



TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

1997-767

PROJE NO: VHAG-1077

Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu

Veterinary Medicine and Animal Husbandry Research Grant
Committee

**TÜRKİYE'DE BAL ARISI (*Apis mellifera* L.) İRKLARININ
KARAKTERİZASYONU VE KORUNMASI**

1997-767

PROJE NO: VHAG-1077

**DOÇ.DR.MERAL KENCE
PROF.DR.AYKUT KENCE
İRFAN KANDEMİR**

55

1-59

TriEn

**ŞUBAT 1998
ANKARA**

ÖNSÖZ

Arıcılık konusunda araştırmalar yapan Brother Adam isimli İngiliz rahibi 1954-1972 yılları arasında Türkiye'ye bir çok kez gelerek Türkiye'deki bal arıları üzerinde morfometri, davranış, üreme özellikleri ve bal verimi üzerinde incelemeler yapmış, Türkiye'den götürdüğü arılarda ıslah çalışmaları yapmış ve Türkiye arılarının büyük bir çeşitlilik gösterdiğini ve arı ıslahı için büyük bir potansiyel oluşturduğunu bildirmiş olmasına rağmen Türk bilim adamları tarafından bal arılarının genetiği konusunda çok az çalışma yapılmıştır. Oysa bal arıları hem bal üretiminde hem de polinasyonda oynadıkları rol ile tarımsal ürün arttırmada ve doğadaki çiçekli bitkilerin önemli bir kısmının üremesine yardımcı olarak devamını sağlamaları nedeniyle yararlı olan bir böcek türüdür. Dünyada, gelişen moleküler genetik yöntemlerle (enzim elektroforezi ve DNA analizleri) genetiği çalışılan organizmalar giderek artarken bal arılarında da uygulanan bu yöntemler genetik bilgileri arttırmaktadır. Türkiye'de bu yöntemleri bal arısı popülasyonlarına ilk kez uygulayan bir grup olduğumuz için mutluyuz. Bu araştırma arılarda gelecekte yapılacak bir çok araştırmaya ve temel oluşturacaktır.

Bu çalışmayı gerçekleştirebilmemiz için VHAG-1077 no'lu proje ile destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na teşekkür ederiz. Ayrıca arıların toplanmasında ulaşımı son derece güç olan yörelere erişmemiz için araç ve uzman temin eden ve bu heyecanı bizimle paylaşan, isimlerini tek tek sayamadığımız Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı ve bünyesindeki Tarım İl ve İlçe müdürlüklerine teşekkürü bir borç biliriz.

mtDNA analizlerinin yapılmasında laboratuvarını açarak işbirliği yapan Assoc. Prof. Dr. W. Steve Sheppard'a teşekkür ederiz.

Bu proje için arı örnekleri toplarken bizimle işbirliği yapan tüm arıcılarımıza teşekkürlerimizi sunarız. Araştırmaya çeşitli konularda katkıda bulunan Gaye KANDEMİR, Necva HADİMOĞULLARI, Ezogelin OFLAZOĞLU, M.Ali SÜDÜPAK, Gülnur GENÇLER, Somer ABEŞ, Serkan İNCEKLİ, Erkin KENT, Ümit ÖZTÜRK, Işıl GÜNEY ve diğer öğrencilerimize teşekkürlerimizi ifade etmekten zevk duyarız.

TÜRKİYE'DE BALARISI (*Apis mellifera* L.) IRKLARININ KARAKTERİZASYONU VE KORUNMASI

ÖZET

Türkiye bal arısı toplumları morfometrik ve genetik bakımdan karakterize edilmiştir. Morfometrik karakterler bakımından il bazında analizler farklılık göstermektedirler ($P < 0.001$). Anadolu'nun kuzey doğusunda *Apis mellifera caucasica*, orta ve batı Anadolu'da *A.m. anatoliaca*, kuzeybatı Anadolu'da *A.m. carnica*, güney Anadolu'da, Şanlı Urfa ve Hatay'da büyük olasılıkla *A.m. syriaca*, *A.m. meda* ve *A.m. anatoliaca* melezleri bulunmaktadır.

Türkiye bal arısı toplumlarında enzim polimorfizmi de kapsamlı olarak çalışılmış ve Türkiye'deki bal arısı toplumlarının çalışılan diğer ülke bal arısı toplumlarına göre çok daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğu gözlenmiştir. En fazla polimorfizm PGM lokusunda gözlenmiş olup, belirlenen 4 alelden ikisi PGM-45 ve PGM-63 daha önce literatürde bildirilmemiştir.

Bal arılarının mt-DNA'sında kısıtlı sayıdaki restriksiyon enzimleri ile yapılan RFLP analizinde ise fazla bir varyasyon bulunmamıştır. Öte yandan Hatay arılarında diğer bölge arılarından farklı olarak Africa örgüsü gösteren bir haplotipe rastlanmıştır. Bir de Balıkesir'de literatürde daha önce bildirilmemiş bir mt-DNA örgüsüne rastlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Bal arısı, *Apis mellifera* L, morfometri, enzim polimorfizmi, mt-DNA varyasyonu.

CHARACTERIZATION AND PRESERVATION OF HONEYBEES (*Apis mellifera* L.) IN TURKEY

ABSTRACT

Honeybee populations in Turkey have been morphometrically and genetically characterized. Honeybee populations analyzed in terms of morphometric characters revealed significant differences ($P < 0.001$). In Northeastern Anatolia *Apis mellifera caucasica*, in central and western Anatolia *A.m. anatoliaca*, northwestern Anatolia *A.m. carnica*, in southern Anatolia (Şanlı Urfa and Hatay) most probably *A.m. syriaca*, *A.m. meda*, and *A.m. anatoliaca* hybrids are distributed.

Enzyme polymorphisms in Turkish honey bee populations were extensively studied and observed that honey bee populations of Turkey contain higher genetic variability compared to honey bee populations studied in other countries. Higher polymorphism have been observed in PGM locus with 4 alleles and among them two alleles observed and designated as PGM-45 and PGM-63 were not recorded in literature earlier. In EST locus 3, HK locus 5, in MDH locus 4 alleles were detected.

In mt-DNA RFLP analysis done only with a few restriction enzymes revealed a small amount of variation. On the other hand among the honey bees collected from Hatay region an haplotype with African pattern was obtained which was quite different than the honey bees of other regions. Also in Balıkesir an mtDNA pattern which was not reported in literature before, was observed.

Key words: Honey bee, *Apis mellifera* L., morphometry, enzyme polymorphism, mtDNA variation.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Önsöz.....	ii
Özet.....	iii
Abstract.....	iv
İçindekiler.....	v
Tablo Listesi.....	vii
Şekil Listesi.....	viii
Bölüm I	
Giriş.....	1
Bölüm II	
Materyal ve Metod.....	4
İşçi arı örneklerinin Toplanması.....	4
Morfometrik Ölçümler.....	4
İstatistik Analizler.....	7
i) Temel Öğeler Analizi (PCA).....	7
ii) Ayrışım Fonksiyon Analizi (Kanonik Değişken Analizi).....	7
iii) Uzamsal Otokorelasyon Analizi.....	7
Elektroforez.....	9
i) Nişasta jelin hazırlanması.....	9
ii) Örneklerin uygulanması.....	10
iii) Elektroforez çalışması.....	10
iv) Jelin boyanması.....	11
v) Jelin yorumlanması.....	11
Mitokondri DNA analizi (mtDNA).....	12
i) Total nükleik asit izolasyonu.....	12
ii) Restriksiyon enzim kesimi.....	13
iii) Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	14
iv) PCR sonucunda elde edilen nükleer ve mtDNA bölgelerinin restriksiyon enzim kesimi.....	15

v) Agaroz elektroforezi.....	15
vi) Agaroz jele örneklerin uygulanması.....	16
vii) Jelin EtBr ile boyanması ve UV ışığı altında fotoğraflanması.....	16
Bölüm III	
Bulgular.....	17
Morfometri.....	17
Elektroforez.....	30
Fosfoglukomutaz (PGM).....	30
Hekzokinaz (HK).....	32
Malat dehidrogenaz (MDH).....	32
Esteraz-3 (EST-3).....	33
Mitokondri ve Nükleer DNA analizleri.....	43
EcoRI enzimi ile kesim sonucu.....	43
XbaI ile kesim sonucu.....	43
Bgl II ve Bcl I enzimleri ile kesim sonucu.....	44
ND2 Bölgesi.....	44
CO-I bölgesi.....	44
CO I-CO II intergenik bölgesi.....	45
A+T bazlarınca zengin olan bölge.....	45
ITS 1 bölgesi.....	45
Bölüm IV	
Tartışma.....	47
Morfometri.....	47
Enzim Elektroforezi.....	50
mtDNA.....	52
Bölüm V	
Kaynaklar.....	54

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1.1. Morfometri çalışmasında kanat ve bacaktan ölçülen karakterler (Ruttner, 1989'dan alınmıştır).....	6
Şekil 3.1.1. 250 koloninin 10 karakteri üzerinde yapılan ölçümlerin Temel öğeler analizi.....	21
Şekil 3.1.2. 250 koloninin 10 karakteri üzerinde yapılan ölçümlerin Çok Gruplu Ayrışım analizi.....	23
Şekil 3.1.3. Kırklareli, Zonguldak ve Van örnekleri üzerinde yapılan morfometrik ölçümlerin Çok Gruplu Ayrışım Analizi.....	24
Şekil 3.1.4. Ardahan, Malatya, Elazığ, Bingöl, Muğla, Hatay ve Iğdır üzerinde yapılan morfometrik ölçümlerin Çok Gruplu Ayrışım Analizi.....	25
Şekil 3.1.5. 37 İlin morfometrik ölçüm ortalamalarının UPGMA yöntemine göre sınıflandırılmaları.....	26
Şekil 3.1.6. 10 karakterin Türkiye sathında 37 ilde gösterdiği değişkenlik üzerinde yapılan uzamsal otokorelasyon analizi sonucu oluşan korelogramlar.....	28
Şekil 3.2.1. Türkiye'de PGM alel frekanslarının dağılımları.....	34
Şekil 3.2.2. Türkiye'de HK alel frekanslarının dağılımları.....	35
Şekil 3.2.3. Türkiye'de MDH alel frekanslarının dağılımları.....	36
Şekil 3.2.4. Türkiye'de EST alel frekanslarının dağılımları.....	37
Şekil 3.2.5. 4 enzim sisteminin 37 ildeki alel frekansları üzerinde yapılan Temel Öğeler analizi sonuçları.....	39
Şekil 3.2.6. Enzim sistemlerinin alel frekanslarından elde edilen iller arası genetik uzaklık matrisine göre 37 ilin sınıflandırılması.....	40
Şekil 3.2.7. 12 alelin Türkiye sathında 37 ilde gösterdiği değişkenlik üzerinde yapılan uzamsal otokorelasyon analizi sonucu oluşan korelogramlar.....	41
Şekil 3.3.1. Balarısı mtDNA'sının EcoRI restriksiyon enzimi ile kesimi.....	46
Şekil 3.3.2. Balarısı mtDNA'sının EcoRI restriksiyon enzimi ile kesimi.....	46
Şekil 3.3.3. CO I-CO II bölgesinin Taq I restriksiyon enzimi ile kesimi.....	47
Şekil 3.3.4. CO I-CO II bölgesinin Hinf I restriksiyon enzimi ile kesimi.....	47
Şekil 4.1.1. Gezginci arıcılığın Türkiye üzerindeki gidiş ve geliş rotaları.....	49

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1.1. Örneklerin tolandığı il, koloni sayısı ve her analizde kullanılan örnek ve koloni sayıları.....	5
Tablo 2.2.1. Enzimlerin elektroforez şartları ve kullanılan tampon solüsyonlar.....	10
Tablo 2.2.2. Enzimlerin boyanmasında kullanılan tampon solüsyonlar ve maddeler.....	11
Tablo 2.3.1. Solüsyon A ve Solüsyon B'nin hazırlanışı.....	12
Tablo 2.3.2. Bu çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri.....	13
Tablo 2.3.3. Bu çalışmada kullanılan primer çiftleri.....	15
Tablo 2.3.4. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan tapounun ve yükleme tamponunun hazırlanışı.....	16
Tablo 3.1.1. Morfometrik ölçümleri 37 ile ait ortalamaları ve standart hataları.....	18
Tablo 3.1.2. Morfometrik değişkenlerin 37 il arasında varyans analizleri (F-değerleri).....	19
Tablo 3.1.3. Değişkenler arası korelasyon matrisi.....	19
Tablo 3.1.4. Temel öğeler analizinde elde edilen eigen değerleri.....	20
Tablo 3.1.5. Temel öğeler analizinde değişkenlerin ilk üç eksen üzerinde ağırlıklarını gösteren eigen vektörler.....	20
Tablo 3.1.6. Morfometrik verilerin Uzamsal otokorelasyon analizinde elde edilen Moran-I değerleri.....	27
Tablo 3.2.1. 4 enzim sisteminin 37 ildeki örnek sayıları ve alel frekansları.....	31
Tablo 3.2.2. Elektroforetik verilerin Uzamsal otokorelasyon analizinde elde edilen Moran-I değerleri.....	38
Tablo 3.3.1. Seçilen 28 koloninin illere göre dağılımları.....	43

BÖLÜM I

GİRİŞ

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) kendisinden çeşitli şekillerde yararlanan ekonomik bakımdan önemli bir böcek türüdür. Bal üretiminin yanısıra, ekonomiye en önemli katkısı bitkilerin tozlaşmasını sağlayarak verimlerini arttırmak şeklinde olur. Örneğin ABD’de bal arılarının yıllık bal üretimi yaklaşık 25 milyon dolar iken (Anonim, 1993), bitkileri tozlaştırmak suretiyle sebze ve meyve üretiminde bal arılarının neden olduğu artış 5.7 milyar dolar (Southwick, 1992) ile 10 milyar dolar (Robinson, 1989) arasında tahmin edilmektedir. Türkiye bal üretiminde dünyada 6. sırada gelmektedir. Tozlaşma nedeniyle bal arılarının Türkiye ekonomisine yaptığı katkı daha hesaplanmamıştır.

Ülkemizde arıcılık ve bal üretiminin çok eski bir geçmişi vardır. Çatalhöyük’te yapılan kazılarda arıları bal özü toplarken ve peteklerin üzerinde gösteren resimler bulunmuştur (Crane, 1976). Söz konusu resimlerin yaklaşık 10 bin yıllık olduğu ve bal üzerinde ilk yazılı belgelerden binlerce yıl daha eski olduğu bilinmektedir. Hititlerde arıcılığın gelişmiş olduğunu yine o döneme ait belgelerden öğreniyoruz (Br. Adam, 1983). Boğazköy’de bulunan Hitit yazıtlarından bir birim balın aynı birimde tereyağına eşit olduğunu ve bir bal arısı kolonisinin bir koyuna eşdeğer olduğunu anlıyoruz.

Anadolu çok çeşitli iklim koşullarına sahip olması, bölgeden bölgeye çok farklılık gösteren jeolojik yapısı, ve Afrika, Avrupa ve Asya arasında doğal bir köprü oluşturması nedeni ile bir çok canlı türünün evriminde önemli rol oynamıştır. Bu canlı türlerinden biri de bal arısı (*Apis mellifera* L) dir. Bal arılarının evrimine ilişkin üç kuram bulunmaktadır. Bir kurama göre bal arıları Hazar denizinin güneyinde türleştikten sonra Anadolu, Avrupa ve Afrika’ya yayılmışlardır (Ruttner, 1988). Başka bir kurama göre Afrika’da türleşen bal arıları Anadolu ve İber yarımadası kanalı ile Avrupa’ya yayılmıştır (Wilson, 1971). Bir diğer kurama göre ise bal arıları, Güneydoğu Asya veya Hindistan’da türemişlerdir (Rothenbuhler ve ark., 1968).

Bal arısı topluluklarının Anadolu’da onbinlerce yıldan beri var olmalarının bir sonucu olarak, yerel ekolojik koşullara uyum sağladıkları ve farklılaştıkları bilinmektedir. Bir çok yabancı (Br. Adam, 1983; Bodenheimer, 1942; Ruttner, 1973) ve Türk (Sönmez ve Settar, 1987; Fıratlı, 1987; 1994; Kaftanoğlu ve ark., 1993) araştırmacıya göre Anadolu’da

Türkiye'de çok çeşitli olduğu için çeşitli arı ırkları vardır; ancak bu ırklar için henüz kabul edilir bir sınıflandırma yapılmamıştır. Bu araştırmacılar gelecekte yeni soyların oluşturulmasında Anadolu ırklarının önemli bir rol oynayacağını belirtmekte, bu bölgelerdeki genetik kaynakların araştırılmayı beklediğini eklemektedirler. Türkiye gibi ana arı yenileme geleneğinin olmadığı yerlerde genetik çeşitliliğin yüksek olması beklenmektedir (Kence, 1990). Bu güne kadar sözkonusu arı ırklarının bir envanteri yapılmamıştır.

Türkiye'nin balarları üzerinde yapılan ilk taksonomik sınıflandırma çalışmasına 1941 yılında rastlanmaktadır. 1941 yılında Bodenheimer (1942) ülkemize gelerek balarları üzerinde morfometrik çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmasının sonucunda, Türkiye'yi balarısı ırklarına göre yedi bölgeye ayırmıştır. 1953 yılında Maa, Anadolu arısını (*Apis mellifera anatoliaca*) karakterize etmiş ve morfometrik özelliklerini tanımlamıştır.

Maa'nın çalışmasından 30 yıl sonra, 1983 yılında Brother Adam (1983) ülkemizdeki balarılarını, canlı kolonileri, arıların görünüm ve davranışlarını inceleyerek Bodenheimer'in bulgularına yakın sonuçlar çıkarmıştır. Brother Adam'a göre Türkiyenin batısında, güneydoğusunda, kuzeydoğusunda ve orta Anadolu'da olmak üzere belirgin dört balarısı bulunmakla birlikte, diğer kesimlerdeki balarları da bu dört belirgin balarısının hibridleridir.

Brother Adam, hem ülkemize yaptığı seyahatler sırasında, hem de ülkemizden İngiltere'ye götürdüğü koloniler üzerinde Anadolu arısının davranış ve performansını yaklaşık 30 yıl süre ile incelemiştir. Bu incelemelerinin sonucunda Anadolu arısının sert iklim koşullarına uyum sağlaması ve nektar toplamadaki çabukluğu gibi özelliklerine dikkat çekmiştir (Br. Adam, 1983).

Türkiye'de bulunan arılar hakkındaki bilgiler Ruttner (1973), Maa (1953) ve Brother Adams (1983)'in yukarıda sözü edilen, davranışsal ve morfometrik çalışmalara dayanmaktadır.

Türkiye'nin bal arıları üzerinde yapılmış olan yukarıda bahsedilen çalışmalar dışında başkaca bir taksonomik çalışmaya rastlanmamaktadır. Oysa, yukarıdaki çalışmaların yapıldığı yıllardan günümüze kadar arıcılık konusunda birçok gelişmeler olmuştur. Kara kovan adı verilen ilkel kütük kovanlar yerine fenni kovanlar yaygınlaşmıştır. Fenni kovanların taşıma ve nakliyesinin kolay olması ile birlikte Türkiye'nin bitki örtüsünün yılın farklı zamanlarında farklı özellikte bal çeşitleri üretmeye uygun olması gezginci arıcılığı özendirmiştir.

Gezginci arıcılık nedeniyle yerel koşullara uyum sağlamış arı ırkları diğer arı ırkları ile melezleşmekte ve arıların yerel adaptasyonları ve genetik özellikleri giderek kaybolmaktadır.

Tablo 2.1.1. Örnekler

Lokasyon

Kaynak

K.Maraş

Sivas

Sakarya

Mardin

BÖLÜM II MATERYAL VE METOD

İŞÇİ ARI ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Morfometrik ölçümler, enzim elektroforezi ve mitokondri DNA çalışmalarında kullanılmak üzere 1994-1996 yılları arasında 37 il ve 406 koloniden toplam 2986 işçi arı örneği toplanmıştır (Tablo 2.1.1). Her koloniden alınan örnekler ayrı plastik kavanozlara konulmuştur. Plastik kavanoz içerisinde bulunan arı keki ya da lokum ile koloniler laboratuvara getirilinceye kadar yaşatılmış ve daha sonra ön çalışmalara kadar -20°C ye konulmuşlardır. Morfometrik ölçümler ve enzim elektroforezi aynı bireylerde çalışılmıştır. Mitokondri DNA çalışması için ise artan işçi arılar ependorf tüplere konulmuş ve etiketlenmiştir. Bu arılar -80°C çalışma yapılınca kadar muhafaza edilmiştir.

MORFOMETRİK ÖLÇÜMLER

Morfometri çalışması için toplanan kolonilerden 7 birey alınıp ön kanat ve arka bacaklar mikroskop lamı üzerine sabitlenmiştir (Şekil 2.1.1). Hazırlanan örnekler Olympus diseksiyon mikroskobu altında, görüntü JVC kamera ile monitöre aktarılmış ve ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde $1\text{mm}=3.8\text{cm}$ büyütme, ve sadece sol taraf kullanılmıştır. Örneklerin az olduğu bazı durumlarda sadece 3 bireyle yetinilmiş, tek koloniden örneklerin alındığı bir diğerinde ise 35 birey ölçümler için hazırlanmıştır.

Ön kanattan 6, arka bacadan 4 olmak üzere 10 karakter ölçülmüştür. Bu karakterler Kübital a değeri, Kübital b değeri, c uzunluğu, d uzunluğu, kanat uzunluğu ($L1+L2$), kanat genişliği [ön kanattan ölçülen değerler], metatarsus uzunluğu, metatarsus genişliği, femur uzunluğu ve tibia uzunluğu [arka bacadan ölçülen karakterler]'dir. L1 ve L2 değerleri birbirine eklenmiş ve kanat uzunluğu tek bir karakter olarak incelenmiştir (Şekil 2.1.1).

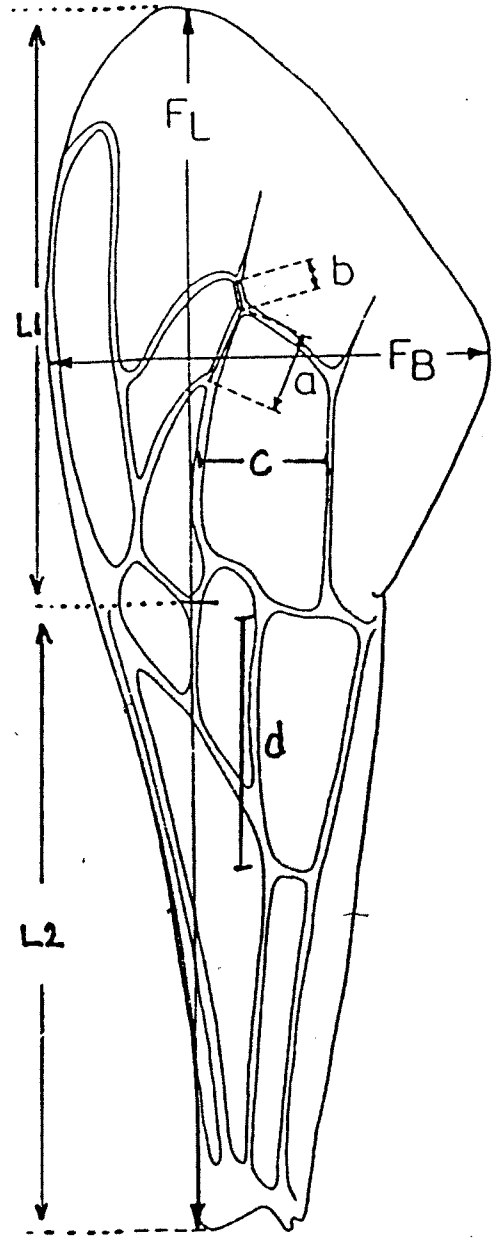
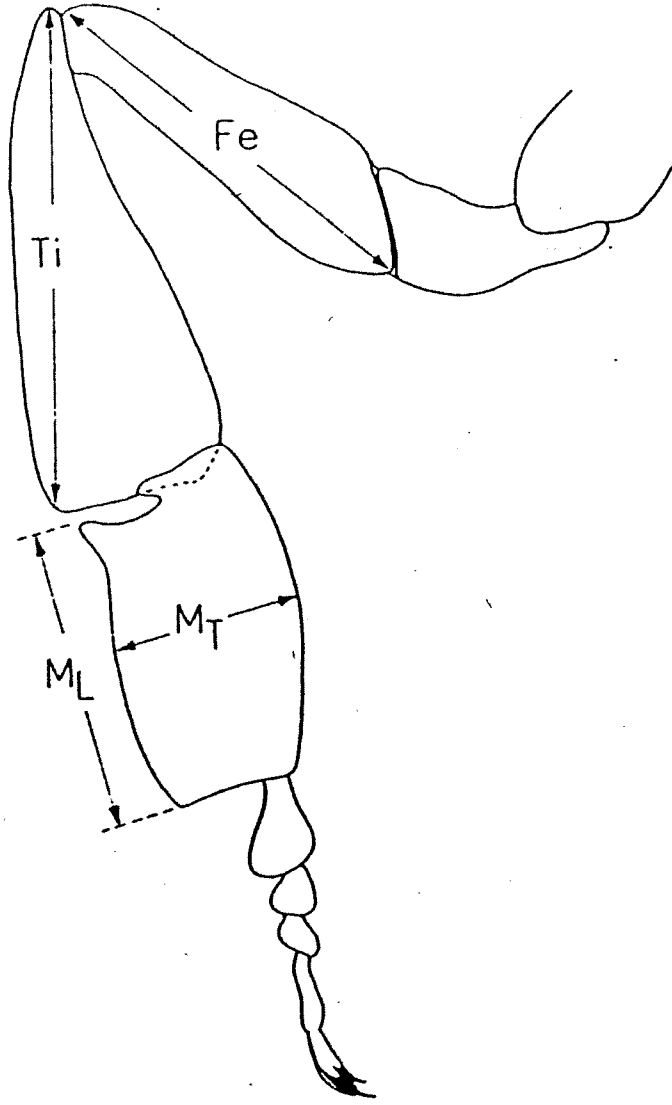
Artısı

Değeri

TOPLAM

Tablo 2.1.1. Örneklerin toplandığı il, koloni sayısı ve her analizde kullanılan örnek ve koloni sayıları

Lokasyon	Kovan Sayısı	Morfometri Birey sayısı	Elektroforez Birey sayısı	Mt DNA Kovan sayısı
Kayseri	7	35	35	4
K.Maraş	4	12	12	4
Sivas	16	112	112	15
Eskişehir	12	84	84	11
Balıkesir	15	106	106	5
Manisa	16	111	111	16
Van	25	164	163	18
Kastamonu	16	126	126	14
Zonguldak	15	104	104	12
Sinop	9	62	62	6
Trabzon	2	16	16	-
Konya	12	93	93	7
Karaman	6	50	50	6
Yozgat	4	65	65	4
Uşak	5	35	35	5
Isparta	9	59	59	9
Aydın	3	21	21	3
Malatya	3	22	22	2
Antalya	22	141	141	17
Kırklareli	27	183	183	20
Elazığ	7	55	55	7
Bingöl	15	116	116	15
Adana	13	94	94	5
Edirne	19	149	149	15
Muğla	7	77	84	7
Hatay	38	279	279	27
İzmir	4	28	28	3
Ş.Urfa	2	14	14	1
Diyarbakır	3	17	17	2
Mersin	9	63	63	8
Afyon	3	21	21	2
Kars	7	63	63	7
İğdir	5	26	26	4
Ardahan	20	105	105	15
Amasya	2	14	14	2
Artvin	18	116	115	16
Bolu	20	138	125	9
TOPLAM	420	2986	2978	330



Şekil 2.1.1. Morfometri çalışmasında kanat ve bacadan ölçülen karakterler.
(Ruttner, 1988'den alınmıştır)

İSTATİSTİK ANALİZLER

i) Temel Öğeler Analizi (PCA)

Temel öğeler analizi, ordinasyon analiz metodları arasında en önemlilerinden biridir. PCA yeni ortogonal koordinat eksenleri oluşturur, ve bu eksenler üzerine yansıtılan noktalar en yüksek varyansa sahiptir. PCA, genellikle standardize olmuş verilere uygulanır çünkü sonuçlar çalışmada kullanılan ölçümlerin birimlerinin rastgele seçilmesine duyarlıdır. Temel öğeler analizi için NTSYS-PC 1.70 paket programı kullanılmıştır (Rohlf, 1992).

ii) Ayrışım Fonksiyon Analizi (Kanonik Değişken Analizi)

Daha önce yapılan çalışmalar ışığında 406 koloniden seçilen 250 koloni üzerinde ayrışım fonksiyon analizleri yapılmıştır. Bu analiz için SYN-TAX V paket programı kullanılmıştır (Podani, 1993).

Çok yönlü ayrışım analizi olarak da bilinen bu yönteme göre, objeler analize başlamadan önce gruplara ayrılırlar. Bu analizde gruplar arasındaki farklılık yükseltilir ve grup içi varyans düşürülür böylece yeni uzayda, lineer düzlemde korelasyon göstermeyen eksenler bulunur. Ya da eigenvektörler normalize edilir ve grupların uzayda dağılımları incelenir. Toplam 250 koloniden ölçülen karakterlerin koloni averajları kullanılarak 250x10 boylarında hazırlanan veri dosyası analizlerde kullanılmıştır.

Ayrışım fonksiyon analizi sonucunda oluşan 37 ilin centroid değerleri genel taksonomik uzaklık kullanılarak analize tabi tutulmuş ve elde edilen uzaklıklar NTSYS-UPGMA yöntemi ile illerin sınıflandırılmasında kullanılmıştır (Rohlf, 1992).

iii) Uzamsal Otokorelasyon Analizi

Sistemik biyolojide ve ekoloji çalışmalarında bir organizmanın coğrafi dağılımı sırasında karakterlerinde değişim meydana gelebilmektedir. Organizmanın dağılımı sırasında karakterlerin bir lokasyonda gözlenen değerinin komşu lokasyonlarda ölçülen değerlere bağımlı olup, olmadığı konusu oldukça önemlidir. Eğer böyle bir bağımlılık varsa, sözkonusu değişken uzamsal otokorelasyon gösterir (Sokal ve Oden, 1978 a, b).

Uzamsal otokorelasyon sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan iki önemli katsayı vardır. "Moran's I" ve "Geary's C" değerleri

$$\text{Moran's I} = \frac{n \sum_{ij} w_{ij} z_i z_j}{W \sum_i z_i^2}$$

$$\text{Geary's C} = \frac{(n-1) \sum_{ij} w_{ij} (Y_i - Y_j)^2}{2W \sum_i z_i^2}$$

Bu formüllerde,

n=çalışılan lokasyon sayısı.

w_{ij} = i lokasyonu ile j lokasyonu arasındaki ilişkinin ağırlığı (w_{ji} = ye eşit olmayabilir).

z_i = Y değişkeninin i lokasyonundaki değeri ile aynı değişkenin bütün lokasyonlar ortalamasından farkı.

W= Lokasyonlar arasındaki ilişkilerde ağırlık matrisinin toplamıdır.

Moran's I değeri genellikle +1 ve -1 arasında değişir. Geary's C değeri ise komşu lokasyonlar ile pozitif korelasyon durumunda minimum 0 değerini, negatif korelasyon durumunda ise en çok 1 değeri alır. Uzamsal otokorelasyon olmadığı durumlarda Moran's I katsayısının beklenen değeri $1/n-1$ dir. Bu değer Geary's C katsayısı için 1 dir. Moran's I ve Geary's C değerlerinin sonuçları hemen hemen aynı bilgileri vermektedir. Cliff ve Ord yaptıkları Montekarlo Benzetim çalışmaları sonucunda Moran's I katsayısının Geary's C katsayısından daha iyi sonuç verdiğini rapor etmişlerdir (Cliff ve Ord, 1981).

Uzamsal otokorelasyon katsayılarının coğrafi uzaklığa karşı grafik olarak gösterimine Uzamsal Otokorelogram denir. Uzamsal otokorelogramların incelenmesi suretiyle populasyon strüktürü ve bu strüktürü etkileyen olası evrimsel ve ekolojik faktörler hakkında bilgi edinilebilir (Sokal ve Wartenberg, 1981).

Bir uzamsal otokorelogram kısa mesafe ve uzun mesafede olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Kısa mesafede pozitif otokorelasyon uzak mesafeler içeren göç sonucunda olabilir. Bir başka model çevrenin seleksiyon uygulaması ve sözkonusu alanın fiziksel şartları olabilir. Kısa mesafede negatif otokorelasyon çalışılan alanda küçük heterojen kümelerin olması ve yoğun seleksiyon baskısı altında görülebilir.

Uzun mesafede pozitif otokorelasyon dairesel veya en azından simetrik mesafelerde görülür. Dairesel bir alanda yarıçapın iki ucundaki lokasyonlar aynı çevresel etkilere maruz

kalabilirler. Örneğin bir dağın eteklerinde çevresel olarak yayılmış bir populasyon yada bir göl etrafında yayılmış olan bir populasyon uzak mesafede pozitif uzamsal otokorelasyon değeri verebilir. Uzun mesafede negatif otokorelasyon, birbirinden farklı olan populasyonların birbirlerinden uzakta olması durumunda görülür.

Uzun mesafede negatif otokorelasyon, kısa mesafede pozitif otokorelasyon ile aynı uzamsal otokorelogramda bir araya gelebilir. Böyle bir yapı büyük alanlara yayılmış olan doğal populasyonlarda görülür. Bu yapıya "Cline" adı verilir.

37 il koloni toplam averajları ve 37 ilin meridyen ve paralel değerleri (Önde ve Kence, 1995) kullanılarak uzamsal otokorelasyon analizi yapılmıştır. 10 karakterin lokasyonlar arasında gösterdiği değişiklik Moran-I değeri kullanılarak ölçülmüş ve Uzamsal otokorelogram üzerinde gösterilmiştir.

ELEKTROFOREZ

İzoenzim çalışması için kanat ve bacakları morfometrik ölçümlerde kullanılan örneklerin toraksları 500ml distile su içerisinde ezilip elektroforez yapılmaya kadar -80°C de saklanmıştır. Her koloniden 7 çalışılmakla birlikte bazı lokasyonlarda daha fazla veya daha az birey de çalışılmıştır.

Elektroforez protein, amino asit, DNA, RNA moleküllerinin ayırımında rol oynayan önemli bir metottür. Temelde biyolojik moleküllerin elektriksel yüklerine, ağırlık ve şekillerini baz alıp elektrik akımında bu tür molekülleri katı bir matris üzerinde ayıran biyokimyasal bir metottür. Bu çalışmada katı matris olarak patatesten elde edilen nişasta (S-4501, Sigma) kullanılmıştır.

i) Nişasta Jelin hazırlanması

Bu çalışmada 12%(w/v) nişasta jel kullanılmıştır. Nişasta tampon solusyonu içerisinde karıştırılarak kaynatılır (Tablo 2.2.1). Karışım berrak hale geldikten sonra içerisinde oluşan hava kabarcıkları su trompu ile uzaklaştırılır ve daha sonra cam üzerine yerleştirilen plastik çerçeve içerisine (25mmx18mmx3mm) dokulur ve soğumaya bırakılır. Heterojen polimerizasyondan dolayı jelin üst kısmı (1mm) tel veya ip aracılığı ile kesilip alınır. Daha sonra tarak yardımı ile jel üzerinde örneklerin uygulanacağı kuyucuklar açılır.

ii) Örneklerin uygulanması

Daha önce 500µl distile su içerisinde ezilip hazırlanan arı toraksı homojenati Whatman 3M kağıdına (2mmx2mm) emdirilip örnek kuyucuklarına ince uçlu bir forsep yardımı ile uygulanır. 25 cm uzunluğunda bir jel üzerine 3-4 değişik uygulama sıraları birbirine paralel bir şekilde açılabilir ve bu yönteme “Piggybacking” (McDonald, 1985) ismi verilir. Böylece hem kimsiyal malzemeden hem de zamandan tasarruf edilmiş olur.

iii) Elektroforez çalışması

Hazırlanan nişasta jelle örnekler uygulandıktan sonra katı nişasta bloğu elektroforez tankı içerisine soğutma plakasının üzerine yerleştirilir. Tampon solüsyon her iki rezervuara konulduktan sonra eksi ve artı elektrodlar yerleştirilir. Jel ile tampon solüsyon arasındaki bağlantı sağlandıktan sonra güç kaynağında uygulanacak voltaj ve akım ayarlanıp elektroforez başlatılır. Elektroforez enzim sistemine bağlı olarak 4-6 saat arasında sona erdirilir (Tablo 2.2.1).

Tablo 2.2.1. Enzimlerin elektroforez şartları ve kullanılan tampon solüsyonlar

Enzim	Tampon Solüsyonu	Çalışma Sıcaklığı	Voltaj ve Akım	Çalışma Süresi	Kaynaklar
PGM	Tris-Maleik pH 7.0	4°C	170V 30mA	5 saat	McDonald, 1985 Shaw and Prasad, 1970
PGI	Tris-Sitrat pH 7.0	4°C	250V 25mA	6 saat	McDonald, 1985 Shaw and Prasad, 1970
MDH	Tris-HCl PH 8.6	4°C	150V 10mA	6 saat	Smith ve ark., 1971; 1972 Shaw and Prasad, 1970
ME	Tris-HCl PH 8.6	4°C	150V 10mA	6 saat	Smith ve ark., 1971; 1972 Shaw and Prasad, 1970
HK	Tris-Sitrat pH 7.0	4°C	150V 15mA	5 saat	Del Lama, 1988
EST-3	Tris-Sitrat pH 7.0	4°C	150V 15mA	5 saat	Bruckner, 1974 Shaw and Prasad

iv) Jelin boyanması

Bu çalışmada histokimyasal boyama sistemi kullanılmış, florojenik boyama yapılmamıştır. Histokimyasal boyama iki şekilde yapılmıştır. Birincisi “agar overlay” yöntemi diğeri ise direk boyamadır. “Agar overlay” yönteminde boyamada kullanılacak bütün kimyasal maddeler (substrat, enzim, kofaktörler, iyonlar) uygun boyama solüsyonu içerisinde (ışıktan uzakta) eritilir (Tablo 2.2.2). Diğeri bir yandan agar (10mg/ml) yine boyama solüsyonu içerisinde eritilir ve soğumaya bırakılır (40°C ye kadar soğuması beklenir). Soğuyan agar diğeri boya solüsyonu ile karıştırılıp nişasta jel üzerine dökülür. Agar donduktan sonra nişasta jel 37°C de 30 dakika veya mavi bantlar belirene kadar inkube edilir. Direk boyamada ise (sadece EST-3), boyama maddeleri uygun boyama solüsyonu içerisinde eritildikten sonra jel üzerine dökülür, boya solüsyonunun jel üzerinde kalmasını sağlamak için havlu kağıtlar kullanılır.

Tablo 2.2.2. Enzimlerin boyanmasında kullanılan tampon solüsyonlar ve maddeler

EST-3	PGM	MDH	ME	HK	PGI
Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.6	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.6	Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0
α - β -naftil asetat (Aseton içerisinde) ve Fast Blue BB tuzu	Glukoz-1- Fosfat, NADP, MgCl ₂ , Glukoz-p- Fosfat dehidrogenaz, PMS, MTT, Agar solüsyonu	(-)-L-Malik asit, NAD, PMS, MTT, Agar solüsyonu	(-)-L-Malik asit, NADP, PMS, MTT, Agar solüsyonu	Glukoz, ATP, PMS, MTT, MgCl ₂ , NADP, Glukoz-6- Fosfat dehidrogenaz, Agar solüsyonu	Fructoz-6- Fosfat, NADP, MgCl ₂ , PMS Glukoz-6- Fosfat dehidrogenaz, MTT, Agar solüsyonu

v) Jelin yorumlanması

Bantlar belirdikten sonra uygulandıkları nokta ile yürüdükleri nokta arasındaki mesafe ölçülür ve en çok görülen bant 100 kabul edilir, diğeri bantların relatif yürüme uzaklıkları hesaplanır ve bantlar bundan sonra bu rakamlar ile adlandırılır. Çalışılan enzimlerde 2 farklı yapıya rastlanmıştır. Dimerik ve monomerik olarak adlandırılan bu enzim yapıları, enzim yapısında bulunan alt ünite sayısına göre isimlendirilmiştir. Monomerik yapıdaki enzimde tek alt ünite vardır (EST-3, PGM-1, HK). Dimerik enzimin yapısında ise iki alt ünite bulunmaktadır (MDH). Monomerik enzimlerde homozigot bireyler tek banta sahiptir, heterozigot bireyler ise iki banttan oluşur. Monomerik enzimlerde olduğu gibi, dimerik enzimlerde de homozigot bireyler tek banttan oluşurken, heterozigot bireyler üç bant

iv) Jelin boyanması

Bu çalışmada histokimyasal boyama sistemi kullanılmış, florojenik boyama yapılmamıştır. Histokimyasal boyama iki şekilde yapılmıştır. Birincisi “agar overlay” yöntemi diğeri ise direk boyamadır. “Agar overlay” yönteminde boyamada kullanılacak bütün kimyasal maddeler (substrat, enzim, kofaktörler, iyonlar) uygun boyama solüsyonu içerisinde (ışıktan uzakta) eritilir (Tablo 2.2.2). Diğeri bir yandan agar (10mg/ml) yine boyama solüsyonu içerisinde eritilir ve soğumaya bırakılır (40°C ye kadar soğuması beklenir). Soğuyan agar diğeri boya solüsyonu ile karıştırılıp nişasta jel üzerine dökülür. Agar donduktan sonra nişasta jel 37°C de 30 dakika veya mavi bantlar belirene kadar inkube edilir. Direk boyamada ise (sadece EST-3), boyama maddeleri uygun boyama solüsyonu içerisinde eritildikten sonra jel üzerine dökülür, boya solüsyonunun jel üzerinde kalmasını sağlamak için havlu kağıtlar kullanılır.

Tablo 2.2.2. Enzimlerin boyanmasında kullanılan tampon solüsyonlar ve maddeler

EST-3	PGM	MDH	ME	HK	PGI
Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.6	Tris-HCl Boya tamponu pH 8.6	Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0	Tris-HCl Boya tamponu pH 7.0
α - β -naftil asetat (Aseton içerisinde) ve Fast Blue BB tuzu	Glukoz-1- Fosfat, NADP, MgCl ₂ , Glukoz-p- Fosfat dehidrogenaz, PMS, MTT, Agar solüsyonu	(-)-L-Malik asit, NAD, PMS, MTT, Agar solüsyonu	(-)-L-Malik asit, NADP, PMS, MTT, Agar solüsyonu	Glukoz, ATP, PMS, MTT, MgCl ₂ , NADP, Glukoz-6- Fosfat dehidrogenaz, Agar solüsyonu	Fructoz-6- Fosfat, NADP, MgCl ₂ , PMS Glukoz-6- Fosfat dehidrogenaz, MTT, Agar solüsyonu

v) Jelin yorumlanması

Bantlar belirdikten sonra uygulandıkları nokta ile yürüdükleri nokta arasındaki mesafe ölçülür ve en çok görülen bant 100 kabul edilir, diğeri bantların relatif yürüme uzaklıkları hesaplanır ve bantlar bundan sonra bu rakamlar ile adlandırılır. Çalışılan enzimlerde 2 farklı yapıya rastlanmıştır. Dimerik ve monomerik olarak adlandırılan bu enzim yapıları, enzim yapısında bulunan alt ünite sayısına göre isimlendirilmiştir. Monomerik yapıdaki enzimde tek alt ünite vardır (EST-3, PGM-1, HK). Dimerik enzimin yapısında ise iki alt ünite bulunmaktadır (MDH). Monomerik enzimlerde homozigot bireyler tek banta sahiptir, heterozigot bireyler ise iki banttan oluşur. Monomerik enzimlerde olduğu gibi, dimerik enzimlerde de homozigot bireyler tek banttan oluşurken, heterozigot bireyler üç bant

şeklinde belirirler. Elektroforez sonucunda bütün bireyler çalışılan enzim sistemleri bakımından homozigot-heterozigot olarak relatif yürüme uzaklıkları kullanılarak kaydedilmiştir.

MİTOKONDİRİ DNA ÇALIŞMASI

i) Total nükleik asit izolasyonu

Mitokondri çalışmasında kullanılan total nükleik asitler bireysel işçi arı toraksından Sheppard ve McPheron'un (1991) metodu kullanılarak izole edilmiştir. Bu metod temelde fenol/kloroform/izoamilalkol (25:24:1) izolasyonu ve etanol çöktürmesine dayanmaktadır.

Bireysel arı toraksları 1.5 ml ependorf tüpü içerisine konulup üzerine 250µl soğuk solüsyon A eklenir. Toraks bu solüsyon içerisinde otomatik pipet ucu ile ezilir. Daha sonra 250 µl solüsyon B eklenir, tüp iyice karıştırılıp buz üzerinde 15 dakika bekletilir (Tablo 2.3.1). Bekleme sonucunda toplam hacimde (500µl) fenol (tamponlanmış, pH 8.0) eklenir ve tüp iyice karıştırılır, renk süt şeklini alır. 4°C de ve 7000 rpm de 5 dakika boyunca çevrilen tüpler buz içerisine alınır. İnce uçlu pipet ile su fazı alınıp temiz bir tüp içerisine aktarılır. Bir sonraki aşamada bir önceki basamak takip edilir. Temiz tüpe aktarılan sulu fazın üzerine 250 µl fenol ve 250µl kloroform/izoamilalkol (24:1) eklenir ve tüp iyice karıştırılıp bir önceki basamakta olduğu gibi 4°C de ve 7000 rpm de 5 dakika boyunca çevrilir. Aynı şekilde otomatik pipet ile sulu faz alınıp yeni bir tüpe aktarılır. Bu aşamada temiz tüpe aktarılan sulu faz üzerine 500µl kloroform/izoamilalkol (24:1) eklenir. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra son kez 4°C de ve 7000 rpm de 5 dakika boyunca çevrilir. Üst sulu faz alınıp yeni tüpe aktarılır ve üzerine 50ul 3M Sodyum asetat ve 1ml soğuk saf etanol eklenir. Bu safhada DNA iplikçikleri belirginleşir. Tüpün kapağı kapatılıp yavaşça 10 defa alt üst edilen tüp -20°C de 2 saat bekletilir. Bu süre sonucunda tüp santrifüjde 4°C de ve 12.000 rpm de 30 dakika boyunca çevrilir. Bu safhadan sonra sulu kısım dökülüp çökelti kısa süre açık havada kurutulur.

Tablo 2.3.1. Solüsyon A ve Solüsyon B'nin hazırlanışı

Solüsyon A (5ml)	Solüsyon B (5ml)
25µl 2M Tris	750µl 2M Tris
60µl 5M NaCl	620µl 10% SDS
500µl 50% Sukroz	500µl 50% Sukroz
100µl 0.5M EDTA	200µl 0.5M EDTA
4.3ml distile su	2.5ml distile su
pH 7.5	pH 9.0

100µl Tris-EDTA içerisinde çözdürülen DNA üzerine 10µl 3M sodyum asetat ve 500 µl soğuk etanol eklenir ve 10 kez nazikçe alt üst edildikten sonra -20°C ye 2 saat veya gece boyu konulur. Bir önceki aşamada olduğu gibi tüp 4°C de ve 12000 rpm de 30 dakika boyunca dondurulur, sulu kısım dökülüp çökelti kurumaya bırakılır. Kuruyan çökelti 100µl Tris-EDTA içerisinde eritilir ve deneyler için hazır hale getirilip -80 °C de saklanır.

ii) Restriksiyon enzim kesimi

Total mitokondri DNA sının kesimi 4 enzim kullanılarak yapılmıştır. Bu enzimler, uygun tampon solüsyonları ve kesim dizileri Tablo 2.3.2’de verilmiştir. Restriksiyon enzim kesimi uygun sıcaklıkta ve sürede aşağıda verilen karışım içerisinde gerçekleştirilmiştir.

Enzim	1.1µl
Tampon solüsyon	2.1µl
Distile Su	3.0µl
DNA	15.0µl

Bu miktarlarda hazırlanan karışım 750µl ependorf tüpü içerisine konulup ayarlı kuru sıcak blok içerisinde inkube edilmiştir.

Tablo 2.3.2. Bu çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri

Restriksiyon Enzimi	Tandığı Dizi	Tampon Solüsyonu	Çalıştığı Sıcaklık (°C)	Firma
<i>EcoR</i> I	5'-G↓AATT C-3' 3'-C TTAA↑G-5'	H	37	Boehringer Mannheim
<i>Xba</i> I	5'-T↓CTAG A-3' 3'-A GATC↑T-5'	React II	37	Gibco-BRL
<i>Bgl</i> II	5'-A↓GATC T-3' 3'-T CTAG↑A-5'	M	37	Boehringer Mannheim
<i>Bcl</i> I	5'-T↓GATC A-3' 3'-A CTAG↑T-5'	React II	50	Gibco-BRL
<i>Hinf</i> I	5'-G↓ANT C-3' 3'-C TNA↑C-5'	React II	37	Gibco-BRL
<i>Taq</i> I	5'-T↓GC A-3' 3'-A CG↑T-5'	React II	65	Gibco-BRL
<i>Dra</i> I	5'-TTT↓AAA-3' 3'-AAA↑TTT-5'	React I	37	Gibco-BRL
<i>Rsa</i> I	5'-GT↓AC-3' 3'-CA↑TG-5'	React I	37	Gibco-BRL
<i>Cfo</i> I	5'-G CG↓C-3' 3'-C↑GC G-5'	React I	37	Gibco-BRL
<i>Hae</i> III	5'-GG↓CC-3' 3'-CC↑GG-5'	React II	37	Gibco-BRL

iii) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu gerek nükleer genomda gerekse mitokondri genomunda arzu edilen genin veya gen parçalarının enzim, primerlar, nükleotidler, magnezyum klorit gibi maddeler kullanılarak çoğaltılması olayıdır. Temel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada karşılıklı DNA dizilerinin birbirinden ayrılması gerekir (denaturasyon). Bu aşamadan sonra istenilen bölgenin 5' ve 3' uçlarına karşılık oluşturan ileri ve geri baz dizileri (primerlar, yaklaşık 20 baz uzunluğunda) karşılığı gelen bölgelere bağlanır. 3. Aşamada ise Taq polimeraz enzimi ortamda bulunan nükleotidleri karşılıklarına uygun şekilde birbirine ekler. Böylece iki diziden 4 dizi oluşmuş olur. Bu döngü 30-45 arasında tekrar edilir ve 2ⁿ sayıda DNA dizisi çoğaltılmış olur. PCR da bir örnek için kullanılan maddeler ve miktarları (Promega Taq polimeraz enzimine göre)

Distile su	14.5µl
Nükleotidler	4µl (dATP, dTTP, dCTP, dGTP, herbirinden 1µl)
İleri Primer (F)	1µl (20mM)
Geri Primer (R)	1µl (20mM)
Tampon solüsyon	2.5µl
Magnezyum klorit	1.5µl
Taq Polimeraz	0.25µl

Örnek sayısına göre ortak bir karışım hazırlanıp bireysel tüplere aktarılır. En son model DNA eklenir. Daha sonra PCR makinesine konulup, program yapılır ve çalıştırılır. Her primerin kendisine özgü bir bağlanma sıcaklığı vardır. Dolayısı ile en kritik aşama 2. aşamadır. Denaturasyon 1. aşama genelde 94 derecede 1 dakika olarak belirlenir. 2. aşama primerin bağlanma aşamasıdır (Tablo 2.3.3). Bu aşamada süre ve sıcaklık primerin GC miktarına bağlıdır. Örneğin GC miktarı %50 olan bir primerde reaksiyon sıcaklığı ve süresi 50°C ve 1 dakikadır. Nükleotid dizilerinin eklenme safhası genelde 72 derecede yapılır bu aşama da 1 dakika sürer. Bu 3 aşama 30 ile 45 defa tekrar edilir ve program bir sonraki programa bağlanır, bu aşamada son nükleotid bağlanma aşaması 5-10 dakika arasında devam ettirilir ve program son programa bağlanır, bu programda ise sıcaklık 4 dereceye düşürülüp DNA'nın bozulması engellenmiş olur.

Tablo 2.3.3. Çalışmada kullanılan primer çiftleri

Primer	DNA dizisi
ND 2	ILE 5'-TGA TAA AAG AAA TAT TTT GA-3' L1 5'-GAA TCT AAT TAA TAA AAA A-3'
A+T	L1(PHB17L1) 5'-GAA TCT AAT TAA TAA AAA A-3' R1(PHB17R1) 5'-AAC TAA ATT AAT AAA TTT GG-3'
ITS1	1975F 5'-TAA CAA GGT TTC CGT AGG TG-3' 35R 5'-AGC TRG CTG CGT TCT TCA TCG A-3'
CO-I	R 5'-TGC AAA TAC TGC ACC TAT TG-3' F 5'-TTA AGA TCC CCA GGA TCA TG-3'
CO-I VE CO-II	F 5'-TCT ATA CCA CGA CGT TAT TC-3' R 5'-GAT CAA TAT CAT TGA TGA CC-3'

iv) PCR sonucu elde edilen nükleer ve mitokondrial DNA bölgesinin restriksiyon enzim kesimi

Bu çalışmada PCR sonucunda çoğaltılan bölgeler genelde 1000 baz çifte sahip bölgelerdir, bu bölgelerde 6 baz dizisi tanıyabilen restriksiyon enzimleri ile kesilmeleri sonucunda farklılık bulmak çok zordur. Bu nedenle PCR sonucunda elde edilen bölgeler 4 baz tanıyan restriksiyon enzimleri ile kesilmişlerdir (*Cfo* I, *Rsa* I, *Hae* III, *Taq* I, *Alu* I ve *Hinf* I). Kesim işlemi daha önce anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Kesim işlemi tamamlandıktan sonra agaroz jel üzerinde bantlar yürütülüp, UV ışığı altında gözlenip polaroid fotoğraf makinesi ile fotoğraflanmıştır.

v) Agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi iki farklı şekilde yapılmıştır. Total mitokondri DNA'sının restriksiyon enzimleri ile kesilmesinden sonra elde edilen parçalar 1.5% normal agaroz (BioRad) da yürütülmüştür. PCR sonucunda elde edilen DNA parçasının restriksiyon enzim ile kesiminden sonra oluşan küçük parçacıkların gözlenmesi için ise 1 %normal (BioRad) agaroz +1.5 %NuSieve (FMC BioProducts) agarose karıştırılmıştır. Genellikle küçük jel veya orta boyda jeller kullanılmıştır. Agaroz tartıldıktan sonra TAE (Tris-Asetat-EDTA) tampon solüsyonu içerisinde mikrodalga fırın içerisinde eritilmiş ve bu karışım içerisinde tarak koyulan jel tablası içerisine dökülmüştür. 15-20 dakika sonra agaroz tamamen donduktan sonra tarak çıkarılıp jel tablası mini jel elektroforez aletinin içine yerleştirilip TAE tampon solüsyonu ile üzeri kapanacak şekilde doldurulmuştur (Tablo 2.3.4).

vi) Agaroz jele örneklerin uygulanması

Restriksiyon işlemi tamamlandıktan sonra tüplere uygulama boyası konulur. Bu boya mavi renkte olup sukroz şekeri içerdiğinden dolayı DNA ya bir ağırlık kazandırmakta ve jele uygulandığında kuyucukların dibine birikmektedir (Tablo 2.3.4). Örnekler jele uygulandıktan sonra son sıraya ise büyüklük açısından standart DNA yüklenir. Bu çalışmada iki farklı standart kullanılmıştır. Birincisi büyük DNA parçalarını ağırlıklarının bulunmasında kullanılan λ DNA/*Hind* III dir. Bu standart toplam 8 DNA parçasından oluşmuştur ve bu parçalar büyükten küçüğe 23130, 9416, 6557, 4361, 2322, 564, ve 125 baz çiftinden oluşur. İkinci standart ise daha küçük DNA parçalarının ağırlıklarının belirlenmesi için kullanılan ϕ X174 RF DNA /*Hae* III dir. Bu standart 10 DNA parçasından oluşmuştur ve bu parçalar 1353, 1078, 872, 603, 310, 271, 234, 194, 118, ve 72 baz çiftinden oluşur.

Tablo 2.3.4. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan tamponunun ve yükleme tamponunun hazırlanışı.

Tampon solüsyon ismi	İçeriği
TAE	50x: 242 gr Tris base 57.1 ml glasiyal asetik asit 100 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0)
Jel yükleme tamponu	6x: 0.25% bromo fenol mavisi 0.25% zilin sayanol 40% (w/v) sukroz (distile su içerisinde)

vii) Jelin EtBr ile boyaması ve UV ışığı altında fotoğraflanması

Elektroforez sona erdikten sonra agaroz jel EtBr solüsyonu içerisinde jelin büyüklüğüne göre 15 dakika ile 30 dakika arasında sallamalı platformda inkube edilir. Bu süre sonucunda jel EtBr solüsyonundan çıkarılıp distile su içerisine konulur ve fazla EtBr'dan 15 dakika ile 30 dakika arasında çalkalanıp arındırılır. Daha sonra jel karanlık odada UV ışık kutusu üzerine alınıp polaroid kamera ve kırmızı ışık filtresi altında fotoğraflanır.

BÖLÜM III BULGULAR

MORFOMETRİ

Bal arılarında ön kanata ait 6 karakter, arka bacağa ait 4 karakter ölçülmüştür. Bu ölçümlerin 37 ile ait ortalamaları ve standart hataları Tablo 3.1.1'de verilmiştir. Bu tabloya bakılarak Ş.Urfa arılarının 37 ile ait arılar içerisinde en küçük arılar olduğunu söyleyebiliriz. Bunun dışında en büyük arıları tablodan tespit etmek oldukça güçtür.

Morfometrik ölçüm yapılan 250 koloni ortalaması alınarak varyans analizi ile karakterlerin 37 ilde farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır. Tablo 3.1.2'ye göre tüm karakterler iller arasında yüksek düzeyde istatistiksel bakımdan anlamlı farklar göstermektedir ($P<0.001$).

Değişkenler arasındaki korelasyonlara baktığımızda (Tablo 3.1.3) kübital a değişkeninin kanat genişliği, metatarsus uzunluğu ve metatarsus genişliği, femur, tibia uzunlukları ile çok küçük korelasyonlara sahip olduğu görülebilir. Kübital b değişkeni ise d değişkeni, kanat uzunluğu ve femur uzunluğu arasında ise zayıf korelasyonlar vardır. c değişkeni ise kanat genişliği, metatarsus genişliği, ve tibia uzunluğu ile yüksek korelasyona sahiptir. d değişkeni, kanat uzunluğu ile; kanat genişliği, metatarsus genişliği, ve tibia uzunluğu ile; metatarsus genişliği değişkeni ise tibia uzunluğu ile yüksek korelasyon göstermektedir. Buna göre kübital a ve kübital b karakterlerinin birbirinden ve diğer değişkenlerden oldukça bağımsız olduğunu söylemek mümkündür. Kanat uzunluğu, femur uzunluğu, tibia uzunluğu gibi değişkenler daha çok vücut iriliği ile ilgili değişkenlerdir.

Lokasyon	Kubital a	Kubital b	c	d	Kanat Uzunluğu	Kanat Genisliği	Metatarsus uzurluğu	Metatarsus Genisliği	Femur Uzunluğu	Tibia Uzunluğu
1. Artvin	1.66±0.01	0.78±0.01	2.71±0.01	5.82±0.02	27.63±0.08	9.10±0.03	6.01±0.04	3.65±0.01	9.39±0.07	7.56±0.04
2. Amasya	1.60±0.04	0.74±0.06	2.59±0.00	5.71±0.00	26.34±0.03	8.89±0.19	5.96±0.20	3.57±0.01	9.27±0.07	7.31±0.19
3. Ardahan	1.63±0.01	0.76±0.01	2.70±0.01	5.81±0.02	27.40±0.05	9.14±0.04	6.12±0.04	3.67±0.02	9.58±0.06	7.59±0.03
4. Iğdir	1.62±0.02	0.72±0.04	2.80±0.10	5.75±0.06	27.12±0.20	9.27±0.40	6.22±0.12	3.60±0.11	9.21±0.27	7.83±0.32
5. Kars	1.63±0.03	0.84±0.01	2.61±0.02	5.75±0.03	27.00±0.07	8.85±0.05	5.96±0.05	3.51±0.04	9.41±0.09	7.53±0.03
6. Hatay	1.61±0.01	0.66±0.01	2.48±0.01	5.57±0.02	26.09±0.08	8.38±0.03	5.97±0.03	3.53±0.02	8.57±0.04	7.27±0.03
7. Adana	1.68±0.02	0.75±0.01	2.57±0.02	5.91±0.05	26.15±0.17	8.55±0.06	6.00±0.08	3.49±0.01	8.70±0.12	7.40±0.05
8. Aydın	1.61±0.03	0.69±0.06	2.72±0.06	5.97±0.08	27.13±0.38	9.04±0.13	5.98±0.24	3.56±0.07	8.92±0.10	7.67±0.02
9. Isparta	1.67±0.04	0.76±0.02	2.69±0.03	5.91±0.05	27.75±0.21	9.07±0.07	6.14±0.05	3.55±0.03	8.81±0.12	7.54±0.10
10. Malatya	1.70±0.07	0.75±0.01	2.85±0.02	5.84±0.04	27.83±0.36	9.19±0.00	6.08±0.13	3.69±0.03	8.87±0.21	7.63±0.21
11. K. Maras	1.74±0.08	0.78±0.09	2.61±0.05	5.84±0.11	27.00±0.31	8.74±0.05	5.92±0.09	3.57±0.09	8.56±0.11	7.41±0.09
12. Balıkesir	1.60±0.03	0.74±0.02	2.59±0.01	5.85±0.04	27.01±0.14	9.00±0.05	5.75±0.06	3.55±0.03	8.91±0.08	7.76±0.05
13. Kayseri	1.68±0.04	0.74±0.01	2.64±0.02	5.71±0.02	27.63±0.11	8.93±0.08	6.08±0.05	3.62±0.04	8.46±0.07	7.40±0.08
14. Manisa	1.57±0.02	0.72±0.01	2.57±0.02	5.85±0.02	27.20±0.10	8.80±0.04	5.89±0.04	3.54±0.01	8.84±0.04	7.65±0.05
15. Eskişehir	1.70±0.02	0.73±0.01	2.68±0.01	6.01±0.02	28.06±0.08	9.10±0.04	6.07±0.05	3.60±0.02	9.09±0.04	7.78±0.04
16. Kırklareli	1.64±0.02	0.61±0.01	3.01±0.05	5.78±0.02	27.30±0.05	10.58±0.18	6.19±0.04	3.95±0.04	9.26±0.07	8.64±0.12
17. Zonguldak	1.54±0.03	0.64±0.01	3.23±0.02	5.95±0.03	27.97±0.07	11.09±0.05	6.69±0.04	4.06±0.04	9.86±0.08	9.17±0.04
18. Usak	1.69±0.04	0.66±0.01	2.58±0.02	5.77±0.03	27.69±0.09	8.99±0.04	5.98±0.04	3.57±0.01	8.44±0.03	7.19±0.03
19. Sincop	1.66±0.02	0.69±0.02	2.77±0.02	5.98±0.03	27.56±0.19	9.25±0.05	6.12±0.04	3.63±0.02	8.82±0.09	7.82±0.05
20. Yozgat	1.68±0.02	0.77±0.02	2.65±0.05	5.95±0.11	28.19±0.32	9.09±0.17	6.14±0.06	3.69±0.04	8.73±0.02	7.69±0.02
21. Van	1.58±0.02	0.66±0.01	3.02±0.04	5.81±0.04	27.37±0.15	10.27±0.20	6.20±0.06	3.87±0.04	9.11±0.08	8.73±0.16
22. Konya	1.65±0.01	0.71±0.02	2.58±0.02	6.21±0.34	27.75±0.09	8.98±0.04	6.13±0.03	3.55±0.02	8.84±0.07	7.65±0.04
23. Karaman	1.62±0.03	0.73±0.02	2.58±0.02	5.86±0.02	27.73±0.11	8.96±0.06	5.93±0.04	3.56±0.02	8.65±0.02	7.68±0.03
24. Muğla	1.58±0.04	0.66±0.02	2.50±0.02	5.68±0.04	27.34±0.25	8.68±0.03	6.18±0.04	3.58±0.02	9.21±0.08	7.60±0.06
25. Antalya	1.57±0.02	0.67±0.01	2.52±0.01	5.63±0.03	26.88±0.15	8.70±0.06	6.22±0.03	3.60±0.01	8.75±0.11	7.55±0.08
26. Afyon	1.50±0.00	0.75±0.03	2.52±0.01	5.55±0.06	26.16±0.08	8.89±0.11	6.33±0.08	3.57±0.02	8.27±0.03	7.30±0.01
27. Kastamonu	1.52±0.02	0.78±0.01	2.60±0.01	5.63±0.02	26.63±0.07	9.03±0.03	6.16±0.04	3.56±0.02	8.15±0.07	7.08±0.07
28. Bolu	1.60±0.02	0.75±0.02	2.64±0.02	5.80±0.03	27.17±0.10	9.12±0.05	6.15±0.09	3.56±0.02	8.74±0.08	7.54±0.12
29. Mersin	1.62±0.03	0.73±0.01	2.58±0.02	5.67±0.05	26.90±0.21	8.75±0.04	5.96±0.10	3.57±0.03	8.73±0.13	7.45±0.04
30. S. Urfa	1.54±0.02	0.68±0.02	2.50±0.03	4.85±0.05	24.10±0.11	8.26±0.02	5.85±0.01	3.44±0.08	7.93±0.01	7.02±0.15
31. Diyarbakır	1.53±0.04	0.72±0.05	2.59±0.09	5.42±0.14	25.81±0.26	8.88±0.04	6.22±0.13	3.53±0.07	8.40±0.06	7.44±0.15
32. Bingöl	1.58±0.02	0.71±0.02	2.61±0.01	5.52±0.01	26.49±0.07	8.98±0.04	6.18±0.03	3.61±0.02	8.16±0.06	7.31±0.07
33. Sivas	1.52±0.01	0.68±0.02	2.57±0.02	5.98±0.02	26.97±0.07	9.04±0.03	6.20±0.03	3.67±0.03	8.63±0.02	7.50±0.03
34. Edirne	1.63±0.03	0.72±0.01	2.55±0.02	5.84±0.04	27.06±0.10	9.01±0.05	6.03±0.05	3.59±0.02	8.63±0.07	7.38±0.06
35. Izmir	1.71±0.03	0.74±0.02	2.64±0.01	5.82±0.07	27.39±0.10	9.02±0.07	5.77±0.04	3.58±0.05	8.99±0.05	7.38±0.03
36. Elazığ	1.61±0.03	0.77±0.02	2.60±0.01	5.80±0.03	26.53±0.22	8.92±0.06	6.01±0.05	3.61±0.02	8.50±0.14	7.12±0.12
37. Trabzon	1.70±0.06	0.74±0.02	2.84±0.02	5.98±0.02	27.42±0.20	9.10±0.00	6.26±0.22	3.70±0.12	8.81±0.12	8.00±0.00

Tablo 3.1.1. Morfometrik karakterlere ait ölçümlerin 37 ile ait ortalamaları ve standart hataları (3.8cm=1mm)

Tablo 3.1.2. Morfometrik değişkenlerin 37 il arasında varyans analizleri
(F değerleri)

Değişken	Gruplar arası Kareler toplamı	Grup içi kareler toplamı	F değeri
1	0.02	0.00	2.919***
2	0.02	0.00	4.381***
3	0.27	0.00	58.965***
4	0.17	0.02	10.988***
5	2.66	0.20	13.427***
6	3.36	0.05	71.388***
7	0.20	0.04	5.130***
8	0.16	0.00	17.484***
9	1.18	0.08	14.529***
10	2.07	0.06	32.453***

Tablo 3.1.3. Değişkenler arası korelasyon matrisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.000	0.102	0.062	0.138	0.270	-0.004	-0.098	0.000	0.057	-0.027
2	0.102	1.000	-0.254	0.033	0.051	-0.332	-0.278	-0.331	-0.064	-0.380
3	0.062	-0.254	1.000	0.312	0.402	0.937	0.444	0.823	0.528	0.848
4	0.138	0.033	0.312	1.000	0.708	0.314	0.152	0.285	0.415	0.300
5	0.270	0.051	0.402	0.708	1.000	0.399	0.210	0.356	0.488	0.380
6	-0.004	-0.332	0.937	0.314	0.399	1.000	0.443	0.850	0.508	0.849
7	-0.098	-0.278	0.444	0.152	0.210	0.443	1.000	0.440	0.202	0.443
8	0.000	-0.331	0.823	0.285	0.356	0.850	0.440	1.000	0.444	0.744
9	0.057	-0.064	0.528	0.415	0.488	0.508	0.202	0.444	1.000	0.614
10	-0.027	-0.380	0.848	0.300	0.380	0.849	0.443	0.744	0.614	1.000

250 bireyin 10 karakter üzerinde yapılan ölçümleri temel öğeler analizine tabi tutulmuştur. Bu analizlerin sonuçları Şekil 3.1.1, ve Tablo 3.1.4 ve Tablo 3.1.5'de görülmektedir. Bu sonuçlara göre ilk üç temel öğe, değişkenlerdeki toplam varyasyonun %71.27'sini açıklamaktadır. Birinci temel öğe toplam varyasyonun %45.96 sini ikinci temel öğe toplam varyasyonun %15.57'sini ve üçüncü temel öğe ise toplam varyasyonun %9.74'ünü açıklamaktadır. Birinci temel öğe genelde bal arıları arasında vücut iriliği farklarını, diğer temel öğeler ise vücut şeklindeki farklılıkları gösterirler. Tablo 3.1.5'de ise değişkenlerin temel öğeler üzerindeki ağırlıklarını vermektedir. Burada birinci eigen vektörde kübital a değerinin ağırlığı neredeyse sıfıra yakın iken kübital be değerinin ağırlığı küçük fakat pozitif bir değerdir. Diğer eigen vektör değerleri ise hep negatif değerdedir. Burada birinci temel öğe

vücut iriliğini gösterdiği için kübital a ve kübital b değerlerinin çok küçük ağırlıklara sahip olması bu değişkenlerin vücut iriliğinden bağımsız olduğunu göstermektedir. İkinci ve üçüncü eigen vektörlerde değişken ağırlıkları pozitif ve negatif değerdedirler. Bu da çeşitli değişkenlerin karşılaştırıldığı vücut şekli ile ilgili yeni bileşim değişkenlere özgüdür.

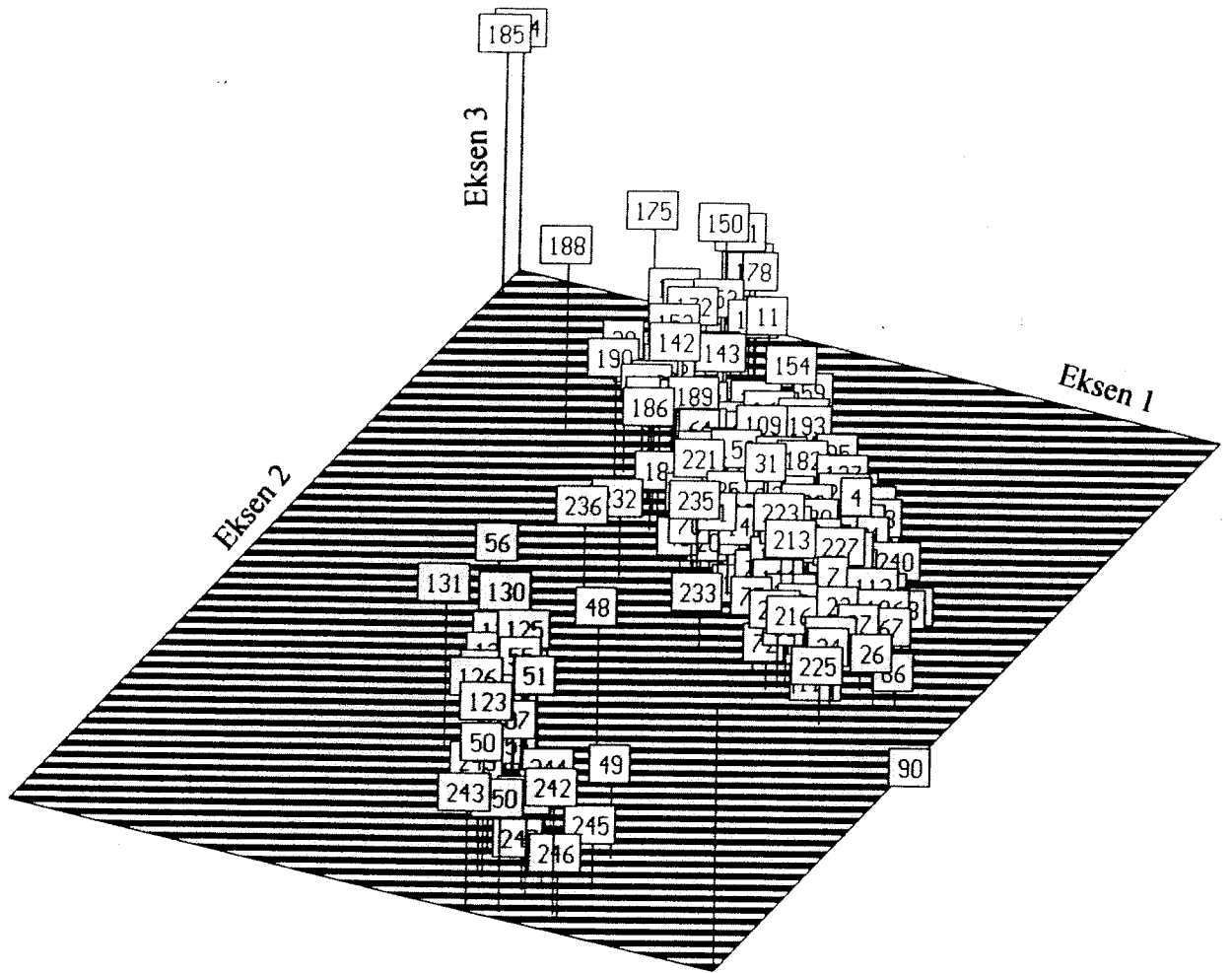
Tablo 3.1.4. Temel öğeler analizinde elde edilen eigen değerleri

Vektör	Eigen Değer	%	Toplam
1	4.595876	45.9588	45.9588
2	1.557288	15.5729	61.5316
3	0.973946	9.7395	71.2711
4	0.835777	8.3578	79.6289
5	0.702075	7.0208	86.6496
6	0.565049	5.6505	92.3001
7	0.362038	3.6204	95.9205
8	0.223120	2.2312	98.1517
9	0.129554	1.2955	99.4472
10	0.055276	0.5528	>100%

Şekil 3.1.1'de görülen üç ana grup birbirinden oldukça iyi ayrılmaktadır. Birinci grup 184 ve 185 koloni numaraları ile Şanlı Urfa örneklerine aittir. Diğer grup ise Van (47-56), Kırklareli (123-132), ve Zonguldak (242-250) örnekleri tarafından oluşturulmaktadır. Üçüncü ve en büyük grup ise diğer illere ait örnekler tarafından oluşturulmaktadır.

Tablo 3.1.5. Temel öğeler analizinde değişkenlerin ilk üç eksen üzerinde ağırlıklarını gösteren eigen vektörler

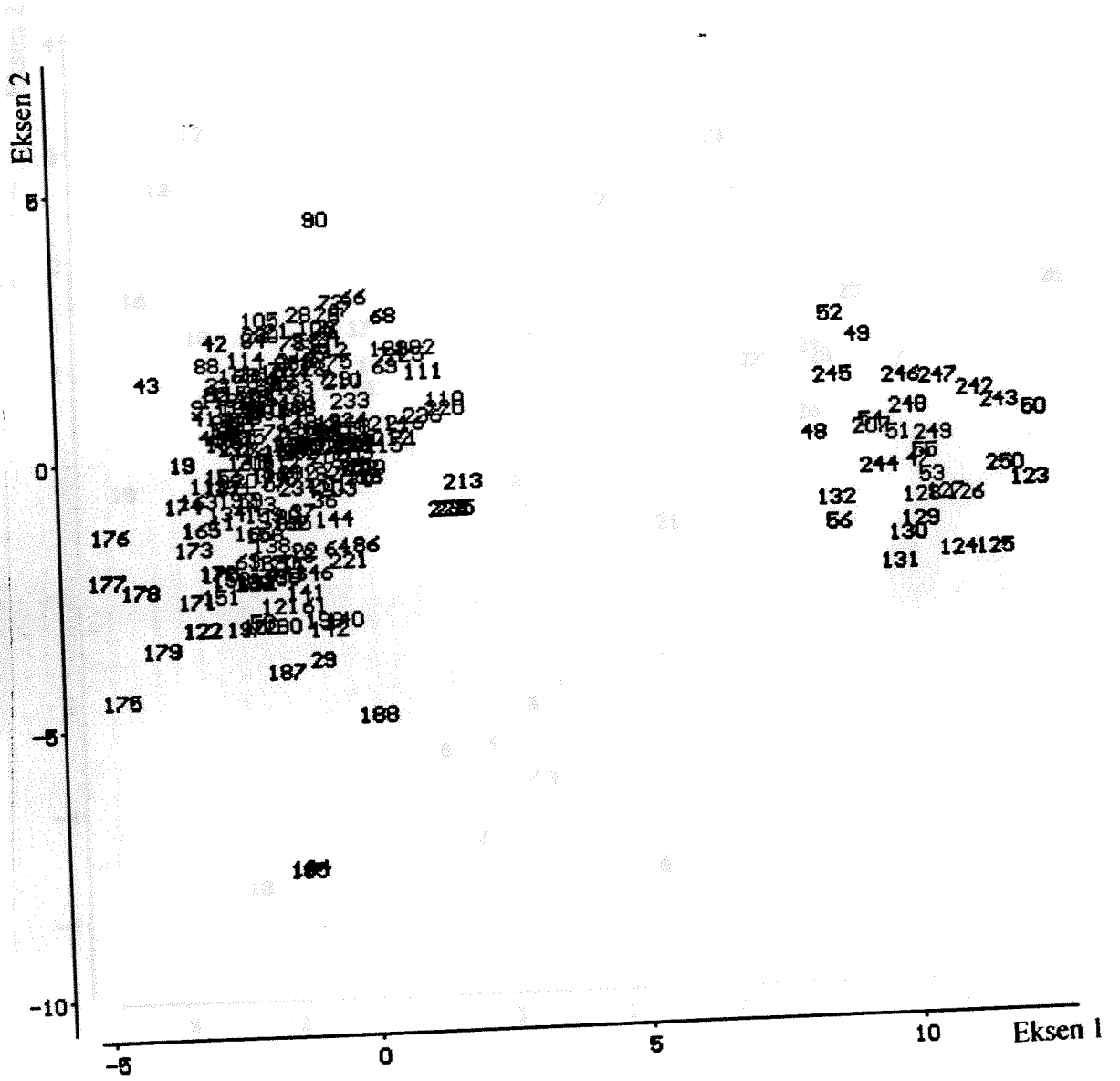
Eksen 1	Eksen 2	Eksen 3
-0.03776	-0.53785	0.69002
0.37340	-0.52913	0.09370
-0.92499	0.06689	0.16348
-0.29709	-0.57472	-0.61807
-0.55034	-0.66646	-0.11826
-0.93454	0.11564	0.08983
-0.55329	0.26437	-0.20982
-0.87043	0.15534	0.11146
-0.66274	-0.29707	0.00466
-0.91209	0.11590	0.04217



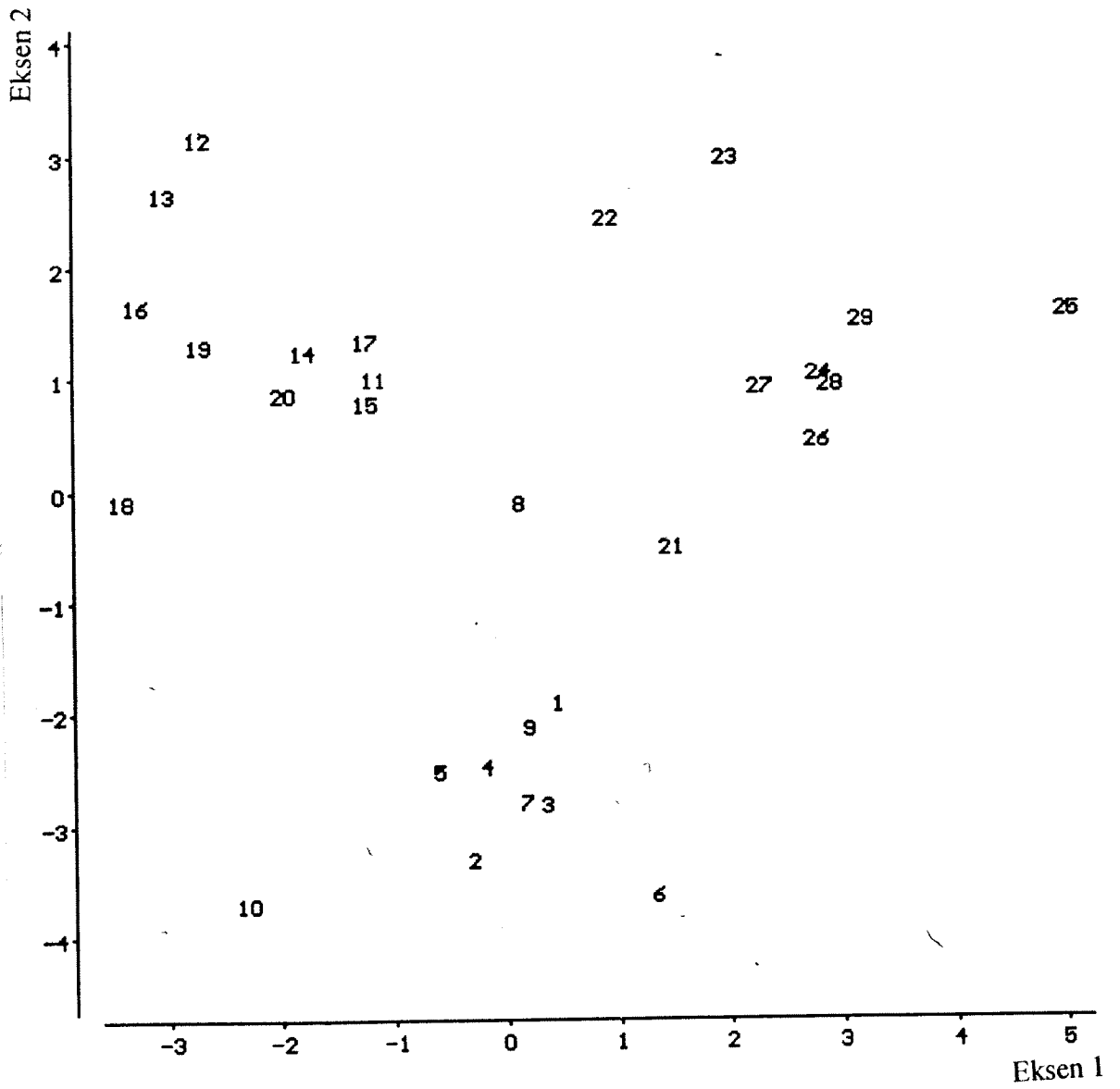
Şekil 3.1.1. 250 koloninin 10 karakter üzerinde yapılan ölçümlerin Temel Ögeler Analizi.

Morfometrik ölçümler üzerinde yapılan diğer bir analiz de çok gruplu ayrışım analizidir (Multiple Group Discriminant Analysis). Bu analizin sonuçları ise Şekil 3.1.2'de verilmektedir. Ayrışım analizindeki eigen değerlerinin ilk üçünü ele alırsak yine birinci eigen değer toplam varyasyonun %65.51'ini ikinci eigen değer %9.4'ünü üçüncü eigen değer ise %7.06'sını açıklamaktadır. Üç eigen değer birlikte toplam varyasyonun %83' ünü açıklayabilmektedir. Şekil 3.1.2'de iki ana grup ayrılmış olarak görülmektedir. Yine en sağdaki öbek Van, Kırklareli, Zonguldak örneklerinden oluşurken, sol alt kısımda ise Şanlı Urfa örnekleri diğer gruplardan ayrı olarak görülmektedirler. Diğer grup ise geri kalan bütün illeri içermektedir. Bu grupta Hatay örnekleri bu ana grubun sol alt köşesinde ayrı bir grup oluşturmaktadır. Daha sonra çok gruplu ayrışım analizinde ayrı bir grup olarak çıkan Van, Kırklareli ve Zonguldak kendi içlerinde bir ayrışım analizine tabi tutulmuşlardır. Bu analizin sonuçları ise Şekil 3.1.2'de görülmektedir. Burada 1-10' a kadar olan örnekler Van, 11-19'a kadar olan örnekler Zonguldak, 20-29' a kadar olan örnekler ise Kırklareli balarısı kolonilerini temsil etmektedirler. Şekil 3.1.3'de görüldüğü gibi üç grup çok iyi bir şekilde ayrılmış durumdadırlar. Bir de ana grup içerisinde illerin ayrılıp ayrılmadığını görmek için 7 il seçilmiş (Ardahan, Malatya, Elazığ, Bingöl, Muğla, Hatay, Iğdır) ve çok gruplu ayrışım analizine tabi tutulmuştur (Şekil 3.1.4). Burada Malatya (1-3), Elazığ (4-10), Bingöl (11-17), Muğla (18-23), Hatay (24-33), Iğdır (34-38), Ardahan (39-47) arasında oldukça iyi denilebilecek bir ayrışım gözlenmektedir. Malatya, Elazığ ve Bingöl örnekleri bir küme oluştururken, Hatay bunlardan ayrı bir küme olarak görülmektedir. Muğla yine aynı şekilde diğerlerinden ayrı bir küme oluştururken, Iğdır ve Ardahan da diğerlerinden farklı bir grup oluşturmuştur.

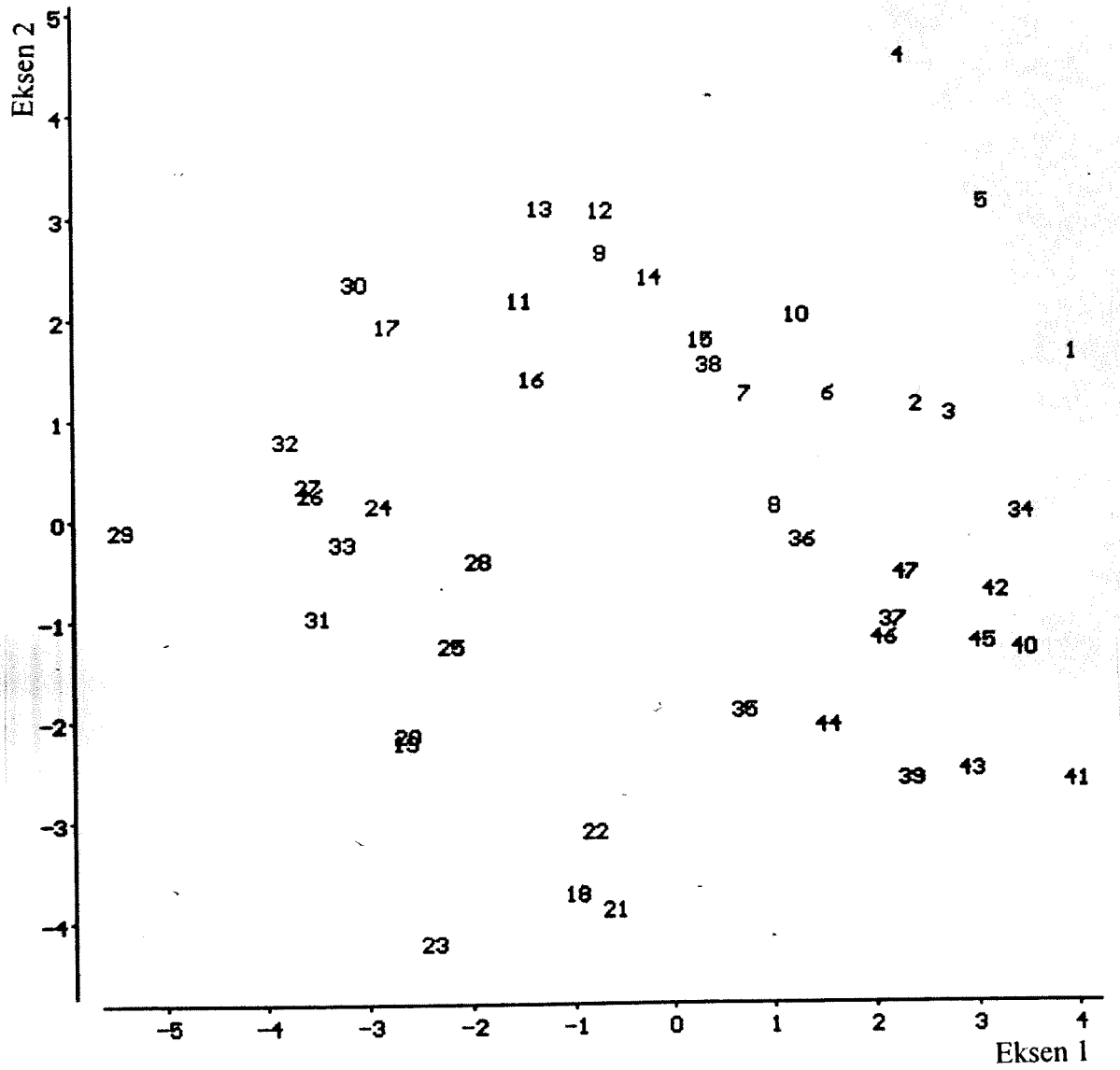
Çok gruplu ayrışım analizinde hesaplanan grup sentroitleri aralarında ortalama taksonomik mesafeler hesaplanarak UPGMA (Sokal ve Sneath, 1973) yöntemine göre illere ait örnekler sınıflandırılmış ve elde edilen fenogram Şekil 3.1.5'de verilmiştir. Bu fenograma göre 1.25 fenon çizgisi düzeyinde 8 grup oluşmaktadır. 1. Grup Artvin, Ardahan, Iğdır, Kars ve Amasya örneklerinin oluşturduğu gruptur. İkinci grup ise Adana, Kahraman Maraş, Aydın, Isparta, Bolu, Sinop, Eskişehir, İzmir, Kayseri, Yozgat, Karaman, Uşak, Balıkesir, Manisa, Mersin ve Konya örneklerinin oluşturduğu büyük bir gruptur. Üçüncü grup Muğla, Antalya, Sivas ve Edirne örneklerinin oluşturduğu gruptur. Bu fenon çizgisi düzeyinde Hatay tek başına bir grup oluşturmaktadır. Afyon, Bingöl, Diyarbakır, Elazığ ve Kastamonu ise beşinci grubu oluşturmaktadırlar. Malatya ve Trabzon altıncı grubu oluşturmaktadır. Ş.Urfa yine tek başına yedinci grubu oluşturmakta, Kırklareli ve Van sekizinci grubu oluşturmaktadır. Son grubu ise Zonguldak tek başına oluşturmaktadır.



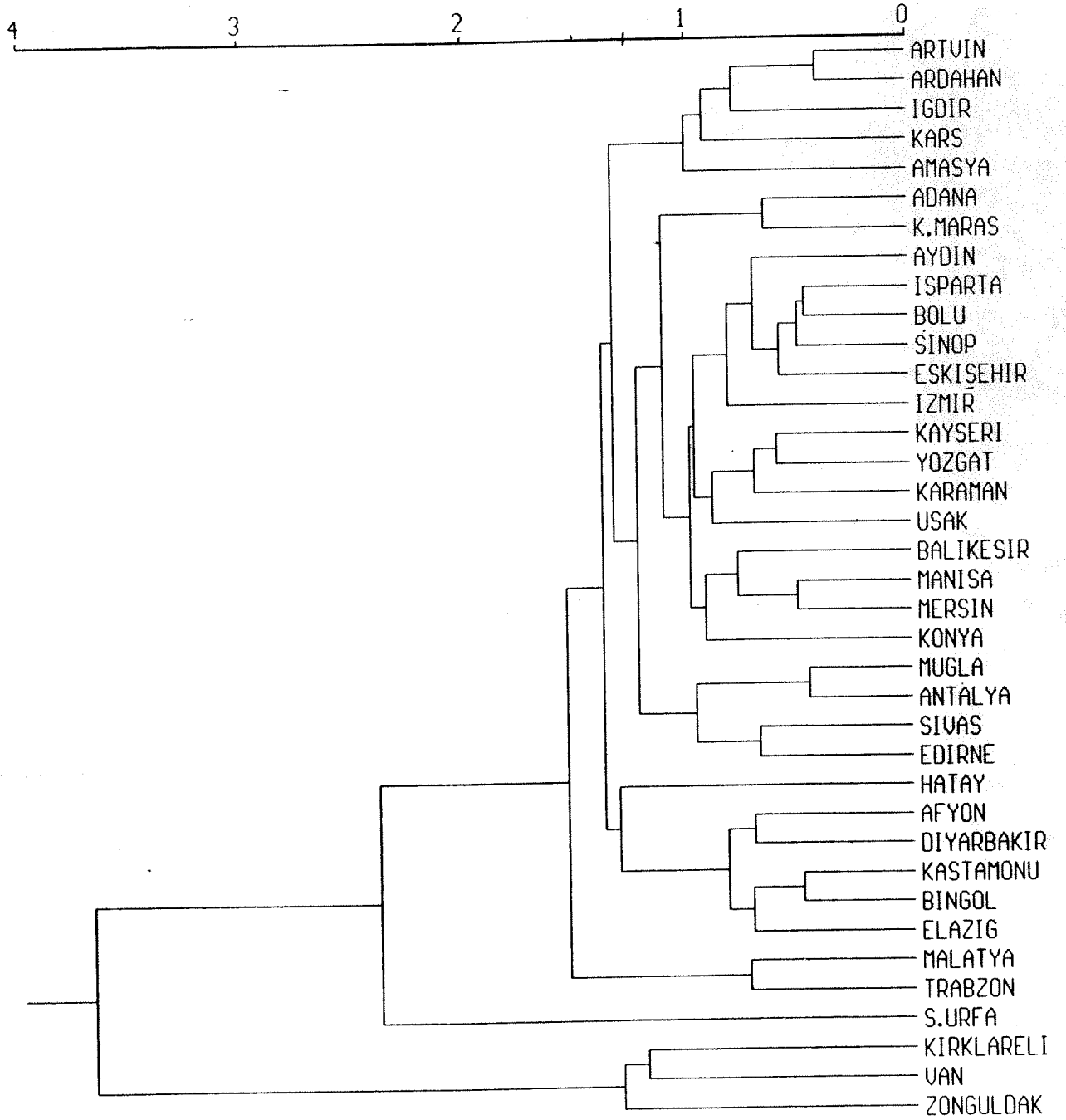
Şekil 3.1.2. 250 koloninin 10 karakteri üzerinde yapılan ölçümlerin Çok Gruplu Ayrışım Fonksiyon Analizi



Şekil 3.1.3. Kırklareli, Zonguldak ve Van kolonileri üzerinde yapılan morfometrik ölçümlerin Çok Gruplu Ayrışım Fonksiyon Analizi.



Şekil 3.1.4. Ardahan, Malatya, Elazığ, Bingöl, Muğla, Hatay ve Iğdır kolonileri üzerinde yapılan morfometrik ölçümlerin Çok Gruplu Ayrıştırma Fonksiyon Analizi.



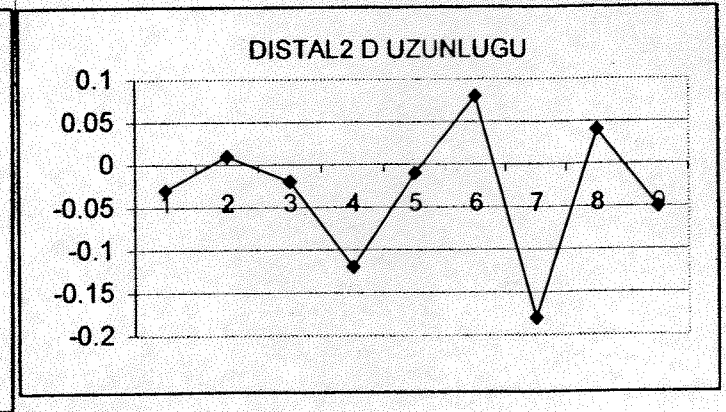
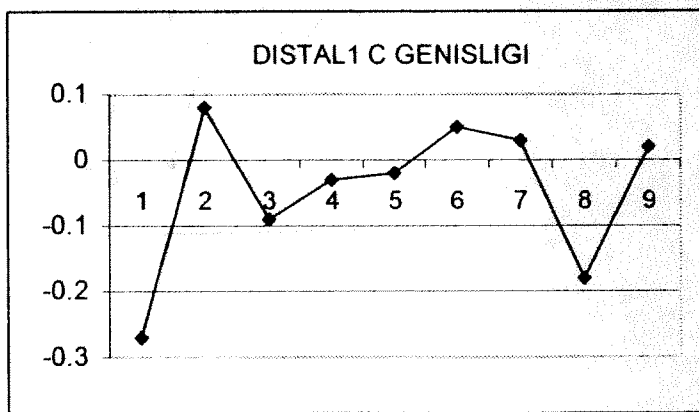
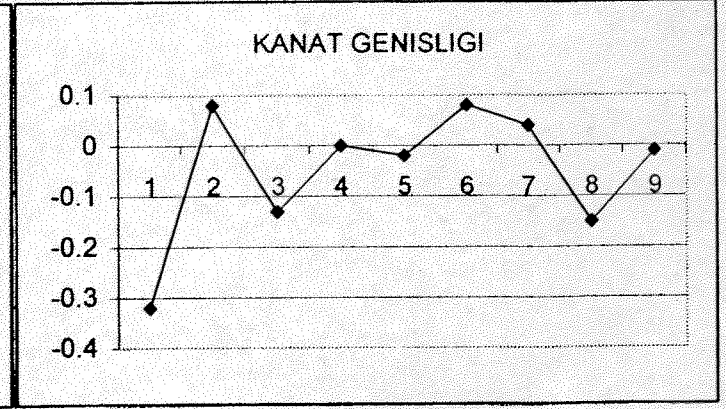
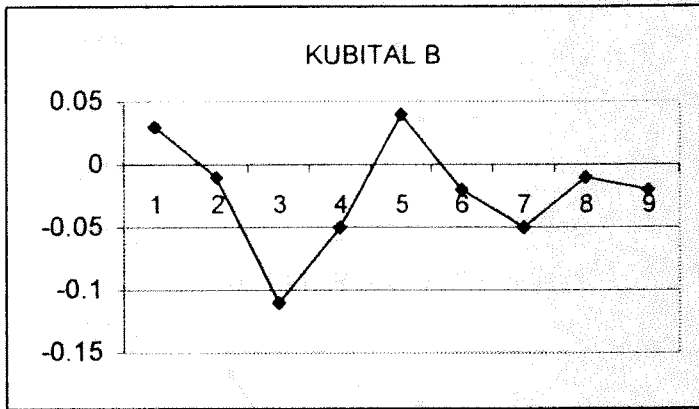
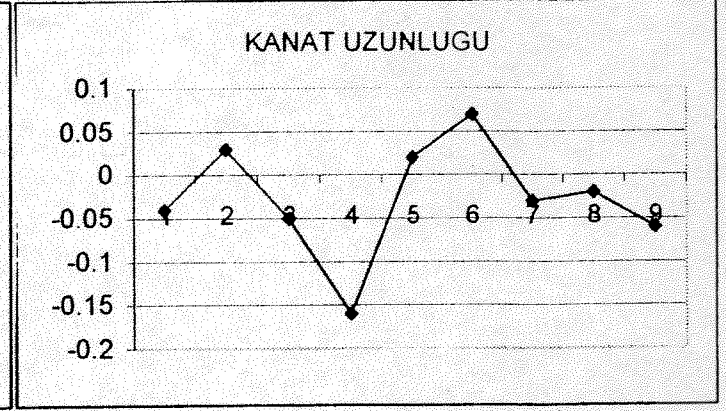
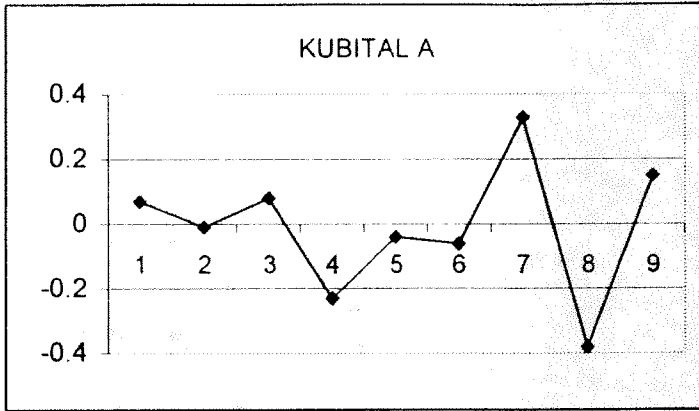
Şekil 3.1.5. 37 İlin morfometrik ölçüm ortalamalarının UPGMA yöntemine göre sınıflandırılmaları.

Fenon çizgisi 1.5 olduğu takdirde 4 ana grup oluşmaktadır. Birinci grup Kırklareli, Zonguldak ve Van, ikinci grup Ş.Urfa, üçüncü grup Trabzon ve Malatya, dördüncü grup ise geri kalan illerden oluşmaktadır.

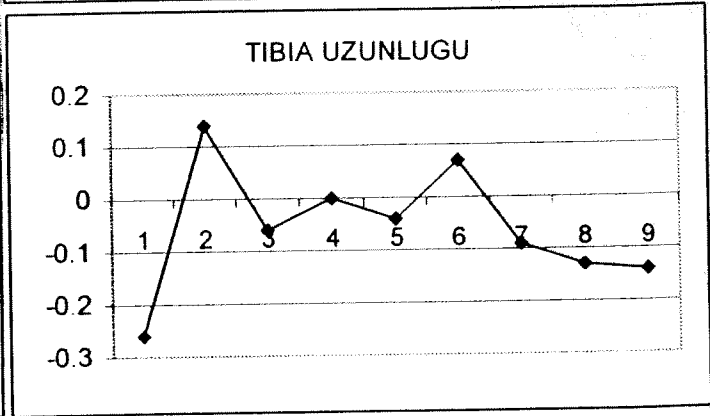
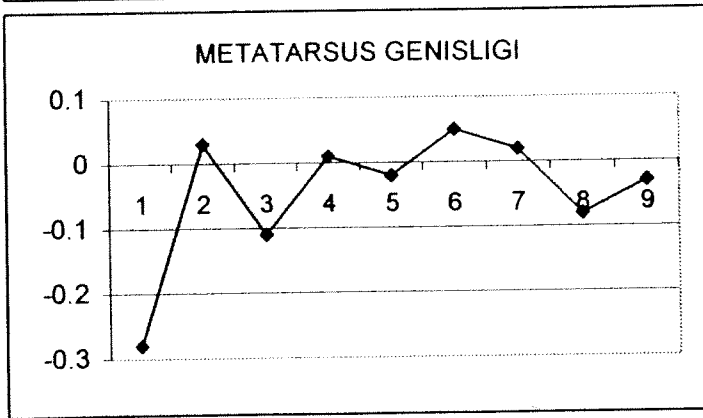
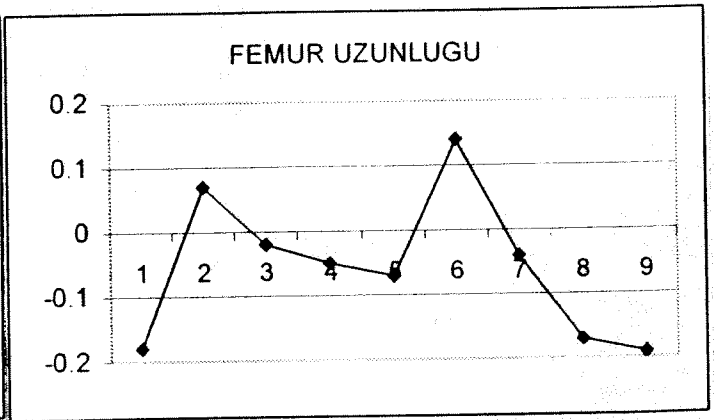
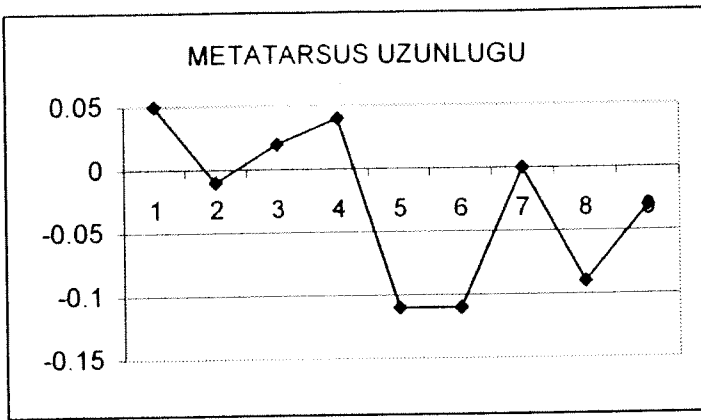
Morfometrik değişkenlerin bal arılarının dağılım gösterdiği Türkiye sahilinde herhangi bir örgü (pattern) gösterip göstermediğini anlamak için Uzamsal Otokorelasyon analizi yapılmıştır (Sokal ve Oden, 1978a,b). Sonuçlar Tablo 3.1.6'da ve Şekil 3.1.6'da gösterilmiştir. Buna göre ilk mesafe 150 km ve altı mesafelerde sadece kanat genişliğinde istatistiksel bakımdan anlamlılık gösteren bir uzamsal otokorelasyon görülmektedir. Dördüncü mesafe grubunda kübital a ve kanat uzunluğu istatistiksel anlamlılık taşıyan otokorelasyon göstermektedir (Kübital a $P < 0.01$, kanat uzunluğu $P < 0.05$). Mesafe grubu 6 da ise femur uzunluğu küçük (0.14) fakat anlamlı bir uzamsal otokorelasyon göstermektedir. Yedinci ve sekizinci mesafe gruplarında ise kübital a anlamlılık taşıyan ($P < 0.01$) uzamsal otokorelasyon göstermektedir. Bir değişkenin tüm mesafe gruplarında gösterdiği uzamsal otokorelasyon değerleri ise korelogram adını almaktadır. Buna göre sadece kübital a değişkeni istatistiksel bakımdan anlamlı bir korelogram göstermektedir.

Tablo 3.1.6. Morfometrik verilerinin Uzamsal otokorelasyon analizinde elde edilen Moran-I değerleri.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Korelogram olasılığı
Kübital a	0.07	-0.01	0.08	-0.23*	-0.04	-0.06	0.33**	-0.38**	0.15	0.022
Kübital b	0.03	-0.01	-0.11	-0.05	0.04	-0.02	-0.05	-0.01	-0.02	1.000
Distal1 c	-0.27	0.08	-0.09	-0.03	-0.02	0.05	0.03	-0.18	0.02	0.731
Distal2 d	-0.03	0.01	-0.02	-0.12	-0.01	0.08	-0.18	0.04	-0.05	0.827
Kanat uz.	-0.04	0.03	-0.05	-0.16*	0.02	0.07	-0.03	-0.02	-0.06	0.435
Kanat ge.	-0.32*	0.08	-0.13	-0.00	-0.02	0.08	0.04	-0.15	-0.01	0.369
Meta. uz.	0.05	-0.01	0.02	0.04	-0.11	-0.11	0.00	-0.09	-0.03	1.000
Meta. ge.	-0.23	0.03	-0.11	0.01	-0.02	0.05	0.02	-0.08	-0.03	0.638
Femur uz.	-0.13	0.07	-0.02	-0.05	-0.07	0.14*	-0.04	-0.17	-0.19	0.413
Tibia uz.	-0.26	0.14*	-0.06	0.00	-0.04	0.07	-0.09	-0.13	-0.14	0.312
Uzak sınıf	150	300	450	600	750	900	1050	1200	1470	
Loka. çifti	27	86	120	107	106	82	54	49	35	



Şekil 3.1.6. 10 Karakterin Türkiye sahında 37 ilde gösterdiği değişkenlik üzerinde yapılan Uzamsal Otokorelasyon Analizi sonucu oluşan korelogramlar.



Şekil 3.1.6. devam

ELEKTROFOREZ:

Türkiye çapında 37 ilden toplanan 2776 arı örneği elektroforeze tabi tutularak 6 enzim bakımından analiz edilmiştir. Bu enzimlerden Malik enzim (ME) ve Fosfoglucoizomeraz (PGI) polimorfizm göstermemişlerdir. Polimorfizm gösteren diğer 4 enzim lokusuna ait alellerinin frekansları Tablo 3.2.1'de verilmiştir.

37 ildeki bal arısı örneklerinde izoenzim genotip frekanslarının Hardy-Weinberg ilkesine uyup uymadıkları χ^2 testi uygulanarak sınanmıştır. 37 ilin içerisinde sadece Bingöl ili diğer illerden üç enzim lokusunda genotip frekanslarının Hardy-Weinberg ilkesinden istatistik anlamlılık taşıyan ($P<0.01$) sapmalar göstermesi ile ayrılmaktadır. Bu enzim lokusları Fosfoglukomutaz (PGM), Hekzokinaz (HK) ve Esteraz-3 (EST-3)' tur. Diğer illerde PGM dışındaki enzim lokusları Hardy-Weinberg ilkesine uymaktadırlar. Fakat PGM lokusunda Manisa ($P<0.01$), Kastamonu ($P<0.001$), Kırklareli ($P<0.001$), Elazığ ($P<0.001$), Bingöl ($P<0.001$), Adana ($P<0.001$), Muğla ($P<0.05$), Hatay ($P<0.001$), Ş.Urfa ($P<0.001$), Kars ($P<0.01$), Ardahan ($P<0.05$), ve Artvin ($P<0.001$) illerinde heterozigotlar lehine istatistik bakımdan anlamlı sapmalar vardır. Bu illerin içerisinde Ş.Urfa'da örneklenen bireylerin hepsi, Hatay'da ise hemen hemen hepsi heterozigottur (277 heterozigot, 2 homozigot).

Bal arılarında her kovandaki işçi arılar bir ana arının yavruları oldukları için bu örnekleme yöntemi kovandaki ana arının genotipinden etkilenmiş olabilir. Bu nedenle her koloniden bir tek işçi arı örneklenerek yukarıdaki χ^2 testleri tekrarlanmıştır. Bu testlerin sonucunda da sadece PGM lokusundaki genotiplerde Kırklareli ($P<0.05$), Elazığ ($P<0.05$), Bingöl ($P<0.01$), Adana ($P<0.01$) ve Hatay ($P<0.001$) illerinden örneklenen arılarda heterozigotlar lehine istatistik anlamlılık taşıyan sapmalar gözlenmiştir. Daha önce heterozigotlar lehine sapmalar gözlenen diğer illerde de aynı eğilim devam etmiş fakat örnek sayısı azaldığı için bu sapmaların istatistik anlamlılığı gösterilememiştir.

FOSFOGLUKOMUTAZ (PGM)

Türkiye bal arısı toplumlarında bu enzimin dört allozimi bulunmaktadır. PGM-75 en sık görülen aleldir. Enzimin polimorfizm gösterdiği lokalitelerde frekansı Sinop'ta maksimum 0.976 ile Ş.Urfa'da minimum 0.500 arasında değişmektedir. İkinci alel PGM-100, PGM-75 den sonra en sık görülen aleldir. Enzimin polimorfizm gösterdiği yerlerde frekansı Hatay'da maksimum 0.496 ile Sinop'ta minimum 0.024 arasında değişmektedir. PGM-45 ve PGM-63 alelleri Türkiye'de ilk defa gözlenmiştir. Bu iki alelden birisi de dünyada ilk kez bu çalışmada gözlenmiştir. PGM-63 Manisa, Van, Uşak, Antalya, Muğla ve Mersin'de gözlenirken, PGM-45 ise sadece Bingöl ve Edirne'de bulunmuştur.

Tablo 3.2.1. 4 enzim sisteminin 37 ildeki örnek sayısı ve alel frekansları

Lokasyon	N	PGM 45		PGM 63		PGM 75		PGM 100		HK 77	HK 87	HK 100	HK 110	HK 120	MDH 65		MDH 87	MDH 100		MDH 116	EST 70	EST 100	EST 130
		PGM 45	PGM 63	PGM 75	PGM 100	HK 77	HK 87	HK 100	HK 110						HK 120	MDH 65		MDH 87	MDH 100				
1. Kayseri	35	0.000	0.000	0.914	0.086	0.000	0.000	0.986	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.986	0.000	0.000	0.014	0.986	0.000	
2. K. Maras	12	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.036	0.964	0.000	
3. Sivas	112	0.000	0.000	0.942	0.058	0.000	0.000	0.906	0.094	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
4. Eskişehir	84	0.000	0.000	0.887	0.113	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.991	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
5. Balıkesir	106	0.000	0.000	0.934	0.066	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.991	0.000	0.004	0.068	0.932	0.000	
6. Manisa	111	0.000	0.000	0.784	0.212	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.985	0.012	0.000	0.015	0.000	0.979	0.000	0.006	0.028	0.972	0.000	
7. Van	163	0.000	0.000	0.905	0.089	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.952	0.000	0.044	0.044	0.956	0.000	
8. Kastamonu	126	0.000	0.000	0.913	0.087	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.986	0.000	0.000	0.008	0.992	0.000	
9. Zonguldak	104	0.000	0.000	0.971	0.029	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
10. Sincop	62	0.000	0.000	0.976	0.024	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.969	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
11. Trabzon	16	0.000	0.000	0.938	0.063	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.156	0.000	0.000	0.000	0.957	0.000	0.043	0.129	0.871	0.000	
12. Konya	93	0.000	0.000	0.973	0.027	0.000	0.000	0.880	0.120	0.000	0.000	0.880	0.120	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.031	0.038	0.962	0.000	
13. Karaman	50	0.000	0.000	0.830	0.170	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.931	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
14. Yozgat	65	0.000	0.000	0.831	0.169	0.000	0.000	0.986	0.014	0.000	0.000	0.986	0.014	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
15. Usak	35	0.000	0.000	0.657	0.329	0.000	0.000	0.763	0.000	0.000	0.000	0.763	0.000	0.237	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.110	0.890	0.000	
16. Isparta	59	0.000	0.000	0.856	0.144	0.000	0.000	0.905	0.000	0.000	0.000	0.905	0.000	0.071	0.024	0.000	0.976	0.000	0.000	0.119	0.881	0.000	
17. Aydın	21	0.000	0.000	0.881	0.119	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
18. Malatya	22	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
19. Antalya	141	0.000	0.000	0.936	0.050	0.000	0.000	0.879	0.007	0.000	0.000	0.879	0.007	0.113	0.000	0.000	0.982	0.000	0.000	0.000	0.995	0.000	
20. Kırklareli	183	0.000	0.000	0.686	0.314	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.363	0.000	0.637	0.000	0.018	0.009	0.991	0.000	
21. Elazığ	55	0.000	0.000	0.527	0.473	0.000	0.000	0.982	0.000	0.000	0.000	0.982	0.000	0.000	0.000	0.000	0.982	0.000	0.018	0.009	0.991	0.000	
22. Bingöl	116	0.004	0.000	0.513	0.483	0.000	0.000	0.685	0.000	0.000	0.000	0.685	0.000	0.306	0.004	0.000	0.996	0.000	0.000	0.043	0.957	0.000	
23. Adana	94	0.000	0.000	0.601	0.399	0.000	0.000	0.990	0.000	0.000	0.000	0.990	0.000	0.000	0.000	0.000	0.735	0.000	0.000	0.013	0.977	0.010	
24. Edirne	149	0.017	0.000	0.919	0.064	0.000	0.000	0.869	0.125	0.000	0.000	0.869	0.125	0.000	0.006	0.000	0.988	0.000	0.000	0.054	0.946	0.000	
25. Muğla	84	0.000	0.000	0.673	0.321	0.000	0.000	0.909	0.000	0.000	0.000	0.909	0.000	0.000	0.006	0.000	0.988	0.000	0.000	0.013	0.987	0.000	
26. Hatay	279	0.000	0.000	0.504	0.496	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.018	0.982	0.000	
27. İzmir	28	0.000	0.000	0.929	0.071	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
28. S. Urfa	14	0.000	0.000	0.500	0.500	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.147	0.853	0.000	
29. Diyarbakır	17	0.000	0.000	0.794	0.206	0.000	0.000	0.968	0.024	0.000	0.000	0.968	0.024	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.032	0.968	0.000	
30. Mersin	63	0.000	0.000	0.746	0.238	0.000	0.000	0.929	0.071	0.000	0.000	0.929	0.071	0.000	0.000	0.000	0.889	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
31. Afyon	21	0.000	0.000	0.857	0.143	0.000	0.000	0.984	0.016	0.000	0.000	0.984	0.016	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
32. Kars	63	0.000	0.000	0.730	0.270	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
33. Iğdır	26	0.000	0.000	0.750	0.250	0.000	0.000	0.962	0.000	0.000	0.000	0.962	0.000	0.000	0.005	0.000	0.995	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
34. Ardahan	105	0.000	0.000	0.800	0.200	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
35. Amasya	14	0.000	0.000	0.750	0.250	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
36. Artvin	114	0.000	0.000	0.696	0.304	0.000	0.000	0.991	0.000	0.000	0.000	0.991	0.000	0.000	0.004	0.000	0.996	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	
37. Bolu	125	0.000	0.000	0.756	0.244	0.000	0.000	0.992	0.000	0.000	0.000	0.992	0.000	0.000	0.016	0.000	0.984	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	

PGM allozimlerinin Türkiye üzerindeki dağılımları Şekil 3.2.1'de verilmektedir. Türkiye'nin her bölgesinde polimorfizm gösteren PGM'in en sık görülen alelinin frekansı hemen hemen her bölgede benzer durumdadır. Sadece K.Maraş ve Malatya'da PGM-75 sabitlenmiş durumdadır. Fakat bu illerden alınan örnek sayısı oldukça az olduğu için ileride yapılacak çalışmalar bu sonucu değiştirebilir. Ş.Urfa ve Hatay'da ise hemen hemen tüm bireyler PGM-75 ve PGM-100 için heterozigot oldukları için alel frekansları 0.5 civarındadır.

HEKZOKİNAZ (HK)

Türkiye bal arısı toplumlarında bu enzimin 5 aleli belirlenmiştir. HK-100 en sık görülen aleldir. Örneklenen 37 ilin 21'inde polimorfizm göstermektedir ve frekansı Edirne'de maksimum 0.991 ile Bingöl'de minimum 0.685 değerleri arasında değişmektedir. HK-100 den sonra en sık görülen alel HK-110 dur. HK-110 12 ilde görülmektedir ve frekansı Konya'da maksimum 0.156 ile Antalya'da minimum 0.007 değerleri arasında değişmektedir. Frekansı yüksek olan HK aleli HK-120'dir. Bu alelin frekansı Bingöl'de maksimum 0.306 değerinden Elazığ'da minimum 0.018 değerleri arasında değişmektedir. HK-87 ve HK-77 ise çok düşük frekanslara sahip alellerdir. HK-87 sadece 5 ilde gözlenmekte ve frekansı Aydın'da maksimum 0.024 ile Ardahan'da minimum 0.005 arasında değişmektedir. HK-77 ise 6 ilde görülmekte ve frekansı Ardahan'da maksimum 0.033 ile Van'da minimum 0.003 değerleri arasında değişmektedir. Bu çalışmada önceki çalışmalara ilave (Kandemir ve Kence, 1995) olarak bir alel daha bulunmuştur.

Şekil 3.2.2 de HK alel frekanslarının Türkiye'deki dağılımları verilmiştir. Türkiye'nin kuzey kısımlarında HK-100 aleli sabitlenmiş durumdadır (Bolu ve Artvin hariç). Türkiye'nin güney kısmında ise HK polimorfizm göstermektedir. Özellikle Bingöl, Isparta, Konya ve Karaman'da HK alelleri en yüksek varyasyonu göstermektedirler.

MALAT DEHİDROGENAZ (MDH)

Türkiye bal arısı toplumlarında bu enzim lokusunun 5 aleli bulunmaktadır (Kandemir ve Kence, 1995). Fakat bu çalışmada 4 alel gözlenmiştir. Bunlardan MDH-100 en sık görülen aleldir. Türkiye'de örneklenen 37 ilin 18'inde bu enzim polimorfizm göstermektedir. Enzim lokusunun polimorfizm gösterdiği iller içerisinde Artvin'de maksimum 0.996 ile Kırklareli'nde minimum 0.637 arasında değişmektedir. MDH-65 ise ikinci en sık gözlenen aleldir. Örneklenen 37 ilden 14'ünde gözlenmektedir. Frekansı Kırklareli'nde maksimum 0.363 ile Elazığ ve Artvin'de minimum 0.004 arasında değişmektedir. MDH-116 ise sadece 7 ilde rastlanmaktadır ve frekansı Iğdır'da maksimum 0.111 ile Manisa'da minimum 0.004 arasında değişmektedir. MDH-87 sadece 3 ilde gözlenmiştir, ve görüldüğü illerde frekansı

çok düşüktür ve en yüksek değeri maksimum 0.031 ile Trabzon'da, en düşük değeri ise 0.004 ile Manisa'da gözlenmiştir.

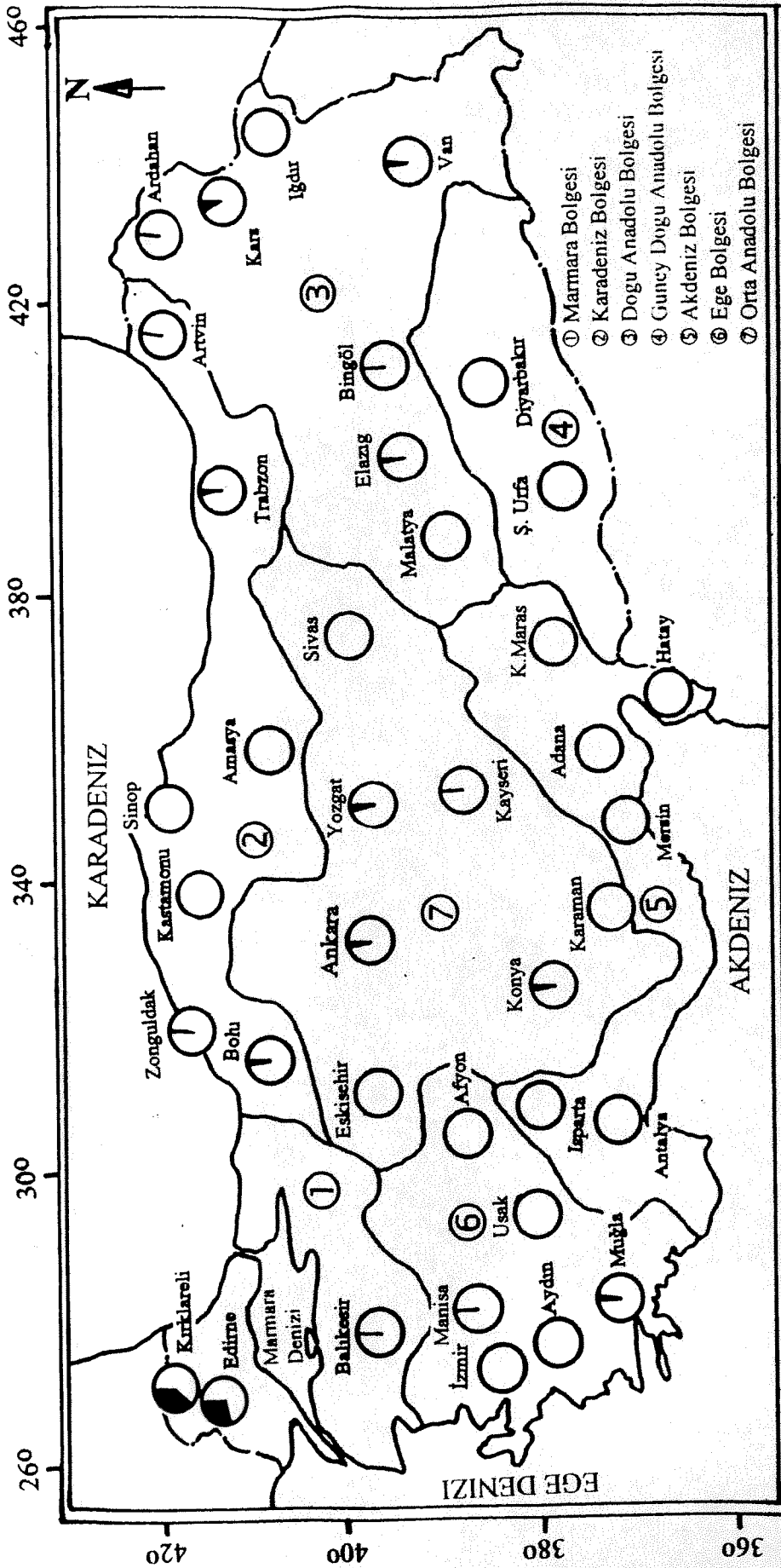
Şekil 3.2.3'te MDH gen frekanslarının Türkiye'deki dağılımları görülmektedir. MDH alelleri Trakya'da en yüksek varyasyonu gösterirken Kuzey ve Doğu Anadolu'da daha az ölçüde de olsa çeşitliliğe sahiptirler. Güney ve Güneydoğu Anadolu'da ise MDH-100 aleli sabitlenmiş durumdadır.

ESTERAZ-3 (EST-3)

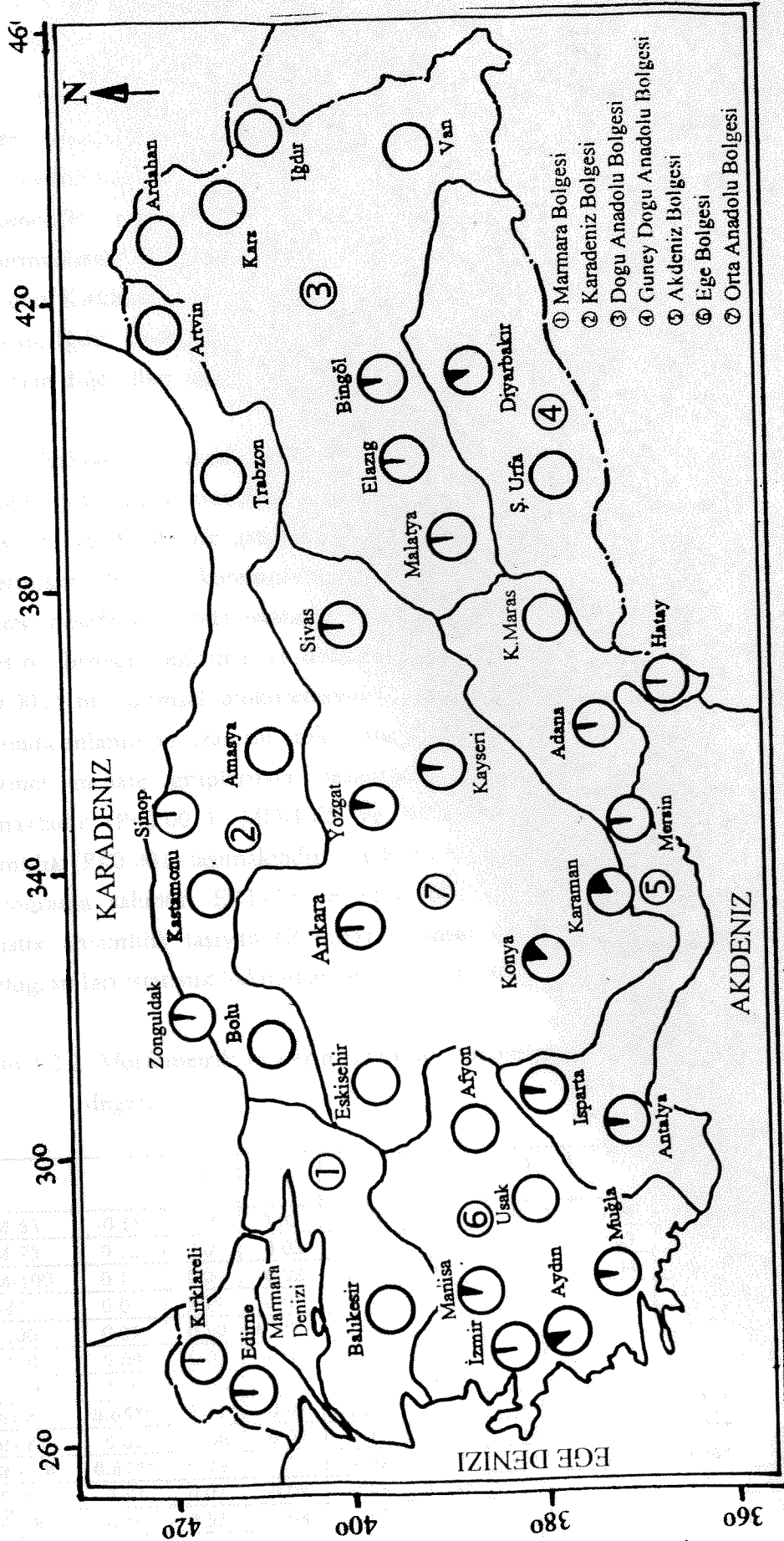
Bu çalışmada Esteraz-3'ün 3 aleli gözlenmiştir. EST-100 en sık görülen aleldir, ve örneklenen 37 ilden 23'ünde bu alelin frekansı 1.000 den farklıdır. Diğer illerde bu alelin frekansı 1.000'de sabitlenmiştir. Enzimin polimorfizm gösterdiği 23 ilde EST-100 alelinin frekansı Zonguldak'ta maksimum 0.996 ile Diyarbakır'da minimum 0.853 arasında değişmektedir. İkinci en sık gözlenen alel ise EST-70 dir, ve bu alelin frekansı Diyarbakır'da maksimum 0.147 ile Hatay'da minimum 0.013 arasında değişmektedir. EST-130 ise sadece bir ilde gözlenmiştir, ve frekansı gözlendiği il olan Edirne'de 0.010'dur.

Şekil 3.2.4'te EST-3 alellerinin Türkiye'nin çeşitli illerindeki frekansları görülmektedir. EST-3 geninde Türkiye'nin kuzey kısımlarında EST-100 aleli iki-üç yer dışında sabitlenmiş durumdadır. Kuzey ve Doğu Anadolu'da Bolu, Kastamonu, Amasya, Trabzon, Artvin, Kars, Iğdır ve Van EST-100 alelinin frekansı 1.000'de sabitlenmiştir. Türkiye'nin güney kısımlarında ise EST-3 polimorfizm göstermektedir. En yüksek varyasyon Konya ve Karaman'da görülmektedir.

Bal arılarında polimorfizm gösteren 4 enzim lokusuna ait alel frekansları temel öğeler analizine tabi tutulmuşlardır. Polimorfik enzim alel frekansları korelasyon matrisinden elde edilen eigen değerlerinin ilk üç tanesi alel frekanslarındaki toplam varyasyonun %59.42'sini açıklamaktadır. İlk temel öge varyasyonun %25'ini ikinci temel öge %17.66'sını, üçüncü temel öge ise %16.86' sını açıklamaktadır. Şekil 3.2.5 illerin üç boyuttaki temel öğeler uzayındaki konumlarını göstermektedir. Buna göre Bingöl (22), Elazığ (21), Hatay (26), Ş.Urfa (28) şeklin sol tarafında bir küme oluşturmaktadırlar. Şeklin sağ tarafında ise Konya (12), Karaman (13) ve Isparta (16) farklı bir küme oluşturmaktadırlar. Diğer taraftan Adana (23), Muğla (25), Diyarbakır (29) Aydın (17), Antalya (19) ve Sivas (3) ayrı bir küme oluşturmaktadırlar. Edirne (24) ve Kırklareli (20) diğer gruplardan ayrı olarak şeklin sağ alt tarafında görülmektedirler. Diğer iller ise toplu halde ayrı bir küme oluşturmaktadırlar.



Şekil 3.2.3. Türkiye'de MDH alel frekanslarının dağılımları



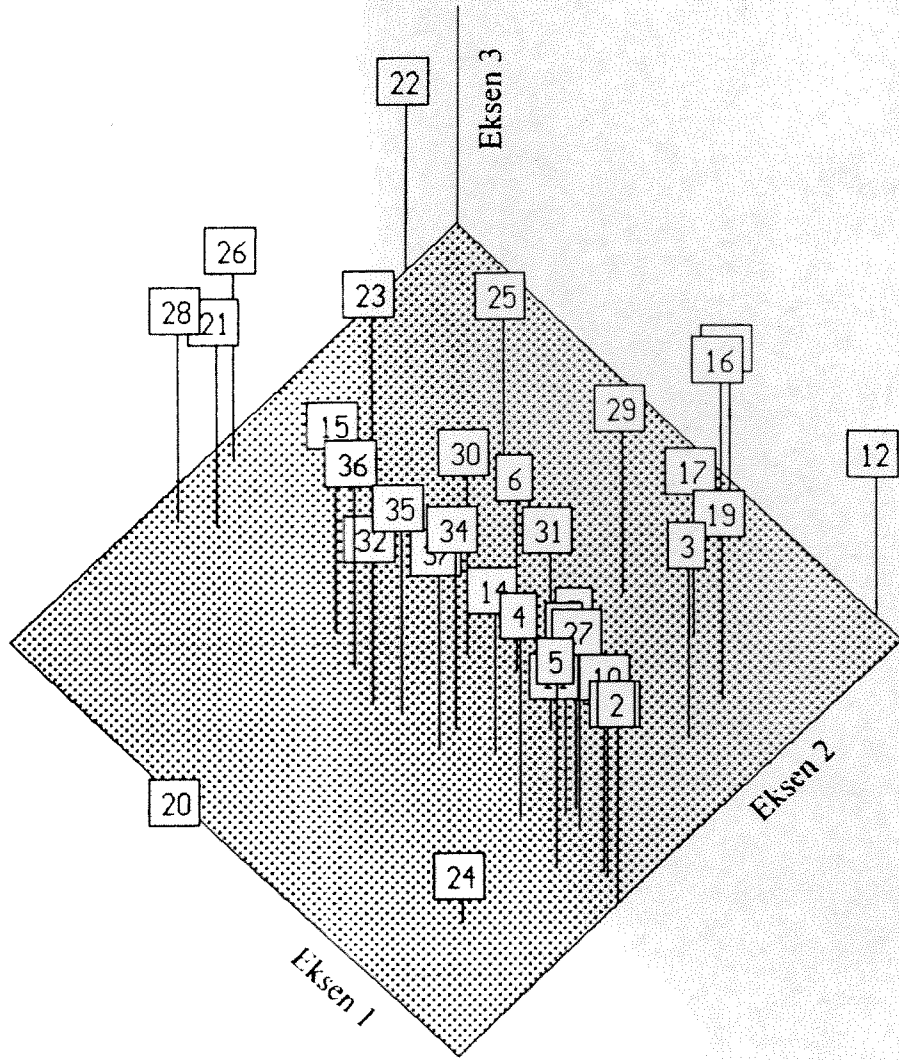
Şekil 3.2.4. Türkiye'de EST-3 alel frekanslarının dağılımları

Alel frekanslarını kullanarak farklı illere ait bal arısı toplulukları arasında genetik mesafe hesaplanmış, ve bu mesafeler UPGMA yöntemi ile kümelendirilmiş ve bir dendogram elde edilmiştir (Sokal ve Sneath, 1973). Dendogramda görüldüğü gibi genetik uzaklıklar morfometrik verilere dayanan ortalama taksonomik uzaklıklara göre farklı kümeler oluşturmuşlardır (Şekil 3.2.6). Bu kümelere biri Elazığ, Ş.Urfa, Hatay ve Bingöl kümesi, bir diğeri Kırklareli ve Edirne kümesidir. Diğer bir küme ise Muğla, Adana, Artvin, Kars, Ardahan, Iğdır, Uşak, Bolu, Amasya, Mersin ve Manisa'dan oluşmaktadır. En son küme ise geri kalan diğer illeri içine almaktadır.

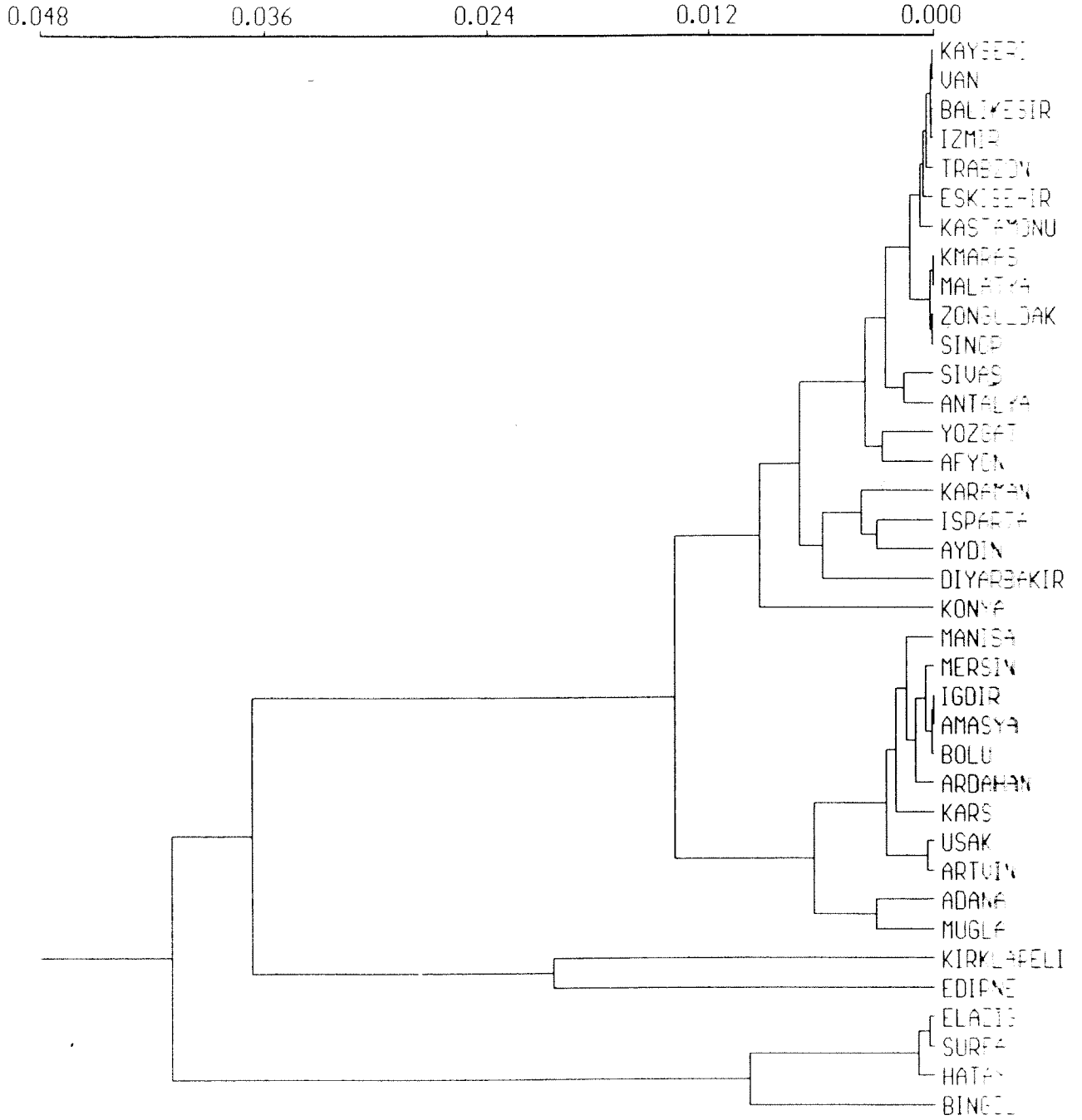
Türkiye bal arılarının 4 enzim lokusuna ait 12 aleli üzerinde yapılan uzamsal otokorelasyon analiz sonuçları Tablo 3.2.2 ve Şekil 3.2.7 de verilmiştir. Bu sonuçlara göre HK-87 6. ve 9. Mesafe gruplarında istatistik anlamlılık taşıyan uzamsal otokorelasyonlar göstermiştir. Bu alelin korelogramı da $P < 0.01$ düzeyinde anlamlılık taşımaktadır. HK-100 de üçüncü mesafe grubunda istatistik anlamlılık taşıyan bir uzamsal otokorelasyona sahiptir. MDH-65 birinci, sekizinci ve dokuzuncu mesafe gruplarında istatistik bakımdan anlamlı ($P < 0.001$) bir uzamsal otokorelasyon göstermektedir. MDH-87 sadece sekizinci mesafe grubunda anlamlı bir uzamsal otokorelasyona sahiptir. MDH-100 ise MDH-65 gibi birinci, ve sekizinci mesafe gruplarında hesaplanan uzamsal otokorelasyon istatistik anlamlılık taşımaktadır ($P < 0.001$). MDH-65 ve MDH-100 korelogramları da istatistik bakımdan anlamlılık ($P < 0.001$) taşımaktadır. MDH-87 ise yine istatistik bakımdan anlamlı ($P < 0.05$) bir korelograma sahiptir. EST-70 ve EST-100 beşinci ve dokuzuncu mesafe gruplarında istatistik anlamlılık taşıyan ($P < 0.05$) uzamsal otokorelasyona sahiptir. Fakat bu alellerin korelogramları istatistik bakımdan anlamlı değildir.

Tablo 3.2.2. Morfometrik verilerin Uzamsal otokorelasyon analizinde elde edilen Moran-I değerleri.

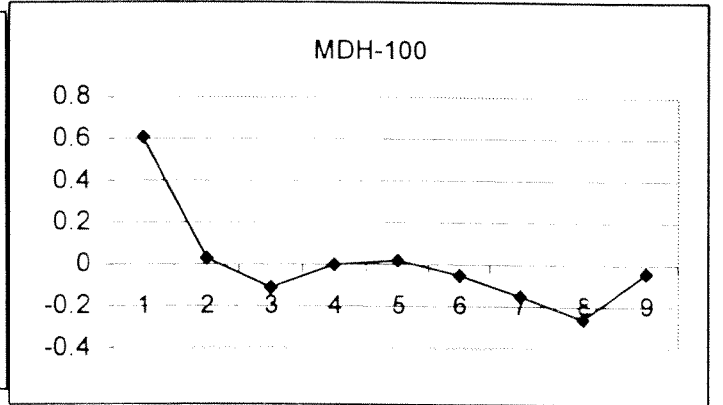
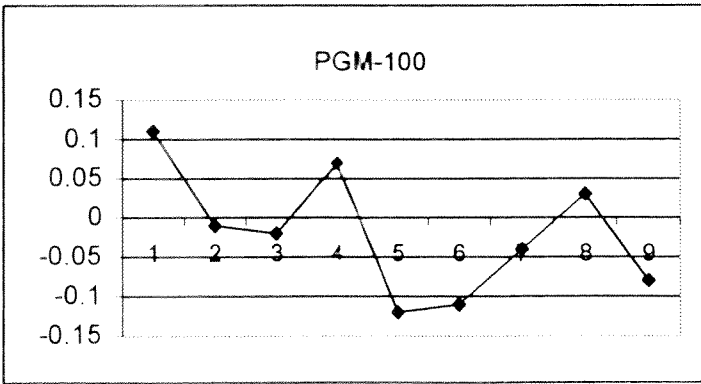
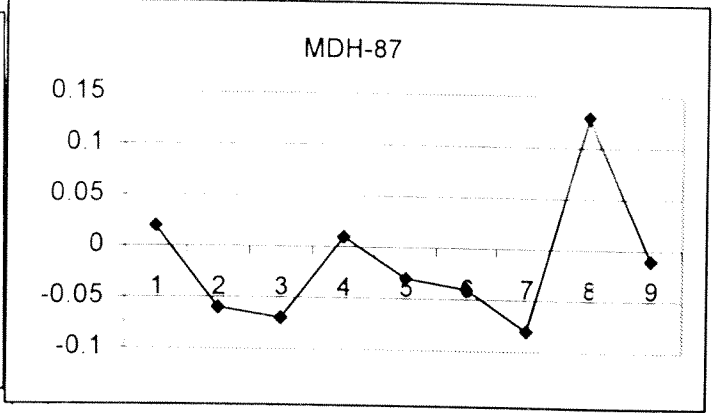
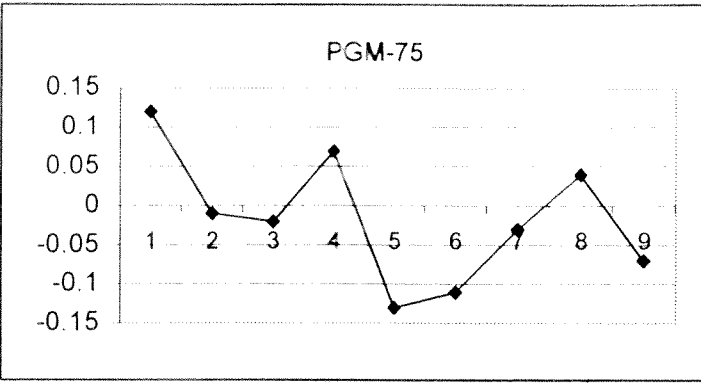
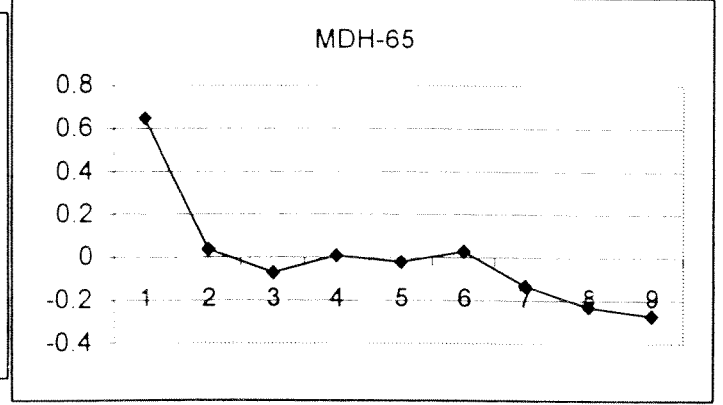
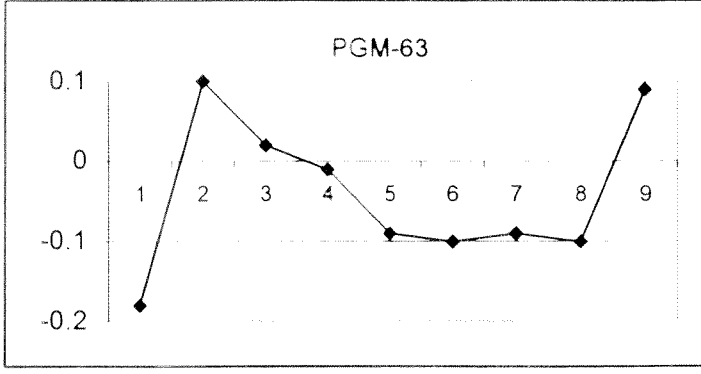
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Korelogram olasılığı
PGM-63	-0.18	0.10	0.02	-0.01	-0.09	-0.10	-0.09	-0.10	0.09	0.642
PGM-75	0.12	-0.01	-0.02	0.07	-0.13	-0.11	-0.03	0.04	-0.07	1.000
PGM-100	0.11	-0.01	-0.02	0.07	-0.12	-0.11	-0.04	0.03	-0.08	1.000
HK-87	0.01	0.05	-0.02	-0.08	-0.07	0.17**	0.01	-0.17	-0.28**	0.007
HK-100	0.09	-0.10	0.09*	0.00	-0.07	-0.12	-0.14	0.06	-0.01	0.251
HK-110	0.09	-0.02	-0.03	-0.15	0.08	0.09	-0.11	-0.13	-0.07	0.534
HK-120	-0.01	-0.03	0.04	-0.13	0.08	-0.04	-0.11	-0.04	-0.12	0.839
MDH-65	0.65**	0.04	-0.07	0.01	-0.02	-0.03	-0.13	-0.23*	-0.27*	0.000
MDH-87	0.02	-0.06	-0.07	0.01	-0.03	-0.04	-0.08	0.13**	-0.01	0.047
MDH-100	0.61**	0.03	-0.11	0.00	0.02	-0.05	-0.15	-0.26*	-0.04	0.000
EST-70	0.17	0.02	-0.08	-0.08	0.13*	0.00	-0.16	-0.01	-0.35*	0.133
EST-100	0.16	0.02	-0.08	-0.07	0.14*	-0.01	-0.16	-0.03	-0.32*	0.189
Uza. sınırı	150	300	450	600	750	900	1050	1200	1470	
Loka çifti	27	86	120	107	106	82	54	49	35	



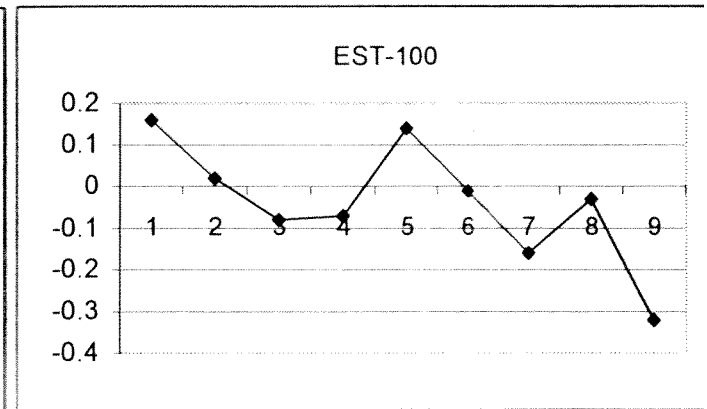
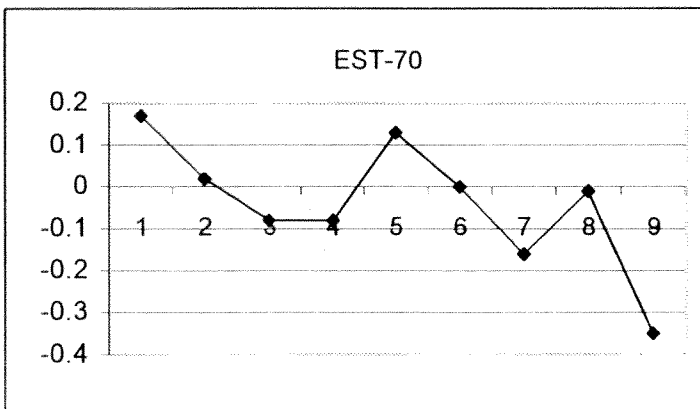
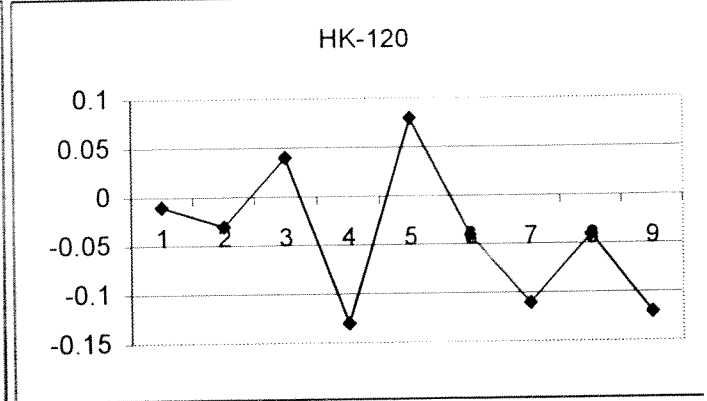
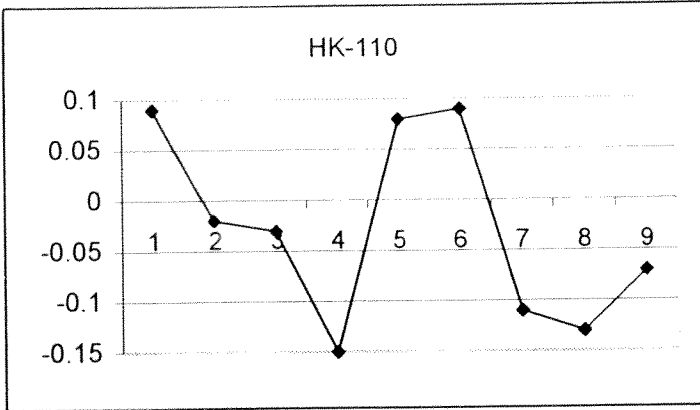
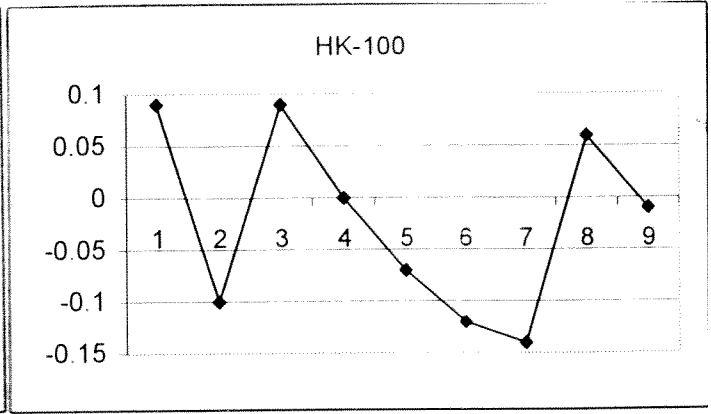
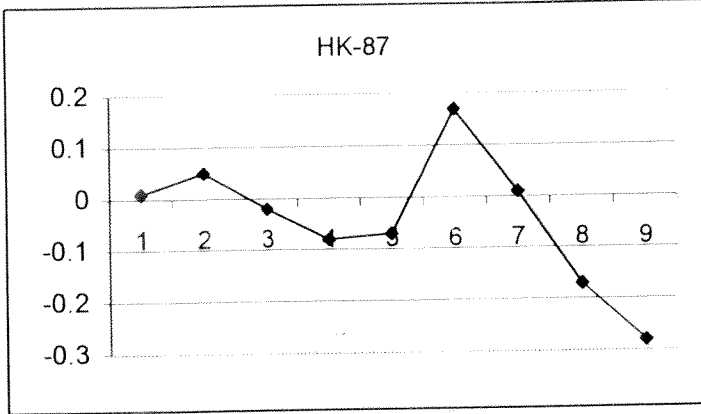
Şekil 3.2.5. 4 enzim sisteminin 37 ildeki alel frekansları üzerinde yapılan Temel Ögeler Analizi.



Şekil 3.2.6. Enzim sistemlerinin alel frekanslarından elde edilen iller arası genetik Uzaklık matrisine göre 37 ilin sınıflandırılması.



Şekil 3.2.7. 12 alelin Türkiye sahında 37 ilde gösterdiği değışkenlik üzerinde yapılan Uzamsal Otokorelasyon Analizi sonucu oluşan korelogramlar.



Şekil 3.2.7. devam

MİTOKONDİRİ ve NÜKLEER DNA ANALİZLERİ

Mitokondri DNA'sı ve nükleer DNA'sında RFLP analizleri yapmak için çok değişkenli istatistik analizlerde elde edilen sonuçlara göre koloniler seçildi. Türkiye'den toplanan 406 koloninin "SAHN clustering" ile analizleri sonucunda oluşan 5 kümeden toplam 28 koloni DNA analizlerine tabi tutuldu. Seçilen 28 koloninin dağılımı Tablo 3.3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.3.1. Seçilen 28 koloninin illere göre dağılımları

İller	Koloni Sayısı	İller	Koloni Sayısı
Ankara	1	Kayseri	2
Van	3	Eskişehir	3
Zonguldak	3	Ardahan	4
Karaman	2	Artvin	1
Edirne	4	Hatay	5

EcoRI enzimi ile kesim sonucu:

Bütün mtDNA'nın *EcoR I* enzimi ile kesimi sonucunda Karnika\Ligustika paternine karşılık gelen 4 parça elde edildi (DNA parçalarının yaklaşık ağırlıkları 11Kbp, 4.5Kbp, ve 2 adet 500bp den küçük parça gözlemlendi. 28 koloniden biri hariç hepsi aynı tip profile sahip olduğu gözlemlendi. 5 Hatay kolonisinden birinde iki küçük DNA parçası yerine sadece 1 adet 2 Kbp ağırlığında bir parça bulundu (Afrika örgüsü).

Xba I enzimi ile kesim sonucu:

Xba I restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda yaklaşık ağırlıkları 10Kbp, 4.5Kbp ve 2Kbp olan 3 mtDNA parçası elde edilmiştir. Bu enzim kesim sonuçları da bir önceki enzim sonuçlarında olduğu gibi Karnika\Ligustika paternine karşılık geldiği gözlemlendi. 28 koloniden, 2 Hatay kolonisi diğerlerinden farklılık gösterdiği bulundu. Bu iki kolonide yaklaşık ağırlıkları 9.5 ve 6.5Kbp olan iki adet parça tespit edildi (Afrika örgüsü).

Bgl II ve *Bcl I* enzimi ile kesim sonuçları:

Bu iki restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda taranan 28 koloninin hepsinin aynı tip bant paternine sahip olduğu tespit edildi. *Bgl II* kesimi sonucunda ağırlıkları 13.2Kbp, ve 3.8Kbp olan iki parça bulundu. Aynı şekilde *Bcl I* enzimi kesimi sonucunda yaklaşık ağırlıkları 7 Kbp ve 6Kbp olan iki mtDNA parçası gözlemlendi.

Yukarıda açıklanan deneylerde 6 baz tanıyan restriksiyon enzimleri kullanıldı. Kullanılan bu enzimler ile çok az varyasyon bulunduğundan dolayı 4 veya 5 baz tanıyan restriksiyon enzimlerinin kullanılmasına karar verildi. Bu enzimlerin mtDNA'sını daha sıklıkta kesebileceklerinden varyasyon bulma şansı artacaktır. Bir diğer yünden bu enzimlerin kullanılmasının da bir sakıncası vardır. Çok fazla DNA fragmanı elde edileceğinden bir çok küçük parçanın gözlenmesi imkansız hale gelecektir. Bu yüzden bütün mtDNA'nın bu enzimlerle kesimi yerine varyasyon olabilecek mtDNA genleri Polimeraz Zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir.

Arılarda mtDNA, 13 protein geni, 2 rDNA geni ve 22 tRNA geni kodlamaktadır. Bu bölgeler arasında ND2 (700bp), CO-I (1Kbp), COI-COII İntergenik bölgesi (800bp) ve A+T bazlarınca zengin olan bölgeye (750bp) uygun primerler kullanılarak çoğaltılan mtDNA bölgesi yukarıda bahsedilen yöntem ile çoğaltılıp 4 baz tanıyan (*Alu I*, *Rsa I*, *Cfo I*, *Hae III*, *Taq I*) ve 5 baz tanıyan (*Hinf I*) restriksiyon enzimleri ile kesilmişlerdir.

ND2 bölgesi:

Taranan 28 koloniden *Hinf I* enzimi ile kesim sonucunda sadece Ardahan ve Eskişehir'den alınan kolonilerden 1'er tanesi diğerlerinden farklı bant profiline sahip olduğu bulundu. Kullanılan diğer 5 enzimde ise hiçbir farklılığa rastlanmadı.

CO-I bölgesi:

Alu I, *Rsa I*, *Cfo I* ve *Hae III* restriksiyon enzim analizleri sonucunda hiçbir varyasyona rastlanmamıştır. *Hinf I* enzimi ile kesim sonucunda 28 koloniden 27'sinin aynı tip kesim profiline sahip olduğu bulundu. Hatay'dan 1 koloninin farklı kesim profiline sahip olduğu gözlemlenmiştir. *Taq I* enzimi ile kesim sonucunda ise Hatay'dan seçilen bir koloni 27 koloniden farklı restriksiyon enzim profili ortaya koymuştur.

COI-COII İntergenik bölgesi:

Kullanılan 6 farklı restriksiyon enzimi analizi sonucunda hiç bir varyasyona rastlanmamıştır. Sadece Hatay'dan alınan bir kolonide bu bölgenin daha büyük olduğu gözlenmiştir. Diğer bir deyişle elektroforez sonucunda ağır olduğundan dolayı daha yavaş yürümüştür.

A+T bazlarınca zengin olan bölge:

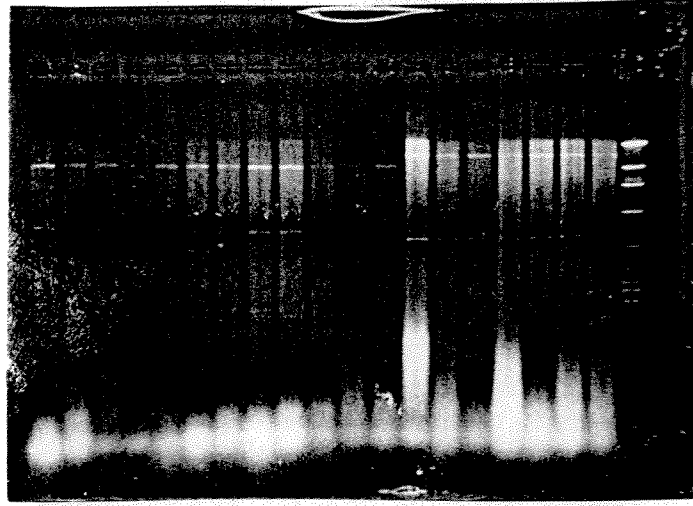
Bu bölge mtDNA'nın replikasyonunun başlangıç bölgesidir, baz dizisi %95'ten çok A ve T içermektedir. Bu bölge 800 bp uzunluğunda olup PCR ile çok iyi çoğaltılma yapılmasına rağmen kullanılan 6 enzimin hiçbirinde varyasyon bulunamamıştır. mtDNA üzerinde çoğaltılan bu bölgeler dışında 1 adet nükleer DNA bölgesi de çalışılmıştır. Bu bölge ITS 1 (Internal Transcribed Spacer)'dir.

ITS 1 bölgesi

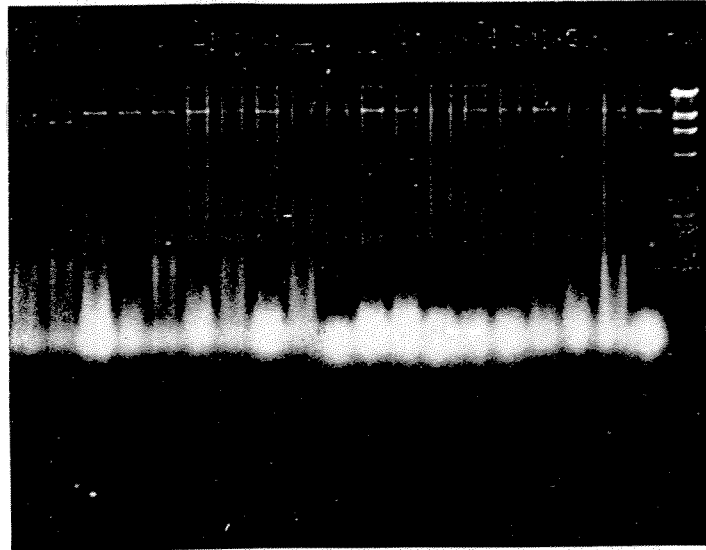
Bu bölge nükleer DNA üzerinde 18 SrDNA ve 5.8 SrDNA alt üniteleri arasında bulunmaktadır (Sheppard ve McPheron, 1991). Bir çok PCR şartları denenmesine rağmen bu bölgenin çoğaltılması mümkün olmamıştır. Bunun üzerine bu bölgenin çalışılmasına devam edilmemiştir.

Yapılan bu ön çalışmalar sonucunda Türkiye bal arılarında *EcoR* I mtDNA paterninin araştırılmasına ve mtDNA genleri arasında ise CO-I bölgesinin çoğaltılarak *Hinf* I restriksiyon enzimi ile kesilip DNA profillerine bakılmasına karar verilmiştir. Daha sonra Türkiye'den toplanan her koloniden 2 işçi arı örneğinden total nükleik asit izolasyonuna başlanmıştır. Örnekleme yapılan iller ve koloni sayıları Tablo 2.1 de verilmiştir.

Türkiye sathında yapılan örnekleme sonucunda 37 ilden toplam 330 koloniden alınan işçi arıların total nükleik asit izolasyonlarını takiben mtDNA *EcoR* I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir (Şekil 3.3.1). Bu analiz sonucunda 3 farklı mtDNA kesim profili bulunmuştur. Balıkesir'den örneklenen bir koloninin analizi sonucunda bulunan mtDNA kesim profili şu ana kadar rastlanmamış yeni bir profildir (Şekil 3.3.2). Kesim sonucu gözlenen bir diğer kesim profili Afrika kesim profilidir. Bu profil analizi yapılan 330 koloni içerisinde sadece 6 tanesinde gözlenmiştir. Bu profillerin hepsi Hatay'dan örneklenen kolonilerde (Esentepe-İskenderun, Kamberli-Altınözü, Duttepe-Altınözü, Çiğdede-Samandağ, Aslanyazı- Yayladağı[2],) bulunmuştur. Analizi yapılan diğer kolonilerin hepsi Karnika Ligustika bal arılarında gözlenen profil göstermiştir (Sheppard ve ark, 1991; Smith, 1989).

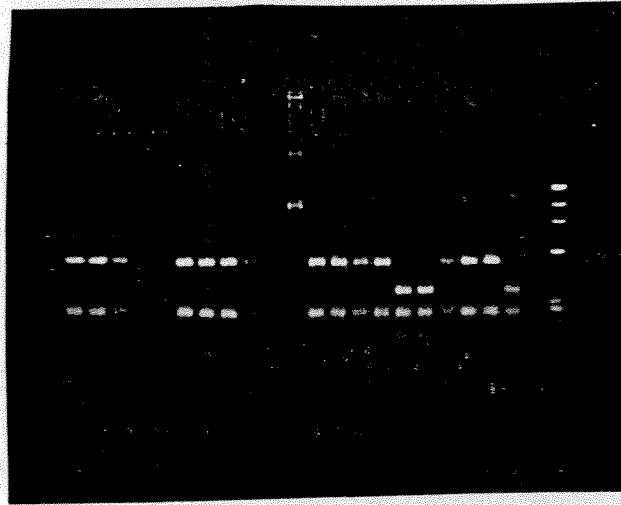


Şekil 3.3.1. Bal arısı mtDNA'sının EcoRI restriksiyon enzimi ile kesimi.
(Lane 1-12) Lane 6: Afrika örgüsü, Lane 1-5, 7-12: Karnika Ligustica örgüsü.

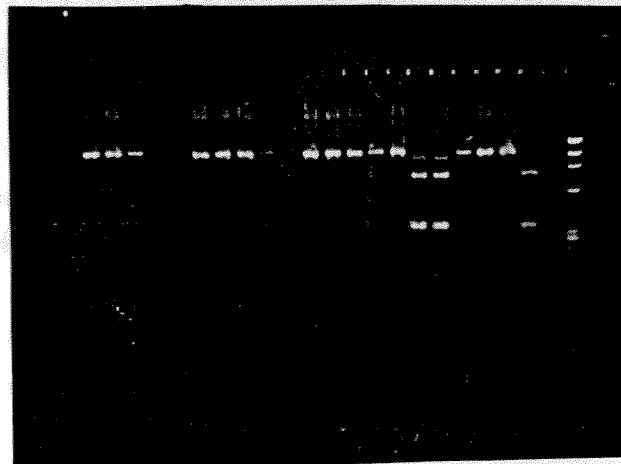


Şekil 3.3.2. Bal arısı mtDNA'sının EcoRI restriksiyon enzimi ile kesimi.
(Lane 1-19) Lane 2: Balıkesir'den alınan koloninin gösterdiği bilinmeyen yeni bir örgü

Karboksil Oksidaz I (CO-I) gen (1000 baz çifti) bölgesinin mtDNA dan PCR ile çoğaltılmasını takiben *Taq* I ve *Hinf* I restriksiyon enzimleri ile kesime tabi tutulmuşlardır. Bu enzimlerin kesim işlemi sonucunda 2 farklı kesim profili gözlenmiştir. Birinci profile sahip kolonilerde bu enzimlerin tanıdığı baz dizisine rastlanmamıştır. İkinci kesim profilinde ise en az 1 adet restriksiyon enziminin tanıdığı baz dizisi bulunmuştur. Bunu kesim sonucunda yapılan agaroz jel analizinden anlamaktayız. Agaroz jel üzerinde 2 bant gözlenmiştir. 330 koloninin analizi sonucunda Afrika *EcoR* I kesim profili gözlemlediğimiz kolonilerde, sonradan bahsettiğimiz CO-I bölgesi *Hinf* I ve *Taq* I kesim profili bulunmuştur.



Şekil 3.3.3. CO I-CO II bölgesinin *Taq* I restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda oluşan farklı örgüler.



Şekil 3.3.4. CO I-CO II bölgesinin *Hinf* I restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda oluşan farklı örgüler.

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

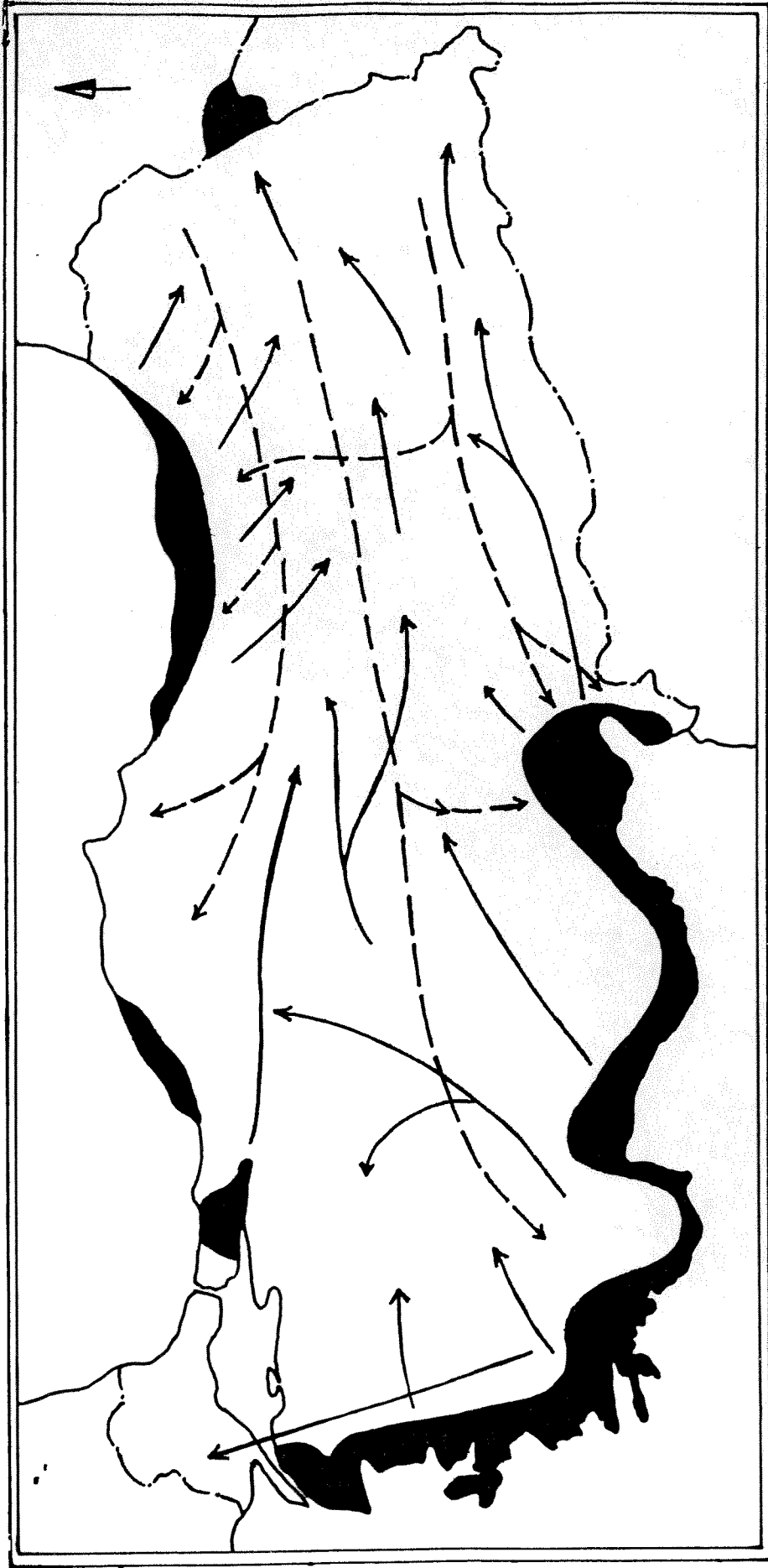
MORFOMETRİ

Bu çalışma Türkiye bal arısı (*Apis mellifera* L.) toplulukları üzerinde yapılmış olan kapsamlı bir morfometrik ve elektroforetik çalışmadır. Türkiye'nin farklı bölgelerinden bal arıları morfometrik ve genetik (izoenzimik ve mtDNA'sı) olarak karakterize edilmiştir. Daha önce Türkiye bal arısı ırkları hakkında bildiklerimiz yabancı araştırmacıların yaptığı çalışmalara dayanıyordu (Bodenheimer, 1943; Maa, 1953; Brother Adam, 1983; Ruttner, 1988). En son Ruttner (1988) Türkiye bal arılarının üzerinde yaptığı morfometrik çalışmalara dayanarak Türkiye'de bal arısının 4 alttürünün olduğunu ileri sürmüştür. Bu alttür veya ırklar Orta ve Batı Anadolu'da *A. mellifera anatoliaca*, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da *A. mellifera meda*, Kuzeydoğu Anadolu'da *A. mellifera caucasica*, ve Trakya'da *A. mellifera carnica*'dir.

Bal arıları ilden ile bu çalışmada ölçülen morfometrik karakterler bakımından yüksek istatistik anlamlılık taşıyan ($P < 0.001$) değişim göstermektedir (Tablo 3.1.2). Bu çalışmada arılar üzerinde yapılan morfometrik analizler Ruttner'in görüşlerini kısmen doğrulamışlardır. Artvin ve Ardahan örnekleri birlikte sınıflandırılmış ve Iğdır, Kars ve Amasya örnekleri ile ilişkileri olduğu ortaya çıkmıştır. Burada Artvin ve Ardahan örnekleri siyah kafkas arılarını (*Apis mellifera caucasica*), Iğdır, Kars ve Amasya örnekleri ise büyük bir olasılık ile kafkas arısı, İran arısı ve Anadolu arısı arasındaki melezlerdir.

Diğer taraftan Kırklareli, Van ve Kastamonu arıları diğer Anadolu arılarından farklı bir grup oluşturmuşlardır. Tablo 3.1.1 incelendiğinde kubital a ve kanat genişliği en yüksek olan üç arı örneği Kırklareli, Van ve Zonguldak illerine ait örneklerdir.

Bu parametrelerin belki de şansa bağlı olarak üç ilde de yüksek olması bu illere ait örneklerin birlikte sınıflandırılmasına neden olmuştur. Kastamonu, Kırklareli ve Van illeri arasında bir gezginci arıcılık bağlantısı yoktur (Şekil 4.1.1). Bu nedenle bu bölgeler arasında bir melezlenme de söz konusu değildir. Bu üç ile ait örnekler kendi aralarında bir ayrışım fonksiyon analizine tabi tutuldukları zaman gayet iyi bir biçimde ayrıldıkları görülmüştür. Ölçülen karakter sayısının artırılması bu şekilde oluşan sonuçları bir ölçüde önleyebilir.



Şekil 4.1.1. Gezginci arıların Türkiye üzerinde gidiş ve geliş rotaları
(Yılmaz, 1996' dan)

Temel ögeler analizi, çok yönlü ayrışım fonksiyon analizi ve fenogramda (Şekil 3.2.6) diğer gruplardan ayrı olan bir grup da Ş.Urfa'dan gelen örneklerdir. Bu örnekler aynı zamanda diğer örneklere göre vücut iriliği bakımından küçüktürler. Birinci eksen üzerindeki konumları bu arıların diğer arılardan daha küçük olduğunu göstermektedir. Ayrıca ikinci ve üçüncü temel öge eksenlerinde de diğer örneklerden farklı olmaları vücut şekli bakımından da farklı olduklarını göstermektedir.

Ş.Urfa ve Hatay arıları büyük bir olasılık ile Suriye'de bulunan *A.mellifera syriaca* ile *A.mellifera anatoliaca* ile melezleridir. Ş.Urfa ve Hatay'ın bal arıları açısından melezleşme bölgesi olduğu düşünülebilir.

Burada Artvin iline ait örnekler birinci temel öge eksenine göre en sağda yer almaktadırlar. Bu da Artvin örneklerinin en büyük arı örnekleri olduğunu göstermektedir. Bu bölgeden gelen arılar Kafkas arısı oldukları için bu sonuç beklenir. Bir de Hatay örnekleri birinci eksen üzerinde Ş.Urfa örneklerine en yakın örneklerdir. Bu çok gruplu ayrışım analizinde daha iyi bir şekilde görülmektedir (Şekil 3.1.2). Hatay örnekleri (170-179) grubun sol alt köşesinde ayrı bir grup oluşturmaktadırlar. Bu, yedi ile ait örnekler seçilerek ayrışım fonksiyon analizine tabi tutulunca daha açık bir şekilde görülmektedir (Şekil 3.1.4). Bu şekilde Hatay örnekleri (24-33) ayrı bir grup oluşturmaktadırlar.

Bu şekilde beklendikleri gibi Muğla örneklerinin diğer gruplardan ayrı bir grup oluşturduğu ve Iğdır ve Ardahan'ın da ayrı bir grup oluşturduğu görünür. Diğer bir grup ise Elazığ, Bingöl ve Malatya arı örneklerinin oluşturduğu gruptur.

Burada Iğdır ve Ardahan örneklerinin aynı grupta çıkmaları Doğu Anadolu'da olmaları nedeni ile beklenen bir sonuçtur. Fakat Ardahan arıları siyah kaffas arıları iken Iğdır arıları renkleri itibarı ile İran arılarına (*Apis mellifera meda*) benzemektedir. Bu da arıların sadece renklerine göre sınıflandırılmasının ne denli yanıltıcı olabileceğini göstermektedir.

Bu sonuçlara göre Anadolu'nun kuzey doğusunda Kafkas arıları, güneyinde Ş.Urfa'da *Apis mellifera syriaca* veya onun melezleri, Bingöl, Elazığ, Malatya'da *Apis mellifera meda*, orta ve batı Anadolu'da *Apis mellifera anatoliaca*, Kuzey batı Anadolu'da ise *Apis mellifera carnica*. Hatay'da ise *Apis mellifera anatoliaca*'nın *Apis mellifera syriaca* ile melezleri bulunmaktadır.

Çok gruplu ayrışım analizindeki grup sentroitleri arasında hesaplanan ortalama taksonomik mesafelerden elde edilen fenogramda oluşan gruplar da aynı şekilde açıklanabilir.

1.25 fenon çizgisi düzeyinde 1.grup Kafkas arılarını, 2.grup Anadolu arılarını, 3.grup, 5.grup ve 6.grup gezginci arıcılık nedeniyle etkilenmiş gruplardır. Hatay burada yine tek başına bir grup oluşturmaktadır. Ş.Urfa da tek başına bir grup oluşturmaktadır. Kırklareli ve Van bir grup oluşturmaktadırlar. Zonguldak tek başına bir grup oluşturmaktadır.

ENZİM POLİMORFİZMİ

Avrupa ve Amerika'da yayılmış bal arısı toplumlarında enzim polimorfizmi ayrıntılı bir şekilde çalışılmıştır. Bu çalışmada daha önce çalışılmamış olan Türkiye bal arılarında enzim polimorfizmi üzerinde kapsamlı bir araştırma yapılmıştır ve Türkiye'deki bal arısı toplumlarının çalışılan diğer toplumlara göre çok daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Çalışılan enzimler içerisinde en fazla polimorfizmi gösteren lokus PGM lokusudur. PGM lokusu daha önce de çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır (Mestriner ve Contel, 1972; Bruckner, 1974, Contel ve ark., 1977; Nunamaker, 1980; Nunamaker ve Wilson, 1980, Badino ve ark, 1983; Sheppard ve Berlocher, 1985; Sylvester, 1986). Bu araştırmacıardan hiçbirisi PGM lokusunda bir varyasyona rastlayamamıştır. Del Lama ve ark. (1985) ilk kez Afrika kökenli arıların melezlerinde ve Almanya kökenli karniol arılarında PGM lokusunda polimorfizm olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada PGM-45 ve PGM-63 alelleri de bulunmuştur (Tablo 3.2.1). Daha önceki çalışmalarda "fast (hızlı)", "Medium (orta hızlı)" ve "slow (yavaş)" söz edildiği için bu alellerin Fast PGM-100, Medium PGM-75, Slow ise PGM-45 veya PGM-63 olabilir. PGM-45 ve PGM-63 daha önceki çalışmada (Kandemir ve Kence, 1995) gözlenmemiştir. PGM-45 veya PGM-63 alellerinden biri daha önce literatürde hiç bildirilmemiştir.

EST-3 de gözlenen varyasyon, Badino ve ark. (1988) tarafından Yunanistan arıları için bildirilen varyasyona benzemektedir. Bu çalışmada EST-130 nadir bir aleldir. ve 37 ilden sadece Edirne'de gözlenmiştir. EST-70 ise ikinci sıklıkta görülen aleldir ve 37 ilden 23'ünde varyasyona sahiptir. Bu enzim sistemi EST-100 aleli bakımından çalışılan 37 ilden 7'sinde sabitlenmiştir. Badino ve ark. (1985) EST-100'ün frekansını Sicilya'da batıdan doğuya gidildikçe arttığını bildirmiştir. Bu çalışmada ise güneyden kuzeye doğru gidildikçe EST-100'ün frekansı artmaktadır (Şekil 3.2.4).

Hekzokinazın bu çalışmada 5 aleli tespit edilmiştir. Daha önce hiç bir çalışmada beş alel birden bulunmamıştır. Avrupa bal arılarında HK-100 sabitlenmiştir. Türkiye'de ise Avrupa'daki duruma paralel olarak HK-100 sabitlenmiştir. Karadeniz bölgesinde ise Bolu ve Artvin illeri hariç örnekleme yapılan diğer illerde HK-100'ün gen frekansı 1.000'e eşittir. Hekzokinaz 100'ün frekansının en düşük olduğu il Bingöl'dür (P=0.685). HK-120 aielinin

gen frekansının en yüksek olduğu il de yine Bingöl'dür. Hekzokinazın nadir alellere Anadolu'nun güney kısımlarında daha sık rastlanmaktadır.

Hekzokinazın Türkiye dışında Afrika kökenli arılarda polimorfizm gösterdiği bildirilmiştir (Del Lama, 1985; 1990). Bu da Türkiye'nin Afrika arıları ile bağlantısını gösteren diğer bir kanıttır.

Bu çalışmada Malat dehidrogenazın 4 aleli bulunmuştur. Orta Anadolu arıları üzerindeki önceki çalışmada (Kandemir ve Kence, 1995) MDH'in 5 aleli bulunmuştur. Sheppard (1988) A.B.D bal arısı toplulukları için 3 (MDH-65, MDH-80, MDH-100) alel bildirmiştir. Sheppard ve Berlocher, (1985) *Apis mellifera ligustica* topluluklarında MDH-87 alelinin varlığını bildirmiştir.

MDH *Apis mellifera*'da en çok çalışılan enzimdir. Coelho ve Mitton (1988) farklı MDH genotiplerinde farklı oksijen tüketimi olduğunu göstermişlerdir. Cornuet (1983) MDH alellerinde bir kuzey güney farklılaşması olduğunu bildirmiş ve Nielson ve ark. (1994) yine MDH alellerinde Amerika'da bir kuzey güney farklılaşması olduğunu göstermişlerdir. Cornuet (1983) MDH-80'in frekansı güneye gittikçe azaldığını, Nielsen ve ark. (1994) benzer bir farklılaşmanın Kuzey Amerika ve Güney Amerika'da olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada da uzamsal otokorelasyon analizi sonucuna göre MDH'de 'cline' denilen bir farklılaşma vardır. Güney bölgelerinde MDH-100 sabitlemiş olduğu halde Kuzey bölgelerinde özellikle Edirne ve Kırklareli'de MDH-100'ün frekansı düşmüştür. Yunanistan'da MDH-100'ün frekansı kuzeye gidildikçe düşmektedir. Girit adasında bu alel sabitlemiş durumdadır. MDH-116 daha önceki çalışmalarda bildirilmemiştir. Önceki çalışmada Orta Anadolu bal arılarında bulunan MDH-133'te daha önceki çalışmalarda bildirilmemiştir.

Cornuet ve ark. (1995) bal arılarında MDH üzerine yaptığı bir çalışmada heterozigotlarda MDH'in daha kararlı olduğunu göstermişlerdir. MDH-65 ve MDH-100 heterozigotlarının diğer heterozigotlardan daha kararlı olduğu da bu çalışmada gösterilmiş ve MDH'da görülen kuzey güney farklılaşmasını sıcaklığa bağlı kararlılığı ile açıklamaya çalışmışlardır.

Anadolu'daki MDH-100 gen frekansı Afrika kökenli arıların gen frekansına benzemektedir. MDH-65 gen frekansı Anadolu arılarında düşüktür ve *ligustica* ve *carnea* alttürlerinde ise yüksektir. HK alelleri aynı şekilde Anadolu ve Afrika kökenli arılarda

varyasyon gösterirken, Ligustika ve Karnika alttürlerinde HK-100 sabitlenmiştir. Bu da Anadolu arıları ile Afrika arıları arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Temel öğeler analizinde ve genetik uzaklıklarına göre illerin kümelenmesi ile elde edilen fenogramda Elazığ, Bingöl, Hatay ve Ş.Urfa genetik olarak birbirine benzer çıkmışlardır. Bu bölgeler arasında gezginci arıcılık nedeniyle yoğun bir gen akışı vardır (Şekil 4.1.1). Bu nedenle bu bölgelerin genetik olarak birbirine yakın çıkması anlaşılabilir. Ş.Urfa ve Hatay arıları güneyde *A. mellifera syriaca* ile temas halindedirler. Ş.Urfa'da örneklenen toplumların *Apis mellifera syriaca*'nın yerel bir toplumuna veya bu alttürden çok etkilenmiş bir topluma ait olduğu söylenebilir. Hatay bal arısı toplumları da aynı şekilde *Apis mellifera syriaca* ile *Apis mellifera anatolica*'nin melezlenmesiyle oluşan melez toplumlardır. Kayseri, Van, Balıkesir, Trabzon, Eskişehir, Kastamonu arıları genetik olarak birbirlerine yakın bulunmuşlardır (Şekil 3.2.6). Van arıları daha önce de morfometrik ölçümlere göre Kırklareli ve Zonguldak'a yakın bir şekilde sınıflandırılmışlardır. Burada da Kastamonu, Eskişehir, İzmir, Balıkesir gibi batı Anadolu illerinin arıları ile birlikte sınıflandırılmışlardır. Van arı örnekleri Bingöl, Elazığ gibi doğu anadolu örneklerinden gerek morfometrik olarak gerekse genetik olarak çok farklılık göstermektedirler. Bu Batı Anadolu'dan Van'a gelen gezginci arıcılar ile açıklanabilir, ya da daha büyük bir olasılık ile Van arı toplumları Doğu Anadolu arılarından farklı bir alttürü temsil etmektedir. Adam (1987) *Apis mellifera anatolica* üzerinde izlenimlerinden söz ederken bu ırkın yaygın olarak bulunduğu bir yerde adacıklar halinde farklı bir alttür bulunabileceğinden bahsetmiştir.

Şekil 3.2.6'daki fenogramda Kırklareli ve Edirne arıları Avrupa arı toplumları olarak birlikte sınıflandırılmışlardır. Bu fenogramda ilginç diğer bir gözlem de Artvin ve Ardahan arı toplumlarının Uşak, Amasya, Mersin ve Manisa arı toplumları ile aynı grupta yer almalarıdır. Bir diğer ilginç bir gözlem de Sivas ve Antalya bal arısı toplumlarının birlikte sınıflandırılmalarıdır. Morfometrik ölçümlere dayanan önceki fenogramda (Şekil 3.1.5) da Sivas ve Antalya arıları birlikte sınıflandırılmışlardır. Bu sonuçlar gezginci arıcılık nedeni ile meydana gelen toplumlar arası gen akışı ile açıklanabilir.

mtDNA'sı

mtDNA'sında kullanılan restriksiyon enzimleri ile yapılan çalışmada Türkiye'de fazla bir varyasyon bulunamamıştır. Daha farklı mtDNA genleri ve daha çok restriksiyon enzimleri kullanılarak yapılacak bir çalışma ile Türkiye bal arısı toplumlarında daha fazla varyasyon bulma olasıdır. Bu tür bir çalışma için önemli ölçüde mali kaynak gerekmektedir. Bu çalışmada mtDNA'nın Hatay arılarında diğer Türkiye arılarından farklı olarak Afrika örgüsü (pattern) gösteren bir haplotipine rastlanmıştır. Bu da Hatay'ın bir melez bölgesi olduğunu

destekleyen güçlü bir kanıttır. Bunun dışında bir de Balıkesir’de literatürde daha önce hiç bildirilmemiş bir mtDNA örgüsüne rastlanmıştır. Bu büyük bir olasılık ile mtDNA’da oluşan bir mutasyondan dolayı meydana gelmiş olabilir.

Sonuç olarak bal arılarında (*Apis mellifera* L.) Türkiye’de Dünyanın hiçbir ülkesinde daha önce hiç gözlenmemiş bir genetik çeşitlilik gözlenmiştir. Anadolu’da ilk defa tespit edilerek bildirilen PGM, HK ve MDH alelleri bal arılarının Türkiye’de uzun bir süredir evrimleştiklerini göstermektedir.

Bu genetik hazineyi koruyabilmek için, genetik çeşitliliğin ne durumda olduğunu bilmek zorundayız (Kence, 1987;1988). Bu çalışma da gezginci arıcılığın arı toplumlarını önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Bu gen kaynaklarının gezginci arıcılık nedeniyle daha fazla etkilenmemesi için bazı önlemleri acilen almak gerekmektedir.

1. Gezginci arıların bir bölgeye girmeden önce arıların çiftleşme dönemlerinin geçmiş olması gerekir.
2. Bazı yerel bal arısı toplumları korunmaya alınarak, gezginci arıların ulaşmadığı yerlerde tutulmalıdırlar.
3. Bu şekilde arıların korunması mümkün değilse arıların suni dölleme yöntemi ile soylarının sürdürülmesi sağlanmalıdır.

Anadoluda binlerce yılda oluşmuş bir hazineyi korumak için gerekli çalışmalara vakit geçirmeden başlanmalıdır. Türkiye bal arılarının genetik çeşitliliği açısından Güney Doğu Anadolu çok ilginç bir melez bölgesidir. GAP projesinin gelişmesi ile bu bölgede değişecek olan iklim koşulları nedeni ile bu bölgedeki arı adaptasyonlarının araştırılarak korunması gerekmektedir. Bu bölgede tarımsal üretim artacağından dolayı bölgede öncelikle tozlaştırıcı olarak bal arılarına olan ihtiyaç daha da artacaktır.

BÖLÜM V

KAYNAKLAR

- Adam. Br. *In search of the best strains of bees*. Walmar Verlag, Zelll Werebah. (1953).
- Adam. Br. *Breeding the honey bee*. Northern Bee Books, Mytholmroyd: Hebben Bridge, (1987).
- Anonim. Honey, USDA Agricultural Statistics, National Agricultural Statistics Service, Washington D.C, (1993).
- Badino G., Giovanna, C., Manino, A. Population structure and Mdh-1 locus variation in *Apis mellifera ligustica*. *J. Heredity*, 74, 443-446. (1983).
- Badino G., Giovanna, C., Manino, A., Longo, S. Enzyme polymorphism in the Sicilian honeybees (*Apis mellifera* L.) *Apidologie*, 21, 123-126. (1985)
- Badino G., Celebrano, G., Manino, A., Ifanditis, M.D. Allozyme variability in Greek honeybees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 19, 337-386. (1988).
- Bodenheimer, F.S. *Studies on the Honeybee and Beekeeping in Turkey*, Ankara, (1942).
- Bruckner, D. Reduction of Biological polymorphisms in honeybees (*Apis mellifera*). *Experientia*, 30, 618-619, (1974).
- Cliff. A.D., Ord, J.K. *Spatial Processes*. Pion, London, 266p. (1981)
- Coelho. J.R., Mitton J.B. Oxygen consumption during hovering associated with genetic variation at enzymes in honey bees. *Functional Ecology*, 12, 141-146, (1988).

- Contel, E.P.B., Mestriner, M.A., Martins, E. 1977. Genetic control and developmental expression of Malate Dehydrogenase in *Apis mellifera*. *Biochemical Genetics*, 15, 859-876, (1977).
- Cornuet, J.M. Reproduction génétique et sélection de l'abeille. *Bull. Tech. Apic.*, 10, 13-36. (1983)
- Cornuet, J.M., Oldroyd, B., Crozier, R.W. Unequal thermostability of allelic forms of malate dehydrogenase in honeybees. *J. Apic. Research*, 34, 45-47, (1995).
- Crane, E. *Honey*, In History of Honey. E.Crane (Ed.) Heinmann, London, (1976).
- Del Lama, M.A., Mestriner, M.A., Pavia, J.C.A. Est-5 and Pgm1: New polymorphisms in *Apis mellifera*. *Rev. Brazil. Genet.* 8, 17-27, (1985).
- Del Lama, M.A., Figueiredo, R.A., Soares, A.E.E., Del Lama, S.N. Hexokinase polymorphism in *Apis mellifera* and its use for Africanized honeybee identification. *Rev. Brazil. Genet.*, 11: 287-297, (1988).
- Del Lama, M.A., Lobo, J.A., Soares, A.E.E., Del Lama, S.N. Genetic differentiation estimated by isozymic analysis of africanized honeybee populations from Brazil and from Central America. *Apidologie*, 21, 271-280.(1990)
- Firath,  . Races of Honeybees. *Training course on apiculture at the development foundation of Turkey*. A. İnci(Ed.). FAO. Ankara, (1987).
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U., Bek, Y. Gap bölgesinde  eşitli bal arısı (*Apis mellifera*) ırklarının performanslarının saptanması ve b lgedeki mevcut arı ırklarının ıslahı olanakları (T B TAK Projesi, Proje Bileşeni No: 5.6.4) Gap Yayınları No: 74 (1993)
- Kandemir, İ., Kence, A. Allozyme variability in a central Anatolian honey bee (*Apis mellifera* L.) populations. *Apidologie*, 26:503-510. (1995).
- Kence, A. (Proje Koordinat r ). *Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri, Türkiye  evre Sorunları Vakfı yayını* Ankara, (1990).
- Maa, T.L. An inquiry into systematics of the Tribus Apidini or Honeybees (Hymenoptera). *Treubia*, 21, 521-540, (1953).

- McDonald, J.H. *No Bad Gels*. Starch gel electrophoresis for the masses. Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. NY 11794, (1985).
- Mestriner, M.A., Contel, E.P.B. The P-3 and Est loci in the honeybee *Apis mellifera*. *Genetics*, 72, 733-738.(1972)
- Nielson, D., Page Jr, E., Crosland, M.W.J. Clinal variation and selection of MDH allozymes in honeybee populations. *Experientia*, 50. 867-871.(1994)
- Nunamaker, R.A., Wilson, W.T. Some isozymes of the honeybee. *Isozyme Bull.* 13, 111-112. (1980).
- Nunamaker, R.A., Wilson, W.T. Comparison of MDH allozyme patterns in the African Honey bee (*Apis mellifera adansonii* L) and the Africanized populations of Brazil. *Journal of The Kansas Entomological Society*, 54, 704-710, (1981).
- Önde, S., Kence, A. Geographic variation analysis of ABO and Rh systems in Turkey. *Gene Geography* 9: 211-220. (1995)
- Podani, J. *STN-TAX-pc: Computer Programs for Multivariate Data Analysis in Ecology and Systematics*. Version 5.0, Budapest. (1993)
- Robinson, W.S., Nowagrodski, K., Morse, R.A. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops. Part I and II. *American Bee Journal*, 129:411-423, 477-489, (1989).
- Rohlf, J.F. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 1.70. Exeter software, New York, (1992).
- Rohlf, J.F., and Sokal, R.R. *Statistical tables*. 2nd Ed. W.H.Freeman and Company. San Francisco. 219p, (1981).
- Rothenbuhler, W.C., Kulincevic, J.M. Bee Genetics. *Ann. Rev. Genet.*, 2: 19-38. Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, (1968).

- Rothenbuhler, W.C. *Semi domesticated insects: Honey bee breeding*. In Genetics in relation to insect management. Edited by M.R. Hoy. McKelney, Jr. pp. 89-92. Rockefeller Foundation. New York, (1979).
- Ruttner, F. *Races of Honeybees*. The hive and the Honeybees. Dodant and Sons, Hamilton, Illinois, (1973).
- Ruttner, F. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer-Verlag, Berlin (1988).
- Shaw, C.R., Prasad, R. Starch gel electrophoresis- A compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, 4: 297-320, (1970).
- Sheppard, W.S., Berlocher, S.H. New allozyme variability in Italian honeybees. *The Journal of Heredity*, 76, 45-48, (1985).
- Sheppard, W.S. Comparative study of enzyme polymorphism in United States and European honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations. *Entomol. Soc. Am.*, 81, 886-889. (1988)
- Sheppard, W.S., Berlocher, S.H. Allozyme variation and differentiation among four *Apis* species. *Apidologie*, 20, 419-431, (1989).
- Sheppard, W.S., McPheron, B.A. *Ribosomal DNA diversity in Apidae* in Diversity in the Genus *Apis*, D.R. Smith (Ed.), Westview Press, San Francisco, (1991).
- Sheppard, W.S., Rinderer, T.E., Mazzoli, J.A., Sletzer, J.A. Shimanuki, H. Gene flow between African-and European-derived honey bee populations in Argentina. *Nature*, 349, 782-784.(1991)
- Smith, D.R. *Mitochondrial DNA polymorphisms in five Old World subspecies of honeybees and in New World hybrids* in Africanized Honey Bees and Bee Mites, G.L. Needham, R.E. Page, M. DelfinadoBaker, C.E. Bowman (Eds). Ellis-Horwood Limited, New York, (1988).
- Smith, M., Hopkinson, D.A., Harris, H. Developmental changes and polymorphism in human alcohol dehydrogenase. *Annals of Human Genetics*, 34, 251-271, (1971).

- Smith, M., Hopkinson, D.A., Harris, H. Alcohol dehydrogenase isozymes in adult human stomach and liver: evidence for activity of the ADH₃ locus. *Annals of Human Genetics*, 35, 243-253, (1972).
- Sokal, R.R. F.M.L.S and Oden, N.L. Spatial autocorrelation in Biology: 1 Metodology, *Biological J. Linnean Society*, 10, 129-288. (1978a).
- Sokal, R.R., Oden, N.L. Spatial autocorrelation in Biology: 2. Some Biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. *Biological J. Linnean Society*, 10, 199-228, (1978b).
- Sokal, R.R., Wartenberg, D.E. Space and population structure. p 186-213. In D. Griffith and R. McKinnon (Eds.) *Dynamic Spatial Models*. Sijthoff and Noordoff, Alpen aan den Rijn. The Netherlands. (1981)
- Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. *Numeric taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco, 573p. (1973).
- Sönmez, R. and Settar, A. Önemli arı ırkları. ırk özellikleri ve Türkiye'deki bulgular. Türkiye 1. Arıcılık Kongresi, Ankara, 1980. N.Sönmez (Ed.) Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı yayını no.154, (1987).
- Southwick, E.E., Southwick, K.Jr. Estimating the economic value of honey bees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollination in the United States. *J. of Economic Entomology*, 85, 621-633, (1992).
- Sylvester, H.A. Biochemical genetics. In: *Bee Genetics and Breeding* (T.Rinderer.Ed.), Academic Press, Orlando, FL, 177-203.(1986)
- Wartenberg, D. *SAAP-Spatial Autocorrelation Analysis Program*. Version 4.3. (1989)
- Wilson, E.O. *Insect societies*. Harvard University Press, Cambridge, Mass, (1971).
- Yılmaz, Bahri. Türkiye'de seyyar arıcılığın avantajları. *Teknik Arıcılık*, 52:24-28. (1996).