B. terrestris*'in, birkaç farklı alttürü bir tür kompleksi olduğunu önermişlerdir. Bu bütünleyici taksonomik yaklaşım, bombus arısı sistematigi içerisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Daha önceki çalışmalar birçok beklenen taksonomik statüyü doğrulasa da, bu bütünleştirici yaklaşım da birkaç taksonun beklenmedik şekilde birleşmesi veya bölünmesine yol açmıştır (Bertsch vd. 2005; Lecocq vd. 2011, 2015a, 2015b). En son Lecocq vd. (2015c) Avrupa'da önemli bir polinatör olarak bilinen en bol, yaygın ve politipik bombus türlerinden *B. pascuorum*'un (Rasmont vd. 2015) taksonomisini araştırmışlardır. Bu tür, önemli bir kıl renk varyasyonu (Rasmont 1983), morfolojik farklılaşma (Pekkarinen 1979) ve coğrafi aralığı içinde hafif bir genetik farklılaşma (Pirounakis vd 1998; Widmer ve Schmid Hempel 1999) sergilemektedir. Renk modellerine dayanarak, son taksonomik düzeltmelerle üç allopatrik ve 21 parapatrik olmak üzere 24 alttür tanımlanmıştır (Rasmont ve Adamski 1995). Genetik göstergelere ve erkek kimyasal üreme özelliklerine dayalı bütünsel bir yaklaşım kullanılmış ve sonuçlar önceki sınıflamalarla karşılaştırılmıştır. Bulgular, *B. pascuorum* taksonlarının hepsinin aynı olduğunu ve aynı erkek kimyasal üreme özelliklerini paylaştıklarını göstermektedir. Bir mitokondriyal ve iki nükleer markerde gözlemlenen genetik yapı mevcut alt spesifik sınıflamayı zayıf bir şekilde yansıtmaktadır. Kısacası, populasyonun genetik farklılaşması, coğrafi dağılımı ve populasyon renk örüntüsü benzerliği arasındaki uyum, dört takson kompleksi ile farklı muhtemel bir sınıflamayı düşündürmektedir: (i) İber yarımadası ve güneybatı Fransa'daki tüm taksonlar da dahil olmak üzere *B. p. dusmeti* grubu; (ii) *B. p. rehbinderi*; (iii) *B. p. siciliensis*; ve (iv) *B. p. floralis* grupları şeklindedir.

Son yıllarda geliştirilen bütünleyici yaklaşım kullanılarak, *B. terrestris* populasyonlarının uluslararası ticaretinden kaynaklanan biyolojik yayılmasının incelenmesi hedeflenmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğu, *B. terrestris*'in doğal alanları dışında yayılması (Inoue vd. 2008; Kanbe vd. 2008; Meeus vd. 2011) ya da bazı *B. terrestris* alttürlerinin ilgili populasyonların veya alttürlerin zaten bulunduğu alanlara tanıtılması üzerine yoğunlaşmıştır (Velthuis ve Van Doorn, 2006; Ings vd. 2010). Ticari değişimler türlerin yayılmasının yanı sıra, yakından ilişkili taksonlar veya allopatrik populasyonlar arasındaki değişime sebep olabilmektedir. Kısacası, endemik taksonların ve yerel populasyonların özgünlüğünün korunması, türlerin veya populasyonların ticari yer değişimlerini düzenlemeyi gerektirmektedir. Bu gibi düzenlemelerin etkili olabilmesi için çözülmüş bir taksonomiye ve yerli türlerin populasyon yapılarının kapsamlı bir analizine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla, Lecocq vd. (2016) *B. terrestris*'in ticaretini verimli bir şekilde düzenleyebilmek için taksonomisini ve populasyon yapısını bütünleyici bir taksonomik yaklaşımla değerlendirmişlerdir. Rasmont vd. (2008) tarafından 9 alttür olarak kabul edilen *B. terrestris*, bu çalışmada dokuz takson şeklinde incelenmiş ve *africanus*, *audax*, *calabricus*, *canariensis*, *dalmatinus*, *lusitanicus*, *sassaricus*, *terrestris* ve *xanthopus* olarak isimlendirilmişlerdir. Moleküler ve kimyasal verilerin sonuçları *B. terrestris* ve *B. xanthopus*'u iki ayrı tür olarak değerlendirmektedir. Bazı allopatrik *B. terrestris* taksonlarının coğrafi bir farklılaşma sürecine girdiği tespit edilmiştir. Özellikle, Güney Batı adaları ve Kuzey Afrika'da genetik ve ekolojik olarak farklı populasyonlar bulunmaktadır. Bu populasyonlar *B. t. africanus*, *B. t. canariensis* ve *B. t. sassaricus*

olarak üç alttürü temsil etmektedirler. Buna karşın, diğer ada toplulukları (*audax* ve *lusitanicus*) bu kadar farklılaşma göstermemektedir. Kıta taksonu göz önüne alındığında ise, *calabricus*, yabani *dalmatinus*, *lusitanicus* ve *terrestris* COI dizisi veya kimyasal bileşenlerinde farklılaşma göstermemektedir. Genel olarak bulgular, ticari yer değişimlerinde iki tür, üç alttür ve zayıf farklılaşma gösteren birkaç populasyon bulunduğunu ortaya çıkarmaktadır. Doğada ve örtüaltında etkin bir tozlaştırıcı olan *B. terrestris* arısının uluslararası ticaretinin tamamen yasaklanması mümkün değildir. Bu nedenle, *B. terrestris* taksonlarının ticaretini yönetmek için etkili stratejilere ihtiyaç vardır (Velthuis ve van Doorn 2006). İlk olarak, *B. xanthopus*'un yeni tür statüsü ve bu endemik türün korunması göz önüne alındığında, *B. terrestris*'in ithalatı Korsika'da yasaklanmalıdır. *B. terrestris*'in doğal dağılımı içinde, yer değişimini düzenleyen önlemler sadece Kanarya Adaları, İsrail, Norveç, Türkiye ve Birleşik Krallık'ta alınmıştır (Velthuis ve van Doorn 2006). *B. terrestris* alttürleri (*B. t. africanus*, *B. t. canariensis* ve *B. t. sassaricus*) için, Kanarya Adaları makamları tarafından desteklenen düzenlemelerin, Sardunya ve Kuzey Afrika'ya da uygulanması sağlanmalıdır. Bir de uluslararası ticarete en çok kullanılan *dalmatinus* ve *lusitanicus*'un, ekolojik, genetik ve fenotipik özgünlüğü üzerine daha fazla analiz yapılarak, doğal aralık sınırları belirlenmelidir. Ayrıca, ticari *dalmatinus* ile yabani *dalmatinus* arasında da incelenen karakterler bakımından bir farklılık saptanamamıştır. Ancak ticarilerin tanımlayıcı kimliklerinde önemli bir belirsizlik mevcuttur. Sonuç olarak, bütüncü taksonomik yaklaşımlar, ticareti yapılan diğer politipik türlerde de kullanılmalı ve gerekli önlemler alınmalıdır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan arı materyali ve örnekleme

Dünya’da *Bombus terrestris* arısını ilk kez 1980’lerin sonlarında Hollanda ve Belçika’da iki firma (Koppert ve Biobest) kitlesel olarak üretmeye başlamış, geçmiş 30 yıllık süreçte ticari *B. terrestris* üretimi ve seralarda kullanımı büyük gelişme göstermiştir. Başlangıçta yalnız Hollanda ve Belçika’da tozlaşma amacıyla kullanılan *B. terrestris* kolonileri günümüzde Kuzey Amerika ve Avustralya dışında tüm kıtalarda 60’dan fazla ülkede kullanılmaktadır. Bu süreçte çok sayıda firma *B. terrestris* koloni üretimine başlamasına karşın, günümüzde de Koppert ve Biobest firmaları Türkiye ve birçok ülkede kurdukları üretim tesisleriyle dünyadaki en büyük üreticilerdir. İki firmanın da damızlık hatlarını başta Ege adalarından, Balkan yarımadasından ve Avrupa’daki bazı ülkelere topladıkları kraliçe arılarla oluşturdukları bilinmektedir. Türkiye’de de ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonileri 1997 yılında Koppert ve Biobest firmalarından ithal edilerek seracılık sektöründe kullanılmaya başlanmış daha sonra bu firmalar üretim tesislerini ülkemizde kurarak faaliyetlerini sürdürmüşlerdir. Türkiye’de bombus arısı üretmek amacıyla 1997 yılından günümüze yabancı, yabancı ortaklı ve yerli olmak üzere 10 civarında firma kurulmuş, bu firmalardan birkaçı faaliyetlerini sonlandırmıştır.

Projenin temel amacı ticari ve yerli *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapılarını tanımlamak ve ticari bombus kolonilerinin yoğun olarak kullanımının doğal populasyonların genetik yapıları üzerine etkilerini incelemektir. Bu nedenle çalışmada örnek alınacak arı populasyonları; Türkiye’de ticari olarak bombus arısı üretimi yapan tüm firmalardan, önceki yıllarda yapılan gözlemlerde *B. terrestris*’in doğal populasyonlarının bulunduğu ancak çok yoğun seracılık yapılan ve ticari *Bombus terrestris* kolonileri kullanılan bölgelerde sera dışındaki alanlardan ve seracılığın yapılmadığı doğal *B. terrestris* populasyonlarının bulunduğu alanlardan olmak üzere genel olarak üç grupta kurgulanmıştır. Bu çerçevede;

Türkiye’de ticari olarak bombus arısı üretimi yapan 7 firmaya ait 30 koloniden rastgele birer adet olmak üzere 30’ar işçi arı örneği alınmıştır. Toplamda yedi ticari populusyona ait 210 işçi arı materyal olarak kullanılmıştır.

Antalya’nın Aksu, Kumluca, Demre ve Geyikbayırı bölgelerinde Antalya’da ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonileri kullanılmadan önce doğal populasyonların olduğu tespit edilmiştir (Özbek 1997). Aksu (Yurtpınar ve Boztepe), Kumluca ve Demre seracılık faaliyetlerinin çok fazla yapıldığı ve bu seralarda yoğun olarak ticari *B. terrestris* kolonilerinin kullanıldığı bölgelerdir. Bu alanlardaki seralardan doğaya *B. terrestris* işçi arılarının kaçma olasılığı yüksektir. Ayrıca ticari koloniler ömrünü tamamladığı zaman, kolonide üretilen ana ve erkek arıların da doğaya kaçma ve çiftleşerek doğada kolonilerini kurma riski de yüksektir. Son yıllarda Geyikbayırı’nda da seracılık faaliyetlerinde bir artış gözlenmektedir. Bu nedenle, belirtilen bölgeler birkaç defa ziyaret edilerek, farklı sera çevrelerinden 20-30 işçi arı örneği toplanmıştır.

Yerleşim yerleri ve seralara uzak, önceki çalışmalarda (Gürel vd. 2008) doğal yaşam alanlarının tespit edildiği Bayatbademler, Termesos ve Faselis’den 30’ar örnek alınmıştır. Bu alanlarda özellikle farklı habitat koşullarında yaşayan (farklı yükseltilerde bulunan, estivasyon ve hibernasyon gösteren, vb.) daha izole örnekler toplanmıştır. Arazide, *B. terrestris* işçi arı örnekleri toplanırken çok geniş bir alan taranarak, mümkün olduğunca farklı yuvalara ait işçi arı örneklerinin toplanmasına çalışılmıştır.

Sonuç olarak yedi ticari firmadan alınan ve yedi lokasyonda da doğadan toplanan toplam 14 popülasyona ait 408 bombus işçi arı örneği çalışmanın materyalini oluşturmuş ve örnekleme ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1’de sunulmuştur. Örnek toplama işlemi Mart, Nisan ve Mayıs aylarında gerçekleştirilmiştir. Araziden yakalanan ya da firmalardan alınan tüm arı örnekleri üzerinde toplandığı bölge ya da firmanın adı, sayısı ve içerisinde % 95’lik alkol bulunan cam kavanozlara (Şekil 3.1) konularak laboratuara getirilmiştir. Bu örnekler kullanılıncaya kadar +4 °C’ de muhafaza edilmiştir. Her popülasyona ait en az 21 işçi arı örneğinden DNA izolasyonu yapılmıştır.



Şekil 3. 1. Arı örneklerinin % 95’lik alkol içerisinde muhafazası

Çizelge 3. 1. Örneklere ait bazı tanımlayıcı bilgiler

Popülasyonlar	Örnek sayısı	Koordinatları	Yükseklik (m)
Ticari popülasyon 1 (TP1)	30	-	-
Ticari popülasyon 2 (TP2)	32	-	-
Ticari popülasyon 3 (TP3)	30	-	-
Ticari popülasyon 4 (TP4)	30	-	-
Ticari popülasyon 5 (TP5)	30	-	-
Ticari popülasyon 6 (TP6)	30	-	-
Ticari popülasyon 7 (TP7)	30	-	-
Aksu-Boztepe (AK) Aksu-Yurtpınar	32	36°57'K 30°51'D	10 m
Kumluca (KM)	21	36°22'K, 30°17'D	15 m
Demre (DM)	23	36°14'K, 29°57'D	12 m
Geyikbayırı (GB)	24	37°3' K, 30° 27' D	589 m
Termesos (TM)	32	36°59' K, 30°28' D	1150 m
Bayatbademler (BB)	32	36°54'K, 30°32'D	900 m
Faselis (FS)	32	36°31'K 30°33'D	4 m

3.1.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Örneklerin DNA izolasyonu ve PCR işlemleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. DNA izolasyonu için doku parçalanması işlemi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü Laboratuvarı'nda bulunan homojenizatör ile yapılmıştır. Mikrosatelit fragment analizleri ise, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Genetik Laboratuvarı'nda bulunan otomatik kapiller Fragment Analiz Cihazı (Fragment Analyzer-Advanced Analytical Technologies GmbH, Heidelberg, Germany) kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin tam listesi Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Kullanılan Cihaz	Kullanım amacı
pH metre (Thermo ORION 3 STAR)	DNA izolasyonu ve elektroforez tamponlarının pH' larının ayarlanmasında
Otoklav (Nüve OT 020V)	Kullanılan malzemelerin ve çözeltilerin sterilizasyonunda
Sıcak Su Banyosu (Mettler)	DNA izolasyonu inkübasyon aşamasında
Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı (YellowLine MSH basic)	DNA izolasyonu için gerekli çözeltilerin hazırlanmasında
Çalkalayıcı-Vortex (YellowLine,TTS2)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonunda
Santrifüj (Hettich MIKRO 200)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Hassas Terazi (SHIMADZU BX320H)	DNA izolasyonu için tampon çözeltilerin hazırlanması ve jel için agaroz tartılmasında
Thermo Scientific Arktik Thermal Cycler	PCR ile istenilen lokusların çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektroforez Takımları (BIO-RAD)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesinde
Güç Kaynakları (BIO-RAD PowerPac Basic)	Jel elektroforezi için voltaj ve zamanın ayarlanmasında
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 212)	DNA izolasyonu ve PCR sonuçlarının görüntülenmesinde
Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 553)	Agaroz jellerin hazırlanması
Buzdolabı (Beko BK8450T)	Örnekler ile bazı sarf malzemelerin saklanması
Derin Dondurucu (Beko 797DF)	
Fragment Analyzer (ADVANCED ANALYTICAL)	Mikrosatelit lokusların büyüklüklerinin belirlenmesinde
Homojenizatör	DNA izolasyonunda doku parçalama işleminde

3.2. Metot

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Bu çalışmada, gDNA molekülünün izolasyonunda Walsh vd. (1991) tarafından bildirilen Chelex 100 DNA izolasyon protokolü laboratuvar ortamında optimize edilmiş ve aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. %95'lik etanolden alınan örnekler steril saf suyla yıkanmış ve kurutma kağıdında kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.2a)
2. İşçi arının toraksı steril 2 ml'lik 96'lı doku parçalama plate tüplerine alınmıştır (Şekil 3.2b)
3. Üzerine 600 µl %10 Chelex 100 çözeltisi eklenerek, tüpün içine 2 adet tungsten metal bilye atılmıştır.
4. Plate homojenizatöre konarak doku parçalanması sağlanmıştır.
5. Ardından parçalanmış doku karışımlarının her biri steril 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılmıştır.
6. Tüplere 5 µl Proteinase K (20 mg/ml) ve 5 µl RNase (20 mg/ml) ilave edilerek, vortekslenmiştir.
7. Örnekler 56 °C'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda yaklaşık 12 saat inkübasyona bırakılmıştır ve ardından enzim denatürasyonu için 95 °C'de 15 dakika daha bekletilmiştir.
8. Örnekler 13.000 rpm'de 2 dakika santrifüj işlemi yapılmış ve üstteki sıvı kısım steril 0.5 ml'lik eppendorf tüplerine alınmıştır.
9. İzole edilen gDNA molekülünün tek parça olup olmadıkları % 1'lik agaroz jellerde yürütülerek kontrol edilmiş ve +4 °C'ye kaldırılmışlardır.



Şekil 3. 2. Bombus arı örneklerinin DNA izolasyonu için hazırlanması

Chelex yöntemiyle izole edilen DNA örneklerinin saflık ve kalitesi istenilen düzeyde olmadığı için ilk yöntemde elde edilen DNA örneklerine ek olarak CTAB yöntemi (Hall 1990) de uygulanmıştır. Buna göre:

10. %2 CTAB + %2 β-Merkaptoetanol çözeltisi hazırlanmıştır.
11. Chelex metodu kullanılarak elde edilen DNA örneklerinin her birinin üzerine hazırlanan çözeltiden 500 µl eklenmiştir.
12. Örnekler 56 °C'de 3-6 saat arası inkübasyona bırakılmıştır.
13. İnkübasyondan sonra örnek tüplerinin üzerine 500 µl kloroform + izoamil alkol karışımı (24:1) eklenmiş ve vortekslenmiştir.
14. Tüpler 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

15. DNA'nın bulunduğu üst fazdan yaklaşık 500 µl yeni tüplere aktarılmıştır.
16. Yeni örnek tüplerinin üzerine tekrar 400 µl kloroform + izoamil alkol eklenmiş ve vortex yapılmıştır.
17. Tüpler bir kez daha 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
18. Yine bu aşamada da DNA içeren üst faz yeni tüplere aktarılmıştır (≈ 400 µl).
19. Örneklerin üzerine alınan faz kadar yaklaşık 400 µl soğuk (-20 °C) izopropanol eklenmiştir.
20. Tüpler yavaşça alt-üst edilerek karıştırılmıştır ve -20 °C'de 1 saat bekletilmiştir.
21. Buzluktan çıkarıldıktan sonra 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır.
22. Genomik DNA parçaları gözle görülür şekilde tüplerin dibinde pelet oluşturmuştur.
23. Peletlerin üstündeki sıvı kısım dikkatlice dökülmüş ve DNA'yı yıkamak için 500 µl %70'lik soğuk etanol eklenmiştir.
24. Üstte biriken sıvı kısım yine dökülmüş ve dipteki peletin üzerine tekrar %70'lik soğuk etanol eklenmiştir.
25. Bir kez daha 1-2 dakika bekledikten sonra 14.000 rpm'de 5-7 dakika arası santrifüj yapılmıştır.
26. Sıvı kısım yavaş ve dikkatli bir şekilde dökülmüş ve tüpler kurutma kâğıdı üzerine yan yatırılarak içerideki alkolün tamamen uzaklaşması beklenmiştir.
27. Tüplerin içerisindeki alkol tamamen kuruduktan sonra üzerlerine 100-150 µl saf su eklenerek, pelet haldeki genomik DNA'nın çözülmesi sağlanmıştır.

3.2.2. Genomik DNA miktarının hesaplanması

İzolasyon işlemi tamamlanan DNA moleküllerinin tek parça olup olmadığı %1'lik agaroz jelde belirlenmiştir. Ardından örneklerin kalite ve miktarı BioDrop spektrofotometre cihazında okutularak tespit edilmiştir. Sonuç olarak istenilen saflık ve miktarda DNA materyali sağlanmıştır. DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Mikrosatelit lokusların belirlenmesi ve PCR'da kullanılacak primerler

B. terrestris populasyonlarının DNA seviyesinde daha duyarlı bir şekilde objektif olarak tanımlanmasına olanak sağlamak amacıyla çok sayıda mikrosatelit marker geliştirilmiştir. Bu çalışmada farklı *B. terrestris* populasyonlarını birbirinden ayırmak ve genetik yapının ortaya konulması için Estoup vd. (1995, 1996); Funk vd. (2006) ve Stolle vd. (2009) çalışmaları referans alınarak yaygın olarak kullanılan 20 adet polimorfik lokus belirlenmiştir. Bu lokuslara ait bilgiler Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3. 3. Çalışmada kullanılan mikrosatelit lokuslara ait bazı tanımlayıcı bilgiler

Lokus	Tekrar dizilimi	Primer Sekansı (5' → 3')	Anneling (°C)	Allel Gen.	Genbank Erişim No.	Kaynak
B100	(CT) ₁₂ GTC(CT) ₃	F: CGTCCTCGTATCGGGCTAAC R: CGTGGAAACGTCGTGACG	58	146-178		Estoup vd. 1996
B118	(CT) ₁₁ AG(CT) ₃	F: CCTAAGTCGCTATATCTTCG R: GAAACACGATCTACATCTACAG	58	221-223		Estoup vd. 1996
B119	(CT) ₇ CG(CT) ₄	F: GATCGTGCTAGAAAAGGAAG R: CCACAGTGCAAAGTTTCTG	52	130-136		Estoup vd. 1996
B124	(CT) ₈ TCCTCTTCCAC(CT) ₁₄ CCTC(GC) ₃ (GGCT) ₈	F: GCAACAGGTCGGGTTAGAG R: CAGGATAGGTAGGTAAAGCAG	57	242-256		Estoup vd. 1995
B126	(CT) ₁₂ GT(CT) ₁₀	F: GCTTGCTGCTGAATTGTGC R: CGATTCTCTCGTACTCC	57	176-182		Estoup vd. 1995
B132	(CT) ₁₂ TC(CT) ₃	F: GAAATTCGTGCGGAGGG R: CAGAGAACTACCTAGTGCTACGC	58	148-213		Estoup vd. 1996
B96	(CG) ₃ (CT) ₆ TT(CT) ₃ T(CT) ₄ T (CT) ₇ CGTT(CT) ₃	F: GGGAGAGAAAAGACCAAG R: GATCGTAATGACTCGATATG	52	230-248		Estoup vd. 1996
B11	(CT) ₅(CT) ₁₀ (ATCT) ₆ ... (CT) ₃ (ATCT) ₃	F: GCAACGAAACTCGAAATCG R: GTTCATCCAAAGTTTCATCCG	52	154-180		Estoup vd. 1995
BT06	(TC) ₂₃	F: AGTCGTCGCTTTGGGATTC R: GAACTATCGGGCTCTGTAGC	52	156-176	DQ099353	Funk vd. 2006
BT09	(TC) ₂₈	F: CAGTCGTCTGGAACTAGATCCG R: AACGTCGATTACCGTCACCGAG	52	128-174	DQ099356	Funk vd. 2006
BT10	(CT) ₁₉	F: TCTTGCTATCCACCACCCGC R: GGACAGAAAGCATAGACGCACCG	53	151-175	DQ099357	Funk vd. 2006

Lokus	Tekrar dizilimi	Primer Sekansı (5'→3')	Anneling (°C)	Allel Gen.	Genbank Erişim No.	Kaynak
BT20	(CT) ₂₁	F: TTCCACAGCGTTTCTTAAAGTC R: ATGGACGGGAGATCGTGAG	52	127-145	DQ099367	Funk vd. 2006
BT26	(TG) ₃₃	F: AGCGGGACCTGGTAAAAACG R: CGATTCTCTTCGTGTCAGTTCTCC	52	119-191	DQ099373	Funk vd. 2006
BT28	(GTT) ₃ .(GTT) ₄ (GTT GCT) ₄	F: TTGCTGACGTTGCTGTGACTGAGG R: TCCTCTGTGTCTCTTACTTGGC	53	181-196	DQ099375	Funk vd. 2006
BTMS0033	AAG	F: CGTTGCCATGCCGTTAAATA R: TTCGCGTATAACGACGTCAC	51	202-247	FJ616169	Stolle vd. 2009
BTMS0119	TC	F: GTGCGAGCTTCTCGAGGATA R: GCGCATGCATAAGTCTCGTT	60	334-372	FJ616249	Stolle vd. 2009
BTMS0131	GA	F: TACAAACGATGCCGTGAGG R: AGTCAAGTAAGTCCTACCG	48	209-326	FJ616261	Stolle vd. 2009
BTMS0082	TTTTTC	F: TCGCGATCTTGGTGATAATGA R: TCAGACAGAAACTGTGGAAAC	60	381-402	FJ616213	Stolle vd. 2009
BTMS0124	TC	F: CGCCGTAATGTAACTCC R: ACTCAATCCAAACGCCACC	54	242-324	FJ616254	Stolle vd. 2009
BTMS0045	GA	F: GAAATTCCCCCAGGAAATACG R: GCGGATACAGTTTCGAGCAT	60	236-287	FJ616180	Stolle vd. 2009

3.2.4. PCR işlemi ile mikrosatelit bölgeleri içeren lokusların çoğaltılması

PCR’da kullanılan kimyasallar, bunların PCR karışımındaki miktarları ve markaları Çizelge 3.4’de gösterilmiştir. PCR işlemi için 50 ng/μl yoğunluğunda ayarlanan DNA’lar 0.2 ml’lik PCR tüplerine 2’şer μl konulmuştur. PCR uygulamaları için Thermo Scientific Arktik Thermal Cycler kullanılmıştır. Cihazların kapak sıcaklığı 102 °C dereceye ve blok sıcaklığı 95 °C’ye ayarlanmıştır. Böylece PCR sırasında reaksiyon karışımının buharlaşarak azalması ve yoğunluğunun değişmesi önlenmiştir. Daha sonra, hazırlanan reaksiyon karışımı her bir PCR tüpüne (18μl+2μl DNA= 20μl) paylaştırılmıştır. Her aşamada tüplerdeki reaktörler birbirleriyle iyice karıştırılmıştır.

Çizelge 3. 4. PCR reaksiyon karışımı, miktar ve markaları

PCR Bileşeni	Miktar μl (1X Reaksiyon için)	Marka-Molarite
H ₂ O	11.7	
HQ buffer	1.2	Geneall Kat. No.501-050
10X buffer	2	Geneall Kat. No.501-050
dNTPs buffer	2	ThermoFisher Kat. No.R0181
Forward Primer	0.3	IDT Order No.2565902 (25nmol)
Reverse Primer	0.3	IDT Order No.2565902 (25nmol)
Taq polimeraz	0.3	Geneall Kat. No.501-050 (2.5u/μl)
DNA	2-2.5	~ 50 ng/μl

Bu çalışma için optimize edilen PCR programı aşağıda verilmiştir (Solignac vd. 2003).

İlk denatürasyon	94 °C’de 3 dk	
Denatürasyon	94 °C’de 30 sn	
Yapışma	55 °C’de 30 sn	} 35 döngü
Uzama	72 °C’de 30 sn	
Son uzama	72 °C’de 10 dk	

PCR işleminden sonra ürünlerin kontrolü için 5 μl ürün +1 μl yükleme boyası karışımı %2’lik agaroz jele yüklenmiştir. 80 voltta 50 dakika yürütülerek bantlar kontrol edilmiştir. Bant büyüklüklerinin kontrolü için 1 kb veya 1.5 kb’lik DNA ladder kullanılmıştır.

3.2.5. mtDNA gen bölgelerinin belirlenmesi ve PCR’da kullanılacak primerler

B. terrestris popülasyonlarını filogenetik olarak incelemek, tür, alttür ve ekotip düzeyinde ilişkilerini değerlendirebilmek için mikrosatelit markerlerin yanı sıra mtDNA gen bölgelerinden faydalanılmıştır. Jerminn ve Crozier (1994)’ün kullandığı mitokondriyal sitokrom b (cytb) gen bölgesine ait primerler (CB1, CB2) ve Folmer vd (1994)’nin geliştirdiği evrensel mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesinin primerleri (HCO2198, LCO1490) kullanılarak, her bir popülasyondan rastgele seçilen beş bireyin amplifikasyonu yapılmıştır. Bu primerlere ait bilgiler Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3. 5. mtDNA gen bölgesine ait primer dizileri ve bazı özellikleri

Primer adı	T _m (°C)	Baz büyüklüğü (bp)	Primer sekansı (5→3)
CB1	47	433	TATGTACTACCATGAGGACAAATATC
CB2	47	433	ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT
HCO2198	48	658	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
LCO1490	48	658	GGTCAAACAAATCATAAAGATATTGG

3.2.6. PCR işlemi ile mtDNA gen bölgelerinin çoğaltılması

PCR’da kullanılan kimyasallar, bunların PCR karışımındaki miktarları ve markaları Çizelge 3.4’de gösterilmiştir. PCR işlemi için 50 ng/μl yoğunluğunda ayarlanan DNA’lar 0.2ml’lik PCR tüplerine 2’şer μl konulmuştur. COI ve cytb gen bölgelerine uygun PCR programları Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3. 6. Uygulanan PCR programı (Coppee 2010)

PCR aşamaları	COI	Cytb
İlk denatürasyon	94 °C’de 3 dakika	94 °C’de 3 dakika
Denatürasyon	94 °C’de 45 saniye	94 °C’de 1 dakika
Yapışma	48 °C’de 1 dakika 15 saniye	47 °C’de 1 dakika 30 saniye
Uzama	72 °C’de 1 dakika 30 saniye	72 °C’de 1 dakika 30 saniye
Son uzama	72 °C’de 10 dakika	72 °C’de 10 dakika
Döngü sayısı	35	32

PCR işlemi tamamlandıktan sonra oluşan amplifikasyon ürünlerinin kontrolü için % 2’lik agaroz jele 5 μl ürün +1 μl yükleme boyası karışımı yüklenmiştir. 80 voltta 50 dakika yürütülmüştür. Bant büyüklüklerinin tespiti için 1 kb ya da 1.5 kb büyüklüğünde DNA ladderler kullanılmıştır.

3.2.7. Agaroz jel elektroforezi

3.2.7.1. Elektroforez çözeltisi

Elektroforezde tampon çözeltisi olarak Tris-Acetate-EDTA (TAE) kullanılmıştır. Bu çözelti pH: 8.0 olacak şekilde ve 50X yoğunluğunda hazırlanarak (Çizelge 3.7) 1 lt suda çözündürülmüştür. Bu stok çözeltiden 20 ml alıp saf su ile 1000 ml'ye tamamlayarak da 1X'lik TAE buffer hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 7. Elektroforez ve agaroz jellerinin hazırlanmasında kullanılan stok ve tampon çözeltilerin bileşimleri

Çözelti	Yoğunluk	Bileşim
Elektroforez/stok jel tampon çözeltisi	50XTAE	242.0 g Tris 57.1 ml Glasiyal asetik asit 100.0 ml 0.5 M EDTA, pH 8.0 1000.0 ml'ye tamamlanır
Elektroforez/jel tamponu ve yürütme tampon çözeltisi	1X TAE	1/50 50 X TAE'den seyreltme yapılır

3.2.7.2. Jelin hazırlanması

Çalışmada moleküler biyolojik çalışmalara uygun bir agaroz (Sigma Universal Agarose) kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalardan alınan sonuçlar ve laboratuarda yapılan denemeler sonucunda %2'lik agaroz jel en uygun oran olarak belirlenmiştir. Agaroz, TAE tampon çözeltisi ve ethidium bromide (3 µl) bir erlen mayerde, homojen bir karışım olması amacıyla ara sıra karıştırılarak çözündürülmüştür. Bu işlem mikrodalgada yapılmıştır ve işlem sırasında agarozun yanmaması için, jelin kaynamasına izin verilmeden şeffaf bir görünüme ulaşınca kadar (2-3 dk) ısıtılmış ve hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edilerek, elektroforez tepsisine dökülmüştür. Jel donduktan sonra elektroforez tankının içine alınmış ve jelin üst kısmını biraz geçecek kadar elektrolit çözeltisi dökülmüştür.

3.2.7.3. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi

5 µl PCR ürünü 1 µl dye (Loading Buffer; yükleme çözeltisi) ile boyandıktan sonra oluşturulan bu 6 µl karışım jeldeki kuyucuklara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. Elektroforez işlemi sonunda görüntülenecek olan bantların büyüklüklerini saptamak için ilk kuyucuğa en küçük bant büyüklüğü 100 bp olan 1 kb ya da 1.5 kb büyüklüğünde DNA markerleri ve yine en küçük bant büyüklüğü 250 bp olan 1 kb'lik DNA markeri (Thermo Scientific Gene Ruler SM0241, BIORON 306005, Thermo SM0311) yüklenmiştir. DNA markerin kuyucuğa yüklendiği miktar ve karışımı aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3. 8. DNA marker yükleme karışımı

Bileşen İsmi	Miktarı
DNA marker	1 µl
H ₂ O	4 µl
Dye	1 µl
Toplam	6 µl

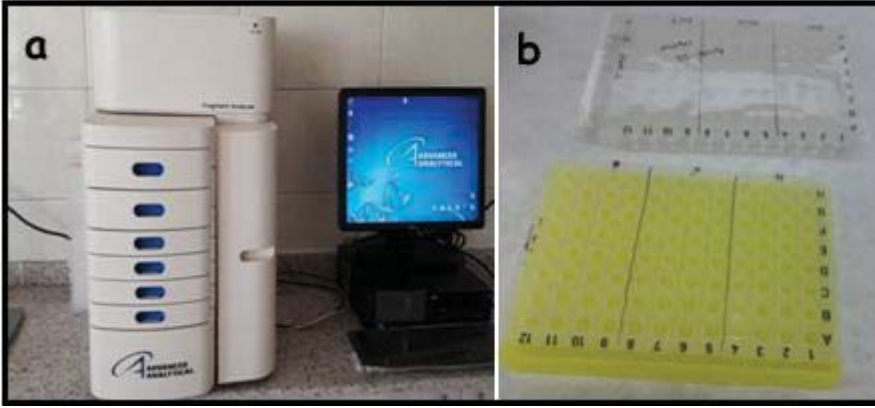
3.2.7.4. Elektroforez işlemi

PCR işlemi tamamlandıktan sonra çoğaltılan DNA örneklerinin büyüklüklerine göre ayrılması için elektroforez işlemi yapılmıştır. Elektroforez uygulamasında, jel yoğunluğu, elektrik akımı ve elektroforez süreleri en net sonucu alabilmek amacıyla, birçok deneme sonucunda optimize edilmiştir. PCR’da çoğaltılan DNA fragmentlerini içeren üründen yaklaşık 6 µl jele yüklenmiş ve 80 V’da 50 dk yürütülmüştür. Bu şekilde çoğaltıldığı düşünülen değişik büyüklükteki bantların jelde ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra bu bantlar görüntüleme cihazında UV ışık altında görünür hale getirilmiştir.

3.2.8. Mikrosatelit genotiplerin tespiti

Çalışmada 14 popülasyona ait toplam 408 örnek, 20 mikrosatelit lokus (Çizelge 3.3) bakımından incelenmiştir. Fragment analizine başlamadan önce tüm PCR ürünleri tek tek agaroz jelde görüntülenmiştir. Böylece fragment analizi öncesinde tüm lokusların çalıştığına emin olunmuş ve fragment analizinde ekonomik kayıpların önüne geçilmiştir.

Araştırmada belirtilen her lokus için PCR işlemi popülasyonların tamamına tek tek uygulanmıştır. Ancak genotiplerin belirlenmesi için yapılan fragment analizinde maliyeti düşürmek amacıyla çoklu okuma yapılmıştır. Lokuslar çoklu okuma için gruplara ayrılmıştır. Lokusları gruplara ayırırken bant büyüklüklerinin aynı aralıkta olmamasına yani, bantların üst üste gelmemelerine dikkat edilmiştir. Çoklu okuma için ayarlanan gruplar Çizelge 3.9’da verilmiştir. Fragment analizleri otomatik kapiller Fragment Analiz Cihazı (Fragment Analyzer-Advanced Analytical Technologies GmbH, Heidelberg, Germany) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.3a) Cihazda fragment büyüklüklerinin tespitinde Advanced Analytical DNF-900 kit kullanılmıştır. Bu kit 35-500 bp aralığında okuma yapabilmektedir.

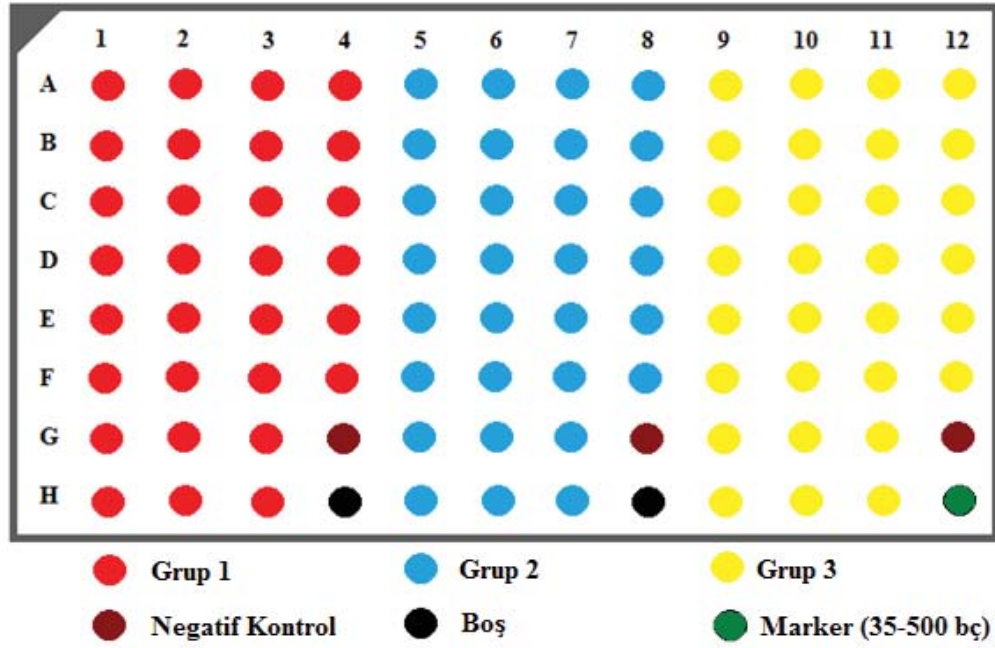


Şekil 3. 3. Fragment analiz cihazı ve örnek yüklenen plate

Örnekler cihaza 96'lık PCR plakalarında (Axgen PCR-96-FLT-C), üç grup olarak ve her grupta 2 lokus veya 3 lokus olacak şekilde yüklenmiştir (Şekil 3.3b, Şekil 3.4). Böylece bir plate ile aynı anda 6 veya 9 lokusun fragment analizi yapılmıştır. Üç lokus için, her bir kuyucukta 7.5 µl PCR ürünü (her lokustan 2.5'ar µl) 66 µl dilution buffer (örnek başına 22 µl dilution buffer) ile seyreltilerek toplam 73.5 µl hacminde cihaza yüklenmiştir.

Çizelge 3. 9. Fragment analizinde uygulanan çoklu gruplar ve allel genişlikleri

	Lokus İsmi	Muhtemel Allel Genişlikleri
Grup 1	B119	130-136
	BT28	181-196
	BTMS0131	209-326
Grup 2	BT20	127-145
	B126	176-182
	BTMS0045	236-287
Grup 3	BT06	156-176
	B124	242-256
Grup 4	BT09	128-174
	B118	201-223
Grup 5	B132	148-213
Grup 6	B11	154-180
	BTMS0082	381-402
Grup 7	BT10	151-175
	BTMS0124	242-324
Grup 8	BT26	119-191
	B96	230-248
Grup 9	B100	146-178
	BTMS0033	202-247
	BTMS0119	334-372



Şekil 3. 4. Fragment analiz cihazında bir plakadaki grupların görüntüsü

3.2.9. Populasyon yapısı ve genetik varyasyonun değerlendirilmesi

3.2.9.1. Genetik varyasyon analizleri

Bu tez çalışmasının temel amacı doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının genetik çeşitliliğini belirlemek ve bulunan sonuçları karşılaştırmaktır. Populasyonlarda varyasyon değişik parametrelerle ölçülebilir. Gen frekansları (allelık varyasyon) ve heterozigotluk değerleri populasyonlar içinde ve populasyonlar arasında genetik varyasyonun belirlenmesi için kullanılan parametrelerdir. Mikrosatelit çalışmalarında heterozigotluk değerleri için genellikle allel genişlikleri (AG), allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) istatistikleri hesaplanmaktadır.

3.2.9.1.1. Allelik varyasyon

Genetik çeşitliliğin gösterilmesinde ilk olarak allel frekansları hesaplanmaktadır. Çalışılan lokuslarda allelik varyasyonun olması genetik çeşitliliğin göstergesidir. Bu çalışmada her bir lokustaki allel frekansları Nei (1987) tarafından bildirilen gen (allel) sayma (*counting the number of gene*) yöntemi kullanılarak, CONVERT (Glaubitz 2004) paket programı ile hesaplanmıştır.

3.2.9.1.2. Allel genişliği (AG)

Allel genişliği (AG) değeri; lokustaki genetik çeşitliliğin bir göstergesidir. Lokustaki allel genişliği ne kadar fazla ise o lokus bakımından genetik varyasyonun belirlenme ihtimalinin o kadar yüksek olması beklenir. Allel genişliği popülasyondan popülasyona değişmektedir. Bu nedenle, allel genişlikleri kullanılarak popülasyonların karşılaştırılması mümkün olmaktadır. Bombus arısı popülasyonlarında mikrosatelit lokuslara ait allel genişliklerinin belirlenmesinde CONVERT (Glaubitz 2004) paket programı kullanılmıştır.

3.2.9.1.3. Ortalama allel sayısı (Na)

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan bir diğer parametre ise ortalama allel sayısıdır. Lokus başına düşen ortalama allel sayısı kullanılan örnek sayısından etkilenir. Ortalama allel sayısı ne kadar yüksek ise popülasyondaki genetik varyasyonda o kadar yüksektir. Ortalama allel sayısı POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.9.1.4. Etkili allel sayısı (Ne)

Etkili allel sayısı, bir lokusta tespit edilen allellerin ne kadarının o lokustaki genetik varyasyona katkı sağladığını gösteren bir parametredir. Kimura ve Crow (1964) tarafından geliştirilen bu istatistik allel frekansları üzerinden tahmin edilmekte olup, kuramsal olarak bir popülasyonda var olan tüm allel frekansları aynı olduğunda ortalama allel sayısına (Na) eşit olmaktadır. Etkili allel sayısının hesaplanmasında POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programından yararlanılmıştır.

3.2.9.1.5. Gözlenen heterozigotluk (Ho)

Popülasyonlarda genetik varyasyonun belirlenmesinde heterozigotluk gerekli bir ölçüdür. Gözlenen heterozigotluk; üzerinde durulan lokuslar bakımından heterozigot genotiplerin toplam genotiplere oranı şeklinde hesaplanır. Gözlenen heterozigotluk değerlerinin belirlenmesinde POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programından yararlanılmıştır.

3.2.9.1.6. Beklenen heterozigotluk (He)

Beklenen heterozigotluk (He) oranının tahmininde, Nei'nin (1987) yansız (unbiased) heterozigotluk değeri, gen frekansları kullanılarak tahmin edilmiştir. Beklenen heterozigotluk değerleri POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programıyla hesaplanmıştır.

3.2.9.1.7. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)

Polimorfizm bilgi içeriği bir genetik markerin ne kadar polimorfik olduğunu ve çalışılan lokustaki varyasyonun ne ölçüde olduğunu belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bir başka deyişle, çalışılan lokusta markerin ne kadar kullanışlı olduğu hakkında bilgi vermektedir. PIC değerinin 0.50'nin üzerinde olması markerin yüksek seviyede bilgi sağladığını göstermektedir. PIC değerinin 0.75'den yüksek olması ise lokusun çok daha yüksek seviyelerde bilgi verici olduğunu, genetik varyasyon ve genetik haritalama

çalışmaları için çok kullanışlı olduğunu göstermektedir (Botstein vd. 1980). Çalışılan lokuslar için PIC değerleri POWERMARKER (Liu ve Muse 2005) paket programı kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.9.1.8. Özgün (Private) allel

Sadece bir populasyonda bulunan allellere özgün (private-benzersiz) allel denilmektedir. Özgün allel ile her bir generasyonda populusyona göç eden birey sayısı arasında doğrusal ilişki vardır. Göç oranı artıkcça özgün allel sayısı azalmaktadır. Kapalı yetiştirilen populasyonlarda özgün allel sayısının fazla olması beklenir. Özgün alleller ırk ya da populasyon ayırımında kullanılabilirler. Bu tez çalışmasında özgün allel frekanslarının belirlenmesinde CONVERT (Glaubitz 2004) paket programından yararlanılmıştır.

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

3.2.9.2.1. Akrabalı yetiştirme katsayısı (F_{is})

Ortak ataları olan bireyler akraba, akraba bireylerin çiftleştirilmesi ise akrabalı yetiştirme (inbreeding) olarak ifade edilmektedir. Akrabalı yetiştirme sonucu populasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapma meydana gelmektedir ve bu sapmanın nedeni, populasyonda meydana gelen heterozigot eksikliği ya da başka bir ifadeyle, homozigot fazlalığıdır. F_{is} değeri -1 ile +1 arasında değişmektedir. Negatif değerler heterozigotluk, pozitif değerler ise homozigotluk fazlalığına işaret etmektedir. Rastgele çiftleşen büyük populasyonlarda F_{is} değerinin sıfır ya da negatif değer alması beklenir. Akrabalı yetiştirme katsayısı her saf hatta tüm lokuslar için ve tüm saf hatların bir arada düşünülmesi ile oluşturulan populasyonda tüm lokuslar için tahmin edilmiştir. Akrabalı yetiştirme katsayılarının hesaplanmasında FSTAT v.1. 2 (Goudet 1995) paket programından yararlanılmıştır.

3.2.9.2.2. F-istatistikleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST}) ve ikişerli F_{ST} değerleri

Populasyonlara ait evrim sürecinde meydana gelen seleksiyon, göç ve bireylerin atasal kayıtları hakkında tanımlayıcı bilgilerin elde edilmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Aynı tür ya da ırka ait farklı populasyonlar (alt populasyonlar) arasındaki genetik çeşitliliğin incelenmesinde fiksasyon indeksleri kullanılmaktadır.

Wright (1965) tarafından geliştirilen fiksasyon indeksleri ya da F istatistikleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST}) populasyonların genetik yapısının tanımlanmasında kullanılan en eski ve en yaygın parametrelerdir. Bu metot daha sonraki yıllarda Nei (1977) tarafından genişletilmiştir. F istatistikleri genetik varyasyonu toplam populasyonlar, alt populasyonlar ve bireyler bazında incelemektedir. Günümüzde populasyonlar arası ve populasyon içi genetik farklılaşmanın değerlendirilmesinde bu parametreler halen yaygın şekilde kullanılmaktadır. F istatistiklerinin hesaplanması POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programı ile yapılmıştır.

F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} parametreleri arasındaki ilişki formül 3.1'de gösterilmiştir:

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST}) \quad (3.1)$$

F_{IT} , populasyonların tamamında bulunan Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların ölçümüdür. Yani, tüm bireylerden oluşan yeni populasyondaki rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalini belirleyen bir değerdir. Alt populasyon içerisindeki akrabalığın etkileri ve alt populasyonlar arası farkların etkileri dikkate alınarak hesaplanır. Kısacası, F_{IT} hem yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) hemde populasyonlar arası farktan kaynaklanan sapmayı tespit etmektedir. F_{IT} -1 ile +1 arasında değer alabilir. +1'e doğru gidildikçe akrabalı yetiştirme oranı artıyor demektir.

F_{IS} değeri ise, alt populasyonlar içinde akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonları tanımlamaktadır. Yani, alt populasyonlardaki akrabalı yetiştirme ya da alt populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapmasıdır. Bir başka deyişle, alt populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalidir. F_{IS} değeri -1 ile +1 arasında değer alabilir. Eğer F_{IS} değeri negatif olarak bulunur ise heterozigot fazlalığı, sıfır değerine yakın bulunur ise Hardy-Weinberg dengesinin mevcut olduğu ve pozitif olarak bulunur ise homozigot fazlalığı var demektir.

F_{ST} değeri alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için kullanılmaktadır. Bir başka ifadeyle, alt populasyonlardan rastgele ele alınan iki gametin ortak atadan gelme ihtimalidir. Bir lokus açısından populasyonları karşılaştırmada kullanılır. Populasyonlarda genetik farklılaşmaların ölçümünde en yaygın kullanılan değerdir. F_{ST} 0 ile 1 arasında bir değer alır. Belirlenen F_{ST} değeri 1'e ne kadar yakın ise alt populasyonlar ortak atadan oldukça uzaktır denilebilir. Kısacası, F_{ST} değeri küçük olduğu zaman populasyonların arasındaki varyasyon da azdır. Yani iki populasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir.

Eğer F_{ST} değeri;

- (0 - 0.05) arasında bir değer alıyor ise küçük bir genetik farklılaşma;
- (0.05 - 0.15) arasında bir değer alıyor ise orta düzeyde farklılaşma;
- (0.15 - 0.25) arasında bir değer alıyor ise büyük bir genetik farklılaşma;
- (0.25'ten) büyük değerler alıyorsa çok büyük bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu söylenebilir (Hartl ve Clark 2007).

İkişerli F_{ST} , populasyonlar arası farklılaşmayı gösteren bir değerdir. Üzerinde çalışma yapılan populasyonları ikişerli karşılaştırarak genetik farklılaşmayı kıyaslar. İkişerli F_{ST} değeri populasyonda özgün allellere göre, orta frekansa sahip allellerden daha çok etkilenir. Bu çalışmada populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın ikişerli olarak karşılaştırılması Arlequin (Excoffier vd. 2006) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.9.3. Genetik farklılıklar

3.2.9.3.1. Gen akışı (Nm)

Hartl ve Clark'a (2007) göre populasyonların birbirlerinden farklılaşmasını önleyen etkenlerden biri göçtür. Nm değeri hesaplanırken iki farklı yöntemden yararlanılmaktadır. İlk yöntemde özgün allellerin frekansları, ikinci yöntemde ise F_{ST}

değeri kullanılarak tahmin edilmektedir. Bu çalışmada N_m , F_{ST} değerleri kullanılarak tespit edilmiştir ve POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programı kullanılarak bulunan N_m değeri formül 3.2'ye göre hesaplanmıştır:

$$N_m = \frac{0.25(1-F_{ST})}{F_{ST}} \quad (3.2)$$

3.2.9.3.2. Genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST})

Populasyon genetiği teorisinde genetik farklılaşma katsayısı alt populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma katsayısının (F_{ST}) ortalaması ya da oransal değeridir ve bazen F_{ST} ile gösterilmektedir. Çalışmada heterozigotluklar (H_s , H_T), genetik farklılık (D_{ST}) ve genetik farklılaşma katsayısının (G_{ST}) hesaplanmasında GENETIX v. 4.05 (Belkhir vd. 1996-2004) paket programından yararlanılmıştır.

3.2.10. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

RAPD, AFLP, RFLP, mikrosatelit gibi moleküler marker yöntemlerinden elde edilen verilerin istatistik analizinde Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance, AMOVA) kullanılmaktadır. Excoffier vd. (1992) tarafından Varyans Analizi (ANOVA) formülleri moleküler verilere göre düzenlenerek geliştirilmiş ve çok değişkenli bir analiz yöntemi oluşturulmuştur. AMOVA ile toplam genetik varyasyonun; ne kadarının populasyondaki gruplar arasından, ne kadarının gruplardaki populasyonlardan, ne kadarının ise populasyonlardaki bireylerden kaynaklandığı belirlenebilir. Bu tez çalışmasında AMOVA analizi için Arlequin (Excoffier vd. 2006) paket programı kullanılmıştır.

3.2.11. Genetik mesafe tahmini ve filogenetik ağaç oluşturma

Populasyonlar ya da türler arasındaki genetik mesafe gen farklılıklarını belirtmektedir. Allel frekanslarından yararlanılarak hesaplanmaktadır. Genetik mesafe tahmininde kullanılan en yaygın yöntemlerden birisi Nei'nin (1972) genetik benzerlik değerinden hesaplanan standart genetik uzaklık (D) yöntemi ile bundan türetilen yansız (unbiased) genetik mesafe (Nei 1978) değeridir.

Genetik uzaklık hesaplanırken populasyonlar arasındaki genetik benzerlikten yararlanılır. Genetik benzerlik (I), mesafe (D) değerleri ile gösterilir. Bu değerler genellikle geometrik uzaklıklarla eşit, yani mesafe değeri 0 ise populasyonlar arasında fark yok demektir. Eğer benzerlik değeri 0 ise, populasyonlarda çalışılan mikrosatelit lokus bakımından hiç bir ortak allelin olmadığı söylenebilir. Benzerlik 0 ile 1 arasında değer alırken, genetik mesafe 0 ile ∞ arasında değer alabilir.

3.2.11.1. Nei'nin genetik uzaklık (D_A) metodu

Mikrosatelit verileriyle genetik mesafe tahmininde daha çok Nei'nin (1978) genetik uzaklık (D_A) metodu kullanılır (Takezaki ve Nei 1996). Nei'nin (1972) genetik benzerlik ve yansız genetik mesafe değeri (Nei 1978) POPTREE (Yeh vd. 1997) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Nei'nin genetik mesafe değerlerinden yararlanılarak yapılan kümeleme analizlerinde en yaygın kullanılan dendrogram metotları UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean) ya da NJ

(Neighbor Joining, en yakın komşu) metodudur. UPGMA metodunda populasyonların evrim zamanı aynı kabul edilerek ağaç oluşturulduğundan NJ daha çok tercih edilmektedir. NJ yönteminde populasyonlar arasındaki fark dikkate alınmaktadır (Saitou ve Nei 1987). Bu çalışmada UPGMA dendogramı ve NJ ağacı POPTREE2 (Takezaki vd. 2010) paket programı ile oluşturulmuştur.

3.2.12. Faktöriyel uygunluk analizi (FCA)

Faktöriyel uygunluk analizi (FCA, factorial correspondence analysis), genellikle 3 boyutlu bir düzlemde bireylerdeki farklılığı görsel olarak ortaya koyan analiz yöntemidir. FCA analizi için GENETIX v. 4.05 (Belkhir vd. 1996-2004) paket programından yararlanılmıştır.

3.2.13. Genetik yapı analizi (Structure)

Genetik mesafe temelli yöntemlerdeki eksiklikleri gidermek için Pritchard vd. (2000) tarafından model-temelli (model-based method) alternatif bir yöntem olan Structure geliştirilmiştir. Structure populasyon yapısını ve populasyonların genetik mesafe ayrımını göstermede oldukça etkilidir. Structure Bayesian yaklaşımı ile K sayısı kadar populasyonda her bir lokusta tahmin edilen allel frekansları kullanılarak populasyonun genetik yapısını belirlemekte ve çok sayıda lokus bakımından belirlenen genotiplerden yararlanarak birbirleriyle ilişkili olan bireyleri ait oldukları populasyonlara doğru bir şekilde kümelemektedir. Structure 2.2. programında mikrosatelit, çoğaltılmış uzunluk parça polimorfizmi (AFLP), restriksiyon uzunluk parça polimorfizmi (RFLP) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNPs) marker yöntemlerinden elde edilen veriler kullanılmaktadır (Falush vd. 2007). Populasyon yapısı ise Structure 2.2. (Pritchard vd. 2000) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.14. SNP haplotiplerin belirlenmesi ve istatistik analizleri

Cytb ve COI gen bölgelerine ait primerler kullanılarak her populasyondan rastgele seçilen on adet bireyin amplifikasyonu yapılmıştır. Agaroz jelde görüntülendikten sonra her gruptan beş bireyin DNA dizi analizleri tamamlanmıştır. COI ve cytb gen bölgelerine ait sekanslar ClustalX2 programı (Larkin vd. 2007) kullanılarak hizalanmıştır. Bu hizalamada insersiyonlar veya delesyonlar yoktur. Diziler eksik verileri tamamlamak için aynı uzunlukta kesilmişlerdir (COI 658 bp ve cytb 433 bp). Böylece, sekans cihazından kaynaklanan hatalı okunan bölgeler varsa düzeltilmiştir. Ardından çalışılan mtDNA gen bölgelerinin bombus arılarına ait olup olmadığı BLAST 2.2.20 (Zhang vd. 2000) yazılımı ile kontrol edilmiştir. Her bir örneğin kimliği ve primerlerin doğru sonuçlar verdiğinin kesinleştirilmesinden sonra iki gen bölgesi için de tüm sekans bilgileri MEGA6 programına (Tamura vd. 2013) yüklenerek DNA dizi hizalaması yapılmıştır. Hatalı sonuçlar veren diziler analizden çıkartılmıştır. SNP bölgelerinin tespiti için sekanslar DnaSP v.5 (Rozas vd. 2010) yazılımına yüklenmiş ve haplotipler oluşturulmuştur. Örneklem yerleri arasındaki populasyonların haplotip çeşitliliği (h), nükleotit çeşitliliği (π) ile nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değeri bu yazılım kullanılarak hesaplanmıştır. Daha sonra haplotip bilgileri Arlequin 2.00 (Schneider vd. 2000) yazılımında istatistik analizler için kullanılmıştır. İstatistik analizleri sonucunda proje materyali olan 14 *B. terrestris* populasyonuna ait grup içi ve gruplar arası genetik varyasyonlar (F-istatistikleri) ve

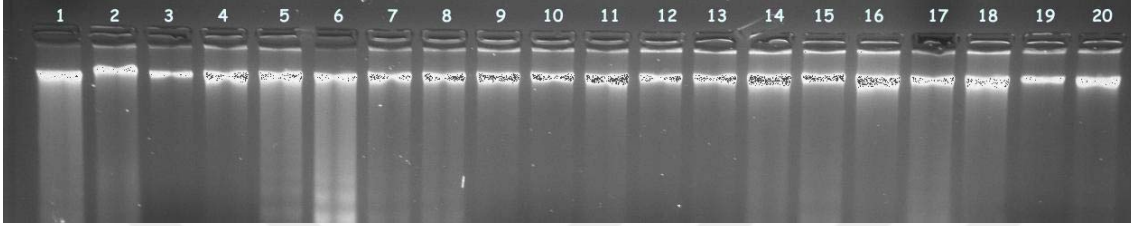
genetik mesafeler hesaplanmıştır. Çalışılan populasyonların birbirlerine olan genetik mesafe bilgileri SplitsTree 4.0 (Huson ve Bryant 2006) yazılımına yüklenerek filogenetik analizler yapılmış ve Neighbour-Joining (NJ) ağacı oluşturulmuştur. NJ ağacının oluşturulmasında *B. lucorum voucher* (Genbank erişim numarası: JQ843492.1) dış grup (OG) olarak kullanılmıştır. Böylece, proje materyalini oluşturan farklı lokasyona ait 14 populasyon arasındaki filogenetik ilişkiler mtDNA COI ve cytb gen bölgeleri bakımından belirlenmiştir.

Doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları içindeki her bireyin evrimsel atasal kökeninin saptanması amacıyla ise, Tamura-Nei modeline dayanan Maksimum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmıştır (Tamura ve Nei 1993). Bu yöntemde de NJ dendrogramında olduğu gibi *B. lucorum* (OG) dış grup olarak seçilmiştir. COI gen bölgesi için 66 örneğe ait 633 bç'lik nükleotit sekansı ve cytb bölgesi için 68 örneğe ait 428 bç'lik nükleotit sekansı kullanılarak MEGA X programında ağaçlar oluşturulmuştur (Kumar vd. 2018). Ağaç ölçeğe göre çizilmiş ve dal uzunlukları pozisyon başına yer değiştirme sayısı ile ölçülmüştür. Buna göre en iyi sonucun elde edildiği ilk ağaç ya da ağaçlar, NJ ve BioNJ algoritmalarının Maksimum Composite Likelihood (MCL) yaklaşımını kullanarak, tahmin edilen ikili mesafe matrisine uygulanması ile elde edilen en yüksek logaritmik olasılıklı ağaç seçilmiştir.

4. BULGULAR

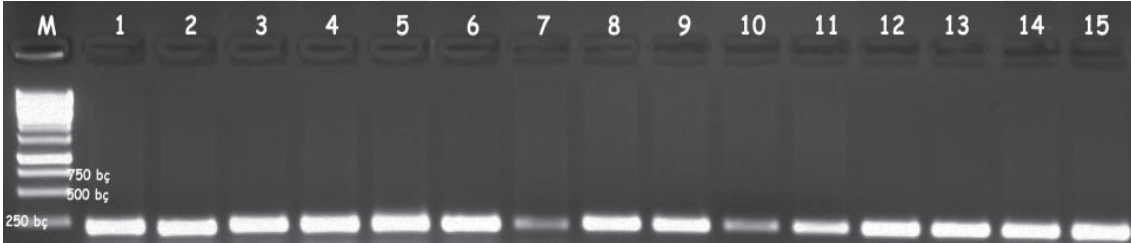
4.1. DNA İzolasyonu ve PCR İşleminde Elde Edilen Bulgular

Chelex 100 (Walsh vd. 1991) ve CTAB metotları (Hall 1990) optimize edilerek gerçekleştirilen DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığı %1'lik agaroz jel kullanılarak kontrol edilmiştir (Şekil 4.1). Ardından spektrofotometre cihazıyla izole edilen DNA'ların miktar ve kaliteleri kontrol edilmiştir. PCR uygulaması için DNA miktarları 50 ng/μl miktarına ayarlanmıştır.



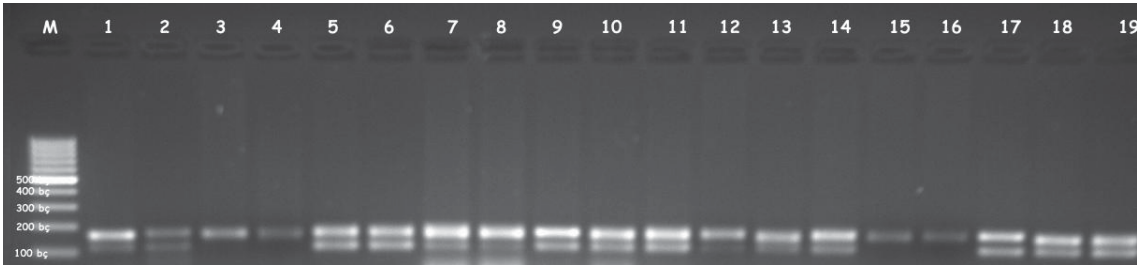
Şekil 4. 1. *Bombus terrestris* arılarından izole edilen DNA'lara ait agaroz jel görüntüsü

Araştırmada belirtilen mtDNA gen bölgeleri ve 20 mikrosatelit lokusta istenilen bölgeleri çoğaltmak amacıyla izole edilen DNA'lara Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.5'de bildirilen primerler ile PCR işlemi uygulanmıştır. PCR işlemi sonrasında oluşan amplifikasyon ürünlerinin kontrolü için agaroz jel kullanılmıştır. Elde edilen bazı agaroz jel görüntüleri Şekil 4.2. - 4.6.'da verilmiştir.



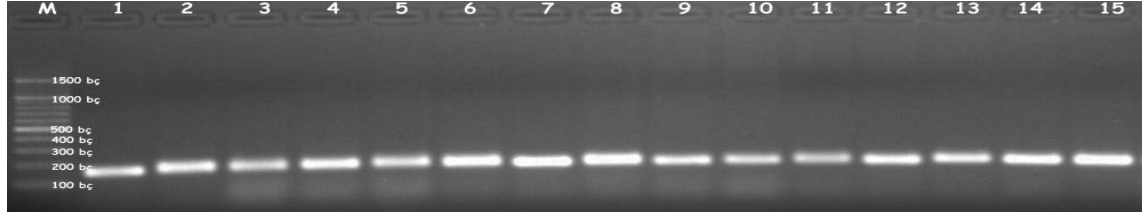
Şekil 4. 2. B118 lokusu PCR jel görüntüsü

M: Marker (Thermo 1 kb; Kat. No: SM0311); %2'lik agaroz jel



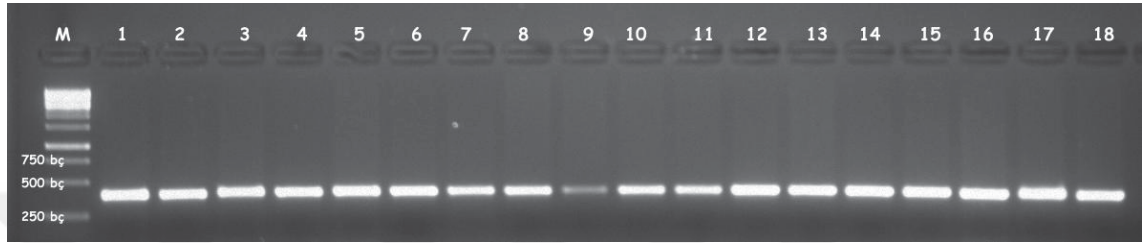
Şekil 4. 3. BT10 lokusu PCR jel görüntüsü

M: Marker (Thermo 100 bp; Kat. No: SM0242); %2'lik agaroz jel



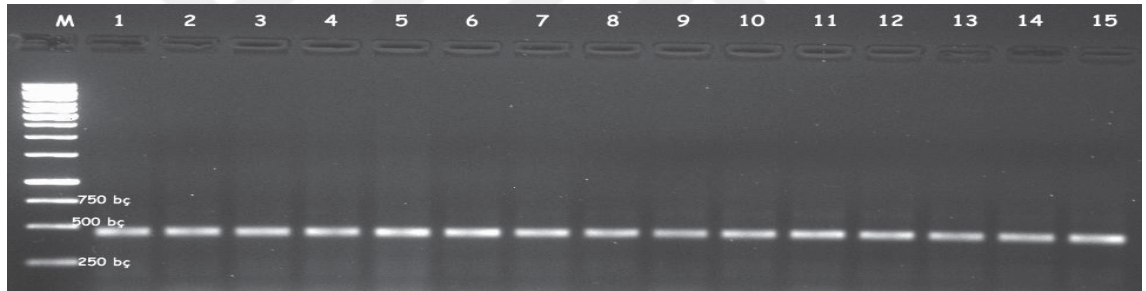
Şekil 4. 4. B100 lokusu PCR jel görüntüsü

M: Marker (Thermo 100 bp; Kat. No: SM0242); %2'lik agaroz jel



Şekil 4. 5. BTMS0082 lokusu PCR jel görüntüsü

M: Marker (Thermo 1 kb; Kat. No: SM0311); %2'lik agaroz jel

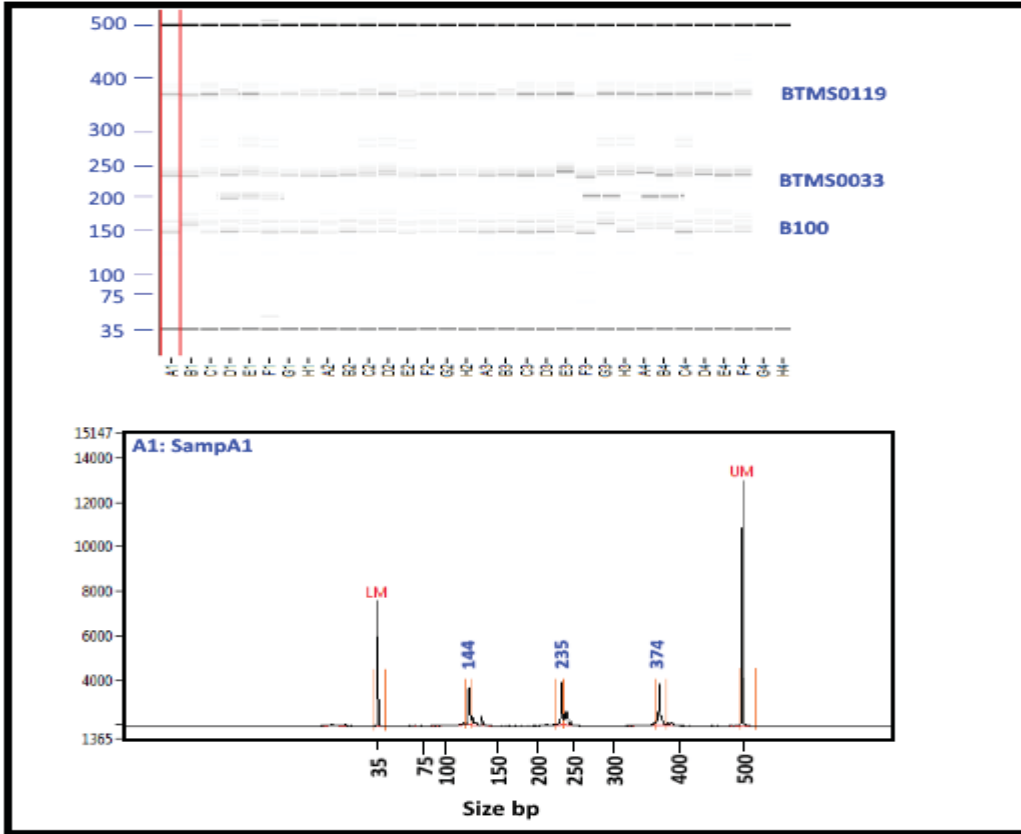


Şekil 4. 6. mtDNA cytb gen bölgesi PCR jel görüntüsü

M: Marker (Thermo 1 kb; Kat. No: SM0311); %1.5'luk agaroz jel

4.2. Mikrosatellit Analizlerinden Elde Edilen Bulgular

Çalışma kapsamında toplanan bombus işçi arı örneklerine ait DNA'lar üzerindeki mikrosatellit lokuslar (tekrarlı bölgeler) PCR ile çoğaltıldıktan sonra, genotipleri tespit etmek için PCR ürünlerinin büyüklükleri fragment analiz cihazında belirlenmiştir. Çizelge 3.7.'de belirtilen grupların fragment analiz cihazında okutulmasıyla populasyonların tamamının 20 lokus bakımından genotipleri tespit edilmiştir. Örneğin Şekil 4.7.'de Grup 9 için (B100, BTMS0033, BTMS0119) elde edilen jel ve pik görüntüsü verilmiştir. Bu görüntüdeki örneğin üç lokus bakımından homozigot olduğu ve büyüklükleri Şekil 4.7.'de görülmektedir.



Şekil 4. 7. Fragment analiz cihazında okumalara ait bir görüntü (B100 mikrosatelit lokusu bakımından 144/144 genotipine, BTMS0033 mikrosatelit lokusu bakımından 235/235 genotipine ve BTMS0119 mikrosatelit lokusu bakımından 374/374 genotipine sahip bir *B. terrestris* işçi arı genotipinin fragment analizi ile belirlenmesi).

4.2.1. Genetik Çeşitlilik Parametreleri

4.2.1.1. Locus seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri

Doğal ve ticari *Bombus terrestris* populasyonlarında 20 mikrosatelit lokusta fragment analizi sonuçlarına göre hesaplanan allel (gen) frekansları (Xi) Ek 1-20 arasında verilmiştir. Çalışılan 14 populasyonda 20 mikrosatelit lokus için hesaplanan genetik varyasyon parametreleri (AG, Na, Ne, Ho, He, PIC) ve akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) değerleri Ek 21-34 arasında verilmiştir. Benzer olarak genetik çeşitlilik parametreleri ve Fis değerleri gruplar seviyesinde [Grup 1 (TP-1-7); Grup 2 (AK, KM, DM ve GB); Grup 3 (TM, BB ve FS)] Ek 35-37 arasında gösterilmiştir. Çizelgeler incelendiğinde 14 populasyon için çalışılan 20 mikrosatelit lokusun polimorfik olduğu görülmektedir. Bu durum çalışma yapılan populasyonlardaki mevcut genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılmasında lokus seçiminin doğru yapılmış olduğunu göstermektedir. İncelenen her bir lokusta tespit edilen allel frekansları (Xi), gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri ile PIC değerleri ve Wright (1978)'ın homozigotlaşma ya da bir başka deyişle akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) değerleri aşağıda tek tek özetlenmiştir.

B100 lokusunda 14 populasyon için allel genişliği (AG) 144-180 arasında değişen 19 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. 154, 156, 158, 160, 162, 164 ve 172 bç büyüklüğündeki allelerinin yaygın olduğu görülmüştür. Belirlenen diğer allellerin gen frekansları ortalama olarak çok düşük (0.050 ve daha altında) seviyelerde bulunmaktadır. Tespit edilen allellerin gen frekansları 0.016-0.350 seviyelerindedir (Ek-1). Tüm populasyonlar bir arada değerlendirildiğinde B100 lokusu için etkili allel sayısının (Ne) 14.66, gözlenen heterozigotluk değerinin (Ho) 0.801, beklenen heterozigotluk değerinin (He) 0.933, PIC değerinin 0.928 ve Fis değerinin ise 0.141 olarak hesaplandığı görülmektedir (Çizelge 4.1).

BTMS0033 lokusu bakımından 14 populasyonda allel genişlikleri (AG) 196-235 bç şeklinde değişen 12 farklı allel (Na) bulunmuştur. Çalışılan tüm populasyonlarda 205, 208, 211, 214 ve 217 bç'lik alleller yaygın iken 226 ve 235 bç'lik allellerin daha nadir olduğu görülmektedir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.444 aralığındadır (Ek-2). Çizelge 4.1'de BTMS0033 lokusu için etkili allel sayısının (Ne) 5.973, gözlenen heterozigotluk değerinin (Ho) 0.705, beklenen heterozigotluk değerinin (He) 0.833, PIC değerinin 0.812 ve Fis değerinin ise 0.154 olduğu görülmektedir.

Tüm populasyonlar için BTMS0119 lokusunda 330-386 bç aralığında olmak üzere 22 farklı allel (Na) bulunurken, 340, 342, 344, 346, 348, 350 ve 354 bç'lik allellerin hemen hemen tüm populasyonlarda görüldüğü, 386 bç'lik allelin ise sadece Kumluca populasyonunda olduğu saptanmıştır. Bu lokus için tespit edilen allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.300 seviyelerinde değişmektedir (Ek-3). Etkili allel sayısı (Ne) 13.491, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.604, beklenen heterozigotluk (He) 0.927, PIC 0.921 ve Fis değeri 0.349 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

B119 lokusunda allel büyüklükleri 130, 132, 134 ve 136 bç olmak üzere sadece 4 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Çalışma yapılan populasyonların tamamında da bu dört allel bulunmaktadır. Tespit edilen allellerin gen frekansları 0.017-0.571 arasında değişmiştir (Ek-4). Çizelge 4.1'e bakıldığında, etkili allel sayısının (Ne) 3.334, gözlenen heterozigotluk değerinin (Ho) 0.440, beklenen heterozigotluk değerinin (He) 0.701, PIC değerinin 0.644 ve Fis değerinin ise 0.372 olarak hesaplandığı görülmektedir.

BT28 lokusunda 14 populasyon için allel genişlikleri (AG) 178-199 bç aralığında olmak üzere 8 farklı allel (Na) saptanmıştır. Alleller hemen hemen tüm populasyonlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle 187 ve 193 bç'lik alleller populasyonların tamamında tespit edilmiştir. Allellerin gen frekansları 0.021-0.556 aralığında değişmiştir (Ek-5). Bu lokus için etkili allel sayısı (Ne) 4.668, gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.275, beklenen heterozigotluk (He) 0.787, PIC 0.758 ve Fis değeri 0.650 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4.1).

BTMS0131 lokusu en fazla allel tespit edilen lokuslardan bir tanesidir. Bu lokus bakımından 14 populasyonda allel genişlikleri (AG) 206-328 bç arasında değişen toplam 27 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Tüm populasyonlarda 206, 208, 210, 322, 324, 326 ve 328 bç'lik alleller yaygın olarak bulunmaktadır. Tespit edilen diğer allellerin gen frekansları ortalama olarak çok düşük (0.050 daha altında) seviyelerde bulunmaktadır. 222 bç allel yalnızca TP5 populasyonunda saptanmıştır ve bu populasyon için özgün alleldir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.391

aralığında değişmektedir. (Ek-6). BTMS0131 lokusu için etkili allel sayısı (Ne) 10.580, gözlenen heterozigotluk değeri (Ho) 0.597, beklenen heterozigotluk değeri (He) 0.906, PIC değeri 0.900 ve Fis değeri ise 0.341 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

BT20 lokusunda 14 populasyon için allel genişlikleri (AG) 117-153 bç şeklinde değişen 17 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Çalışılan populasyonlarda 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135 ve 137 bç alleller yaygın olarak bulunmuştur. Tespit edilen allel frekansları 0.016 ile 0.346 arasında hesaplanmıştır (EK-7). Çizelge 4.1 incelendiğinde ise etkili allel sayısının (Ne) 11.85, gözlenen heterozigotluk değerinin (Ho) 0.819, beklenen heterozigotluk değerinin (He) 0.916, PIC değerinin 0.909 ve Fis değerinin de 0.106 olarak hesaplandığı görülmektedir.

B126 lokusunda 14 populasyon için allel genişlikleri (AG) 152-198 bç olarak değişen 20 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186 ve 188 bç büyüklüğündeki alleller populasyonlarda yaygın olarak görülmektedir. Belirlenen diğer allellerin gen frekansları ortalama olarak çok düşük (0.050 ve daha altında) seviyelerde bulunmaktadır. Çalışma yapılan populasyonların allel gen frekansları 0.017-0.238 seviyelerindedir (EK-8). Etkili allel sayısı (Ne) 14.383, gözlenen heterozigotluk değeri (Ho) 0.833, beklenen heterozigotluk değeri (He) 0.931, PIC değeri 0.926 ve Fis değeri 0.106 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

BTMS0045 lokusu bakımından 14 populusyona ait allel genişlikleri (AG) 214-292 bç şeklinde değişen 25 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Çalışılan tüm populasyonlarda 238, 240, 242, 244 ve 248 bç'lik alleller yaygın bulunurken 214, 218, 226, 274 ve 278 bç'lik alleller ise daha nadir görülmektedir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.268 aralığındadır (Ek-9). Çizelge 4.1'de etkili allel sayısının 12.955, gözlenen heterozigotluk değerinin 0.722, beklenen heterozigotluk değerinin 0.924, PIC değerinin 0.918 ve Fis değerinin ise 0.219 olarak hesaplandığı görülmektedir.

BT26 lokusu ile yapılan çalışmada 115-191 bç aralığında olmak üzere toplam 19 farklı allel (Na) bulunmuştur. 115, 119, 123, 127, 129, 131, 133, 135, 137 ve 141 bç'lik alleller hemen hemen tüm populasyonlarda saptanmıştır. Bulunan diğer allellerin gen frekansları 0.05 ve daha altındadır. Bu lokus için tespit edilen allellerin gen frekansları 0.017 ile 0.262 arasında değişmektedir (Ek-10). BT26 lokusu için Ne sayısı 15.785, Ho değeri 0.884, He değeri 0.938, PIC değeri 0.933 ve Fis değeri 0.057 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

B96 lokusu bakımından 14 populusyonda allel genişlikleri (AG) 224-246 bç olmak üzere 10 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Çalışma yapılan populasyonların tamamında 230, 232, 234, 236, 238 ve 240 bç alleller yaygın olarak bulunmaktadır. Tespit edilen allellerin gen frekansları 0.017-0.396 seviyelerindedir (Ek-11). Çizelge 4.1'e bakıldığında, etkili allel sayısının 7.681, gözlenen heterozigotluk değerinin 0.455, beklenen heterozigotluk değerinin 0.871, PIC değerinin 0.856 ve Fis değerinin ise 0.477 olarak hesaplandığı görülmektedir.

BT06 lokusunda 14 populasyon için saptanan allel genişlikleri (AG) 136-172 bç aralığındadır ve bu lokusta 18 farklı allel (Na) belirlenmiştir. 142, 144, 146, 148, 150, 152 ve 156 bç'lik alleller neredeyse tüm populasyonlarda yaygın olarak bulunmaktadır.

Bulunan allellerin gen frekansları 0.016-0.333 seviyelerinde hesaplanmıştır (Ek-12). Bu lokus için etkili allel sayısı 10.575, gözlenen heterozigotluk 0.725, beklenen heterozigotluk 0.906, PIC değeri 0.898 iken Fis değeri 0.201 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

B124 lokusunda 14 populasyon için allel genişliği 230-282 bp arasında değişen 24 farklı allelden (Na) belirlenmiştir. Çalışılan populasyonlarda 254, 256, 258, 260, 262, 264 ve 266 bp alleller yaygın olarak bulunmuştur. Ayrıca 230 bp büyüklüğündeki allel BB populasyonu için özgündür. Tespit edilen allel frekansları 0.017 ile 0.255 arasında hesaplanmıştır (EK-13). B124 lokusu için Ne sayısı 16.988, Ho değeri 0.860, He değeri 0.942, PIC değeri 0.938 ve Fis değeri de 0.087 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1).

En fazla allelin tespit edildiği bir diğer lokus BT09'dur. Bu lokus bakımından 14 populasyonda allel genişliği 124-186 bp arasında değişen 27 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Tüm populasyonlarda 158, 162, 164, 166, 168, 170, 172 ve 174 bp'lik alleller yaygın diğer allellerin ise daha nadir görüldüğü tespit edilmiştir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.250 aralığında değişmektedir (Ek-14). Çalışmada BT09 lokusu için etkili allel sayısı 19.996, gözlenen heterozigotluk değeri 0.810, beklenen heterozigotluk değeri 0.951, PIC değeri 0.948 ve Fis değeri ise 0.148 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

B118 lokusunda 14 populasyon için allel genişlikleri 183-243 bp olarak şekilde değişen 22 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221 ve 213 bp büyüklüğündeki alleller yaygın olarak bulunmuştur. Belirlenen diğer allellerin gen frekansları ortalama olarak çok düşük (0.050 ve daha altında) seviyelerde bulunmaktadır. Çalışma yapılan populasyonların allel frekansları ise 0.016 - 0.265 seviyelerindedir (Ek-15). Etkili allel sayısı 14.180, gözlenen heterozigotluk değeri 0.782, beklenen heterozigotluk değeri 0.930, PIC değeri 0.925 ve Fis değeri 0.159 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

B132 lokusu bakımından 14 populusyona ait allel genişlikleri 145-211 bp şeklinde değişen 23 farklı allel (Na) tespit edilmiştir. Çalışılan tüm populasyonlarda 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173 ve 175 bp'lik alleller yaygın bulunurken, 211 bp büyüklüğündeki allel yalnızca AK populasyonunda görülmektedir. Saptanan allellerin gen frekansları 0.016 ile 0.300 aralığında değişmektedir (Ek-16). Çizelge 4.1'de etkili allel sayısının 12.089, gözlenen heterozigotluk değerinin 0.830, beklenen heterozigotluk değerinin 0.918, PIC değerinin 0.911 ve Fis değerinin 0.096 olarak hesaplandığı görülmektedir.

B11 lokusunda 140-176 bp aralığında olmak üzere toplam 18 farklı allel (Na) bulunmuştur. 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 ve 168 bp'lik alleller hemen hemen tüm populasyonlarda saptanmıştır. Bulunan diğer allellerin gen frekansları ortalama olarak çok düşük (0.050 ve daha altında) seviyelerdedir. Bu lokus için tespit edilen allellerin gen frekansları 0.017 ile 0.420 arasında değişmektedir. Ayrıca 140 bp'lik allel sadece BB populasyonunda tespit edilmiştir ve bu populasyon için özgün alleldir (Ek-17). Ne sayısı 11.834, Ho değeri 0.636, He değeri 0.916, PIC 0.909 ve Fis değeri 0.306 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

BTMS0082 lokusu bakımından 14 populasyonda allel genişlikleri 371-421 bç arasında değişen 11 farklı allel (Na) saptanmıştır. Çalışma yapılan populasyonların tamamında 396, 401, 406 ve 411 bç alleller yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca bu lokusta bulunan üç özgün allel belirlenmiştir. 371 bç'lik allel BB populasyonunda, 376 bç'lik allel TP3 populasyonunda ve 421 bç büyüklüğündeki allel ise TP5 populasyonunda özgündür. Tespit edilen allellerin gen frekansları 0.020-0.725 aralığında değişmektedir (Ek-18). Çizelge 4.1'e bakıldığında, etkili allel sayısının 3.772, gözlenen heterozigotluk değerinin 0.435, beklenen heterozigotluk değerinin 0.736, PIC değerinin 0.696 ve Fis değerinin ise 0.408 olarak hesaplandığı görülmektedir.

BT10 lokusunda 14 populasyon için saptanan allel genişlikleri 141-171 bç aralığında değişmektedir ve bu lokusta toplam 16 allel (Na) tespit edilmiştir. 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159 ve 161 bç'lik alleller neredeyse tüm populasyonlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bulunan allellerin gen frekansları 0.019-0.273 seviyelerinde hesaplanmıştır (Ek-19). Bu lokus için etkili allel sayısı 11.391, gözlenen heterozigotluk değeri 0.865, beklenen heterozigotluk değeri 0.913, PIC değeri 0.905 ve Fis değeri 0.052 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4.1).

BTMS0124 lokusu için tüm örneklerde allel genişlikleri 240-278 bç arasında değişirken 18 farklı allel (Na) belirlenmiştir. Çalışılan populasyonlarda 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268 ve 270 bç alleller yaygın olarak bulunmuştur. Saptanan diğer allellerin gen frekansları çok düşük (0.050 ve daha altında) seviyelerde bulunmaktadır. Ayrıca 278 bç büyüklüğündeki allel sadece FS populasyonu için özgündür. Tespit edilen allel frekansları 0.018 ile 0.452 arasında hesaplanmıştır (EK-20). Çizelge 4.1 incelendiğinde ise etkili allel sayısının 10.430, gözlenen heterozigotluk değerinin 0.543, beklenen heterozigotluk değerinin 0.905, PIC değerinin 0.896 ve Fis değerinin de 0.400 olarak hesaplandığı görülmektedir.

Çizelge 4. 1. Tüm bireylerde 20 lokus için genetik çeşitlilik parametreleri. Örnek sayısı (N), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	373	144-180	19	14.660	0.801	0.933	0.928	0.141
BTMS0033	370	196-235	12	5.973	0.705	0.833	0.812	0.154
BTMS0119	374	330-386	22	13.491	0.604	0.927	0.921	0.349
B119	361	130-136	4	3.334	0.440	0.701	0.644	0.372
BT28	330	178-199	8	4.668	0.275	0.787	0.758	0.650
BTMS0131	358	206-328	27	10.580	0.597	0.906	0.900	0.341
BT20	344	117-153	17	11.850	0.819	0.916	0.909	0.106
B126	354	152-198	20	14.383	0.833	0.931	0.926	0.106
BTMS0045	378	214-292	25	12.955	0.722	0.924	0.918	0.219
BT26	355	115-191	19	15.785	0.884	0.938	0.933	0.057
B96	349	224-246	10	7.681	0.455	0.871	0.856	0.477
BT06	320	136-172	18	10.575	0.725	0.906	0.898	0.201
B124	316	230-282	24	16.988	0.860	0.942	0.938	0.087
BT09	343	124-186	27	19.996	0.810	0.951	0.948	0.148
B118	336	183-243	22	14.180	0.782	0.930	0.925	0.159
B132	366	145-211	23	12.089	0.830	0.918	0.911	0.096
B11	322	140-176	18	11.834	0.636	0.916	0.909	0.306
BTMS0082	312	371-421	11	3.772	0.435	0.736	0.696	0.408
BT10	313	141-171	16	11.391	0.865	0.913	0.905	0.052
BTMS0124	320	234-278	18	10.430	0.543	0.905	0.896	0.400
Ortalama ± St. Sapma			18.300± 6.342	11.331± 4.432	0.681± 0.070	0.888± 0.071	0.877± 0.084	0.234

4.2.1.2. Populasyon seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri

Çalışılan her bir populasyonda, 20 mikrosatelit lokus için tespit edilen ve Ek 21-34'de gösterilen genetik varyasyon parametreleri (AG, Na, Ne, Ho, He, PIC) ile akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) aşağıda özetlenmiştir. Ayrıca 14 populasyonun her birinde çalışılan 20 mikrosatelit lokusa ait ortalamalar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Ticari populasyon 1 (TP1)'de en düşük allel sayısı B119 lokusunda (4 allel) tespit edilirken, en yüksek allel sayısı BTMS0045 lokusunda (20 allel) tespit edilmiştir. Etkili allel sayısı bakımından değerlendirildiğinde bu populasyondaki varyasyonun tanımlanmasında en az etkisi olan lokusların B119, BT28, B11 ve BTMS0082 iken (2.435-3.633 aralığında), en fazla etkisi olan allellerin ise, BT20, B118, BT10, B126 ve BTMS0045 lokusları (11.215-14.857 aralığında) oldukları söylenebilir. Ayrıca tüm lokusların ortalaması olan 8.73'den büyük değerlere sahip BTMS0119, BT20, BT26, B124, BT09, B118, B132 ve BT10 lokusları da populasyonda varolan varyasyonu saptamada etkindir. TP1 populasyonunda en düşük Ho ve He değerleri BT28 lokusunda (sırasıyla 0.125 ve 0.602), en yüksek Ho ve He değerleri ise sırasıyla BT26 (0.920) ve BTMS0045 (0.951) lokuslarında tespit edilmiştir. TP1 popülasyonu için PIC değerlerinin 0.508 (BT28) ile 0.929 (BTMS0045) aralığında değiştiği saptanmıştır (Ek-21). Akrabalı yetiştirme katsayısının -0.358 (BTM0082) ile 0.796 (BT28) aralığında

değiştği çalışmada 20 lokus için ortalama Fis değeri 0.207 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Ticari populasyon 2’de (TP2) 20 lokus için genetik çeşitlilik parametreleri incelendiğinde gözlenen allel sayısının 4 (B119) ile 21 (BTMS0045) arasında değiştiği, 20 lokusa ait ortalamanın ise 12.350 olduğu görülmektedir. TP2 populasyonunda lokus başına etkili allel sayısı ortalaması 7.830 olarak belirlenmiş olup, bu değerin üzerinde olan B100, BT20, B126, BTMS0045, BT26, BT06, B124, BT09, B118 ve BT10 lokuslarının genetik varyasyonu daha fazla açıkladığı anlaşılmaktadır. TP2 populasyonundaki gözlenen heterozigotluk değerleri en düşük BT28 (0.222), B96 (0.344) ve B119 (0.375) lokuslarında tespit edilirken, en yüksek değer BT26 lokusunda (1.00) saptanmıştır. Çalışmada en düşük He değeri 0.650 ile BT28 lokusunda hesaplanırken, en yüksek 0.950 ile BTMS0045 lokusunda hesaplanmıştır. Populasyonda 20 lokus için ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.695 ve 0.858 olarak belirlenmiştir. TP2’de tüm lokusların PIC değeri 0.50’nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Ortalama PIC değeri 0.826 olarak belirlenmiştir. Elde edilen PIC değerleri lokus seçiminin doğru olduğunu göstermektedir. Çalışmada incelenen mikrosatelit lokuslar için Fis değerleri 0.091 ile 0.663 aralığında değişirken ortalama Fis değeri 0.192 olarak hesaplanmıştır (Ek-22; Çizelge 4.2). Na, Ne, Ho ve He değerlerine bakıldığı zaman TP2 populasyonunda yüksek seviyelerde genetik varyasyon olduğu anlaşılmaktadır. Ancak Fis değerleri populasyonlarda homozigot fazlalığından ötürü akrabalık seviyesinin arttığına işaret etmektedir.

Ticari populasyon 3’de (TP3) gözlenen allel sayısı 4 (B119) ile 19 (B126, BTMS0045, B124) arasında, Ne sayısı ise 2.900 (BTMS0082) ile 14.493 aralığında değişmiştir. Lokus başına allel ve etkili allel sayıları sırasıyla 12.500 ve 8.440 olarak tespit edilmiştir. Etkili allel sayıları ortalamanın üzerinde olan B100, BT20, B126, BTMS0045, B124, BT09, B118, B132 ve B11 lokusları genetik çeşitliliğin belirlenmesinde bombus arılarında öncelikli olarak kullanılabilir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri en düşük BT28 (0.318), BTMS0119 (0.413) ve B119 (0.538) lokuslarında hesaplanırken, en yüksek olarak B100 (0.933) ve B124 (1.000) lokuslarında hesaplanmıştır. 20 lokus için ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.753 ve 0.872 olarak belirlenmiştir. PIC değeri en düşük BTMS0082 lokusunda (0.595), en yüksek B126 lokusunda (0.927) tespit edilirken ortalama PIC değeri 0.838 olmuştur. TP3 populasyonu için çalışılan tüm lokusların oldukça bilgi verici olduğu anlaşılmaktadır. Fis değerlerinde ise -0.387 (BTMS0082 lokusu) ile 0.495 (BTMS0119 lokusu) aralığında değişirken ortalaması 0.139 olarak hesaplanmıştır (Ek-23; Çizelge 4.2). Çalışmada elde edilen değerlerden TP3 populasyonunda yüksek düzeyde genetik varyasyonun olduğu anlaşılmaktadır. Ancak elde edilen Fis değerleri Hardy-Weinberg dengesinin heterozigot eksikliğinden dolayı bozulduğunu ve homozigotluğun ya da akrabalığın populasyonda arttığını göstermektedir. TP1 ve TP2’ye oranla daha az olsa da akrabalık TP3 populasyonunda da yüksektir.

Ticari populasyon 4 (TP4)’de en düşük allel (4) B119 lokusunda saptanırken, en yüksek (18) BTMS0131 ve BT09 lokuslarında tespit edilmiştir. TP4 populasyonunda lokus başına gözlenen allel sayısı ortalaması 11.450 olarak belirlenmiştir. Etkili allel sayısı (Ne) bakımından değerlendirildiğinde bu populasyondaki varyasyonun tanımlanmasında en az etkisi olan lokusların B119, BT28, BT20, BTMS0045, B96 ve BTMS0082 (2.489-5.740 aralığında) iken, en fazla katkısı olan lokusların ise

BTMS0131, B124 ve BT09 (10.256-10.730 aralığında) olduğu söylenebilir. TP4 popülasyonu için lokus başına Ne 7.310 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca Ne sayısı 7.310'dan büyük değerlere sahip olan lokuslar popülasyondaki varyasyonu saptamada etkindir. Gözlenen heterozigotluk (Ho) sonuçlarına bakıldığında en düşük değerler BTMS0082, BT28 ve B119 lokuslarında (0.160-0.400 aralığında) saptanırken, en yüksek değerler B100 (1.000) ve B126 (0.963) lokuslarında bulunmuştur. Beklenen heterozigotluk (He) değerleri incelendiğinde ise, en düşük değer B119 lokusunda (0.608) iken en yüksek değer B124 lokusunda (0.924) tespit edilmiştir. TP4 popülasyonunda ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.663 ve 0.857 olarak hesaplanmıştır. TP4 popülasyonunda tüm lokuslarda PIC değeri 0.5'in üzerinde hesaplanırken, lokus başına ortalama PIC değeri 0.823 gibi çok yüksek bir değer bulunmuştur. Yapılan çalışmada en düşük Fis değeri -0.139 ile B100 lokusunda, en yüksek 0.553 ile BT28 lokusunda tespit edilirken, 20 lokusa ait ortalama 0.230 olarak bulunmuştur (Ek-24; Çizelge 4.2). TP4 popülasyonunda elde edilen genetik çeşitliliğin parametrelerine bakılarak genetik varyasyonun ilk üç popülasyona göre biraz daha düşük olmakla birlikte yeterli seviyelerde olduğu söylenebilir. Bu popülasyonda akrabalık seviyesi ilk üç popülasyona göre daha yüksektir ve popülasyonda homozigotluğun azaltılması için çeşitli önlemler alınmalıdır.

Ticari popülasyon 5'de (TP5) gözlenen allel sayısı 3 (B119) ile 17 (BTMS0131 ve BT09) aralığında değişirken, etkili allel sayısı 2.467 (B119) ile 11.755 (BT09) aralığında değişmiştir. Lokus başına gözlenen ve beklenen allel sayıları sırasıyla 11.250 ve 7.440 olarak hesaplanmıştır. Popülasyondaki en düşük gözlenen heterozigotluk değerleri BTMS0082 (0.238) ve BT28 (0.296) lokuslarında bulunurken, en yüksek değer B100 (1.000) lokusunda tespit edilmiştir. En düşük beklenen heterozigotluk değerlerinde B119 lokusunda (0.606) iken, en yüksek değer BT09 lokusunda (0.909) bulunmuştur. Tüm lokuslardan elde edilen Ho ve He ortalamaları ise sırasıyla 0.719 ve 0.858 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada elde edilen PIC değerleri 0.508 (B119) ile 0.908 (BT26) aralığında değişmiştir. Lokus başına PIC değeri 0.823 olarak hesaplanmıştır. Bu popülasyonun lokuslar bakımından en düşük Fis değeri B100 lokusunda (-0.138) iken en yüksek Fis değeri BT28 lokusundadır (0.613). Ortalama Fis değeri ise 0.165 olarak bulunmuştur (Ek-25; Çizelge 4.2). Elde edilen değerler diğer popülasyonlara benzer olarak TP5 popülasyonunda da yeterli genetik varyasyon ve yüksek akrabalığa işaret etmektedir. Ancak bu popülasyonda akrabalık seviyesi önlem alınmasını gerektirecek boyutlara henüz ulaşmamıştır.

Ticari olarak üretilen bir diğer popülasyonda (TP6) en düşük lokus başına allel sayısı B119 lokusunda (3) elde edilirken, en yüksek (17) BTMS0131 lokusunda saptanmıştır. TP6 popülasyonunda en düşük etkili allel sayısı 2.285 ile B119 lokusunda belirlenirken, en yüksek 13.114 ile BT09 lokusunda saptanmıştır. Lokus başına Na ve Ne sayıları sırasıyla 10.700 ve 7.530 olarak belirlenmiştir. TP6 popülasyonunda B119 lokusu (0.484) dışında tüm lokusların PIC değerleri 0.500'den büyüktür. PIC değeri 0.500'den büyük olan lokuslar genetik çeşitliliğin belirlenmesinde rahatlıkla kullanılabilir. Ancak PIC değerleri ile Ne sayılarının birlikte düşünülmesi daha güvenilir ve daha fazla bilgi verici olmaktadır. Bu nedenle lokus başına Ne 7.530'dan büyük olan lokuslar (B100, BTMS0131, B126, BT26, B124, BT09, B118, B11, BT10 ve BTMS0124) genetik çeşitliliğin belirlenmesinde öncelikli olarak kullanılabilir. TP6 popülasyonunda gözlenen heterozigotluk değeri 0.227 (BTMS0082) ile 0.965 (B100)

aralığında değişirken, beklenen heterozigotluk değerleri 0.574 (B119) ile 0.947 (BT09) aralığında değişmiştir. Lokus başına gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.689 ve 0.854 olarak tespit edilmiştir. Akrabalı yetiştirme katsayısı en düşük değer B100 lokusunda (-0.078) iken, en yüksek değer BTMS0082 lokusunda (0.684) saptanmıştır. Populasyonun ortalaması ise 0.197 olarak hesaplanmış ve homozigotluğun fazla olması nedeniyle Hardy-Weinberg dengesinden sapma olduğu görülmüştür (Ek-26; Çizelge 4.2).

Ticari populasyon 7'de (TP7) allel sayısı 4 ile (B119 ve BTMS0082) 18 (BT09) değişirken, lokus başına allel sayısı 10.600 olarak belirlenmiştir. Etkili allel sayısı ise 2.305 (BTMS0082) ile 13.552 (BT09) aralığında değişmiştir. Lokus başına N_e 7.405 olarak hesaplanmıştır. TP7 populasyonunda en düşük H_o ve H_e değerleri sırasıyla 0.304 (BTMS0082) ve 0.578 (BTMS0082) olarak tespit edilirken, en yüksek H_o ve H_e değerleri sırasıyla 1.000 (BT06) ve 0.945 (BT09) olarak belirlenmiştir. Çalışmada tüm lokuslarda elde edilen PIC değerleri 0.5'den büyüktür ve lokus başına ortalama PIC değeri 0.817 olarak tespit edilmiştir. Akrabalı yetiştirme katsayısı -0.185 (BT06) ile 0.685 (BT28) aralığında değişirken, populasyonda tüm lokuslardan elde edilen F_{is} değerlerinin ortalaması 0.152 olarak hesaplanmıştır (Ek-27; Çizelge 4.2). Yukarıdaki değerlere bakıldığında ticari populasyonlar arasında genetik çeşitlilik parametreleri benzer ve yeterli düzeyde gözükürken akrabalığın en düşük olduğu populasyonun TP7 olduğu görülmektedir.

Aksu (AK) populasyonunda en düşük allel ve etkili allel sayısı sırasıyla B119 (4) ve BT28 (2.813) lokuslarında elde edilmiştir. Bu populasyon için en yüksek allel sayısı (21) ve etkili allel sayısı (17.925) BT09 lokusunda bulunmuştur. Çalışmada lokus başına düşen allel ve etkili allel sayısı sırasıyla 11.700 ve 7.810 olarak tespit edilmiştir. Etkili allel sayısı (N_e) ortalama değer üzerinde (7.81) olan BTMS0131, BT20, B126, BT26, BT06, B124, BT09, B118, B132 ve BT10 lokusları genetik çeşitliliği belirlemede daha etkindir. Populasyondaki gözlenen heterozigotluk değeri en düşük BT28 (0.347) lokusunda saptanırken, en yüksek BT20 (0.928) lokusunda saptanmıştır. Beklenen heterozigotluk değeri ise en düşük BT28 (0.658) lokusunda iken, en yüksek BT09 (0.966) lokusunda saptanmıştır. AK populasyonunda ortalama H_o ve H_e değerleri sırasıyla 0.630 ve 0.857 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada AK populasyonunda 20 mikrosatelit lokus için elde edilen ortalama PIC değeri 0.821 gibi çok yüksek bir değerdir. Bu değer çalışılan lokusların genetik çeşitliliği göstermede yeterli olduğunu ve lokus seçiminin doğru yapıldığını işaret etmektedir. AK populasyonu için çalışılan lokuslar bakımından en düşük F_{is} değeri BT10 (-0.025) lokusunda iken, en yüksek F_{is} değeri B96 (0.692) lokusundadır. Ortalama F_{is} değeri ise 0.269 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre populasyonun homozigot fazlalığı ya da heterozigot eksikliğinden dolayı Hardy-Weinberg dengesinden saptığı görülmüştür (Ek-28; Çizelge 4.2). Bu değer populasyonda akrabalığın aşırı derecede arttığını işaret etmektedir.

Kumluca (KM) bombus arısı populasyonunda en düşük gözlenen allel sayısı ve etkili allel sayısı B119 ve BTMS0082 (4 allel) lokuslarında saptanırken, en yüksek gözlenen allel sayısı BT09 (20 allel) lokusunda saptanmıştır. Etkili allel sayısı ise 2.666 (BTMS0082) ile 13.761 (BT09) aralığında değişmiştir. Lokus başına düşen gözlenen ve etkili allel sayıları sırasıyla 10.550 ve 7.140 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada en düşük gözlenen heterozigotluk değeri BT28 lokusunda (0.176), en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri B132 lokusunda (0.944) belirlenirken ortalama H_o değeri 0.581

olarak hesaplanmıştır. KM populasyonunda He değerleri 0.648 (BTMS0082) ile 0.949 (B124) aralığında değişirken ortalama He 0.856 olarak bulunmuştur. Populasyona ait polimorfizm bilgi içeriği en düşük BTMS0082 lokusunda (0.571), en yüksek BT09 lokusunda (0.923) tespit edilmiş olup, 20 lokus için ortalaması 0.812 olarak hesaplanmıştır. Akrabalı yetiştirme (Fis) değerlerinde ise en düşük değer B100 lokusunda (-0.078) iken, en yüksek değer BTMS0082 lokusunda (0.684) tespit edilmiştir. Populasyonun Fis ortalaması 0.328 olarak hesaplanmıştır ve homozigotluğun fazla olması nedeniyle Hardy-Weinberg dengesinden sapma görülmüştür (Ek-29; Çizelge 4.2). Şu ana kadara çalışılan populasyonlar arasında Fis değeri en yüksek KM populasyonunda tespit edilmiş olup, akrabalık seviyesi bu populasyon için çok ciddi boyutlara ulaşmıştır.

Demre populasyonunda (DM) çalışılan 20 lokusta elde edilen sonuçlara göre en düşük allel sayısı B119 lokusunda (4 allel) en yüksek ise B132 lokusunda (17 allel) tespit edilmiştir. Etkili allel sayısına bakıldığında zaman en düşük allel sayısının 4.200 ile BT28 lokusunda, en yüksek Ne sayısının 12.571 ile B132 lokusunda hesaplandığı görülmektedir. Lokus başına düşen Na ve Ne sayıları ise sırasıyla 10.450 ve 7.290 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada PIC tüm lokuslarda 0.50'nin üzerindedir ve ortalama PIC değeri 0.825 olarak hesaplanmıştır. Etkili allel sayıları ve PIC değerleri bir arada değerlendirildiğinde genetik çeşitliliğin belirlenmesi için yapılacak çalışmalarda BTMS0131, BT20, BT26, B124, BT09, B118, B132, B11 ve BT10 lokuslarına öncelik verilebileceği görülmektedir. Çalışmada en düşük Ho ve He değerleri B119 (sırasıyla 0.142 ve 0.737) lokusunda, en yüksek Ho değeri BT26 ve B124 lokuslarında (1.000) ve en yüksek He değeri BT09 (0.931) lokusunda elde edilirken, ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.616 ve 0.865 olarak hesaplanmıştır. Akrabalı yetiştirme katsayısı en düşük BT26 lokusunda (-0.094), en yüksek B119 (0.810) lokusunda tespit edilirken ortalama Fis değeri 0.293 olarak bulunmuştur (Ek-30; Çizelge 4.2).

Geyikbayırı populasyonunda (GB) gözlenen allel sayıları 4 (B119) ile 15 (BT09) aralığında değişirken, etkili allel sayıları 1.801 (BTMS0082) ile 10.888 (BT09) aralığında değişmektedir. Lokus başına Na ve Ne sayısı sırasıyla 10.250 ve 6.73 olarak hesaplanmıştır. GB populasyonunda en düşük gözlenen heterozigotluk değeri BT28 lokusunda (0.100) tespit edilirken, en yüksek BT09 lokusunda (1.000) belirlenmiştir. He değerleri ise 0.456 (BTMS0082) ile 0.930 (BT09) aralığında değişmiştir. Ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.705 ve 0.842 olarak hesaplanmıştır. En düşük PIC değeri BTMS0082 lokusunda (0.414), en yüksek değer ise BT09 lokusunda (0.901) tespit edilmiştir. GB populasyonundaki en düşük akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) B132 lokusunda (-0.084) iken en yüksek Fis değeri BT28 lokusunda (0.880) belirlenmiştir. Tüm lokusların ortalama Fis değeri ise 0.166 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre populasyonun homozigotluk yönünde Hardy-Weinberg dengesinden saptığı görülmüştür (Ek-31; Çizelge 4.2).

Termesos (TM) populasyonunda en düşük gözlenen allel sayısı 4 ile B119 ve BTMS0082 lokuslarında, en yüksek ise 17 allel ile BT26 lokusunda elde edilmiştir. Lokus başına gözlenen allel sayısı 12 olarak hesaplanmıştır. Lokus başına ortalama etkili allel sayısının 8.212 olarak hesaplandığı çalışmada en düşük Ne BTMS0082 lokusunda (2.747), en yüksek BT26 lokusunda (12.676) hesaplanmıştır. TM populasyonunda tüm lokuslarda PIC değeri 0.50'den yüksektir ve ortalama PIC değeri 0.835 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere bakıldığında çalışılan tüm lokusların bombus

arılarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılabileceği ancak, N_e ortalamasının (8.212) üzerinde olan B100, BTMS0119, BT20, B126, BTMS0045, BT26, BT06, B124, BT09, B118, B132 ve BT10 lokuslarına öncelik verilmesi gerektiği görülmektedir. Çalışmada H_o değerlerinin 0.272 (BT28) ile 0.933 (B132) aralığında, H_e değerlerinin ise 0.649 (BTMS0082) ile 0.936 (BT26) aralığında değiştiği görülmektedir. Ortalama H_o ve H_e değerleri sırasıyla 0.683 ve 0.868 olarak hesaplanmıştır. TM populasyonunda elde edilen N_a , N_e , H_o ve H_e değerleri populasyondaki genetik çeşitlilik seviyesinin iyi olduğunu göstermektedir. TM populasyonunda çalışılan 20 mikrosatelit lokusta en düşük F_{is} değeri B132 lokusunda (-0.015), en yüksek ise BTMS0082 lokusunda (0.696) tespit edilirken ortalama F_{is} değeri 0.217 olarak hesaplanmıştır (Ek-32; Çizelge 4.2). Çalışılan diğer populasyonlara benzer olarak TM populasyonunda heterozigot eksikliğinden dolayı Hardy-Weinberg dengesinden sapmıştır. Ortalama F_{is} değerinin 0.20'nin üzerinde olması populasyonda yüksek düzeyde akrabalığa işaret etmektedir.

Bir diğer doğal populasyon olan Bayatbademler'de (BB) en düşük gözlenen allel sayısı B119 lokusunda (4 allel) tespit edilirken en yüksek BTMS0131 (20 allel) tespit edilmiştir. BB populasyonunda lokus başına düşen allel sayısı 12.300 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada en düşük etkili allel sayısı B119 lokusunda (2.431), en yüksek BT09 lokusunda (14.792) hesaplanırken, lokus başına düşen N_e 8.050 olarak saptanmıştır. Etkili allel sayısı (N_e) bakımından değerlendirildiğinde bu populasyondaki genetik varyasyonun belirlenmesinde en az etkili lokusların B119, BT28, BTMS0082 ve BTMS0124 iken, BT20, BT09, B124 ve BT26 gibi lokusların çok daha etkili olduğu söylenebilir. Ayrıca, N_e sayısı 8.05'den büyük değerlere sahip olan diğer lokuslarda populasyondaki varyasyonu saptamada etkilidir. Gözlenen heterozigotluk sonuçlarına bakıldığında en düşük değer BTMS0082 lokusunda (0.045), en yüksek değer B124 lokusunda (0.961) belirlenirken ortalama H_o değeri 0.697 olarak hesaplanmıştır. Beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinde ise en düşük değer B119 lokusunda (0.599), en yüksek değer BT09 lokusunda (0.949) saptanırken ortalama H_e değeri 0.855 olarak hesaplanmıştır. BB populasyonunda akrabalı yetiştirme katsayısı için en düşük değer BT10 lokusunda (-0.061), en yüksek değer ise BTMS0082 lokusunda (0.939) belirlenmiştir. 20 lokus için BB populasyonunda F_{is} ortalaması 0.188 hesaplanmıştır (Ek-33; Çizelge 4.2). BB populasyonunda elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri ile F_{is} değerleri diğer populasyonlara benzer olarak yeterli düzeyde genetik çeşitlilik ve akrabalığa işaret etmektedir.

Faselis populasyonunda (FS) gözlenen allel sayıları 4 (B119) ile 19 (BT09) aralığında değişirken, etkili allel sayıları 2.893 (B119) ile 15.015 (BT09) aralığında değişmiştir. Lokus başına düşen allel ve etkili allel sayıları sırasıyla 11.800 ve 8.080 olarak hesaplanmıştır. Tüm lokuslarda hesaplanan PIC değeri 0.50'nin üzerinde iken, ortalama PIC değeri 0.837 olarak saptanmıştır. Bu değerler birlikte düşünüldüğü zaman N_e değeri ortalamasının altında kalan BTMS0033, B119, BT28, BTMS0131, BT20, B96, BT06, BTMS0124 ve BTMS0082 lokuslarının genetik varyasyonu açıklamada daha az etkili olduğu diğer lokusların ise daha etkili olduğu düşünülebilir. FS populasyonunda en düşük ve en yüksek gözlenen heterozigotluk değerleri sırasıyla BT28 (0.230) ve BT10 (0.960) lokuslarında, en düşük ve en yüksek beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla B119 (0.666) ve BT09 (0.948) lokuslarında saptanmıştır. Ortalama H_o ve H_e değerleri sırasıyla 0.650 ve 0.837 olarak hesaplanmıştır. FS populasyonundaki en düşük akrabalı yetiştirme katsayısı BT10 lokusunda (-0.051), en yüksek BT28 lokusunda

(0.727) saptanırken, tüm lokusların ortalaması 0.255 olarak hesaplanmıştır (Ek-34; Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2. Populasyonlarda 20 lokus için genetik çeşitlilik parametreleri. Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ve Wright (1978)'in Akrabalı Yetiştirme Katasyıları (Fis)

Populasyon	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
TP1	12.25	8.73	0.685	0.859	0.823	0.207
TP2	12.35	7.83	0.695	0.858	0.826	0.192
TP3	12.50	8.44	0.753	0.872	0.838	0.139
TP4	11.45	7.31	0.663	0.857	0.823	0.230
TP5	11.25	7.44	0.719	0.858	0.823	0.165
TP6	10.70	7.53	0.689	0.854	0.816	0.197
TP7	10.60	7.40	0.729	0.856	0.817	0.152
AK	11.70	7.81	0.630	0.857	0.821	0.269
KM	10.55	7.14	0.581	0.856	0.812	0.328
DM	10.45	7.29	0.616	0.865	0.825	0.293
GB	10.25	6.73	0.705	0.842	0.802	0.166
TM	12.00	8.21	0.683	0.868	0.835	0.217
BB	12.30	8.05	0.697	0.855	0.820	0.188
FS	11.80	8.08	0.650	0.869	0.837	0.255
Ortalama	11.44	7.71	0.678	0.859	0.822	0.214

4.2.1.3. Grup seviyesinde genetik çeşitlilik parametreleri

Tez çalışmasında kullanılan *B. terrestris* populasyonları yetiştirme sistemleri ya da coğrafi lokasyonlarına göre üç gruba ayrılarak, bu gruplardaki genetik çeşitlilik parametreleri ile akrabalı yetiştirme katsayıları hesaplanmıştır. İlk grupta ticari firmalar tarafından yetiştirilen yedi populasyon (TP1-7), ikinci grupta yoğun sera yetiştiriciliği yapılan bölgelere yakın yerlerden toplanan dört populasyon (AK, KM, DM ve GB) yer alırken son grupta ise sera bölgelerinden uzak doğal olarak yaşamını sürdürdüğü düşünülen üç populasyon (TM, BB, FS) yer almaktadır. Bu üç grupta elde edilen sonuçlar Ek 35-37 arasında gruplar seviyesinde verilmiştir.

Ticari olarak yetiştirilen populasyonlardan oluşan Grup 1'de en düşük gözlenen allel B119 lokusunda (4 allel) saptanırken, en yüksek gözlenen allel BTMS0131 lokusunda (27 allel) saptanmıştır. Çalışmada 1. grupta tespit edilen etkili allel sayısı 3.334 (B119) ile 19.180 (BT09) aralığında değişmektedir. Lokus başına düşen allel ve etkili allel sayısı sırasıyla 17.650 ve 10.990 olarak hesaplanmıştır. Grup 1 için elde edilen en düşük gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.268 (BT28) ve 0.702 (B119) olarak saptanırken, en yüksek Ho ve He değerleri sırasıyla 0.918 (B100) ve 0.950 (BT09) olarak saptanmıştır. Grup 1 için 20 lokusta hesaplanan ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.704 ve 0.888 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada en düşük PIC değeri 0,643 (B119), en yüksek PIC değeri 0.945 (BT09) olarak bulunurken, ortalama PIC değeri 0.873 olarak belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen PIC değerleri seçilen tüm lokusların genetik çeşitliliği belirlemek için uygun olduğunu göstermektedir. PIC değerleri ile Ne sayıları birlikte değerlendirildiğinde B100, BTMS0119, B126, BTMS0045, BT26, BT06, B124, BT09, B118, B132 lokuslarının

genetik varyasyonu açıklamada daha etkili olduğu görülmektedir. Çalışmada Na, Ne, Ho ve He değerleri Grup 1’de yeterli seviyelerde genetik varyasyon olduğuna işaret etmektedir. Ancak grup 1’de 20 lokusta elde edilen ortalama Fis değeri (0.207) akrabalığın yüksek olduğunu göstermektedir (Ek-35).

Seralara yakın bölgelerden toplanan populasyonlardan oluşan Grup 2’de gözlenen allel sayıları 4 (B119) ile 26 (BT09) arasında değişirken, lokus başına ortalama gözlenen allel sayısı 15.650 olarak hesaplanmıştır. Bu grupta etkili allel sayıları 3.414 (BTMS0082) ile 18.703 (BT09) aralığında değişirken, lokus başına ortalama etkili allel sayısı 9.550 olarak hesaplanmıştır. Grup 2’de gözlenen heterozigotluk değerleri en düşük BT28 lokusunda (0.246), en yüksek B132 lokusunda (0.933) saptanmıştır. En düşük beklenen heterozigotluk değeri BTMS0082 lokusunda (0.712) tespit edilirken, en yüksek BT09 lokusunda (0.952) belirlenmiştir. Ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.637 ve 0.876 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada tüm lokuslar için PIC değerleri 0.50’nin üzerinde iken, ortalama PIC değeri 0.857 olarak bulunmuştur. Bu gruptaki populasyonlar için en düşük homozigotlaşma katsayısı (Fis) B132 lokusunda (-0.018) iken, en yüksek Fis değeri BT28 lokusunda (0.684) tespit edilmiştir. Grup 2 için çalışılan 20 lokustan elde edilen ortalama Fis değeri 0.274 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç grup 2’nde homozigotluk yönünde Hardy-Weinberg dengesinden saptığını göstermiştir (Ek-36).

Sera bölgelerine uzak doğal yaşam alanlarındaki populasyonlardan oluşan grup 3’de gözlenen allel sayısı en düşük B119 lokusunda (4 allel), en fazla BTMS0131 lokusunda (26 allel) tespit edilirken, lokus başına allel sayısı 15.700 olarak saptanmıştır. Etkili allel sayısı 3.047 (B119) ile 17.480 (BT09) arasında değişirken 20 lokusun ortalaması 9.920 olarak hesaplanmıştır. PIC içeriği çalışılan tüm lokuslarda 0.50’den yüksektir ve ortalaması 0.861 olarak belirlenmiştir. Ne ve PIC değerleri bu gruptaki varyasyonun tanımlanmasında en az etkisi olan lokusların BTMS0033, B119, BT28, BTMS0082 ve BTMS0124 iken, en fazla etkisi olan allelerin ise, Ne değeri yüksek olan BT09, BT26, B124, B126, BTMS0119 ve B118 lokuslarının olduğunu işaret etmektedir. Grup 3’de gözlenen heterozigotluk değeri 0.283 (BTMS0082) ile 0.929 (BT10) aralığında değişirken, beklenen heterozigotluk değerleri 0.675 (B119) ile 0.948 (BT09) aralığında değişmiştir. Ortalama Ho ve He değerleri sırasıyla 0.678 ve 0.880 olarak hesaplanmıştır. Akrabalı yetiştirme katsayısının en düşük BT10 lokusunda (-0.014), en yüksek ise BT28 lokusunda (0.597) olduğu görülmüştür. Grup 3 için çalışılan 20 mikrosatelit lokusta Fis ortalaması 0.230 hesaplanmıştır (Ek-37).

4.2.2. F-istatistikleri (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}), gen akışı (N_m) ve özgün allel değerleri

F-istatistikleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST}) ile F_{ST} değerine bağlı olarak hesaplanan gen akışı değerleri (N_m) Çizelge 4.3’de verilmiştir. F-istatistikleri aynı tür ya da ırka ait farklı populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin ve populasyon yapısının tanımlanmasında kullanılan önemli yöntemlerden biridir.

Çizelge 4. 3. *B. terrestris* populasyonlarında F-istatistikleri (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST})

Lokus	N	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm
B100	373	0.073	0.139	0.071	3.285
BTMS0033	370	0.117	0.166	0.056	4.237
BTMS0119	374	0.296	0.346	0.071	3.250
B119	361	0.337	0.376	0.058	4.028
BT28	330	0.635	0.656	0.057	4.178
BTMS0131	358	0.319	0.352	0.049	4.834
BT20	344	0.068	0.111	0.046	5.191
B126	354	0.077	0.108	0.034	7.222
BTMSO45	378	0.173	0.214	0.050	4.742
BT26	355	0.013	0.051	0.039	6.200
B96	349	0.442	0.484	0.075	3.075
BT06	320	0.155	0.203	0.056	4.184
B124	316	0.046	0.080	0.036	6.703
BT09	343	0.110	0.142	0.036	6.701
B118	336	0.117	0.151	0.038	6.351
B132	366	0.055	0.086	0.033	7.407
B11	322	0.264	0.312	0.066	3.541
BTMS0082	312	0.382	0.429	0.076	3.021
BT10	313	0.024	0.059	0.036	6.708
BTMS0124	320	0.361	0.408	0.073	3.161
Ortalama		0.203	0.244	0.053	4.901

F_{IT} değeri, tüm populasyonlardaki bireylerin ortak atadan geldiği düşünülerek tüm bireylerde hesaplanan akrabalı yetiştirme katsayısı ya da homozigotlaşma indeksidir. Çizelge 4.3’de görüldüğü üzere çalışılan lokusların tamamında elde edilen F_{IT} değeri pozitif bulunurken, 20 lokustan elde edilen F_{IT} değerlerinin ortalaması 0.244 olarak hesaplanmıştır. Alt populasyonlardaki akrabalığın göstergesi olan F_{IS} değeri, en düşük BT10 lokusunda (0.024), en yüksek BT28 lokusunda (0.635) hesaplanırken, ortalaması 0.203 olarak belirlenmiştir. Alt populasyondaki genetik farklılaşmanın göstergesi olan F_{ST} ise, çalışılan 20 lokus için 0.033 (B132) ile 0.076 (BTMS0082) arasında değer almıştır. Ortalama F_{ST} değeri 0.053 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hem *B. terrestris* alt populasyonlarda hemde bütün bireyler tek populasyon olarak düşünüldüğünde heterozigot eksikliğinden kaynaklı akrabalık seviyesinin arttığını göstermektedir. Genetik farklılaşmanın ise yüksek seviyelerde olmadığı görülmektedir. *B. terrestris* populasyonları arasındaki gen akışı değerleri en düşük BTMS0082 lokusunda (3.02) en yüksek B132 (7.41) hesaplanırken, ortalama Nm 4.90 gibi yüksek bir değer bulunmuştur. Yani her 100 bireyden 5 tanesi populasyonlar arasında göç etmiştir.

Sadece tek bir populasyonda bulunan alleller özgün allel olarak bilinmektedir. Populasyonlar arasındaki gen akışı arttıkça özgün allellerin sayısı azalmaktadır. Bir başka değişle göç eden bireyler populasyonlar arasındaki genetik farklılıkları dolayısıyla özgün allel sayısını azaltmaktadır. Yapılan çalışmada bulunan özgün alleller son derece azdır. EK-1’de verilen çizelgeler incelendiğinde BTMS0119 lokusunda 386 bç’lik allel KM populasyonu için, B118 lokusunda 183 bç’lik allel TP4 populasyonu

için, B132 lokusunda 211 bç'lik allel AK populasyonu için, BTMS0082 lokusunda 376 bç'lik allel TP3 populasyonu için ve BTMS0124 lokusunda 278 bç'lik allel FS populasyonu için özgündür. Ayrıca BB populasyonu için B124, B11 ve BTMS0082 lokuslarında özgün alleller tespit edilirken, TP5 populasyonu için de BTMS0131 ve BTMS0082 lokuslarında özgün alleller bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan düşük F_{ST} değeri, yüksek Nm (göç) değeri ve düşük özgün allel sayıları birbirini destekler niteliktedir.

4.2.3. Populasyonlar arası genetik farklılaşma

Gerçekleştirilen çalışmada *B. terrestris* populasyonları arasındaki genetik farklılaşmayı tespit etmek için Weir ve Cockerham (1984) tarafından geliştirilen ikişerli F_{ST} değerleri (Çizelge 4.4) hesaplanmıştır. Ayrıca Nei (1972)'nin standart genetik uzaklık (D) ve benzerlik değerleri hesaplanarak Çizelge 4.5'de gösterilmiştir.

Doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları için belirlenen ikişerli F_{ST} değerleri 0.014 ile 0.045 arasında değişmektedir. En düşük ikişerli F_{ST} değeri TP5 ve TP6 populasyonları arasında (0.014) tespit edilirken, en yüksek ikişerli F_{ST} değeri TP2 ve TP5 (0.045) arasında tespit edilmiştir. Ayrıca yedi ticari populasyon dışındaki populasyonlar arasında en düşük ikişerli F_{ST} değeri (0.017) TM ile BB populasyonları arasında en yüksek ikişerli F_{ST} değeri (0.038) AK ile GB populasyonları arasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Tüm populasyonlarda 20 mikrosatelit lokus için elde edilen ortalama ikişerli F_{ST} değeri 0.053 olarak belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen tüm ikişerli F_{ST} değerleri istatistiki açıdan önemli değildir ($p < 0.05$). Bu populasyonlarda genotipik yapıları arasında çalışılan 20 mikrosatelit lokus açısından önemli bir fark yoktur.

Çalışılan *B. terrestris* populasyonları arasındaki Nei'nin yansız genetik mesafe değerleri ile populasyonlar arasındaki genetik benzerlikler Çizelge 4.5'de gösterilmiştir. Çizelgede köşegenin üstündeki değerler genetik benzerliği, altındaki değerler ise genetik mesafeyi göstermektedir. Buna göre populasyonlar arasında en yakın (0.164) genetik mesafe TP5 ve TP6 populasyonları arasında, en uzak (0.667) genetik mesafe ise TP2 ve TP5 populasyonları arasında tespit edilmiştir. Benzer şekilde TP2 populasyonu ile TP6 populasyonu arasındaki genetik mesafe (0.633) ikinci en yüksek değerdir. Gerçekleştirilen çalışmada en yüksek genetik benzerlik (0.849) TP5 ve TP6 populasyonları arasında, en düşük (0.508) ise TP2 ve TP5 populasyonları arasında belirlenmiştir. Çünkü populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmalar azaldıkça genetik mesafe azalmakta ve genetik benzerlik artmaktadır. Bu anlamda elde edilen ikişerli F_{ST} , genetik uzaklık ve genetik benzerlik değerleri birbirini tamamlar niteliktedir.

Çizelge 4. 4. *B. terrestris* popülasyonları arasında elde edilen ikiyeşerli Fst değerleri

	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS
TP1	****													
TP2	0.021	****												
TP3	0.018	0.016	****											
TP4	0.035	0.040	0.032	****										
TP5	0.036	0.045	0.035	0.016	****									
TP6	0.039	0.044	0.035	0.015	0.014	****								
TP7	0.030	0.032	0.028	0.027	0.026	0.025	****							
AK	0.031	0.038	0.031	0.030	0.027	0.028	0.029	****						
KM	0.035	0.036	0.030	0.032	0.031	0.032	0.021	0.033	****					
DM	0.037	0.033	0.028	0.029	0.029	0.029	0.022	0.031	0.022	****				
GB	0.038	0.036	0.032	0.032	0.031	0.031	0.021	0.038	0.026	0.023	****			
TM	0.031	0.032	0.026	0.026	0.026	0.026	0.029	0.021	0.032	0.028	0.030	****		
BB	0.030	0.037	0.029	0.033	0.029	0.032	0.032	0.019	0.037	0.030	0.035	0.017	****	
FS	0.030	0.035	0.027	0.024	0.024	0.025	0.024	0.027	0.025	0.024	0.027	0.023	0.028	****

Not: TP1,2,3,4,5,6,7: Ticari Populasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis. (tüm ikiyeşerli F_{ST} değerlerinde p>0.05)

Çizelge 4. 5. Populasyonlar arasında genetik uzaklık (DA) ve genetik benzerlik değerleri

	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS
TP1	****	0.773	0.793	0.617	0.615	0.589	0.669	0.661	0.626	0.583	0.625	0.642	0.670	0.667
TP2	0.258	****	0.815	0.563	0.508	0.531	0.655	0.587	0.624	0.630	0.644	0.629	0.603	0.604
TP3	0.232	0.204	****	0.629	0.601	0.607	0.683	0.648	0.671	0.675	0.664	0.684	0.675	0.678
TP4	0.482	0.575	0.463	****	0.828	0.837	0.713	0.679	0.663	0.674	0.683	0.704	0.647	0.721
TP5	0.487	0.677	0.510	0.189	****	0.849	0.725	0.705	0.676	0.678	0.684	0.704	0.692	0.725
TP6	0.529	0.633	0.499	0.178	0.164	****	0.744	0.713	0.680	0.692	0.695	0.717	0.667	0.722
TP7	0.402	0.422	0.381	0.338	0.321	0.295	****	0.688	0.784	0.766	0.790	0.678	0.659	0.734
AK	0.414	0.532	0.433	0.387	0.349	0.338	0.374	****	0.654	0.664	0.625	0.773	0.798	0.695
KM	0.468	0.471	0.399	0.411	0.391	0.386	0.244	0.424	****	0.770	0.750	0.655	0.613	0.727
DM	0.540	0.461	0.394	0.394	0.389	0.369	0.267	0.410	0.262	****	0.772	0.678	0.677	0.717
GB	0.471	0.440	0.409	0.381	0.380	0.364	0.235	0.469	0.288	0.258	****	0.700	0.656	0.729
TM	0.443	0.464	0.381	0.351	0.351	0.332	0.388	0.258	0.423	0.388	0.356	****	0.814	0.733
BB	0.400	0.506	0.393	0.435	0.369	0.405	0.417	0.226	0.489	0.390	0.421	0.205	****	0.686
FS	0.405	0.504	0.389	0.326	0.322	0.326	0.309	0.364	0.319	0.333	0.317	0.310	0.377	****

Not: TP1,2,3,4,5,6,7: Ticari Populasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis. Köşegenin üstündeki değerler genetik benzerliği, altındaki değerler ise genetik mesafeyi göstermektedir.

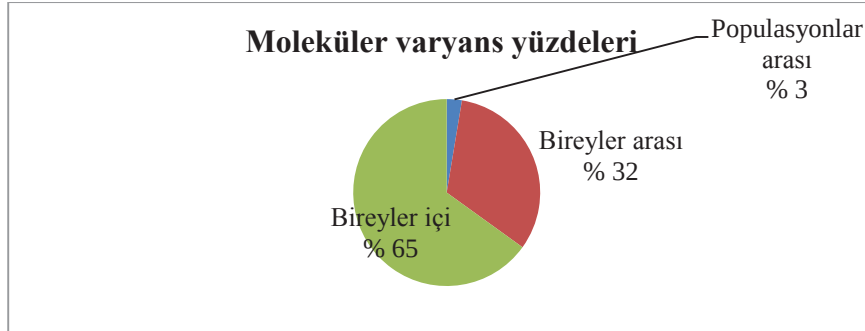
4.2.4. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

Yapılan tez çalışmasında genetik varyasyonun populasyonlar arasında ya da içinde nasıl dağıldığını belirlemek için moleküler varyans analizi (AMOVA) yapılmıştır. AMOVA analizi sonucu elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiş ve Şekil 4.8'de grafik halinde gösterilmiştir. AMOVA analizi sonucuna göre toplam genetik varyasyonun %3'ünün populasyon arasındaki farklılıktan, %32'sinin populasyonlar içi bireyler arasında ki farklılıklardan ve %65'inin ise tüm bireyler içindeki farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir. Populasyonlar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olup olmadığı permütasyon test uygulanarak test edilmiştir. Yapılan test sonuçlarına göre populasyonlar arasındaki farklılığın önemli olmadığı anlaşılmıştır. AMOVA analizi sonuçlarına göre toplam genetik çeşitliliğin çok küçük bir kısmının (%3) 14 populasyon arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı ve bu oranında istatistiki açıdan önemli olmadığı anlaşılmıştır. Bu sonuçlar elde edilen F_{ST} değerleriyle örtüşmektedir. Populasyonlar genetik olarak farklılaşmamıştır.

Çizelge 4. 6. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Varyans (%)
Populasyonlar Arası	13	326.93	3
Populasyonlar İçi Bireyler Arası	389	4.531,05	32
Bireyler İçi	403	2.354,00	65
Genel	805	7.211,98	100

$p > 0.05$



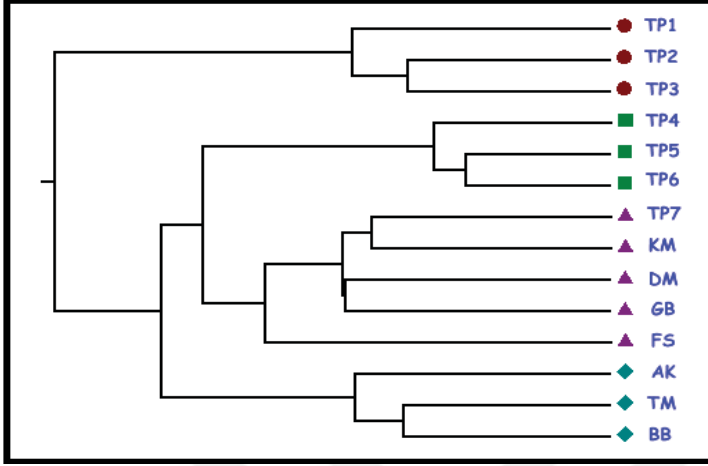
Şekil 4. 8. *B. terrestris* populasyonlarında moleküler varyans yüzdeleri

4.2.5. Kümeleme analizleri

4.2.5.1. Nei'nin genetik mesafe değeri ile oluşturulan UPGMA dendrogramı

Nei (1978)'nin yansız genetik uzaklık (D_A) değerlerinden yararlanılarak oluşturulan UPGMA (Unweighted Pair-Group Method) dendrogramı Şekil 4.9'da verilmiştir. Oluşturulan dendrograma göre çalışılan populasyonlar iki ana dal altında dört kümede toplanmışlardır. Buna göre 1. dalda TP1, TP2 ve TP3 populasyonları yer alırken diğer populasyonlar ikinci dalda yer almıştır. Bu iki ana dal altındaki dört farklı

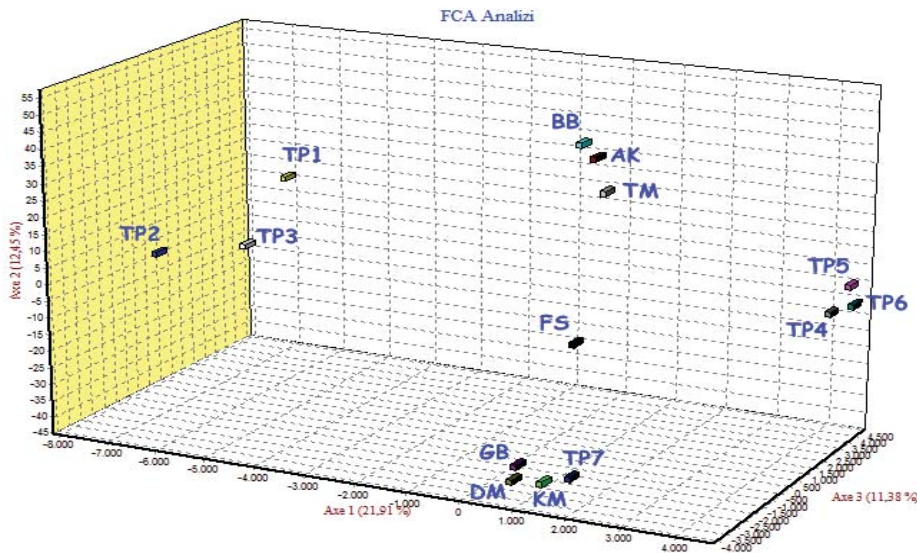
küme Şekil 4.9’da farklı renkler ile gösterilmiştir. Birinci küme kırmızı renkte TP1, TP2, TP3 populasyonları; ikinci küme yeşil renkte TP4, TP5, TP6 populasyonları; üçüncü küme mor renkte TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları yer alırken son küme mavi renkte AK, TM ve BB populasyonları yer almıştır.



Şekil 4. 9. *B. terrestris* populasyonlarında yapılan UPGMA dendogramı

4.2.5.2. Faktöriyel uygunluk analizi (FCA)

Bir diğer kümeleme analizi olan Faktöriyel Uygunluk Analizi’nde (FCA) populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki üç boyutlu düzlem üzerinde gösterilmiştir. Populasyonlar UPGMA dendogramına benzer olarak dört farklı kümede toplanmıştır (Şekil 4.10). FCA analizinde FS populasyonu ayrı bir yerde gibi görülmüşse de TP7, KM, DM, GB populasyonlarına daha yakındır.



Şekil 4. 10. *B.terrestris* populasyonlarında FCA analizi görüntüsü

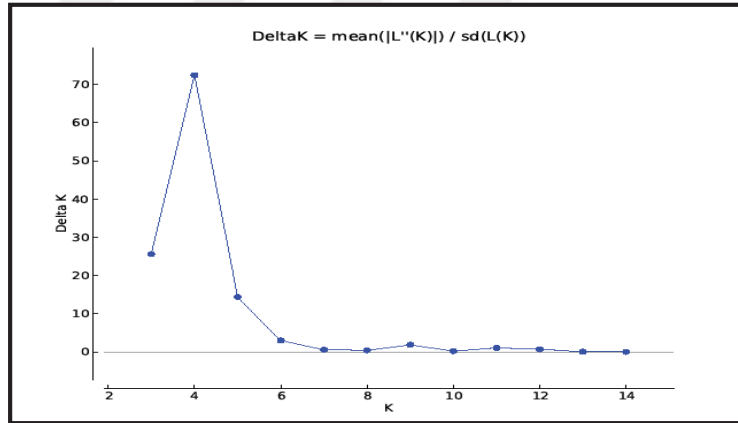
4.2.5.3. Genetik yapı analizi (Structure)

B. terrestris populasyonlarının farklılaşması genetik mesafe temelli kümeleme yaklaşımlarından farklı olarak birde Bayesian kümeleme analizi temelinde yapılmıştır. STRUCTURE programı kullanılarak yapılan analizde öncelikle en iyi K değeri belirlenmiştir. En iyi K değeri aslında populasyonların en uygun olarak kaç grup altında kümeleneceğini gösteren değerdir. En iyi K değeri algoritması web tabanlı bir program olan STRUCTURE HARVESTER (Earl ve Vonholdt 2012) kullanılarak elde edilmiştir. Programa K değeri olarak 2 ile 14 (çalışılan populasyon sayısı) küme arasındaki en iyi olasılıklar hesaplatılmıştır. Bu yöntemle göre en yüksek ΔK değerinin elde edildiği küme sayısı dört (K=4) olmuştur. Yani çalışılan 14 populasyon arası filogenetik ilişki en iyi dört kümede ifade edilmektedir. Structure Harvester programında K değerine ilişkin elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4. 7. Structure Harvester programında elde edilen en yüksek ΔK değeri

The Evanno table output is also available as a tab-delimited text file (for use with Excel) [here](#).

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
2	100	-33797.554000	2.631105	—	—	—
3	100	-33292.162000	4.139042	505.392000	105.983000	25.605681
4	100	-32892.753000	3.608532	399.409000	261.290000	72.408938
5	100	-32754.634000	8.040569	138.119000	115.559000	14.371993
6	100	-32732.074000	31.530914	22.560000	94.139000	2.985610
7	100	-32615.375000	64.202103	116.699000	37.441000	0.583174
8	100	-32536.117000	74.638876	79.258000	30.093000	0.403181
9	100	-32426.766000	45.180402	109.351000	83.676000	1.852042
10	100	-32401.091000	45.808426	25.675000	9.399000	0.205181
11	100	-32366.017000	43.396902	35.074000	44.855000	1.033599
12	100	-32286.088000	53.314158	79.929000	36.438000	0.683458
13	100	-32242.597000	46.163724	43.491000	1.776000	0.038472
14	100	-32200.882000	122.201543	41.715000	1.941000	0.015884
15	100	-32157.226000	34.659366	43.656000	—	—

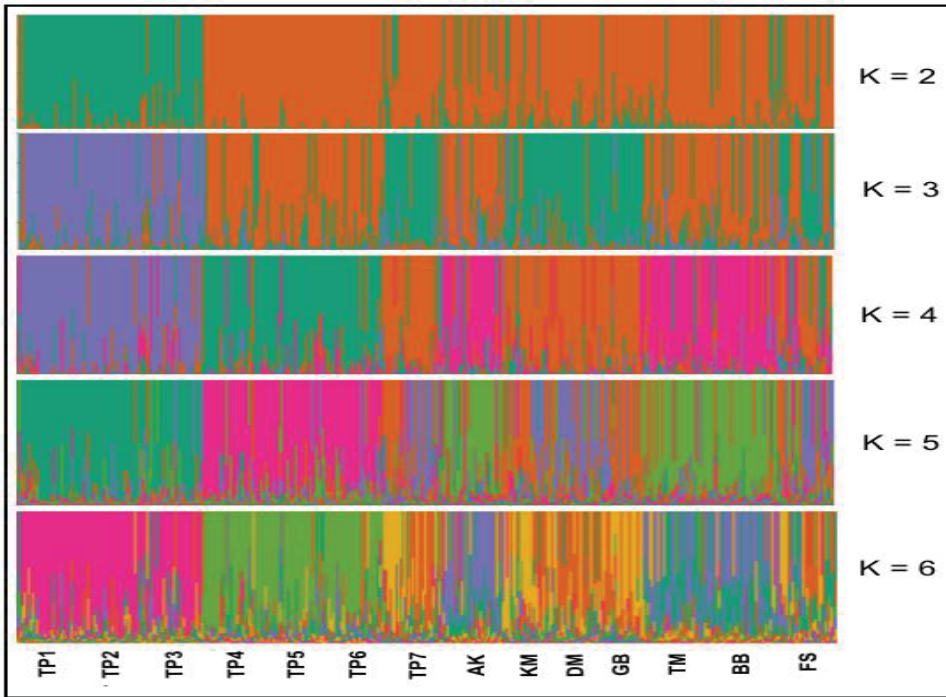


Şekil 4. 11. Structure Harvester programında elde edilen en yüksek ΔK değeri

En iyi K değeri elde edildikten sonra yapılan Structure analizinde elde edilen sonuçlar Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Structure analizi sonuçlarına göre K değeri 2 olduğunda yani çalışılan 14 populasyon iki kümeye ayrıldığında, birinci kümede TP1, TP2 ve TP3 populasyonları bulunurken diğer kümede geriye kalan ticari ve doğal 11 populasyon yer almaktadır. Bu durum UPGMA dendogramında çalışılan populasyonların iki ana dala ayrılması ve bu dallardan birincisinde TP1, TP2 ve TP3 populasyonlarının yer almasıyla uyumludur. K değeri 3 olduğu zaman TP1, TP2 ve TP3

populasyonları bir küme, TP4, TP5, TP6, AK, TM ve BB populasyonları bir küme, TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları ise bir kümeyi oluşturmaktadır.

En yüksek ΔK değerinin elde edildiği $K=4$ 'de yani, çalışılan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkinin en iyi gösterildiği grupta TP1, TP2 ve TP3 populasyonları birinci kümeyi, TP4, TP5 ve TP6 populasyonları ikinci kümeyi, AK, TM ve BB populasyonları üçüncü kümeyi ve TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları ise dördüncü kümeyi oluşturmuştur. Ayrıca Structure analiz sonuçlarına göre bu dört ana küme arasında ciddi gen geçişleri vardır. Yani bu dört küme tam anlamıyla ya da kesin sınırlarla birbirinden ayrılmamıştır. Sonuçlar genetik mesafe değerlerine göre yapılan UPGMA dendrogramı ve FCA analizinden elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Her üç analizde de birbiriyle örtüşen dört ana grup görülmektedir.



Şekil 4. 12. *B.terrestris* populasyonlarında Structure analizi

4.3. mtDNA Analizlerinden (COI ve cytb) Elde Edilen Bulgular

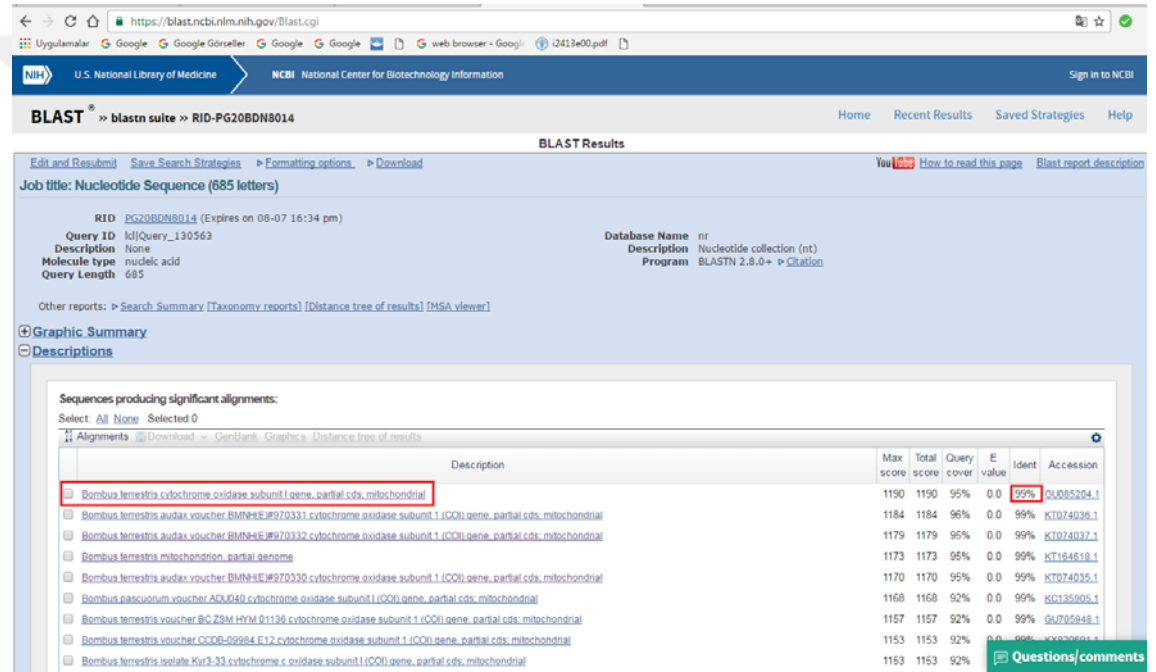
Proje kapsamında çalışılan 14 populasyonun her birinden beşer örnek mtDNA COI bölgesi, beşer örnek mtDNA cytb bölgesi olmak üzere toplam 140 sekans dizisi analiz edilmiştir. Cytb için 433 bp, COI için ise 658 bp'lık gen bölgeleri PCR ile başarı ile çoğaltılmış ve DNA dizi analizleri (sekans analizi) için ticari bir firmaya gönderilmiştir.

4.3.1. mtDNA COI gen bölgesi için elde edilen bulgular

mtDNA COI bölgesi için ticari firmadan gelen 70 örneğe ait DNA sekans dizilerinin güvenilirliğini test etmek için rastgele seçilen bir örneğin sekans sonucu BLAST kullanılarak Gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.13). Gen

bankasında dizilerle karşılaştırılan DNA nükleotit dizisinin *B. terrestris* arısı mtDNA COI gen bölgesi ile %99 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Sekans analizlerinde genellikle okuma esnasında başlangıç ve sonlanma bölgelerinde meydana gelen primer dimerleri ve cihazın okuma hatalarına bağlı olarak, DNA sekans analizi net bir sonuç vermemektedir. Bu nedenle bu bölgelerin kesilerek istatistik analizlerden çıkartılması güvenilirliği artırmaktadır. Bu çalışmada 70 örneğe ait mtDNA COI gen bölgesinde elde edilen 658 bp uzunluğundaki sekanslara ClustalX2 programı ile hizalama (alignmet) işlemi uygulanmıştır. Hizalama işleminde dört örneğe ait sekansın çok fazla kayıp ve hatalı bölge içerdiği görülmüş ve analizlerden çıkarılmıştır. Kalan 66 örneğin hizalama işleminden sonra dizilerin başlangıç ve sonlanma bölgelerindeki uyumsuzluklar kesilerek atılmıştır. Sonuç olarak kesim işleminden sonra elde edilen 633 bp'lık baz dizilimi Çizelge 4.8'de gösterilmiş ve yapılan istatistik analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 4. 13. mtDNA COI gen bölgesi için BLAST görüntüsü

Çizelge 4. 8. İstatistik analizlerde kullanılan 633 bp'lık nükleotit dizisi

Nükleotit Pozisyonu	Baz Dizilimi					
1-60	GGATTGGGTC	TCCTCCTCCT	ATTGGGTCAA	AAAAATGAAGT	ATTAAAAATT	CGATCAAATA
61-120	ATAATATAGT	AATTGCACCG	GCTAATACTG	GTAAGATAG	AATTAATAAA	ATTACTGTAA
121-180	TACATACTGA	TCATGAAAAT	AAATTAATTT	GATCATAATT	TAATGAAAAA	TTTTTTATTAA
181-240	TAAAATAGTA	ACGATAAAAT	TTAATGATCC	AATAATTGAA	GAGATTCCTG	ATATATGTAA
241-300	AGAAAAAATT	GCAATATCAA	TTGAAAGTGA	TGAATGAAAT	AAATAAGAAAG	ATAAAGGAGG
301-360	ATATACAGTT	CATCCTGTAC	CTACATTAGG	TGTAAATATA	TTTCTTAATA	ATAATATGAA
361-420	TAATGATGGA	GGTAGAAGTC	AAAATCTAAT	ATTATTTATT	CGAGGAAAAA	GCTATATCTG
421-480	GGGATCCTAA	TATTAATGGA	ATTAGATAAT	TTCCAAATCC	ACCAATTATA	AAAGGTATAA
481-540	CTATAAAAAA	AATTATTAAT	AATGCATGTC	TTGTTACTAA	AGAATTATAA	ATTTGATCAT
541-600	TATTAATTCA	TATACCTGGA	TGTCTTAATT	CTATTCGAAT	TAATAATCTT	ATAGATGAAC
601-633	CAATTATTCC	TGATCATATA	GCAAAAAATA	AGT		

4.3.1.1. COI gen bölgesi varyasyonu, haplotip ve nükleotit özellikleri

Çalışılan 14 popülasyonda 66 örneğe ait 633 bç uzunluğundaki mtDNA COI gen bölgesi ile yapılan analizlerde 1. ve 7. baz çiftleri arasında 7 bç uzunluğunda, 9. ve 421. bç arasında 413 bç uzunluğunda, 423. ve 457. baz çiftleri arasında 35 bç uzunluğunda, 459. ve 633. baz çiftleri arasında 175 bç uzunluğunda dört korunmuş bölge olduğu tespit edilmiştir. 633 bç'lik bölge için nükleotit oranları T: %33.1, C: %10.5, A: %42.9 ve G: %13.5 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada COI gen bölgesinde 2 farklı haplotip belirlenmiştir. Bu haplotiplere ait dizi farklılıkları Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Haplotip A ve B şeklinde adlandırılan bu haplotiplere ait DNA dizileri Gen bankasında sırasıyla KP670306.1, KP670307.1 numaralarıyla kayıtlı haplotiplerin dizileriyle %100 oranında benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4. 9. mtDNA COI bölgesine ait haplotipler

	1-7 bç	8. nü.	9-421 bç	422. nü.	423-457 bç	458. nü.	459-633 bç
HaplotipA		G		G		T	
HaplotipB		A		A		C	

Analizler sonucu elde edilen haplotiplerden Haplotip A'nın görülme oranı %28.8 iken Haplotip B'nin oranı %71.2 olarak tespit edilmiştir. Populasyonlar arasında haplotip çeşitliliği 0.000 ile 0.667, nükleotit çeşitliliği ise 0 ile 0.00316 arasında değişmiştir (Çizelge 4.10). Populasyonların tamamında ise haplotip çeşitliliği (Hd) 0.4167, nükleotit çeşitliliği (π) 0.0197 ve nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değeri ise 1.249 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada belirlenen bu değerler populasyonların yaşam tarihi, karakteri, çevresel koşulları ve populasyonların büyüklüğünden etkilenmektedir (Nei 1987; Avise 2000).

Çizelge 4. 10. mtDNA COI gen bölgesi için tespit edilen haplotip (Hd) ve nükleotit çeşitliliği (π), nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değerleri

Populasyon Adı	Elde edilen haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (Hd)	Nükleotit çeşitliliği (π)	Nükleotit farklılıklarının ortalaması (k)
TP1	1	0.000	0.00000	0.000
TP2	2	0.667	0.00316	2.000
TP3	1	0.000	0.00000	0.000
TP4	2	0.600	0.00284	1.800
TP5	2	0.600	0.00284	1.800
TP6	2	0.667	0.00316	2.000
TP7	2	0.600	0.00284	1.800
AK	1	0.000	0.00000	0.000
KM	1	0.000	0.00000	0.000
DM	2	0.600	0.00284	1.800
GB	1	0.000	0.00000	0.000
TM	1	0.000	0.00000	0.000
BB	1	0.000	0.00000	0.000
FS	1	0.000	0.00000	0.000

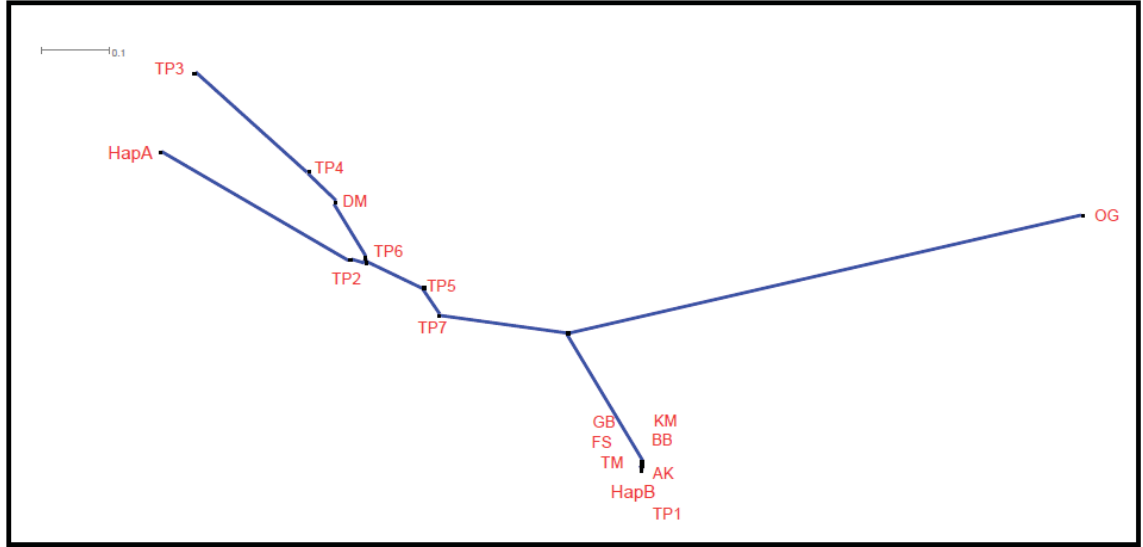
4.3.1.2. mtDNA COI gen bölgesi için genetik farklılaşma ve NJ ağacı

Haplotip analizlerinden sonra Arlequin programıyla doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları arasındaki genetik farklılaşma değerleri (ikişerli F_{ST}) elde edilmiştir (Çizelge 4.11). Populasyonlarda elde edilen ikişerli F_{ST} değerleri kullanılarak Neighbour-Joining (NJ) ağacı oluşturulmuştur. NJ ağacının oluşturulmasında *B. lucorum voucher* (Genbank erişim numarası: JQ843492.1) dış grup (OG) olarak kullanılmıştır. Gen bankasında KP670306.1 numarası ile kayıtlı Haplotip A ve KP670307.1 numarası ile kayıtlı Haplotip B’de analize dahil edilerek NJ ağacı oluşturulmuştur (Şekil 4.14). Oluşturulan NJ ağacına göre iki ana küme oluşurken 1. kümede TP2, TP3, TP4, TP5, TP6 ve TP7 populasyonları, ikinci kümede ise TP1, AK, BB, KM, TM, FS ve GB populasyonlarının yer aldığı görülmektedir. Birinci kümede Haplotip A, ikinci kümede Haplotip B dizilerinin yaygın olduğu anlaşılmıştır. Birinci kümedeki populasyonlar anasal köken olarak Haplotip A’ya, ikinci kümedekiler ise Haplotip B’ye daha yakındır. Özetle proje kapsamında çalışılan populasyonların mtDNA COI gen bölgesine göre iki farklı atasal kökenden çoğaldığı ve ticari populasyonlarda Haplotip A, doğal populasyonlarda da Haplotip B’nin yaygın olduğu görülmüştür.

Çizelge 4. 11. COI bölgesi için popülasyonlarının genetik farklılaşma katsayıları (ikişerli F_{ST} değerleri)

	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS
TP1	0.000													
TP2	0.394	0.000												
TP3	1.000*	0.394	0.000											
TP4	0.500	0.000	0.250	0.000										
TP5	0.250	0.000	0.500	0.000	0.000									
TP6	0.394	0.000	0.394	0.000	0.000	0.000								
TP7	0.250	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000							
AK	0.000	0.394	1.000*	0.500	0.250	0.394	0.250	0.000						
KM	0.000	0.333	1.000*	0.452	0.195	0.333	0.195	0.000	0.000					
DM	0.500	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500	0.452	0.000				
GB	0.000	0.333	1.000*	0.452	0.195	0.333	0.195	0.000	0.000	0.452	0.000			
TM	0.000	0.394	1.000*	0.500	0.250	0.394	0.250	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000		
BB	0.000	0.394	1.000*	0.500	0.250	0.394	0.250	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	
FS	0.000	0.394	1.000*	0.500	0.250	0.394	0.250	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000

(* $p < 0.05$, İkişerli F_{ST} değeri istatistikî olarak önemli)



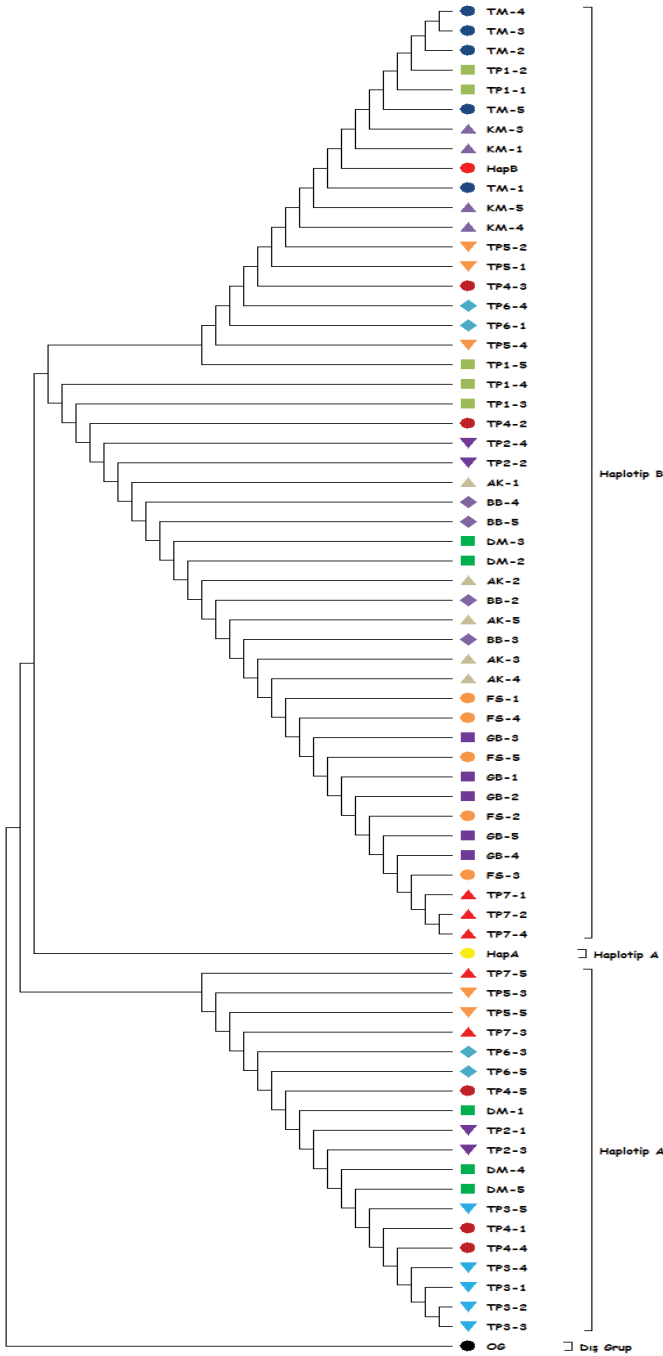
Şekil 4. 14. mtDNA COI gen bölgesi ile oluşturulan Neighbour-Joining (NJ) ağacı

B. terrestris populasyonları içindeki her bireyin evrimsel anasal kökeninin saptanması amacıyla, Tamura-Nei modeline dayanan Maksimum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmıştır (Tamura ve Nei 1993). Bu yöntemde de NJ dendogramında olduğu gibi *B. lucorum* (OG) dış grup olarak seçilmiş ve Haplotip A ile Haplotip B ağaca dahil edilmiştir. Filogenetik ağaç, dış grup, Haplotip A, Haplotip B ve çalışılan 66 örnekten oluşan toplam 69 bireye ait 633 bç'lik nükleotit sekansı kullanılarak MEGA X'da oluşturulmuştur (Kumar vd. 2018). Ağaç ölçeğe göre çizilmiş ve dal uzunlukları pozisyon başına yer değiştirme sayısı ile ölçülmüştür. Buna göre en iyi sonucun elde edildiği ilk ağaç ya da ağaçlar, NJ ve BioNJ algoritmalarının Maksimum Composite Likelihood (MCL) yaklaşımını kullanarak, tahmin edilen ikili mesafe matrisine uygulanması ile elde edilen en yüksek logaritmik olasılıklı ağaç Şekil 4.15'de gösterilmiştir.

Filogenetik ağaca bakıldığında, NJ dendogramına benzer şekilde dış gruptan, Haplotip A ve Haplotip B şeklinde iki temel dala ayrılmıştır. Genetik kökeni Haplotip A ile benzer olan bireyler on dokuz adet iken (TP2-1, TP2-3, TP3-1, TP3-2, TP3-3, TP3-4, TP3-5, TP4-1, TP4-4, TP4-5, TP5-3, TP5-5, TP6-3, TP6-5, TP7-3, TP7-5, DM-1, DM-4, DM-5), Haplotip B genotipine benzer 47 adet birey (FS-4, FS-5, FS-3, FS-2, FS-1, GB-5, GB-4, GB-3, GB-2, GB-1, TM-5, TM-4, TM-3, TM-2, TM-1, BB-5, BB-4, BB-3, BB-2, DM-3, DM-2, KM-4, KM-5, KM-1, KM-3, AK-4, AK-5, AK-2, AK-3, AK-1, TP7-1, TP7-2, TP7-4, TP6-1, TP6-4, TP5-1, TP5-2, TP5-4, TP4-2, TP4-3, TP2-2, TP2-4, TP1-5, TP1-4, TP1-3, TP1-2, TP1-1) bulunmuştur. Buna göre TP3 populasyonu ile (Haplotip A), TP1, AK, GB, BB, KM, FS, TM populasyonlarının (Haplotip B) tek anasal kökeni varken diğer populasyonların iki anasal kökeni vardır. Ticari populasyonlar ile doğal populasyonlar mtDNA COI gen bölgesine göre bazı istisnalar dışında belirgin şekilde ayrılmıştır.

Sonuçta, incelenen populasyonlar iki ayrı atasal haplotipten köken almaktadır. Populasyonlar tek tek birey şeklinde incelendiğinde, populasyonlar arası geçişlerin olduğu, ticari örneklerin seralara yakın ve seralara uzak alanlardan toplanan örneklerle etkileşim halinde olduğu söylenebilir. Ülkemizde Haplotip B genotipinin yaygın olduğu

ve bu haplotipin ağırlıklı olarak doğal populasyonlarda bulunduğu saptanmıştır. Haplotip A genotipi ise ticari populasyonlarda daha fazla görülmüştür.



Şekil 4. 15. *B. terrestris* bireylerinde COI gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç

4.3.1.3. mtDNA COI gen bölgesi için moleküler varyans analizi (AMOVA)

Haplotip analizlerinin ardından genetik varyasyonun nereden kaynaklandığını belirlemek için AMOVA analizi yapılmıştır. Bu analizler sonucunda toplam

varyasyonun %38.58'inin populasyonlar arasındaki, %61.421'sinin populasyonlar içindeki farklılıklardan kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.12) Ayrıca AMOVA analizi sonuçlarına göre populasyonlar arasında ve içindeki varyasyon istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu sonuçlar mtDNA COI gen bölgesi için çalışılan populasyonlar arasında en az iki tanesinin birbirinden anlamlı derecede farklılaştığını göstermektedir.

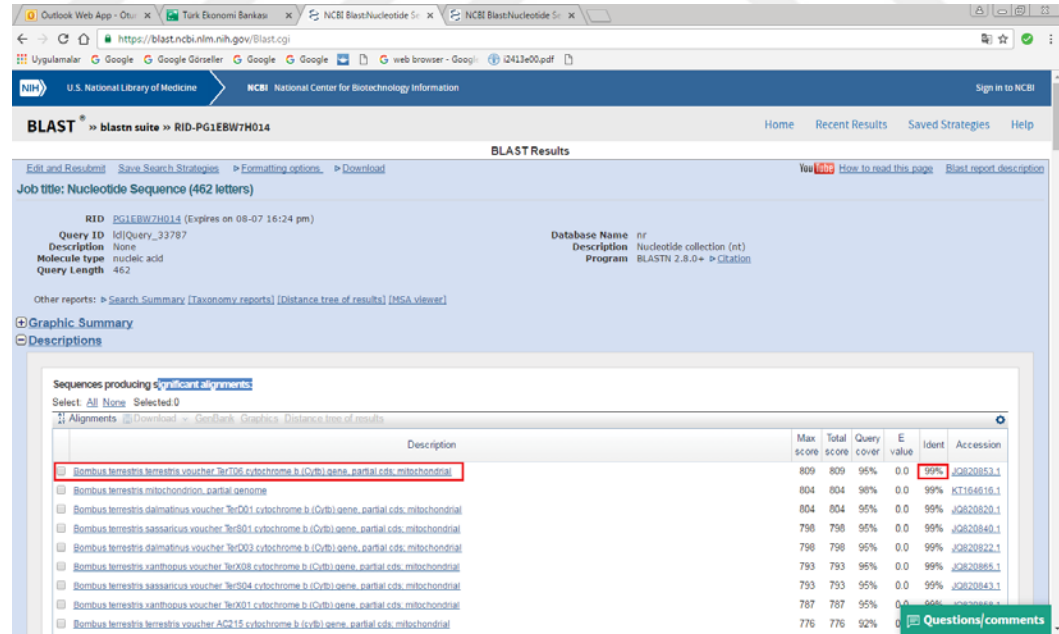
Çizelge 4. 12. mtDNA COI gen bölgesinin AMOVA analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Varyans (%)
Populasyonlar Arası	13	20.191	38.58**
Populasyonlar İçi	52	20.400	61.42**
Genel	65	40.591	100

(**p<0.01)

4.3.2. mtDNA cytb gen bölgesi için elde edilen bulgular

Çalışılan her bir populasyonda beşer örneğe ait mtDNA cytb gen bölgesinden elde edilen 433 bç uzunluğundaki PCR ürünlerinin dizi analizleri ticari bir firmaya yaptırılmıştır. Örneklerin 433 bç uzunluğundaki sekans sonuçları geldikten sonra baz dizilerinin güvenilirliğini kontrol etmek için rastgele seçilen bir örneğin sekans sonucu BLAST kullanılarak Gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.16). Gen bankasında dizilerle karşılaştırılan DNA nükleotit dizisinin *B. terrestris* arısı mtDNA cytb gen bölgesi ile %99 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4. 16. mtDNA cytb gen bölgesi için BLAST görüntüsü

Sekans analizlerinin sonuçlarından emin olduktan sonra ClustalX2 programı ile 70 örneğin sekans sonuçlarına hizalama işlemi yapılmıştır. Hizalama işleminden sonra sekansların başlangıç ve bitiş bölgelerindeki uyumsuz nükleotidler kesilmiştir. Sonuç

olarak elde edilen 428 bç'lik baz dizilimi Çizelge 4.13'de gösterilmiş ve yapılan istatistik analizlerde kullanılmıştır. Ayrıca hizalama işleminde iki örneğe ait sekans verisinin çok fazla hatalı bölge içerdiği için kullanılamayacağı anlaşılmış ve bu iki örneğe ait sekans verileri analizlerden çıkartılmış ve toplamda 68 örneğin analizi yapılmıştır.

Çizelge 4. 13. İstatistik analizlerde kullanılan 428 bç'lik nükleotit dizisi

Nükleotit Pozisyonu	Baz Dizilimi					
1-60	TCACAAATT	AATTCAGCA	ATTCCATATA	TTGGTCAATT	TACTGTTGAA	TGAATTTGAG
61-120	GAGGATTTTC	AATCAATAAT	GATACATTAA	ATCGATTFTA	TTCATTTCAT	TTTATTTTAC
121-180	CATTTATTAT	TTTATTAATA	GTATTTATAC	ATTTAATAAT	TTTACACATT	ACAGGTTCTT
181-240	CAAACCCTAT	CCATTCAAAA	ATAAATATTT	ATAAAATCAA	TTTCCATCCA	TATTTCACTA
241-300	TTAAAGATT	AATTACTATT	ATTTTACAT	TTTCAATATT	TATATTAATT	AATTTACAAT
301-360	TACCTTTTAT	ATTAGGAGAT	CCTGATAATT	TTAAAATAGC	AAATCCTATA	ATTACACCAA
361-420	TTCATATTAA	ACCTGAATGA	TACTTCTTAT	TTGCATATTC	AATTTTACGA	ACAATTCCTA
421-428	ATAAATTA					

4.3.2.1. cytb gen bölgesi varyasyonu, haplotip ve nükleotit özellikleri

Proje kapsamında örneklenen doğal ve ticari on dört *B. terrestris* popülasyonundan altmış sekiz örnekte 428 bç'lik mtDNA cytb bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Sekansları çıkarılan tüm örneklerde 1. ve 79. baz çiftleri arasında 79 bç uzunluğunda, 81. ve 131. bç arasında 51 bç uzunluğunda, 133. ve 166. baz çiftleri arasında 34 bç uzunluğunda, 168. ve 184. baz çiftleri arasında 17 bç uzunluğunda, 186. ve 190. baz çiftleri arasında 5 bç uzunluğunda, 192. ve 211. bç arasında 20 bç uzunluğunda, 213. ve 235. baz çiftleri arasında 23 bç uzunluğunda, 237. ve 253. baz çiftleri arasında 17 bç uzunluğunda, 255. ve 256. bç arasında 2 bç uzunluğunda, 258. ve 272. baz çiftleri arasında 15 bç uzunluğunda, 274. ve 314. baz çiftleri arasında 41 bç uzunluğunda, 316. ve 382. baz çiftleri arasında 67 bç uzunluğunda, 384. ve 428. baz çiftleri arasında 45 bç uzunluğunda 13 bölgenin korunduğu tespit edilmiştir. 428 bç'lik bölge için nükleotit oranları T: %42.9, C: %14.1, A: %37.0 ve G :%6.0 olarak belirlenmiştir.

cytb gen bölgesinin dizi analizi ile toplam 6 farklı haplotip (Haplotip 1-6) belirlenmiş ve Çizelge 4.14'de bu haplotiplere ait nükleotit farklılıkları gösterilmiştir. Analizler sonucu elde edilen haplotiplerden Haplotip 1'in görülme oranı %7.3, Haplotip 2, Haplotip 5 ve Haplotip 6'nın oranı %5.9, Haplotip 3'ün % 11.8 ve son olarak da Haplotip 4 'ün oranı %63.2 olarak tespit edilmiştir. Popülasyonların tamamında haplotip çeşitliliği (Hd) 0.5912, nükleotit çeşitliliği (π) 0.00499 ve nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değeri ise 2.122 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonlar içinde, haplotip çeşitliliği 0 ile 2.667 arasında, nükleotit çeşitliliği ise 0 ile 0.017913 arasında, nükleotid farklılıkları ortalaması ise 0 ile 7.666 arasında değişmiştir (Çizelge 4.15)

Çizelge 4. 14. mtDNA cytb bölgesine ait haplotipler

	Haplotip 1	Haplotip 2	Haplotip 3	Haplotip 4	Haplotip 5	Haplotip 6
1-79 bç	...	...	...	...	...	...
80. nü.	T	T	T	T	T	C
81-131 bç	...	...	...	...	...	...
132. nü.	T	T	C	C	T	T
133-166 bç	...	...	...	...	...	...
167. nü.	T	C	C	C	C	T
168-184 bç	...	...	...	...	...	...
185. nü.	C	C	C	C	C	T
186-190 bç	...	...	...	...	...	...
191. nü.	C	C	C	C	C	T
192-211 bç	...	...	...	...	...	...
212. nü.	T	T	T	T	T	C
213-235 bç	...	...	...	...	...	...
236. nü.	C	C	C	C	C	T
237-253 bç	...	...	...	...	...	...
254. nü.	C	T	T	C	C	C
255-256 bç	...	...	...	...	...	...
257. nü.	T	T	T	T	T	C
258-272 bç	...	...	...	...	...	...
273. nü.	T	T	T	T	T	A
274-314 bç	...	...	...	...	...	...
315. nü.	G	G	G	G	G	A
316-382 bç	...	...	...	...	...	...
383. nü.	C	C	C	C	C	T
384.428 bç	...	...	...	...	...	...

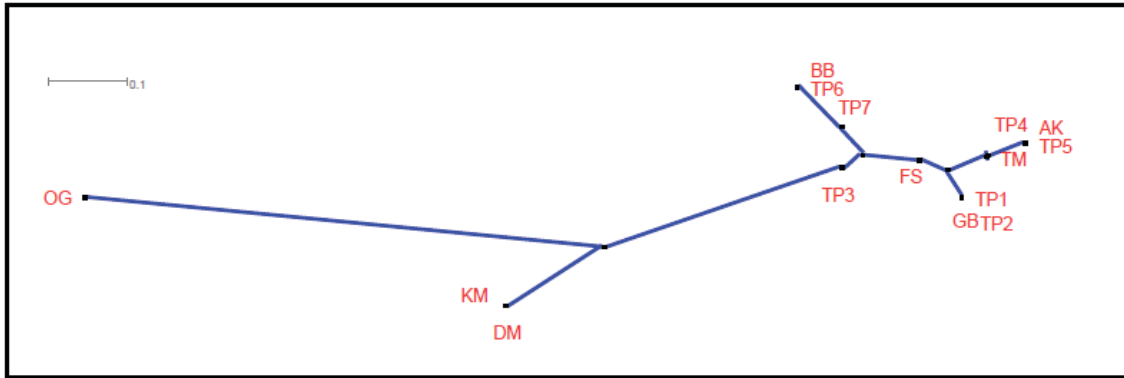
Çizelge 4. 15. mtDNA cytb gen bölgesi için tespit edilen haplotip (Hd) ve nükleotit çeşitliliği (π), nükleotit farklılıklarının ortalaması (k) değerleri

Populasyon Adı	Elde edilen haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (Hd)	Nükleotit çeşitliliği (π)	Nükleotit farklılıklarının ortalaması (k)
TP1	2	0.134	0.000935	0.400
TP2	2	0.134	0.000935	0.400
TP3	2	0.400	0.000281	1.200
TP4	2	0.134	0.000935	0.400
TP5	2	0.267	0.001869	0.800
TP6	4	0.467	0.003271	1.400
TP7	3	0.267	0.001869	0.800
AK	1	0.000	0.000000	0.000
KM	3	2.267	0.015888	6.800
DM	3	2.554	0.017913	7.666
GB	3	0.134	0.000935	0.400
TM	3	0.334	0.002336	1.000
BB	2	0.334	0.002336	1.000
FS	2	0.267	0.001869	0.800

4.3.2.2. mtDNA cytb geni için genetik farklılaşma ve NJ ağacı

Haplotip analizleri tamamlandıktan sonra Arlequin programıyla doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları arasındaki genetik farklılaşma katsayısı (ikişerli F_{ST}) değerleri hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir. mtDNA cytb gen bölgesi için populasyonlar arasında ikişerli F_{ST} değerleri 0.000 ile 0.477 arasında değer almış ve özellikle KM ve DM populasyonlarının ayrı bir dalda diğer populasyonlardan uzaklaştığı tespit edilmiştir. Bu farklılıklardan istatistiki olarak önemli olanlar Çizelge 4.16'da gösterilmiştir.

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma katsayıları kullanılarak SplitsTree programında Neighbour-Joining (NJ) ağacı oluşturulmuştur. Bunun için *B. lucorum* (Genebank erişim numarası: EF469487.1) türü dış grup (OG) olarak kullanılmıştır (Şekil 4.17). Bu dendograma göre DM ile KM populasyonlarının anasal kökeninin diğer populasyonlardan farklılık gösterdiği görülmektedir. Ayrıca ağaç toplamda beş dala ayrılmıştır. Dallardan biri dış grup iken diğerleri populasyonların ayrıldığı dallardır. KM ve DM populasyonlarının bulunduğu dal dışındakiler daha yakın ve iç içe görünse de bu dallardaki populasyonların kökenlerinin birbirinden farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4. 17. mtDNA cytb gen bölgesi ile oluşturulan Neighbour-Joining (NJ) ağacı

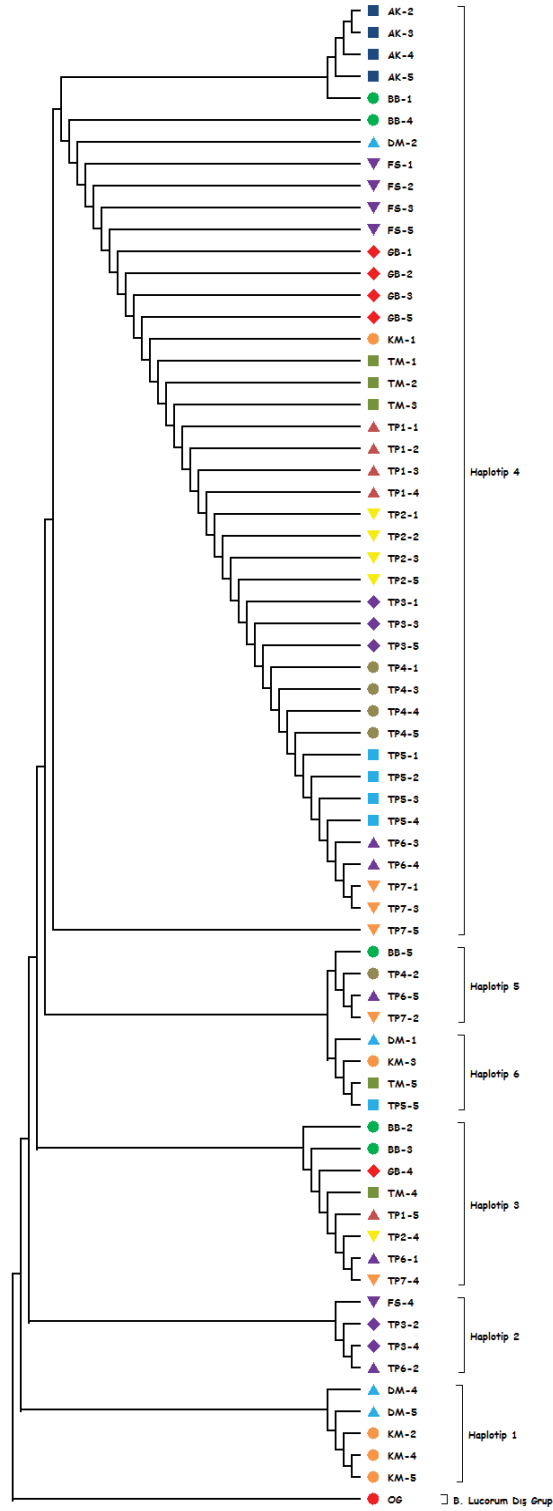
Çizelge 4. 16. cytb bölgesi için popülasyonlarının genetik farklılaşma katsayıları (ikişerli F_{ST} değerleri)

	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS
TP1	0.000													
TP2	0.000	0.000												
TP3	0.048	0.048	0.000											
TP4	0.000	0.000	0.200	0.000										
TP5	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000									
TP6	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000								
TP7	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000							
AK	0.000	0.000	0.195	0.000	0.000	0.070	0.000	0.000						
KM	0.477*	0.477*	0.401	0.494*	0.457	0.401	0.457	0.467	0.000					
DM	0.371	0.371	0.281	0.393*	0.344	0.274	0.344	0.361	0.000	0.000				
GB	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000	0.111	0.433	0.313	0.000			
TM	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000	0.111	0.433	0.313	0.000	0.000		
BB	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.477*	0.371*	0.000	0.000	0.000	
FS	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.444	0.332	0.000	0.000	0.000	0.000

(* $p < 0.05$, İkişerli F_{ST} değeri istatistikî olarak önemli)

mtDNA cytb gen dizisi bakımından *B. terrestris* populasyonları içindeki her bireyin evrimsel atasal kökeninin saptanması için, Tamura-Nei modeline dayanan Maksimum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmıştır (Tamura ve Nei 1993). Bu yöntemde de NJ dendogramında olduğu gibi *B. lucorum* (OG) dış grup olarak seçilmiştir. Filogenetik ağaç 69 örneğe ait 428 bp uzunluğundaki nükleotit sekansı kullanılarak MEGA X'da oluşturulmuştur (Kumar vd. 2018). En yüksek logaritmik olasılıklı ağaç Şekil 4.18'de gösterilmiştir.

Filogenetik ağaca bakıldığında, 6 farklı haplotipin dış gruptan farklı olarak beş grupta dallandığı görülmektedir. Binci grupta ikişerli F_{ST} değerlerine göre de diğer populasyonlardan oldukça farklılaşan KM ve DM populasyonundan bireylerin oluşturduğu Haplotip 1 (DM-4, DM-5, KM-2, KM-4, KM-5) yer almaktadır. İkinci grupta Haplotip 2 (TP3-2, TP3-4, TP6-2, FS-4), üçüncü grupta Haplotip 3 (TP1-5, TP2-4, TP6-1, TP7-4, TM-4, GB-4, BB-2, BB-3) yer almaktadır. Dördüncü grubu Haplotip 5 (TP4-2, TP6-5, TP7-2, BB-5) ve Haplotip 6 (TP5-5, KM-3, DM-1, TM-5) oluşturmaktadır. Son grupta ise en yaygın haplotip olan Haplotip 4 genotipine ait 43 örnek (TP1-1, TP1-2, TP1-3, TP1-4, TP2-1, TP2-2, TP2-3, TP2-5, TP3-1, TP3-3, TP3-5, TP4-1, TP4-3, TP4-4, TP4-5, TP5-1, TP5-2, TP5-3, TP5-4, TP6-3, TP6-4, TP7-1, TP7-3, TP7-5, AK-2, AK-3, AK-4, AK-5, GB-1, GB-2, GB-3, GB-5, FS-1, FS-2, FS-3, FS-5, BB-1, BB-4, TM-1, TM-2, TM-3, KM-1, DM-2) yer almıştır.



Şekil 4. 18. *B. terrestris* bireylerinde cytb gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç

4.3.2.3. mtDNA cytb gen bölgesi için moleküler varyans analizi (AMOVA)

Haplotip analizlerinin ardından gerçekleştirilen AMOVA analizinde genetik varyasyonun %27.33'ünün populasyonlar arasındaki, %72.67'sinin populasyonlar içindeki farklılıklardan kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.17). Ayrıca AMOVA analizi sonuçlarına göre populasyonlar arası ve içindeki varyasyon istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu sonuçlar mtDNA cytb gen bölgesi için çalışılan populasyonlar arasında en az iki tanesinin birbirinden anlamlı derecede farklılaştığını göstermektedir. Mikrosatelit lokuslar üzerinden yapılan AMOVA analizinden farklı olarak, mtDNA COI ve cytb bölgelerine göre yapılan AMOVA analizinde populasyonlar arasındaki varyasyonun ya da farklılaşmanın önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. 17. mtDNA cytb gen bölgesinin AMOVA analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Varyans (%)
Populasyonlar Arası	13	28.774	27.33**
Populasyonlar İçi	54	42.300	72.67**
Genel	67	71.074	100

(**p<0.01)

5. TARTIŞMA

Bombus arılarındaki mevcut genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla; Avrupa kıtasından (Lecocq vd. 2011; Carolan vd. 2012; Lecocq vd. 2013, 2015a, 2015b, 2015c; Bossert vd. 2016), Asya kıtasından (Williams 2011; Hines ve Williams 2012; Huang vd. 2015), Güney Amerika'dan (Santos Junior vd. 2015; Francoso vd. 2016), Kuzey Amerika'dan (Cameron ve Williams 2003; Sheffield vd. 2016) ve dünya genelinden (Koulianos ve Schmid-Hempel 2000; Hines vd. 2006; Cameron vd. 2007; Williams vd. 2012a, 2012b, 2015) toplanan örneklerde mikrosatelit lokuslar ile mtDNA sekans verileri birlikte yaygın olarak kullanılmıştır. Bunun yanında mikrosatelit markerler ve mtDNA sekans verileri bombus arılarında alttürlerin ayrımı ya da kökenlerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda da kullanılmıştır (Estoup vd. 1996; Widmer vd. 1998; Widmer ve Schmid-Hempel 1999; Shao vd. 2004; Duennes vd. 2012; Moreira vd. 2015; Francisco vd. 2016). Ayrıca mikrosatelit lokuslar çeşitli bombus arısı türlerinin populasyon yapısının belirlenmesinde, koruma genetiği çalışmalarında, bombus arısı populasyonları arasında gen akışı ve izolasyonu modellerinin incelenmesinde de kullanılmıştır (Ellis vd. 2006; Darvill vd. 2006, 2010; Herrman vd. 2007; Schmid-Hempel vd. 2007; Kraus vd. 2009, 2011; Lozier ve Cameron 2009; Charman vd. 2010; Cameron vd. 2011; Goulson vd. 2011; Lozier vd. 2011, 2013; Jha ve Kremen 2013; Maebe vd. 2013; Dreier vd. 2014; Jha 2015). Türkiye'de gerçekleştirilen bu doktora tezinde ise mikrosatelit ve mtDNA verileri kullanılarak değişik yetiştirilme geçmişleri olan ya da farklı coğrafi lokasyonlarda bulunan *B. t. dalmatinus* alttürüne ait populasyonlarda, mevcut genetik çeşitlilik ve populasyon yapısının belirlenmesine ve bu populasyonların atasal kökenleri hakkında bilgi sağlanmasına çalışılmıştır.

Gerçekleştirilen doktora tezinde doğal ve ticari on dört *B. terrestris* populasyonunda genetik çeşitlilik ve populasyon yapısı 20 mikrosatelit lokus ve iki mtDNA gen bölgesi (COI ve cytb) kullanılarak incelenmiştir. Yapılan çalışmada 20 mikrosatelit lokusun polimorfik olduğu tespit edilmiştir. 20 mikrosatelit lokusa ait PIC değeri ortalaması 0.644 (B119) ile 0.948 (BT09) aralığında değişirken, tüm örneklerin bir arada değerlendirilmesi ile oluşan populasyonda 0.877 olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde bombus populasyonlarıyla çalışma yapan araştırmacılar Moreira vd. (2015) PIC değerini 0.858, Dreier vd. (2014) 0.792 ve Jha ve Kremen (2013) 0.721 olarak hesaplamışlardır. Türkiye *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısının araştırıldığı projede ise bu değer 0.76 bulunmuştur (Gürel vd. 2011). PIC değeri çalışılan lokusların genetik çeşitliliği göstermedeki gücünü ifade etmektedir. Bolstein vd. (1980) PIC değeri 0.25 ile 0.50 arasında olan lokusların genetik çeşitliliği göstermede orta düzeyde, 0.50'den büyük olan lokusların ise yüksek düzeyde bilgi verdiğini belirtmiştir. Bolstein vd. (1980) PIC değeri 0.75'den yüksek lokusların ise çok yüksek düzeyde bilgi verici olduğunu, genetik çeşitlilikle ilgili bilgi sağlamasının yanı sıra haritalama çalışmaları için de çok kullanışlı olduğunu vurgulamışlardır. Bu bağlamda çalışılan populasyonlardaki mevcut genetik çeşitliliğin, populasyonlar arasındaki farklılık ya da benzerliklerin ortaya çıkarılmasında lokus seçiminin doğru yapılmış olduğu görülmektedir.

Bombus arılarının populasyon genetik yapısını mikrosatelit markerler kullanarak belirlemek için çok sayıda literatür incelenmiştir (Herrmann vd. 2007; Goulson vd. 2011; Duennes vd. 2012, 2017; Lozier vd. 2011, 2013; Jha ve Kremen 2013, 2015;

Dreier vd. 2014; Moreira vd. 2015; Schenau ve Jha 2017). Bu tez çalışmasında da özellikle en çok kullanılan markerler tercih edilmiştir. Aynı zamanda 20 mikrosatelit lokusta elde edilen allel genişlikleri aynı lokusları kullanan değişik araştırmacılar tarafından (Lozier vd. 2013; Drier vd. 2014; Moreira vd. 2015) elde edilen allel genişlikleri ile çok büyük oranda benzerlik göstermektedir. Örneğin, Moreira vd.(2015) Avrupa kıtasındaki 22 doğal ve 2 ticari popülasyonda allel genişliğini BT06 lokusunda 137-193 aralığında, B132 lokusunda 129-211 aralığında ve BT09 lokusunda 122-194 aralığında bildirirken, bizim çalışmamızda sırasıyla allel genişlikleri 136-172 aralığında, 145-211 aralığında ve 124-186 aralığında tespit edilmiştir. Benzer olarak, Drier vd. (2014); BT10 lokusunda allel genişliğini 146-182 bç arasında ve B126 lokusunda 154-204 bç arasında tespit ederken, bu çalışmada BT10 lokusunda allel genişliği 141-171 bç ve B126 lokusunda 125-198 bç arasında bulunmuştur. Lozier vd. (2013) ise B96 lokusunda allel genişliğini 230-260 aralığında saptarken, bu tezde bu aralığı 224-216 şeklinde tespit ettik.

Gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri popülasyonlarda genetik çeşitliliğin gösterilmesinde en sık kullanılan parametrelerdir. Bu değerlerin 0.5'in üzerinde olması genetik varyasyona işaret ederken, He değerinin Ho'dan yüksek olması ise homozigotluk artışını göstermektedir. Schmid-Hempel vd. (2007) Tazmania, Yeni Zellanda ve Avrupa *B. terrestris* popülasyonlarındaki genetik varyasyonu beklenen heterozigotluk değerlerini hesaplayarak tespit etmişlerdir. Buna göre, He değeri 0.529 olan Tazmania popülasyonu, He değerleri 0.729 ve 0.826 olan Yeni Zellanda ve Avrupa popülasyonundan daha düşük genetik çeşitliliğe sahiptir. Lozier vd. (2011)'de Kuzey Amerika'daki bombus türlerinin popülasyonları içindeki genetik çeşitliliği heterozigotluk değerlerini saptayarak değerlendirmişlerdir. Buna göre He değeri 0.529 olan *Bombus pensylvanicus* türünde varyasyon azken, He değeri 0.771 olan *B. bifarius* türünde en yüksek bulunmuştur. Bizim tez çalışmamızda da on dört *B. terrestris* popülasyonu için lokuslar seviyesinde ortalama Ho ve He değerleri 0.681 ve 0.888, popülasyonlara göre ise ortalama Ho: 0.678 ve He: 0.859 olarak hesaplanmışlardır. Gruplar arasında ise, ticari popülasyonlardan oluşan Grup 1'de Ho ve He değerleri sırasıyla 0.704, 0.888 olarak, Grup 2'de bu değerler 0.637, 0.876 olarak ve Grup 3'te de 0.678 ile 0.880 şeklinde tespit edilmiştir. Benzer şekilde, *B. terrestris* popülasyonu genetik yapısının çalışıldığı araştırmalardan Dreier vd. (2014) ortalama Ho ve He değerlerini sırasıyla 0.79 ve 0.81, Moreira vd. (2015) ise bu değerleri 0.63 ve 0.83 olarak hesaplamışlardır. Goulson vd. (2011)'nin *B. hortorum*'un popülasyon yapısını araştırdığı çalışmada ise bu değerler Ho: 0.65 ve He: 0.74 şeklinde bulunmuştur. Bu doktora çalışmasında popülasyonlarda elde edilen genetik varyasyon parametreleri incelendiğinde hem ticari popülasyonlarda hem de doğal popülasyonlarda yeterli genetik varyasyonun olduğu görülmektedir. Genetik varyasyon parametreleri gruplar bazında incelendiğinde ise ticari popülasyonlardan oluşan grupta biraz daha fazla gibi görünse de önemli farklılıklar bulunmamıştır. Ticari popülasyonlar ile sera bölgelerine yakın yerlerdeki popülasyonlarda genetik çeşitliliğin azalmış olacağı düşünülse de bu çalışmadan elde edilen bulgular durumun böyle olmadığına işaret etmektedir. Kapalı olarak yetiştirilen ticari popülasyonlarda genetik çeşitliliğin beklenildiğinin aksine düşük olmasının muhtemel nedenleri arasında ticari firmaların akrabalığı önlemek için yaptıkları kontrollü çiftleştirme programları ve ticari firmaların gerektiğinde doğadan veya başka bir firmadan kan tazelemek için ana arı sağlamaları olabilir.

Fis değeri popülasyondaki akrabalığın bir göstergesidir ve Hardy-Weinberg dengesinden sapmayı belirlemek için kullanılmaktadır. Aynı zamanda popülasyonların koruma önceliklerinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olan Fis değeri -1 ile +1 arasında değer alabilir. Negatif değerler popülasyonda akrabalığın olmadığını gösterirken, pozitif değerler akrabalık artışına dikkat çekmektedir. Ramadan vd. (2012) tarafından bildirildiğine göre; Simon ve Buchenauer (1993), Fis değerinin 0.05'in altında olması durumunda ırkların tehlike altında olmadığını, 0.05 ile 0.15 aralığında olduğunda tehlike potansiyeli olduğunu, 0.15 ile 0.25 aralığında ise minimum tehlike seviyesinde olduğunu, 0.25-0.40 arasında tehlike altında olduğunu, 0.40'ın üzerinde ise kritik seviyeye ulaştığını ve popülasyonda koruma çalışmalarına başlanması gerektiğini belirtmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada tüm popülasyonlar için ortalama gözlenen heterozigotluk değeri beklenen heterozigotluk değerinden düşük çıkmıştır. Buna bağlı olarak tüm popülasyonlarda heterozigot eksikliğinden dolayı akrabalı yetiştirme katsayısı (Fis) pozitif değer almıştır. Fis değeri popülasyonlarda 0.139 (TP3) ile 0.328 (KM) aralığında değişmiştir. Gruplarda ise Grup 1'de 0.207, Grup 2'de 0.274 ve Grup 3'de 0.230 olarak bulunmuştur. Moreira vd. (2015)'de Fis değerlerini 0.06 ile 0.60 arasında ve yirmi dört popülasyon için ortalamayı 0.20 olarak bulmuşlardır. Ülkemizde 2011 yılında yürütülen Tübitak projesinde ise dört ticari ve 14 doğal *B. terrestris* popülasyonu için ortalama Fis değeri 0.149 olarak tespit edilmiştir (Gürel vd. 2011). Goulson vd. (2011)'nin çalışmasında da *B. hortorum* popülasyonları için Fis değerleri -0.032 ile 0.248 arasında saptanırken ortalaması da 0.110 hesaplanmıştır. Herrmann vd. (2007)'de on üç farklı lokasyondan toplanan *B. pascuorum* popülasyonlarında Fis değerlerini -0.074 ile 0.356 aralığında ortalama 0.193 bulmuşlardır. Sonuç olarak, bu çalışmaların tamamında da tüm lokasyonlarda gözlenen heterozigotluğun beklenenden daha düşük seviyelerde olmasıyla birlikte, homozigotluk artışına bağlı olarak Hardy-Weinberg dengesinden önemli bir sapma gösterdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmaların aksine Dreier vd. (2014) çalışma yaptığı beş bombus türünde ortalama Fis değerini 0.017 saptarken, *B. terrestris* popülasyonları için bu değeri 0.020 bulmuştur. Yani, bu popülasyonlarda neredeyse hiç akrabalık bulunmamaktadır. Yukarıdaki bilgiler göz önüne alındığında çalışılan popülasyonlarda yeterli genetik varyasyon olmasına rağmen akrabalığın yüksek seviyelere ulaştığı gözükmektedir. Çalışmada akrabalığın sera bölgesine yakın popülasyonlar ile doğal popülasyonlarda ticari popülasyonlara göre daha fazla çıkmasının nedenlerinden birinin popülasyonlar içindeki koloni ve birey sayılarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ticari olarak yetiştirilen popülasyonlar doğal popülasyonlara göre çok daha büyük popülasyonlardır ve fazla koloni üretilmektedir. Bir diğer nedenin örneklemeden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Doğadan toplanan örneklerin aynı koloninin bireyleri olma ihtimali de bulunmaktadır.

Bu çalışmada tüm bireylerin bir arada tek bir grup olarak değerlendirilmesiyle oluşturulan popülasyonda 20 mikrosatelit lokustan hesaplanan ortalama genetik farklılaşma katsayısı (F_{ST}) değeri 0.053 bulunmuştur. Popülasyonların birbirinden genetik farklılaşmasını belirten ikişerli F_{ST} değerleri ise 0.014 (TP5-TP6) ile 0.045 (TP2-TP5) arasında değer almıştır. Elde edilen genetik farklılaşma katsayılarının istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Daha önceki yıllarda Türkiye *B. terrestris* popülasyonları ile yapılan araştırmada ikişerli F_{ST} değerleri 0.010 ile 0.329 arasında değişirken, ortalama değer 0.059 hesaplanmıştır (Gürel vd. 2011). Benzer kurguda düşünülen iki ticari ve 22 doğal *B. terrestris* popülasyonu ile gerçekleştirilen bir

çalışmada ise belirgin bir popülasyon farklılaşması olduğu bildirilmiştir ($F_{ST} = 0.04$). Ayrıca ticari popülasyonların da birbirinden farklı oldukları görülmüştür (Moreira vd. 2015). Herrmann vd. (2007)'nin *B. pascuorum* popülasyonlarının farklı yapıdaki arazi dağılımlarını inceledikleri çalışmada, popülasyonlar arasında zayıf fakat anlamlı genetik farklılaşma olduğunu göstermişlerdir ($F_{ST} = 0.046$). Benzer şekilde, *B. vosnesenskii* popülasyonlarının da farklı arazi dağılımları boyunca düşük fakat önemli düzeyde genetik farklılaşma sergilediği gösterilmiştir ($F_{ST} = 0.019$) (Jha ve Kremen 2013). *B. impatiens* türü Amerika Birleşik Devletleri'nin doğu bölgelerinde en yaygın bulunan türlerinden biridir ve yüzlerce kilometre boyunca bile düşük genetik farklılaşma gösterme eğilimindedir (Cameron vd. 2011). Suni vd. (2017)'nin ticari ve doğal *B. impatiens* popülasyonlarıyla yaptıkları çalışmada da düşük genetik farklılaşma bulunmuştur. Aslında kapalı yetiştirilen ticari popülasyonlar ile belli coğrafi bariyerlerin engellediği sınırlı alandaki popülasyonların genetik olarak birbirinden farklılaşması beklenen bir durumdur. Gerek ticari firmalar tarafından yetiştirilen popülasyonlar arasında gerekse farklı coğrafi lokasyonlardaki popülasyonlar arasında genetik yapının farklı olmamasının birkaç temel nedeni olduğu düşünülmektedir. Bunlardan birincisi hem yurtiçi hem de yurtdışı kökenli ticari popülasyonlarda yetiştirilen arıların orijini ile ilgilidir. Ticari firmaların kullandıkları *dalmatinus* genotipine ait damızlık popülasyonların bir süre önce (35-40 yıl önce) başta Türkiye olmak üzere sınırlı sayıda ülkeden topladıkları bilinmektedir. Popülasyonların genetik yapılarında farklılık oluşması için 35-40 yıl gibi süreler oldukça kısa sürelerdir. İkinci neden ticari firmaların yetiştirdikleri bombus arılarında herhangi bir seleksiyon işlemi uygulamaması olabilir. Belirli bir özellik için popülasyonda uygulanan seleksiyon işlemi gen frekanslarını ve genotipik yapıyı oldukça hızlı değiştirebilir. Üçüncü neden Antalya'da çok yaygın bir sera üretiminin olması ve bu seraların büyük çoğunluğunda bombus arılarının kullanılması olabilir. Özellikle seralara yakın bölgelerde (AK, KM, DM, GB) seralardan doğaya kaçan bombus arılarının genetik yapının farklılaşmasını engellediği düşünülmektedir. Başka bir neden ise, doğadaki mevcut bombus popülasyonlarında yuva ve yuva içindeki birey sayılarının daha az olması gösterilebilir. Benzer şekilde doğal popülasyonlarda ticari popülasyonlara oranla daha az sayıda ana ve erkek arı üretilmektedir. Bu durumda çok az sayıda yuvadan ve muhtemelen aynı yuvaya ait bireylerden de örnekler toplanmış olabilir. Nitekim, doğadaki bombus popülasyonlarının yuva sayılarının ve birey sayılarının fazla olması halinde ticari popülasyonlardan etkilenmedikleri Suni vd. (2017)'nin araştırmasında bildirilmiştir. Son olarak da örnekleme yapılan alanın oldukça sınırlı küçük bir bölge olması, popülasyonlar arası farklılaşmayı destekleyecek belirgin coğrafi bariyerlerin olmaması sayılabilir. Bu sonuçlar, ticari olarak yetiştirilen *B. t. dalmatinus* popülasyonları ile doğal *B. t. dalmatinus* popülasyonlarının iç içe geçtiğini ve bu nedenle ayırımın zor olduğunu ve ticari ve doğal popülasyonlar arasında da hibritleşmenin olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada her bir mikrosatelit lokusta elde edilen özgün allel sayıları ve 20 lokustan elde edilen ortalama Nm değeri (4.90) yukarıdaki görüşlerimizi destekler niteliktedir. Popülasyonlar arası göç eden bireyler özgün allel sayısını ve genetik farklılaşmayı azaltmaktadır. Yürütülen tez kapsamında elde edilen özgün alleller sınırlı sayıda (EK 1-20) iken, popülasyonlar arası göç eden birey sayısını ifade eden Nm değeri yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada tespit edilen Nm değeri, popülasyonlar arası her 100 bireyden yaklaşık 5 tanesinin göç ettiğini göstermektedir. Benzer şekilde, Gürel

vd. (2011)'nin Türkiye *B. terrestris* populasyonlarıyla yaptıkları projede de populasyonlar arasındaki gen akışı (Nm) ortalama 4.0 olarak hesaplanmıştır. Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın yüksek bulunduğu Moreira vd. (2015)'nin çalışmasında ise, genellikle göç etme oranları oldukça düşük bulunmuştur. Yalnızca İrlanda ve Man adası populasyonları içinde, nispeten göç edenlerin oranı yüksek olarak gözlenmiştir. Daha öncede belirtildiği üzere Nm değeri çalışılan 14 populasyon tek bir populasyon olarak düşünerek ve 20 mikrosatelit lokusun ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Ticari populasyonlar arasında, ticari ve doğal populasyonlar arasında ya da çok uzak coğrafi lokasyonlarda bulunan populasyonlar arasında bu kadar yüksek göçün olabilmesi; ticari populasyonlar arasında çeşitli nedenler ile ana arı alışverişi olma olasılığı, ticari firmaların kullandıkları ana arıların bir kısmını yakın geçmişte bu coğrafyadan toplamış olma olasılıkları, ticari firmaların popülasyondaki akrabalığı azaltmak için halen farklı lokasyonlardan ana arı toplama olasılıkları, seralardan kaçan ya da sera dışına atılan populasyonlardan çıkan ana arıların doğada koloni oluşturması ve erkek arıların da doğadaki ana arılarla çiftleşmesi ile mümkündür. *B. terrestris* arıları doğada uzun mesafelere uçabilmektedirler. Kraus vd. (2009) erkek arılar için bu mesafeyi 2.6-9.9 km olarak tespit ederken, Lepais vd. (2010) kraliçe arılar için bu mesafeyi 5-8 km olarak ölçmüşlerdir. Bu şekilde de yakın bölgeler arası geçişler nedeniyle de genetik bezerlikler artmaktadır. Bu olasılıkların tamamı yukarıda tartışılan populasyonlar arası genetik farklılaşmanın düşük olma nedenleri ile örtüşmektedir.

Son yıllarda değişik tür, ırk ya da ekotiplerde genetik çeşitlilik seviyesindeki azalma ile ilgili kaygılar her geçen gün artmaktadır. Bombus arıları, günümüzde önemi ve değeri her geçen gün artan tozlayıcılar. Bu arılardaki genetik çeşitliliğin ya da populasyonlar arası genetik farklılıkların azalması ile ilgili yapılan çok sayıda araştırma dikkat çekmektedir (Herrmann vd. 2007; Lozier vd. 2011; Darvill vd. 2010; Maebe vd. 2013, 2015; Jha ve Kremen 2013, 2015; Dreier vd. 2014; Schochet vd. 2016; Schenau ve Jha 2017). Ayrıca *B. t. dalmatinus* alttürünün dünyanın dört bir yanına taşınarak, tozlaştırıcı olarak kullanılması da ciddi sorunlara neden olmuştur. Bunlardan ilki bu türün yerel türlerle melezlenmesi (Yoon vd. 2009), ikincisi ise istilacı bir tür haline gelerek yerel türlerin yerine geçmesi ve yerel gen kaynaklarının kaybedilme riskini doğurması şeklinde sıralanabilir (Schmid-Hempel vd. 2007; Goulson vd. 2010). Morales vd. (2013) yaptıkları araştırmada *B. terrestris* türünün Şili ve Arjantin'e götürülmesi sonrası bu bölgelerdeki yerel türlerde belirgin bir azalışın meydana geldiğini raporlamışlardır. Benzer şekilde, İngiltere'ye taşınan bu alttürün yine buradaki yaygın alttür olan *B. t. audax*'ın varlığını tehlikeye soktuğu bildirilmiştir (Owen vd. 2016). Bu çalışmada mikrosatelit lokuslar kullanılarak, bombus arılarında genetik çeşitlilik parametrelerinin halen yeterli düzeyde olduğu ancak populasyonlar arası genetik farklılıkların azaldığı ve populasyonlardaki akrabalık seviyelerinin tehlikeli olmasa da ciddi düzeyde yükseldiği gösterilmiştir.

Bombus arıları, doğal tozlayıcılar içinde en gözle görülür azalış kanıtlarını sunmaktadır (Goulson vd. 2008; Colla ve Packer 2008; Williams ve Osborne 2009; Cameron vd. 2011). Bu arılar haplo-diploidi, sosyal yapı ve arazi kullanım değişiklikleri ve hızlı şehirleşme gibi birçok faktörün etkisi ile besin ve yuva yeri kaynaklarının kaybından dolayı artan izolasyon ve akrabalığa özellikle duyarlı olabilirler (Goulson vd. 2008; Darvill vd. 2010; Schochet vd. 2016). Jha ve Kremen 2013, 2015 ile Schenau ve Jha (2017) gibi araştırmacılar *Bombus vosnesenskii* türünün tarımsal, kentsel ya da doğal

ormanlık alanlardaki dağılımlarını ve genetik yapılarını incelemişlerdir. Her üç çalışmada da, insan kaynaklı habitat değişikliklerinin bu türün populasyon düzeyinde genetik çeşitlilik ve dağılımını etkilediğini ve sayısal azalış gösterdiği bildirilmiştir. *B. terrestris* populasyonlarının varlığı ülkemiz ve özellikle de Akdeniz Bölgesi için oldukça önemlidir. Bu türün populasyon yapısının zaman içerisinde doğal ve tarımsal arazi değişimlerine ve artan şehirleşmeye karşı nasıl tepki verdiği bizim için önem taşımaktadır. Doktora tez çalışması kapsamında bombus arılarının toplandığı Akdeniz Bölgesi doğal yapısından uzaklaşarak çok hızlı değişen bir bölge haline gelmiştir. Özellikle Antalya ili ve ilçelerinde görülen arazi kullanım değişiklikleri, şehirleşme, yaşam alanlarının yok edilmesi, örtü altı yetiştiriciliğin artması ve tek tip tarımın yaygınlaşması gibi nedenler bombus arıları da dahil olmak üzere çok sayıda tozlaştırıcı böcek türünün yok olmasına zemin hazırlamaktadır. Yine bombus kolonilerinin az sayıdaki bireylerden oluşması ve yayılma alanlarındaki belirsizlik bombus türlerinin yok olma hızını arttıracak önemli faktörlerden biridir. Bu amaçla doğada mevcut bombus populasyonlarının büyüklüklerinin, dağılımlarının ve genetik çeşitliliklerinin tespit edilmesi ve geçmişten günümüze değerlendirilmesi bu bölge için önemli hale gelmiştir. Bizim çalışmamızla sonuçlarını karşılaştırabileceğimiz araştırmalardan ilki 2011 yılında yapılan (Karlı 2011) bir tez ve yine aynı yıl daha geniş örneklemenin yapıldığı bir Tübitak projesidir (Gürel vd. 2011). İlk olarak ortalama heterozigotluk değerlerine bakacak olursak, yüksek lisans tezinde H_o ve H_e değerleri 0.712 ve 0.740, Tübitak projesinde 0.627 ve 0.780 iken, bu doktora çalışmasında 0.681 ve 0.887 bulunmuştur. Akrabalı yetiştirme katsayısı (F_{is}) sonuçları ise yine sırasıyla 0.0112, 0.149 ve en yüksek değer bu tezdeki sonuç olan 0.234 şeklindedir. Bu değerlere bakıldığında, genetik çeşitliliğin zaman içerisinde azaldığı ve homozigotluk artışıyla birlikte akrabalığın arttığı görülmektedir. Ayrıca, Tübitak projesinde ve bizim çalışmamızda benzer ticari firmalardan ve doğal yaşam alanlarından *B. terrestris* örnekleri toplanmış ve populasyonların genetik yapıları analiz edilmiştir. 2011 yılındaki araştırmada Koppert, Biobest, Bizbio, Kumluca, Aksu ve Termesos populasyonlarının F_{is} değerleri sırasıyla 0.136, 0.142, 0.189, 0.158, 0.095 ve 0.111 olarak hesaplanmıştır. Günümüzdeki F_{is} değerleri ise sırasıyla 0.207, 0.139, 0.230, 0.328, 0.265 ve 0.217 şeklinde bulunmuştur. Sonuç olarak, populasyonlardaki akrabalığın arttığı ve genetik çeşitliliğin azaldığı görülmüştür. Özellikle Aksu ve Kumluca populasyonlarındaki F_{is} değerlerinin artışı seralardan doğal yaşam alanlarına geçişin olduğunu işaret etmektedir. Örneğin, Kraus vd. (2011)'nin çalışmasında da sera bölgelerine daha yakın mesafedeki populasyonların ticari populasyonlara genetik benzerliklerinin daha fazla olduğu bildirilmiştir. Yaklaşık 7 yıllık bir süreçte bu kadar hızlı genetik benzerliğin artması bu tür için tehlike arz etmektedir.

Yürütülen doktora tezinde populasyonlar arasındaki genetik varyasyonun dağılımı moleküler varyans analiziyle belirlenmiştir. 20 mikrosatelit lokus üzerinden yapılan AMOVA analizinde toplam genetik varyasyonun %3'ünün populasyon arasındaki farklılıktan kaynaklandığı ve elde edilen bu farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) anlaşılmıştır. AMOVA analizinde elde edilen sonuçlar populasyonlar arasında elde edilen ikişerli F_{ST} değerlerini de destekler niteliktedir. Kısacası, çalışılan populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların önemli olmadığı moleküler varyans analizi sonuçlarıyla da desteklenmiştir.

Doğal ve ticari *B. t. dalmatinus* populasyonları arasındaki filogenetik ilişkiler hem mikrosatelit lokuslar hem de mtDNA temelinde incelenmiştir. Mikrosatelit kromozomal kalıtım gösterdiği için bu populasyonların hem ana hem de baba kökenleri hakkında bilgi verirken, mtDNA sadece anasal köken hakkında bilgi vermektedir. Yirmi mikrosatelit lokus kullanarak yaptığımız çalışmada kümeleme analizleri için UPGMA dendogramı, FCA analizi ve Structure analizleri uygulanmıştır. UPGMA dendogramı ve FCA analizi genetik mesafe temelinde filogenetik ağaç oluştururken, Structure analizi Bayesian temelinde oluşturmaktadır.

UPGMA analizlerine göre çalışılan 14 populasyon iki ana dal altında dört kümede toplanmışlardır (Şekil 4.9). Oluşturulan filogenetik ağaçta TP1, TP2 ve TP3 populasyonlarının 1. dalda yer aldığı, ikinci dalda yer alan diğer populasyonların ise üç farklı kümede toplandığı görülmektedir. Sonuç olarak birinci kümede TP1, TP2 ve TP3 populasyonları; ikinci kümede TP4, TP5, TP6; üçüncü kümede TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları yer alırken; AK, TM ve BB populasyonları dördüncü kümeyi oluşturmuştur. Genetik mesafe temelli diğer bir kümeleme yöntemi olan FCA analizinde de benzer gruplar elde edilmiştir (Şekil 4.10). FCA analizinde UPGMA dendogramından farklı olarak FS populasyonu üçüncü kümede değil de, üçüncü ve dördüncü küme arasında görülmektedir. Bu sonuçlar aslında çalışılan populasyonların çok kesin sınırlar ile birbirinden ayıramadığını, populasyonlar arası kesin sınırlar olmadığını ve populasyonlar arasında gen geçişleri olduğu sonuçlarını bir kez daha doğrulamaktadır. Örneğin çalışma sonucunda örnekler toplanırken yapılan gruplama şeklinde ticari populasyonlar, sera bölgelerine yakın populasyonlar ya da doğal populasyonlar olarak kümeleme oluşmamıştır. Araştırma kapsamında mikrosatelit lokuslardan elde edilen veriler ile Bayesian temelinde yapılan Structure analizi de benzer sonuçları vermiştir. En iyi K değerinin 4 olduğu yani, çalışılan 14 populasyonun en iyi dört kümede temsil edildiği çalışmada TP1, TP2 ve TP3 bir kümede yer almış ve mor renk ile gösterilmiştir. İkinci kümede TP4, TP5 ve TP6 yer almış ve yeşil renk ile gösterilmiştir. Üçüncü kümede turuncu renk ile TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları, dördüncü grupta ise AK, TM ve BB populasyonları pembe renk ile yer almıştır. Şekil 4.19 dikkatle incelendiğinde tüm bu gruplar içerisinde farklı renkler iç içe görülmektedir. Bu durum tüm bu populasyonlar arasında gen geçişleri olduğunu göstermektedir. Başka bir ifadeyle, populasyonlar arasında çok sayıda göç eden birey olduğunu ya da yakın geçmişte populasyonlar arasında ciddi göç hareketleri olduğuna işaret etmektedir. Yapılan filogenetik analizler daha önce populasyonların farklılaşması kısmında elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

Mikrosatelit lokuslardan elde edilen tüm bulgular populasyonlarda halen yeterli genetik çeşitlilik olduğunu, populasyonların kesin sınırlar ile birbirinden ayıramadığını, ticari olarak kapalı yetiştirilen populasyonlar arasında ya da coğrafi olarak birbirinden oldukça farklı lokasyonlarda bulunan gruplar arasında bile gen akışı olduğunu ve akrabalık seviyesinin yükseldiğini göstermektedir. Aslında bu durumun oluşabilmesi çok büyük ihtimalle insanların müdahalesi ile mümkün görünmektedir. Özetle, bu çalışmadan elde edilen bulgular son yıllarda bombus arısı genetik erozyonu hakkında duyulan kaygıları destekler niteliktedir. Çünkü bugün bu tür belki yok olma tehlikesi altında değil, ama gerekli önlemler alınmazsa yakın zamanda doğadaki populasyonlar risk altında olacaklardır.

mtDNA gen bölgeleri bombus türleri ya da alttürleri arasındaki filogenetik ilişkilerin tespit edilmesi, taksonomik statülerinin ve belirsizliklerinin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmıştır (Coppee 2010; Williams 2011; Williams vd. 2012a, 2012b, 2012c, 2013, 2015; Oh vd. 2013; Lecocq vd. 2013; Moreira vd. 2015; Huang vd. 2015; Sheffield vd. 2016; Bossert vd. 2016). Bizim çalışmamızda da doğal ve ticari *B. t. dalmatinus* alttürünün ekotip düzeyinde ayrımının yapılabilmesi ve atasal kökenleri tespit edilerek filogenetik ağaçlarının oluşturulması hedeflenmiştir. İlk olarak, COI gen bölgesi kullanılarak yapılan analizler sonucunda iki haplotip (Çizelge 4.9) bulunmuştur. Benzer şekilde, Moreira vd. (2015) ile Bossert vd. (2016)'nin çalışmalarında *B. terrestris* türünde aynı primer setleri kullanılarak, COI geni için iki haplotip belirlenmiş ve gen bankasına dizileri girilmiştir. Bossert vd. (2016) yine aynı çalışmasında COI gen dizisi için *B. lucorum* ve *B. cryptarum* türleri için sırasıyla 17 ve 4 haplotip bulmuşlardır. Bu gen bölgesi kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda *B. ardens* türünde 8 haplotip (Kim vd. 2009), *B. ignitus* türünde 6 haplotip (Oh vd. 2013) ve *B. koreanus* türünde ise yedi haplotip (Huang vd. 2015) bildirilmiştir. Tezde bildirilen cytb gen bölgesi analizleri sonrasında altı haplotip (Çizelge 4.14) saptanmıştır. Moreira vd. (2015) tarafından cytb gen bölgesi için varyasyon saptanmazken, Avrupalı *B. pascuorum* (Pirounakis vd. 1998), *B. terrestris* (Widmer vd. 1998; Coppee 2010; Taşbaş 2017) ve *B. lucorum* (Moreira 2012) populasyonları arasında dizi varyasyonu bulunmuştur. Lecocq vd. (2013)'nin çalışmasında *B. terrestris* türü için aynı gen bölgesinde yedi haplotip belirlenmiş ve dizileri gen bankasına girilmiştir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi her iki gen bölgesini kullanarak, *B. brasiliensis* türünün tanımlamasını yapan Santos Junior vd. (2015)'de toplam 27 haplotip tespit etmişlerdir.

Mikrosatelit lokuslarına dayalı yapılan AMOVA analizinde populasyonlar arasındaki genetik farklılık önemsiz seviyede bulunmuşken, mtDNA gen bölgelerinden elde edilen verilerden yapılan analizlerde COI gen bölgesi için genetik varyasyonun %38.58'inin, cytb gen bölgesi için ise %27.33 populasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı ve bu farklılıklarında istatistiki olarak önemli olduğu ($p < 0.01$) tespit edilmiştir. Taşbaş (2017)'in yüksek lisans tez çalışmasında da populasyonlar arasındaki genetik farklılık değerleri COI ve cytb gen bölgeleri için sırasıyla %28.54 ve %24.52 olarak hesaplanmıştır. Buna göre her iki çalışmada da bulunan değerler populasyonlar içerisinde en az ikisinin birbirinden anasal köken olarak önemli derecede farklı olduğunu ortaya koymaktadır. mtDNA COI gen bölgesinde, populasyonlar arasındaki farklılıkların karşılaştırılması için yapılan ikişerli F_{ST} değerlerine göre (Çizelge 4.11) TP3 populasyonunun TP1, AK, KM, GB, TM, BB, FS populasyonlarından önemli derecede farklılaştığı anlaşılmaktadır. Aynı şekilde mtDNA cytb gen bölgesi için yapılan ikişerli F_{ST} değerlerine göre ise, (Çizelge 4.16) KM populasyonunun TP1, TP2, TP4, BB populasyonundan, DM populasyonunun TP4 ve BB populasyonundan önemli ($p < 0.05$) derecede farklılaştığı anlaşılmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmada mtDNA COI ve cytb gen bölgesinde elde edilen bulgular çalışılan populasyonların temel olarak iki farklı anasal kökenden geldiğine işaret etmektedir. COI gen bölgesinde bireyler temelinde yapılan filogenetik ağaç (Şekil 4.15) ile cytb gen bölgesinde bireyler temelinde yapılan filogenetik ağaç (Şekil 4.18) mikrosatelit lokuslara benzer şekilde populasyonlar arasında anasal köken olarak da gen geçişleri olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.

mtDNA COI gen bölgesi kullanılarak elde edilen sonuçlara göre iki haplotip belirlenmiştir. Haplotiplere ait sekans dizileri gen bankasında eşleştirme yapıldığında haplotiplerin Moreira vd. (2015)'nin yaptığı çalışmadaki haplotip sekanslarıyla aynı olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, bizim çalışmamızda bulunan haplotiplerden Haplotip A'nın görülme sıklığı %28.8 iken, Haplotip B'nin görülme sıklığı %71.2'dir. Ticari populasyonların çoğunda ve DM populasyonunda Haplotip A daha yaygın iken, sera bölgelerine yakın ve daha uzak konumdaki doğal populasyonların genelinde ve yine bazı ticari populasyonlarda Haplotip B daha çok görülmüştür. Moreira vd. (2015) ise yaptıkları araştırmada Haplotip A'nın frekansını %59, Haplotip B'nin frekansını ise %53 bulmuşlardır. İrlanda, İngiltere ve Yeni Zellanda populasyonlarında Haplotip A'nın varlığı raporlanırken, Haplotip B ise ticari populasyonlar, tüm kıta populasyonları ile İrlanda ve İngiltere'nin bazı populasyonlarında bulunmuştur. Ayrıca, mikrosatelit verilere göre, İngiltere populasyonları kıta populasyonlarıyla anlamlı derecede etkileşim içinde olmasına rağmen, kıta populasyonları arasında Haplotip A saptanmamıştır. Aynı COI gen dizisiyle yapılan başka bir çalışmada da iki haplotip belirlenmiş ve haplotipler Almanya, İtalya ve Fransa *B. terrestris* populasyonlarındaki haplotip dizileriyle uyumluluk göstermiştir (Bossert vd. 2016). Sonuçlar değerlendirildiğinde, Antalya ili ve ilçelerinde yaygın bulunan Haplotip B genotipinin Avrupa'lı *B. t. dalmatinus* alttürüne ait ve bu bölgeye özgü haplotipin olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca bu alttürün doğadan insanlar aracılığıyla toplatılmış olabileceği ve ticari üretimlerinin yapılarak tüm kıtalara yayılabileceği de bir ihtimaldir. Türkiye'de daha az görülen ve sadece ticari populasyonlarda bulunan Haplotip A'nın ise yurt dışı menşeyli üretim yapan firmalar tarafından getirilmiş olabileceği ve bu ülkeye özgü haplotip olmadığı söylenebilir.

mtDNA cytb bölgesi için yapılan analizler sonucu altı haplotip belirlenmiştir. Bu haplotipler içinde populasyonlarda en yaygın görülen Haplotip 4'ün frekansı %63.2 olarak tespit edilmiştir. Haplotip 4'ün yapılan BLAST analizi sonucunda, Lecocq vd. (2013) tarafından JQ820820.1 erişim numarasıyla gen bankasına yüklenen *B. t. dalmatinus* alttürüne ait sekans ile %100 uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Yine çalışmamızda cytb bölgesi için belirlenen en yaygın ikinci haplotip Haplotip 3 (%11.8), Lecocq vd. (2013)'nin yaptığı çalışmada tespit edilen ve gen bankasına JQ820853.1 erişim numarasıyla kaydedilen *B. t. terrestris* alttürünün sekansıyla %100 uyumludur. Aynı gen bölgesinde tespit ettiğimiz Haplotip 1 ve Haplotip 2 genotiplerinin *B. t. dalmatinus* ve *B. t. terrestris* sekansları ile sırasıyla %98 ve %99 uyumluluk gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, Haplotip 5'in genotipi *B. t. dalmatinus*'un sekansıyla %99 örtüşürken, Haplotip 6 ise, %99'luk bir oranla *B. t. terrestris* alttürüne benzerlik göstermiştir. Bu bulgular çalışılan populasyonların anasal kökeninin iki farklı alttür olduğunu ortaya koymaktadır. Aynı zamanda sekans dizisi *B. t. terrestris* alttürüyle örtüşen haplotiplere tek tek birey olarak bakıldığında TP1, TP2, TP3, TP5, TP6, TP7, BB, TM, DM, KM, GB ve FS populasyonlarına ait 1 ya da 2 örneğin bulunduğu görülmektedir. Ancak populasyonları oluşturan bireylerin çoğu *B. t. dalmatinus*'a ait haplotip sekansıyla uyumludur. *B. t. terrestris* COI haplotiplerine ait bireylere bakıldığında *B. t. terrestris* alttürüyle uyumlu bireyler hem Haplotip A genotipinde hem de Haplotip B genotipinde yer almıştır. Aynı zamanda sonuçlar bu iki alttür arasında da melezlenmelerin oluştuğuna işaret etmektedir. Bu alttür çoğunlukla ticari populasyonlarda tespit edilmiştir. Buna göre, ticari populasyonlar aracılığıyla bu alttürün giriş yapmış olabileceği ve doğal yayılma alanları bularak çoğalmış olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan ticari firmaların menşeyleri incelendiğinde *B.t.*

terrestris'in orijini olan ülkeler de dikkat çekmektedir. Çalışma yapılan bölge aslında kısıtlı bir alanı kapsamaktadır ve bu bölgede hem çok yoğun ticari populasyonlar kullanılmaktadır hem de populasyonlar arası geçişi önleyecek belirgin coğrafi bariyerler bulunmamaktadır. Buna göre, Antalya bölgesi gen kaynakları için iki alttürün varlığından bahsetmek mümkündür.

Dünya'da moleküler yöntemler ilerledikçe, *B. terrestris* arısının alttürlerine yönelik çalışmalar artmış ve alttürlerin taksonomik değerlendirmeleri yapılmıştır. İlk olarak, Rasmont vd. (2008) bu türün dokuz alttürü olduğunu ve bu alttürlerden *B. t. terrestris* ile *B. t. dalmatinus* arılarının aynı coğrafi bölgede tek bir atasal türden evrimleşerek simpatrik türleşme gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda bu iki alttürün büyük ihtimalle ticarileştirilmiş esas Avrupalı alttürler olduğu ve orjinlerinin Avrupa'nın kuzeyinde Belçika ile Hollanda (*ssp. terrestris*) ve Avrupa'nın güneyinde Yunanistan ile Türkiye (*ssp. dalmatinus*) olduğu da bilinmektedir. Yine bu alttürleri içeren çalışmalardan Coppee (2010)'nin tezinde de COI ve cytb gen dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta Fransa, Belçika, Almanya, Danimarka ve İsviçre'den toplanan *B. t. terrestris* örnekleri Girit, Fransa ve Türkiye'den örneklenen *B. t. dalmatinus*'la aynı grupta görünmektedir. Son olarak, Lecocq vd. (2016)'de *B. terrestris*'in alttür taksonomisini ve populasyon yapısını bütünlüyci bir taksonomik yaklaşımla değerlendirmişlerdir. Moleküler ve kimyasal verilerin birlikte kullanıldığı çalışmada *B. terrestris* ve *B. xanthopus*'u iki ayrı tür olarak değerlendirmişlerdir. *B.t. terrestris* ile *B. t. dalmatinus* örneklerine ait COI dizisi veya kimyasal bileşenlerinde farklılaşma olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca, ticari *dalmatinus* ile doğal *dalmatinus* arasında da incelenen karakterler bakımından bir farklılık saptanamamıştır. Bu literatür bilgileri de bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

6. SONUÇLAR

Doktora tez projesi kapsamında örtü altı yetiştiricilikte başta domates olmak üzere çok sayıda bitkinin tozlaşmasında kullanılmak amacıyla Antalya ve civarında *B. terrestris* kolonisi üretimi yapan 7 ticari firmaya ait *B. terrestris* populasyonları (TP1-TP7) ile seracılığın yoğun şekilde yapıldığı alanlardan toplanan dört populasyon (AK, KM, DM, GB) ve sera bölgelerine uzak daha izole doğal üç populasyon (BB, TM, FS) olmak üzere toplam 14 populasyona ait 408 adet *B. terrestris* işçi arı örneğiyle çalışılmıştır. Populasyon genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılan 20 mikrosatelit lokus (B100, B118, B119, B124, B126, B132, B96, B11, BT06, BT09, BT20, BT28, BT26, BT10, BTMS0033, BTMS0119, BTMS0131, BTMS0082, BTMS0124 ve BTMS0045) ile genetik çeşitlilik parametreleri ve populasyon yapıları belirlenmiştir. Çalışmada bildirilen lokuslardaki polimorfik bölgelerden yararlanılarak doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları DNA düzeyinde tanımlanmış ve Antalya doğal faunasında bulunan sera bölgelerine yakın ve uzak *B. terrestris* populasyonları ile ticari genotipler arasındaki genetik benzerlik/farklılıklar incelenmiştir. Aynı zamanda mtDNA COI ve cytb gen bölgelerindeki nükleotid değişimlerinden yararlanılarak, populasyonların filogenetik analizleri yapılmış ve atasal kökenleri konusunda bilgi elde edilmiştir.

Araştırma sonucunda hem mikrosatelit lokuslar hem de mtDNA gen bölgelerine ait çok fazla veri elde edilmiştir. Bu verilerin analiz edilmesiyle Antalya ili ticari ve doğal *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısı ile ilgili olarak önemli sonuçlara ulaşılmıştır. Bu sonuçlar aşağıda özet olarak sunulmuştur.

- 1) Araştırmada kullanılan yirmi mikrosatelit lokusun neredeyse tamamının yüksek seviyede bilgi verici olduğu ve bu nedenle hemen hemen tamamının doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının tanımlanmasında etkin markerler olarak kullanılabileceği belirlenmiştir (Çizelge 4.1).
- 2) Tüm *B. terrestris* populasyonları 20 mikrosatelit lokus bakımından değerlendirildiğinde (Çizelge 4.1);
 - a) Ortalama allel sayısı (Na) 18.3,
 - b) Etkili allel sayısı (Ne) 11.33,
 - c) Gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.681,
 - d) Beklenen heterozigotluk (He) 0.888,
 - e) Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.877 ve
 - f) Homozigotlaşma katsayısı (Fis) 0.234 olarak belirlenmiştir.
- 3) Populasyon bazında 20 mikrosatelit lokus bakımından (Çizelge 4.2) yapılan değerlendirmede;
 - a) Ortalama allel sayısı (Na) 10.25 (GB) ile 12.50 (TP3),
 - b) Etkili allel sayısı (Ne) 6.73 (GB) ile 8.73 (TP1),
 - c) Gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.581 (KM) ile 0.753 (TP3),
 - d) Beklenen heterozigotluk (He) 0.842 (GB) ile 0.872 (TP3),
 - e) Akıbalı yetiştirme katsayısı (Fis) 0.139 (TP3) ile 0.328 (KM) arasında değişmiştir.

- 4) Tüm lokuslar üzerinden hesaplanan Fis (0.234) değerlerinden yararlanılarak doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının Hardy-Weinberg genetik dengesinden homozigotlaşma yönünde sapmış oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).
- 5) İncelenen *B. terrestris* populasyonlarında toplam %24.4 (F_{IT}) olarak tespit edilen genetik varyasyonun %20.3 (F_{IS})'ünün populasyonlar içindeki, %5.3 (F_{ST})'ünün ise populasyonlar arasındaki farklılıktan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).
- 6) Araştırmada incelenen *B. terrestris* populasyonları arasında her generasyon ortalama olarak 4.9 bireyin göç (N_m) ettiği tahmin edilmiştir (Çizelge 4.3).
- 7) Ticari ve doğal *B. terrestris* populasyonları ikili olarak karşılaştırıldığında populasyonlar arasında ortalama olarak %5.3'lük (ikişerli $F_{ST} = 0.053$) bir genetik farklılığın var olduğu hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Başka bir deyişle, doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları çalışılan 20 mikrosatelit lokus bakımından birbirlerinden ortalama olarak % 5.3'lük bir genetik farklılık göstermiştir.
- 8) *B. terrestris* populasyonları arasındaki varyasyonun populasyonlar arasında ya da içinde nasıl dağıldığını belirlemek için AMOVA analizi yapılmıştır. Buna göre toplam genetik varyasyonun %3'ünün on dört populasyon arasındaki farklılıktan, %32'sinin populasyonlar içi bireyler arasından ve %65'inin ise tüm bireyler içindeki farklılıktan kaynaklandığı bildirilmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.8).
- 9) Kümeleme analizlerinde Nei (1978)'nin yansız genetik uzaklık (D_A) değerlerinden yararlanılarak UPGMA dendogramı oluşturulmuştur (Şekil 4.9). Bu dendograma göre çalışılan populasyonlar dört ana gruba ayrılmışlardır.
 - a) Birinci grup TP1, (TP2, TP3) ticari populasyonlarından,
 - b) İkinci grup TP4, (TP5, TP6) ticari populasyonlarından,
 - c) Üçüncü grup FS, (TP7, KM), (DM, GB) ticari ve doğal populasyonlarından,
 - d) Dördüncü grup ise ticari populasyonlardan tam olarak ayrılmış AK, (TM, BB) populasyonlarından oluşmaktadır.
- 10) Faktöriyel uygunluk analizi (FCA) verilerine göre de doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonları 4 ana grupta sınıflandırılmıştır (Şekil 4.10).
 - a) Birinci grup TP1, TP2 ve TP3 populasyonlarından,
 - b) İkinci grup FS, TP7, KM, DM ve GB populasyonlarından,
 - c) Üçüncü grup TP4, TP5 ve TP6 populasyonlarından,
 - d) Dördüncü grup AK, BB ve TM populasyonlarından oluşmaktadır.
- 11) Genetik yapı analizi (Structure) yöntemi kullanılarak yapılan sınıflandırmada da kümeleme ve FCA analizlerini destekler niteliktedir ve incelenen *B. terrestris* populasyonları 4 farklı ana grupta sınıflandırılmıştır (Şekil 4.12).
 - a) $K=2$ olduğunda TP1, TP2 ve TP3 populasyonları bir grup, geriye kalan ticari ve doğal 11 populasyon ise diğer grubu oluşturmaktadır.
 - b) $K=3$ olduğu zaman TP1, TP2 ve TP3 populasyonları bir küme, TP4, TP5, TP6, AK, TM ve BB populasyonları bir küme, TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları ise bir kümeyi oluşturmaktadır.
 - c) $K=4$ 'de en iyi kümeleme sonucu ortaya çıkmıştır. Buna göre ticari populasyonlardan biri hariç tamamı doğal populasyonlardan ayrılmıştır. İlk kümeyi

TP1, TP2 ve TP3 populasyonları ikinci kümeyi, TP4, TP5 ve TP6 populasyonları üçüncü kümeyi, AK, TM ve BB populasyonları ve son kümeyi de TP7, KM, DM, GB ve FS populasyonları oluşturmuştur (Şekil 4.12).

- 12) 14 populasyondan 66 örneğe ait 633 bç uzunluğundaki mtDNA COI gen bölgesi ile yapılan analizlerde 2 farklı haplotip (Haplotip A ve Haplotip B) belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Populasyonlar arasında Haplotip A'nın görülme oranı %28.8 (19 birey) iken, Haplotip B'nin oranı %71.2 (47 birey) olarak bulunmuştur. Haplotip B genotipi daha yaygın olarak seralara yakın ve doğal populasyonlarda bulunurken, Haplotip A genotipi ise ticari populasyonlarda daha fazla görülmüştür.
- 13) İkişerli F_{ST} değerleri kullanılarak NJ ağacı çizilirken, populasyonlar içindeki her bireyin evrimsel anasal kökeninin saptanması amacıyla da filogenetik ağaç çizilmiştir. Bu ağaçlar için *B. lucorum* dış grup (OG) olarak kullanılmış ve gen bankasında dizisi kayıtlı olan Haplotip A ve Haplotip B'de ağaçlara dahil edilmiştir. Oluşturulan her iki ağaçta genetik kökeni Haplotip A'ya ve Haplotip B'ye benzeyen iki temel dallanma göstermiştir. Sonuçta, incelenen populasyonların iki ayrı anasal haplotipten köken aldıkları belirlenmiştir.
- 14) Populasyonlardaki genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla AMOVA analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucunda toplam varyasyonun %38.58'inin populasyonlar arasındaki, %61.421'sinin populasyonlar içindeki farklılıklardan kaynaklandığı ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.12).
- 15) Projede değerlendirilen on dört populasyondan 68 örneğe ait 428 bç uzunluğundaki mtDNA cytb gen bölgesi için 6 farklı haplotip (Haplotip1-6) belirlenmiştir (Çizelge 4.14). Belirlenen haplotiplerin görülme oranları sırasıyla Haplotip 1 için %7.3 (5 birey), Haplotip 2, Haplotip 5 ve Haplotip 6 için %5.9 (4'er birey), Haplotip 3 için %11.8 (8 birey) ve son olarak da Haplotip 4 için %63.2 (43 birey) olarak tespit edilmiştir.
- 16) Haplotiplere ait sekanslar Gen bankasında bulunan BLAST programıyla kontrol edildiğinde Haplotip 4 ve Haplotip 5 genotiplerinin *B. t. dalmatinus* alttürüne ait sekans ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak, Haplotip 1, Haplotip 2, Haplotip 3 ve Haplotip 6 genotiplerinin ise *B. t. dalmatinus* yanı sıra *B. t. terrestris* alttürünün sekansı ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.
- 17) İkişerli F_{ST} değerlerine göre çizilen NJ dendogramı ve ML yöntemine dayalı çizilen filogenetik ağaçların her ikisinde de KM ve DM populasyonları belirgin bir şekilde diğer populasyonlardan ayrılmıştır. Geriye kalan populasyonlar daha yakın ve küçük dallanmalarla birbirlerinden ayrılmışlardır. Sonuç olarak, her iki ağaca göre de *B. terrestris* arılarının anasal kökenlerin evrimsel olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir.
- 18) Haplotipleri oluşturan bireyler tek tek incelendiğinde, *B. t. dalmatinus* ve *B. t. terrestris* alttürüne ait bireylerin iç içe bulunduğu ve populasyonlar arası geçişlerin meydana gelmiş olabileceği görülmüştür. Özellikle, *B. t. terrestris* alttürünün ticari populasyonlar ve seralara yakın populasyonlara ait bireylerde tespit edilmesi bu görüşü desteklemektedir.

- 19) Populasyonlardaki genetik varyasyon (AMOVA) sonucunda toplam varyasyonun %27.33'ünün populasyonlar arasındaki, %72.67'sinin populasyonlar içindeki farklılıklardan kaynaklandığı ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Elde edilen sonuçlar özet olarak değerlendirildiğinde; hem ticari hem de doğal populasyonlar içinde yeterli genetik varyasyonun olduğu ancak populasyonlar arasındaki farklılıkların çok düşük düzeylerde bulunduğu ve bu nedenle de doğal ve ticari populasyonların genetik olarak çok net bir şekilde ayrılamadığı saptanmıştır. İncelenen tüm populasyonların *B. t. dalmatinus* alttürüne ait olması diğer bir ifade ile ekotip düzeyinde ayırım yapılması ve ticari populasyonların damızlık stoklarının Anadolu orijinli olma olasılığının yüksek olması populasyonların genetik olarak ayırımını güçleştiren en önemli etkenler olmuştur. Populasyonlar arası göç eden birey sayısının yüksek bulunması da önemli bir etkidir. Populasyonlar arası her 100 bireyden yaklaşık 5 tanesinin göç ettiği saptanmıştır. Populasyonlar arası göç eden bireyler, özgün allel sayısını ve genetik farklılaşmayı azaltmaktadır. mtDNA'ya ait COI ve cytb gen bölgeleri kullanılarak populasyonların yapı analizleri yapılmış ve filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Böylece belirlenen haplotiplerle populasyonların anasal kökenleri ilişkin önemli bilgiler elde edilmiştir. Doğal populasyonlarda Haplotip B yaygın olarak görülmüşken, ticari populasyonlarda Haplotip A yaygındır ve Haplotip A'nın ülkemize özgü bir haplotip olmadığı söylenebilir. Diğer önemli bir sonuç da incelenen tüm populasyonlarda akrabalığın tehlike sınırlarında olduğudur. Akrabalıktaki artış ve populasyonlar arasındaki genetik farklılıklardaki azalma kontrol altına alınmazsa, şu an olmasa bile yakın gelecekte genetik çeşitlilikte hızlı ve kalıcı düşüş yaşanma olasılığını artırmaktadır. Çalışmada elde edilen bulgular Antalya gibi sera üretiminin yoğun olarak yapıldığı bir bölgede, seralarda kontrolsüz arı kullanımının, doğadan gelişi güzel arı toplanmasının yakın gelecekte önemli sorunlara yol açacağını göstermektedir. Populasyonlarda akrabalığın giderek artması populasyonların dar boğaza girmesine, kısır diploit erkeklerin veya triploit dişilerin üretilmesine ve populasyon yaşam gücünün azalmasına sebep olacaktır. Ayrıca bombus arılarında akrabalığın aşırı yükselmesi hastalık ya da zararlılara karşı direncin azalması, ölüm oranlarının artması ya da hızla artan küresel iklim değişikliklerine adapte olamama gibi olumsuzlukları doğurabilir. Populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların azalması ise bu sorunlara çözüm bulma olasılığını ortadan kaldırmaktadır. Bu nedenle gerekli tedbirlerin alınması ve resmi makamların bilgilendirilmesi bu türün korunması bakımından önemlidir.

Ülkemizde ve bu bölgede bulunan doğal ve ticari *B. terrestris* populasyonlarının *B. t. dalmatinus* alttürüne ait olduğu bilinmektedir. Bu açıdan ülkemiz, doğasında bu alttürü bulundurmeyen ancak, ticari olarak kullanan ülkelerden daha az risk taşımaktadır. Bu risklerden birisi seralardan kaçan cinsiyetlerin doğal populasyonlara ait cinsiyetlerle çiftleşmesi ve doğal populasyonların genetik çeşitliliğinin değişmesidir. *B. t. dalmatinus* arılarının yayılmasının önemli risklerinden diğeri de parazit yayılcıları içinde taşımasıdır. Ticari ve doğal bombus kolonileri çok sayıda iç ve dış parazitler, protozoa, virüs, bakteri ve nematod gibi hastalık yapan organizmalara maruz kalmaktadır ve bu organizmaların bombus arıları ile yayılma riskleri de dikkate alınması gerekmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda bu patojenlerin seralara yakın alanlardaki populasyonlarda uzak alanlardakine oranla daha fazla olduğu ve seralardaki arılardan

doğadaki arılara geçtiği saptanmıştır. İlave bir risk de yerel bombus populasyonlarının düşük direnç gösterecekleri parazitlere maruz kalmalarıdır. Her ne kadar *B. t. dalmatinus* alttürü Türkiye için yabancı bir alttür olmamasına karşın, Türkiye, ticari üretilmiş *B. t. dalmatinus* kolonilerinin dünyada en yoğun kullanıldığı birkaç ülkeden biridir. Bu nedenle ticari *B. t. dalmatinus* kolonilerinin doğal ekosistem üzerinde olumsuz etkiler yapıp yapmadığı bölgelerde yapılacak özel araştırmalar ile belirlenmelidir. Bununla birlikte ticari firmaların servis hizmetlerini artırarak en azından seralarda kullanılan kolonilerin bulunduğu kutularda ana arıların dışarı çıkmasını engelleyecek düzenekler yapmaları ve erkek ve ana arı üretimi başlangıcında, tozlaşma etkinliği bitme noktasına gelen kolonileri toplamaları bu arıların meydana getireceği olumsuz etkileri azaltmaya katkı sağlayabilir.

Anadolu orijinli ticari *B. t. dalmatinus* kolonileri dünyada Kuzey Amerika ve Avustralya dışında 60'dan fazla ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle de proje çıktılarından üretilcek yayının, uluslararası bombus arıları veri toplama merkezine katkı sağlayacağından ve evrensel bilime katkı yapacağından kuşku duyulmamaktadır. Bombus arıları, Türkiye biyolojik zenginliğinin önemli bir parçasıdır. Dünyadaki toplam bombus türlerinin %20'si (50 tür) Türkiye'de doğal olarak bulunmaktadır. Ancak Türkiye'deki bombus türlerinin mevcut durumu, ülke genelindeki dağılımı ve populasyon yoğunlukları bilinmemektedir. Bu nedenle ülkemizde bombus arılarının taksonomisi, genetik yapısı, hastalık ve zararlıları, yaşam döngüleri, yetiştirme teknikleri konusundaki projelerin desteklenmesi ve bu konuda çalışan bilim insanı sayısının artırılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abak, K., Sari, N., Paksoy, M., Kaftanoğlu, O. and Yeninar, H. 1995. Efficiency of bumblebees on the yield and quality of eggplant and tomato grown in unheated glasshouses. *Acta Horticulturae*, 412: 268-274.
- Abdul-Muneer, P.M. 2014. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. *Genetics Research International*, 2014: 1-14.
- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A. and Klein, A.M. 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Current Biology*, 18: 1572-1575.
- Andrew Symons, R.C., Marshall, V.M. and Foote, S.J. 2000. Improvements in allelic discrimination of microsatellite markers using denaturing polyacrylamide gel electrophoresis. *Mammalian Genome*, 11: 671-674.
- Anonim 1: <https://i.pining.com.jpg> [Son erişim tarihi: 08.03.2018].
- Anonim 2: <http://www.sentegen.com/hizmetler.aspx> [Son erişim tarihi: 08.03.2018].
- Arbetman, M.P., Meeus, I., Morales, C.L., Aizen, M.A. and Smagghe, G. 2013. Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological Invasions*, 15: 489-494.
- Arif, I.A., Bakır, M.A., Khan, H.A., Al-Farhan, A.H., Al-Homaidan, A.A., Bahkali, A.H., Al-Sadoon, M., and Shobrak, M. 2010. A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. *International Journal of Molecular Science*, 11: 2079-2096.
- Aslan, M.M. ve Şekeroğlu, E. 1996. Doğu Akdeniz Bölgesi (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) Bombus Türleri Üzerine Faunistik Çalışmalar. Türkiye 3. Entomoloji Kongresi, Ankara.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Avise, J.C. 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution. 2nd Ed., Chapman and Hall, New York, pp. 684.
- Aytekin, A.M. and Çağatay, N. 1999. Systematic Studies on the Family Apidae (Hymenoptera) in Ankara Province, Part I: Bombinae. *Tr J. of Zoology*, 23: 231-241.
- Aytekin, A. M. 2001. Bombus Arılarının Türkiye'deki Durumu ve Geleceği. *Teknik Arıcılık*, 74: 16-20.
- Aytekin, A.M. and Çağatay, N. 2002. Bombus Arılarında (Apidae: Hymenoptera) Altıncılar Üzerine Fenetik Bir Yaklaşım. *Mellifera*, 2 (3): 28-32.
- Aytekin, A.M., Çağatay, N. and Hazır, S. 2002. Floral Choices, Parasites and Micro-organisms in Natural Populations of Bumblebee (Apidae: Hymenoptera) in Ankara Province. *Turkish Journal of Zoology*, 26: 149-155.

- Aytekin, A.M., Rasmont, P. ve Çağatay, N. 2003. *Bombus terrestris lucoformis* Krüger ve *Bombus terrestris dalmatinus* Dalla Torre'de (Hymenoptera: Apidae) moleküler ve morfometrik varyasyon. *Mellifera*, 3(6): 2-8.
- Aytekin, A.M., Terzo, M., Rasmont, P. and Çağatay, N. 2007. Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). *Annales de Societe Entomologique de France*, 43: 95-102.
- Barkan, N.P. 2010. Türkiye *Thoracobombus* Altıncisi (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille) Türleri Üzerinde Sistemik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara.
- Bauer, A.M. et al. 2011. Availability of new Bayesian-delimited gecko names and the importance of character-based species descriptions. *Proceeding of the Royal Society of London B*, 278: 490-492.
- Beekman, M., Van Stratum, P. and Lingeman, R. 1998. Diapause survival and post diapause performance in bumblebee queens. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 89: 207-214.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la géne'tique des populations. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Benton, T. 2000. The bumblebees of Essex. The Nature of Essex Series, No: 4, Loginga Books, Essex, pp.179.
- Bergman, P. 1997. Chemical communication in bumblebee premating behaviour. PhD Thesis, Goteborg University, Goteborg.
- Bergström, G., Svensson, B. G., Applegren, M. and Groth, I. 1981. Complexity of bumble bee marking pheromones: biochemical, ecological and systematical interpretations. New York, London: Academic Press, *Biosystematics of Social Insects*, 175-183.
- Bernasconi, C., Pamillio, P. and Cherix, D. 2010. Molecular markers allow sibling species identification in red wood ants (*Formica rufa* group). *Systematics Entomology*, 35: 243-249.
- Bertsch, A., Hrabe, de A.M. and Przemeck, G.K.H. 2010. A phylogenetic framework for the North American bumblebee species of the subgenus *Bombus* sensu stricto (*Bombus affinis*, *B. franklini*, *B. monderatus*, *B. occidentalis* & *B. terricola*) based on mitochondrial DNA markers (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). *Beitrage zur Entomologie*, 60: 229-242
- Bertsch, A., Schweer, H., Titze, A. and Tanaka, H. 2005. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *B. magnus* (Hymenoptera, Apidae). *Insectes Sociaux*, 52: 45-54.
- Beton, D. 2004. Morphometric and genetic differentiation between Anatolia and Cyprus *Bombus terrestris* (L. 1758) populations. Msc thesis, Middle East Technical University, Turkey, pp. 86.
- Beuzen, N.D., Stear, M.J. and Chang, K.C. 2000. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*, 160: 42-52.

- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S. Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. and Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecology Evolution*, 22: 148-155.
- Bolstein, D., White, R.L., Skolnik, M. and Davis, R.W. 1980. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics.*, 32: 314-331.
- Bolton, B. 1995. A New General Catalogue of the Ants of the World. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Boore, J.L., 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Resources*, 27(8): 1767-1780.
- Borsting, C., Sanchez, J.J. and Morling, N. 2007. Mitochondrial analysis in forensic science, From: Molecular forensics John Wiley and Sons Inc.
- Bossert, S., Gereben-Krenn, B-A., Neumayer, J., Schneller, B. and Krenn, H.W. 2016. The Cryptic *Bombus lucorum* Complex (Hymenoptera: Apidae) in Austria: Phylogeny, Distribution, Habitat Usage and a Climatic Characterization Based on COI Sequence Data. *Zoological Studies*, 55: 13.
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. Handbook of Pollination Biology, Florence.
- Burns, J. M., Janzen, D. H., Hajibabaei, M., Hallwachs, W. and Hebert, P. D. N. 2008. DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus *Perichares* in Area de Conservaci _on Guanacaste, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105: 6350-6355.
- Cameron, S.A. and Williams, P.H. 2003. Phylogeny of bumble bee in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): congruence of molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetic Evolutuion*, 34: 321-331.
- Cameron, S.A., Hines, H.M. and Williams, P.H. 2007. A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 91: 161-188.
- Cameron, S.A., Lozier, J.D., Strange, J.P., Koch, J.B., Cordes, N., Solter, L.F. and Griswold, T.L. 2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108: 662-667.
- Carolan, J.C., Murray, T.E., Fitzpatrick, U., Crossley, J., Schmidt, H., Cedeberg, B., McNally, L., Paxton, R.J., Williams, P.H. and Brown, M.J.F. 2012. Colour patterns do not diagnose species: quantitative evaluation of a DNA barcoded cryptic bumblebee complex. *Plos One*, 7(1): e29251.
- Carrecado, A., Bar, W., Lincoln, P. et. al. 2000, DNA Comission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Science International*, 110: 79-85.
- Charman, T.G., Sears, J., Green, R.E. and Bourke, A.F.G. 2010. Conservation genetics, foraging distance and nest density of the scarce Great Yellow Bumblebee (*Bombus distinguendus*). *Molecular Ecology*, 19: 2661-2674.

- Chittka, L., Ings, T.C. and Raine, N.E. 2004. Chance and adaptation in the evolution of island bumble behavior. *Population Ecology*, 46: 243-251.
- Colla, S.R., Otterstatter, M.C., Gegear, R.J. and Thomson, J.D. 2006. Plight of the bumble bee Pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biology Conservation*, 129(4): 461-467.
- Colla, S.R. and Packer, L. 2008. Evidence for decline in eastern North American bumblebees (Hymenoptera: Apidae), with special focus on *Bombus affinis* Cresson. *Biodiversity Conservation*, 17: 1379-1391.
- Coppee, A., M. Terzo, I. Valterova, and Rasmont, P. 2008. Intraspecific Variation of the Cephalic Labial Gland Secretions in *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Chemical Biodiversity*, 5: 2654-2661.
- Coppee, A. 2010. A complex species or a species complex? Intraspecific pheromonal and genetic variations of *Bombus terrestris* (L.). PhD thesis, Laboratoire de Zoologie, Université de Mons, Belgium, 120 pp.
- Cosewic 2010. COSEWIC assessment and status report on the Rusty-patched Bumble Bee *Bombus affinis* in Canada. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada, Ottawa.
- Çağatay, N., Kence, A. ve Aytekin, A.M. 2000. Bombus ve Psithyrus (Apidae: Hymenoptera) Cinsi Arıların Sistematğinde Moleküler ve Morfometrik Yöntemlerin Kullanılması, Tübitak, Proje No: TBAG-1673 (197T102).
- Çıtak, E.Ç. 2000. Mitokondriyal Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi*, 9: 32-42.
- Dafni, A. 1998 "The threat of *Bombus terrestris* spread". *Bee World*, 79: 113-114.
- Dale, J.W. and von Schantz, M. 2002. From Genes to Genoms Concepts and Applications of DNA Technology. John Wiley Sons Inc.
- Danforth, B.N. 2007. Bees. *Current Biology*, 17(5): R156-161.
- Darvill, B., Ellis, J.S., Lye, G.C. and Goulson, D. 2006. Population structure and inbreeding in a rare and declining bumblebee, *Bombus muscorum* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Ecology*, 15: 601-611.
- Darvill, B., O'connor, S., Lye, G.C., Waters, J., Lepars, O. and Goulson, D. 2010. Cryptic differences in dispersal lead to differential sensitivity to habitat fragmentation in two bumblebee species. *Molecular Ecology*, 19: 53-63.
- Dimou, M., Taraza, S., Thrasyvoulou, A. and Vasilakakis, M. 2008. Effect of bumble bee pollination on greenhouse strawberry production. *Journal of Apiculture Research*, 47 (2): 99-101.
- Dreier, S., Redhead, J.W., Warren, I.A., Bourke, A.F.G., Heard, M.S., Jordan, W.C., Sumner, S., Wang, J.I. and Carvell, C. 2014. Fine-scale spatial genetic structure of common and declining bumble bees across an agricultural landscape. *Molecular Ecology*, 23: 3384-3395.
- Duchateau, M.J. and Velthuis, H.H.W. 1988. Development and reproductive strategies in *Bombus terrestris* colonies. *Behaviour*, 107: 186-207.

- Duchateau, M.J., Hishiba, H. and Velthuis, H.H.W. 1994. Diploid males in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 71: 263–269
- Duennes, M.A. and Vandame, R.V. 2015. *Bombus ephippiatus*. The IUCN Red List of Threatened Species.
- Duennes, M.A., Lozier, J.D., Hines, H.M. and Cameron, S.A. 2012. Geographical patterns of genetic divergence in the widespread Mesoamerican bumble bee *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Phylogenetic Evolution*, 64: 219-231.
- Duennes, M.A., Petranek, C., de Bonilla, E.P.D., Rivas, J.M., Lopez, O.M., Sagot, P., Re'my Vandame, R.V. and Cameron, S.A. 2017. Population genetics and geometric morphometrics of the *Bombus ephippiatus* species complex with implications for its use as a commercial pollinator. *Conservation Genetics*, 18: 553-572.
- Earl, D.A. and Vonholdt, B.M. 2012. Structure harvester: a web-site and program for visualizing structure output and implementing the evanno method. *Conservation Genetic Resources*, 4 (2): 359-361.
- Eijende, J. 1994. The pollination of aubergines (*Solanum melongera*) in glasshouse with honey bee (*Apis mellifera* L.) and bumble bee (*Bombus terrestris* L.). *Apidologie*, 25: 450-452.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends Genetics*, 16: 551-558.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5: 435-445.
- Ellis, J.S., Knight, M.E., Darvill, B. and Goulson, D. 2006. Extremely low effective population sizes, genetic structuring and reduced genetic diversity in a threatened bumblebee species, *Bombus sylvarum* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Ecology*, 15: 4375-4386.
- Engel, M.S. 2011. Systematic melittology: where to from here? *Systematic Entomology*, 36: 2-15.
- Estoup, A., Solignac, M., Harry, M. and Cournet, J.M. 1993. Characterization of (GT)_n and (CT)_n microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Resource*, 21(6): 1427–1431.
- Estoup, A., Scholl, A., Pouvreu, A. and Solignac, M. 1995. Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology*, 4: 89-93.
- Estoup, A., Solignac, M., Cournet, J.M., Goudet, J. and Scholl, A. 1996. Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe. *Molecular Ecology*, 5(1): 19-31.
- Evans, E., Thorp, R., Jepsen, S. and Black, S.H. 2008. Status review of three formerly common species of bumble bee in the subgenus *Bombus*: *Bombus affinis* (the rusty patched bumble bee), *B. terricola* (the yellow banded bumble bee), and *B. occidentalis* (the western bumble bee). The Xerces Society of Invertebrate Conservation. Portland.

- Excoffier, L., Smousse, P.E. and Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479-491.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2006. ARLEQUIN version 3.01: an integrated software package for population genetics data analysis. University of Bern, Institute of Zoology, Switzerland. <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>
- Falush, D., Matthew, S. and Pritchard, J.K. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes*, 7(4): 574-578.
- Fisher, B.L. and Smith, M.A. 2008. A revision of Malagasy species of *Anochetus* Mayr and *Odontomachus* Latreille (Hymenoptera: Formicidae). *Plos One*, 3: e1787.
- Fisher, R.M. and Pomeroy, N. 1989. Pollination of greenhouse muskmelons by bumblebee. *Journal of Economic Entomology*, 82: 1061-1066.
- Fitzpatrick, U., Murray, T.E., Paxton, R.J., Breen, J., Cotton, D., Santorum, V. and Brown M.J.F. 2007. Rarity and decline in bumblebees - A test of causes and correlates in the Irish fauna. *Biology Conservation*, 136: 185-194.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-299.
- Francisco, F.O., Santiago, L.R., Mizusaway, Y.M., Oldroyd, B.P. and Arias, M.C. 2016. Genetic structure of island and mainland populations of a Neotropical bumble bee species. *Journal of Insect Conservation*, 20: 383-394.
- Francoso, E., de Oliveira, F.F. and Arias, M.C. 2016. An integrative approach identifies a new species of bumblebee (Hymenoptera: Apidae: Bombini) from northeastern Brazil. *Apidologie*, 47: 171-185
- Funk, C.B., Schmid-Hempel, R. and Schmid-Hempel, P. 2006. Microsatellite loci for *Bombus* spp. *Molecular Ecology Notes*, 6: 83-86.
- Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J. and Vaissie`re, B.E. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68: 810-821.
- Gencer, H.V., Gürel, F. ve Karacaoğlu, M. 1998. *Bombus* Arısı ve Yetiştiriciliği, Ege Bölgesi I. Tarım Kongresi, Aydın.
- Gerloff, C.U., Ottmer, B.K. and Schmid-Hempel, P. 2003. Effects on inbreeding on immune response and body size in a social insect, *Bombus terrestris*. *Functional Ecology*, 17: 582-589.
- Gibbs, J. 2009. Integrative taxonomy identifies new (and old) species in the *Lasioglossum* (Dialictus) *tegulare* (Robertson) species group (Hymenoptera, Halictidae). *Zootaxa*, 2032: 1-38.
- Glaubitz, J.C. 2004. CONVERT: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages, *Molecular Ecology Notes*, 4: 309-310.

- Goka, K. 1998. Estimating colony number of *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae) queens foraging in Biratori, Hokkaido. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 43(1): 19-23.
- Goka, K. 2010. Introduction to the special feature for ecological risk assessment of introduced bumblebees: status of the European bumblebee *Bombus terrestris* in Japan as a beneficial pollinator and an invasive alien species. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 45: 1-6.
- Goka, K., Okabe, K., Yoneda, M. and Niwa, S. 2001. Bumblebee commercialization will cause worldwide migration of parasitic mites. *Molecular Ecology*, 10: 2095-2099.
- Goodwin, S. and Steiner, M. 1997. Introduction of *Bombus terrestris* for Biological Pollination of Horticultural Crops in Australia, Gosford IPM Services. Gosford N. S. W. 2251 Australia.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. *Journal of the Heredity*, 86: 485-486.
- Goulson, D. and Hanley, M.E. 2004. Distribution and forage use of exotic bumblebees in South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 28: 225-232.
- Goulson, D., Lye, G.C. and Darvill, B. 2008. Decline and conservation of bumble bees. *Annual Review Ecology Evolution Systematics*, 53: 191-208.
- Goulson, D. 2010. Impacts of non-native bumblebees in Western Europe and North America. *Applied Entomology and Zoology*, 45: 7-12.
- Goulson, D., Kaden, J.C., Lepais, O., Lye, G.C. and Darvill, B. 2011. Population structure, dispersal and colonization history of the garden bumblebee *Bombus hortorum* in the Western Isles of Scotland. *Conservation Genetics*, 12: 867-879.
- Gösterit, A. and Gürel, F. 2005. Comparison of development patterns of imported and native *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) colonies in Mediterranean Coastal Region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29: 393-398.
- Gösterit, A. ve Gürel, F. 2014. Bombus arısı (*Bombus terrestris* L.)'nın ticari yetiştiriciliği için temel gereklilikler. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(2): 102-111.
- Graystock, P., Yates, K., Evison, S.E.F., Darvill, B., Goulson, D. and Hughes, W.O.H. 2013. The Trojan hives: pollinator pathogens, imported and distributed in bumblebee colonies. *Journal of Applied Ecology*, 50: 1207-1215.
- Grixti, J.C., Wong, L.T., Cameron, S.A. and Favret, C. 2009. Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biological Conservation*, 142: 75-84.
- Gürel, F., Gencer, V., Efendi, Y. ve Talay, R. 1998. Antalya çevresindeki seralarda kullanılan bombus (*Bombus terrestris*) kolonilerinin performanslarının değerlendirilmesi. *Derim*, 15: 150-161.
- Gürel, F. 1999. Bombus arısı (*Bombus terrestris*) yetiştiriciliği ve sera ürünlerinin tozlaşmasında kullanımı. *Teknik Arıcılık*, 65: 22-26.

- Gürel, F., Talay, R., Efendi, Y. ve Balcıoğlu, M.S. 1999. Örtü altı domates yetiştiriciliğinde bombus arısı (*Bombus terrestris*) polinasyonunun verim ve kaliteye etkileri. GAP I. Tarım Kongresi. Urfa.
- Gürel, F. ve Gösterit, A. 2001a. *Bombus* (*Bombus terrestris*) arısında koloni gelişimi ve ana arı erkek arı üretim süreci. *Teknik Arıcılık*, 73: 22-29.
- Gürel, F., İlaslan, D., Gösterit, A. ve Efendi, Y. 2001b. *Bombus* arılarında diyapoz evresi ve kontrol altına alma çabaları. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14: 181-188.
- Gürel, F. ve Basım, H. 2003. Batı Akdeniz ve Ege Sahil Bölgesi' ndeki yerel *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) genotiplerinin AFLP tekniği ile belirlenmesi ve yabancı genotip introduksiyonunun saptanması. TÜBİTAK, Proje No: TOGTAG - TARM 2575-2.
- Gürel, F. ve Gösterit, A. 2007. *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) arısının yıl boyu kitlesel üretiminde uygulanan teknikler ve karşılaşılan sorunlar. 5. Ulusal Bilim Kongresi, ss. 1-10, 5 - 8 Eylül, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Van.
- Gürel, F., Gösterit, A. and Eren, Ö. 2008. Life-cycle and foraging patterns of native *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in the Mediterranean region. *Insectes Sociaux*, 55: 123-128.
- Gürel, F. ve Gösterit, A. 2009. The suitability of native *Bombus terrestris dalmatinus* (Hymenoptera: Apidae) queen for mass rearing. *Journal of Apicultural Science*, 53(1): 67-73.
- Gürel, F., Yıldız, M.A. ve Balcıoğlu, M.S. 2011. Türkiye *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) Populasyonlarındaki Genetik Çeşitliliğin Mikrosatellit Markerler Kullanılarak Belirlenmesi. TÜBİTAK, Proje No: TOVAG-109 O 342.
- Gürel, F., Argun Karsli, B. and Gösterit, A. 2017. The role of Bumblebee (*Bombus terrestris*) in the Pollination of Greenhouse Crops and Its Commercial use on Turkey. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, pp. 420-420, 15-17 Mayıs, Nevşehir, Türkiye.
- Hall, H.G. 1990. Parental analysis of introgressive hybridization between African and European honeybees using nuclear DNA-RFLPs. *Genetics*, 125: 611-621.
- Hartl, D.L. and Clark, A.G. 2007. Principles of Population Genetics, Fourth Edition, Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. and de Waard, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society London B Biological Sciences*, 270: 96-99.
- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H. and Hallwachs, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academic Sciences Biology*, 101: 14812-14817.
- Heinrich, B. 1979. Bumblebee economics. Harvard University Press, Cambridge, 200 pp.

- Hermann, F., Westphal, C., Robin, F.A. and Moritz-Steffan-Dewenter, I. 2007. Genetic diversity and mass resources promote colony size and forager densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes. *Molecular Ecology*, 16: 1167-1178.
- Hines, H.M., Cameron, S.A. and Williams, P.H. 2006. Molecular phylogeny of the bumble bee subgenus *Pyrobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*) with insights into gene utility for lower-level analysis. *Invertebrate Systematics*, 20: 289-303.
- Hines, H.M. and Williams, P.H. 2012. Mimetic colour pattern evolution in the highly polymorphic *Bombus trifasciatus* (Hymenoptera: Apidae) species complex and its comimics. *Zoological Journal of the Linnean Society-London*, 166(4): 805-826.
- Hingston, A.B., Smedley, J.M., Driscoll, D.A. and Corbett, S. 2002. Extent of Invasion of Tasmanian Native Vegetation by the Exotic Bumblebee *Bombus terrestris* (Apoidea: Apidae). *Australian Journal of Ecology*, 27: 162-172.
- Hingston, A.B. 2006. Is the exotic bumble bee *Bombus terrestris* really invading Tasmanian native vegetation. *Journal of Insect Conservation*, 10: 289-293.
- Huang, J., Wu, J., An, J. and Williams, P.H. 2015. Newly discovered colour-pattern polymorphism of *Bombus koreanus* females (Hymenoptera: Apidae) demonstrated by DNA barcoding. *Apidologie*, 46: 250-261.
- Hughes, M.J. 1996. Commercial rearing of bumble bees. Bumble bees for pleasure and profit, ed: Matheson, A. IBRA, Cardiff, UK, pp. 47.
- Huson, D.H. and Bryant, D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Molecular Biology Evolution*, 23(2): 254-267.
- Ings, T.C., Raine, N.E. and Chittka, L. 2005. Mating preference in the commercially imported bumblebee species *Bombus terrestris* in Britain (Hymenoptera: Apidae), *Entomologia Generalis*, 28(3): 233-238.
- Ings, T.C., Ward, N.L. and Chittka, L. 2006. Can commercially imported bumble bees out-compete their native conspecifics. *Journal of Applied Ecology*, 43: 940-948.
- Ings, T.C., Ings, N.L., Chittka, L. and Rasmont, P., 2010. A failed invasion? Commercially introduced pollinators in Southern France. *Apidologie*, 41: 1-13.
- Inoue, M.N., Yokoyama, J. and Washitani, I. 2008. Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12: 135-146.
- Jain, S., Joshi, R., Jatwa, K., Sharma, A. and Majahan, S.C. 2014. DNA microsatellites. *PharmaTutor*, 2(8): 79-86.
- Jermiin, L.S. and Crozier, R.H. 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufoniger*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *Journal Molecular Evolution*, 38: 282-294.
- Jha, S. and Kremen, C. 2013. Bumble bee foraging in response to landscape heterogeneity. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 8: 555-558.

- Jha, S. 2015. Contemporary human-altered landscapes and oceanic barriers reduce bumble bee gene flow. *Molecular Ecology*, 24: 993-1006.
- Joukhadar, R. and Jighly, A. 2012. Microsatellites grant more stable flanking genes. *BMC Research Notes*, 5(556): 1-4
- Kaftanoğlu, O. 2000. The diversity and faunistics of bumblebees for pollination in greenhouses. Insect pollination in Greenhouses: proceedings of the specialists Meeting held in Soesterberg, The Netherlands, 30 September to 2 October 1999. Universiteit Utrecht, Utrecht, 220 pp.
- Kanbe, Y., Okada, I., Yoneda, M., Goka, K. and Tsuchida, K. 2008. Interspecific mating of introduced bumblebee *Bombus terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrite sapporoensis* result in inviable hybrids. *Naturwissenschaften*, 95: 1003-1008.
- Karol, S., Ayvalı, C. ve Suludere, Z. 2000. Hücre Biyolojisi 4.baskı, 238 s.
- Karlı, B.A. 2011. Akdeniz Bölgesi Doğal *B. terrestris* (Hymenoptera: Apidae) populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin mikrosatelit markerler kullanılarak belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Türkiye, 66 s.
- Kearns, C.A. and Thomson, J.D. 2001. The Natural History of Bumblebees. University Press of Colorado, pp.130.
- Kim, M.J., Yoon, H.J., Im, H.H., Jeong, H.U., Kim, I.M., Kim, S.R. and Kim, I. 2009. Mitochondrial DNA sequence variation of the bumblebee, *Bombus ardens* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Asia Pacific Entomology*, 12: 133-139.
- Kimura, M. and Crow J. F.V. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49: 725-38.
- Klein, A.M., Vaissie`re, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C. and Tscharntke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 274: 303-313.
- Klug, W.S., Cummings, M.R. and Spencer, C.A. 2011. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 677 s.
- Kobilinsky, L., Liotti, T.F. and Oeser-Sweat, J. 2005. DNA: Forensic and Legal Applications, John Wiley and Sons, Inc.
- Kondo, I.K., Yamanaka, D., Kanbe, Y., Kunitake, K.K., Yoneda, M., Tsuchida, K. and Goka, K. 2009. Reproductive disturbance of Japanese bumblebees by the introduced European bumblebee *Bombus terrestris*. *Naturwissenschaften*, 96: 467-475.
- Koulianos, S. 1999. Phylogenetic relationships of the bumblebee subgenus *pyrobombus* (Hymenoptera: Apidae) inferred from mitochondrial cytochrome B and cytochrome oxidase I sequences. *Annals of the Entomological Society of America*, 92(3): 355-358.
- Koulinas, S. and Schmid-Hempel, P. 2000. Phylogenetic relationships among bumble bees (*Bombus*, latreille) inferred from mitochondrial cytochrome b and

- cytochrome oxidase I sequences. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 14: 335-341.
- Kraus, F.B., Wolf, S. and Moritz, R.F.A. 2009. Male flight distance and population substructure in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Journal of Animal Ecology*, 78: 247-252.
- Kraus, F.B., Szentgyörgyi, H., Rozej, E., Rhode, M., Moron, D., Woyciechowski, M. and Moritz, R.F.A. 2011. Greenhouse bumblebees (*Bombus terrestris*) spread their genes into the wild. *Conservation Genetics*, 12: 187-192.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35: 1547-1549.
- Labougle, J.M. 1990. *Bombus* of México and Central America (Hymenoptera: Apidae). *Univ. Kansas Science Bulletin*, 54: 35-73.
- Larkin, M.A. et al. 2007. Clustal W and Clustal version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947-2948.
- Larsen, T.H., Williams, N. and Kremen, C. 2005. Extinction order and altered community structure rapidly disrupt ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 8: 538-547.
- Leache, A.D. and Fujita, M.K. 2011. Bayesian species delimitation in West African forest geckos (*Hemidactylus fasciatus*). *Proceeding of the Royal Society of London: B*, 278: 493-495.
- Lecocq, T. 2009. Genetique et pheromones sexuelles des bourdons de la Corse. Master Thesis, University of Mons, Mons.
- Lecocq, T., Coppee, A., Michez, D. and Rasmont, P. 2009. Phylogeny and sexual pheromones of Corsican bumblebees. Systematics, First Meeting of BioSyst EU, Seventh Biennial Conference of the Systematics Association, Leiden.
- Lecocq, T., Lhomme, P., Michez, D., Dellicour, S., Valterova, I. and Rasmont, P. 2011. Molecular and chemical characters to evaluate species status of two cuckoo bumblebees: *Bombus barbutellus* and *Bombus maxillosus* (Hymenoptera, Apidae, Bombini). *Systematic Entomology*, 36: 453-469.
- Lecocq, T., Vereecken, N.J., Michez, D., Dellicour, S., Lhomme, P., Valterova, I., Rasplus, J.-Y. and Rasmont, P. 2013. Patterns of genetic and reproductive traits differentiation in mainland vs. Corsican populations of bumblebees. *Plos One*, 8: e65642.
- Lecocq, T., Brasero, N., De Meulemeester, T., Michez, D., Dellicour, S., Lhomme, P., De Jonghe, R., Valtero, I., Urbanova, K. and Rasmont, P. 2015a. Integrative taxonomic approach to assess the taxonomic status of Corsican bumblebees: implication for conservation. *Animal Conservation*, 18: 236-248.
- Lecocq, T., Dellicour, S., Michez, D., Dehon, M., Dewulff, A., De Meulemeester, T., Brasero, N., Valtero, I., Rasplus, J.Y. and Rasmont, P. 2015b. Methods for species delimitation in bumblebees (Hymenoptera, Apidae, Bombus): towards an integrative approach. *Zoologica Scripta*, 44: 281-297.

- Lecocq, T., Brasero, N., Martinet, B., Valtero, I. and Rasmont, P. 2015c. Highly polytypic taxon complex: interspecific and intraspecific integrative taxonomic assessment of the widespread pollinator *Bombus pascuorum* Scopoli 1763 (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Entomology*, 40: 881-888.
- Lecocq, T., Coppee, A., Michez, D., Brasero, N., Rasplus, J.Y., Valtero, I. and Rasmont, P. 2016. The alien's identity: consequences of taxonomic status for the international bumblebee trade regulations. *Biological Conservation*, 195: 169-176.
- Lepais, O., Darvill, B., O'Connor, S., Osborne, J.L., Sanderson, R.A., Cussans, J. and Goulson, D. 2010. Estimation of bumblebee queen dispersal distances using sibship reconstruction method. *Molecular Ecology*, 19: 819-831.
- Hood, L.E., Hunkapiller, M.W. and Smith, L.M. 1987. Automated DNA sequencing and analysis of the human genome. *Genomics*, 1(3): 201-212.
- Liu, K. and Muse, S. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21: 2128-2129.
- Lockey, K. 1991. Insect hydrocarbon classes – implications for chemotaxonomy. *Insect Biochemistry*, 21: 91-97.
- Loken, A. 1973. Studies on Scandinavian bumble bees (Hymenoptera, Apidae). *Norsk Entomogisk Tidsskrift*, 20: 1-218.
- Loken, A. 1984. Scandinavian species of the genus *Psithyrus* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae). *Entomologica Scandinavica (Supplement)*, 23: 1-45.
- Lozier, J.D. and Cameron, S.A. 2009. Comparative genetic analyses of historical and contemporary collections highlight contrasting demographic histories for the bumble bees *Bombus pensylvanicus* and *B. impatiens* in Illinois. *Molecular Ecology*, 18: 1875-1886.
- Lozier, J.D., Strange, J.P., Stewart, I.J. and Cameron, S.A. 2011. Patterns of range-wide genetic variation in six North American bumble bee (Apidae: *Bombus*) species. *Molecular Ecology*, 20: 4870-4888.
- Lozier, J.D., Strange, J.P. and Koch, J.B. 2013. Landscape heterogeneity predicts gene flow in a widespread polymorphic bumble bee, *Bombus bifarius* (Hymenoptera: Apidae). *Conservation Genetics*, 14 (5): 1099-1110.
- Maebe, K., Meeus, I., Maharramov, J., Grootaert, P., Michez, D., Rasmont, P. and Smagghe, G. 2013. Microsatellite analysis in museum samples reveals inbreeding before the regression of *Bombus veteranus*. *Apidologie*, 44: 188-197.
- Maebe, K., Meeus, I., Ganne, M., De Meulemeester, T., Biesmeijer, K. and Smagghe, G. 2015. Microsatellite Analysis of Museum Specimens Reveals Historical Differences in Genetic Diversity between Declining and More Stable *Bombus* Species. *Plos One*, 10 (6): 1-15.
- Martin, S.J., Helantera, H. and Drijfhout, F.P. 2008. Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in Formica ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95: 131-140.

- Matsuda, H. and Yukawa, N. 2007. Mitochondrial analysis in forensic science, From: Molecular forensics, John Wiley and Sons Inc.
- Mcfadyen, R.E. and Lloyd, S.G. 2006. Bumblebees: Implications of a new super-pollinator in mainland Australia. 15th Australian Weeds Conference, Papers and Proceedings: Managing Weeds in a Changing Climate. Adelaide, South Australia.
- Mckendrick, L., Provan, J., Fitzpatrick, U., Brown, M.J.F., Murray, T.E., Stolle, E. and Paxton, R.J. 2017. Microsatellite analysis supports the existence of three cryptic species within the bumble bee *Bombus lucorum* sensu lato. *Conservation Genetics*, 18: 573-584.
- Meeus, I., Brown, M.J.F., De Graaf, D.C. and Smagghe, G. 2011. Effects of invasive parasites on bumble bee declines. *Conservation Biology*, 25: 662-671.
- Michener, C.D. 1951. Subgeneric groups of Hemisia (Hymenoptera, Apoidea). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 24: 1-11.
- Michener, C.D. 1990. Classification of the Apidae (Hymenoptera). Univ. Kansas Nat. Hist. Mus. Spec. Publ. 54, 75–164.
- Michener, C.D. 2007. The bees of the world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Michez, D. and Eardley, C. 2007. Monographic revision of the bee genus *Melitta* Kirby 1802 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae). *Annual Society Entomology France*, 43: 379-440.
- Milliron, H.E. 1973. A monograph of the western hemisphere bumblebees (Hymenoptera: apidae; Bombinae). II. The genus *Megabombus* subgenus *Megabombus*. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 89: 81-237.
- Morales, C.L., Arbetman, M., Cameron, S. and Aizen, M. 2013. Rapid ecological replacement of a native by invasive bumble bee species. *Front Ecol Environ*, 11(10): 529-534.
- Moreira, A.S. 2012. Potential impact of bumblebee commercialisation on population genetic structure of *Bombus terrestris* L. and *Bombus lucorum* L. (Hymenoptera: Apidae). PhD thesis, Department of Science and Health, Institute of Technology, Ireland, 213 pp.
- Moreira, A.S., Horgan, F.G., Murray, T.E. and Kakouli, T. 2015. Population genetic structure of *Bombus terrestris* in Europe: Isolation and genetic differentiation of Irish and British populations. *Mol Ecol*, 24: 3257-3268.
- Moritz, R.F.A., Hawkins, C.F., Crozier, R.H. and Mackinley, A.G. 1986. A mitokondriyal DNA polymorphism in honeybees. *Experientia*, 42: 322-324.
- Murray, T.E., Fitzpatrick, U., Brown, M.J.F. and Paxton, R.J. 2008. Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs. *Conservation Genetics*, 9: 653-666.
- Murray, T.E., Coffey, M.F., Kehoe, E. and Horgan, F.G. 2013. Pathogen prevalence in commercially reared bumble bees and evidence of spillover in conspecific populations. *Biological Conservation*, 159: 269-276.

- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, 106: 283-292.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annual Human Genetic*, 41(2): 225-233.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, NewYork.
- Nilsson, M., Andreasson, H., Ingman, M. and Allen M. 2008. Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increase discrimination in forensic analysis, *Forensic Science International: Genetics* 2: 1-8.
- Oh, H.K., Yoon, H.J., Lee, J.Y., Park, J.S. and Kim, I. 2013. Population Genetic Structure of the Bumblebee, *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidae), Based on Mitochondrial COI Gene and Nuclear Ribosomal ITS2 Sequences. *International Journal of Industrial Entomology*, 27(1): 142-158.
- Ollerton, J., Winfree, R. and Tarrant, S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos*, 120: 321-326.
- Ono, M. 1998. Why now bumblebee (in Japanese). *The Nature and Insects*, 33(6): 2-3.
- Owen, R.E. and Plowright, R.C. 1980. Abdominal pile color dimorphism in the bumble bee *Bombus melanopygus*. *Journal of Heredity*, 71: 241-247
- Owen, R.E. and Plowright, R.C. 1988. Inheritance of metasomal pile colour variation in the bumble bee *Bombus rufocinctus* Cresson (Hymenoptera: Apidae). *Canadian Journal of Zoology*, 66: 1172-1178.
- Owen, R.E. and Whidden, T.L. 2013. Discrimination of the bumble bee species *Bombus occidentalis* Greene and *B. terricola* Kirby by morphometric, colour and RAPD variation. *Zootaxa*, 3608: 328-344.
- Owen, E.L., Bale, J.S. and Hayward, S.A.L. 2016. Establishment risk of the commercially imported bumblebee *Bombus terrestris dalmatinus*-can they survive winters?. *Apidologie*, 1-10.
- Öksüz, D.P., 2014. *Poecilimon Similis* (Orthoptera: Tettigonidae)'in Doğu Karadeniz Populasyonları Arasındaki Genetik Çeşitlilik-Coğrafi Dağılım İlişkisinin Merkez-Perifer Hipotezi Çerçevesinde Sınanması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara. 109 s.
- Özbek, H. 1979. Erzurum civarında yonca (*Medicago sativa* L.) ve korunga (*Onorbychis sativa* L.)'daki polinatör arılar (Hymenoptera: Apidae), bunların faaliyetleri ve tohum bağlama etkileri. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 150 s.
- Özbek, H. 1983. Doğu Anadolu' nun bazı yörelerindeki Bombinae (Hymenoptera: Apoidea, Bombidae) Türleri Üzerindeki Taksonomik ve Bazı Biyolojik Çalışmalar. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 70 s.
- Özbek, H. 1990. A new bumblebee species of *Pyrobombus* Dalla Torre (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) in estern Anatolia, Turkey. *Turk Entomoloji Dergisi*, 14 (4): 207-214.

- Özbek, H. 1991. Yabancılar Şimdi de Biyolojik Kaynaklarımızı Yağmalıyor. *Hasad*, 6 (72): 6-10.
- Özbek, H. 1997. Bumblebee fauna of Turkey with distribution maps (Hymenoptera: Apidae, Bombinae) Part 1: *Alpigenobombus* Skorikov, *Bombias* Robertson and *Bombus latreille*. *Turk Entomoloji Dergisi*, 21(1): 37-56.
- Özdil, F. 2007. Mitokondriyal DNA PCR-RFLP (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi) Markerleri Kullanılarak Türkiye'nin Farklı Yörelerine Ait Bal Arılarının Tanımlanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 125 s.
- Özenirler, Ç. 2010. Türkiye *Bombus* (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* Latreille) Türleri Sistematğinde Geometrik Morfometrik Yöntemlerin Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 103 s.
- Pamilo, P., Tengo, J., Rasmont, P., Pirhonen, K., Pekkarinen, A. and Kaarnam, E. 1997. Pheromonal and enzyme genetic characteristic of the *Bombus lucorum* species complex in northern Europe. *Entomologica Fennica*, 7: 187-194.
- Pekkarinen, A. 1979. Morphometric colour and enzyme variation in bumble bees (Hymenoptera, Apidae, *Bombus*) in Fennoscandia and Denmark. *Acta Zoologica Fennica*, 158: 1-60.
- Pekkarinen, A. 1982. Morphology and specific status of *Bombus lapponicus* (Fabricius) and *B. monticola* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Entomologica Scandinavica*, 13: 41-46.
- Pirounakis, K., Koulianos, S. and Schmid-Hempel, P. 1998. Genetic variation among European populations of *Bombus pascuorum* (Hymenoptera: Apidae) from mitochondrial DNA sequence data. *European Journal of Entomology*, 95: 27-33.
- Pritchard, J.K., Matthew S. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- Prys-Jones, O.E. and Corbet, S.A. 1991. Bumblebees, The Richmond Publishing Co. Ltd. Slough, UK, pp. 91.
- Ramadan, S., Kayang, B.B., Inoue, E., Nirasawa, K., Hayakawa, H., Ito, S. and Inoue-Murayama, M. 2012. Evaluation of genetic diversity and conservation priorities for Egyptian chickens. *Open Journal of Animal Sciences*, 2: 183-190.
- Rasmont, P. 1983. La notion d'exerge appliquée à *Megabombus* (*Thoracobombus*) *pascorum* (Scopoli) (Hymenoptera, Apidae). *Bulletin et Annales Societe Royale Belge Entomologie*, 119: 185-195.
- Rasmont, P. and Adamski, A. 1995. Les bourdons de la Corse (Hymenoptera, Apoidea, Bombinae). *Notes Fauniques de Gembloux*, 31: 1-87.
- Rasmont, P. and Flagothier, D. 1996. Biogéographie et choix floraux des bourdons (Hymenoptera, Apidae) de la Turquie", N.A.T.O.-O.T.A.N. TU-Pollination Project rapport préliminaire, Université de Mons-Hainaut, Çukurova Üniversitesi, Adana, pp. 69.
- Rasmont, P., Terzo, M., Aytekin, A.M., Hines, H., Urbanova, Cahlikova, L. and Valterova, I. 2005. Cephalic secretions of the bumblebee subgenus *Sibiricobombus* Vogt suggest *Bombus niveatus* Kriechbaumer and *Bombus*

- vorticorus* Gerstaecker are conspecific (Hymenoptera, Apidae, *Bombus*). *Apidologie*, 36: 571-584.
- Rasmont, P., Coppee, A., Michez, D. and Meullemester, T. 2008. An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annales Societe Entomologique*, 44(1): 243-250.
- Rasmont, P., Aytekin, A.M., Kaftanoğlu, O. and Flagothier, D., 2009. The bumblebees of Turkey. Atlas Hymenoptera, Université de Mons, Gembloux Agro-Biotech, Mons, Gembloux.
- Rasmont, P. et al. 2015. Climatic risk and distribution atlas of European bumblebees. *BioRisk*, 10: 1-236.
- Ravestijn, W.V. and Sande, J.V.D. 1991. Use of bumblebees for the pollination of glasshouse tomatoes. *Acta Hort*, 288: 204-212.
- Richards, O.W. 1931. Some notes on the humble-bees allied to *Bombus alpinus*, L. Tromso Museums Arshefter. 50: 1-32.
- Richards, K.W. 1973. Biology of *Bombus polaris* Curtis and *B. hyperboreus* Schonherr at Lake Hazen, Northwest Territories (Hymenoptera: Bombini). *Quaestiones Entomologicae*, 9: 115-157.
- Rozas, J., Librado, P., Sanchez-Delbarrio, J. C., Messeguer, X. and Rozas, R. 2010. Universitat de Barcelona Current Released Version: 5.10.1
- Ruijter, A. 1997. Commercial Bumblebee Rearing and Its Implications, Proc. Int'I Symp. on Pollination. Ed. K.W. Richards. *Acta Hort*, 437.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4: 406-425.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74: 5463-7.
- Santos Junior, J.E., Santos, F.R. and Silveira, F.A. 2015. Hitting an Unintended Target: Phylogeography of *Bombus brasiliensis* Lepeletier, 1836 and the First New Brazilian Bumblebee Species in a Century (Hymenoptera: Apidae). *Plos One*, 10(5): e0125847.
- Schenau, E. and Jha, S. 2017. High levels of male diploidy but low levels of genetic structure characterize *Bombus vosnesenskii* populations across the Western US. *Conservation Genetics*, 18: 597-605.
- Schlotterer, C. and Harr, B. 2001. Microsatellite instability. In: Encyclopedia of Life Sciences. *Nature Publishing Group*, 1-4.
- Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R., Brunner, P.C., Seman, O.D. and Allen, G.R. 2007. Invasion success of the bumblebee, *Bombus terrestris*, despite a drastic genetic bottleneck. *Heredity*, 99: 414-422.
- Schneider, W.S., Roessli, D. and Excoffier, L. 2000. Arlequin ver. 2.00: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.

- Schochet, A.B., Hung, K.-L.J. and David A . Holway, D.A. 2016. Bumble bee species exhibit divergent responses to urbanisation in a Southern California landscape. *Ecological Entomology*, 41: 685-692.
- Schwarz, A.H., Settele, J., Moritz, R.F.A. and Kraus, F.B. 2012. Factors influencing *Nosema bombi* infections in natural populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 110: 48-53.
- Scriven, J.J., Woodall, L.C., Tinsley, M.C., Knight, M.E., Williams, P.H., Carolan, J.C., Brown, M.J.F. and Goulson, D. 2015. Revealing the hidden niches of cryptic bumblebees in Great Britain: implications for conservation. *Biological Conservation*, 182: 126-133.
- Shao, Z.Y., Mao, H.X., Fu, W.J., Ono, M., Wangs, D.S., Bonizzoni, M. and Zhang, Y.P. 2004. Genetic structure of Asian populations of *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidea). *Journal of Heredity*, 9(1): 46-52.
- Sheffield, C.S., Richardson, L., Cannings, S., Ngo, H., Heron, J. and Williams, P.H. 2016. Biogeography and designatable units of *Bombus occidentalis* Greene and *B. terricola* Kirby (Hymenoptera: Apidae) with implications for conservation status assessments. *Journal of Insect Conservation*, 20: 189-199.
- Simon, D.L. and Buchenauer, D. 1993. Genetic diversity of European livestock breeds. Results of Monitoring by the EAAP Working Group on Animal Genetic Resources; EAAP Animal Genetic Data Bank, Institute of Animal Breeding and Genetics, School of Veterinary Medicine, Hannover, EAAP Publication, No. 66, Wageningen Pers, Wageningen, 591 p.
- Skorikov, A.S. 1937. Die grönländischen Hummeln im Aspekte der Zirkumpolarfauna. *Entomologische Meddelelser*, 20: 37-64.
- Smith, A., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B., Deans, A.R., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D.N. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology and collections. *Proceedin National Academy Science U S A*, 105: 12359-12364.
- Solignac, M. 1991. Preparation and visualization of animal mitokondriyal DNA for RFLP analysis. NATO ASI series, Vol. H57. Molecular Techniques in Taxonomy. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Solignac, M., Vautrin D., Loiseau, A., Mougel, F., Baudry, E., Estoup, A., Garnery, L., Haberl, M. and Cornuet, J.M. 2003. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera*) genome. *Molecular Ecology Notes*, 3(2): 307.
- Stolle, E., Rohde, M., Vautrin, D., Solignac, M., Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R. and Moritz, R.A.F. 2009. Novel microsatellite DNA loci for *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources*, 9(5): 1345-1352.
- Suni, S.S., Scott, Z., Averill, A. and Whiteley, A. 2017. Population genetics of wild and managed pollinators: implications for crop pollination and the genetic integrity of wild bees. *Conservation Genetics*, 18: 667-677.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecology Evolution*, 15(5): 199-203.

- Svensson, B.G. 1979. *Pyrobombus lapponicus* auct. In Europe recognized as two species: *P. lapponicus* (Fabricius, 1793) and *P. monticola* (Smith, 1849) (Hymenoptera, Apoidea, Bombinae). *Entomologica Scandinavica*, 10: 275-296.
- Symonds, M.R.E., Moussalli, A. and Elgar, M.A. 2009. The evolution of sex pheromones in an ecologically diverse genus of flies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97: 594-603.
- Takezaki, N. and Nei, M. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144: 389-399.
- Takezaki, N., Nei, M. and Tamura, K. 2010. POPTREE2: software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows-interface. *Molecular Biology Evolution*, 27(4): 747-752.
- Tamura, K. and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Stecher, G., Filipowski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.
- Tasei, J.N., Moïnard, C., Moreau, L., Himpens, B. and Goyonnaud, S. 1998. Relationship Between Aging, Mating, and Sperm Production in Captive *Bombus terrestris*. *Journal of Apicultural Research*, 37(2): 107-113.
- Taşbaş, Ş. 2017. Antalya Yöresi *Bombus terrestris* Arısında mtDNA Bakımından Genetik Çeşitliliğin ve Filogenetik İlişkilerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Türkiye, 65 s.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserant, F., Colin, M.E. and Bergoin, M. 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis Mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 7185-7191.
- Thorp, R.W. 2005. Species profile: *Bombus franklini*. In: Shepherd MD, Vaughan DM, Black SH (eds) Red list of pollinator insects of North America. CD-ROM Version 1. The Xerces Society for Invertebrate Conservation, Portland.
- Tokoro, S., Yoneda, M., Kunitake, Y.K., and Goka, K. 2010. Special Feature for Ecological Risk Assessment of Introduced Bumblebees Geographic variation in mitochondrial DNA of *Bombus ignitus* (Hymenoptera:Apidae). *Applied Entomology and Zoology*, 45 (1): 77-87.
- Trewick, S.A. 2008. DNA barcoding is not enough: mismatch of taxonomy and genealogy in New Zealand grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Cladistics*, 24: 240-254.
- Tsuchida, K., Kondo, N.I., Inoue, M.N. and Goka, K. 2010. Reproductive disturbance risks to indigenous Japanese bumblebees from introduced *Bombus terrestris*. *Applied Entomology and Zoology*, 45(1): 49-58.
- Valterova, I. and Urbanova, K. 1997. Chemical signals of bumblebees. *Chemical Listy*, 91: 846-857.

- Velthuis, H.H.W. and van Doorn, A. 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37: 421-451.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A. and Higuchi, R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques*, 7: 506-513.
- Whitehorn, P.R., Tinsley, M.C., Brown, M.J.F., Darvill, B. and Goulson, D. 2009. Impacts of inbreeding on bumblebee colony fitness under field conditions. *BMC Evolution Biology*, 9: 152.
- Wildmer, A., Hempel, P.S., Estoup, A. and Scholl, A. 1998. Population genetic structure and colonization history of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) from the Canary Islands and Madeira. *Heredity*, 81: 563-572.
- Widmer, A. and Schmid-Hempel, P. 1999: The population genetic structure of a large temperate pollinator species, *Bombus pascuorum* (Scopoli) (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Ecology*, 8: 387-398.
- Williams, P.H. 1998. An annotated checklist of bumblebees with an analysis of patterns of description. *Bulletin National Historical Museum Entomology*, 67: 79-152.
- Williams, P.H. 2007. The distribution of bumblebee colour patterns world-wide: possible significance for thermoregulation, crypsis, and warning mimicry. *Biological Journal of the Linnean Society*, 92: 97-118.
- Williams, P.H. and Osborne, J.L. 2009. Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie*, 40: 367-87.
- Williams, P.H. 2011. Bumblebees collected by the Kyushu University Expeditions to Central Asia (Hymenoptera, Apidae, genus *Bombus*). *Esakia*, 50: 27-36.
- Williams, P.H. et al. 2012a. Unveiling cryptic species of the bumblebee subgenus *Bombus* s. str. worldwide with COI barcodes (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Biodiversity*, 10: 21-56.
- Williams, P.H. et al. 2012b. Assessing cryptic species of the bumblebee subgenus *Bombus* s. str. world-wide with COI barcodes (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Biodiversity*, 10: 21-56.
- Williams, P.H., An, J., Brown, M.J.F., Carolan, J.C., Goulson, D., Huang, J.X. and Ito, M. 2012c. Cryptic Bumblebee Species: Consequences for Conservation and the Trade in Greenhouse Pollinators. *Plos One*, 7 (3): e32992.
- Williams, P.H., Byvaltsev, A., Sheffield, C. and Rasmont, P. 2013. *Bombus cullumanus*—an extinct European bumblebee species? *Apidologie*, 44 (2): 121-132.
- Williams, P.H., Thorp, R., Richardson, L. and Colla, S. 2014. Bumble bees of North America. Princeton University Press, Princeton.
- Williams, P.H., Byvaltsev, A.M., Cedeberg, B., Berezin, M.V., Qdegaard, F., Rasmussen, C., Richardson, L.L., Huang, J-X., Sheffield, C.S. and Williams, S.T. 2015. Genes suggest ancestral colour polymorphisms are shared across morphologically cryptic species in arctic bumblebees. *Plos One*, 10: 1-26.

- Williams, P.H., Cannings, S.G. and Sheffield, C.S. 2016. Cryptic subarctic diversity: a new bumblebee species from the Yukon and Alaska (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the National History*, 50: 45-46, 2881-2893.
- Winter, K., Adams, L., Thorp, R., Inouye, D., Day, L., Ascher, J. and Buchmann, S. 2006. Importation of Nonnative Bumble Bees into North America: Potential Consequences of Using *Bombus terrestris* and Other Non-native Bumble Bees for Greenhouse Crop Pollination in Canada, Mexico, and the United States. North American Pollinator Protection Campaign, San Francisco.
- Wolf, S., Rohde, M. and Moritz, F.A. 2010. The reliability of morphological traits in the differentiation of *Bombus terrestris* and *B. lucorum* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 41: 45-53.
- Woodard, S.H., Lozier, J.D., Goulson, D., Williams, P.H., Strange, J.P. and Jha, K. 2015. Molecular tools and bumble bees: revealing hidden details of ecology and evolution in a model system. *Molecular Ecology*, 24: 2916-2936.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by f-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3): 395-420.
- Yassin, A., Cappy, P., Madi-Ravazzi, L., Ogereau, D. and David, J.R. 2007. DNA barcode discovers two cryptic species and two geographical radiations in the invasive drosophilid *Zaprionus indianus*. *Molecular Ecology Notes*, 8: 491-501.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T.B.J., Ye, Z.H. and Mao, J.X. 1997. POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- Yeninar, H., Dutchateau, M.J., Kaftanoğlu, O. and Velthuis, H. 2000. Colony developmental patterns in different local populations of the Turkish bumblebee, *Bombus terrestris dalmatinus*. *Journal of the Apiculture Research*, 39: 107-116.
- Yoon, H.J., Kim, S.E., Lee, M.L., Kim, I., Bae, J.S., Sohn, H.D. and Jin, B.R. 2003. Genetic homogeneity of the Korean native bumblebee, *Bombus ardens* (Hymenoptera: Apidae), detected by mtCOI gene sequences. *International Journal of Industrial Entomology*, 6: 63-66.
- Yoon, H.J., Kim, S.Y., Lee, K.Y., Lee, S.B., Park, I.G. and Kim, I. 2009. Interspecific hybridization of the bumblebees *Bombus ignitus* and *B. terrestris*. *International Journal of Industrial Entomology*, 18: 45-52.
- Zhang, Z., S. Schwartz, L. Wagner, and W. Miller. 2000. A greedy algorithm foraligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology*, 7: 203-214.

8. EKLER

EK-1; B100 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B100	1	144	0.000	0.113	0.100	0.000	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021
B100	2	146	0.250	0.161	0.083	0.071	0.058	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.054
B100	3	148	0.167	0.000	0.033	0.161	0.173	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.044
B100	4	150	0.000	0.000	0.000	0.036	0.019	0.035	0.023	0.000	0.000	0.000	0.050	0.017	0.000	0.013
B100	5	152	0.000	0.048	0.033	0.000	0.019	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.050	0.017	0.107	0.024
B100	6	154	0.067	0.016	0.067	0.000	0.000	0.000	0.159	0.350	0.000	0.000	0.100	0.150	0.196	0.085
B100	7	156	0.000	0.161	0.100	0.000	0.000	0.017	0.000	0.233	0.222	0.237	0.183	0.183	0.161	0.121
B100	8	158	0.017	0.177	0.100	0.018	0.058	0.035	0.136	0.033	0.111	0.105	0.000	0.000	0.071	0.070
B100	9	160	0.150	0.081	0.117	0.214	0.096	0.138	0.023	0.133	0.028	0.026	0.083	0.067	0.000	0.091
B100	10	162	0.100	0.032	0.017	0.161	0.269	0.207	0.159	0.017	0.000	0.053	0.000	0.017	0.036	0.076
B100	11	164	0.050	0.016	0.033	0.107	0.058	0.121	0.046	0.117	0.083	0.000	0.083	0.100	0.089	0.076
B100	12	166	0.017	0.113	0.050	0.000	0.019	0.000	0.114	0.033	0.167	0.211	0.033	0.000	0.071	0.052
B100	13	168	0.017	0.000	0.067	0.000	0.019	0.000	0.182	0.033	0.194	0.053	0.000	0.117	0.054	0.054
B100	14	170	0.017	0.032	0.033	0.000	0.019	0.000	0.023	0.000	0.028	0.105	0.100	0.133	0.071	0.050
B100	15	172	0.033	0.032	0.050	0.018	0.039	0.086	0.091	0.000	0.056	0.105	0.150	0.083	0.107	0.060
B100	16	174	0.033	0.016	0.067	0.036	0.019	0.000	0.023	0.033	0.000	0.000	0.133	0.117	0.000	0.038
B100	17	176	0.083	0.000	0.017	0.125	0.096	0.069	0.023	0.017	0.000	0.105	0.033	0.000	0.036	0.046
B100	18	178	0.000	0.000	0.000	0.054	0.039	0.138	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020
B100	19	180	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
Örnek Say		30	31	30	28	26	29	22	30	18	22	19	30	30	28	373

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-2; BTMS0033 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0033	1	196	0.018	0.097	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014
BTMS0033	2	199	0.036	0.065	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015
BTMS0033	3	202	0.125	0.194	0.183	0.037	0.000	0.068	0.050	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.057
BTMS0033	4	205	0.232	0.274	0.150	0.100	0.056	0.250	0.067	0.056	0.000	0.028	0.000	0.019	0.086	0.101
BTMS0033	5	208	0.250	0.210	0.233	0.117	0.204	0.136	0.233	0.333	0.091	0.028	0.241	0.185	0.172	0.195
BTMS0033	6	211	0.232	0.113	0.117	0.267	0.241	0.296	0.217	0.194	0.296	0.306	0.431	0.426	0.345	0.262
BTMS0033	7	214	0.036	0.032	0.100	0.133	0.148	0.159	0.250	0.250	0.318	0.444	0.172	0.315	0.224	0.189
BTMS0033	8	217	0.018	0.016	0.000	0.150	0.167	0.068	0.100	0.111	0.159	0.139	0.138	0.019	0.121	0.089
BTMS0033	9	220	0.018	0.000	0.033	0.167	0.111	0.086	0.083	0.056	0.000	0.056	0.017	0.037	0.052	0.054
BTMS0033	10	223	0.018	0.000	0.050	0.017	0.019	0.000	0.000	0.000	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014
BTMS0033	11	226	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.086	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
BTMS0033	12	235	0.018	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
Örnek Say		28	31	30	30	27	29	22	30	18	22	18	29	27	29	370

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-3; BTMS0119 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0119	1	330	0.155	0.307	0.379	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.054	0.072
BTMS0119	2	332	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.054	0.007
BTMS0119	3	334	0.155	0.000	0.035	0.000	0.054	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.017	0.019	0.071	0.033
BTMS0119	4	336	0.121	0.016	0.121	0.050	0.036	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.033
BTMS0119	5	338	0.121	0.097	0.035	0.083	0.179	0.083	0.044	0.000	0.000	0.048	0.017	0.130	0.054	0.067
BTMS0119	6	340	0.121	0.258	0.103	0.150	0.000	0.033	0.065	0.133	0.029	0.214	0.100	0.111	0.036	0.103
BTMS0119	7	342	0.052	0.000	0.121	0.050	0.054	0.017	0.152	0.083	0.059	0.119	0.050	0.093	0.179	0.075
BTMS0119	8	344	0.069	0.161	0.103	0.150	0.089	0.033	0.000	0.067	0.000	0.143	0.133	0.111	0.125	0.096
BTMS0119	9	346	0.017	0.048	0.069	0.067	0.196	0.100	0.000	0.059	0.000	0.191	0.133	0.148	0.054	0.078
BTMS0119	10	348	0.017	0.016	0.000	0.167	0.089	0.300	0.196	0.250	0.088	0.024	0.067	0.056	0.089	0.106
BTMS0119	11	350	0.000	0.016	0.000	0.200	0.161	0.167	0.044	0.300	0.177	0.071	0.217	0.000	0.054	0.111
BTMS0119	12	352	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067	0.065	0.067	0.048	0.024	0.050	0.167	0.000	0.035
BTMS0119	13	354	0.000	0.016	0.017	0.067	0.054	0.033	0.130	0.000	0.235	0.071	0.067	0.056	0.054	0.058
BTMS0119	14	356	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.130	0.000	0.000	0.143	0.067	0.056	0.054	0.033
BTMS0119	15	358	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.059	0.048	0.000	0.000	0.019	0.036	0.011
BTMS0119	16	360	0.000	0.000	0.017	0.000	0.089	0.133	0.044	0.000	0.059	0.024	0.017	0.019	0.018	0.031
BTMS0119	17	362	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.130	0.000	0.059	0.095	0.000	0.000	0.000	0.016
BTMS0119	18	374	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000	0.005
BTMS0119	19	376	0.069	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
BTMS0119	20	378	0.035	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.019	0.000	0.008
BTMS0119	21	382	0.017	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.095	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
BTMS0119	22	386	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.147	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
Örnek Say		29	31	29	30	28	30	23	30	17	21	21	30	27	28	374

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-4; B119 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B119	1	0.074	0.219	0.346	0.467	0.462	0.565	0.159	0.172	0.132	0.357	0.25	0.429	0.196	0.268	0.294
B119	2	0.426	0.266	0.385	0.417	0.423	0.326	0.409	0.431	0.526	0.31	0.273	0.25	0.571	0.482	0.392
B119	3	0.296	0.391	0.154	0.1	0.115	0.109	0.296	0.293	0.211	0.191	0.386	0.25	0.214	0.196	0.230
B119	4	0.204	0.125	0.115	0.017	0	0	0.136	0.103	0.132	0.143	0.091	0.071	0.018	0.054	0.085
Örnek Say		27	32	26	30	26	23	22	29	19	21	22	28	28	28	361

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termessos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-5; BT28 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT28	1	0.042	0.000	0.046	0.207	0.093	0.068	0.083	0.044	0.235	0.119	0.000	0.023	0.000	0.115	0.076
BT28	2	0.021	0.130	0.136	0.086	0.056	0.023	0.000	0.000	0.000	0.048	0.125	0.136	0.077	0.019	0.062
BT28	3	0.000	0.037	0.046	0.103	0.148	0.068	0.063	0.022	0.000	0.071	0.050	0.046	0.058	0.096	0.061
BT28	4	0.396	0.556	0.386	0.224	0.093	0.205	0.208	0.174	0.206	0.238	0.300	0.341	0.327	0.250	0.280
BT28	5	0.042	0.074	0.000	0.138	0.037	0.136	0.104	0.065	0.088	0.119	0.000	0.091	0.000	0.173	0.077
BT28	6	0.500	0.167	0.250	0.207	0.444	0.364	0.396	0.544	0.353	0.381	0.225	0.159	0.404	0.231	0.329
BT28	7	0.000	0.037	0.046	0.000	0.000	0.068	0.042	0.000	0.118	0.000	0.100	0.046	0.000	0.000	0.029
BT28	8	0.000	0.000	0.091	0.035	0.130	0.068	0.104	0.152	0.000	0.024	0.200	0.159	0.135	0.115	0.086
Örnek Say		28	31	30	30	27	29	22	30	18	22	18	29	27	29	370

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-6; BTMS0131 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0131	1	206	0.100	0.000	0.086	0.212	0.114	0.091	0.018	0.077	0.050	0.000	0.069	0.031	0.203	0.080
BTMS0131	2	208	0.320	0.266	0.224	0.154	0.205	0.114	0.232	0.000	0.050	0.391	0.259	0.281	0.359	0.233
BTMS0131	3	210	0.000	0.109	0.000	0.000	0.046	0.068	0.054	0.077	0.050	0.065	0.086	0.063	0.063	0.053
BTMS0131	4	214	0.000	0.016	0.000	0.019	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.035	0.000	0.000	0.008
BTMS0131	5	222	0.000	0.000	0.000	0.096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
BTMS0131	6	230	0.000	0.000	0.000	0.077	0.000	0.023	0.018	0.115	0.000	0.000	0.017	0.000	0.031	0.018
BTMS0131	7	234	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.023	0.000	0.039	0.025	0.000	0.000	0.031	0.000	0.008
BTMS0131	8	242	0.000	0.000	0.000	0.035	0.019	0.000	0.036	0.000	0.050	0.022	0.035	0.047	0.016	0.021
BTMS0131	9	246	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.023	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.016	0.000	0.006
BTMS0131	10	250	0.000	0.000	0.000	0.052	0.058	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.035	0.031	0.000	0.021
BTMS0131	11	252	0.000	0.016	0.000	0.103	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.047	0.063	0.024
BTMS0131	12	254	0.000	0.000	0.000	0.035	0.000	0.068	0.000	0.000	0.075	0.065	0.000	0.031	0.047	0.027
BTMS0131	13	256	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	0.017	0.047	0.000	0.011
BTMS0131	14	262	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.004
BTMS0131	15	270	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.044	0.000	0.000	0.016	0.006
BTMS0131	16	274	0.020	0.000	0.040	0.035	0.058	0.000	0.000	0.039	0.075	0.022	0.035	0.047	0.016	0.027
BTMS0131	17	280	0.000	0.000	0.000	0.017	0.019	0.023	0.000	0.000	0.025	0.000	0.017	0.000	0.016	0.008
BTMS0131	18	284	0.000	0.016	0.000	0.035	0.019	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.017	0.031	0.016	0.013
BTMS0131	19	286	0.020	0.016	0.060	0.069	0.000	0.068	0.018	0.000	0.075	0.022	0.000	0.047	0.000	0.032
BTMS0131	20	296	0.000	0.016	0.000	0.000	0.019	0.023	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047	0.000	0.011
BTMS0131	21	312	0.060	0.000	0.000	0.000	0.019	0.023	0.071	0.077	0.050	0.022	0.017	0.016	0.000	0.022
BTMS0131	22	316	0.200	0.078	0.040	0.017	0.019	0.000	0.036	0.000	0.000	0.022	0.035	0.000	0.016	0.035
BTMS0131	23	320	0.020	0.000	0.040	0.035	0.000	0.046	0.018	0.039	0.000	0.000	0.069	0.078	0.047	0.032
BTMS0131	24	322	0.020	0.031	0.100	0.035	0.058	0.091	0.107	0.039	0.200	0.087	0.000	0.031	0.000	0.057
BTMS0131	25	324	0.060	0.031	0.060	0.069	0.000	0.023	0.071	0.154	0.050	0.152	0.121	0.031	0.047	0.067
BTMS0131	26	326	0.100	0.094	0.140	0.086	0.115	0.023	0.071	0.039	0.000	0.000	0.086	0.000	0.031	0.060
BTMS0131	27	328	0.080	0.297	0.180	0.035	0.019	0.068	0.179	0.308	0.200	0.022	0.035	0.031	0.016	0.109
Örnek Say		25	32	25	29	26	22	22	28	13	20	23	29	32	32	358

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-7; BT20 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT20	1	0.000	0.039	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.010
BT20	2	0.000	0.000	0.044	0.000	0.000	0.039	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.010
BT20	3	0.023	0.039	0.044	0.000	0.019	0.019	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.071	0.048	0.152	0.036
BT20	4	0.046	0.077	0.000	0.125	0.154	0.115	0.042	0.125	0.156	0.024	0.000	0.161	0.145	0.109	0.095
BT20	5	0.023	0.039	0.044	0.375	0.135	0.346	0.167	0.071	0.313	0.048	0.114	0.071	0.065	0.087	0.134
BT20	6	0.114	0.019	0.065	0.018	0.231	0.077	0.188	0.107	0.063	0.119	0.091	0.125	0.097	0.152	0.105
BT20	7	0.046	0.039	0.022	0.054	0.212	0.115	0.146	0.179	0.125	0.095	0.091	0.143	0.081	0.152	0.108
BT20	8	0.114	0.096	0.217	0.179	0.000	0.154	0.146	0.036	0.031	0.095	0.159	0.107	0.048	0.152	0.109
BT20	9	0.046	0.135	0.044	0.000	0.019	0.019	0.104	0.071	0.031	0.048	0.114	0.071	0.048	0.000	0.054
BT20	10	0.136	0.077	0.065	0.143	0.077	0.019	0.042	0.089	0.125	0.024	0.091	0.054	0.048	0.109	0.077
BT20	11	0.091	0.154	0.065	0.000	0.077	0.096	0.083	0.036	0.031	0.119	0.136	0.054	0.081	0.044	0.076
BT20	12	0.068	0.039	0.109	0.071	0.058	0.000	0.042	0.018	0.031	0.238	0.046	0.000	0.016	0.000	0.049
BT20	13	0.023	0.058	0.044	0.000	0.000	0.000	0.042	0.036	0.031	0.048	0.068	0.036	0.032	0.000	0.029
BT20	14	0.068	0.039	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.071	0.000	0.024	0.046	0.036	0.016	0.000	0.023
BT20	15	0.023	0.154	0.109	0.036	0.000	0.000	0.000	0.036	0.031	0.095	0.046	0.036	0.113	0.000	0.049
BT20	16	0.068	0.000	0.087	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.031	0.024	0.000	0.036	0.065	0.044	0.028
BT20	17	0.114	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009
Örnek Say		22	26	23	28	26	26	24	28	16	21	22	28	31	23	344

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termes, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-8; B126 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B126	1	152	0.040	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.009
B126	2	158	0.060	0.058	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.035	0.016	0.000	0.014
B126	3	162	0.000	0.039	0.022	0.000	0.056	0.000	0.054	0.025	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000	0.017
B126	4	166	0.080	0.000	0.022	0.037	0.018	0.019	0.000	0.075	0.000	0.000	0.000	0.000	0.087	0.023
B126	5	168	0.020	0.058	0.065	0.056	0.107	0.037	0.071	0.050	0.000	0.000	0.052	0.048	0.000	0.042
B126	6	170	0.080	0.019	0.022	0.074	0.054	0.019	0.021	0.050	0.071	0.000	0.138	0.113	0.022	0.057
B126	7	172	0.060	0.039	0.065	0.074	0.071	0.130	0.063	0.075	0.238	0.068	0.103	0.048	0.022	0.076
B126	8	174	0.000	0.077	0.065	0.093	0.107	0.185	0.083	0.125	0.238	0.227	0.190	0.194	0.065	0.129
B126	9	176	0.100	0.019	0.022	0.019	0.089	0.130	0.146	0.107	0.095	0.068	0.086	0.113	0.000	0.076
B126	10	178	0.040	0.039	0.065	0.019	0.000	0.093	0.125	0.100	0.071	0.114	0.052	0.081	0.000	0.055
B126	11	180	0.040	0.058	0.065	0.019	0.018	0.037	0.042	0.000	0.048	0.136	0.052	0.048	0.109	0.054
B126	12	182	0.080	0.096	0.087	0.074	0.071	0.056	0.042	0.018	0.048	0.046	0.035	0.048	0.196	0.065
B126	13	184	0.120	0.135	0.065	0.204	0.125	0.000	0.000	0.071	0.095	0.114	0.017	0.065	0.087	0.083
B126	14	186	0.060	0.058	0.044	0.019	0.071	0.130	0.021	0.125	0.024	0.046	0.069	0.032	0.109	0.062
B126	15	188	0.100	0.096	0.087	0.167	0.196	0.093	0.104	0.089	0.048	0.046	0.035	0.065	0.196	0.099
B126	16	190	0.060	0.058	0.065	0.093	0.071	0.019	0.021	0.036	0.024	0.046	0.052	0.032	0.000	0.044
B126	17	192	0.020	0.019	0.022	0.000	0.000	0.000	0.188	0.089	0.000	0.046	0.052	0.032	0.044	0.037
B126	18	194	0.000	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.022	0.013
B126	19	196	0.000	0.019	0.044	0.000	0.000	0.000	0.063	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.044	0.014
B126	20	198	0.040	0.115	0.130	0.019	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.023	0.035	0.016	0.000	0.031
Örnek Say		25	26	23	27	28	27	24	28	20	21	22	29	31	23	354

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-9; BTMS0045 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0045	1	214	0.077	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.009
BTMS0045	2	218	0.039	0.032	0.017	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
BTMS0045	3	222	0.019	0.032	0.035	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.016	0.011
BTMS0045	4	226	0.019	0.048	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
BTMS0045	5	230	0.000	0.113	0.069	0.000	0.039	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.020
BTMS0045	6	236	0.039	0.032	0.138	0.067	0.000	0.039	0.000	0.095	0.046	0.022	0.052	0.065	0.081	0.049
BTMS0045	7	238	0.019	0.000	0.052	0.100	0.054	0.135	0.087	0.196	0.068	0.044	0.138	0.145	0.113	0.099
BTMS0045	8	240	0.039	0.016	0.017	0.200	0.143	0.173	0.065	0.018	0.136	0.044	0.138	0.210	0.145	0.103
BTMS0045	9	242	0.039	0.032	0.017	0.317	0.196	0.173	0.196	0.268	0.024	0.109	0.155	0.048	0.161	0.127
BTMS0045	10	244	0.019	0.032	0.069	0.083	0.232	0.115	0.065	0.036	0.095	0.114	0.130	0.069	0.145	0.087
BTMS0045	11	246	0.058	0.032	0.017	0.083	0.107	0.173	0.217	0.107	0.205	0.217	0.121	0.000	0.129	0.110
BTMS0045	12	248	0.096	0.016	0.069	0.067	0.071	0.039	0.174	0.089	0.071	0.250	0.217	0.069	0.226	0.103
BTMS0045	13	250	0.019	0.032	0.035	0.000	0.125	0.096	0.022	0.054	0.071	0.000	0.052	0.000	0.000	0.036
BTMS0045	14	252	0.000	0.081	0.086	0.033	0.036	0.000	0.044	0.036	0.095	0.068	0.109	0.000	0.016	0.046
BTMS0045	15	254	0.096	0.048	0.103	0.017	0.018	0.019	0.022	0.018	0.000	0.091	0.022	0.032	0.016	0.037
BTMS0045	16	256	0.096	0.065	0.069	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.020
BTMS0045	17	258	0.058	0.113	0.069	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.021
BTMS0045	18	260	0.039	0.081	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012
BTMS0045	19	262	0.115	0.081	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020
BTMS0045	20	264	0.039	0.000	0.017	0.033	0.000	0.000	0.018	0.018	0.048	0.000	0.000	0.048	0.000	0.015
BTMS0045	21	274	0.039	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.008
BTMS0045	22	278	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.087	0.000	0.000	0.000	0.017	0.016	0.000	0.008
BTMS0045	23	284	0.000	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.022	0.069	0.016	0.016	0.013
BTMS0045	24	288	0.039	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	0.022	0.017	0.000	0.048	0.015
BTMS0045	25	292	0.000	0.000	0.035	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.129	0.016
Örnek Say		26	31	29	30	28	26	23	28	21	22	23	29	31	31	378

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-10; BT26 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT26	1	115	0.140	0.054	0.058	0.000	0.000	0.040	0.044	0.095	0.071	0.000	0.067	0.018	0.204	0.056
BT26	2	119	0.100	0.089	0.173	0.035	0.019	0.042	0.044	0.167	0.024	0.024	0.017	0.071	0.130	0.068
BT26	3	121	0.060	0.089	0.039	0.000	0.000	0.080	0.087	0.048	0.071	0.000	0.067	0.107	0.019	0.048
BT26	4	123	0.120	0.054	0.019	0.035	0.148	0.021	0.109	0.167	0.048	0.048	0.067	0.036	0.111	0.072
BT26	5	125	0.020	0.054	0.019	0.035	0.000	0.000	0.087	0.024	0.000	0.024	0.083	0.036	0.148	0.041
BT26	6	127	0.040	0.071	0.000	0.017	0.037	0.083	0.022	0.000	0.095	0.024	0.117	0.107	0.056	0.055
BT26	7	129	0.080	0.000	0.231	0.000	0.056	0.000	0.044	0.048	0.048	0.048	0.033	0.054	0.056	0.052
BT26	8	131	0.120	0.089	0.039	0.069	0.074	0.042	0.152	0.119	0.000	0.167	0.050	0.071	0.056	0.080
BT26	9	133	0.060	0.107	0.115	0.069	0.056	0.188	0.087	0.048	0.167	0.048	0.000	0.036	0.093	0.082
BT26	10	135	0.100	0.179	0.096	0.138	0.093	0.042	0.120	0.119	0.119	0.071	0.083	0.054	0.111	0.097
BT26	11	137	0.100	0.089	0.077	0.190	0.074	0.125	0.065	0.000	0.024	0.071	0.083	0.054	0.019	0.076
BT26	12	141	0.060	0.071	0.019	0.052	0.019	0.063	0.040	0.044	0.071	0.262	0.017	0.125	0.000	0.066
BT26	13	143	0.000	0.036	0.019	0.052	0.093	0.000	0.022	0.024	0.095	0.071	0.017	0.054	0.000	0.038
BT26	14	145	0.000	0.000	0.000	0.155	0.056	0.146	0.022	0.024	0.000	0.048	0.050	0.018	0.000	0.045
BT26	15	147	0.000	0.018	0.000	0.052	0.019	0.063	0.020	0.048	0.095	0.048	0.117	0.018	0.000	0.041
BT26	16	151	0.000	0.000	0.058	0.052	0.130	0.083	0.040	0.000	0.000	0.048	0.100	0.143	0.000	0.049
BT26	17	157	0.000	0.000	0.000	0.035	0.037	0.083	0.040	0.022	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.017
BT26	18	163	0.000	0.000	0.000	0.017	0.074	0.021	0.000	0.022	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.011
BT26	19	191	0.000	0.000	0.039	0.000	0.019	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
Örnek Say		25	28	26	29	27	24	25	23	21	21	21	30	28	27	355

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-11; B96 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B96	1	224	0.020	0.017	0.058	0.000	0.000	0.000	0.091	0.000	0.024	0.023	0.067	0.018	0.060	0.027
B96	2	228	0.000	0.086	0.039	0.036	0.000	0.000	0.091	0.000	0.024	0.068	0.050	0.018	0.060	0.042
B96	3	230	0.120	0.017	0.077	0.429	0.385	0.396	0.273	0.056	0.143	0.068	0.000	0.161	0.080	0.166
B96	4	232	0.180	0.069	0.212	0.018	0.000	0.000	0.114	0.167	0.119	0.227	0.083	0.036	0.060	0.089
B96	5	234	0.080	0.293	0.192	0.125	0.058	0.083	0.046	0.306	0.310	0.159	0.133	0.143	0.280	0.179
B96	6	236	0.200	0.103	0.019	0.125	0.250	0.375	0.136	0.056	0.048	0.114	0.167	0.214	0.100	0.146
B96	7	238	0.080	0.069	0.173	0.232	0.154	0.146	0.091	0.139	0.262	0.273	0.067	0.054	0.200	0.150
B96	8	240	0.180	0.276	0.135	0.000	0.019	0.000	0.114	0.194	0.071	0.068	0.100	0.161	0.000	0.109
B96	9	242	0.140	0.069	0.058	0.018	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.250	0.000	0.120	0.053
B96	10	246	0.000	0.000	0.039	0.018	0.039	0.000	0.046	0.056	0.000	0.000	0.083	0.196	0.040	0.039
Örnek Say		25	29	26	28	26	24	25	22	18	21	22	30	28	25	349

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-12; BT06 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT06	1	136	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.058	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.063
BT06	2	138	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.008
BT06	3	140	0.021	0.020	0.000	0.154	0.135	0.206	0.000	0.000	0.000	0.046	0.000	0.000	0.016	0.045
BT06	4	142	0.021	0.040	0.000	0.192	0.154	0.206	0.000	0.094	0.024	0.046	0.021	0.020	0.016	0.069
BT06	5	144	0.000	0.020	0.048	0.173	0.192	0.206	0.104	0.125	0.191	0.205	0.063	0.040	0.129	0.117
BT06	6	146	0.063	0.120	0.000	0.115	0.173	0.206	0.125	0.125	0.167	0.205	0.146	0.060	0.081	0.122
BT06	7	148	0.083	0.040	0.048	0.154	0.154	0.059	0.146	0.313	0.333	0.250	0.104	0.140	0.242	0.159
BT06	8	150	0.125	0.040	0.095	0.039	0.058	0.000	0.042	0.125	0.000	0.023	0.104	0.120	0.274	0.084
BT06	9	152	0.063	0.060	0.191	0.039	0.058	0.000	0.208	0.031	0.095	0.023	0.167	0.180	0.097	0.094
BT06	10	154	0.083	0.080	0.167	0.039	0.039	0.029	0.083	0.031	0.048	0.068	0.125	0.160	0.081	0.081
BT06	11	156	0.188	0.100	0.238	0.058	0.000	0.029	0.125	0.063	0.000	0.091	0.083	0.040	0.065	0.078
BT06	12	158	0.188	0.200	0.119	0.000	0.000	0.000	0.021	0.031	0.000	0.000	0.104	0.060	0.000	0.053
BT06	13	160	0.167	0.100	0.095	0.019	0.000	0.000	0.000	0.031	0.071	0.000	0.063	0.060	0.000	0.044
BT06	14	162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.021	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
BT06	15	164	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.024	0.046	0.021	0.000	0.000	0.013
BT06	16	166	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.011
BT06	17	168	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
BT06	18	172	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
Örnek Say		24	25	21	26	26	18	17	24	16	21	22	24	25	31	320

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-13; B124 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B124	1	230	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.039	0.000	0.003
B124	2	234	0.021	0.040	0.024	0.019	0.024	0.000	0.021	0.031	0.024	0.000	0.000	0.019	0.000	0.016
B124	3	238	0.000	0.000	0.000	0.096	0.024	0.000	0.042	0.063	0.024	0.000	0.040	0.000	0.000	0.021
B124	4	240	0.000	0.000	0.024	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.020	0.000	0.000	0.011
B124	5	242	0.000	0.040	0.024	0.096	0.024	0.053	0.000	0.063	0.071	0.050	0.020	0.039	0.000	0.035
B124	6	244	0.021	0.020	0.000	0.096	0.095	0.053	0.000	0.063	0.071	0.050	0.020	0.000	0.035	0.041
B124	7	246	0.000	0.000	0.071	0.058	0.119	0.000	0.063	0.125	0.119	0.025	0.000	0.058	0.069	0.049
B124	8	248	0.000	0.040	0.024	0.058	0.071	0.105	0.079	0.063	0.000	0.025	0.080	0.019	0.017	0.041
B124	9	250	0.042	0.000	0.024	0.096	0.119	0.026	0.053	0.063	0.024	0.000	0.080	0.077	0.052	0.048
B124	10	252	0.021	0.020	0.000	0.058	0.024	0.026	0.000	0.000	0.048	0.100	0.080	0.019	0.069	0.036
B124	11	254	0.083	0.000	0.048	0.173	0.119	0.105	0.132	0.063	0.143	0.225	0.060	0.115	0.052	0.092
B124	12	256	0.021	0.140	0.024	0.039	0.191	0.132	0.158	0.125	0.167	0.100	0.060	0.039	0.138	0.098
B124	13	258	0.083	0.040	0.095	0.039	0.071	0.132	0.158	0.146	0.095	0.075	0.000	0.058	0.086	0.078
B124	14	260	0.042	0.020	0.048	0.019	0.071	0.132	0.053	0.083	0.000	0.100	0.180	0.115	0.121	0.074
B124	15	262	0.021	0.040	0.048	0.058	0.000	0.105	0.105	0.083	0.125	0.050	0.180	0.058	0.086	0.073
B124	16	264	0.063	0.080	0.000	0.096	0.000	0.053	0.026	0.125	0.048	0.125	0.020	0.154	0.052	0.065
B124	17	266	0.042	0.140	0.095	0.000	0.024	0.000	0.079	0.083	0.024	0.025	0.080	0.039	0.069	0.055
B124	18	268	0.167	0.060	0.095	0.000	0.000	0.053	0.000	0.104	0.000	0.000	0.020	0.039	0.103	0.051
B124	19	270	0.083	0.040	0.119	0.000	0.000	0.000	0.083	0.031	0.000	0.050	0.020	0.039	0.017	0.035
B124	20	272	0.146	0.080	0.071	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.017	0.029
B124	21	274	0.021	0.080	0.024	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.000	0.021
B124	22	276	0.104	0.020	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
B124	23	278	0.000	0.000	0.095	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.008
B124	24	282	0.021	0.100	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
Örnek Say		24	25	21	26	21	19	19	24	16	21	20	25	26	29	316

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-14; BT09 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT09	1	124	0.000	0.017	0.022	0.000	0.000	0.021	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
BT09	2	128	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004
BT09	3	134	0.000	0.000	0.065	0.069	0.022	0.000	0.046	0.029	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000	0.019
BT09	4	136	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.046	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	0.018
BT09	5	140	0.020	0.033	0.000	0.035	0.109	0.000	0.046	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020
BT09	6	142	0.020	0.000	0.022	0.035	0.087	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.081	0.023
BT09	7	144	0.000	0.000	0.022	0.121	0.022	0.050	0.000	0.029	0.023	0.000	0.018	0.000	0.000	0.025
BT09	8	146	0.100	0.017	0.022	0.000	0.022	0.075	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.016	0.025
BT09	9	148	0.080	0.083	0.065	0.035	0.000	0.025	0.046	0.000	0.000	0.024	0.000	0.054	0.000	0.034
BT09	10	150	0.000	0.067	0.000	0.000	0.000	0.050	0.046	0.000	0.091	0.071	0.018	0.036	0.016	0.029
BT09	11	152	0.040	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.046	0.029	0.023	0.024	0.000	0.018	0.065	0.019
BT09	12	154	0.080	0.017	0.065	0.017	0.022	0.000	0.000	0.059	0.068	0.071	0.107	0.036	0.032	0.042
BT09	13	156	0.000	0.000	0.065	0.086	0.022	0.025	0.023	0.000	0.046	0.048	0.036	0.000	0.032	0.032
BT09	14	158	0.040	0.067	0.022	0.069	0.065	0.075	0.068	0.029	0.091	0.095	0.107	0.036	0.129	0.074
BT09	15	160	0.100	0.050	0.044	0.000	0.000	0.000	0.068	0.029	0.023	0.024	0.018	0.125	0.081	0.047
BT09	16	162	0.100	0.150	0.130	0.035	0.000	0.000	0.023	0.029	0.068	0.071	0.071	0.054	0.048	0.064
BT09	17	164	0.020	0.250	0.087	0.035	0.022	0.075	0.046	0.029	0.182	0.119	0.000	0.071	0.065	0.076
BT09	18	166	0.180	0.067	0.044	0.017	0.022	0.075	0.046	0.177	0.023	0.095	0.018	0.036	0.048	0.060
BT09	19	168	0.100	0.033	0.217	0.017	0.065	0.050	0.023	0.059	0.114	0.024	0.089	0.036	0.065	0.070
BT09	20	170	0.020	0.067	0.000	0.224	0.109	0.025	0.068	0.000	0.046	0.167	0.071	0.036	0.065	0.070
BT09	21	172	0.000	0.033	0.022	0.069	0.065	0.075	0.046	0.059	0.068	0.048	0.071	0.071	0.065	0.057
BT09	22	174	0.020	0.050	0.022	0.035	0.130	0.075	0.046	0.059	0.068	0.000	0.125	0.107	0.048	0.057
BT09	23	176	0.000	0.000	0.044	0.000	0.044	0.050	0.046	0.029	0.046	0.095	0.089	0.054	0.032	0.042
BT09	24	178	0.000	0.000	0.022	0.052	0.044	0.075	0.000	0.029	0.023	0.000	0.036	0.089	0.032	0.029
BT09	25	180	0.000	0.000	0.000	0.035	0.130	0.150	0.091	0.088	0.000	0.000	0.089	0.036	0.016	0.042
BT09	26	182	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.006
BT09	27	186	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.036	0.054	0.000	0.010
Örnek Say		25	30	23	29	23	20	24	22	17	22	21	28	28	31	343

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-15; B118 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B118	1	183	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
B118	2	189	0.037	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.006
B118	3	195	0.056	0.032	0.022	0.000	0.021	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.015
B118	4	199	0.074	0.032	0.022	0.019	0.000	0.021	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016
B118	5	201	0.074	0.097	0.044	0.000	0.021	0.044	0.000	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025
B118	6	203	0.130	0.048	0.044	0.019	0.000	0.022	0.000	0.029	0.000	0.158	0.000	0.000	0.121	0.042
B118	7	205	0.093	0.065	0.109	0.037	0.000	0.044	0.000	0.029	0.068	0.105	0.000	0.019	0.000	0.042
B118	8	207	0.111	0.177	0.174	0.037	0.024	0.196	0.068	0.059	0.114	0.079	0.000	0.000	0.138	0.091
B118	9	209	0.111	0.113	0.087	0.037	0.048	0.104	0.023	0.118	0.182	0.184	0.060	0.000	0.103	0.092
B118	10	211	0.074	0.145	0.087	0.019	0.048	0.083	0.109	0.068	0.068	0.079	0.080	0.000	0.086	0.083
B118	11	213	0.093	0.129	0.130	0.167	0.048	0.083	0.130	0.068	0.159	0.079	0.100	0.058	0.052	0.100
B118	12	215	0.074	0.081	0.087	0.185	0.214	0.146	0.130	0.182	0.059	0.105	0.040	0.135	0.086	0.113
B118	13	217	0.019	0.000	0.087	0.037	0.071	0.042	0.130	0.068	0.059	0.132	0.140	0.192	0.103	0.079
B118	14	219	0.019	0.000	0.065	0.056	0.095	0.083	0.022	0.046	0.059	0.053	0.100	0.096	0.052	0.054
B118	15	221	0.019	0.048	0.044	0.111	0.191	0.083	0.000	0.046	0.088	0.026	0.060	0.077	0.069	0.066
B118	16	223	0.000	0.000	0.000	0.093	0.095	0.104	0.000	0.091	0.000	0.046	0.180	0.135	0.000	0.054
B118	17	225	0.019	0.016	0.000	0.037	0.048	0.063	0.000	0.136	0.029	0.046	0.060	0.173	0.017	0.046
B118	18	227	0.000	0.000	0.000	0.074	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.080	0.039	0.017	0.019
B118	19	229	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.021	0.000	0.023	0.000	0.068	0.020	0.058	0.000	0.015
B118	20	233	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.042	0.000	0.046	0.000	0.023	0.040	0.019	0.017	0.016
B118	21	235	0.000	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.091	0.059	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.013
B118	22	243	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.103	0.010
Örnek Say		27	31	23	27	21	24	23	22	17	22	19	25	26	29	336

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-16; B132 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B132	1	145	0.017	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.006
B132	2	149	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.020	0.004
B132	3	151	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.028	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004
B132	4	153	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.028	0.000	0.000	0.017	0.018	0.000	0.007
B132	5	155	0.069	0.031	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000	0.033	0.000	0.020	0.018
B132	6	157	0.035	0.063	0.056	0.000	0.000	0.020	0.000	0.028	0.023	0.000	0.017	0.036	0.020	0.022
B132	7	159	0.017	0.141	0.056	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.046	0.044	0.033	0.000	0.020	0.031
B132	8	161	0.086	0.125	0.093	0.000	0.039	0.021	0.020	0.056	0.068	0.044	0.117	0.071	0.040	0.057
B132	9	163	0.190	0.219	0.111	0.033	0.000	0.100	0.000	0.083	0.114	0.130	0.067	0.089	0.080	0.089
B132	10	165	0.103	0.188	0.056	0.050	0.039	0.021	0.080	0.056	0.194	0.152	0.050	0.054	0.080	0.083
B132	11	167	0.103	0.047	0.148	0.100	0.173	0.167	0.080	0.111	0.091	0.152	0.083	0.107	0.100	0.108
B132	12	169	0.103	0.000	0.167	0.150	0.231	0.167	0.160	0.204	0.136	0.044	0.150	0.054	0.180	0.131
B132	13	171	0.052	0.063	0.074	0.133	0.173	0.167	0.200	0.130	0.083	0.196	0.133	0.214	0.100	0.127
B132	14	173	0.035	0.047	0.019	0.067	0.115	0.125	0.060	0.093	0.091	0.152	0.067	0.054	0.120	0.078
B132	15	175	0.035	0.016	0.056	0.300	0.058	0.063	0.060	0.148	0.083	0.065	0.117	0.071	0.080	0.087
B132	16	177	0.035	0.016	0.000	0.033	0.039	0.000	0.080	0.111	0.056	0.091	0.050	0.125	0.020	0.046
B132	17	179	0.017	0.016	0.056	0.017	0.039	0.021	0.020	0.074	0.000	0.023	0.000	0.067	0.020	0.029
B132	18	181	0.017	0.016	0.000	0.017	0.019	0.000	0.000	0.019	0.028	0.000	0.000	0.000	0.040	0.012
B132	19	183	0.035	0.000	0.000	0.017	0.000	0.021	0.000	0.019	0.000	0.022	0.000	0.018	0.040	0.015
B132	20	185	0.017	0.000	0.000	0.000	0.039	0.167	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.019
B132	21	187	0.017	0.000	0.000	0.017	0.000	0.042	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.010
B132	22	189	0.000	0.000	0.000	0.067	0.039	0.021	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.036	0.000	0.014
B132	23	211	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
Örnek Say		29	32	27	30	26	24	25	27	18	22	23	30	28	25	366

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-17; B11 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
B11	1	140	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.002
B11	2	144	0.000	0.000	0.040	0.000	0.022	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.009
B11	3	146	0.000	0.000	0.000	0.000	0.044	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.048	0.018	0.011
B11	4	148	0.000	0.019	0.020	0.080	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.048	0.054	0.028
B11	5	150	0.000	0.037	0.040	0.000	0.068	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014
B11	6	152	0.000	0.259	0.160	0.100	0.114	0.087	0.046	0.000	0.025	0.025	0.000	0.024	0.071	0.070
B11	7	154	0.000	0.056	0.160	0.060	0.046	0.109	0.000	0.000	0.025	0.000	0.160	0.167	0.036	0.087
B11	8	156	0.040	0.074	0.040	0.040	0.068	0.174	0.023	0.000	0.025	0.025	0.040	0.143	0.179	0.075
B11	9	158	0.180	0.037	0.120	0.080	0.114	0.087	0.000	0.088	0.000	0.050	0.100	0.071	0.036	0.070
B11	10	160	0.240	0.278	0.120	0.140	0.068	0.152	0.296	0.059	0.100	0.150	0.100	0.095	0.018	0.143
B11	11	162	0.420	0.130	0.160	0.080	0.091	0.022	0.023	0.068	0.075	0.025	0.020	0.167	0.071	0.103
B11	12	164	0.060	0.056	0.060	0.160	0.114	0.109	0.046	0.114	0.100	0.050	0.260	0.024	0.089	0.099
B11	13	166	0.060	0.000	0.040	0.060	0.114	0.044	0.205	0.000	0.125	0.125	0.100	0.095	0.179	0.089
B11	14	168	0.000	0.056	0.020	0.120	0.091	0.065	0.114	0.023	0.225	0.200	0.040	0.000	0.071	0.085
B11	15	170	0.000	0.000	0.040	0.000	0.000	0.087	0.091	0.046	0.050	0.100	0.020	0.024	0.089	0.048
B11	16	172	0.000	0.000	0.000	0.000	0.068	0.000	0.136	0.000	0.175	0.125	0.040	0.024	0.036	0.044
B11	17	174	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.075	0.000	0.000	0.036	0.011
B11	18	176	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000	0.059	0.075	0.050	0.000	0.000	0.018	0.014
Örnek Say		25	27	25	25	22	23	22	22	17	20	20	25	21	28	322

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termessos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-18; BTMS0082 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0082	1	371	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.000	0.003
BTMS0082	2	376	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002
BTMS0082	3	381	0.021	0.036	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
BTMS0082	4	386	0.021	0.107	0.060	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.105	0.000	0.000	0.046	0.000	0.032
BTMS0082	5	391	0.021	0.036	0.020	0.040	0.000	0.000	0.059	0.000	0.105	0.025	0.000	0.091	0.037	0.037
BTMS0082	6	396	0.125	0.161	0.040	0.140	0.095	0.182	0.206	0.143	0.105	0.025	0.160	0.091	0.093	0.114
BTMS0082	7	401	0.438	0.429	0.440	0.240	0.119	0.114	0.382	0.250	0.237	0.150	0.440	0.477	0.074	0.295
BTMS0082	8	406	0.354	0.232	0.380	0.340	0.500	0.477	0.265	0.536	0.263	0.725	0.380	0.205	0.370	0.394
BTMS0082	9	411	0.021	0.000	0.020	0.120	0.095	0.182	0.088	0.071	0.184	0.075	0.020	0.000	0.389	0.098
BTMS0082	10	416	0.000	0.000	0.000	0.080	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.037	0.016
BTMS0082	11	421	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
Örnek Say		24	28	25	25	21	22	23	17	14	19	20	25	22	27	312

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari populasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-19; BT10 lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BT10	1	141	0.019	0.058	0.000	0.039	0.023	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.080	0.048	0.000	0.029
BT10	2	143	0.000	0.000	0.023	0.077	0.023	0.071	0.000	0.000	0.088	0.000	0.040	0.071	0.060	0.037
BT10	3	145	0.056	0.019	0.046	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.020	0.119	0.000	0.029
BT10	4	147	0.074	0.058	0.000	0.115	0.114	0.119	0.025	0.000	0.088	0.000	0.120	0.095	0.140	0.078
BT10	5	149	0.074	0.115	0.182	0.058	0.046	0.095	0.125	0.000	0.147	0.050	0.160	0.238	0.060	0.113
BT10	6	151	0.093	0.039	0.000	0.096	0.046	0.024	0.125	0.000	0.059	0.050	0.140	0.095	0.020	0.062
BT10	7	153	0.056	0.096	0.000	0.077	0.136	0.143	0.050	0.000	0.029	0.050	0.140	0.095	0.100	0.082
BT10	8	155	0.074	0.096	0.091	0.077	0.159	0.048	0.125	0.219	0.206	0.200	0.060	0.024	0.080	0.109
BT10	9	157	0.093	0.115	0.114	0.173	0.182	0.143	0.225	0.219	0.118	0.200	0.060	0.095	0.140	0.133
BT10	10	159	0.093	0.115	0.182	0.173	0.136	0.167	0.125	0.156	0.029	0.175	0.040	0.071	0.060	0.109
BT10	11	161	0.167	0.173	0.273	0.058	0.046	0.095	0.100	0.094	0.088	0.075	0.060	0.048	0.160	0.104
BT10	12	163	0.037	0.019	0.023	0.039	0.046	0.024	0.000	0.094	0.000	0.025	0.020	0.000	0.060	0.030
BT10	13	165	0.074	0.058	0.000	0.019	0.023	0.024	0.000	0.063	0.000	0.125	0.040	0.000	0.040	0.034
BT10	14	167	0.074	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.050	0.063	0.147	0.025	0.020	0.000	0.080	0.032
BT10	15	169	0.000	0.039	0.068	0.000	0.023	0.000	0.025	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014
BT10	16	171	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.006
Örnek Say		27	26	22	26	22	22	21	20	16	17	20	25	21	25	313

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termesos, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-20; BTMS0124lokusunda elde edilen allel genişlikleri (AG), allel frekansları (Xi) ve ortalaması

Lokus	Allel Uzunluğu	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	AK	KM	DM	GB	TM	BB	FS	Ort.
BTMS0124	1	240	0.037	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
BTMS0124	3	242	0.019	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
BTMS0124	4	244	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.006
BTMS0124	5	246	0.000	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.130	0.095	0.019	0.022
BTMS0124	6	248	0.037	0.000	0.046	0.025	0.068	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.056	0.048	0.000	0.023
BTMS0124	7	250	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.093	0.013
BTMS0124	8	252	0.167	0.036	0.046	0.111	0.050	0.091	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.111	0.050
BTMS0124	9	254	0.037	0.018	0.023	0.019	0.100	0.023	0.063	0.000	0.056	0.000	0.093	0.071	0.019	0.039
BTMS0124	10	256	0.130	0.161	0.046	0.037	0.125	0.000	0.125	0.063	0.000	0.095	0.019	0.024	0.037	0.064
BTMS0124	11	258	0.056	0.000	0.068	0.167	0.000	0.136	0.250	0.063	0.083	0.048	0.259	0.095	0.111	0.105
BTMS0124	12	260	0.019	0.018	0.046	0.056	0.225	0.023	0.292	0.000	0.056	0.000	0.259	0.452	0.074	0.113
BTMS0124	13	262	0.074	0.107	0.182	0.056	0.050	0.114	0.125	0.063	0.194	0.119	0.074	0.191	0.000	0.097
BTMS0124	14	264	0.185	0.071	0.068	0.259	0.125	0.159	0.021	0.063	0.000	0.119	0.056	0.024	0.185	0.109
BTMS0124	15	266	0.111	0.196	0.068	0.037	0.075	0.159	0.000	0.156	0.111	0.119	0.019	0.000	0.093	0.091
BTMS0124	16	268	0.093	0.268	0.227	0.204	0.125	0.068	0.225	0.000	0.375	0.262	0.019	0.000	0.222	0.169
BTMS0124	17	270	0.037	0.018	0.159	0.037	0.050	0.114	0.200	0.042	0.156	0.119	0.000	0.000	0.000	0.067
BTMS0124	18	272	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.100	0.000	0.063	0.000	0.048	0.000	0.000	0.019	0.017
BTMS0124	19	278	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.002
Örnek Say		27	28	22	27	20	22	20	24	16	18	21	27	21	27	320

TP 1,2,3,4,5,6,7: Ticari popülasyon 1,2,3,4,5,6,7, AK: Aksu, KM: Kumluca, DM: Demre, GB: Geyikbayırı, TM: Termes, BB: Bayatbademler, FS: Faselis

EK-21; Ticari populasyon 1 (TP1) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	n	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	146-176	13	7.142	0.766	0.874	0.846	0.125
BTMS0033	28	196-235	11	5.261	0.821	0.824	0.784	0.004
BTMS0119	29	330-382	13	9.191	0.758	0.906	0.881	0.166*
B119	27	130-136	4	3.162	0.629	0.696	0.626	0.098
BT28	24	178-193	5	2.435	0.125	0.602	0.508	0.796**
BTMS0131	25	206-328	11	5.630	0.640	0.839	0.803	0.241**
BT20	22	121-153	15	11.388	0.636	0.933	0.905	0.323**
B126	25	152-198	16	13.297	0.720	0.943	0.920	0.241**
BTMS0045	26	214-288	20	14.857	0.730	0.951	0.929	0.235**
BT26	25	115-141	12	10.245	0.920	0.920	0.894	0.001
B96	25	224-242	8	6.578	0.440	0.865	0.829	0.497**
BT06	24	140-160	10	7.337	0.750	0.882	0.849	0.153
B124	24	234-282	17	10.766	0.750	0.926	0.900	0.194*
BT09	25	136-186	16	10.593	0.760	0.924	0.898	0.181*
B118	27	189-225	15	11.571	0.777	0.930	0.907	0.167*
B132	29	145-187	19	10.993	0.793	0.925	0.902	0.145
B11	25	156-166	6	3.633	0.320	0.739	0.685	0.572**
BTMS0082	24	381-411	7	2.992	0.916	0.680	0.607	-0.358**
BT10	27	141-171	14	11.215	0.888	0.928	0.904	0.043
BTMS0124	27	240-270	13	8.730	0.555	0.902	0.875	0.389**
Ortalama ± St. Sapma			12.20± 4.532	8.73± 3.64	0.685± 0.198	0.859± 0.100	0.823 ± 0.121	0.207**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-22; Ticari populasyon 2 (TP2) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	144-174	13	8.213	0.871	0.892	0.866	0.025
BTMS0033	30	196-217	8	5.429	0.903	0.829	0.791	-0.091
BTMS0119	30	330-382	12	4.979	0.677	0.812	0.773	0.168*
B119	30	130-136	4	3.488	0.375	0.724	0.662	0.487**
BT28	27	181-196	6	2.766	0.222	0.650	0.604	0.663**
BTMS0131	30	208-328	13	5.292	0.750	0.823	0.788	0.091
BT20	26	117-145	14	10.089	0.692	0.918	0.893	0.250**
B126	26	158-198	17	12.754	0.615	0.939	0.916	0.350**
BTMS0045	30	214-288	21	15.376	0.645	0.950	0.931	0.325**
BT26	28	115-147	13	10.453	1.000	0.920	0.897	-0.088
B96	29	224-242	9	5.128	0.344	0.819	0.780	0.583**
BT06	25	138-172	16	10.245	0.600	0.920	0.895	0.353**
B124	25	234-282	17	12.019	0.760	0.935	0.911	0.191*
BT09	30	124-174	15	8.411	0.800	0.896	0.872	0.109
B118	30	189-225	13	9.152	0.774	0.905	0.881	0.147*
B132	30	153-181	14	7.529	0.750	0.881	0.854	0.151*
B11	27	148-168	10	5.586	0.777	0.836	0.800	0.071
BTMS0082	28	381-406	6	3.604	0.785	0.735	0.683	-0.069
BT10	26	141-169	13	9.797	0.923	0.915	0.889	-0.008
BTMS0124	28	240-270	11	6.322	0.642	0.857	0.824	0.253**
Ortalama ± St. Sapma			12.350± 4.183	7.830± 3.40	0.695± 0.196	0.858± 0.080	0.826± 0.091	0.192**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-23; Ticari populasyon 3 (TP3) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	144-180	17	13.333	0.933	0.940	0.920	0.008
BTMS0033	30	196-223	9	6.792	0.833	0.867	0.836	0.040
BTMS0119	29	330-360	10	4.947	0.413	0.811	0.778	0.495**
B119	26	130-136	4	3.281	0.538	0.708	0.639	0.244*
BT28	22	178-199	7	4.084	0.318	0.772	0.722	0.594**
BTMS0131	25	206-328	12	8.223	0.760	0.896	0.867	0.155*
BT20	23	117-153	15	9.796	0.913	0.917	0.890	0.005
B126	23	152-198	19	14.493	0.913	0.951	0.927	0.041
BTMS0045	29	218-292	19	13.564	0.724	0.942	0.922	0.235**
BT26	26	115-191	14	8.047	0.923	0.892	0.864	-0.034
B96	26	224-246	10	6.862	0.576	0.871	0.838	0.342**
BT06	21	144-160	8	6.345	0.666	0.863	0.823	0.232*
B124	21	234-282	19	13.781	1.000	0.950	0.923	-0.054
BT09	23	124-178	18	10.173	0.826	0.921	0.895	0.106
B118	23	195-221	13	9.981	0.913	0.919	0.891	0.008
B132	27	145-179	14	10.340	0.814	0.920	0.896	0.117
B11	25	146-170	13	8.561	0.760	0.901	0.872	0.159*
BTMS0082	25	376-411	8	2.900	0.920	0.668	0.595	-0.387**
BT10	22	143-169	9	5.902	0.681	0.849	0.810	0.202*
BTMS0124	22	240-270	12	7.503	0.636	0.886	0.853	0.287**
Ortalama ± St. Sapma			12.500± 4.406	8.440± 3.490	0.753± 0.185	0.872± 0.078	0.838± 0.092	0.139*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-24; Ticari populasyon 4 (TP4) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	28	146-178	11	7.361	1.000	0.879	0.850	-0.139*
BTMS0033	30	202-226	9	6.081	0.766	0.849	0.815	0.099
BTMS0119	30	330-354	10	7.468	0.466	0.880	0.852	0.474**
B119	30	130-136	4	2.489	0.400	0.608	0.515	0.346**
BT28	29	178-199	7	5.740	0.379	0.840	0.802	0.553**
BTMS0131	29	206-328	18	10.256	0.793	0.918	0.896	0.138*
BT20	28	123-145	8	4.584	0.678	0.796	0.756	0.150*
B126	27	166-198	15	9.055	0.963	0.906	0.880	-0.064
BTMS0045	30	236-264	10	5.696	0.633	0.838	0.806	0.248**
BT26	29	119-163	15	9.556	0.620	0.911	0.887	0.323**
B96	28	228-246	8	3.689	0.535	0.742	0.693	0.282**
BT06	26	136-160	11	7.347	0.846	0.880	0.849	0.040
B124	26	234-264	14	10.730	0.846	0.924	0.899	0.086
BT09	29	134-180	18	10.132	0.758	0.917	0.894	0.175*
B118	27	183-235	16	9.785	0.777	0.914	0.890	0.152*
B132	30	163-189	13	6.451	0.600	0.859	0.830	0.305**
B11	25	144-174	12	9.920	0.600	0.917	0.891	0.351**
BTMS0082	25	386-416	7	4.612	0.160	0.799	0.754	0.803**
BT10	26	141-165	12	9.073	0.923	0.907	0.880	-0.018
BTMS0124	27	244-270	11	6.257	0.518	0.856	0.822	0.399**
Ortalama ± St. Sapma			11.450± 3.776	7.310± 2.420	0.663± 0.214	0.857± 0.076	0.823± 0.092	0.230**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-25; Ticari populasyon 5 (TP5) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	26	146-178	15	7.347	1.000	0.880	0.852	-0.138*
BTMS0033	27	202-235	9	6.000	0.740	0.849	0.812	0.130
BTMS0119	28	334-360	10	7.686	0.535	0.885	0.856	0.400**
B119	26	130-134	3	2.467	0.538	0.606	0.508	0.114
BT28	27	178-199	7	3.877	0.296	0.756	0.716	0.613**
BTMS0131	26	206-328	17	9.073	0.615	0.907	0.881	0.326**
BT20	26	121-143	10	6.407	0.923	0.860	0.825	-0.074
B126	28	166-190	12	9.169	0.857	0.907	0.881	0.056
BTMS0045	28	238-258	10	6.672	0.928	0.865	0.833	-0.074
BT26	27	119-191	16	11.664	0.851	0.931	0.908	0.087
B96	26	228-246	7	4.023	0.500	0.766	0.716	0.352**
BT06	26	138-162	10	7.078	0.923	0.875	0.843	-0.055
B124	21	234-266	14	9.383	0.904	0.915	0.884	0.012
BT09	23	134-180	17	11.755	0.782	0.935	0.909	0.166*
B118	21	207-233	13	8.320	0.904	0.901	0.869	-0.004
B132	26	161-189	12	7.191	0.500	0.877	0.846	0.435**
B11	22	148-172	12	11.000	0.727	0.930	0.902	0.222**
BTMS0082	21	386-421	7	3.379	0.238	0.721	0.679	0.675**
BT10	22	141-169	13	8.417	0.863	0.901	0.870	0.043
BTMS0124	20	246-270	11	8.080	0.750	0.898	0.864	0.169*
Ortalama ± St. Sapma			11.250± 3.640	7.440± 2.610	0.719± 0.220	0.858± 0.083	0.823± 0.098	0.165*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-26; Ticari populasyon 6 (TP6) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	29	144-178	12	8.452	0.965	0.897	0.871	-0.078
BTMS0033	29	205-226	7	5.443	0.862	0.830	0.791	-0.039
BTMS0119	30	338-360	11	6.185	0.500	0.852	0.822	0.418**
B119	23	130-134	3	2.285	0.304	0.574	0.484	0.476**
BT28	22	178-199	8	4.722	0.272	0.806	0.763	0.667**
BTMS0131	22	206-328	17	10.521	0.772	0.926	0.898	0.169*
BT20	26	119-137	10	5.322	0.769	0.828	0.792	0.072
B126	27	162-190	13	8.944	0.777	0.905	0.878	0.143*
BTMS0045	26	230-254	10	7.388	0.807	0.881	0.850	0.085
BT26	24	119-163	13	9.365	0.833	0.912	0.884	0.088
B96	24	230-238	4	3.072	0.458	0.688	0.613	0.339**
BT06	20	140-154	8	6.352	0.777	0.866	0.823	0.105
B124	20	242-272	13	10.169	0.894	0.926	0.893	0.035
BT09	20	144-182	16	13.114	0.750	0.947	0.919	0.213**
B118	24	195-233	16	11.876	0.875	0.935	0.910	0.066
B132	24	161-189	12	7.432	0.791	0.883	0.851	0.106
B11	23	144-170	12	9.200	0.652	0.911	0.881	0.289**
BTMS0082	22	396-416	5	3.237	0.227	0.707	0.650	0.684**
BT10	21	141-167	13	9.000	0.857	0.910	0.879	0.060
BTMS0124	22	248-272	11	8.642	0.636	0.904	0.873	0.302**
Ortalama ± St. Sapma			10.700± 3.894	7.530± 2.940	0.689± 2.19	0.854± 0.095	0.816± 0.112	0.197*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-27; Ticari populasyon 7 (TP7) için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	22	150-176	12	7.806	0.909	0.892	0.858	-0.019
BTMS0033	22	202-220	7	4.913	0.772	0.815	0.768	0.053
BTMS0119	23	338-362	10	7.895	0.565	0.892	0.860	0.372**
B119	22	130-136	4	3.349	0.636	0.717	0.649	0.116
BT28	24	178-199	7	4.266	0.250	0.781	0.737	0.685**
BTMS0131	22	206-328	16	10.297	0.727	0.923	0.895	0.217**
BT20	24	123-141	10	7.680	0.916	0.888	0.856	-0.033
B126	24	170-196	13	9.142	0.875	0.909	0.881	0.039
BTMS0045	23	238-278	11	7.006	0.826	0.876	0.842	0.059
BT26	25	115-157	17	13.297	1.000	0.943	0.920	-0.061
B96	25	230-240	6	4.370	0.480	0.786	0.736	0.395**
BT06	20	136-156	8	5.666	1.000	0.848	0.800	-0.185
B124	20	240-266	13	9.500	0.842	0.918	0.885	0.086
BT09	24	124-176	18	13.552	0.791	0.945	0.921	0.166**
B118	23	199-219	11	7.722	0.695	0.889	0.857	0.222**
B132	25	153-187	14	9.191	0.960	0.909	0.882	-0.057
B11	22	152-176	10	5.727	0.727	0.844	0.805	0.142
BTMS0082	23	396-411	4	2.305	0.304	0.578	0.503	0.480**
BT10	20	145-169	11	7.692	0.900	0.892	0.857	-0.009
BTMS0124	20	254-272	9	6.666	0.400	0.871	0.833	0.548**
Ortalama ± St. Sapma			10.600± 3.912	7.405± 2.952	0.729± 0.225	0.856± 0.087	0.817± 0.100	0.152*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-28; Aksu (AK) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	154-176	10	4.687	0.566	0.800	0.760	0.295**
BTMS0033	30	202-220	7	5.325	0.700	0.826	0.786	0.155*
BTMS0119	30	334-358	8	5.172	0.466	0.820	0.782	0.435**
B119	29	130-136	4	3.203	0.448	0.699	0.633	0.364**
BT28	23	178-199	6	2.813	0.347	0.658	0.607	0.478**
BTMS0131	28	206-328	17	8.296	0.392	0.895	0.869	0.566**
BT20	28	117-147	15	10.594	0.928	0.922	0.898	-0.007
B126	28	152-198	15	11.878	0.857	0.932	0.910	0.082
BTMS0045	28	218-292	17	7.127	0.750	0.875	0.847	0.145*
BT26	23	115-191	18	12.447	0.913	0.940	0.914	0.029
B96	22	224-246	9	6.769	0.272	0.872	0.837	0.692**
BT06	24	144-172	12	8.170	0.625	0.896	0.866	0.307**
B124	24	234-74	13	10.766	0.583	0.926	0.900	0.375**
BT09	22	128-186	21	17.925	0.727	0.966	0.941	0.252**
B118	22	195-235	14	10.755	0.772	0.928	0.900	0.171*
B132	27	165-211	12	8.427	0.888	0.898	0.870	0.010
B11	22	144-170	9	4.631	0.590	0.802	0.761	0.268**
BTMS0082	20	391-411	5	3.705	0.352	0.752	0.685	0.538**
BT10	25	141-171	12	8.333	0.920	0.898	0.869	-0.025
BTMS0124	24	244-270	9	5.308	0.500	0.828	0.788	0.402**
Ortalama ± St. Sapma			11.700± 4.669	7.810± 3.772	0.630± 0.211	0.857± 0.082	0.821± 0.094	0.269**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-29; Kumluca (KM) popülasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	18	152-178	10	6.893	0.666	0.879	0.839	0.247**
BTMS0033	18	205-220	6	4.349	0.555	0.792	0.735	0.305**
BTMS0119	17	336-386	11	7.410	0.588	0.891	0.851	0.347**
B119	19	130-136	4	2.809	0.315	0.661	0.597	0.529**
BT28	17	178-196	5	4.099	0.176	0.779	0.717	0.779**
BTMS0131	13	206-328	11	6.377	0.384	0.876	0.828	0.571**
BT20	16	123-147	12	6.095	0.687	0.862	0.820	0.209*
B126	20	162-198	17	12.307	0.900	0.942	0.913	0.046
BTMS0045	21	236-264	10	7.056	0.571	0.879	0.844	0.356**
BT26	21	115-147	13	9.187	0.904	0.912	0.881	0.009
B96	18	230-246	8	5.311	0.277	0.834	0.788	0.674**
BT06	16	138-160	11	6.168	0.437	0.864	0.822	0.502**
B124	16	234-270	16	12.487	0.875	0.949	0.914	0.081
BT09	17	124-180	20	13.761	0.823	0.955	0.923	0.142*
B118	17	201-235	13	8.140	0.764	0.903	0.867	0.158*
B132	18	151-189	14	9.969	0.944	0.925	0.892	-0.021
B11	17	158-176	9	6.422	0.411	0.869	0.827	0.534**
BTMS0082	14	396-411	4	2.666	0.214	0.648	0.571	0.678**
BT10	16	155-171	9	6.649	0.812	0.877	0.832	0.076
BTMS0124	16	256-272	8	4.785	0.312	0.816	0.768	0.625**
Ortalama ± St. Sapma			10.550± 4.248	7.140± 3.08	0.581± 0.252	0.856± 0.083	0.812± 0.095	0.328**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-30; Demre (DM) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	22	156-180	8	6.050	0.681	0.854	0.814	0.206*
BTMS0033	22	202-223	6	4.302	0.454	0.785	0.732	0.427**
BTMS0119	21	340-382	12	9.692	0.666	0.918	0.888	0.279**
B119	21	130-136	4	3.570	0.142	0.737	0.669	0.810**
BT28	21	178-199	7	4.200	0.333	0.780	0.730	0.579**
BTMS0131	20	206-328	14	8.791	0.350	0.909	0.877	0.621**
BT20	21	123-147	13	8.243	0.857	0.900	0.868	0.049
B126	21	170-190	11	6.681	0.619	0.871	0.835	0.294**
BTMS0045	22	226-254	9	6.410	0.681	0.863	0.826	0.214*
BT26	21	115-147	12	9.483	1.000	0.916	0.885	-0.094
B96	21	224-240	8	4.819	0.381	0.811	0.764	0.537**
BT06	21	142-168	10	5.157	0.476	0.825	0.783	0.429**
B124	21	234-266	14	10.137	1.000	0.923	0.893	-0.085
BT09	22	144-178	16	11.126	0.954	0.931	0.904	-0.026
B118	22	199-233	14	9.777	0.818	0.918	0.889	0.112
B132	22	149-183	17	12.571	0.954	0.941	0.915	-0.014
B11	20	152-176	11	7.547	0.450	0.889	0.854	0.501**
BTMS0082	19	386-411	6	5.194	0.526	0.829	0.780	0.372**
BT10	17	143-167	10	7.810	0.647	0.898	0.859	0.286**
BTMS0124	18	254-270	7	4.408	0.333	0.795	0.746	0.588**
Ortalama ± St. Sapma			10.450± 3.575	7.290± 2.600	0.616± 0.254	0.865± 0.059	0.825± 0.070	0.293**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-31; Geyikbayırı (GB) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	19	156-176	9	6.623	0.894	0.872	0.832	-0.027
BTMS0033	18	205-220	6	3.176	0.500	0.704	0.634	0.297**
BTMS0119	21	338-374	12	7.411	0.666	0.886	0.851	0.252**
B119	22	130-136	4	3.396	0.545	0.722	0.651	0.249**
BT28	20	181-199	6	4.790	0.100	0.811	0.760	0.880**
BTMS0131	23	208-328	13	4.967	0.521	0.816	0.782	0.366**
BT20	22	125-145	11	9.490	0.772	0.915	0.885	0.159*
B126	22	172-198	13	8.566	0.863	0.903	0.873	0.045
BTMS0045	23	236-292	13	7.053	0.826	0.877	0.843	0.060
BT26	21	119-151	14	7.875	0.857	0.894	0.862	0.043
B96	22	224-240	8	5.595	0.409	0.840	0.798	0.519**
BT06	22	140-164	10	6.012	0.727	0.853	0.809	0.150
B124	20	242-270	13	8.791	0.950	0.909	0.876	-0.046
BT09	21	134-176	15	10.888	1.000	0.930	0.901	-0.077
B118	19	203-221	10	8.298	0.894	0.903	0.867	0.010
B132	23	159-183	10	7.398	0.956	0.884	0.850	-0.084
B11	20	152-176	12	8.421	0.800	0.903	0.870	0.118
BTMS0082	20	391-411	5	1.801	0.400	0.456	0.414	0.126
BT10	20	149-171	11	7.079	0.800	0.880	0.843	0.094
BTMS0124	21	248-272	10	7.056	0.619	0.879	0.844	0.301**
Ortalama ± St. Sapma			10.250± 3.109	6.73± 2.26	0.705± 0.232	0.842± 0.108	0.802± 0.115	0.166*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-32; Termesos (TM) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	150-176	11	8.695	0.733	0.900	0.874	0.188*
BTMS0033	29	208-220	5	3.411	0.551	0.719	0.660	0.236*
BTMS0119	30	332-378	14	8.780	0.766	0.901	0.876	0.151*
B119	28	130-136	4	3.187	0.357	0.698	0.629	0.493**
BT28	22	178-199	8	5.041	0.272	0.820	0.778	0.673**
BTMS0131	29	206-328	18	8.715	0.448	0.900	0.877	0.507**
BT20	28	121-147	13	10.051	0.857	0.916	0.892	0.066
B126	29	158-198	15	10.382	0.931	0.919	0.896	-0.013
BTMS0045	29	236-288	14	9.779	0.689	0.913	0.889	0.248**
BT26	30	115-163	17	12.676	0.800	0.936	0.916	0.148*
B96	30	224-246	9	6.976	0.500	0.871	0.841	0.430**
BT06	24	142-164	11	8.861	0.708	0.906	0.876	0.222*
B124	25	238-272	16	9.689	0.880	0.915	0.888	0.039
BT09	28	144-186	16	12.061	0.928	0.933	0.911	0.006
B118	25	209-243	14	10.000	0.760	0.918	0.892	0.175*
B132	30	153-179	14	10.465	0.933	0.919	0.897	-0.015
B11	25	146-172	12	7.183	0.800	0.878	0.847	0.091
BTMS0082	25	396-411	4	2.747	0.200	0.649	0.562	0.696**
BT10	25	141-167	14	9.765	0.880	0.915	0.889	0.040
BTMS0124	27	244-268	11	5.785	0.666	0.842	0.807	0.212*
Ortalama ± St. Sapma			12.000± 4.154	8.212± 2.860	0.683± 0.223	0.868± 0.083	0.835± 0.100	0.217**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-33; Bayatbademler (BB) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	30	150-174	11	8.108	0.666	0.891	0.864	0.255**
BTMS0033	27	205-220	6	3.155	0.703	0.696	0.627	-0.011
BTMS0119	27	334-378	13	9.055	0.777	0.906	0.879	0.144*
B119	28	130-136	4	2.431	0.428	0.599	0.530	0.289**
BT28	26	181-199	5	3.363	0.461	0.716	0.653	0.360**
BTMS0131	32	206-328	20	9.022	0.687	0.903	0.883	0.242**
BT20	31	117-147	16	12.480	0.935	0.935	0.914	-0.001
B126	31	152-198	17	10.858	0.903	0.922	0.901	0.022
BTMS0045	31	214-284	13	6.743	0.612	0.865	0.835	0.295**
BT26	28	115-151	16	11.701	0.892	0.931	0.908	0.042
B96	28	224-246	9	6.197	0.500	0.853	0.818	0.419**
BT06	25	136-166	13	8.928	0.880	0.906	0.878	0.029
B124	26	230-274	17	12.180	0.961	0.935	0.912	-0.028
BT09	28	146-186	19	14.792	0.928	0.949	0.928	0.022
B118	26	205-233	11	7.860	0.692	0.889	0.860	0.225**
B132	28	153-189	16	9.619	0.964	0.912	0.888	-0.058
B11	21	140-172	14	9.187	0.523	0.912	0.881	0.432**
BTMS0082	22	371-416	7	3.420	0.045	0.724	0.676	0.939**
BT10	21	141-161	11	8.166	0.952	0.899	0.866	-0.061
BTMS0124	21	246-264	8	3.737	0.428	0.750	0.704	0.435**
Ortalama ± St. Sapma			12.300± 4.691	8.050± 3.490	0.697± 0.244	0.855± 0.099	0.820± 0.115	0.188*

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-34; Faselis (FS) populasyonu için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	28	152-176	11	8.615	0.571	0.900	0.873	0.369**
BTMS0033	29	205-220	6	4.473	0.517	0.790	0.744	0.349**
BTMS0119	28	330-360	15	11.280	0.642	0.927	0.905	0.311**
B119	28	130-136	4	2.893	0.464	0.666	0.596	0.307**
BT28	26	178-199	7	5.495	0.230	0.834	0.793	0.727**
BTMS0131	32	206-328	16	5.305	0.406	0.824	0.794	0.511**
BT20	23	121-147	9	7.837	0.826	0.891	0.859	0.075
B126	23	166-196	12	8.015	0.826	0.894	0.863	0.078
BTMS0045	31	222-292	14	9.196	0.709	0.905	0.881	0.219**
BT26	27	115-137	11	8.100	0.925	0.893	0.864	-0.038
B96	25	224-246	9	6.188	0.600	0.855	0.820	0.303**
BT06	31	140-156	9	5.636	0.677	0.836	0.801	0.192*
B124	29	244-278	16	11.929	0.862	0.932	0.910	0.077
BT09	31	136-180	19	15.015	0.580	0.948	0.929	0.392**
B118	29	189-243	15	10.851	0.620	0.923	0.900	0.332**
B132	25	145-183	17	10.683	0.880	0.924	0.899	0.050
B11	28	146-176	15	9.619	0.678	0.912	0.887	0.260**
BTMS0082	27	391-416	6	3.564	0.555	0.733	0.676	0.246**
BT10	25	143-167	12	9.615	0.960	0.914	0.887	-0.051
BTMS0124	27	246-278	12	7.476	0.481	0.882	0.852	0.459**
Ortalama ± St. Sapma			11.800± 4.073	8.08± 3.060	0.650± 0.188	0.869± 0.072	0.837± 0.084	0.255**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-35; Grup 1 (TP1,2,3,4,5,6,7) populasyonları için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	196	144-180	19	13.285	0.918	0.927	0,920	0.009
BTMS0033	187	196-235	12	7.056	0.817	0.860	0,843	0.050
BTMS0119	200	330-382	19	12.334	0.560	0.921	0,913	0.393**
B119	186	130-136	4	3.334	0.483	0.702	0,643	0.311**
BT28	175	178-199	8	4.541	0.268	0.782	0,751	0.657**
BTMS0131	181	206-328	27	10.583	0.723	0.908	0,899	0.203**
BT20	175	117-153	17	10.779	0.788	0.909	0,900	0.134
B126	180	152-198	20	14.794	0.816	0.935	0,928	0.127
BTMS0045	193	214-292	25	14.616	0.751	0.934	0,928	0.196*
BT26	184	115-191	19	14.684	0.875	0.934	0,928	0.064
B96	183	224-246	10	6.705	0.475	0.853	0,833	0.443**
BT06	157	136-172	18	11.335	0.789	0.914	0,905	0.137
B124	155	234-282	23	17.776	0.851	0.946	0,941	0.101
BT09	174	124-186	26	19.180	0.781	0.950	0,945	0.178*
B118	176	183-235	21	12.917	0.812	0.925	0,917	0.122
B132	193	145-189	22	12.143	0.740	0.920	0,912	0.195*
B11	169	144-176	17	9.872	0.650	0.901	0,890	0.278**
BTMS0082	168	376-421	10	3.641	0.523	0.727	0,685	0.281**
BT10	164	141-171	16	10.364	0.865	0.906	0,896	0.045
BTMS0124	166	240-272	17	9.862	0.590	0.901	0,890	0.346**
Ortalama ± St. Sapma			17.650± 6.141	10.990± 4.330	0.704± 0.169	0.888± 0.070	0.873± 0.084	0.207**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-36; Grup 2 (AK, KM, DM ve GB) populasyonları için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	89	152-180	15	8.498	0.685	0.887	0,872	0.229**
BTMS0033	88	202-223	8	4.789	0.568	0.795	0,762	0.287**
BTMS0119	89	334-386	18	10.415	0.584	0.909	0,897	0.359**
B119	91	130-136	4	3.478	0.373	0.716	0,659	0.480**
BT28	81	178-199	8	4.400	0.246	0.777	0,745	0.684**
BTMS0131	84	206-328	24	9.861	0.416	0.904	0,891	0.541**
BT20	87	117-147	15	11.929	0.827	0.921	0,910	0.102
B126	91	152-198	19	11.966	0.813	0.921	0,911	0.118
BTMS0045	94	218-292	20	9.252	0.712	0.896	0,882	0.206*
BT26	86	115-191	19	13.218	0.918	0.929	0,919	0.012
B96	83	224-246	10	6.916	0.337	0.860	0,839	0.609**
BT06	83	138-172	17	7.328	0.578	0.868	0,850	0.336**
B124	81	234-274	19	14.185	0.839	0.935	0,925	0.103
BT09	82	124-186	26	18.703	0.878	0.952	0,944	0.078
B118	80	195-235	18	12.838	0.812	0.927	0,917	0.125
B132	90	149-211	21	11.305	0.933	0.916	0,905	-0.018
B11	79	144-176	15	10.074	0.569	0.906	0,892	0.373
BTMS0082	70	386-411	6	3.414	0.385	0.712	0,667	0.460**
BT10	78	141-171	16	10.507	0.807	0.910	0,898	0.114
BTMS0124	79	244-272	14	8.052	0.455	0.881	0,864	0.485**
Ortalama ± St. Sapma			15.650± 5.887	9.550± 3.870	0.637± 0.214	0.876± 0.070	0.857± 0.083	0.274**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

EK-37; Grup 3 (TM, BB ve FS) populasyonları için çalışılan mikrosatelit lokusların tanımlayıcı istatistikleri. Örnek sayısı (n), Allel Genişliği (AG), Gözlenen Allel Sayısı (Na), Etkili Allel Sayısı (Ne), Gözlenen (Ho) ve Beklenen (He) Heterozigotluklar ile PIC ve Fis Değerleri

Lokus	N	AG	Na	Ne	Ho	He	PIC	Fis
B100	88	150-176	14	9.631	0.659	0.901	0,887	0.270**
BTMS0033	85	205-220	6	3.749	0.588	0.737	0,692	0.203*
BTMS0119	85	330-378	17	12.565	0.729	0.925	0,915	0.213**
B119	84	130-136	4	3.047	0.416	0.675	0,610	0.385**
BT28	74	178-199	8	4.902	0.324	0.801	0,769	0.597**
BTMS0131	83	206-328	26	8.053	0.516	0.880	0,869	0.415**
BT20	82	117-147	16	11.281	0.878	0.917	0,905	0.043
B126	83	152-198	20	12.888	0.891	0.928	0,917	0.039
BTMS0045	91	214-292	20	10.383	0.670	0.908	0,896	0.263**
BT26	85	115-163	18	14.493	0.870	0.936	0,927	0.071
B96	83	224-246	10	8.375	0.530	0.885	0,869	0.403**
BT06	80	136-166	15	8.471	0.750	0.887	0,871	0.156*
B124	80	230-278	22	13.973	0.900	0.934	0,924	0.037
BT09	87	136-186	23	17.480	0.804	0.948	0,940	0.152*
B118	80	189-243	19	12.994	0.687	0.928	0,918	0.261**
B132	83	145-189	21	11.627	0.927	0.919	0,908	-0.009
B11	74	140-176	17	11.290	0.675	0.917	0,905	0.265**
BTMS0082	74	371-416	8	4.243	0.283	0.769	0,729	0.633**
BT10	71	141-167	14	11.103	0.929	0.916	0,903	-0.014
BTMS0124	75	244-278	15	7.978	0.533	0.880	0,864	0.396**
Ortalama ± St. Sapma			15.700± 5.885	9.920± 3.85	0.678± 0.198	0.880± 0.074	0.861± 0.089	0.230**

(**p<0.01; *p<0.05, Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma önemli)

ÖZGEÇMİŞ

BAHAR ARGUN KARSLI

bhrargun@akdeniz.edu.tr



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2012-	Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2009-2011	Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Antalya
Lisans	Hacettepe Üniversitesi
2000-2005	Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi
2011-2018	Fen Bilimleri Enstitüsü
	Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Argun Karşlı B., Gürel F. (2013). Effects of CO₂ Narcosis On The Onset of Oviposition and Colony Founding Success of Post Diapausing Bumblebee (*Bombus terrestris*) Queens. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19, 221-224.
- 2- Argun Karşlı B., Gürel F., Meydan H., Yıldız M.A. (2013). Determination of genetic diversity of native *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) populations in the Mediterranean Region by microsatellite markers. Current Opinion in Biotechnology, 24, S48-S48.

3- Gürel F., Argun Karşlı B. 2013. Techniques to Increase Queen Production in *Bombus terrestris* L. Colonies. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19, 351-353.

4- Gürel F., Argun Karşlı B., Gösterit A. (2012). Effects of Three Kinds of Sugar Syrups on Colony Development of Bumble Bee (*Bombus terrestris* L.). Journal of Apicultural Science, 56, 13-18.

5- Karşlı T., Şahin E., Argun Karşlı B., Alkan S., Balcioğlu M.S. (2011). Identification of Alleles for Factor XI (FXID) and Uridine Monophosphate Synthase (DUMPS) Deficiencies in Holstein Cows Reared in Antalya. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17, 503-505.

Ulusal dergilerde yayımlanan makaleler

1- Argun Karşlı B., Gürel F. (2016) .Bombus Arısı Hastalık ve Parazitleri. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10, 228-235.

2- Meydan H., Argun Karşlı B., Gürel F., Balcioğlu M.S., Yıldız M.A. (2016). Bazı Türkiye Yerli ve Ticari *Bombus terrestris* Popülasyonlarındaki Genetik Çeşitliliğin Mikrosatelit Markerler Kullanılarak Belirlenmesi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 56, 48-55.

3- Argun Karşlı B., Gürel F. (2014). Bazı Önemli Bombus Arısı (*Bombus terrestris* L.) Parazitlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması. (Identification of Some Important Bumblebee (*Bombus terrestris* L.) Parasites by Molecular Methods. Uludağ Arıcılık Dergisi, 14(2), 88-98.

4- Karşlı T., Şahin E., Argun Karşlı B., Alkan S. , Balcioğlu M.S. (2012). An investigation of mutations (FecXG, FecXI, FecXH, FecXB) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25, 29-33.

5- Karşlı T., Şahin E., Argun Karşlı B., Eren M.G., Balcioğlu M.S. 2011. Kangal ve Güney Karaman Koyunlarında FecB, FecXG, FecXH Allelerinin PZR-RFLP Yöntemi Kullanılarak Araştırılması. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 51, 71-80.

6- Gürel F., Gösterit A., Argun Karşlı B. 2011. Sera Koşullarının *Bombus terrestris* L. Kolonilerinin Tozlaşma Performansına Etkileri. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 28, 47-55.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1-Argun Karşlı B., Gürel F. (2017). Determination of Genetic Structures of Commercial *Bombus terrestris* L. Populations In Turkey Using Microsatellite Loci. 3. International Agriculture Congress. (Özet Bildiri/Poster)

2- Argun Karşlı B., Gürel F. (2017). Population Genetic Structure of Native *Bombus terrestris* in Antalya Province. 2. International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. (Özet Bildiri/Sözlü).

- 3- Gürel F., Argun Karşlı B. (2017). The Importance of Citrus Plants as Honey Source Inmediterranean Region. International Symposium on Animal Science. (Özet Bildiri/Sözlü).
- 4- Gürel F., Argun Karşlı B., Gösterit A. (2017). The role of Bumblebee (*Bombus terrestris*) in the Pollination of Greenhouse Crops and Its Commercial use on Turkey. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, (Özet Bildiri/Sözlü).
- 5- Gürel F., Argun Karşlı B., Gösterit A. (2017). Invasion Potential of Commercially Reared Bumble Bee, *Bombus terrestris* L. and Its Possible Impacts on Ecosystem. 2. International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. (Özet Bildiri/Sözlü).
- 6- Karşlı T., Alkan S., Argun Karşlı B. (2017)."Some Candidate Genes Associated with Egg Yield and Quality in Chickens. 2. International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. (Özet Bildiri/Sözlü).
- 7- Argun Karşlı B., Gürel F. (2016). Molecular Detection of Protozoan Pathogens in Commercial Bumblebee (*B. terrestris* L.). VII International Scientific Agriculture Symposium. (Özet Bildiri/Poster).
- 8- Argun Karşlı B., Gürel F., Meydan H., Yildiz M.A. (2013). Determination of genetic diversity of native *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) populations in the Mediterranean region by microsatellite markers. European Biotechnology Congress. (Özet Bildiri/Poster).
- 9- Gürel F., Argun Karşlı B. (2012). Beekeeping in Turkey: present status and problems. V. International Symposium of Livestock Production. (Özet Bildiri/Poster).
- 10- Meydan H. , Argun Karşlı B., Yildiz M.A., Gürel F., Balcioğlu M.S. (2012). Identification of commercial and Turkish native *Bombus terrestris* populations by using microsatellite markers. 5. European Conference of Apidology. (Özet Bildiri/Sözlü).
- 11- Gürel F., Argun Karşlı B. (2012). *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) kolonilerinde ana arı üretimini artırma metodları. First International Biology Congress in Kyrgyzstan. (Özet Bildiri/Poster).
- 12- Gürel F., Gösterit A. , Argun Karşlı B. (2011). Effect of diapause duration on queen weight loss and survival in the *Bombus terrestris*. Society for Experimental Biology SEB Glasgow. (Özet Bildiri/Poster).
- 13- Gürel F., Argun Karşlı B. (2011). Chaste tree (*Vitex agnus-castus* L.): An important medicinal, aromatic and honey plant.", Intenational Conference Medicinal and Aromatic Plants in Generating of New Values in 21st Century, Book of Abstract. (Özet Bildiri/Poster).
- 14- Gürel F., Argun Karşlı B. (2011). Potential ecological impacts of commercially produced *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera:Apidae) Colonies. RBI 8. Global Conference on the Conservation of Animal Genetic Resources. (Özet Bildiri/Poster).

15- Gürel F., Gösterit A. , Argun Karşlı B. (2010). Seralarda *Bombus terrestris* L. Kolonilerinin Tozlaşma Etkinliğini Etkileyen Etmenler. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems. (Özet Bildiri/Poster).

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Gürel F., Gösterit A. , Argun Karşlı B. (2015). Bombus arısı (*Bombus terrestris* L.) kitlesel üretiminde diyapoz süresi ve ana arı ağırlığının yaşama gücü üzerine İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi. (Özet Bildiri/Sözlü).

2- Argun Karşlı B., Gürel F. (2015). Bombus Arısı Hastalık ve Parazitleri. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi. (Özet Bildiri/Poster).

3- Karşlı T., Argun Karşlı B., Balcıoğlu M.S. (2015). Mikrosatellit DNA markır yöntemi ve çiftlik hayvanlarında kullanımı. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi. (Özet Bildiri/Sözlü).

4- Gürel F., Argun Karşlı B., Cilavdaroğlu E. (2015). Arı Poleninin Kalite Kriterleri ve Organik Üretim Potansiyeli. Doğu Karadeniz II. Organik Tarım Kongresi. (Özet Bildiri/Poster).

5- Argun Karşlı B., Gürel F. (2011). Bombus arılarında moleküler tekniklerin kullanılması", I. Ulusal Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı. (Özet Bildiri/Poster).

6- Şahin E., Karşlı T., Argun Karşlı B., Balcıoğlu M.S. (2011). Antalya Bölgesinde Yetiştirilen Holstein İneklerde Sığır Lökosit Bağlanma Yetmezliği (BLAD) Allelinin Saptanması. I. Ulusal Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı. (Özet Bildiri/Poster).