

**Balarılarında (*Apis mellifera* L.) Fosfoglukomutaz (Pgm)  
Enzim Polimorfizminin Mevsimlere Bağlı Olarak Değişiminin  
Nedenlerinin ve Sonuçlarının Araştırılması**

**Proje No: 106T181**

Doę.Dr.Meral KENCE  
Yrd.Doę.Dr.Sreeparna BANERJEE  
Zerrin GÜLDÜREN  
Filiz YENİ

TEMMUZ 2008  
ANKARA

## ÖNSÖZ

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) ekonomik önemi yanısıra sosyal böcek olmaları, haplo-diploid eşey belirleme sistemleri ile bilim insanlarının ilgisini çekmekte ve çiçekli bitkilerin büyük bölümünün tozlaşma (polinasyon) yoluyla üremelerini sağlamaları nedeniyle bitki çeşitliliğinin ve dolaylı olarak bitkilerle beslenen diğer canlı biyoçeşitliliğinin sürdürülmesini sağladıkları ve yine tozlaşma ile tarımsal ürünlerin verimini arttırmaları nedeniyle çok önemli bir böcek türüdür. Yapılan bu çalışmada, Türkiye’de üç farklı bölgede bulunan, farklı balarısı (*A.m.caucasica*, *A.m.syriaca*, *A.m.carnica*) ırklarında Fosfoglukomutaz (Pgm) ve Heksokinaz (Hk) gen ve genotip frekanslarının mevsimsel değişimi uzun süre izlenerek analiz edilmiş ve biyokimyasal sonuçları değerlendirilmiştir. Bu araştırma, 2006-2008 yılları arasında 106T181 no’lu proje kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir. Bu desteğinden dolayı TÜBİTAK’a, emeği geçen öğrencilerimize ve örnek toplamada yardımcı olan arıcılarımıza teşekkür ederiz.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	2
TABLO LİSTESİ.....	4
ŞEKİL LİSTESİ.....	5
ÖZET.....	6
ABSTRACT.....	7
GİRİŞ.....	8
GENEL BİLGİ.....	8
GEREÇ VE YÖNTEM.....	10
BULGULAR.....	12
ALLOZİM ANALİZİ.....	12
PROTEİN ANALİZİ.....	13
ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMLERİ.....	13
GLİKOJEN ÖLÇÜMLERİ.....	14
ENZİM AKTİVİTESİ ile GLİKOJEN MİKTARI İLİŞKİSİ.....	14
ISIYA DAYANIKLILIK (TERMOSTABİLİTE) ÖLÇÜMLERİ.....	14
TARTIŞMA.....	15
SONUÇ.....	17
REFERANSLAR.....	18
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU.....	54

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kırklareli balarılarında ( <i>A. m. carnica</i> ) Pgm ve Hk alel frekansları.....	22
Tablo 2. Kırklareli balarılarında ( <i>A. m. carnica</i> ) Pgm-75/100 ve Pgm-75/75 frekansları .....	23
Tablo 3. Kırklareli balarılarında ( <i>A. m. carnica</i> ) nadir Pgm genotip frekansları.....	24
Tablo 4. Kırklareli balarılarında ( <i>A. m. carnica</i> ) Hk genotip frekansları.....	25
Tablo 5. Artvin balarılarında ( <i>A. m. caucasica</i> ) Pgm ve Hk alel frekansları .....	26
Tablo 6. Artvin balarılarında ( <i>A. m. caucasica</i> ) Pgm-75/100 ve Pgm-75/75 frekansları .....	27
Tablo 7. Artvin balarılarında ( <i>A. m. caucasica</i> ) nadir Pgm genotip frekansları .....	28
Tablo 8. Artvin balarılarında ( <i>A. m. caucasica</i> ) Hk genotip frekansları.....	29
Tablo 9. Hatay balarılarında ( <i>A. m. syriaca</i> ) Pgm ve Hk alel frekansları .....	30
Tablo 10. Hatay balarılarında ( <i>A. m. syriaca</i> ) Pgm-75/100 ve Pgm-75/75 frekansları.....	30
Tablo 11. Hatay balarılarında ( <i>A. m. syriaca</i> ) nadir Pgm genotip frekansları .....	31
Tablo 12. Hatay balarılarında ( <i>A. m. syriaca</i> ) Hk genotip frekansları .....	32
Tablo 13. Kırklareli popülasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri.....	33
Tablo 14. Artvin popülasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri.....	34
Tablo 15. Hatay popülasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri.....	35
Tablo 16. Kış örneklerinin protein miktarları ve genotipleri .....	36
Tablo 17. Yaz örneklerinin protein miktarları ve genotipleri .....	36
Tablo 18. Yaz örneklerinin protein miktarları ve genotipleri .....	37
Tablo 19. Pgm-75/75 ve Pgm-75/100 bireylerinin protein miktarlarının t-test sonuçları .....	37
Tablo 20. Kış örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (1.grup).....	38
Tablo 21. Kış örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (2.grup).....	38
Tablo 22. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (3.grup).....	39
Tablo 23. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (4.grup).....	39
Tablo 24. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (5.grup).....	40
Tablo 25. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (6.grup).....	40
Tablo 26. Pgm-75/75 ve Pgm-75/100 bireylerinin enzim aktivite t-test sonuçları .....	40
Tablo 27. Kış örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (1-2. grup) .....	41
Tablo 28. Yaz örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (3-4.grup) .....	41
Tablo 29. Yaz ve Kış örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (5-6.grup).....	42
Tablo 30. Pgm-75/75 ve Pgm-75/100 bireylerinin glikojen miktarlarının t-test sonuçları.....	42
Tablo 31-34. Pgm genotiplerinin enzim aktivite ve termostabilite değerleri.....	43

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kırklareli populasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	44
Şekil 2. Kırklareli populasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	44
Şekil 3. Artvin populasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	45
Şekil 4. Artvin populasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	45
Şekil 5 . Hatay populasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	46
Şekil 6. Hatay populasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi.....	46
Şekil 7. Heterozigot ve Homozigot bireylerin protein miktarlarının dağılımı.....	47
Şekil 8. Heterozigot ve homozigot bireylerin PGM enzim aktivitelerinin dağılımı.....	47
Şekil 9. Heterozigot ve homozigot bireylerin glikojen miktarlarının dağılımı.....	48
Şekil 10. Pgm-75/75 enzim aktivitesi ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon.....	48
Şekil 11. Pgm-75/100 enzim aktivitesi ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon.....	49
Şekil 12. Heterozigot ve homozigotların enzim termostabilite sabitlerinin dağılımı.....	49
Şekil 13. Pgm-75/75 bireylerde enzim aktivite ve termostabilite ilişkisi.....	50
Şekil 14. Pgm-75/100 bireylerde enzim aktivite ve termostabilite ilişkisi.....	50
Şekil 15. 50 <sup>0</sup> C'de Pgm enzim aktiviteleri. 1. grupta 101-110 heterozigot bireyler.....	51
Şekil 16. 50 <sup>0</sup> C'de Pgm enzim aktiviteleri. 2. grupta 205 heterozigot, diğerleri homozigot.....	51
Şekil 17. 50 <sup>0</sup> C'de Pgm enzim aktiviteleri. 3. grupta 310 homozigot, diğerleri heterozigot.....	52
Şekil 18. 50 <sup>0</sup> C'de Pgm enzim aktiviteleri. 4. grupta 408 heterozigot, diğerleri homozigot.....	52
Şekil 19. 50 <sup>0</sup> C'de Pgm75/100 ve Pgm75/75 grup ortalama Pgm enzim aktiviteleri.....	53

## ÖZET

### **BALARILARINDA (*Apis mellifera* L.) FOSFOGLUKOMUTAZ (PGM) ENZİM POLİMORFİZMİNİN MEVSİMLERE BAĞLI OLARAK DEĞİŞİMİNİN NEDENLERİNİN VE SONUÇLARININ ARAŞTIRILMASI**

Fosfoglukomutaz enzimi (PGM), glikojen metabolizması, pentoz fosfat yolu ve ana glikolitik koridor arasındaki kavşak noktasında bulunan, enerji metabolizmasındaki önemli enzimlerden biri olup sözü geçen metabolik yolda, glukoz-1-fosfat ve glukoz-6-fosfat arasındaki iki yönlü dönüşümü katalizlemektedir.

Hatay, Artvin ve Kırklareli illerinden yıl boyunca her ay alınan toplam 3320 işçi arı örneği ile yapılan allozim çalışmaları sonunda *Pgm* genotip frekanslarının yaz ve kış populasyonlarında mevsimsel varyasyon gösterdiği ve Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı ölçüde saptığı ( $P<0.001$ ), kontrol olarak çalışılan Heksokinaz (*Hk*) lokusunda ise genotip frekanslarında mevsime bağlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Farklı *Pgm* genotiplerinin balarılarının fizyolojik performansına etkisini belirlemek amacıyla bu genotiplerin (*Pgm-75/75* ve *Pgm-75/100*), PGM enzim aktivitesi ve glikojen miktarları belirlenmiş ve kış aylarında frekansı yüksek olan heterozigot bireylerde PGM enzim aktivitesinin ve glikojen miktarının, homozigot bireylere göre önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P<0.0001$ ).

*Pgm* aktiviteleri farklı olan homozigot ve heterozigot bireylerle 50°C de yapılan ölçümler sonucu enzim ısı dayanıklılığının (termostabilite) aktivite ile ilişkili olmadığı ve farklı genotipli bireyler arasında enzim ısı dayanıklılığı bakımından önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ( $P=0.8879$ ).

Elde edilen bu veriler, farklı *Pgm* genotiplerinin biyokimyasal farklılıklarının bal arılarının glikojen düzeyindeki önemli varyasyona yol açan işlevsel ilişkileri olduğunu ve uyumsal sonuçları olabileceğini göstermektedir. Yüksek enzim aktivitesi ve glikojen düzeyi kış arılarının uzun ömürlü olmalarının temel mekanizmalarından biri olabilir. Yaz arılarına kıyasla uzun ömürlü kış arıları yavrusuz kış kolonisinin yaşayabilmesini sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Fosfoglukomutaz, allozim, mevsimsel değişim, enzim aktivitesi, glikojen miktarı, *Apis mellifera*, ısıya dayanıklılık.

## ABSTRACT

### CAUSES AND CONSEQUENCES OF SEASONAL VARIATION OF PHOSPHOGLUCOMUTASE (PGM) ENZYME POLYMORPHISM IN HONEYBEES (*Apis mellifera* L.)

Phosphoglucomutase (PGM) is one of the central enzymes in energy metabolism at a branch point at the head of the metabolic pathway leading into glycogen metabolism, pentose shunt and the main glycolytic cycle, catalyzing the reversible interconversion of glucose-1-phosphate to glucose-6-phosphate.

Allozyme variation studies on a total of 3320 worker honeybee, (*Apis mellifera* L) samples collected from Hatay, Artvin, and Kırklareli provinces every month over a year revealed that there is a significant seasonal variation of genotype frequencies and deviation from Hardy-Weinberg equilibrium at *Pgm* locus ( $P < 0.001$ ) whereas no seasonal variation of genotype frequencies determined at Hexokinase (Hk) locus studied as control.

The measurements of the enzyme activities and glycogen content of different *Pgm* genotypes (*Pgm-75/75* and *Pgm-75/100*) were performed in order to determine the effect of these genotypes on the physiological performance of the honeybees and it was observed that both enzyme activity and glycogen content are higher in heterozygote individuals which are in high frequency during winter months than that of the homozygote individuals ( $P < 0.0001$ ). Furthermore, PGM enzyme activity and glycogen content was found to be significantly correlated.

The measurements done with homozygote and heterozygote individuals which have different *Pgm* activities at 50°C showed that thermostability and enzyme activity are not correlated and there was no significant difference between the individuals with different genotype in terms of thermostability ( $P = 0.8879$ ).

These findings demonstrate that biochemical differences between different *Pgm* genotypes have functional correlates that lead to significant variations in glycogen content of the honeybees and may have adaptive consequences. This may be one of the underlying mechanisms of longer life span of winter bees than the summer bees. Long living winter bees ensure the survival of the broodless winter colony.

Keywords: Phosphoglucomutase (PGM), allozymes, seasonal variation, enzyme activity, glycogen content, *Apis mellifera*, thermostability.

## GİRİŞ

Türkiye'nin büyük çeşitlilik gösteren bitki örtüsüne (flora) ve farklı iklim koşullarına uyum sağlamış olan balaraları, bitkilerde tozlaşmayı sağladıkları için hem doğal bitki türlerinin oluşturduğu biyoçeşitliliğin korunması, hem de zirai bitkilerde tozlaşmayı sağladıklarından tarımsal ürünlerin verimini arttırmaya da katkıda bulduklarından, ve doğal, değerli bir besin olan bal ve polen, arı zehiri gibi diğer arı ürünlerinin üretilmesinde direk rol oynadıklarından Türkiye ekonomisi için önemli bir potansiyele sahiptir. Ülkemizde dört milyondan fazla balarası kolonisi bulunmaktadır (FAO, 1980). Bu potansiyeli iyi değerlendirebilmek ve zengin genetik çeşitlilik gösteren bu tür için popülasyonu ve popülasyonlararası genetik farklılıkların saptanmasında bu canlıların protein ve DNA dizilimindeki çeşitliliğin belirlenmesi ve bu çeşitliliğin biyokimyasal ve fizyolojik sonuçlarının belirlenip değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Laboratuvarımızda yapılmış olan çalışmalarda Türkiye'deki balarası toplumlarının çalışılan diğer ülke balarası toplumlarına göre çok daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğu gözlenmiştir. En fazla polimorfizm, Pgm lokusunda gözlenmiş olup, belirlenen 4 alelden ikisi daha önce literatürde bildirilmemiştir (TÜBİTAK, VHAG-1077 Proje sonuç raporu, 1998; KANDEMİR ve ark., 2000).

## GENEL BİLGİ

Çok sayıda organizmada glikolitik tepkime zincirindeki Fosfoglukoz izomeraz (Pgi) ve Fosfoglukomutaz (Pgm) enzimlerinde büyük ölçüde genetik çeşitlilik gözlemlenmiştir (DAHLHOFF & Rank, 2000; WATT ve ark., 1983; 1985; VERRELLI & Eanes, 2000; 2001a). Bunlardan Pgm enzimi glikolitik zincirin başlarında yer almakta ve glukoz metabolizmasını düzenleyen tepkime zincirinde önemli rol oynamaktadır (VOET & Voet, 2004). Pgm, glukoz-1-fosfat ile glukoz-6-fosfat arasındaki dönüşümü katalize ederek, glikojen metabolizması, pentoz yolu ve ana glikolitik koridor arasındaki kavşak noktasında belirleyici bir görev yüklenmiştir (EANES, 1999). Pgm, zincirin çift yönlü olan bu basamağında, organizmalarda karbonhidrat depolanmasını ya da yıkımını, glikojen sentezi ya da parçalanması yoluyla etkileyerek karbonhidrat metabolizmasında düzenleyici rol oynamaktadır (RAY & Roscelli, 1964; HIROSE ve ark., 1970). Pgm lokusu çalışılan pek çok organizmada, allozimleri bakımından yüksek düzeyde polimorfizm göstermektedir (VERRELLI & Eanes, 2000; 2001b).

Biyologlar, canlı toplumlarındaki protein polimorfizmi araştırmalarında, heterozigot bireylerin, yüksek düzeyde uyum gösterdiklerine ilişkin pek çok veri bildirmişlerdir. Farklı organizmalarda; heterozigotlukla yaşama düzeyi, gelişim süresi, yumurta verimi ve metabolizma ilişkilerini ayrıntılı biçimde incelemişlerdir (WATT, 1977; KOEHN & Gafney, 1984; WATT ve ark., 1985; ALLENDORF & Leary, 1986; GAFNEY, 1990; HANDFORD, 1980; MITTON, 1993; MESSIER & Mitton., 1996; OOSTERMEIJER ve ark., 1995; DAVID, 1998).

WATT (1977) ve WATT ve ark., (1985) *Colias* cinsi kelebeklerde yaptıkları çalışmalarda, glikolize yön veren Pgi ve Pgm enzimleri bakımından homozigot ve heterozigot bireyler arasında önemli ölçüde metabolik farklılıklar bulunduğunu ve heterozigot bireylerin homozigotlara göre daha avantajlı olduğunu saptamışlardır. Pgi polimorfizm analizleri sonucunda, sıklıkla görülen üç alelin oluşturduğu farklı genotiplerin yaşayabilme düzeyi, uçuş süresi, dişilerin yumurta verimliliği ve erkeklerin çiftleşme başarısı ile korelasyon gösterdiği ve heterozigotların, homozigot bireylerden daha başarılı olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda, heterozigot bireylerde enzim aktivitesinin



daha yüksek ve enzimlerin daha geniş bir ısı aralığında etkin (termostabilite daha yüksek) olduğunu gözlemlemiş, arazi çalışmalarının da laboratuvar sonuçlarını desteklediğini bildirmişlerdir (WATT, 1983).

GOULSON (1993) ise *Maniola jurtina* türü kelebeklerde Pgm lokusundaki genotiplerin sıklıklarının bölgenin yüksekliğine bağlı olarak farklılık gösterdiği, uçuş sürelerini etkilediği; soğuk hava koşullarında heterozigot bireylerin homozigotlara göre daha uzun süreli uçtukları sonucuna varmıştır.

VERRELLI & Eanes (2000) sirke sineğinde (*Drosophila melanogaster*) Pgm enzimidaki allozimler üzerinde yaptıkları çalışmada görülen yüksek amino asit polimorfizminin önemli bir kısmının coğrafi konuma bağlı olarak değişim gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Pgm alellerinin enzim aktivitesi ve ısıya dayanıklılığın farklılıklarının glikojen miktarı ile ilişkisini belirlemek amacıyla yapılan analizler sonunda enzim aktivitesinin glikojen miktarını belirleyici olduğu ancak ısıya dayanıklılık ile negatif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (VERRELLI & Eanes, 2001a).

Pgm, enerji metabolizmasında, karbonhidrat sentezini ve yıkımını kontrol eden çift yönlü bir tepkimeyi katalize ettiğinden canlıların enerji ihtiyacına ve beslenme durumuna bağlı olarak metabolik akışın yönünü belirlemektedir. Pgm lokusundaki genetik çeşitliliklerin canlıların fizyolojik performansı üzerinde son derece önemli olduğu yapılan birçok çalışmanın sonuçları tarafından da desteklenmiştir. Tarla fareleri (*Apodemus sylvaticus*) ile yapılan bir çalışmada (LEIGH BROWN, 1977) besin bulma sıkıntısı yaşayan farelerde, Pgm lokusundaki genotip frekanslarının önemli ölçüde değiştiği ve populasyondaki bireylerin hayatta kalma oranının bu lokustaki genotipler arasında farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bitkilerde yapılan çalışmalarda, enzim aktivitesinin engellendiği mutantların nişasta sentezleyemediği, (HANSON & Mchale, 1988), insanlarda ise, Pgm enzimi yetersizliklerinin glikojen depolanmasını önlediği (SUGIE ve ark., 1988) belirlenmiştir.

WARD ve arkadaşları (2004) bir gübre sineği (*Scathophaga stercoraria*) populasyonunda Pgm lokusundaki allozim varyasyonunun günlük ve mevsimsel değişimini incelemişler ve Pgm'in uçuş için gerekli glikojen stoklarının mobilizasyonunda merkezi bir işlevi olduğunu ve bunun farklı sıcaklıklarda larval gelişimi etkilediğini saptamışlardır. Ayrıca farklı Pgm genotiplerinde enzimin kinetik özelliklerinin belirlenmesi ve aktivite ölçümlerinin de yapılmasının gerekliliğini vurgulamışlardır.

Sıcaklık, coğrafi konum ve yükselti gibi çevresel koşulların enzim polimorfizmi ile ilişkisi bir çok araştırmacı tarafından incelenmiş (MITTON & Koehn, 1975; KOEHN, Newell & Immermann, 1980; WATT ve ark., 1983; DIMICHELE, Paynter & Powers, 1991; WATT, 1992; DAHLHOFF, & Rank, 2000; MARTINEZ ve ark., 2005) olmasına karşın allozim çeşitliliğinin, fizyolojik, metabolik ve biyokimyasal sonuçlarını değerlendiren çalışmalar oldukça azdır (FEDER & Watt, 1993; MITTON, 1997). Balarılarında ise Pgm allozim çeşitliliğinin mevsimsel değişiminin nedenlerinin ve sonuçlarının araştırılması konusunda literatürde hiç bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu nedenle yapılan bu araştırma, literatürdeki bu önemli eksikliğin bir ölçüde giderilmesine katkı yapmaktadır.

Laboratuvarımızda, balarılar ile yapılan çalışmalarda Hatay ve Gaziantep'te Pgm heterozigotlarının frekanslarının kış aylarında çok yüksek oranda olduğu gözlenmiş (HADIMOGULLARI ve ark., 2003), daha sonraki çalışmalarda ise yaz kış arasındaki bu frekans farklılığının bu iki ille sınırlı olmadığı, örneğin Trakya bölgesinden alınan örnekler için de geçerli olduğu anlaşılmıştır (IVANOVA et al., 2004). Bu ön bulguların alınmasından sonra Türkiye'de bulunan beş alttürden üçünde daha fazla örnek üzerinde ve daha uzun süre takibi gerektiğinden bu çalışma yapılmıştır.

Balarlarında gözlemlenen Pgm genotip frekanslarının değişiminde, mevsimsel sıcaklık düşüşünün ve bununla birlikte besin akışının azalmasının belirleyici çevre faktörü olduğu düşünülmektedir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Biyolojik materyal: farklı ekolojik ve iklim koşullarına sahip olan Artvin, Hatay ve Kırklareli illerinden işçi bal arısı örnekleri aylık örneklemelerle alınmış ve canlı olarak laboratuvara getirilerek homojenizasyon ve elektroforez yapılmaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuda saklanmıştır. Türkiye'nin kuzeydoğusunda bulunan ve yarı arktik iklime benzeyen iklimde, kışları sert -7 ay karla kaplı- Gürcistan sınırındaki Artvin'den, *A. m. caucasica*, yarı tropikal Akdeniz ikliminde Suriye sınırındaki güneydoğu ilimiz Hatay'dan *A. m. syriaca*, Trakya bölgesinde Bulgaristan sınırında bulunan ve dört mevsimli ılıman iklime sahip Kırklareli'den *A. m. carnica* kolonilerinden örneklemeye yapılmıştır.

Proje süresinde üç lokasyon için toplam 3320 işçi arıda Pgm ve Hk lokuslarındaki alel ve genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi analiz edilmiş ve her üç ırkta da yıllık döngü takip edilebilmiştir.

Örneklem bölgesi	İrk ismi	Örneklem zamanı	Örnek sayısı/ay
Kırklareli	<i>A. m. carnica</i>	Ekim 2005-Haziran 2008 (32 ay)	50
Artvin	<i>A.m. caucasica</i>	Temmuz 2006- Haziran 2008 (23 ay)	40
Hatay	<i>A. m. syriaca</i>	Kasım 2006- Haziran 2008 (20 ay)	40
<b>TOPLAM</b>			<b>3320</b>

**Homojenatların hazırlanması:** İşçi arıların toraks kısımları Tris-HCl buffer, (0.605g tris, 0.2 g EDTA, 0.005g NADP, 50ml dH<sub>2</sub>O, 0.01ml 2-merkaptolanol) pH 7.0 solüsyonunda homojenize edilip 8 dakika santrifüjde tutulduktan sonra elde edilen süzüntüler (supernatant) mikrotüplerde  $-80^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuda saklanmıştır.

**Enzim elektroforezi:** Hazırlanan homojenatlar %12'lik yatay nişasta (starch) jel elektroforezine tabi tutulmuşlardır (McDONALD, 1985; SHAW & Prasad, 1970). Örnekler tris-HCl (pH 8.0) jel ve elektrod tamponu kullanılarak yürütülmüştür. Elektroforez aynı metabolik yolda görevli fosfoglukomutaz (Pgm E.C. 5.4.2.2) ve heksokinaz (Hk E.C. 2.7.1.1) enzimleri için uygulanmıştır. Allozimler standard histokimyasal aktivite boyama yöntemi ile görüntülenmiştir (Pgm için:Tris-HCl pH.8.0 buffer, G-1-P, NADP, MTT, MgCl<sub>2</sub> PMS, G-6-P-dehidrogenaz, Agar solüsyonu; Hk için: Tris-HCl pH.7.0 buffer, glukoz, ATP, MgCl<sub>2</sub>, PMS, MTT, NADP, G-6-P-dehidrogenaz, Agar solüsyonu).

**Protein miktarının belirlenmesi:** BioRad-Bradford (BRADFORD, 1976) yöntemi kullanılmış ve homojenat örneklerinin spektrofotometrik ölçümleri standart BSA (bovine serum albumin) ile karşılaştırılarak elde edilen standart grafiklerden örneklere ait protein miktarları belirlenmiştir. Protein miktarının belirlenmesi, enzim aktivitesi ve glikojen ölçümlerinin standardizasyonu için önem taşımaktadır. Her homojenatta farklı miktarda protein bulunabileceği için, aktivite ve glikojen miktarları birim protein miktarına oranlanmıştır. Protein miktarlarının belirlenmesi için kış ve yaz örneklerinden alınan, her grupta 10 birey olmak üzere 6 grupta ölçülmüş, sonra genotipleri belirlenmiştir. Önce grup ortalamaları ve standart hataları hesaplanmış sonra gruplardaki homozigot ve heterozigotlara ait ölçüm değerleri iki grupta toplanmış ve t-testi ile karşılaştırılmışlardır.

**Glikojen miktarının belirlenmesi:** Farklı Pgm genotiplerinin enzim aktivitesi ile glikojen biyosentezinin ilişkilendirilebilmesi için, Sigma Biochemical kit-510A kullanılarak standart prosedür izlenmiş ve glikojenin hidrolize olması ile oluşan glikoz miktarının ölçümleri yapılmıştır (VERRELLI & Eanes, 2001a). Homojenat örneklerinin 450 nm de gerçekleştirilen spektrofotometrik ölçümleri standart glikojen ile karşılaştırılarak, protein ölçümlerinde olduğu gibi elde edilen standart grafiklerden örneklerdeki glikojen miktarı belirlenmiştir. Glikojen düzeyleri de protein tayininde olduğu gibi her grupta 10 birey olmak üzere 6 grupta ölçülmüş, sonra genotipleri belirlenmiştir. Daha sonra homozigot ve heterozigotlara ait ölçümler iki grupta toplanarak analiz edilmiştir.

**Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi:** Farklı Pgm genotiplerinin enzim aktivitesi 25°C sabit sıcaklıkta, ölçümün yapılacağı gün, deneyden hemen önce hazırlanmış reaksiyon solüsyonunda ölçülmüştür. Ölçümler, sıcaklık kontrollü spektrofotometrede (Shimatzu) 945µl reaksiyon solüsyonuna 55µl homojenat (toplam hacim 1 ml) eklenerek her örnek için 340 nm'de 5 dakika boyunca her 10 saniyede bir absorbans değişiminin kaydedilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Gözlenen absorbans değişikliği ile yapılan hesaplama sonrasında bulunan miktar PGM enzim aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir.

0.85mM G-1-P

0.5mM NADP →→→ in 20mM Tris-HCl (pH, 7.4)

1.0mM MgCl<sub>2</sub>

3.2 units/ml G-6-P-D

PGM aktivitesi, 1 ünite aktivite = 1 µmol NADH/dakika da fosforilasyonunu katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlanır.

Aktivitenin hesaplanması için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$\text{PGM aktivitesi (ünite/ml)} = \frac{\text{Absorbans/eğim} \times \text{toplam hacim}}{\text{Kullanılan homojenat hacmi} \times \text{Reaksiyon süresi}}$$

Daha sonra spesifik aktivitenin belirlenmesi için elde edilen ünite/ml aktivite değerleri protein miktarına oranlanmıştır. Deney düzeneği yine her grupta 10 birey olmak üzere 6 grupta toplam 60

bireyde ölçme şeklinde kurulmuş, daha sonra genotipleri belirlenerek homozigot ve heterozigotlara ait ölçümler iki grupta toplanarak analiz edilmiştir.

**Isıya Dayanıklılık (Termostabilite) Ölçümleri:** Farklı Pgm genotiplerinin ısıya dayanıklılık (termostabilite) özelliklerinin belirlenebilmesi için, 50°C’de tutulan homojenatlarda artan zaman aralıkları boyunca enzim aktivitesi ölçümleri yapılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda 50°C üzerindeki sıcaklıklarda Pgm-75/75 ve Pgm75/100 genotipli bireylerde enzim aktivitesinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. Farklı genotiplere ait ısıya dayanıklılık sabitlerinin belirlenebilmesi için örnekler (35µl homojenat) 15 dakika boyunca 50°C’de tutulmuş ve her 2 dakikada bir aktivite ölçümü alınmıştır. Yüksek sıcaklığın neden olduğu enzim aktivitesindeki düşüslere bağlı ısıya dayanıklılık sabitleri ( $k_D$ ) aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$(E/E^o)_t = e^{-k_D t} \quad \text{ya da} \quad \ln(E/E^o) = -kt$$

$E/E^o$ : t zaman sonra kalan aktivitenin başlangıçtaki enzim aktivitesine oranını belirtmektedir. Her ölçüm için  $\ln(E/E^o)$  değerlerinin zamana bağlı değişim grafikleri doğrusal regresyon eğrisi kullanılarak genotiplere ait ısıya dayanıklılık, termostabilite sabitleri ( $k_D$ ) belirlenmiştir. Ölçümler, yanlı olmaması için genotipler önceden belirlenmemiş, her grupta 10 birey olmak üzere 4 grupta toplam 40 bireyde yapıldıktan sonra genotipleri belirlenmiş (21 heterozigot, 19 homozigot) ve t-test ile analiz edilmiştir.

## VERİ ANALİZİ

Gözlenen alel ve genotip frekansları, heterozigotluk düzeyleri POPGENE programı ile hesaplanmış (YEH ve ark, 2000), genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterip göstermediği G-test ile test edilmiştir. Biyokimyasal ölçümler, enzim aktivitesi, glikojen ortalamaları ve ısıya dayanıklılık, eşleşmemiş iki yönlü t-test ile karşılaştırılmıştır. Enzim aktivitesi ile glikojen düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığı Spearman test ile saptanmıştır (SOKAL & Rohlf, 1995).

## BULGULAR

### ALLOZİM ANALİZİ

Laboratuvarımızda sürdürülen diğer araştırmalar için örnek alınırken destek bulunabildiği takdirde Pgm çalışması yapılabileceği öngörüsü ile 2005 Ekim ayından itibaren alınan Kırklareli arı örnekleri bulunmakta ve – 80 °C derin dondurucuda saklanmakta olduğundan, bu yöre balarılarında Pgm lokusundaki gen ve genotip frekanslarının değişim döngüsü daha uzun bir süre (32 ay) gözlemlenebilmiştir (Tablo 1-2 ve Şekil 1-2.).

Alel frekanslarının aylara göre değişimini takip ettiğimizde Pgm-75 ve Pgm-100 alellerinin frekanslarının Ocak, Şubat, Mart aylarında 0.5 civarındayken Nisan ayında Pgm 75 in frekansının yükselmeye başlayarak Ağustos’ta en yüksek değeri (0.95) aldığını ve Eylül’de ani bir düşüslle 0.61 değerine ulaştığı, takip eden üç ayda daha da düşerek, Mart ayına kadar 0.50 civarında kaldığı sonra tekrar Nisan, Mayıs, Haziran’da yükselerek 0.89 a kadar çıktığı ancak Hk lokusunda alel frekanslarının yıl boyunca değişim göstermediği görülmektedir (Tablo 1-2 ve Şekil 1-2).

Pgm 75/100 genotip frekansı da sonbahar mevsiminde Eylül ve Ekim aylarından itibaren hızlı bir şekilde artmaya başlamakta özellikle Ocak, Şubat ve Mart aylarında 0.9 ve üzeri değerlere ulaşmaktadır. Ancak Mart ayından Nisan ayına geçiş sırasında hızlı bir düşüş ile 0.32 değerine düşerek takip eden aylarda ve özellikle Temmuz ve Ağustos aylarında en düşük değerlere ulaşmaktadır. Pgm 75/75 homozigot bireylerin genotip frekansları ise Pgm 75/100 heterozigot bireylerinin genotip frekansı değişiminin tam tersi yönündedir.

Kırklareli populasyonunda genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı G-test ile sınanmış ve kış aylarında Pgm genotip frekanslarının önemli ( $P < 0.0001$ ) sapma gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2.).

*Pgm-75/75* ve *Pgm-75/100* genotiplerinin yanı sıra frekansları çok düşük olan nadir genotiplerin (*Pgm- 100/100*, *Pgm- 65/75*, *Pgm- 65/100*, *Pgm- 75/110*) frekansları Tablo 3'te verilmektedir.

G-test sonuçlarına göre, Hk lokusunda genotip frekansları, örnekleme zamanına bağlı olmayıp Hardy-Weinberg dengesindedir. Pgm lokusundan farklı olarak Hk lokusunda mevsimlere bağlı bir değişiklik gözlemlenmemiş gen ve genotip frekanslarındaki değişiklikler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 4.).

Artvin ve Hatay populasyonlarında da Pgm gen ve genotip frekanslarının aylara bağlı olarak değişimi benzer bir çizgi göstermekte kıştan bahara geçişlerde Pgm 75/100 genotip frekansı hızlı bir şekilde düşmeye başlayarak yaz aylarında en düşük değerlere inmektedir. Bunun tam aksine, Pgm-75/75 genotip frekansının ise Mart ayından Nisan ayına geçişle birlikte artmaya başladığı özellikle Temmuz ve Ağustos aylarında 0.9 ve üzeri değerlere ulaşarak en yüksek seviyelere vardığı ve tekrar sonbaharın gelmesiyle birlikte Eylül ayında Pgm 75/75 frekansının 0.2-0.3 civarı değerlere kadar düştüğü, bazı Pgm genotip frekanslarının ise çok düşük olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 5-12 ve Şekil 3-6).

Her üç populasyon için Pgm ve Hk lokuslarında aylara göre beklenen ve gözlemlenen heterozigotluk değerleri Tablo 13-15'te ayrı ayrı verilmiştir. Her üç bölgede de Pgm lokusunda heterozigotluk düzeyi mevsimlere bağlı olarak değişim gösterirken, Hk lokusunda önemli bir değişiklik olmadığı görülmektedir.

## **PROTEİN ANALİZİ**

Yaz ve kış örneklerinde gruplara ait protein miktarları, ortalama ve standart sapmaları ile verilmiş olup analizler MINITAB programı kullanılarak yapılmıştır (Tablo 16-18). Protein miktarlarının farklı genotiplerde t-test kullanılarak karşılaştırılması sonucu heterozigot ve homozigot bireyler arasında protein miktarı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 19). Heterozigot ve homozigot bireylerin protein miktarlarının ortalama protein miktarına göre dağılımı Şekil 7'de görülmektedir.

## **ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMLERİ**

Rastgele alınan yaz ve kış örneklerinde yanlı ölçümü önlemek amacıyla önce PGM enzim aktivitesi onar bireyden oluşan altı grupta ölçülmüş daha sonra bu bireylerin genotipleri saptanmıştır (Tablo 20-25). Aktivite ölçümleri daha sonra Pgm-75/75 ve Pgm-75/100 genotiplerine göre gruplandırılmış

ve aktivite düzeyleri bakımından t-test ile karşılaştırılmış (Tablo 26) ve heterozigot bireylerin enzim aktivitesinin homozigotlara göre önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.0001$ ). Heterozigot ve homozigot bireylerin PGM enzim aktivitelerinin ortalama aktiviteye göre dağılımı Şekil 8’de görülmektedir.

## **GLİKOJEN ÖLÇÜMLERİ**

Aktivite ölçümlerindeki yaklaşımla yaz ve kış örneklerinden toplam 60 bireyin glikojen miktarları 10ar bireylik 6 farklı grupta ölçüldükten sonra genotipleri belirlenmiştir (Tablo 27-29). Heterozigot (Pgm-75/100) ve homozigot (Pgm-75/75) bireyler iki gruba ayrılarak glikojen içeriklerinde fark olup olmadığının belirlenmesi için t-test uygulanmıştır (Tablo 30). Heterozigot bireylerde glikojen miktarının homozigotlardan önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.0001$ ) Heterozigot ve homozigot bireylerin glikojen miktarlarının ortalama glikojen miktarına göre dağılımı Şekil 9’de görülmektedir.

## **ENZİM AKTİVİTESİ ile GLİKOJEN MİKTARI İLİŞKİSİ**

Enzim aktivitesi ve glikojen miktarı Pgm-75/100 genotipli bireylerde Pgm-75/75 genotipli bireylere göre anlamlı ölçüde yüksektir ( $P < 0.0001$ ). Ayrıca her iki grup için yapılan analizler sonunda PGM aktivitesi ve glikojen miktarı arasında güçlü bir korrelasyon olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.0001$ ). Analizi yapılan örneklerin enzim aktivitesi ve glikojen miktarına göre dağılımları Şekil 10 ve Şekil 11’de gösterilmektedir.

## **ISIYA DAYANIKLILIK (TERMOSTABİLİTE) ÖLÇÜMLERİ**

Birinci dereceden enzim ısı bozunum hız sabiti  $k$ ’nın birimi literatürle uyumlu olması bakımından [ $\text{min}^{-1}$ ] olarak verilmektedir (Tablo 31-34). Termostabilite sabiti ( $k_D$ ) değerinin büyük olması PGM enzim aktivitesinin yüksek sıcaklık değerlerine ( $50^\circ\text{C}$ ) daha duyarlı olduğunu ve daha hızlı denatüre olduğunu ifade etmektedir. Daha düşük sıcaklıklarda ( $35, 40, 45^\circ\text{C}$ ) yapılan ölçümlerde genotiplerin ısıya dayanıklılık değerlerinin 15 dakika boyunca önemli bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca  $55^\circ\text{C}$  de her iki genotipte de enzim aktivitesinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. On bireylik dört grupta  $50^\circ\text{C}$ ’de yapılan ölçümlerin aktivite-zaman grafikleri Şekil 12-15’te birey bazında, Şekil 16’da ise heterozigot ve homozigot ortalamaları ile verilmektedir. Bu ölçümlerle enzimin ısıya dayanıklılığının aktivite ile ilişkili olmadığı ve aktiviteleri birbirinden farklı olan homozigot ve heterozigot bireyler arasında enzimin ısıya dayanıklılığı bakımından önemli bir fark olmadığı t-test ile de belirlenmiştir ( $P=0.8879$ ,  $t=0.1419$ ,  $df=38$ ).

## TARTIŞMA

Bu çalışma üç farklı bölgede bulunan bal arısı ırklarının Pgm lokusundaki mevsimsel değişikliğin yıl boyunca yapılan analizlerle araştırıldığı ve biyokimyasal sonuçlarının değerlendirildiği ilk çalışmadır. Her üç ırkta her ay yapılan düzenli örneklemeler ve tüm yıl boyunca devam ettirilen allozim genotipi analizleri sonucunda Pgm lokusunda gen ve genotip frekanslarının mevsimlere bağlı değişiklikler gösterdiği, kontrol olarak çalışılan Hk lokusunda ise zamana bağlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada farklı ekolojik ortamlara uyum sağlamış olan üç ırkın da (*A. m. carcica*, *A. m. caucasica*, *A. m. syrica*) Pgm gen ve genotip frekanslarının mevsimlere bağlı benzer iniş ve çıkışlar gösterdiği belirlenmiştir. Her üç bölgede de Eylül ayı ile birlikte artmaya başlayan Pgm-75/100 frekansının kış mevsimi boyunca yüksek frekanslarda (üç bölgede de ortalama 0.92-0.95) olduğu, ilkbaharla birlikte düştüğü ve bu düşüşle birlikte Pgm-75/75 frekansının artmaya başlayarak yaz mevsimi boyunca Pgm-75/75 frekansının yüksek olduğu (ortalama 0.86-0.90) gözlenmiştir. Pgm lokusundaki genotiplerin mevsimlere bağlı olarak önemli farklılıklar göstermesi kış örneklerinde genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinden önemli sapmalar göstermesini de açıklamaktadır ( $P < 0.001$ ).

Enzim lokuslarındaki mevsimsel değişikliklerin araştırıldığı bir çok çalışma, örnek sayısının az olması nedeniyle eleştirilmiş ve elde edilen sonuçların yetersiz örneklemeden dolayı rastlantısal sonuçlar olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Bu çalışmada her üç ırkta uzun süreli düzenli örneklemeler üzerinde analiz yapılmış ve toplam 3320 bireyin genotipi belirlenmiştir. Elde edilen veriler Hk lokusunun tersine Pgm lokusunda gen ve genotip frekanslarının yıl boyunca mevsimlere bağlı olarak değiştiğini açıkça ortaya koymaktadır. Genetik çeşitliliğin ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmaların birçoğunda allozim analizleri kullanılmakta ancak farklı coğrafi bölgelerden yapılan örneklemeler, enzim lokuslarındaki olası mevsimsel değişiklikleri dikkate almamaktadır. Coğrafi koşulların yanı sıra örnekleme zamanının da bu çalışmalardan alınacak sonuçları etkileyebileceği görülmektedir. Örneğin Pgm lokusu için, kış mevsiminde yapılacak örnekleme popülasyonun heterozigotluk düzeyinin olduğundan daha yüksek belirlenmesine ya da yaz mevsiminde yapılan örnekleme sonucu daha düşük heterozigotluk değerleri elde edilmesine neden olabilir. Pgm lokusundaki gen ve genotip frekanslarındaki bu tür değişiklikler balarısı dışında farklı bir organizmada da gerçekleşiyor olabilir. Ayrıca Pgm lokusu dışında, enerji metabolizmasında düzenleyici görevi olan diğer enzimlerde de benzer mevsimsel değişikliklerin olup olmadığı henüz araştırılmamıştır. Bu tür genotip frekansı değişiklikleri, özellikle popülasyon genetiği alanında allozim analizlerinin kullanıldığı çalışmalar tarafından dikkate alınmalı ve örnekleme zamanının sonuçları değiştirebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Pgm enziminin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin farklı taksonomik gruplardaki türler arasında korunmuş olması, elde edilecek sonuçların daha geniş bir çerçevede değerlendirilebileceğine işaret etmektedir.

Çalışmamız enzim lokuslarındaki çeşitliliğin balarılarının fizyolojik performansı ile ilişkilendirildiği ilk çalışmadır. Farklı Pgm genotiplerinin enzim aktivitesinin karşılaştırılması kışın frekansı yüksek olan heterozigot bireylerde enzim aktivitesinin homozigot bireylere göre önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermiştir ( $P < 0.0001$ ). Ayrıca enzim aktivitesinin yanı sıra yaz ve kış arılarının glikojen miktarı bakımından da önemli ölçüde farklı olduğu belirlenmiştir. Glikojen miktarı enzim aktivitesi daha yüksek olan heterozigot bireylerde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $P < 0.0001$ ). Homozigotlardaki protein-glikojen korrelasyonunda görülen çatlamanın anlamlı olduğu düşünülmektedir; ölçümlerin standard hatasının büyük olmasının homozigotlarda daha çok varyasyon olduğuna işaret ettiği görülmektedir.

PGM enzimi glikolitik zincirin başlarında yer almakta ve enerji metabolizmasını düzenleyen tepkime zincirinin çift yönlü olan bu basamağında, organizmalarda karbonhidrat depolanmasını ya da yıkımını, glikojen sentezi ya da parçalanması yoluyla etkileyerek karbonhidrat metabolizmasında düzenleyici rol oynamaktadır. Çalışmamızdan elde edilen veriler Pgm lokusundaki genetik çeşitliliğin enzimin biyokimyasal ve katalitik özelliklerinin değişmesine yol açtığı ve böylece enerji metabolizmasını etkilediğini göstermektedir.

Glikojen balarılar için başlıca enerji kaynağını oluşturmaktadır. Kış kolonilerinde Pgm heterozigot bireylerin frekanslarının yüksek olması ve bunlarda enzim aktivitesinin yüksek olması glikojen depolarının daha etkin bir şekilde kullanılmasını sağlıyor olabilir. Her iki genotipte enzimin ısıya dayanıklılığı bakımından anlamlı bir fark bulunmama ile birlikte yüksek enzim aktivitesi ve glikojen düzeyi kış arılarının uzun ömürlü olmalarının temel mekanizması olabilir. Böylece Pgm heterozigotlarının fizyolojik avantajı termoregulasyon sırasında ısı üretimi ve yavru yapılmayan kış kolonilerinde kışlama başarısını arttırarak yaşamsal önem arz etmektedir. MATILLA & Otis (2007) kış ve yaz arılarının farklı ömür uzunluklarının çok önemli bir özellik olduğunu ve kış arılarının yaz arılarına kıyasla uzun ömürlü olmalarının kışın yavru yapılmayan koloninin kışın yaşayabilmelerini garanti etmekte olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bazı araştırmalar ise, kış arılarının uzun ömürlü olmalarının kovan içi aktivite sürelerinin uzun olması ile ilişkili olduğunu ve yaz arılarının kısa ömürlü olmalarının da uzun uçuş periyodlarının sonucu olduğunu göstermiştir (NEUKIRCH, 1982). Düşük glikojen düzeyleri ve sentezinin besin toplama sırasında çok fazla enerji harcamaları nedeniyle işçi arıların ölüm düzeylerini arttırdığı bulunmuştur. Bununla birlikte, kovan içinde kış kümeleri oluşturmalarının metabolik maliyetinin besin toplama uçuşlarının metabolik maliyeti ile benzer olduğunu bildiren çalışmalar vardır (PANZENBOCK & Crailsheim, 1997). Buna göre kış arılarının yüksek glikojen içermelerinin ve daha uzun ömürlü olmalarının başka nedenleri de olduğu düşünülebilir.

Araştırmamız sırasında yaptığımız bir ön denemede yaz aylarında kovan içinden alınan işçi arılar arasında homozigotların çoğunlukta, oysa dışarıda besin toplamak için uçanlar arasında heterozigotların çoğunlukta olduğu gözlenmiştir. Bu gözlem kovan-içi görevler için besin toplama uçuşları için olduğu kadar enerji gerekeceğini göstermektedir. Bunun olası yararı bir sosyal yaşamda iş bölümü ve göreve ve gereksinime göre besin paylaşımının en iyi şekilde yapılabilmesidir. Daha düşük enzim aktivitesine sahip homozigotların yaz aylarında frekanslarının yüksek olmasına açıklama sağlayacak bu gözlemin desteklenmesi amacıyla daha geniş kapsamlı araştırılması planlanmaktadır.

Pgm alel ve genotip frekanslarının mevsimsel değişimini açıklamak için bazı hipotezler oluşturulabilir. Bir hipotez Pgm lokusunun “heat-shock” protein üreten genlerle bağlantılı olduğu ve sıcaklık değişikliklerine tolerans sağladığı: NEANGARDER ve ark., (2003) dağ yaprak böceğinde Pgi lokusu ile böyle bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir. Pgi genotipleri arasında işlevsel ve fizyolojik farklılıklara yol açan “heat-shock” protein ekspresyon profilleri ile Pgi arasında böyle bir bağlantı saptamışlardır (DAHLHOFF & Rank, 2000). Benzer şekilde, bal arılarında Pgm genotip frekanslarındaki mevsimsel değişimler, sıcaklık değişmelerine yanıt olarak farklı Pgm alellerinin ekspresyonunu kontrol eden regülatör gen lokusunda farklı ekspresyonun sonucu olabilir. Kış ve yaz koşullarında regülatör lokusunun aktivasyonu ve etkisizleştirilmesi benzer Pgm alel frekanslarının mevsimsel azalış artmasının nedeni olabilir. Böylece Pgm lokusunda gözlediğimiz allozim farklılıkları sadece farklı gen ekspresyonunun yansıması olabilir.

Bir diğer hipotez, kış mevsimi öncesinde homozigot işçilerin heterozigotlar tarafından öldürülüyor olma durumudur. Pgm homozigotlar kışın heterozigot bireylere göre daha fazla bal tüketiyor



olabilirler. Kolonideki bal miktarı kışın koloninin yaşayabilmesi için çok önemlidir ve Pgm homozigot larvaların heterozigot erginler tarafından kanibalizmi, depolanan balın daha etkin tüketimi için kışın yaşayabilmesini garantilemek için uygulanan bir strateji olabilir.

Sosyal böceklerde genotiplerin fenotipik değerlendirme ve bunu takiben istenmeyen genotiplerin yok edilmesi mekanizmalarına örnekler vardır. Diploid erkek arı larvalarının işçi arılar tarafından öldürülerek yenmesi bazı araştırmalarla belirlenmiştir (WOYKE, 1963; 1976; SCHMICKL & Crailsheim, 2001). Aynı zamanda işçi arıların kanibalizm davranışlarının polen ve nektar bulunabilirliği gibi çevresel faktörler, hava durumları ve koloni içi koşullar tarafından etkilendiği bildirilmiştir (SCHMICKL & Crailsheim, 2002). Sonbaharda Eylül ayında, hava sıcaklığının düşüşü ve besin kaynaklarında azalma, yavru yapılmayan kış dönemine girerken homozigotların heterozigot işçi arılar tarafından kanibalizmini tetikleyebilir.

## SONUÇ

Glikolitik tepkime zincirinde görevli iki enzim, Pgm ve Hk allozim ve genotip frekansları uzun süre (bir yıldan fazla) balarılarında izlenmiş ve Pgm genotip frekanslarının mevsimsel farklılık gösterdiği Pgm75/Pgm100 heterozigotların kış aylarında çok yüksek, yaz aylarında düşük olduğu, Hk genotip frekanslarında ise mevsimlere bağlı değişim olmadığı saptanmıştır. Heterozigotlarda homozigotlara kıyasla yüksek enzim aktivitesi ve glikojen düzeyleri ölçülmüş ve bu iki parametre arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Isıya dayanıklılık bakımından ise farklılık gözlenmemiştir.

Balarılarında gözlediğimiz bu ilginç olgunun genetik, biyokimyasal, fizyolojik ve davranış mekanizmalarının ve bunların enerji metabolizmasıyla ilişkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için araştırmalar yapılması gerekmektedir. Kış ve yaz arılarında Pgm genotip frekanslarındaki değişimden sorumlu moleküler mekanizmaların anlaşılması için Pgm lokusundaki gen ifade profillerinin analizi önemli bilgi sağlayacaktır.

Sosyal ilişkileri ve iş bölümünü düzenlemede bazı feromonların rol oynadığı bilinmektedir (LE CONTE ve ark., 2001). Mevsimsel Pgm genotip frekans değişiminde bazı feromonların etkili olabileceği varsayımını da araştırmak yerinde olacaktır.

Farklı gelişim evrelerinde, yumurta, larva, pupa, Pgm genotip saptanması ile hangi evrede bu değişimin gerçekleştiği gözlenebilecektir. Aynı substratı paylaşan diğer enzimlerin, Pgi, G6PD, de çalışılarak genotip frekanslarının mevsimsel döngü gösterip göstermediklerinin anlaşılması için bu yönde de araştırma yapılmalıdır.

Öte yandan gözlem kovanları kurularak bir kanibalizm davranışının olup olmadığı, var ise hangi evrede olduğunun izlenmesi mevsimsel Pgm değişiminin aydınlatılmasına önemli katkılar yapacaktır.

## REFERANSLAR

ALLENDORF F. W., Leary R. F., Heterozygosity and fitness in natural populations of animals. In: Conservation Biology: the Science of Scarcity and Diversity, ed: Soul M.E., Sinauer Associates, Inc., New York, (1986). Pp:57-76.

BRADFORD M.M., Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72:248-254, (1976).

DAHLHOFF E. P., Rank N. E., Functional and physiological consequences of genetic variation at phosphoglucose isomerase: heat shock protein expression is related to enzyme genotype in a montane beetle, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97: 10056–10061, (2000).

DAVID P., Heterozygosity-fitness correlations: new perspectives on old problems, *Heredity* 80: 531-537, (1998).

DIMICHELE L., Paynter K. T., Powers, D. A., 1991. Evidence of lactate dehydrogenase-B allozyme effects in the teleost, *Fundulus heteroclitus*, *Science* 253, 898–900, (1991).

EANES W.F., Analysis of selection on enzyme polymorphisms, *Annu.Rev.Ecol. Syst.* 1999.30:301-26, (1999).

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations Organization, FAO Statistics, Internet; <http://www.fao.org>, (1980).

FEDER M.E., Watt W.B., Functional biology of adaptation, *Genes in Ecology* (eds R.J. Berry, T.J. Crawford & G.M., (1993).

GAFNEY P.M., Enzyme heterozygosity, growth rate, and viability in *Mytilus edulis*: another look, *Evolution* 44: 204-210, (1990).

GOULSON D., Allozyme variation in the butterfly, *Maniola jurtina* (Lepidoptera:SatyrineL.). Evidence for selection, *Heredity* 71:386-393, (1993).

HADIMOGULLARI N., Kence A., Kence M., Seasonal Variation in PGM heterozygosity in honeybees (*Apis mellifera* L.), XIX. Int. Congress of Genetics, Melbourne-Australia, (2003) pp:126.

HANDFORD P., Heterozygosity at enzyme loci and morphological variation, *Nature* 286: 261–262, (1980).

HANSON K.R., McHale N.A., A starchless mutant of *Nicotiana glauca* containing a modified plastid phosphoglucose mutase, *Plant Physiol.* 88: 838–844, (1988).

HIROSE M., Sugimoto E., Sasaki R., Chiba H., Crystallization and reaction mechanism of yeast phosphoglucose mutase, *J.Biochem.* 68:449-457, (1970).

IVANOVA E., Ivgin Tunca R., Kence M., Kence A., Genetic variability in honeybee populations from Bulgaria and Turkey, 1st European Conference of Apidology, Udine-Italy, (2004) p:45.

- KANDEMİR İ., Kence M., Kence A., Genetic and morphometric variation in honeybee (*A. mellifera* L.) populations of Turkey, *Apidologie* 31, 343-356, (2000).
- KENCE M., Kence A., Kandemir İ., Türkiye'deki bal arısı (*Apis mellifera* L.) ırklarının karakterizasyonu ve korunması, TÜBİTAK VHAG-1077 Proje Sonuç Raporu, p.59, Ankara (1998).
- KOEHN R.K., Newell R.I.E., Immermann F., Maintenance of an Aminopeptidase Allele Frequency Cline by Natural Selection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77(9), 5385-5389, (1980).
- KOEHN R.K., Gaffney P.M., Genetic heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*, *Mar. Biol.* 82, 1-7, (1984).
- LE CONTE Y., Mohammedi A., Robinson G. E., Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development, *Proc. R. Soc. Lond., B Biol. Sci.* 268:163-168 (2001).
- LEIGH BROWN A.J., Physiological correlates of enzyme polymorphism, *Nature* 269:803-804, (1977).
- MARTINEZ P., Belcari P., Sanjuan A., Guerra A., Allozyme analysis of geographical and seasonal variation of *Illex coindetii* (Cephalopoda:Ommastrephidae) from central Mediterranean and Iberian Atlantic, *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 85(1):177-184, (2005).
- MATILLA H.R., Otis G.W., Dwindling pollen resources trigger the transition to broodless populations of long-lived honeybees each autumn, *Ecol. Entomol.* 32:496-505, (2007).
- McDONALD J. H., Starch gel Electrophoresis for the masses; no bad gels, Dept. Ecology & Evolution, State of University of New York at Stony Brook, NY
- MESSIER S., Mitton J.B., Heterozygosity at the malate dehydrogenase locus and developmental homeostasis in *Apis mellifera*, *Heredity* 76:616-622, (1996).
- MITTON J.B., Enzyme heterozygosity, metabolism, and developmental stability, *Genetica* 89:47-65, (1993).
- MITTON, J.F., Selection in natural populations, Oxford University Press Inc., (1997). Pp:240.
- MITTON J.B., Koehn R.K., Genetic organization and adaptive response of allozymes to ecological variables in *Fundulus heteroclitus*, *Genetics* 79:97-111, (1975).
- NEANGARDER G. G., Dahlhoff E. P., Rank N. E., Variation in thermal tolerance and HSP70 expression is linked to phosphoglucose isomerase genotype in a montane leaf beetle, *Functional Ecology* 17:213-221, (2003).
- NEUKIRCH A., Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifera* L.) upon flight performance and energy consumption, *J. Comp. Physiol. B* 146:34-40, (1982).

- OOSTERMEIJER J.G.B., van Eijck M.W., van Leeuwen N.C., den Nijs J.C.M., Analysis of the relationship between allozyme heterozygosity and fitness in the rare *Gentiana pneumonanthe* L., *J. Evol. Biol.* 8(6):739-759, (1995).
- PANZENBOCK U., Crailsheim K., Glycogen in honeybee queens, workers and drones (*Apis mellifera carnica*), *J. Insect Physiol.* 43:155-165, (1997).
- RAY Jr. W.J., Roscelli G.A., A kinetic study of the phosphoglucumutase pathway, *J.Biol. Chem.*239:1228-1236, (1964).
- SCHMICKL T., Crailsheim K., Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages, *J. Comp. Physiol. A* . 187 :541 – 547, (2001).
- SCHMICKL T and Crailsheim K., How honeybees (*Apis mellifera* L.) change their broodcare behaviour in response to non-foraging conditions and poor pollen conditions, *Behav Ecol Sociobiol.* 51:415–425, (2002).
- SHAW C. R. and Prasad, R., Starch gel electrophoresis of enzymes- a compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4: 297-320, (1970).
- SOKAL R.R., Rohlf F.J., *Biometry, The Principles and Practices of Statistics in Biological Research*, 3. baskı, W. H. Freeman, (1995) Pp:880.
- SUGIE H., Kobayashi J., Sugie Y., Ichimura M., Miyamoto R., et al., Infantile muscle glycogen-storage disease: phosphoglucumutase deficiency with decreased muscle and serum carnitine levels, *Neurology* 38: 602–605, (1988).
- VERRELLI B.C., Eanes, W., Extensive amino acid polymorphism at the PGM locus is consistent with adaptive protein evolution in *Drosophila melanogaster*, *Genetics* 156:1737-1752, (2000).
- VERRELLI B.C., Eanes W., The functional impact of PGM amino acid polymorphism on glycogen content in *Drosophila melanogaster*, *Genetics* 159: 201-210, (2001a).
- VERRELLI B.C., Eanes W., Clinal variation for amino acid polymorphisms at the Pgm locus in *Drosophila melanogaster*, *Genetics* 159 (1): 201-210, (2001b).
- VOET D., Voet J., *Biochemistry*, 3rd Edition. Wiley, New York., (2004). Pp:1196.
- WARD P.I., Jann P., Blanckenhorn U., Temperature-mediated seasonal variation in phosphoglucumutase allozyme frequency in the yellow dung fly, *Scathophaga stercoraria*, *Mol. Ecol.* 13:3213-3218, (2004).
- WATT W.B., Adaptation at specific loci I. Natural selection on phosphoglucose isomerase of *Colias* butterflies: biochemical and population aspects, *Genetics* 87: 177-194, (1977).
- WATT W.B., Adaptation at specific loci II. Demographic and biochemical elements in the maintenance of the *Colias* PGI polymorphism, *Genetics* 103:691-724, (1983).

WATT W.B., Carter P.A., Blower S.M., Adaptation at specific loci. IV. Differential mating success among glycolytic allozyme genotypes of *Colias* butterflies, *Genetics* 109:157-175, (1985).

WATT W.B., Eggs, enzymes, and evolution: natural genetic variants change insect fecundity, *PNAS* 89: 10608-10612, (1992).

WOYKE J., What happens to diploid drone larvae in a honeybee colony, *J. Apic. Res.* 2(2):73-75, (1963).

WOYKE J., Cannibalism and Brood rearing efficiency in the honeybee, *J. Apic. Res.* 16(1):84-94, (1976).

YEH, F. C., Yang, R., Boyle, T. J., Ye, Z., and Xiyan, J. M., PopGene 32, Microsoft Windows based freeware for population. Genetic analysis, version 1.32, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, (2000).

ALEL FREKANSLARI						
Örnekleme zamanı (n=50 / ay)	<i>Pgm- 75</i>	<i>Pgm- 100</i>	<i>Pgm- 65</i>	<i>Pgm- 110</i>	<i>Hk- 100</i>	<i>Hk- 87</i>
Ekim '05	0.64	0.35	0.01	0.00	0.95	0.05
Kasım '05	0.59	0.39	0.00	0.02	0.94	0.06
Aralık '05	0.56	0.42	0.02	0.00	0.93	0.07
Ocak '06	0.52	0.48	0.00	0.00	0.94	0.06
Şubat '06	0.52	0.48	0.00	0.00	0.95	0.05
Mart '06	0.51	0.49	0.00	0.00	0.92	0.08
Nisan '06	0.67	0.32	0.01	0.00	0.94	0.06
Mayıs'06	0.83	0.16	0.00	0.00	0.95	0.05
Haziran'06	0.91	0.08	0.00	0.01	0.95	0.05
Temmuz'06	0.93	0.07	0.00	0.00	0.92	0.08
Ağustos'06	0.95	0.05	0.00	0.00	0.94	0.06
Eylül '06	0.61	0.36	0.02	0.01	0.92	0.08
Kasım '06	0.61	0.37	0.01	0.01	0.93	0.07
Aralık '06	0.55	0.45	0.00	0.00	0.96	0.04
Ocak'07	0.53	0.46	0.01	0.00	0.95	0.05
Şubat '07	0.53	0.47	0.00	0.00	0.94	0.06
Mart'07	0.52	0.48	0.00	0.00	0.95	0.05
Nisan '07	0.70	0.28	0.02	0.00	0.96	0.04
Mayıs '07	0.81	0.18	0.01	0.00	0.93	0.07
Haziran '07	0.89	0.10	0.01	0.00	0.96	0.04
Temmuz'07	0.91	0.09	0.00	0.00	0.95	0.05
Agustos'07	0.96	0.04	0.00	0.00	0.92	0.08
Eylül '07	0.66	0.32	0.02	0.00	0.96	0.04
Ekim '07	0.63	0.36	0.01	0.00	0.94	0.06
Kasım '07	0.64	0.35	0.01	0.00	0.93	0.07
Aralık '07	0.56	0.44	0.00	0.00	0.95	0.05
Ocak'08	0.53	0.47	0.00	0.00	0.93	0.07
Şubat'08	0.53	0.47	0.00	0.00	0.92	0.08
Mart'08	0.51	0.49	0.00	0.00	0.94	0.06
Nisan'08	0.67	0.33	0.00	0.00	0.92	0.08
Mayıs'08	0.71	0.29	0.00	0.00	0.95	0.05
Haziran'08	0.76	0.24	0.00	0.00	0.96	0.04

Tablo 1. Kırklareli balarılarında (*A. m. carnica*) Pgm ve Hk alel frekansları

Örnekleme zamanı (n=50 / ay)	GENOTİP FREKANSLARI			
	<i>Pgm-75/100</i>	<i>Pgm-75/75</i>	$G^2$	<i>P</i>
Ekim '05	0.70	0.28	20.91	0.000
Kasım '05	0.78	0.18	30.69	0.000
Aralık '05	0.84	0.12	38.70	0.000
Ocak '06	0.92	0.06	41.47	0.000
Şubat '06	0.96	0.04	54.20	0.000
Mart '06	0.98	0.02	59.89	0.000
Nisan '06	0.60	0.36	9.34	0.025
Mayıs '06	0.32	0.66	3.30	0.347
Haziran '06	0.16	0.82	0.79	0.851
Temmuz '06	0.14	0.86	0.45	0.501
Ağustos '06	0.10	0.90	0.21	0.646
Eylül '06	0.70	0.24	22.74	0.000
Kasım '06	0.74	0.22	26.35	0.000
Aralık '06	0.86	0.12	31.03	0.000
Ocak '07	0.92	0.06	49.52	0.000
Şubat '07	0.94	0.06	49.52	0.000
Mart '07	0.96	0.04	54.20	0.000
Nisan '07	0.56	0.40	12.85	0.004
Mayıs '07	0.36	0.62	4.26	0.234
Haziran '07	0.2	0.78	1.23	0.743
Temmuz '07	0.18	0.82	0.79	0.373
Ağustos '07	0.08	0.92	0.12	0.723
Eylül '07	0.64	0.32	12.81	0.005
Ekim '07	0.72	0.26	22.60	0.000
Kasım '07	0.70	0.28	15.31	0.001
Aralık '07	0.88	0.12	38.70	0.000
Ocak '08	0.94	0.06	49.52	0.000
Şubat '08	0.94	0.06	49.52	0.000
Mart '08	0.98	0.02	59.89	0.000
Nisan '08	0.66	0.34	16.49	0.000
Mayıs '08	0.58	0.42	11.78	0.000
Haziran '08	0.48	0.52	4.74	0.029

Tablo 2. Kırklareli balarılarında (*A. m. carnica*) *Pgm-75/100* ve *Pgm-75/75* frekansları

Örnekleme zamanı (n=50 / ay)	GENOTİP FREKANSLARI			
	<i>Pgm- 100/100</i>	<i>Pgm- 65/75</i>	<i>Pgm- 65/100</i>	<i>Pgm- 75/110</i>
Ekim '05	0.00	0.02	0.00	0.00
Kasım '05	0.00	0.00	0.00	0.04
Aralık '05	0.00	0.04	0.00	0.00
Ocak '06	0.02	0.00	0.00	0.00
Şubat '06	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart '06	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan '06	0.02	0.02	0.00	0.00
Mayıs '06	0.00	0.02	0.00	0.00
Haziran '06	0.00	0.00	0.00	0.02
Temmuz '06	0.00	0.00	0.00	0.00
Ağustos '06	0.00	0.00	0.00	0.00
Eylül '06	0.00	0.02	0.02	0.02
Kasım '06	0.00	0.02	0.00	0.02
Aralık '06	0.02	0.00	0.00	0.00
Ocak '07	0.00	0.02	0.00	0.00
Şubat '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan '07	0.00	0.04	0.00	0.00
Mayıs '07	0.00	0.02	0.00	0.00
Haziran '07	0.00	0.02	0.00	0.00
Temmuz '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Ağustos '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Eylül '07	0.00	0.04	0.00	0.00
Ekim '07	0.00	0.02	0.00	0.00
Kasım '07	0.00	0.02	0.00	0.00
Aralık '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Ocak '08	0.00	0.00	0.00	0.00
Şubat '08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart '08	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan '08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mayıs '08	0.00	0.00	0.00	0.00
Haziran '08	0.00	0.00	0.00	0.00

Tablo 3. Kırklareli balarılarında (*A. m. carnica*) nadir Pgm genotip frekansları



Örnekleme zamanı (n=50 / ay)	GENOTİP FREKANSLARI		
	<i>Hk-100/100</i>	<i>Hk-87/100</i>	<i>P</i>
Ekim '05	0.90	0.10	0.6462
Kasım '05	0.88	0.12	0.5719
Aralık '05	0.86	0.14	0.5013
Ocak '06	0.88	0.12	0.5719
Şubat '06	0.90	0.10	0.6462
Mart '06	0.84	0.16	0.5669
Nisan '06	0.88	0.12	0.5719
Mayıs'06	0.88	0.12	0.5719
Haziran'06	0.90	0.10	0.6462
Temmuz'06	0.84	0.16	0.5669
Ağustos'06	0.88	0.12	0.5719
Eylül '06	0.84	0.16	0.5669
Kasım '06	0.86	0.14	0.5013
Aralık '06	0.92	0.08	0.7995
Ocak'07	0.90	0.10	0.6462
Şubat '07	0.88	0.12	0.5719
Mart'07	0.90	0.10	0.6462
Nisan '07	0.92	0.08	0.7995
Mayıs '07	0.86	0.14	0.5013
Haziran '07	0.92	0.08	0.7995
Temmuz'07	0.90	0.10	0.6462
Agustos'07	0.84	0.16	0.5669
Eylül '07	0.92	0.08	0.7995
Ekim '07	0.88	0.12	0.5719
Kasım '07	0.86	0.14	0.5013
Aralık '07	0.90	0.10	0.6462
Ocak'08	0.86	0.14	0.5013
Şubat'08	0.84	0.16	0.5669
Mart'08	0.88	0.12	0.5719
Nisan'08	0.84	0.16	0.5669
Mayıs'08	0.90	0.10	0.6462
Haziran'08	0.92	0.08	0.7995

Tablo 4. Kırklareli balarılarında (*A. m. carnica*) Hk genotip frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	ALEL FREKANSLARI					
	<i>Pgm-75</i>	<i>Pgm100</i>	<i>Pgm-65</i>	<i>Pgm-110</i>	<i>Hk-100</i>	<i>Hk-87</i>
Temmuz'06	0.96	0.04	0.00	0.00	0.925	0.075
Ağustos'06	0.98	0.02	0.00	0.00	0.9	0.1
Eylül '06	0.70	0.29	0.01	0.00	0.925	0.075
Kasım '06	0.59	0.40	0.01	0.00	0.95	0.05
Aralık '06	0.56	0.42	0.00	0.02	0.9	0.1
Ocak'07	0.46	0.54	0.00	0.00	0.925	0.075
Şubat '07	0.50	0.50	0.00	0.00	0.95	0.05
Mart'07	0.52	0.48	0.00	0.00	0.9	0.1
Nisan '07	0.59	0.40	0.01	0.00	0.925	0.075
Mayıs '07	0.70	0.29	0.00	0.01	0.95	0.05
Haziran '07	0.80	0.18	0.01	0.01	0.9	0.1
Temmuz'07	0.94	0.06	0.00	0.00	0.95	0.05
Ağustos'07	0.96	0.04	0.00	0.00	0.95	0.05
Eylül '07	0.70	0.29	0.01	0.00	0.925	0.075
Ekim '07	0.63	0.35	0.02	0.00	0.925	0.075
Kasım '07	0.57	0.42	0.00	0.01	0.90	0.1
Aralık '07	0.54	0.46	0.00	0.00	0.95	0.05
Ocak'08	0.55	0.45	0.00	0.00	0.925	0.075
Şubat'08	0.53	0.47	0.00	0.00	0.9	0.1
Mart'08	0.52	0.48	0.00	0.00	0.95	0.05
Nisan'08	0.70	0.30	0.00	0.00	0.925	0.075
Mayıs'08	0.73	0.27	0.00	0.00	0.925	0.075
Haziran'08	0.76	0.24	0.00	0.00	0.9	0.1

Tablo 5. Artvin balarılarında (*A. m. caucasica*) Pgm ve Hk alel frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	GENOTİP FREKANSLARI			
	<i>Pgm-75/100</i>	<i>Pgm-75/75</i>	$G^2$	<i>P</i>
Temmuz'06	0.075	0.925	0.077	0.780
Ağustos'06	0.05	0.95	0.025	0.872
Eylül '06	0.625	0.375	12.57	0.005
Kasım '06	0.8	0.175	24.88	0.000
Aralık '06	0.85	0.125	30.20	0.000
Ocak'07	0.9	0.1	25.97	0.000
Şubat '07	1.0	0.00	31.84	0.000
Mart'07	0.95	0.05	39.00	0.000
Nisan '07	0.8	0.175	15.36	0.001
Mayıs '07	0.575	0.4	10.19	0.016
Haziran '07	0.35	0.6	12.57	0.050
Temmuz'07	0.125	0.875	0.266	0.605
Ağustos'07	0.075	0.925	0.077	0.780
Eylül '07	0.575	0.4	10.19	0.016
Ekim '07	0.7	0.25	18.67	0.000
Kasım '07	0.85	0.125	30.20	0.000
Aralık '07	0.925	0.075	36.98	0.000
Ocak'08	0.9	0.1	33.36	0.000
Şubat'08	0.95	0.05	31.84	0.000
Mart'08	0.975	0.025	46.47	0.000
Nisan'08	0.6	0.4	10.19	0.001
Mayıs'08	0.525	0.475	7.28	0.006
Haziran'08	0.475	0.525	5.70	0.016

Tablo 6. Artvin balarılarında (*A. m. caucasica*) *Pgm-75/100* ve *Pgm-75/75* frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	GENOTİP FREKANSLARI			
	<i>Pgm-100/100</i>	<i>Pgm-65/75</i>	<i>Pgm-65/100</i>	<i>Pgm-75/110</i>
Temmuz'06	0.00	0.00	0.00	0.00
Ağustos'06	0.00	0.00	0.00	0.00
Eylül '06	0.00	0.025	0.00	0.00
Kasım '06	0.00	0.025	0.00	0.00
Aralık '06	0.00	0.00	0.00	0.025
Ocak'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Şubat '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan '07	0.00	0.025	0.00	0.00
Mayıs '07	0.00	0.00	0.00	0.025
Haziran '07	0.00	0.025	0.00	0.025
Temmuz'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Ağustos'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Eylül '07	0.00	0.025	0.00	0.00
Ekim '07	0.00	0.05	0.00	0.00
Kasım '07	0.00	0.00	0.00	0.025
Aralık '07	0.00	0.00	0.00	0.025
Ocak'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Şubat'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mayıs'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Haziran'08	0.00	0.00	0.00	0.00

Tablo 7. Artvin balarılarında (*A. m. caucasica*) nadir Pgm genotip frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	GENOTİP FREKANSLARI		
	<i>Hk-100/100</i>	<i>Hk-87/100</i>	<i>P</i>
Temmuz'06	0.85	0.15	0.780
Ağustos'06	0.8	0.2	0.670
Eylül '06	0.85	0.15	0.780
Kasım '06	0.9	0.1	0.869
Aralık '06	0.8	0.2	0.670
Ocak'07	0.85	0.15	0.780
Şubat '07	0.9	0.1	0.869
Mart'07	0.8	0.2	0.670
Nisan '07	0.85	0.15	0.780
Mayıs '07	0.9	0.1	0.869
Haziran '07	0.8	0.2	0.670
Temmuz'07	0.9	0.1	0.869
Ağustos'07	0.9	0.1	0.869
Eylül '07	0.85	0.15	0.780
Ekim '07	0.85	0.15	0.780
Kasım '07	0.8	0.2	0.670
Aralık '07	0.9	0.1	0.869
Ocak'08	0.85	0.15	0.780
Şubat'08	0.8	0.2	0.670
Mart'08	0.9	0.1	0.869
Nisan'08	0.85	0.15	0.780
Mayıs'08	0.85	0.15	0.780
Haziran'08	0.8	0.2	0.670

Tablo 8. Artvin balarılarında (*A. m. caucasica*) Hk genotip frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	ALEL FREKANSLARI					
	Pgm-75	Pgm-100	Pgm-65	Pgm-110	Hk-100	Hk-87
Kasım '06	0.60	0.40	0.00	0.00	0.90	0.10
Aralık '06	0.525	0.465	0.00	0.01	0.90	0.10
Ocak'07	0.525	0.475	0.00	0.00	0.875	0.125
Şubat '07	0.525	0.475	0.00	0.00	0.925	0.075
Mart'07	0.537	0.463	0.00	0.00	0.95	0.05
Nisan '07	0.80	0.19	0.01	0.00	0.90	0.10
Mayıs '07	0.83	0.15	0.00	0.02	0.925	0.075
Haziran '07	0.93	0.06	0.01	0.00	0.95	0.05
Temmuz'07	0.94	0.06	0.00	0.00	0.925	0.075
Agustos'07	0.96	0.04	0.00	0.00	0.925	0.075
Eylül '07	0.84	0.16	0.00	0.00	0.875	0.125
Ekim '07	0.84	0.16	0.00	0.00	0.90	0.10
Kasım '07	0.71	0.29	0.00	0.00	0.875	0.125
Aralık '07	0.62	0.38	0.00	0.00	0.95	0.05
Ocak'08	0.56	0.44	0.00	0.00	0.90	0.10
Şubat'08	0.53	0.47	0.00	0.00	0.95	0.05
Mart'08	0.55	0.45	0.00	0.00	0.875	0.125
Nisan'08	0.68	0.32	0.00	0.00	0.95	0.05
Mayıs'08	0.75	0.25	0.00	0.00	0.95	0.05
Haziran'08	0.78	0.22	0.00	0.00	0.90	0.10

Tablo 9. Hatay balarılarında (*A. m. syriaca*) Pgm ve Hk alel frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	GENOTİP FREKANSLARI			
	Pgm-75/100	Pgm-75/75	G <sup>2</sup>	P
Kasım '06	0.8	0.2	9.146	0.002
Aralık '06	0.9	0.075	28.76	0.000
Ocak'07	0.95	0.05	41.23	0.000
Şubat '07	0.95	0.05	41.23	0.000
Mart'07	0.925	0.075	36.98	0.000
Nisan '07	0.375	0.6	3.792	0.284
Mayıs '07	0.3	0.65	2.779	0.143
Haziran '07	0.125	0.85	0.405	0.939
Temmuz'07	0.125	0.875	0.266	0.605
Agustos'07	0.075	0.925	0.077	0.780
Eylül '07	0.325	0.675	2.344	0.125
Ekim '07	0.325	0.675	2.344	0.125
Kasım '07	0.575	0.425	9.146	0.002
Aralık '07	0.75	0.25	18.67	0.000
Ocak'08	0.875	0.125	30.20	0.000
Şubat'08	0.925	0.075	36.98	0.000
Mart'08	0.9	0.1	33.36	0.000
Nisan'08	0.625	0.375	11.33	0.000
Mayıs'08	0.5	0.5	6.46	0.011
Haziran'08	0.425	0.575	4.37	0.036

Tablo 10. Hatay balarılarında (*A. m. syriaca*) Pgm-75/100 ve Pgm-75/75 frekansları

GENOTİP FREKANSLARI				
Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	<i>Pgm</i> 100/100	<i>Pgm</i> 65/75	<i>Pgm</i> 65/100	<i>Pgm</i> 75/110
Kasım '06	0.00	0.00	0.00	0.00
Aralık '06	0.00	0.00	0.00	0.025
Ocak'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Şubat '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan '07	0.00	0.025	0.00	0.00
Mayıs '07	0.00	0.00	0.00	0.05
Haziran '07	0.00	0.025	0.00	0.00
Temmuz'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Agustos'07	0.00	0.00	0.00	0.00
Eylül '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Ekim '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Kasım '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Aralık '07	0.00	0.00	0.00	0.00
Ocak'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Şubat'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mart'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Nisan'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Mayıs'08	0.00	0.00	0.00	0.00
Haziran'08	0.00	0.00	0.00	0.00

Tablo 11. Hatay balarılarında (*A. m. syriaca*) nadir Pgm genotip frekansları

Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	GENOTİP FREKANSLARI		
	<i>Hk-100/100</i>	<i>Hk-87/100</i>	<i>P</i>
Kasım '06	0.8	0.2	0.670
Aralık '06	0.8	0.2	0.670
Ocak '07	0.75	0.25	0.645
Şubat '07	0.85	0.15	0.780
Mart'07	0.9	0.1	0.869
Nisan '07	0.8	0.2	0.670
Mayıs '07	0.85	0.15	0.780
Haziran '07	0.9	0.1	0.869
Temmuz'07	0.85	0.15	0.780
Agustos'07	0.85	0.15	0.780
Eylül '07	0.75	0.25	0.645
Ekim '07	0.8	0.2	0.670
Kasım '07	0.75	0.25	0.645
Aralık '07	0.9	0.1	0.869
Ocak'08	0.8	0.2	0.670
Şubat'08	0.9	0.1	0.869
Mart'08	0.75	0.25	0.645
Nisan'08	0.9	0.1	0.869
Mayıs'08	0.9	0.1	0.869
Haziran'08	0.8	0.2	0.670

Tablo 12. Hatay balarılarında (*A. m. syriaca*) Hk genotip frekansları



Örnekleme zamamı (n=50 /ay)	Gözlenen ve Beklenen heterozigotluk (H) değerleri			
	gözlenen H -Pgm-	Beklenen H -Pgm-	Gözlenen H -Hk-	Beklenen H -Hk-
Ekim '05	0.7200	0.4725	0.1000	0.0960
Kasım '05	0.8200	0.5044	0.1200	0.1139
Aralık '05	0.8800	0.5147	0.1400	0.1315
Ocak '06	0.9200	0.5042	0.1200	0.1139
Şubat '06	0.9600	0.5042	0.1000	0.0960
Mart '06	0.9800	0.5048	0.0800	0.0776
Nisan '06	0.6200	0.4531	0.1200	0.1139
Mayıs'06	0.3400	0.2883	0.1000	0.0960
Haziran'06	0.1800	0.1671	0.1000	0.0960
Temmuz'06	0.1400	0.1315	0.0800	0.0776
Ağustos'06	0.1000	0.0950	0.1200	0.1139
Eylül '06	0.7600	0.5028	0.0800	0.0776
Kasım '06	0.7800	0.4958	0.1400	0.1315
Aralık '06	0.8657	0.5469	0.1178	0.1096
Ocak'07	0.9400	0.5125	0.1000	0.0960
Şubat '07	0.9400	0.5032	0.1200	0.1139
Mart'07	0.9600	0.5042	0.1000	0.0960
Nisan '07	0.6000	0.4356	0.1178	0.1096
Mayıs '07	0.3800	0.3145	0.1400	0.1315
Haziran '07	0.1800	0.1671	0.1345	0.1278
Temmuz'07	0.1800	0.1655	0.1000	0.0960
Agustos'07	0.0800	0.0776	0.0800	0.0776
Eylül '07	0.6800	0.4663	0.1345	0.1278
Ekim '07	0.7400	0.4782	0.1200	0.1139
Kasım '07	0.7200	0.4725	0.1400	0.1315
Aralık '07	0.5022	0.4978	0.1178	0.1096
Ocak'08	0.4968	0.5032	0.1400	0.1315
Şubat'08	0.4968	0.5032	0.0800	0.0776
Mart'08	0.9800	0.5048	0.1200	0.1139
Nisan'08	0.6600	0.4467	0.0800	0.0776
Mayıs'08	0.5800	0.4160	0.1178	0.1096
Haziran'08	0.4800	0.3685	0.1345	0.1278

Tablo 13. Kırklareli popülasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri

Gözlenen ve Beklenen heterozigotluk (H) değerleri				
Örnekleme zamamı (n=40/ay)	Gözlenen H -Pgm-	Beklenen H -Pgm-	Gözlenen H -Hk-	Beklenen H -Hk-
Temmuz'06	0.0750	0.0731	0.0896	0.0783
Ağustos'06	0.0500	0.0494	0.0789	0.0659
Eylül '06	0.6500	0.4522	0.0896	0.0783
Kasım '06	0.7956	0.5275	0.1078	0.0965
Aralık '06	0.8250	0.5009	0.0789	0.0659
Ocak'07	0.8750	0.5092	0.0859	0.0732
Şubat '07	0.9000	0.5013	0.0789	0.0659
Mart'07	0.9500	0.5051	0.0789	0.0659
Nisan '07	0.7000	0.4693	0.0896	0.0783
Mayıs '07	0.6000	0.4326	0.1078	0.0965
Haziran '07	0.6500	0.4598	0.0789	0.0659
Temmuz'07	0.1250	0.1187	0.1078	0.0965
Ağustos'07	0.0750	0.0731	0.1078	0.0965
Eylül '07	0.6000	0.4326	0.0896	0.0783
Ekim '07	0.7500	0.4924	0.0896	0.0783
Kasım '07	0.8750	0.4984	0.0789	0.0659
Aralık '07	0.9250	0.5035	0.1078	0.0965
Ocak'08	0.9000	0.5013	0.0896	0.0783
Şubat'08	0.9500	0.5051	0.0789	0.0659
Mart'08	0.9750	0.5060	0.1078	0.0965
Nisan'08	0.6000	0.4253	0.0896	0.0783
Mayıs'08	0.5250	0.3921	0.0896	0.0783
Haziran'08	0.4750	0.3668	0.0789	0.0659

Tablo 14. Artvin popülasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri

Gözlemlenen ve Beklenen heterozigotluk (H) değerleri				
Örnekleme zamanı (n=40 /ay)	gözlenen H -Pgm-	Beklenen H -Pgm-	Gözlenen H -Hk-	Beklenen H -Hk-
Kasım '06	0.7546	0.7498	0.0789	0.0659
Aralık '06	0.7856	0.5603	0.0789	0.0659
Ocak'07	0.8000	0.4861	0.1267	0.1145
Şubat '07	0.9250	0.5149	0.0789	0.0659
Mart'07	0.9048	0.4563	0.0896	0.0783
Nisan '07	0.5845	0.5545	0.1078	0.0965
Mayıs '07	0.3243	0.2755	0.0789	0.0659
Haziran '07	0.1500	0.1403	0.0896	0.0896
Temmuz'07	0.1250	0.1187	0.0789	0.0659
Agustos'07	0.0750	0.0731	0.0789	0.0659
Eylül '07	0.3250	0.2756	0.1267	0.1145
Ekim '07	0.3250	0.2756	0.0789	0.0659
Kasım '07	0.5750	0.4149	0.1267	0.1145
Aralık '07	0.7500	0.4747	0.0896	0.0783
Ocak'08	0.8750	0.4984	0.1078	0.0965
Şubat'08	0.9250	0.5035	0.0896	0.0783
Mart'08	0.9000	0.5013	0.1267	0.1145
Nisan'08	0.6250	0.4351	0.0896	0.0783
Mayıs'08	0.5000	0.3797	0.0896	0.0783
Haziran'08	0.4250	0.3389	0.0789	0.0659

Tablo 15. Hatay populasyonunda Pgm ve Hk lokuslarındaki heterozigotluk düzeyleri

1.grup	Genotip	[Protein] mg/mL	2.grup	Genotip	[Protein] mg/mL
1	<i>Pgm 75/100</i>	8.1	1	<i>Pgm 75/100</i>	8.5
2	<i>Pgm 75/100</i>	7.03	2	<i>Pgm 75/100</i>	9.3
3	<i>Pgm 75/100</i>	6.9	3	<i>Pgm 75/100</i>	10.2
4	<i>Pgm 75/100</i>	10.5	4	<i>Pgm 75/100</i>	11.3
5	<i>Pgm 75/100</i>	9.8	5	<i>Pgm 75/100</i>	9.1
6	<i>Pgm 75/100</i>	8.9	6	<i>Pgm 75/100</i>	8.8
7	<i>Pgm 75/75</i>	9.5	7	<i>Pgm 75/100</i>	11.2
8	<i>Pgm 75/100</i>	11.3	8	<i>Pgm 75/100</i>	9.6
9	<i>Pgm 75/100</i>	9.2	9	<i>Pgm 75/100</i>	7.9
10	<i>Pgm 75/100</i>	10.6	10	<i>Pgm 75/100</i>	7.3
Ortalama= 9.18, SD= 1.48			Ortalama= 9.32, SD= 1.30		

Tablo 16. Kış örneklerinin protein miktarları ve genotipleri

3.grup	Genotip	[Protein] mg/mL	4.grup	Genotip	[Protein] mg/mL
1	<i>Pgm 75/75</i>	8.6	1	<i>Pgm 75/75</i>	7.5
2	<i>Pgm 75/75</i>	9.1	2	<i>Pgm 75/100</i>	9.8
3	<i>Pgm 75/75</i>	7.7	3	<i>Pgm 75/75</i>	10.2
4	<i>Pgm 75/75</i>	8.9	4	<i>Pgm 75/75</i>	10.6
5	<i>Pgm 75/100</i>	9.3	5	<i>Pgm 75/75</i>	11.3
6	<i>Pgm 75/75</i>	11.5	6	<i>Pgm 75/75</i>	9.5
7	<i>Pgm 75/75</i>	10.9	7	<i>Pgm 75/75</i>	8.9
8	<i>Pgm 75/75</i>	11.2	8	<i>Pgm 75/100</i>	9.2
9	<i>Pgm 75/75</i>	7.6	9	<i>Pgm 75/75</i>	10.7
10	<i>Pgm 75/75</i>	8.3	10	<i>Pgm 75/75</i>	12.1
Ortalama = 9.31, SD= 1.42			Ortalama = 9.68, SD= 1.30		

Tablo 17. Yaz örneklerinin protein miktarları ve genotipleri

5.grup	Genotip	[Protein] mg/mL	6.grup	Genotip	[Protein] mg/mL
1	<i>Pgm 75/100</i>	8.1	1	<i>Pgm 75/75</i>	7.7
2	<i>Pgm 75/100</i>	7.3	2	<i>Pgm 75/75</i>	10.3
3	<i>Pgm 75/100</i>	10.6	3	<i>Pgm 75/75</i>	11.2
4	<i>Pgm 75/100</i>	9	4	<i>Pgm 75/75</i>	6.4
5	<i>Pgm 75/100</i>	8.5	5	<i>Pgm 75/75</i>	7.4
6	<i>Pgm 75/100</i>	7.6	6	<i>Pgm 75/75</i>	8.6
7	<i>Pgm 75/100</i>	6.9	7	<i>Pgm 75/75</i>	9.3
8	<i>Pgm 75/100</i>	9.2	8	<i>Pgm 75/100</i>	6.5
9	<i>Pgm 75/100</i>	10.2	9	<i>Pgm 75/75</i>	7.9
10	<i>Pgm 75/75</i>	8.9	10	<i>Pgm 75/75</i>	8.8
Ortalama = 8.63, SD= 1.20			Ortalama =8.41, SD= 1.55		

Tablo 18. Yaz örneklerinin protein miktarları ve genotipleri

Grup	<i>Pgm-75/75</i>	<i>Pgm-75/100</i>
Ortalama	9.30	8.99
Standard sapma	1.49	1.36
Örnek sayısı	28	32

Tablo 19. *Pgm-75/75* ve *Pgm-75/100* bireylerinin protein miktarlarının t-test sonuçları (P = 0.398, t=0.8511, df=55)

Örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	25.27	3.12	<i>Pgm 75/100</i>
2	23.12	3.29	<i>Pgm 75/100</i>
3	20.83	3.02	<i>Pgm 75/100</i>
4	33.70	3.21	<i>Pgm 75/100</i>
5	29.20	2.98	<i>Pgm 75/100</i>
6	27.59	3.10	<i>Pgm 75/100</i>
7	19.28	2.03	<i>Pgm 75/75 *</i>
8	34.91	3.09	<i>Pgm 75/100</i>
9	31.00	3.37	<i>Pgm 75/100</i>
10	34.23	3.23	<i>Pgm 75/100</i>

Tablo 20. Kış örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (1.grup)

Örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	25.16	2.96	<i>Pgm 75/100</i>
2	28.73	3.09	<i>Pgm 75/100</i>
3	32.64	3.2	<i>Pgm 75/100</i>
4	36.047	3.19	<i>Pgm 75/100</i>
5	29.57	3.25	<i>Pgm 75/100</i>
6	25.60	2.91	<i>Pgm 75/100</i>
7	34.49	3.08	<i>Pgm 75/100</i>
8	31.39	3.27	<i>Pgm 75/100</i>
9	24.727	3.13	<i>Pgm 75/100</i>
10	25.98	3.56	<i>Pgm 75/100</i>

Tablo 21. Kış örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (2.grup)

örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	16.68	1.94	<i>Pgm 75/75</i>
2	16.92	1.86	<i>Pgm 75/75</i>
3	15.631	2.03	<i>Pgm 75/75</i>
4	16.91	1.9	<i>Pgm 75/75</i>
5	32.92	3.54	<i>Pgm 75/100 *</i>
6	21.275	1.85	<i>Pgm 75/75</i>
7	22.454	2.06	<i>Pgm 75/75</i>
8	21.39	1.91	<i>Pgm 75/75</i>
9	13.6	1.79	<i>Pgm 75/75</i>
10	16.09	1.93	<i>Pgm 75/75</i>

Tablo 22. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (3.grup)

Örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	15.52	2.07	<i>Pgm 75/75</i>
2	32.536	3.32	<i>Pgm 75/100 *</i>
3	19.73	1.97	<i>Pgm 75/75</i>
4	21.41	2.02	<i>Pgm 75/75</i>
5	20.56	1.82	<i>Pgm 75/75</i>
6	17.67	1.86	<i>Pgm 75/75</i>
7	18.69	2.1	<i>Pgm 75/75</i>
8	29.53	3.21	<i>Pgm 75/100 *</i>
9	21.93	2.05	<i>Pgm 75/75</i>
10	21.65	1.79	<i>Pgm 75/75</i>

Tablo 23. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (4.grup)

Örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	25.27	3.12	<i>Pgm 75/100</i>
2	22.55	3.09	<i>Pgm 75/100</i>
3	31.58	2.98	<i>Pgm 75/100</i>
4	28.89	3.21	<i>Pgm 75/100</i>
5	26.01	3.06	<i>Pgm 75/100</i>
6	21.96	2.89	<i>Pgm 75/100</i>
7	25.94	3.76	<i>Pgm 75/100</i>
8	31.64	3.44	<i>Pgm 75/100</i>
9	30.09	2.95	<i>Pgm 75/100</i>
10	16.82	1.89	<i>Pgm 75/75</i>

Tablo 24. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (5.grup)

Örnek	PGM aktivitesi (unite/mL)	PGM aktivitesi unite/mg protein	Genotip
1	14.70	1.91	<i>Pgm 75/75</i>
2	21.11	2.05	<i>Pgm 75/75</i>
3	23.63	2.11	<i>Pgm 75/75</i>
4	11.26	1.76	<i>Pgm 75/75</i>
5	13.24	1.79	<i>Pgm 75/75</i>
6	16.51	1.92	<i>Pgm 75/75</i>
7	17.39	1.87	<i>Pgm 75/75</i>
8	23.72	3.65	<i>Pgm 75/100</i>
9	15.32	1.94	<i>Pgm 75/75</i>
10	17.16	1.95	<i>Pgm 75/75</i>

Tablo 25. Yaz örneklerinin PGM enzim aktiviteleri ve genotipleri (6.grup)

Grup	<i>Pgm-75/75</i>	<i>Pgm-75/100</i>
Ortalama	1.935	3.196
Standard sapma	0.19	0.37
Örnek sayısı	28	32

Tablo 26. *Pgm-75/75* ve *Pgm-75/100* bireylerinin enzim aktivite t-test sonuçları ( $P < 0.0001$ ,  $t=28.59$ ,  $df=58$ )



1.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein	2.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein
1	<i>Pgm 75/100</i>	2.3	1	<i>Pgm 75/100</i>	2.19
2	<i>Pgm 75/100</i>	2.49	2	<i>Pgm 75/100</i>	2.30
3	<i>Pgm 75/100</i>	2.43	3	<i>Pgm 75/100</i>	2.35
4	<i>Pgm 75/100</i>	2.36	4	<i>Pgm 75/100</i>	2.21
5	<i>Pgm 75/100</i>	2.2	5	<i>Pgm 75/100</i>	2.39
6	<i>Pgm 75/100</i>	2.3	6	<i>Pgm 75/100</i>	2.10
7	<i>Pgm 75/75</i>	1.05	7	<i>Pgm 75/100</i>	2.29
8	<i>Pgm 75/100</i>	2.27	8	<i>Pgm 75/100</i>	2.41
9	<i>Pgm 75/100</i>	2.52	9	<i>Pgm 75/100</i>	2.32
10	<i>Pgm 75/100</i>	2.47	10	<i>Pgm 75/100</i>	2.67
ortalama= 2.23, SD= 0.43			ortalama = 2.32, SD= 0.154		

Tablo 27. Kış örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (1-2. grup)

3.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein	4.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein
1	<i>Pgm 75/75</i>	1.69	1	<i>Pgm 75/75</i>	1.65
2	<i>Pgm 75/75</i>	0.97	2	<i>Pgm 75/100</i>	2.41
3	<i>Pgm 75/75</i>	1.12	3	<i>Pgm 75/75</i>	1.54
4	<i>Pgm 75/75</i>	1.59	4	<i>Pgm 75/75</i>	1.65
5	<i>Pgm 75/100</i>	2.59	5	<i>Pgm 75/75</i>	1.05
6	<i>Pgm 75/75</i>	1.07	6	<i>Pgm 75/75</i>	1.10
7	<i>Pgm 75/75</i>	1.19	7	<i>Pgm 75/75</i>	1.53
8	<i>Pgm 75/75</i>	1.51	8	<i>Pgm 75/100</i>	2.30
9	<i>Pgm 75/75</i>	0.89	9	<i>Pgm 75/75</i>	1.23
10	<i>Pgm 75/75</i>	1.6	10	<i>Pgm 75/75</i>	0.87
ortalama = 1.42, SD= 0.52			ortalama = 1.53, SD= 0.50		

Tablo 28. Yaz örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (3-4.grup)

5.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein	6.grup	Genotip	[Glikojen] mg/mg protein
1	<i>Pgm 75/100</i>	2.63	1	<i>Pgm 75/75</i>	1.48
2	<i>Pgm 75/100</i>	2.39	2	<i>Pgm 75/75</i>	1.51
3	<i>Pgm 75/100</i>	2.18	3	<i>Pgm 75/75</i>	1.67
4	<i>Pgm 75/100</i>	2.23	4	<i>Pgm 75/75</i>	1.71
5	<i>Pgm 75/100</i>	2.29	5	<i>Pgm 75/75</i>	0.88
6	<i>Pgm 75/100</i>	2.47	6	<i>Pgm 75/75</i>	0.91
7	<i>Pgm 75/100</i>	2.73	7	<i>Pgm 75/100*</i>	1.54
8	<i>Pgm 75/100</i>	2.45	8	<i>Pgm 75/75</i>	2.52
9	<i>Pgm 75/100</i>	2.29	9	<i>Pgm 75/75</i>	1.43
10	<i>Pgm 75/75</i>	1.48	10	<i>Pgm 75/75</i>	1.57
ortalama = 2.25, SD= 0.34			ortalama = 1.52, SD= 0.45		

Tablo 29. Yaz ve Kış örneklerinin glikojen miktarları ve genotipleri (5-6.grup)

Group	<i>Pgm-75/75</i>	<i>Pgm-75/100</i>
Ortalama	1.339	2.350
Standard sapma	0.232	0.126
Örnek sayısı	28	32

Tablo 30. *Pgm-75/75* ve *Pgm-75/100* bireylerinin glikojen miktarlarının *t*-test sonuçları ( $P < 0.0001$ ,  $t=16.65$ ,  $df=58$ )

Örnek	Termostabilite sabiti k[ $\text{min}^{-1}$ ]	PGM aktivitesi (unite/mg protein)	Genotip
1	0.21	2.96	<i>Pgm 75/100</i>
2	0.19	3.09	<i>Pgm 75/100</i>
3	0.43	3.2	<i>Pgm 75/100</i>
4	0.14	3.19	<i>Pgm 75/100</i>
5	0.64	3.25	<i>Pgm 75/100</i>
6	0.54	2.91	<i>Pgm 75/100</i>
7	0.22	3.08	<i>Pgm 75/100</i>
8	0.12	3.27	<i>Pgm 75/100</i>
9	0.43	3.13	<i>Pgm 75/100</i>
10	0.31	3.56	<i>Pgm 75/100</i>

Tablo 31.

Örnek	Termostabilite sabiti k[ $\text{min}^{-1}$ ]	PGM aktivitesi (unite/mg protein)	Genotip
1	0.25	1.94	<i>Pgm 75/75</i>
2	0.43	1.86	<i>Pgm 75/75</i>
3	0.37	2.03	<i>Pgm 75/75</i>
4	0.46	1.9	<i>Pgm 75/75</i>
5	0.16	3.54	<i>Pgm 75/100 *</i>
6	0.32	1.85	<i>Pgm 75/75</i>
7	0.15	2.06	<i>Pgm 75/75</i>
8	0.62	1.91	<i>Pgm 75/75</i>
9	0.23	1.79	<i>Pgm 75/75</i>
10	0.58	1.93	<i>Pgm 75/75</i>

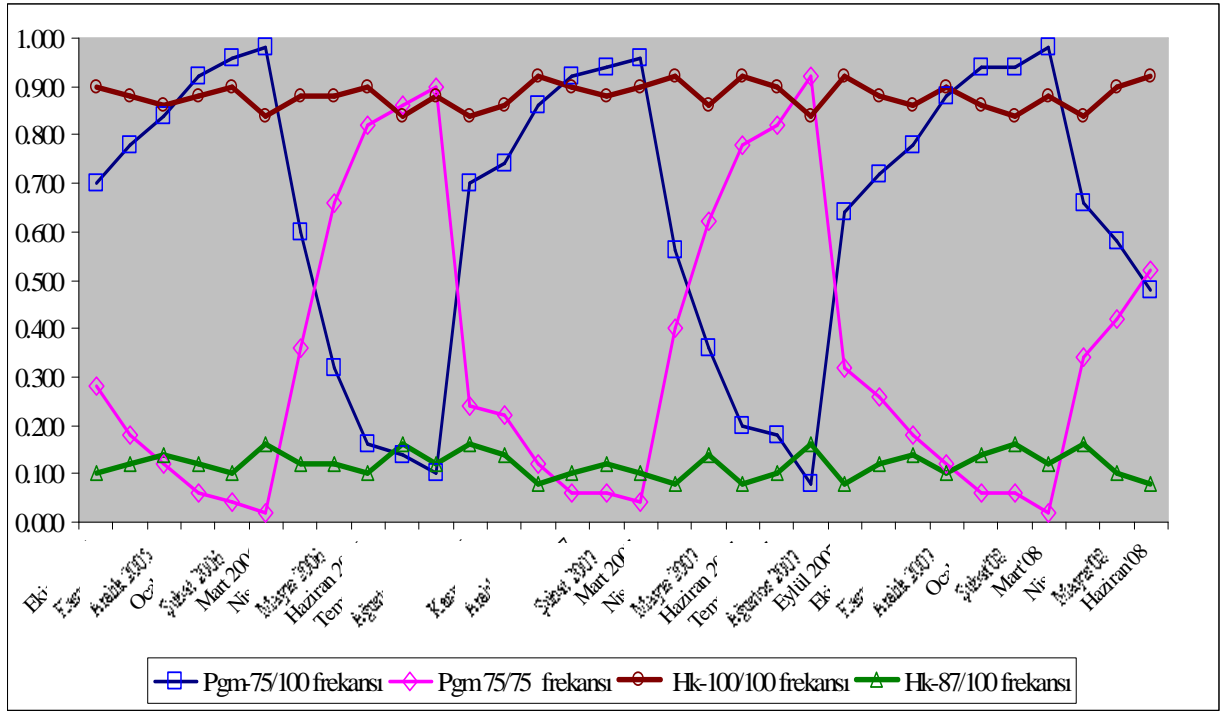
Tablo 32.

Örnek	Termostabilite sabiti k[ $\text{min}^{-1}$ ]	PGM aktivitesi (unite/mg protein)	Genotip
1	0.15	3.12	<i>Pgm 75/100</i>
2	0.53	3.09	<i>Pgm 75/100</i>
3	0.19	2.98	<i>Pgm 75/100</i>
4	0.32	3.21	<i>Pgm 75/100</i>
5	0.45	3.06	<i>Pgm 75/100</i>
6	0.71	2.89	<i>Pgm 75/100</i>
7	0.56	3.76	<i>Pgm 75/100</i>
8	0.48	3.44	<i>Pgm 75/100</i>
9	0.36	2.95	<i>Pgm 75/100</i>
10	0.44	1.89	<i>Pgm 75/75*</i>

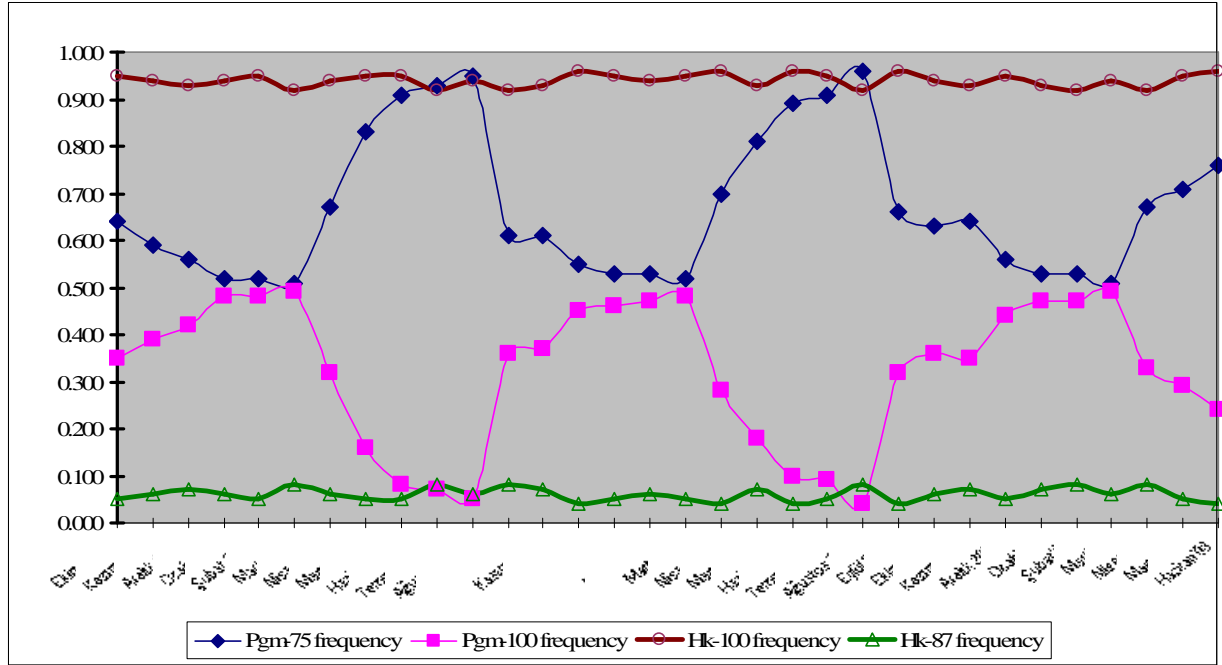
Tablo 33.

Örnek	Termostabilite sabiti k[ $\text{min}^{-1}$ ]	PGM aktivitesi (unite/mg protein)	Genotip
1	0.52	1.91	<i>Pgm 75/75</i>
2	0.37	2.05	<i>Pgm 75/75</i>
3	0.14	2.11	<i>Pgm 75/75</i>
4	0.27	1.76	<i>Pgm 75/75</i>
5	0.39	1.79	<i>Pgm 75/75</i>
6	0.53	1.92	<i>Pgm 75/75</i>
7	0.26	1.87	<i>Pgm 75/75</i>
8	0.59	3.65	<i>Pgm 75/100*</i>
9	0.63	1.94	<i>Pgm 75/75</i>
10	0.18	1.95	<i>Pgm 75/75</i>

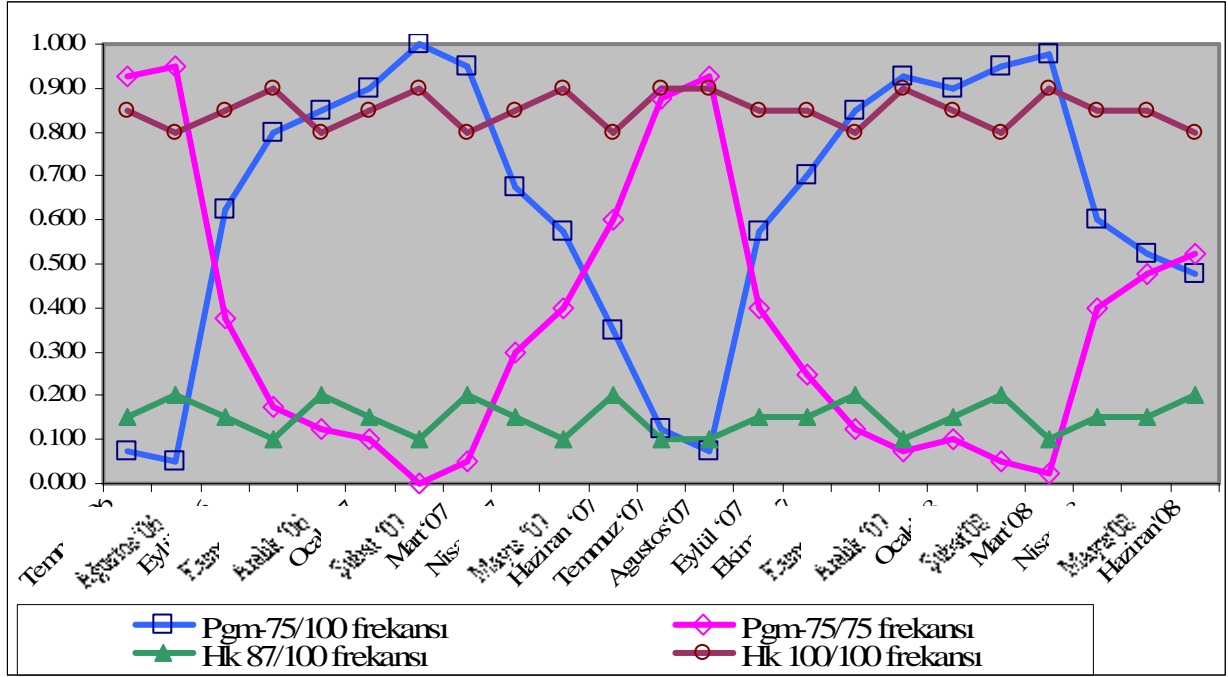
Tablo 31-34. Pgm genotiplerinin enzim aktivite ve termostabilite değerleri



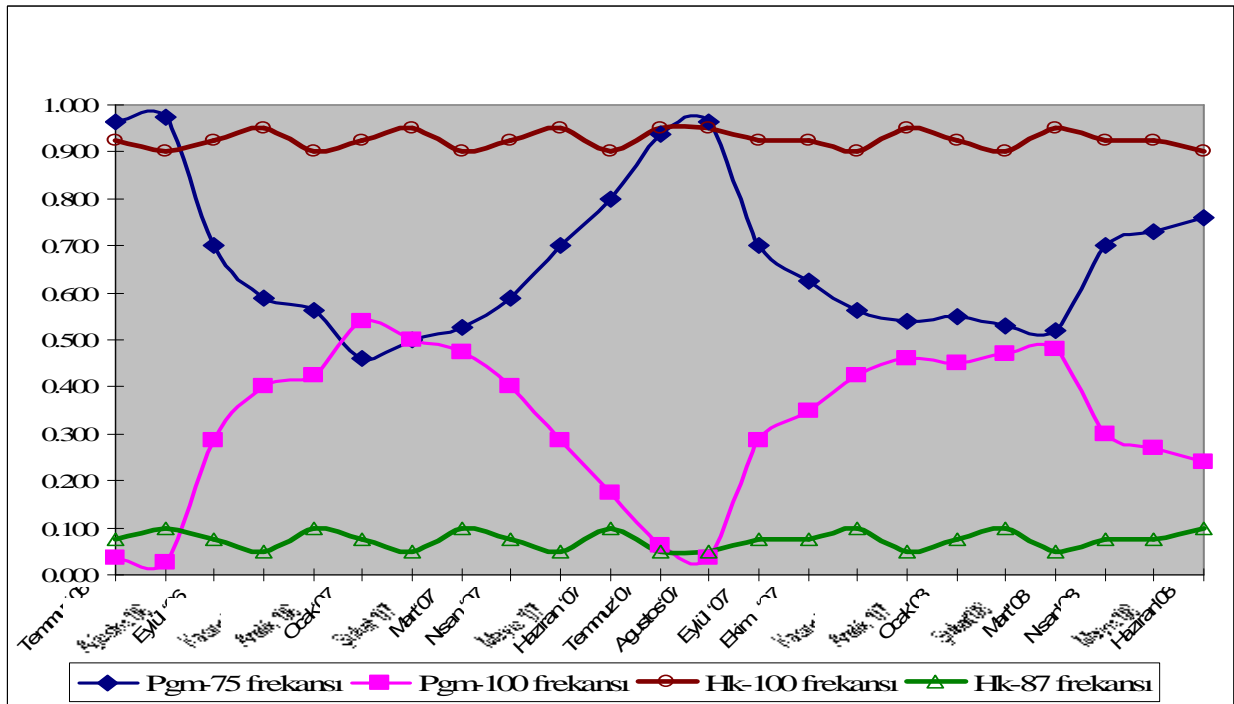
Şekil 1. Kırklareli popülasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi



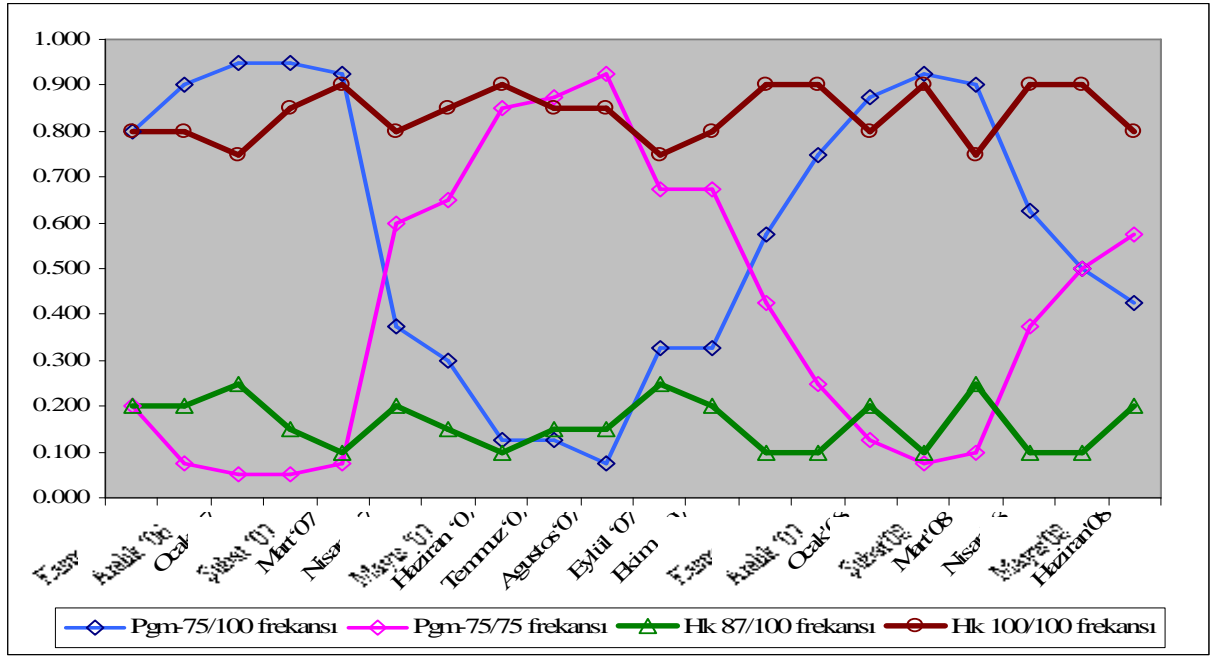
Şekil 2. Kırklareli popülasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi



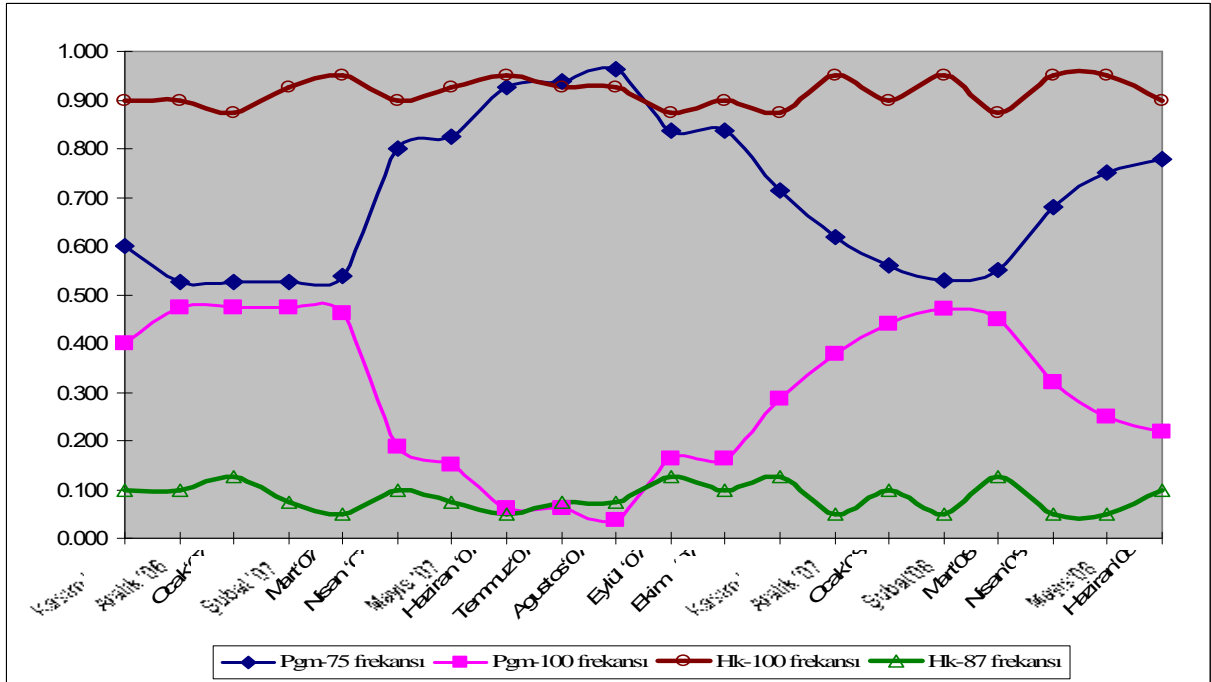
Şekil 3. Artvin popülasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi



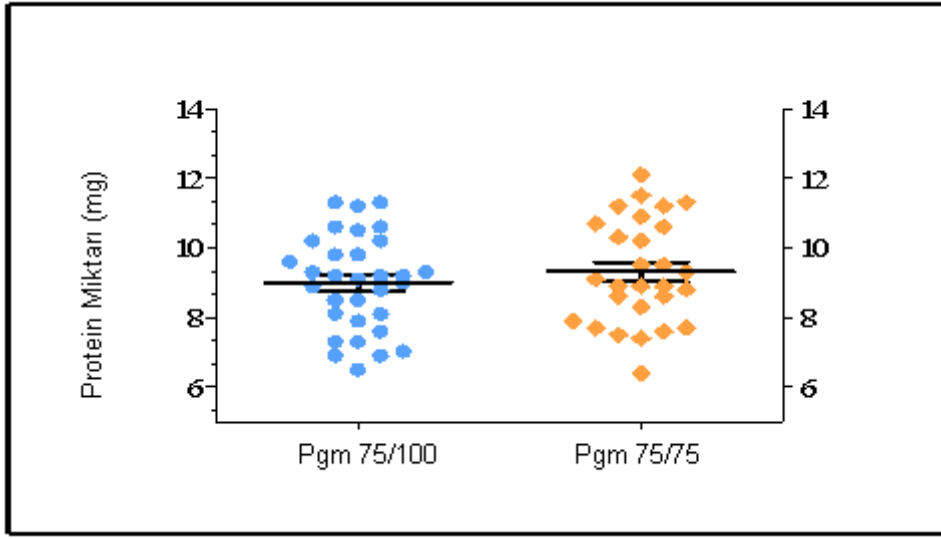
Şekil 4. Artvin popülasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi



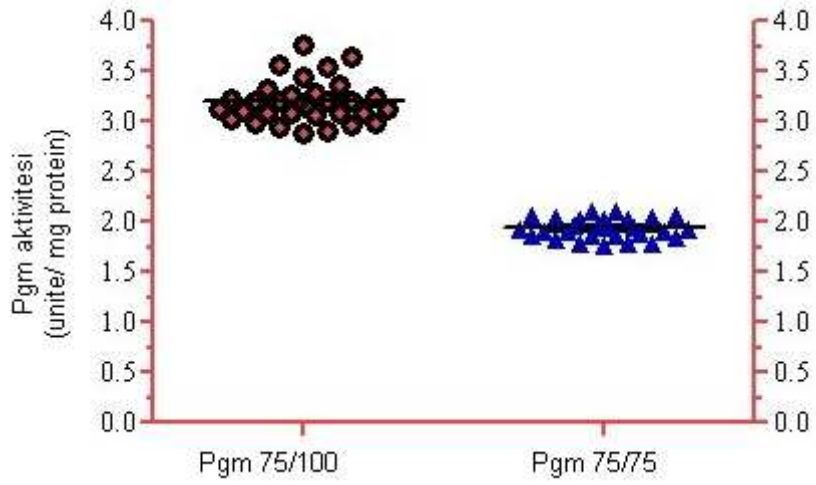
Şekil 5 . Hatay popülasyonunda Pgm ve Hk genotip frekanslarının zamana bağlı değişimi



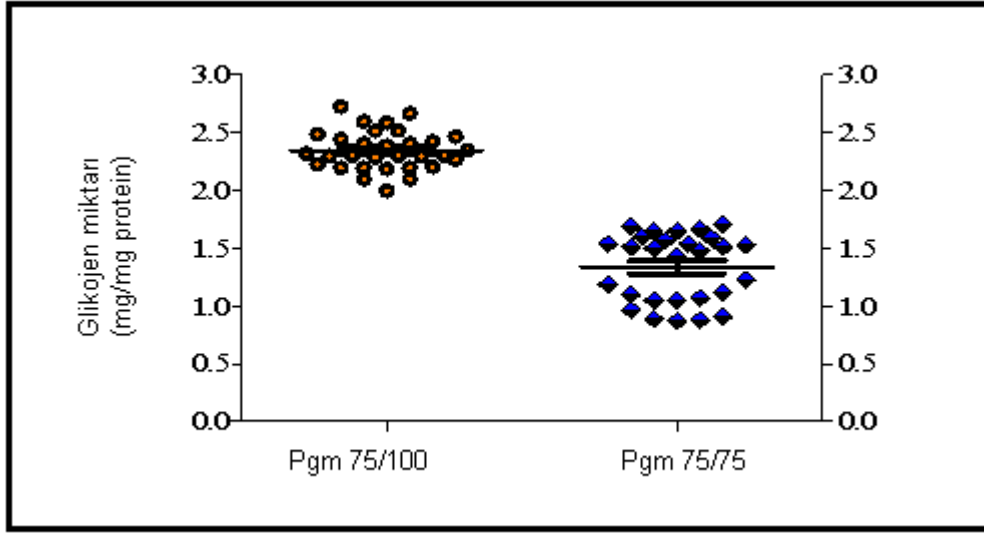
Şekil 6. Hatay popülasyonunda Pgm ve Hk alel frekanslarının zamana bağlı değişimi



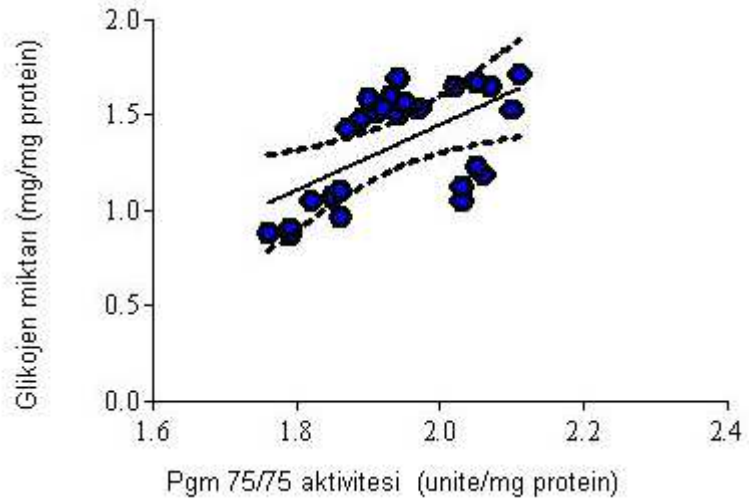
Şekil 7. Heterozigot ve Homozigot bireylerin protein miktarlarının dağılımı



Şekil 8. Heterozigot ve homozigot bireylerin PGM enzim aktivitelerinin dağılımı

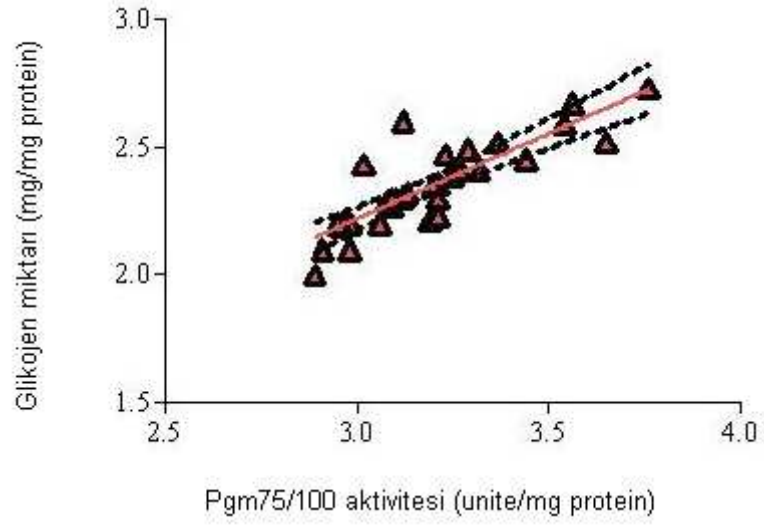


Şekil 9. Heterozigot ve homozigot bireylerin glikojen miktarlarının dağılımı

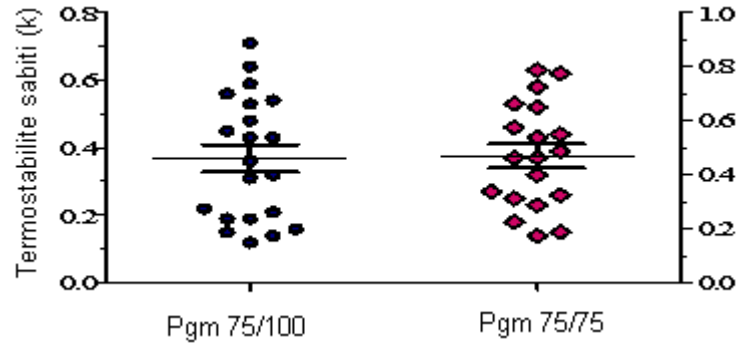


Şekil 10. Pgm-75/75 enzim aktivitesi ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon (Kesik çizgiler %95 güven aralıklarını göstermektedir. Spearman  $r = 0.6663$ ,  $P < 0.0001$  )

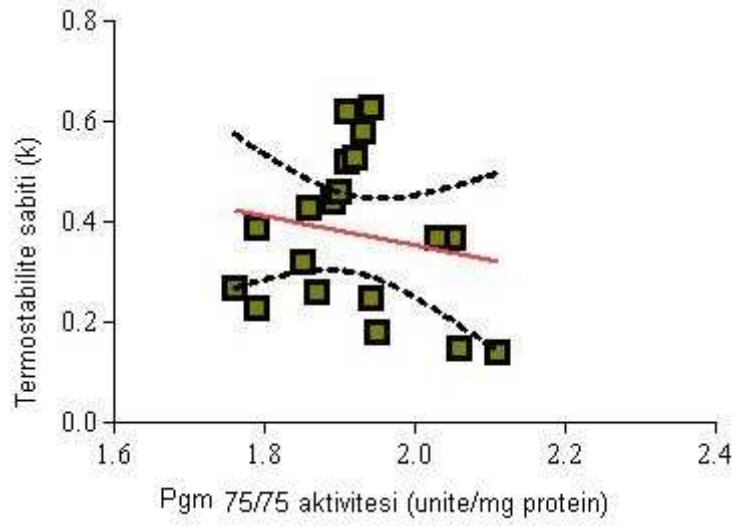




Şekil 11. Pgm-75/100 enzim aktivitesi ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon (Kesik çizgiler %95 güven aralıklarını göstermektedir. Spearman  $r = 0.8422$ ,  $P < 0.0001$  )

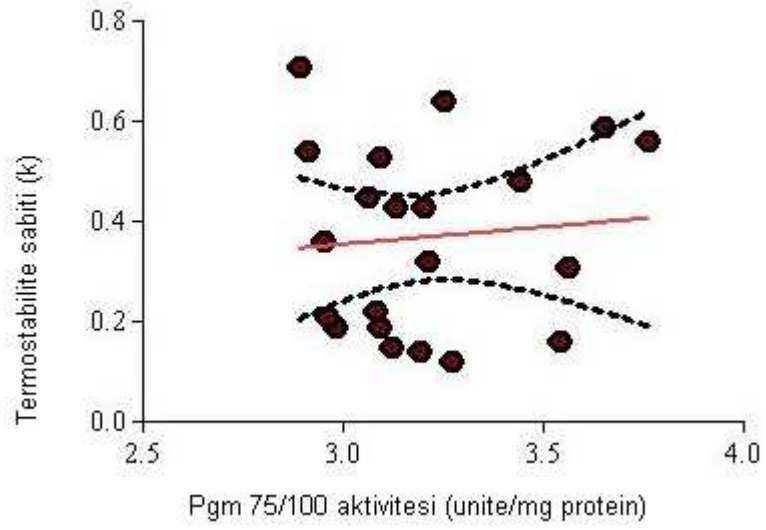


Şekil 12. Heterozigot ve homozigotların enzim termostabilite sabitlerinin dağılımı



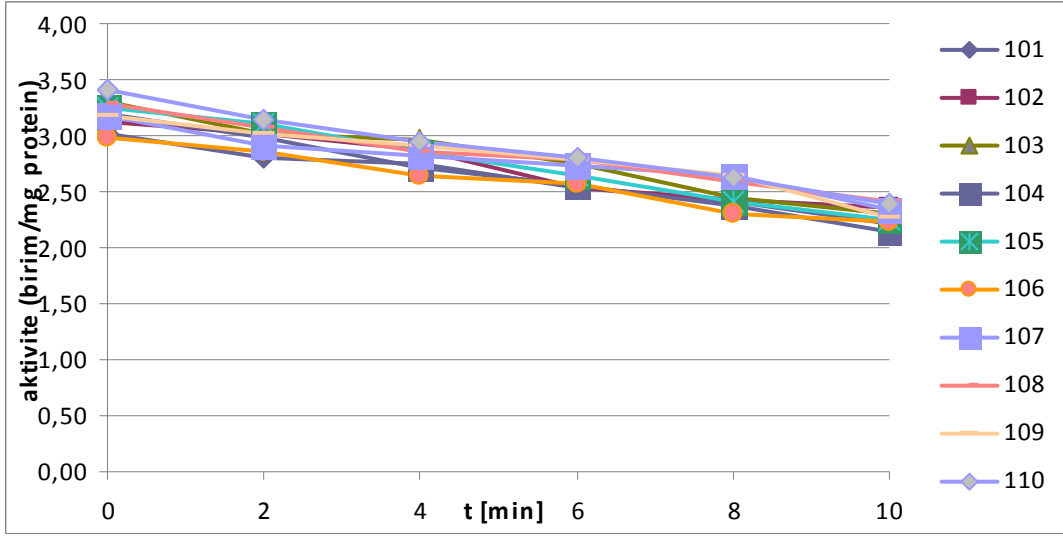
Şekil 13.Pgm-75/75 bireylerde enzim aktivite ve termostabilite ilişkisi.

(Kırık çizgiler %95 güven aralıklarını göstermektedir, Spearman  $r = -0.1643$ ,  $P = 0.5014$ )

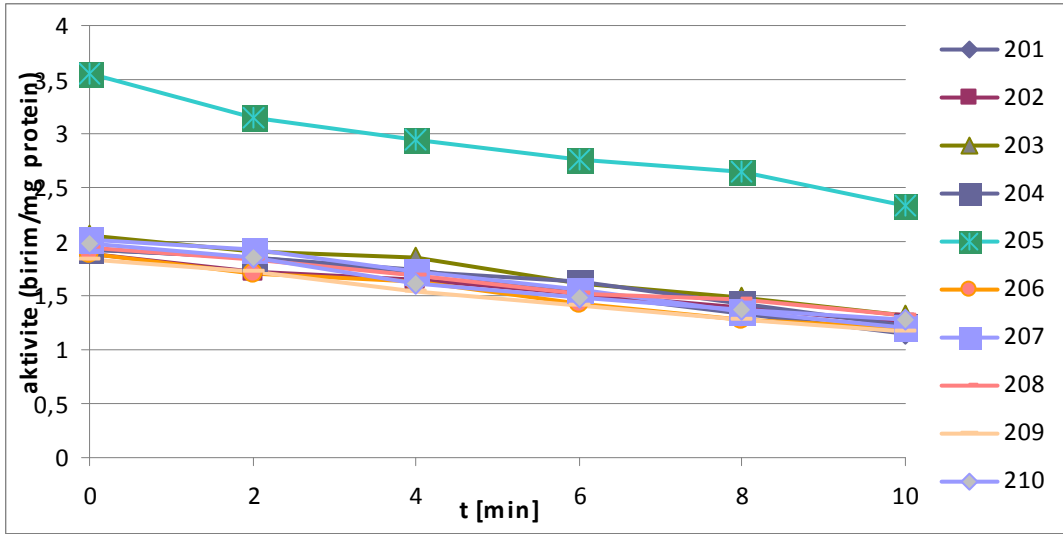


Şekil 14. Pgm-75/100 bireylerde enzim aktivite ve termostabilite ilişkisi.

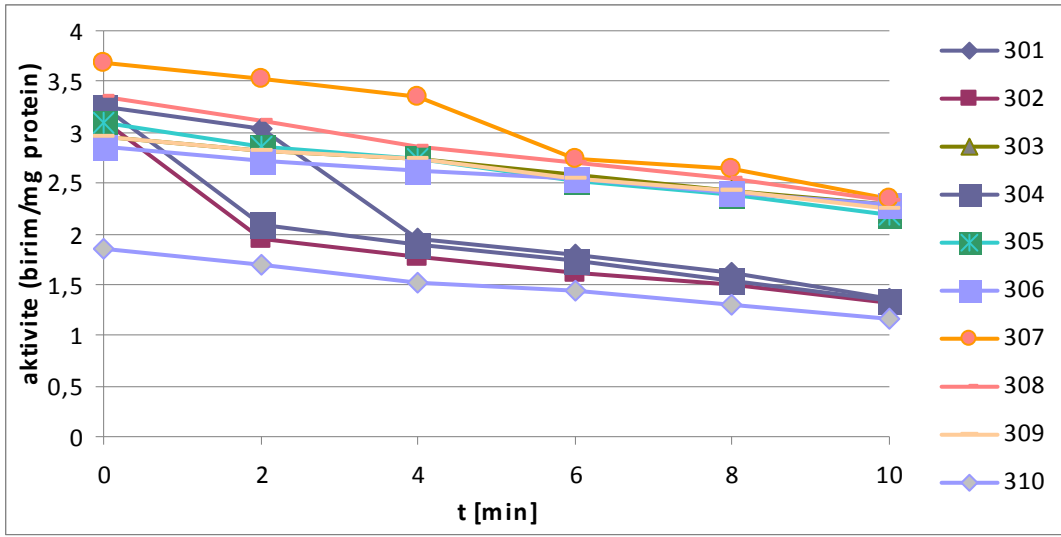
(Kırık çizgiler %95 güven aralıklarını göstermektedir, Spearman  $r = -0.0113$ ,  $P=0.9610$ )



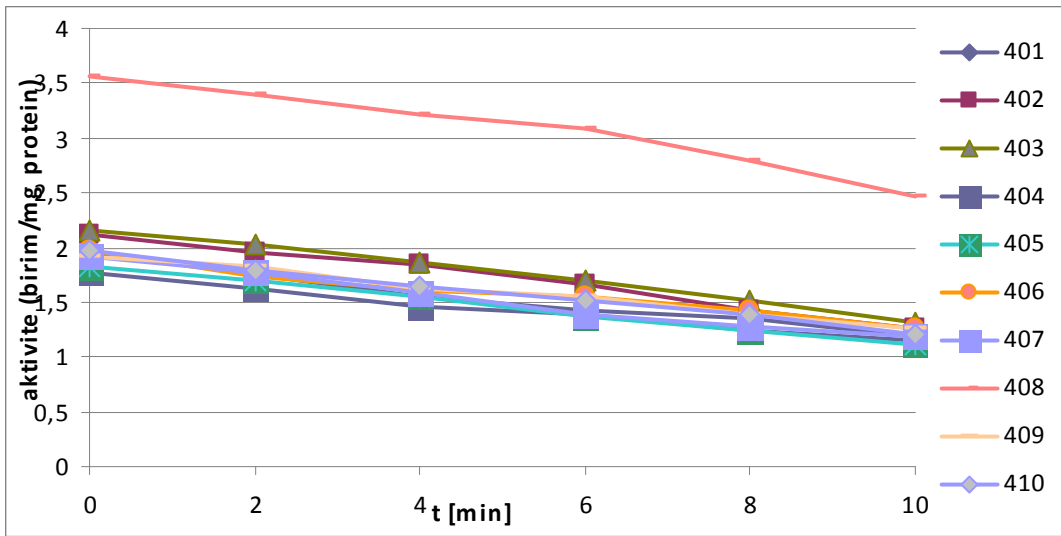
Şekil 15. 50°C'de Pgm enzim aktiviteleri. 1. grupta 101-110 heterozigot bireyler



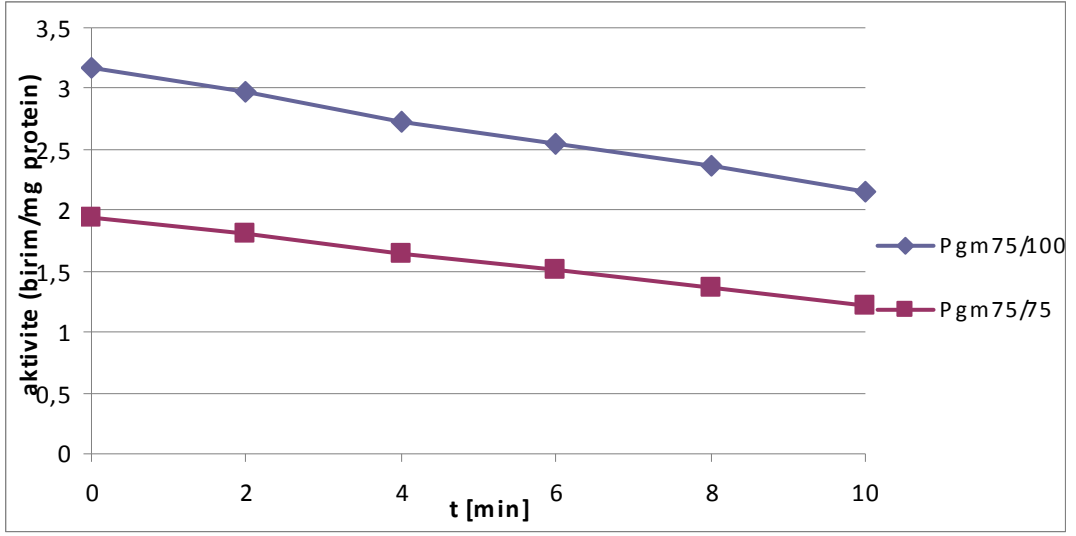
Şekil 16. 50°C'de Pgm enzim aktiviteleri. 2. grupta 205 heterozigot, diğerleri homozigot



Şekil 17. 50<sup>0</sup>C’de Pgm enzim aktivitelemi. 3. grupta 310 homozigot, diğerleri heterozigot



Şekil 18. 50<sup>0</sup>C’de Pgm enzim aktivitelemi. 4. grupta 408 heterozigot, diğerleri homozigot



Şekil 19. 50<sup>0</sup>C’de Pgm75/100 ve Pgm75/75 grup ortalama Pgm enzim aktiviteleri

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

<b>Proje No: 106T181</b>
<b>Proje Başlığı: Bal arılarında (<i>Apis mellifera</i> L.) Fosfoglukomutaz (Pgm) enzim polimorfizminin mevsimlere bağlı olarak değişiminin nedenlerinin ve sonuçlarının araştırılması</b>
<b>Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar:</b> <b>Proje Yürütücüsü: Doç.Dr.Meral Kence</b> <b>Araştırmacı: Dr.Sreeparna Banerjee</b>
<b>Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:</b> <b>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü</b> <b>06531 Ankara / TÜRKİYE</b>
<b>Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi:</b> <b>Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu</b> <b>Tunus Caddesi No:80 06100 Kavaklıdere Ankara / TÜRKİYE</b>
<b>Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01.07.2006 – 01.07.2008</b>
<b>Öz:Üç balarısı ırkında yapılan allozim çalışmaları PGM genotip frekanslarının mevsimsel değişim gösterdiği ve Hardy-Weinberg dengesinden saptığı belirlenmiştir (P&lt;0.001). Heterozigot bireylerde PGM enzim aktivitesinin ve glikojen miktarının, homozigot bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (P&lt;0.0001). Veriler balarılarında farklı PGM genotiplerinin biyokimyasal ve fonksiyonel olarak birbirinden farklı olduğunu, bu farklılıkların balarılarının enerji metabolizmasını önemli ölçüde etkilediğini, ve kış arılarında bu özelliklerin avantajlı olduğunu göstermiştir. Kış arılarının uzun ömürlü olmalarının PGM heterozigotluğu ile ilişkisi olduğu da görülmektedir. Enzimin ısıya dayanıklılığı bakımından heterozigotlarla homozigotlar arasında fark gözlenmemiştir.</b> <b>Anahtar Kelimeler: Fosfoglukomutaz, Allozim, enzim aktivitesi, <i>Apis mellifera</i>.</b>
<b>Projeden Yapılan Yayınlar: 1- Kence M., Gulduren Z., Kence A. PGM genotype frequencies in honey bee colonies in winter and summer, Entomological Society of America meeting, December 2007, San Diego CA, USA. (sözlü bildiri).</b> <b>2- Kence M., Gulduren Z. Analysis of the relationship between Pgm heterozygosity and fitness in honey bee, <i>Apis mellifera</i> L. Int. Congress of Entomology, ICE 2008, April, Durban, SA. (sözlü bildiri) p.145.</b> <b>3- Gulduren Z., Banerjee S., Kence M. Why honey bees are heterozygote in winter? Bee Genetics Symposium at EurBee 3, Sept. 2008, Belfast, UK. (sözlü bildiri) p.48.</b>