

**TRAKYA BÖLGESİNDEKİ BAL
ARILARINDA (*Apis Mellifera L.*)
mtDNA 16S rDNA ve ND5
GENLERİ ANALİZİ
Ayşe GÜDER
Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Danışman: : Doç. Dr. Fulya ÖZDİL**

2017

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TRAKYA BÖLGESİNDEKİ BAL ARILARINDA (*Apis Mellifera* L.)
MİTOKONDRIYEL GENOMDA 16S rDNA ve ND5 GENLERİ ANALİZİ**

Ayşe GÜDER

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

TEKİRDAĞ-2017

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Fulya ÖZDİL danışmanlığında, Ayşe GÜDER tarafından hazırlanan “Trakya Bölgesindeki Bal Arılarında (*Apis Mellifera* L.) Mitokondriyel Genomda 16S rDNA ve ND5 Genleri Analizi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL *İmza:*

Üye: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL *İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU *İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRAKYA BÖLGESİNDEKİ BAL ARILARINDA (*Apis Mellifera L.*) mtDNA 16S rDNA ve ND5 GENLERİ ANALİZİ

Ayşe GÜDER

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

Bu çalışmada, Türkiye'nin Trakya bölgesinde bulunan bal arısı populasyonları arasındaki genetik varyasyon 16S rDNA ve ND5 bölgeleri kullanılarak araştırılmıştır. PCR-RFLP ve DNA dizi analizi yöntemlerinden yararlanılarak mitokondriyel genomda *DraI*, *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Trakya bölgesini temsil edebilecek bal arısı populasyonlarından örneklenen Tekirdağ, Gökçeada, Çanakkale, Edirne ve Kırklareli'nin farklı yörelerinden olmak üzere toplam 100 adet işçi arı örneği materyal olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, 16S rDNA ve ND5 gen bölgelerinin *DraI* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile kesiminde iki farklı haplotip belirlenmiştir. 16S rDNA/*DraI* kesimi bakımından Tip 1 haplotipinde 315, 212, 116, 116, 92, 70 ve 44 bç'lik yedi farklı bant gözlenmiştir. Tip 2 haplotipinde, C → T transizyonu sonucu 705. pozisyonda meydana gelen nokta mutasyonu sonucu bu haplotip 8 bant görüntüsünü vermiştir (215, 212, 116, 116, 100, 92, 70 ve 44 bç). 16S rDNA/*SwaI* bakımından Tip 1 haplotipinde 359, 324 ve 282 bç'lik 3 farklı banttan oluşan kesim profili belirlenmiştir. 16S rDNA gen bölgesinin 196. nükleotidinde (A→T transversiyonu) meydana gelen nokta mutasyonu sonucu *SwaI* enziminin yeni bir kesim noktası oluşmuş ve 359, 324, 195 ve 87 bç'lik 4 bant profili elde edilmiştir. Fakat bu bölgenin *MboII* restriksiyon enzimi kesimi sonucunda tüm örneklerde 16S rDNA/*MboII* bakımından tek tip haplotip belirlenmiştir. ND5 bölgesinde ise *DraI* restriksiyon enzimi kesimi sonucunda varyasyon belirlenmiş ve iki haplotip elde edilmiştir. ND5/*DraI* bakımından Tip 1 haplotipinde 440, 270 ve 112 bç'lik 3 farklı banttan oluşan kesim profili tespit edilmiştir. ND5 gen bölgesinin 383. pozisyonda (T→C transizyonu) tek nükleotid değişimi sonucu *DraI* restriksiyon enziminin kesim noktası kaybolmuştur. Böylece jelde 112, 270 ve 440 bç'lik 3 bant sayısı 440 bç'lik bantın kaybolması sonucu 552 ve 270 bç'lik 2 bant modeli oluşan kesim profili elde edilmiştir. ND5 bölgesinin *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile kesiminde varyasyon bulunmamış ve tüm örneklerde tek tip haplotip elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Apis mellifera L.*, mtDNA, 16S rDNA, ND5, PCR-RFLP, DNA dizi analizi

2017, 60 sayfa

ABSTRACT

Master Thesis

ANALYSIS OF mtDNA 16S rDNA and ND5 GENES IN THRACEN HONEY BEES (*Apis mellifera* L.)

Ayşe GÜDER

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fulya ÖZDİL

In this study, it was aimed to determine the genetic variation among honey bee populations in Thrace region of Turkey using 16S rDNA and ND5 gene regions. DNA sequencing and PCR-RFLP methods was caaried out by *DraI*, *MboII* and *SwaI* restriction enzymes. A total of 100 worker honey bees samples were used from different regions of Tekirdağ, Gökçeada, Çanakkale, Edirne and Kırklareli provinences. In this study, two different haplotypes were identified with *DraI* and *SwaI* restriction enzymes in 16S rDNA and ND5 genes. Seven bands; 315, 212, 116, 116, 92, 70 and 44 bp were observed in Type 1 haplotype in terms of 16S rDNA/*DraI* digestion. In Type 2 haplotype, there is an additional restriction site at position 705 which is a result of C→T transition and this haplotype gives 8 band pattern (215, 212, 116, 116, 100, 92, 70 and 44 bp). 16S rDNA/*SwaI* digestion revealed 3 different bands; 359, 324 and 282 bp in Type 1 haplotype. On the other hand in Type 2 haplotype, there is an additional restriction site at position 196 which is a result of A→T transversion and this haplotype gives 4 band pattern of 359, 324, 195 and 87. However, 16S rDNA/*MboII* digestion was found monomorphic and only one haplotype was found in all the samples. ND5/*DraI* digestion revealed 3 bands; 440, 270 and 112 bp in Type 1 haplotype. In this region, the result of a single nucleotide substitution at position 383 (T → C transition) lacks the *DraI* recognition site and 2 bands; 552 and 270 were obtained in Type 2 haplotype. No sequence variation were found in ND5 gene region with the restriction enzymes *MboII* and *SwaI*.

Key words: *Apis mellifera* L., mtDNA, 16S rDNA, ND5, PCR-RFLP, DNA sequencing

2017, 60 pages

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana öneren ve tüm yüksek lisans eğitim sürecinde yakın ilgi ve önerileriyle beni yönlendiren, laboratuvar analizleri ilgili pratik kazanmamı sağlayan, düşünceleriyle bana daima yol gösteren, her türlü desteği sağlayan danışman hocam sayın Doç. Dr. Fulya ÖZDİL'e sonsuz teşekkür ederim.

Tez projem kapsamındaki tüm laboratuvar çalışmalarında özveri ile yardımcı olan, laboratuvar da karşılaştığım birçok sorunun çözümünde bana yol gösteren, mesai harcayarak destek olan ve her konuda yanımda olan desteklerini esirgemeyen değerli hocam Arş. Gör. Dr. Raziye IŞIK'a minnettarım. Yüksek lisans eğitimine teşvik eden yakın arkadaşım İlham BAHHAR'a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini benden esirgemeyen ve tanımaktan büyük mutluluk duyduğum değerli yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Kızları olmaktan gurur duyduğum, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem ve babama, her konuda desteğini benden esirgemeyen kız kardeşim Merve GÜDER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos 2017

Ayşe GÜDER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Bal Arısının Sınıflandırılması ve Dağılımı.....	3
2.2 Mitokondri ve Mitokondriyal DNA (mtDNA) Molekülü	10
2.3 mtDNA ve Özellikleri	11
2.4 Bal Arılarında mtDNA Materyali.....	15
2.5 Bal Arılarında Yapılmış Olan Genetik Çalışmalar	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	28
3.1 Materyal.....	28
3.1.1 Materyal ve örnekleme	28
3.1.2 Kullanılan alet ve cihazlar	28
3.1.3 Çalışmada kullanılan tampon çözeltiler	29
3.2 Yöntem	30
3.2.1 Genomik DNA izolasyonu	30
3.2.2 Mitokondriyal DNA 16S rDNA ve ND5 bölgelerinin PCR ile çoğaltılması	31
3.2.3 Mitokondriyal DNA 16S rDNA ve ND5 bölgelerinin <i>DraI</i> , <i>SwaI</i> ve <i>MboII</i> restriksiyon enzimleri ile kesimi.....	34
3.2.4 DNA dizi analizi	35
4. ARASTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	36
4.1 16S rDNA Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltımı	36
4.1.1 16S rDNA gen bölgesinin <i>DraI</i> enzimi ile kesimi	36
4.1.2 16S rDNA gen bölgesinin <i>MboII</i> enzimi ile kesimi	39
4.1.3 16S rDNA gen bölgesinin <i>SwaI</i> enzimi ile kesimi	39
4.2 ND5 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	42
4.2.1 ND5 gen bölgesinin <i>DraI</i> enzimi ile kesimi.....	42
4.2.2 ND5 gen bölgesinin <i>MboII</i> enzim ile kesimi	45
4.2.3 ND5 gen bölgesinin <i>SwaI</i> enzimi ile kesimi	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
6. KAYNAKLAR	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1: Bal arılarının taksonomik sınıflandırılması (Engel 1999).....	4
Çizelge 2.2: Dünya’da var olan <i>Apis mellifera</i> alttürleri (Ruttner 1992, Sheppard ve ark. 1997, Sheppard ve Meixner 2003).....	6
Çizelge 3.1: Bal arısı örneklerinin alındığı iller ve örnek sayısı	28
Çizelge 3.2: Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi	28
Çizelge 3.3: Elektroforez sırasında kullanılan tampon çözeltilerin bileşimleri	29
Çizelge 3.4: PCR-RFLP sırasında kullanılan primerler, restriksiyon enzimleri ve kaynak	31
Çizelge 3.5: PCR reaksiyonu ve konsantrasyonları.....	33
Çizelge 3.6: PCR sıcaklık ve döngüleri.....	33
Çizelge 3.7: <i>DraI</i> , <i>SwaI</i> ve <i>MboII</i> restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyonları.....	34
Çizelge 3.8: Kullanılan restriksiyon enzimleri, tanıma dizileri ve fragment büyüklükleri	34
Çizelge 5.1: 16S rDNA gen bölgesi bant profili ve haplotipleri	47
Çizelge 5.2: ND5 grn bölgesi bant profili ve haplotipleri	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>Apis mellifera</i> alttürlerinin evrimsel ilişkisini gösteren Neighbour-Joining ağacı (Whitfield ve ark. 2006'dan değiştirilerek alınmıştır)	5
Şekil 2.2: Batı bal arısının (<i>Apis mellifera</i> L.) coğrafi dağılımı (Ruttner 1988 ve Franck ve ark. 2001)	7
Şekil 2.3: <i>Apis mellifera</i> alttürlerinin Dünya üzerindeki dağılımı (Franck ve ark. 1998'den değiştirilerek alınmıştır)	8
Şekil 2.4: Türkiye bal arısı ekotip ve alttürlerinin dağılışı (Akyol ve ark. 2006)	9
Şekil 2.5: Mitokondrinin yapısı	11
Şekil 2.6: mtDNA yapısı	12
Şekil 2.7: Mitokondriyal heteroplazmi ile normal ve mutant mitokondrinin gelecek nesile aktarılması	13
Şekil 2.8: <i>Apis mellifera</i> mitokondriyel genom haritası	16
Şekil 2.9: <i>Apis mellifera</i> mtDNA genomunun restriksiyon haritası	20
Şekil 3.1: mtDNA 16S rDNA gen bölgesi nükleotid dizisi	32
Şekil 3.2: mtDNA ND5 gen bölgesi nükleotid dizisi	32
Şekil 4.1: 16S rDNA gen bölgesine ait PCR ürünleri	36
Şekil 4.2: 16S rDNA gen bölgesinin <i>DraI</i> enzimi kesim sonucu	37
Şekil 4.3: 16S rDNA/ <i>DraI</i> restriksiyon enzimi kesim noktaları	38
Şekil 4.4: 16S rDNA gen bölgesinin <i>MboII</i> enzim kesimi	39
Şekil 4.5: 16S rDNA gen bölgesinin <i>SwaI</i> enzimi kesim sonucu	40
Şekil 4.6: 16S rDNA/ <i>SwaI</i> restriksiyon enzimi kesim noktaları	41
Şekil 4.7: ND5 gen bölgesinin PCR ürünleri	42
Şekil 4.8: ND5 gen bölgesinin <i>DraI</i> enzimi kesim sonucu	43
Şekil 4.9: ND5/ <i>DraI</i> restriksiyon enzimi kesim noktaları	44
Şekil 4.10: ND5 gen bölgesinin <i>MboII</i> enzim kesimi	45
Şekil 4.11: ND5 gen bölgesinin <i>SwaI</i> enzim kesimi	46
Şekil 5.1: 16S rDNA gen bölgesi DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacı (Neighbour Joining Dendogram)	48
Şekil 5.2: ND5 gen bölgesi DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacı (Neighbour Joining Dendogram)	49

SİMGELER DİZİNİ

- A: Adenin Nükleotidi
ADP: Adenozin Difosfat
AFLP: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
ATP: Adenozin Trifosfat
bç: Baz Çifti
C: Sitozin Nükleotidi
COI: Sitokrom C oksidaz I
COII: Sitokrom C oksidaz II
CO2: Karbondioksit
Cytb: Sitokrom b Geni
DNA: Deoksiribonükleik Asit
dNTP: Deoksinükleotid Trifosfat
G: Guanin Nükleotidi
Mg: Magnezyum
MgCl₂: Magnezyum Klorür
mtDNA: Mitokondriyel DNA
nDNA: Çekirdek DNA
tRNA: Taşıyıcı RNA
P: Fosfor
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA: Ribonükleik Asit
RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SNPs: Tek Nükleotid Polimorfizmleri
T: Timin Nükleotidi

1.GİRİŞ

Dünyada ilk yaşam formları bakterilerin türemesiyle klorofil içeren su yosunlarının oluşması ile suda, daha sonrasında likenlerin kayaları toprağa çevrimi ile karada başlamıştır. Zamanla bitkilerin gelişmesi, ağaçlar gibi yüksek yapılı kara canlılarının yeryüzünde var olmasını sağlamıştır. Dünya, uzun bir evrim sürecinden sonra bitkilerle birlikte bazı böceklerin türemesi ve çoğalması için uygun çevre şartlarının oluşumuna olanak sağlamıştır (Birand, 2001). İlk evrimleşen böcek grupları içinde arılar ve eşek arıları yer almaktadır ve arıların yaklaşık 120 milyon yıl önce evrimleştiği düşünülmektedir (Milner 1996).

İklim, türlerin yayılmasında en önemli faktörlerin başında gelmektedir. Avrupa'yı etkileyen son buzul çağı İngiltere ve Rusya'yı etkilemiş ve doğuya ilerlemiştir. Bal arıları İber, İtalya ve Balkan Yarımadaı'nda buzul çağdan etkilenmeyip yaşamını devam ettirebilmiştir. Buzul çağı sona erdikten sonra, Balkan Yarımadası'ndaki arılar kuzeye ilerlemiş, Alplerin doğusuna ve Rusya'nın Kuzeydoğu sınırına kadar yayılmışlardır. Ancak İtalyan arısı *Apis mellifera ligustica*, geçişini önleyen Alp dağlarından kuzeye doğru ilerleyememiştir. Son buzul çağında Kuzey Afrika'nın bal arısı olan *Apis mellifera intermissa* ise İber Yarımadası'nda yaşamını devam ettirmiştir. Buzul çağı sona erdikten sonra *A.m.intermissa* Batı Avrupa'ya yayılarak bu bölgedeki arı ekotiplerinin oluşumunda etkili olmuştur (Adam 1987).

Bal arılarının evrimiyle ilgili üç teori ileri sürülmüştür. Bunlardan ilki Rothenbuhler ve arkadaşlarının (1968) teorisine göre bal arıları Asya'dan köken almış ve Hindistan'dan türemiştir. Diğer bir teori ise bal arıları Afrika' da türemiş olup Anadolu ve İber yarımadası üzerinden Avrupa'ya ilerlemiştir (Wilson 1971). En fazla kabul gören Ruttner (1988)'in teorisine göre ise batı bal arısı (*Apis mellifera* L.) Anadolu'ya yakın bir yerde Hazar Denizi'nin güneyinde türemiş buradan Avrupa ve Afrika'ya yayılmıştır. Daha sonra batı bal arısının dünyaya yayılışı ise insan eliyle olmuştur. Batı bal arısı (*Apis mellifera* L.), Kuzey Avrupa'dan Afrika'ya, İngiliz Adalarından Ural Dağlarına, Batı İran'dan Arap yarımadasına kadar çok geniş bir coğrafi alana yayılmıştır.

Batı bal arısı (*Apis mellifera* L.), yüksek adaptasyon kabiliyetinden dolayı dünyanın birçok bölgesine yayılmıştır. Bulunduğu bölgelerin ekolojik koşullarına uyum sağlayarak çok sayıda bal arısı coğrafi ırkı oluşmuş ve bu ırklar içerisinde de farklı ekotipler meydana

gelmiştir. Türkiye, farklı ekolojik şartlara sahip olması ve Afrika, Avrupa ve Asya arasında köprü oluşturması nedeniyle birçok arı ırkı ve ekotipini içinde bulunduran bir gen havuzu konumundadır (Adam 1983).

Bal arılarının korunması ve ekonomik üretimlerinin sürdürülebilmesindeki ilk ve en önemli aşama, arı ırklarının önce morfolojik ardından genetik yapılarının çeşitli boyutlarda tanımlanmasıdır. PCR teknolojisinin geliştirilmesiyle, farklı marker tekniklerinden yararlanılarak bal arısı popülasyonlarının tanımlanması, orijinlerinin ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesi gibi birçok konuda oldukça yararlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu tip marker yöntemleri ile yapılan araştırmalar morfometri çalışmalarıyla da desteklenerek daha doğru sonuçların elde edilmesini sağlamaktadır. Günümüzde farklı bal arısı alttürlerine özgü çok sayıda DNA markeri belirlenmiştir (Moritz ve ark. 1986, Cornuet ve Garnery 1991, Hall ve Smith 1991, Garnery ve ark. 1991, 1992, 1995, Arias ve Sheppard 1996, Smith ve ark. 1997, Franck ve ark. 1998, 2000a, 2000b, Palmer ve ark. 2000, De La Rua ve ark. 2001, 2009, Özdil ve ark. 2007, 2009, 2011).

Bal arısı genomunun ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması amacıyla 2003 yılında “Honeybee Genome” başlıklı bir proje başlatılmıştır. “The Honeybee Genome Sequencing Consortium” tarafından yürütülen projede diğer türlerde olduğu gibi bal arısının tüm genomu ortaya konmuş gen bankası kayıtlarına kaydedilmiştir (Whitfield ve ark. 2006).

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Bal Arısının Sınıflandırılması ve Dağılımı

Morfolojilerine göre bal arısı 4 türde incelenmektedir. Ruttner ve ark. (1978) 'e göre bal arısı türleri;

- a) Batı bal arısı (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758)
- b) Doğu bal arısı (*Apis cerana* Fabricius, 1793)
- c) Küçük (cüce) bal arısı (*Apis florea* Fabricius, 1787) ve
- d) Dev bal arısı (*Apis dorsata* Fabricius, 1793) olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 2.1).

Batı bal arısının dışında yer alan üç bal arısı türü Asya kıtasında bulunmaktadır. Türkiye'de bulunan bal arıları Batı bal arısı (*Apis mellifera* L.) türü içerisinde yer almaktadır. Batı bal arısı (*Apis mellifera* L.) Afrika, Avrupa ve Orta Doğu'yu da kapsayan çok geniş bir bölgede yayılım göstermektedir (Ruttner ve ark. 1978, Ruttner 1988).

Batı bal arısı (*Apis mellifera* L.), kutuplar dışında dünyanın her bölgesine yayılmış göstermiş ve farklı iklim şartlarına adaptasyon sonucu farklı coğrafi ırklar (alttür) oluşmuştur. Irk içinde farklı genetik yapıdaki popülasyonlar ekotip olarak adlandırılmıştır. 19. Yüzyılda bal arılarında coğrafik tip ya da ekotiplerinin taksonomik sınıflandırma çalışmalarına başlanmıştır (Crane 1984).

Batı bal arısı (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) Apidae familyası içerisinde yer alan morfolojik, fizyolojik ve davranışsal karakterler ile coğrafik dağılıma göre farklılık gösteren bal arısı türlerinden bir tanesidir (Otis 1996, Engel 1999).

Günümüzde kutuplar dışında geniş bir coğrafyanın farklı bölgelerinde çeşitli iklim şartlarına adaptasyonu sonucu ortaya çıkmış birçok bal arısı alt türü bulunmaktadır (Ruttner, 1988). Bal arısının anayurdu sayılan Afrika ve Avrupa ile birlikte Anadolu'da (Adam 1987) farklı fizyolojik, morfolojik ve davranış özelliklerine sahip ırk ve ekotipler belirlenmiştir (Bodenheimer 1942, Adam 1983, Doğaroğlu 1981, Ruttner 1988, Karacaoğlu 1989, Doğaroğlu ve ark. 1992, Fıratlı ve Budak, 1994; Karacaoğlu ve Fıratlı 1998, Genç ve ark. 1999, Genç ve Fıratlı 1999, Güler ve Kaftanoğlu 1999).

Çizelge 2.1. Bal arılarının taksonomik sınıflandırılması (Engel 1999).

Alem	Animalia	Hayvanlar
Şube	Arthropoda	Eklem bacaklılar
Sınıf	Insecta	Böcekler
Takım	Hymenoptera	Zar Kanatlılar
Familya	Apidae	Arılar
Cins	Apis	Bal Arıları
Tür	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus (1758)	Batı bal arısı
	<i>Apis cerana</i> Fabricius (1793)	Doğu bal arısı
	<i>Apis florea</i> Fabricius (1787)	Küçük (cüce) bal arısı
	<i>Apis dorsata</i> Fabricius (1793)	Dev bal arısı

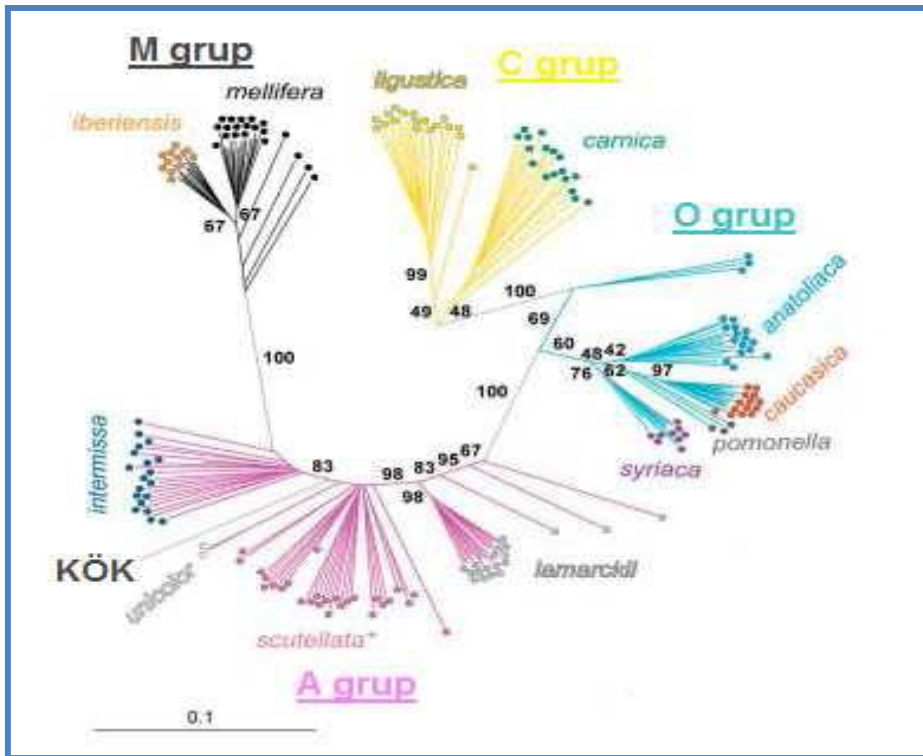
Morfometrik karakterler kullanarak yapılan analizlerde *Apis mellifera* türü Dünya üzerinde önceleri üç evrimsel soya (M, A ve C soyları) ayrılmıştır. Ruttner ve ark. (1978), bal arısı alttürlerinin morfolojik özellikler kullanılarak A (*Africa*), M (*Mellifera*) ve C (*Carnica*) olmak üzere üç ana genetik soy içerisinde sınıflandırılabilceğini belirtmiştir. Bu sınıflandırmaya göre bazı Batı Avrupa ve Kuzey Afrika alttürleri *Mellifera* soyu (M), Orta ve Güney Afrika alttürleri Afrika soyu (A) ve Doğu Avrupa'dan İtalya'ya kadar yer alan coğrafyadaki *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica* alttürleri *Carnica* soyu (C) içerisinde sınıflandırılmaktadır (Ruttner ve ark. 1978).

Daha sonra Ruttner (1988, 1992)'de Kümeleme Analizi (Cluster Analysis) ve Temel Ögeler Analizi (Principle Component Analysis, PCA) ile *Apis mellifera* türü içerisinde dört evrimsel soyun varlığı bildirilmiştir. Batı Akdeniz ve Kuzey Afrika M soyu, Afrika A soyu, Orta Akdeniz ve Güneydoğu Avrupa C soyu, Orta ve Yakın Doğu O soyu olarak sınıflandırılmıştır. Yine morfometrik verilere dayanarak yaptıkları çalışma ile Kauhausen-Keller ve ark. (1997) bu dört soyun varlığını pekiştirici sonuçlar ile ortaya koymuştur. Yakın ve Orta Doğu alttürleri bu üç ana soya ek olarak dördüncü bir genetik soy olan Oryantal soyu (O) içerisinde sınıflandırılmıştır (Ruttner 1988, Kauhausen-Keller ve ark. 1997).

Standart morfometrik karakterler kullanılarak Batı bal arısı soylarının veya alttürlerinin ayrımı ile ilgili çalışmalara ek olarak mitokondriyal DNA (mtDNA) markerleri (Smith 1991, Garnery ve ark. 1992, Arias ve Sheppard 1996, Palmer ve ark. 2000, Franck ve ark. 2000a, 2001, Kandemir ve ark. 2006) ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) (Whitfield

ve ark. 2006) kullanılarak yapılan çalışmalarda, Ruttner (1988) ve Kauhausen-Keller ve ark. (1997) tarafından bildirilen 4 ana soyun varlığını destekleyen sonuçlar elde edilmiştir.

Ancak bu çalışmalarda, bazı alttürlerin morfolojik karakterlere göre ayrıldıkları ana soylardan diğer soylara kaydıkları da belirtilmiştir (Arias ve Sheppard 1996, Franck ve ark. 2000a, 2000b, 2001, Whitfield ve ark. 2006). Yemen bal arısı (*A. m. yemenitica*), Kauhausen-Keller (1997) tarafından A soyu içerisinde yer almaktadır. Ancak moleküler analizler sonucu Yemen bal arısı, Yemenitica (Y) soyu olarak ifade edilen beşinci genetik soy içerisinde değerlendirilebileceği ifade edilmektedir (Whitfield ve ark. 2006). SNP analizleri kullanarak yapılan sınıflandırmada, 4 ana Batı bal arısı soyunu destekleyici sonucun yanı sıra Wilson (1971)'de 40 yıl öncesine dayanan *Apis mellifera* alttürlerinin Afrika kökenli olduğu ile ilgili hipotezi destekleyici sonuçlar da elde edilmiştir (Whitfield ve ark. 2006) (Şekil 2.1, Şekil 2.2).



Şekil 2.1. *Apis mellifera* alttürlerinin evrimsel ilişkisini gösteren Neighbour-Joining ağacı (Whitfield ve ark. 2006).

Bal arısı türleri içerisinde en fazla coğrafi varyasyona sahip olan *Apis mellifera*'nın Dünya üzerinde, temelde 4 soya ayrılan 27 alttürü olduğu bilinmektedir (Ruttner 1992, Sheppard ve ark. 1997, Sheppard ve Meixner 2003) (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Dünya'da var olan *Apis mellifera* alttürleri (Ruttner 1992, Sheppard ve ark. 1997, Sheppard ve Meixner 2003).

I. Yakın ve Orta Doğu (O)	1. <i>Apis mellifera anatoliaca</i> Maa (1953)
	2. <i>Apis mellifera adami</i> Ruttner (1975)
	3. <i>Apis mellifera cypria</i> Pollmann (1879)
	4. <i>Apis mellifera syriaca</i> Buttel-Reepen (1906)
	5. <i>Apis mellifera meda</i> Skorikov (1929)
	6. <i>Apis mellifera caucasica</i> Gorbachev (1916)
	7. <i>Apis mellifera armeniaca</i> Skorikov (1929)
	8. <i>Apis mellifera pomonella</i> Sheppard ve Meixner (2003)
II. Tropik Afrika (A)	9. <i>Apis mellifera lamarckii</i> Cockerell (1906)
	10. <i>Apis mellifera yemenitica</i> Ruttner (1975)
	11. <i>Apis mellifera litorea</i> Smith (1961)
	12. <i>Apis mellifera scutellata</i> Lepeletier (1836)
	13. <i>Apis mellifera adansonii</i> Latreille (1804)
	14. <i>Apis mellifera monticola</i> Smith (1961)
	15. <i>Apis mellifera capensis</i> Escholtz (1821)
	16. <i>Apis mellifera unicolor</i> Latreille (1804)
III. Avrupa (Orta ve Doğu) ve Kuzey Akdeniz	17. <i>Apis mellifera macedonica</i> Ruttner (1988)
	18. <i>Apis mellifera ligustica</i> Spinola (1806)
	19. <i>Apis mellifera carnica</i> Pollman (1879)
	20. <i>Apis mellifera cecropia</i> Kiesenweiter (1860)
	21. <i>Apis mellifera sicula</i> Montagna (1911)
	22. <i>Apis mellifera ruttneri</i> Sheppard (1997)
Avrupa (Batı ve Kuzey) ve Afrika (Kuzey)	23. <i>Apis mellifera mellifera</i> Linnaeus (1758)
	24. <i>Apis mellifera iberica</i> Goetze (1964)
	25. <i>Apis mellifera major</i> Ruttner (1978)
	26. <i>Apis mellifera sahariensis</i> Baldensperger (1924)
	27. <i>Apis mellifera intermissa</i> Buttel-Reepen (1906)



Şekil 2.2. Batı bal arısı soylarının (*Apis mellifera* L.) coğrafi dağılımı (Ruttner 1988 ve Franck ve ark. 2001).

Apidae familyasına ait dört tür bal arısı bulunmaktadır. *Apis mellifera* türü bunlar içerisinde en yaygın ve ekonomik değeri olan arı türüdür. Dünya’da yüksek ekonomik değere sahip batı bal arısı ırkları İtalyan (*A. m. ligustica*), Karniyol (*A. m. carnica*), Kafkas (*A. m. caucasica*), Avrupa esmer (*A. m. mellifera*) ve Anadolu (*A. m. anatoliaca*) arıları ile düşük ekonomik değere sahip Kıbrıs (*A. m. cypria*) ve Suriye (*A. m. syriaca*) arıları oluşturmaktadır (Şekil 2.3).

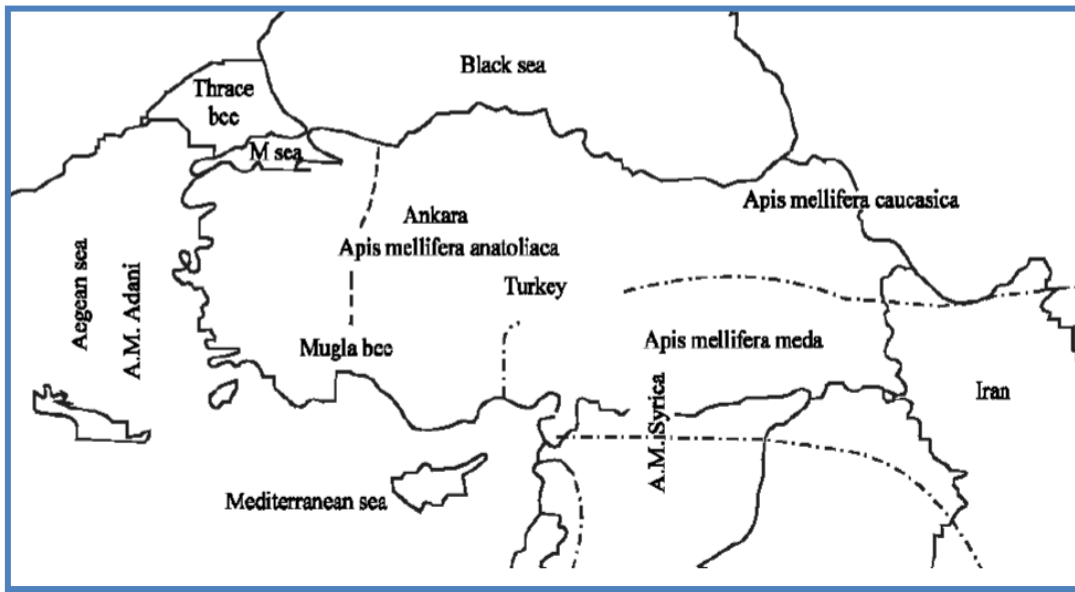


Şekil 2.3. *Apis mellifera* alttürlerinin Dünya üzerindeki dağılımı (Franck ve ark. 1998).

Türkiye’de bal arısı popülasyonlarının sınıflandırılması konusunda yapılan çalışmalarda 5 alttür ve pek çok ekotip (Muğla, Yığılca, Gökçeada vb.) olduğu bildirilmiştir (Ruttner 1988, Smith 2002, Kandemir ve ark. 2006).

- ▶ Anadolu arısı (*A. m. anatoliaca*),
- ▶ Kafkas arısı (*A. m. caucasica*),
- ▶ İran arısı (*A. m. meda*)
- ▶ Suriye arısı (*A. m. syriaca*)
- ▶ Karniyol arısı (*A. m. carnica*)

Türkiye’de bölgelere göre Kuzeydoğu Anadolu’da Kafkas arısı (*A. m. caucasica*), Güneydoğu Anadolu’da İran arısı (*A. m. meda*), Orta Anadolu’da Anadolu arısı (*A. m. anatoliaca*), Hatay yöresinde Suriye arısı (*A. m. syriaca*), Ege kıyılarında Muğla arısı, Gökçeada yöresinde Gökçeada arısı, Düzce yöresinde Yığılca arısı ve Trakya bölgesinde Karniyol arısı (*A. m. carnica*)’nın varlığından bahsedilmektedir (Doğaroğlu ve ark. 1992, Palmer ve ark. 2000, Akyol ve ark. 2006, Kandemir ve ark. 2006, Kekeçoğlu ve ark. 2010) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Türkiye bal arısı ekotip ve alttürlerinin dağılışı (Akyol ve ark. 2006).

Ruttner (1988) morfometrik verilerin çok deşiskenli analizi ile Ortadoğu’daki bal arılarını 7 alttüre ayırmıştır: *A. m. adami*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. armeniaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. cypria*, *A. m. meda* ve *A. m. syriaca*.

***Apis mellifera cypria* Pollman (1879):** Bu alttür ada alttüü olup Doğu Akdeniz’deki Kıbrıs adasında bulunmaktadır. *A. m. Cypria* morfolojik olarak aynı grupta yer alan *A. m. anatoliaca*, *A. m. syriaca* ve *A. m. meda*’ya benzemektedir. Bu alttüüün rengi oldukça farklı olup Ruttner’in (1988) belirttiği gibi “parlak turuncu” renklidir.

***Apis mellifera syriaca* Buttel-Reepen (1907):** Bu alttüü Anadolu’da Güneydoğu Anadolu’da Hatay civarında (Kandemir ve ark. 2000), İsrail, Ürdün, Lübnan ve Suriye’yi

içine alan bölgede yayılış göstermektedir. *A. m. syriaca* Ortadoğu'daki küçük bal arısı alttürlerinden birisidir. (Ruttner 1988).

***Apis mellifera meda* Skorikov (1929):** *A. m. meda* ilk kez Lübnan'da tanımlanmış olup Türkiye'nin güneydoğusu, Kuzey Irak ve İran bu alttürün yayılış alanını oluşturmaktadır (Ruttner 1988).

***Apis mellifera caucasica* Gorbachew (1916):** *A. m. caucasica* arıcalar tarafından gri Kafkas dag arısı veya Kafkas arısı olarak bilinir. Bu alttürün doğal yayılış alanı, güney vadisini de içine alan Kafkas Dağları bölgesi ile sınırlıdır. Kuzeydoğu Anadolu'da ve Azerbaycan'a kadar olan bölgede yayılış göstermektedir. Ekonomik açıdan önemli bir alttür olduğu için genel olarak morfolojik ve davranış özellikleri tüm dünyada iyi bilinmektedir.

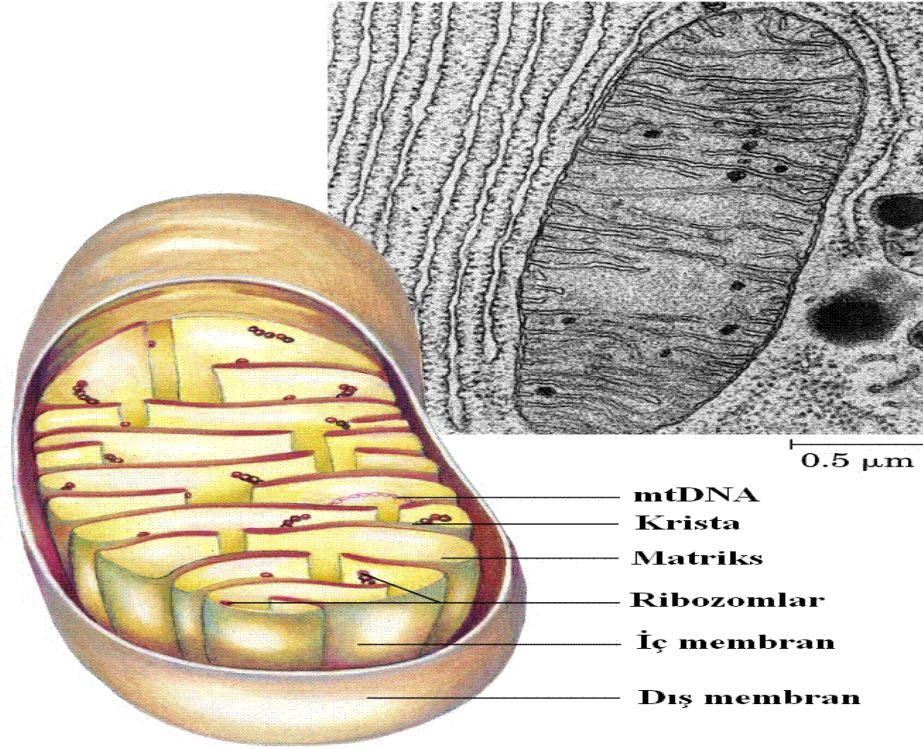
***Apis mellifera anatoliaca* Maa (1953):** Bu alttür Türkiye'de farklı coğrafi alanlarda Batı ve Orta Anadolu'da bulunmaktadır. *A. m. anatoliaca* benzer olarak görülen *A. m. ligustica*'dan daha büyüktür. Sarı arılar olarak kabul edilmesine rağmen turuncudan kahverengiye bir renk geçisi görülmektedir.

***Apis mellifera carnica* Pollman (1879):** *A. m. carnica* C soyunda olup Türkiye'de Trakya'da yayılış gösteren bir alttürdür (Kandemir ve ark. 2000). Karniyol bal arısının doğal yayılış alanı Avusturya, Romanya, Macaristan, Hırvatistan, eski Yugoslavya sınırları ve Bulgaristan'dır.

2.2 Mitokondri ve Mitokondriyal DNA (mtDNA) Molekülü

Canlılarda kalıtım materyali, çekirdek dışında stoplazmada, bitkilerde kloroplastta, hayvan ve insanlarda mitokondride bulunmaktadır. Mitokondri iki hücre membranına sahip, kendine özgü DNA molekülü (mtDNA) ve ribozomları olan, çeşitli enzimleri sentezleyebilen ve adenzin trifosfat (ATP) formunda enerji sentezini gerçekleştiren bir organeldir (Rokas ve ark. 2003) (Şekil 2.5). Mitokondri, biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli enerjinin temin edildiği hücrenin en önemli organellerinden birisidir. Ökaryotlarda bulunan mitokondri, hücre içi işlevlerde gerekli enerjinin sağlanabilmesi için oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretilmesini sağlayan önemli organellerinden biri olması yanında hücre sinyallerinin iletilmesi ve apoptoz gibi birçok hücre sel tepkimede görev almaktadır (Gray 2012). Oksidatif fosforilasyon, oksidatif yıkım ürünlerinden alınan elektronların moleküler oksijene aktarılırken açığa çıkan enerji ile ADP'den adenzin tri fosfat (ATP) sentezlenmesi olayıdır. Oksidatif fosforilasyon mitokondrinin iç membranında gerçekleşmektedir. Bunun dışında

mitokondri primidinlerin, amino asitlerin, fosfolipitlerin, nükleotidlerin, folat enzimlerinin, üre ve diğer birçok metabolitin biyosentezine de katkıda bulunur (Nelson ve Cox 2005).



Şekil 2.5. Mitokondrinin yapısı

Mitokondri çift zarla çevrili ve büyüklüğü 0.5-1 µm olan bir yapıdır. Her bir hücredeki mitokondri sayısı 500-1000 arasında olmasına rağmen bu sayının yumurta hücrelerinde embriyogenesis öncesinde daha fazla enerjiye ihtiyaç olması nedeniyle 10000'lere çıktığı bildirilmiştir (Cummins 1998, Rokas ve ark. 2003). Karaciğer ve kas gibi yüksek enerji ihtiyacı olan doku hücrelerinde mitokondri sayısı oldukça yüksektir.

2.3. mtDNA ve Özellikleri

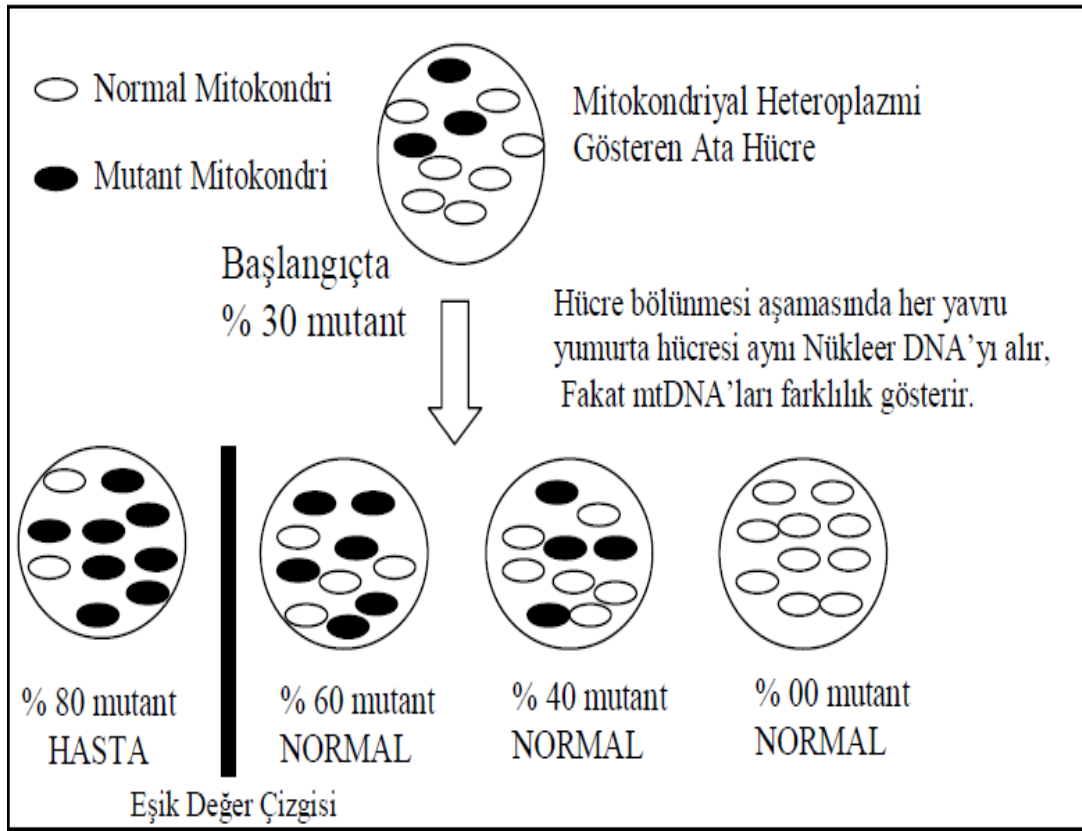
Eşeyli çoğalan türlerde mtDNA molekülünün çoğunlukla daire şeklinde olduğu ve anaya ait (maternal) kalıtım gösterdiği bildirilmektedir. Sperm, yumurta hücrelerine göre çok daha az mtDNA kopyası taşıdığından, mtDNA'nın % 0.1'den daha az bir kısmı sperm tarafından oluşturulurlar ve genotipi çok az etkilemektedir (Wang 1996, Fourtounis 1999, Chinnery ve Schon 2003). mtDNA da intron bölgelerinin bulunmadığı ancak küçük intergenik aralıkların bulunduğu bilinmektedir. Bu nedenle 1000 baz çifti uzunluğundaki D-loop bölgesi

Mutasyon hızı oldukça yüksektir.

Yüksek memelilerde mtDNA'nın nükleer DNA'dan daha hızlı değişime uğradığı bilinmektedir (Upholt ve Dawid 1977; Brown ve ark. 1979).

mtDNA sayısı oldukça fazladır ve bağımsız olarak kalıtım sergilemektedirler.

Hücrede mtDNA oldukça fazla miktarda bulunmakta ve bağımsız olarak kalıtım göstermektedir. Her bir hücre yüzlerce mitokondri içermektedir. Hücre bölünmesinde mitokondriler ve genomları yavru hücrelere replikatif segregasyon ile rastgele dağılmaktadır. Nükleer DNA'dan bağımsız olarak replikasyon yapan mtDNA, bu otonom özelliğinden dolayı hücre bölünmesi sırasında heteroplazmik bir segregasyon gösterebilir. Bir hücrede bulunan bütün mtDNA'ların aynı olması hali *homoplazmi*, mutant ve normal mtDNA'ların bir arada bulunması durumunda ise *heteroplazmi* olarak adlandırılmıştır. Mutant mtDNA'nın oranı doku içerisinde belli bir seviyenin (eşik değer/threshold effect) üzerine çıkıncaya kadar fenotip normaldir (Saara 1999) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Mitokondriyal heteroplazmi ile normal ve mutant mitokondrinin gelecek nesillere aktarılması (Saara 1999).

mtDNA genotipleri haplotipler (*haplotypes*) olarak isimlendirilmektedir. Haplotipler, tek genomlu (n kromozomlu) canlıların genotipini ifade ederken mitokondriyal özellikler bakımından genotiplerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (Piljug 2016; Özdiil 2007). Haplotip kavramı, aynı kromozom üzerinde bağlantı (*linkage*) halinde bulunan ve birlikte dölden döle aktarılan özgün bağlantı grupları olarak tanımlanmaktadır. Bunun dışında; nükleotid dizisinin kaybı yani eksilmesi (*deletion*), nükleotid eklenmesi (*insertion*), nükleotid yer değiştirmesi (*substitution*), belirli gen bölgelerinde DNA parçalarının farklı uzunluklarda olması ve herhangi bir lokustaki nükleotid dizilimlerinde görülen çeşitli değişimler mtDNA molekülünde oluşan genetik varyasyonun temel kaynaklarını oluşturmaktadır (Moritz ve ark. 1986, Solignac 1991). mtDNA mutasyonlar, nokta mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri (delesyon ve duplikasyon) içermektedir. Nokta mutasyonları genellikle maternal geçişlidir; delesyon ve duplikasyonlar ise seyrek görülür (Rokas ve ark. 2003).

mtDNA maternal olarak kalıtım sergiler.

Bir anne kendi sahip olduğu mtDNA'larını tüm yavrularına aktarma kabiliyetine sahipken, yalnız dişi yavruları sonraki generasyona mtDNA'larını aktarabilmekte ve erkek yavrular bu özelliğe sahip olmadığı için aktaramamaktadır. Manfredi ve ark. (1997) yaptıkları çalışmalarında, sperm mitokondrilerinin fertilizasyon sırasında yumurtaya girebildiğini fakat fertilizasyondan sonra embriyogenesisin iki veya dört hücre aşamasında iken kaybolduğunu belirtmiştir. Bunun yanı sıra paternal mtDNA'ya in vitro fertilizasyonda da rastlanılmamıştır (Kaneda ve ark.1995; Cummins, 1998; Danan ve ark. 1999).

mtDNA, birçok moleküler marker yönteminin (DNA dizileme, PCR, RFLP, SSCP, SNP, vs) kullanımına elverişlidir.

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ya da PCR- RFLP yöntemlerinin mtDNA'da uygulanması ile türler içi ve türler arasındaki genetik benzerlik veya farklılıkların ortaya konmasında yararlanılmaktadır. (Upholt ve Dawid 1977, Hecht 1990). Bunun yanı sıra PCR-RFLP metodunun mtDNA çalışmalarında diğer uygulama alanları; genetik uzaklık, popülasyondaki değişimler, etkili popülasyon büyüklüğü, bireyin biyografisi, ortak ebeveyn veya prenatal tanı, gen klonlanması gibidir (Meghen ve ark. 2002). mtDNA aracılığıyla farklı popülasyonların akraba ilişkilerinin tespiti sayesinde ırklardaki genetik varyasyonun değerlendirilmesi, filogenetik ilişkinin belirlenmesi ve başarılı yetiştirme tekniklerinin

geliştirilmesinde yararlanıldığı bildirilmektedir (Zhang ve Shi 1992; Chen ve Leibenguth 1995).

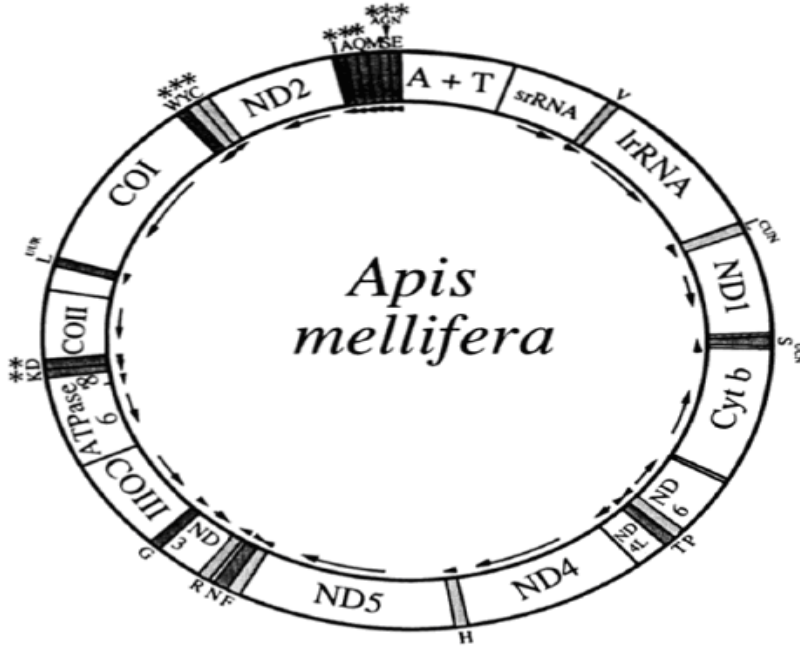
2.4. Bal Arılarında mtDNA Materyali

Bal arılarında, hem türler ve alttürler arasında ve hem de içerisindeki genetik ilişkileri ortaya konulmasında mtDNA molekülü kullanılarak yapılan çalışmalar ön plana çıkmaktadır. Filogenetik çalışmalarda mtDNA molekülünün iki önemli özelliğinden yararlanılmaktadır.

1) Mitokondriyal genoma ait genetik materyal daire şeklinde olduğundan DNA molekülünde homolog kromozomlar arasında parça değişimi (crossing-over) görülmemektedir (Cornuet ve Garnery 1991).

2) mtDNA'nın bir diğer özelliği ise maternal kalıtım göstermesidir. mtDNA'nın anaya ait kalıtım modeline sahip olması, bal arısı genetik çalışmalarında özellikle önemlidir; koloninin tüm bireyleri aynı ana arının döllerini olduğu için kovandaki tüm bireyler özdeş mtDNA molekülü taşımakta ve koloni analizlerinde tüm kovan tek bir birey olarak ele alınmaktadır (Garnery ve ark. 1992, Özdil 2007).

Bal arısı mtDNA'sı 16.343 baz çifti uzunluğunda çift zincirden oluşan halkasal bir DNA molekülüdür (Genbank NC_001566.1). Mitokondriyal DNA molekülü 13 protein, 22 tRNA, 2 ribozomal RNA olmak üzere toplam 37 gen içermektedir (Şekil 2.8) (Crozier ve Crozier 1993, Moritz 1994). Bal arısı mtDNA'sı A+T bakımından zengin olup yaklaşık %85'ni A+T'ce zengin bölge oluşturmaktadır.



Şekil 2.8. *Apis mellifera* mitokondriyel genom haritası.

tRNA genleri ilgili olduğu amino asitlerin baş harfi ile gösterilmektedir. COI, COII ve COIII sitokrom c oksidaz 1, 2, 3 genlerini ve Cyt B sitokrom B genini, ND1-6 ve ND4L, NADH dehidrogenaz genlerinin 1-6 alt ünitelerini göstermektedir. Oklar kodlayan bölgelerin transkripsiyon yönünü ifade eder (Crozier ve Crozier 1993).

2.5. Bal Arılarında Yapılmış Olan Genetik Çalışmalar

Mitokondriyal genom çalışmaları, Hymenoptera takımından Meyve sineği (*Drosophila*) ile başlamış olup ardından bal arılarında yapılan mtDNA çalışmaları dikkat çekmektedir. mtDNA, bal arısı biyolojisinin incelenmesinde önemli bir araçtır. Bal arılarında ilk olarak allozim varyasyonuna bakılmış ve düşük seviyelerde varyasyon bulunmuştur. mtDNA'da ise varyasyon seviyesinin yüksek olduğu belirtilmektedir (Avice ve ark. 1983).

Türkiye bal arısı popülasyonlarının tanımlanması amacıyla ilk defa Buttell Reepen (1906) araştırmalara başlamıştır. Ege ve Marmara Bölgelerinin bal arıları hakkındaki ilk araştırmadan sonra Bodenheimer (1941)'de Anadolu bal arılarının morfolojik özelliklerine göre tanımlayarak 7 farklı coğrafi bölgeye ayırmış ve farklı ekotiplerinin bulunduğunu belirtmiştir.

Maa (1953)'da morfometrik özelliklerine göre Anadolu arılarını karakterize ederek alt tür olarak *A.m. anatoliaca* sistematik adıyla ilk kez tanımlanmıştır. Maa' nın çalışmalarından sonra Adam (1983, 1987), Türkiye bal arılarını morfolojik ve davranış şekillerine göre inceleyerek Bodenheimer'in bulgularına yakın sonuçlar elde etmiştir. Anadolu bal arılarının Kuzeydoğu, Güneydoğu, Orta ve Batı Anadolu olarak dört tipe ayırmış ve bunlarında birçok

ara formu olduğunu belirtmiştir. Doğu Karadeniz Bölgesi bal arısının davranış ve ekonomik özellikleri incelendiğinde Kafkas arısından farklı olduğunu belirtmiştir.

Apis mellifera'nın coğrafi bölgelere göre gruplandırılmasına ilişkin bilimsel olarak kabul görmüş olan en önemli sonuçlar Ruttner (1988) tarafından bildirilmiştir. Ülkemizde 4 *Apis mellifera* alt türünün yayılmış olduğunu ve buna göre Türkiye'nin kuzeydoğusundan Samsun'a kadar olan bölgede *A. m. caucasica*, Güneydoğu'da *A. m. meda*, güneyde Türkiye-Suriye sınırına yakın kısımda *A. m. syriaca*, Trakyada dahil olmak üzere Türkiye'nin geri kalan alanlarında ise *A. m. anatoliaca*'nın görüldüğü belirtilmiştir. Başka araştırmacılar tarafından bal arıları, morfometrik özellikler ve alloenzim varyasyonu bakımından incelenmiş ve Ruttner (1988)'in bulgularına yakın sonuçlar elde edilmiştir (Darendelioğlu ve Kence 1992, Kandemir ve Kence 1995, Güler ve Kaftanoğlu 1999, Güler ve ark. 1999, Kandemir ve ark. 2000, 2005, Kence ve ark. 2006, Güler ve ark. 2002, Kekeçoğlu ve ark. 2009).

Ruttner'in morfometrik özelliklere göre yaptığı araştırmada *A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. armeniaca* ve *A. m. adami* alttürleri, Orta Doğu (O) soyunda sınıflandırılmıştır (Ruttner 1992). Fakat mtDNA markerlerine dayanarak yapılan araştırmalara göre *A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. carnica* ve *A. m. ligustica* alttürleri, Doğu Avrupa (C) soyunda sınıflandırılmıştır (Garnery ve ark. 1993, Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006).

A. m. anatoliaca ve *A. m. caucasica* arasında, bu iki türün mtDNA'larında COI-COII gen lokusunda nükleotit dizilimi bakımından önemli bir fark görülmemekte ve Anadolu arılarının nükleotit dizilimi bakımından *A. m. caucasica*'ya çok benzer olduğu belirtilmektedir (Palmer ve ark. 2000). mtDNA, moleküler yöntemler kullanılarak incelenmiş ve farklı restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda tüm mtDNA genom haritası belirlenmiştir. *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ile *A. m. carnica* alttürleriyle çoğunlukla aynı olan kesim noktaları tespit edilmiştir (Smith 1991). Dolayısıyla *A. m. anatolica*; *A. m. caucasica*, *A. m. ligustica* ve *A. m. carnica* alttürleri ile aynı mtDNA haplotip grubunda değerlendirilmektedir. Ruttner (1988) daha önce Hatay, Antakya bölgesinde *A. m. syriaca*'nın bulunduğunu belirtmiştir. Daha sonra yapılan başka çalışmalarda Hatay yöresinden toplanan örneklerin mtDNA'larındaki COI-COII gen bölgesinin nükleotit dizi analizi yapılmış ve elde edilen bulgular *A. m. syriaca* nükleotit dizilimi ile uyumlu bulunmuştur (O=ortadoğu grubu) (Kandemir ve ark. 2006, Palmer ve ark. 2000).

Türkiye’de var olan arı ırkları, *Apis mellifera* alttürlerinde polimorfik özellik gösteren 6 farklı enzim lokusu (MDH, PGM, HK, EST, PGI ve MI) incelenmiştir. Ülkemizde bulunan *Apis mellifera* populasyonları 4 farklı enzim lokusu (MDH, PGM, HK, EST) bakımından polimorfik özellik gösterdiği tespit edilmiştir. En çok görülen alleller MDH65, MDH100, PGM75, PGM100, EST100, HK100 olarak belirtilmiştir. Türkiye bal arıları PGM lokusu haricinde diğer enzim lokusları bakımından H-W (Hardy-Weinberg) eşitliğine uygun olduğu bildirilmiştir. Yanı sıra Trakya bölgesinde MDH65 frekansı yüksek bulunmuştur (Kandemir ve ark. 1995, 2000, 2005).

Kafkas arısı (*A. m. caucasica*), Kafkas dağlarında ve Kafkas vadisinin güneyinde, Gürcistan ve Azerbaycan’ın bazı yerlerinde varlığı bilinmektedir (Alpatov 1948, Bilash ve ark. 1976, Awetisjan 1978, Ruttner 1988). Ruttner (1988), morfometrik araştırmaları sonucunda *A. m. caucasica*’ya benzer arı populasyonlarının Karadeniz sahillerinin Samsun’a kadar olan kısımlarında var olduğunu bildirmiştir. Ancak Kafkas arısının birçok varyetesinin bulunması sebebiyle bu arıların gerçek Kafkas arısı olup olmadıkları tartışmalara neden olmuştur.

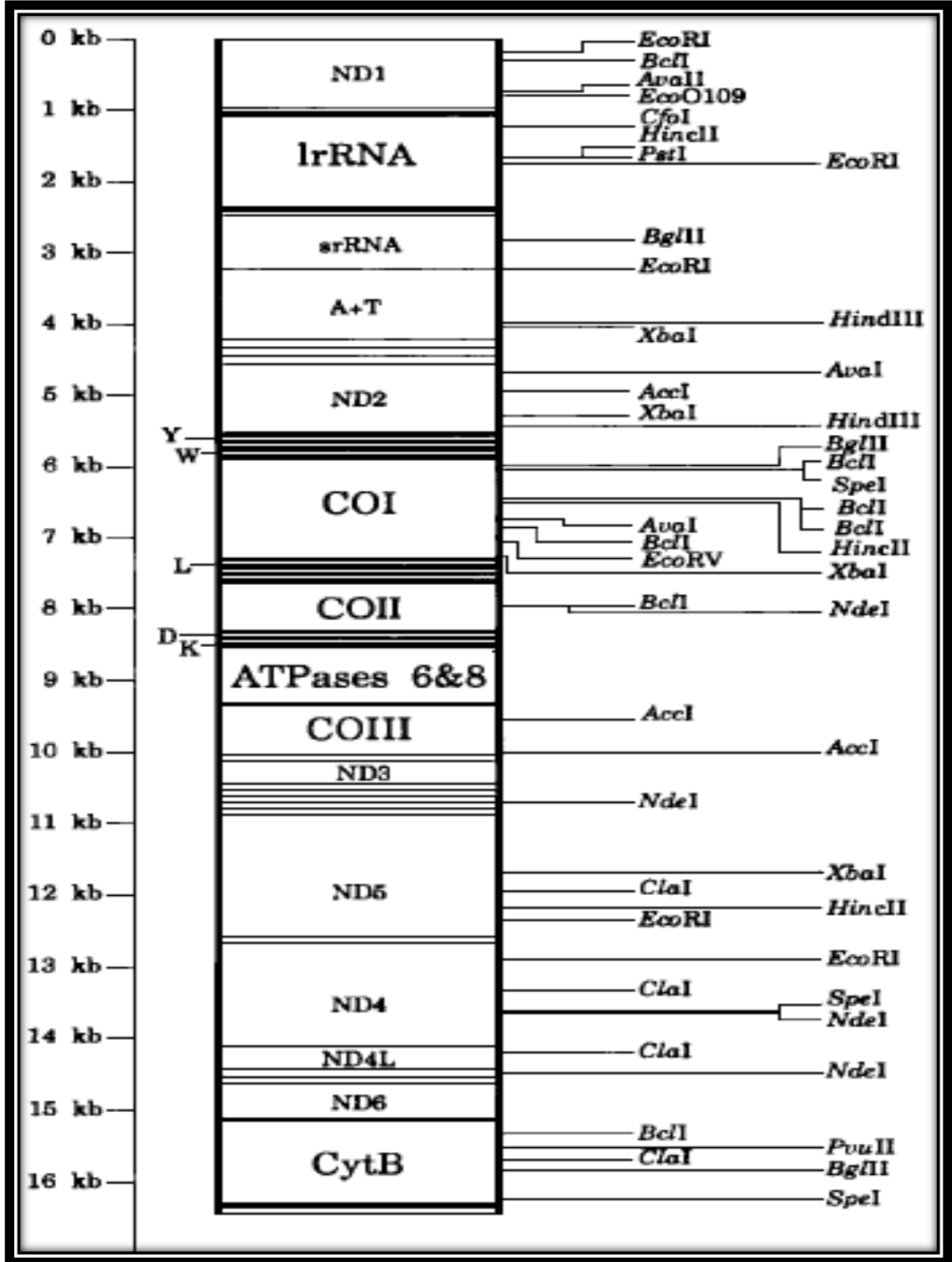
Bal arılarında mitokondriyel genomda yürütülen genetik çalışmaların büyük bir kısmı mtDNA’nın restriksiyon enzimleri ile kesimine dayanan RFLP çalışmalarına dayanmaktadır. Enzim kesim farklılıklarına dayanarak bal arısı soyları birbirlerinden ayrılabilir. Doğu Avrupa ve Akdeniz bal arısı alttürlerinde (C soyu) ribozomun büyük altbirimi (18S rRNA) gen bölgesinde *EcoRI* restriksiyon enzimiyle tek bir kesim noktası bulunurken, Batı Avrupa (M soyu) ve Afrika (A soyu) bal arısı alttürlerinde belirtilen kesim noktası bulunmamaktadır. 18S rRNA gen bölgesinin yaklaşık 738 bp’lik bölümü *EcoRI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda C genetik soyundaki arılarda yaklaşık 483 ve 251 bp’lik bant modeli tespit edilmiştir. Fakat A ve M genetik soyundaki arılarda ise bu enzim için kesim noktası oluşmadığından 738 bp’lik tek bir bant modelini kesim profili tespit edilmiştir (Hall ve Smith 1991). Smith ve ark. (1997)’nin yaptığı çalışmada Türkiye’den örneklenen bal arısı populasyonlarında da aynı sonuçlar elde edilmiştir.

Bir diğer çalışmada, *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica* alttürleri mtDNA molekülü 7 farklı restriksiyon enzimi (*EcoRI*, *HindIII*, *PstI*, *BamHI*, *AccI*, *KpnI* ve *BglII*) ile muamele edilmiştir. Çalışılan enzimler bakımından *A. m. carnica* ve *A. m. ligustica* alttürleri aynı kesim modelini gösterirken, *A. m. caucasica*’nın sadece *BglII* enzim kesimi ile

diğer iki alttürden farklı bir kesim modeline sahip olduğu tespit edilmiştir (Moritz ve ark. 1986).

Smith ve Brown (1990), bal arılarında mtDNA uzunluk varyasyonunu araştıran ilk araştırmacılar olarak 6 farklı gen bölgesi ile çalışmışlardır. Bu 6 bölgeden ikisi 20 bç'lik küçük bir farklılık gösterirken, diğer 4 bölge 100 bç'lik farklılık göstermektedir. Bu küçük boyutlu varyasyonlar COI/COII gen bölgesinde yer almakta ve *BclI* enzimi ile muamele sonucu ortaya çıkmıştır. Büyük varyasyonlar genellikle kontrol bölgesinin yanında yer almıştır (Moritz 1994). Cornuet ve Garnery (1991)'e göre varyasyonların büyük bir kısmı A+T'ce zengin bölgede bulunmaktadır (Moritz ve ark. 1986, Moritz 1994).

Cornuet ve Garnery (1991) *Apis mellifera* L. mtDNA'sını 17 farklı restriksiyon enzimi ile keserek mitokondriyel genomun restriksiyon haritasını oluşturmuşlardır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. *Apis mellifera* mtDNA genomunun restriksiyon haritası

Not: Soldan sağa verilenler 1) kb skalası 1 kb =1000 nükleotid) 2) tRNA genlerin konumu (Y, W, L, D ve K sırası ile tirozin, triptofan, lösin, aspartat ve lizin için) nükleotid sekansına göre; 3) Gen haritası ve enzim kesim noktaları (Cornuet ve Garnery 1991).

Garnery ve ark. (1992) çalışmalarında 10 farklı alttüre ait bal arısı örneklerinin mtDNA'sını 16 farklı restriksiyon enzimleri (*AccI*, *AvaI*, *AvaII*, *BclI*, *BglII*, *CfoI*, *ClaI*, *EcoRI*, *EcoRV*, *HincII*, *HindIII*, *NdeI*, *PstI*, *PvuII*, *SpeI* ve *XbaI*) ile kesimi sonucunda 19 farklı haplotip belirlenmiştir. Bu haplotipler morfometri ve allozim analizleri sonuçları ile uyumlu olarak üç ana soy içerisinde kümelenmiştir. Bu üç ana soy farklı coğrafi dağılımlara sahip Afrika alttürleri A (*A. m. intermissa*, *A. m. monticola*, *A. m. scutellata*, *A. m. andansonii* ve *A. m. capensis*), Kuzey Akdeniz alttürleri C (*A. m. caucasica*, *A. m. carnica* ve *A. m. ligustica*) ve Batı Avrupa alttürleri M olarak adlandırılmıştır. Esas farklılık Kuzey Afrika popülasyonlarının (*A. m. intermissa*) A soyu yerine M soyu içerisinde yer almasıdır. Ayrıca başka türlerin coğrafi alanına bağlı olarak türlerin dağılım merkezinin Orta Doğu olduğu ve 3 hattın evrimsel olarak ayrılmasının yaklaşık 1 milyon yıl önce başladığını ileri sürmüşlerdir.

Garnery ve ark. (1993), 12 farklı alttüre ait 302 koloninin bal arısı örneklerinde COI-COII intergenik bölgeyi *DraI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu 21 farklı haplotip bulmuşlardır. C soyunun tüm kolonileri aynı bant modelini göstermişler ve C1 olarak adlandırılmıştır. A ve M soylarının herbirinden yaklaşık 10 farklı haplotip elde edilmiştir

Crozier ve Crozier (1993) tarafından *Apis mellifera*'ya ait tüm mtDNA sekansı *Drosophila yakuba* ile karşılaştırılmış ve ilk kez DNA dizisi çıkartılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu mtDNA'da genler ve yerleşimleri iki türde de aynı bulunmuş, ancak tRNA antikodonu bakımından 11 adet farklılık belirlenmiştir. Tahmini protein sekansı iki türde de aynı iken iki tRNA antikodonu farklılık göstermiştir. Baz kompozisyonu bakımından *Apis mellifera* % 84.9 A+T içermekte iken *D. yakuba* % 78.6 oranında içermektedir.

Kaftanoğlu ve ark. (1993), GAP bölgesinde bulunan çeşitli arı ırklarını karşılaştırmışlar ve diskriminant analizi sonucunda elde edilen bulgulara göre Ege, Kafkas, İtalyan, Trakya, Karniyol ve Güneydoğu Anadolu arılarının tamamen birbirlerinden farklı olduğu belirtilmektedir.

Moritz ve ark. (1994) çalışmasında Güney Afrika'nın 29 farklı bölgesinden elde edilmiş bal arısı popülasyonlarında COI-COII intergenik bölgesinin *DraI* restriksiyon enzim kesimi sonucu 4 farklı uzunluk ve 9 farklı haplotip belirlenmiştir. P0QQ tipi % 76 frekansta en yaygın tip olduğu belirlenmiş ve Cournet ve ark. (1991) klasik P ve Q parça tekrarı modeline uymayan başka bir tip de % 2 frekansta bulunmuştur.

Suriye'nin 8 farklı bölgesinden alınan *Apis mellifera* örnekleri morfolojik özellikleri bakımından araştırılmıştır. Suriye'nin kuzeyi ve kuzeydoğusunda kapsayan bölgedeki bal arıları diskriminant analizi sonucu *Apis mellifera meda* ve güney bölgesinde bulunan bal arıları ise *Apis mellifera syriaca* olarak tanımlanmışlardır. Bu bölgeler dışında kalan yerlerde de her iki ırka da rastlanmaktadır. Suriye'deki *A. m. meda* örneklerinin Irak'ın doğusundaki İran arılarına daha benzer ve Türkiye'deki İran arılarından farklı olduğu gözlenmiştir. Şam'dan alınan örneklerden üçü İtalyan arısı olarak tanımlanmış ve bunların *A. m. ligustica*'lardan orijin aldığı tespit edilmiştir (Ftayeh ve ark. 1994).

COI gen bölgesinde Batı Avrupa alttürlerine özgü olarak *HincII* restriksiyon enzim bakımından kesim noktasının bulunduğu tespit edilen ilk çalışmada Afrika ve Avrupa bal arıları arasındaki farklılıklar incelenmiştir. Doğu Avrupa ve Akdeniz bal arısı alttürlerinde COI gen bölgesinde *HincII* ve *HinfI* restriksiyon enzimlerinin kesim noktası bulunmadığından 1044 bç'lik tek bant modeli belirlenmiştir (Hall ve Smith 1991).

Türkiye genelinden toplanan bal arısı örneklerinin mtDNA genomunun COI lokusunda *XbaI* restriksiyon enzimi ile tek kesim noktası bulunurken, Trakya'dan alınan bal arısı örneklerinde ise COI lokusunda ikinci bir *XbaI* kesim noktasının bulunduğu tespit edilmiştir (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000). Daha önce yapılan çalışmalarda Avusturya ve Balkanlar'dan alınan *A. m. carnica* alt türünü temsil eden örneklerde ikinci bir *XbaI* kesim noktası bulunduğu bildirilmiştir (Smith ve Brown 1990, Meixner ve ark. 1993). COI gen bölgesinde ikinci bir *XbaI* kesim noktası bulunan ve bulunmayan arı örneklerinin bu gen bölgesinin nükleotit dizilimi incelenmiş ve farklılığa sadece tek bir nokta mutasyonunun sebep olduğu belirlenmiştir. İkinci bir *XbaI* kesim noktası bulunan arı örneklerinde TCTAGA şeklinde olan nükleotit diziliminin, bulunmayan örneklerde ise TTTAGA şeklinde olduğu belirlenmiştir. Hatay'dan alınan örneklerde ve Afrika arılarında ise COI/*XbaI* kesim noktası bulunmadığı bildirilmiştir (Smith ve ark. 1997).

Trakya bölgesinden alınan Anadolu ırkı arı örneklerinin yaklaşık % 86'sının Karniyol ırkının genetik karakterlerini taşıdığını, Muş, Bitlis ve Van'da toplananların arı örneklerinin %25 ve Erzurum çevresinden toplanan örneklerin %29'u Kafkas ırkının, Hatay'dan toplanan örneklerin ise %57'sinin Suriye arısının genetik yapısıyla uyumlu olduğunu belirtmiştir (Smith 2002).

Palmer ve ark (2000), Türkiye'nin 16 farklı bölgesinde 84 bal arı kolonisine ait mtDNA'nın farklı restriksiyon enzimi ve COI-COII intergenik bölgenin dizi analizi sonucu 4 haplotip belirlemişlerdir. Bu haplotiplerden üçünün önceden belirlenen Doğu Akdeniz mtDNA soyuna ait olduğu belirlenmiştir. Ancak Suriye sınırına yakın Hatay bölgesinden alınan örneklerde üç mtDNA soyundan farklı bir kesim modeli ve sekans ortaya çıkmıştır. Bu haplotipin dördüncü bir mtDNA soyunu temsil edebileceği öne sürülmüştür.

A. m. syriaca'nın Akdeniz'in doğu sahillerini kapsayan bazı bölgelerinde, kuzey Negev çöllerinde, İsrail'in bazı alanlarında, Ürdün, Suriye ve Lübnan'da yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Ruttner 1988). Lübnan'da 75 bal arısı kolonisinden alınan örneklerle ait mtDNA'nın COI-COII intergenik bölgesini *DraI* enzimi ile kesimi sonucu yeni 7 farklı haplotip elde etmişlerdir. COI-COII gen lokusunun nükleotit dizilimi diğer mtDNA haplotip grupları (Doğu Avrupa, Batı Avrupa, Afrika) ile karşılaştırıldığında *A. m. syriaca*'nın nükleotit dizilimi diğer üç gruptan (C M, A) da farklılık göstermektedir. Bu nedenle *A. m. syriaca* alt türünün 4. bir mtDNA haplotip grubu (O) içerisinde sınıflandırılabilirliği belirtilmektedir (Franck ve ark. 2000a).

Franck ve ark. (2000b) yaptıkları çalışmalarında İtalya'dan alınan *A. m. ligustica* ve Sicilya'dan alınan *A. m. sicula* bal arısı örneklerinde mtDNA'nın COI-COII intergenik bölgesi *DraI* restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir. Bu işlem sonucunda *A. m. ligustica* popülasyonlarının M ve C genetik soylarının birleşiminden oluştuğu ve sadece *A. m. sicula* örneklerinde A soyuna ait haplotipler olduğu bildirilmektedir. Bu iki alttürün hibrit olduğu ve daha önce bildirilmemiş (M22, M7, M27) üç yeni haplotipin varlığını bildirmişlerdir.

Franck ve ark. (2001) tüm Afrika kıtasının 64 farklı bölgesinden elde edilen bal arısı popülasyonlarına ait örneklerin COI-COII intergenik bölgesini *DraI* restriksiyon enzimi bakımından araştırmışlardır. Kuzey Doğu Afrika bölgesinden alınan örnekler hariç tüm örneklerin Afrika (A) soyunun haplotipinde olduğu belirlenmiştir. Kuzey Doğu bölgesinden alınan örnekler ise yeni tanımlanan O ve Y soyları içerisinde yer almıştır. Bu araştırmada Afrika'dan alınan örneklere ek olarak Avrupa, Yakın Doğu ve Amerika'nın farklı bölgelerinden alınan örnekler ile karşılaştırmışlardır. Tüm örneklere ait COI-COII intergenik bölgenin *DraI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda 20 alttüre ait 5 farklı soyda (A, M, C, O ve Y) sınıflandırılan 42 farklı mitotipi belirlenmiştir.

Susnik ve ark. (2004), Slovenya'nın 10 farklı bölgesinden alınan 269 adet *A. m. carnica* bal arısı örneğini COI-COII intergenik bölgede *DraI* restriksiyon enzimi ile analiz etmişlerdir. Tüm örnekler C mtDNA soyunun yeni bir haplotipi olarak değerlendirilmiş ve C2 olarak adlandırılmıştır.

Yunanistan ve Güney Kıbrıs'ın farklı bölgelerinden 72 koloniden alınan bal arısı örneklerinde 16S rDNA, COI ve ND5 lokuslarında farklı enzim kombinasyonları bakımından varyasyon araştırılmıştır. COI gen bölgesinde *NcoI*, *Sau3AI*, *FokI*, *BclI*, *SspI*, *StyI*, *BstUI* ve *XhoI* restriksiyon enzimleri ile lokuslar arasında elde edilen kesim profillerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Bouga ve ark. 2005).

Ribozomun büyük altbirimi (1rRNA/*EcoRI*) bakımından tüm yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular sadece Doğu Avrupa bal arılarında (*A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasica* ve *A. m. carnica*) kesim noktasının bulunduğu, COI/*HincII* bakımından yalnızca Batı Avrupa bal arılarında kesim noktası bulunduğu belirtilmiştir. Türkiye'den alınan *Apis mellifera* örneklerinde 1rRNA/*EcoRI* bakımından kesim noktası tespit edilmiş ancak COI/*HincII* bakımından kesim noktasına rastlanmamıştır (Smith ve ark. 1997, Palmer ve ark. 2000, Özdil ve ark. 2006).

Kılıç ve Bilgen (2006), İzmir ili bal arısı (*Apis mellifera* L.) populasyonlarında genetik varyasyonu belirlemeye çalışmışlardır. İzmir'in Menemen, Buca, Kemalpaşa ve Bornova ilçelerinden alınan 147 ergin işçi arı örnekleri farklı 3 enzim (Esteraz, Malik enzim, Malat dehidrogenaz) bakımından elektroforez tekniği kullanılarak incelenmiş ve elde edilen bulgular sonucunda varyasyon bulunamamıştır.

Türkiye'nin 7 farklı bölgesinden toplanan bal arısı örneklerinde COI-COII intergenik gen bölgesi *DraI* restriksiyon enzimi ile COI lokusu *TaqI* ve *HinfI* restriksiyon enzimleri bakımından araştırıldığı bir diğer çalışmada, COI-COII/*DraI* kombinasyonu sonucu elde edilen bulgulara göre 7 farklı haplotip belirlenmiştir. Bunlardan 4'ü C (Doğu Avrupa) soyuna ait bulunmuştur. Diğer 3 haplotipe ise Hatay'dan alınan örneklerde rastlanmıştır. Doğu Avrupa bal arılarında dolayısıyla Türkiye bal arılarında farklı kesim noktalarının bulunduğu bildirilmiştir (Frank ve ark. 1998, Pinto ve ark. 2003, Kandemir ve ark. 2006, Özdil ve ark. 2006).

Türkiye, Kuzey Kıbrıs, Etiyopya, Suriye ve Mısır'dan toplanan bal arısı örneklerinde, COI/*HinfI* ve Cytb/*BglIII* kombinasyonları mtDNA varyasyonu bakımından incelenmiştir. Cytb gen bölgesinde Etiyopya'dan alınan örnekler dışında tüm örneklerde Avrupa kökenli bal arılarına özgün olan 2 bant modeli belirlenmiştir. Türkiye ve Kuzey Kıbrıs bal arılarının genelinde COI gen bölgesinde *HinfI* enziminin kesim noktası bulunmamış, yalnızca Hatay'dan alınan 6 örnekte ve Kıbrıs'tan alınan 2 örnekte ise *A. m. lamarckii* alttürüne özgün olan COI/*HinfI* bakımından enzim kesimi modeli bulunmuştur. Mısır'dan örneklenen bütün bal arısı örneklerinde *A. m. lamarckii* alttürüne özgün olan kesim modeli görülürken, İran arılarının tüm örneklerinde COI/*HinfI* bakımından kesim noktası bulunmamıştır (Kandemir ve ark. 2006).

Güney Amerika bal arısı populasyonlarının 16S rDNA gen bölgesi bakımından varyasyonun araştırıldığı çalışmada, PCR-RFLP yönteminden yararlanılarak populasyonlar arası benzerlik ve farklılıklar belirlenmiştir. Farklı restriksiyon enzimleri kullanılmış ve sadece *DraI* ve *VspI* enzimleri ile en çok farklılıkların belirlendiği görülmektedir. Bunun yanı sıra bu çalışmada COI-COII ve 16S gen bölgeleri arasındaki ilişki sıkı bir evrimsel geçmişe dayandığı belirlenmiş ve 16S gen bölgesinin 10 ayrı noktasında nükleotid farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Collet ve ark. 2007).

İran bal arısı populasyonlarında COI-COII intergenik bölge PCR-RFLP metodu ile *HinfI* enzimi kullanılarak incelenmiş ve iki farklı haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotipler C1 (292, 260 ve 26 bç'lik üç bant) ve C2 (292, 240, 26 ve 20 bç'lik dört bant) olarak ifade edilmiştir. Çalışmada İran bal arılarında iki farklı kesim belirlenmiştir (Fakhri 2008).

Özgül ve ark. (2009), 20 farklı lokasyondan 244 koloniye ait bal arısında mtDNA'yı analiz etmişlerdir. COI-COII intergenik bölgesinde *DraI* restriksiyon enzimi ile PCR-RFLP yapmışlar ve 4 fragment oluştuğunu bildirmişlerdir. Çalışmada tüm örneklerin, C genetik soyu içerisinde yer aldığı bildirilmiştir. Bunun nedeni çoğunlukla Türkiye bal arısı populasyonlarının *A. m. anatoliaca* ve *A. m. caucasica* alttürlerini içermesidir. Çalışmada 8 yeni haplotip belirlenmiş bu haplotiplerden bir tanesinde bir delesyon nedeniyle yeni bir *DraI* kesim noktası oluşturmuştur.

Alburaki (2009), Suriye bal arısı populasyonlarında COI-COII intergenik bölge, ND6 ve Cytb bölgelerini incelemiştir. İncelenen örneklerde haplotip analizi sonucunda A (Afrika) ve C (Kuzey Akdeniz) genetik soyu ülke genelinde yaygın olduğunu ve yeni belirlenen

haplotip Z (*A. m. syriaca*) haplotipi olarak isimlendirilmiştir. Rakka'nın genelinde Suriye arısı ayrıca az sayıda İtalyan (haplotip C2: *A. m. ligustica*) ve Buckfast (haplotip C3) arısı görüldüğü bildirilmiştir. Hama'nın genelinde İtalyan arısının yaygın olduğu belirtilmiştir.

Türkiye'nin 56 farklı yöresinden alınan bal arısı örneklerinde COI ve 16S rDNA gen bölgeleri farklı restriksiyon enzimleri ile PCR-RFLP analizinden yararlanılarak incelenmiştir. 16S rDNA/*DraI* bakımından Türkiye bal arısı popülasyonlarında polimorfizm (B:964 bç) bulunmadığı gözlenirken, Yunan bal arısı popülasyonlarında polimorfizm (A:557, 407 bç) olduğu belirlenmiştir. 16S rDNA/*Sau3AI* bakımından ise Türkiye bal arısı popülasyonları polimorfik (B:548, 416 bç) olduğu gözlenirken, Yunan bal arısı popülasyonlarında tek bant (A:964 bç) gözlenmiştir. (Kekeçoğlu ve ark. 2009)

Türkiye'nin 56 farklı yöresinden alınan bal arısı örneklerinde 12 morfometrik özellikleri araştırılmış, istatistiksel ve diskriminant fonksiyon analizine göre 7 farklı ekotip bulunduğu tespit edilmiştir. Mahalonobis uzaklıkları temel alınarak yapılan UPGMA dendogramına göre Türkiye bal arıları, 4 ana grupta sınıflandırılmış; Orta Anadolu'da *A. m. anatoliaca*, Kuzey Anadolu'da *A. m. caucasica*, Güney ve Güneydoğu Anadolu'da *A. m. meda* ve Trakya'da *A. m. carnica* alttürleri bulunduğu belirtilmiştir (Kekeçoğlu ve Soysal 2010).

Ivonova ve ark. (2010), Bulgaristan'nın 9 farklı bölgesinden örneklenen bal arısı popülasyonlarını 4 enzim (MDH, ME, EST ve ALP) ve 16S rDNA, COI, ND5 gen bölgelerinde PCR-RFLP yöntemleriyle incelemişlerdir. Alloenzim analizi, çalışılan tüm popülasyonun polimorfik olduğunu göstermiş ve mtDNA analizi sonucu ise Bulgaristan arı popülasyonlarında varyasyon olmadığı belirlenmiştir.

Martimianakis ve ark. (2011) Arnavutluk, Bulgaristan, Kıbrıs, Yunanistan, İtalya, Slovenya ve Türkiye'de bulunan çeşitli bal arısı popülasyonlarını ND5 ve COI gen bölgelerinde incelemişlerdir. Bu popülasyonlarda COI bakımından 7 ve ND5 bakımından 8 haplotip belirlenmiştir.

Özgül ve ark. (2012) ağırlıklı olarak İç Anadolu bölgesinden alınan bal arısı (*Apis mellifera* L.) örneklerinin genetik yapısını üç farklı mitokondriyal bölgede incelemişlerdir. 10 farklı yöreden, 15 farklı popülasyondan toplam 165 işçi arı örneği toplanmıştır. mtDNA'nın 16S rDNA, COI ve ND5 gen bölgeleri PCR-RFLP yöntemi ile 18 restriksiyon enzimi kullanarak araştırmışlardır. 16S rDNA gen bölgesindeki nükleotid polimorfizmleri *Bsp143I*,

DraI ve *SspI* enzimleri kullanılarak, COI gen bölgesi ise *TaqI* kesim enzimleri kullanılmış ve 6 haplotip belirlenmiştir.

Alattal ve ark. (2014), Suudi Arabistan bal arısı popülasyonlarını inceledikleri çalışmalarında 179 örnekte morfometrik ve genetik markerler kullanmışlardır. 24 özellik bakımından yapılan morfometrik analiz sonucunda Suudi bal arısı örneklerinin çoğunluğu *Apis mellifera jemenitica* haplotipi ile kümelenecek, bir kısmı ise *Apis mellifera litorea* haplotip grubuna dahil olmuştur. mtDNA COI-COII intergenik bölgesinin dizi analizi sonucu 18 yeni haplotip elde edilmiştir. Bu haplotiplerden 16'sının O soyundan olduğu, iki haplotipin C soyundan olduğu bildirilmiştir.

Rahimi (2015), Güney İran'ın Sistan, Beluçistan, Kerman, Fars, Hormozgan, Buşehr ve Huzistan bölgelerinden alınan 60 bal arısı örneğinde mtDNA'nın COI-COII intergenik bölgesini incelemiştir. COI-COII intergenik bölgesinin *DraI* enzimi ile kesimi sonucunda Güney İran bal arısı popülasyonlarının C soyuna ait olduğunu bildirilmiştir.

Kono ve Kohn (2015), San Diego'daki Afrika kökenli bal arılarının California ve Batı Sierra Nevada boyunca ilerlemesini morfometrik analizler ve mitokondriyel markerleri (COI-COII intergenik bölgesi) kullanarak incelemiştir. San Diego'daki işçi arıların % 65 oranında Afrika arı mitokondrisi taşıdıkları ve morfolojik ölçümlerinin % 61 oranında benzer olduğu sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1. Materyal ve örnekleme

Araştırmanın materyalini daha önce TÜBİTAK 114O883 nolu proje kapsamında toplanan bal arıları oluşturmaktadır. Trakya coğrafyasını temsil edebilecek bal arısı popülasyonlarından örneklenen Tekirdağ, Gökçeada, Çanakkale, Edirne ve Kırklareli'nden olmak üzere toplam 100 adet bal arısı mtDNA'sı ile çalışılmıştır (Çizelge 3.1). Örneklerin homojenliğini sağlamak amacıyla her kovandan bir işçi arı örneği kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Bal arısı örneklerinin alındığı iller ve örnek sayısı

Örnek Alınan İller	Örnek Sayısı (n)
Tekirdağ	40
Kırklareli	20
Edirne	18
Çanakkale	12
Gökçeada	10
Toplam	100

3.1.2.Kullanılan alet ve cihazlar

PCR, RFLP ve elektroforez çalışmaları sırasında kullanılan alet ve cihazların listesi ve kullanım amaçları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Adı/Modeli	Çalışmada Kullanım Amacı
Bidistile Saf Su Cihazı	Tampon çözeltilerin hazırlanması
pH metre	Tampon çözeltilerin hazırlanması için gerekli pH'nın belirlenmesi
Nano Drop Spectrofotometre	İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık derecelerinin belirlenmesi
Isıtıcı Manyetik Karıştırıcı	Çözeltilerin hazırlanması
Vortex	Çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonu
Santrifüj	DNA izolasyonu ve örneklerin kısa süreli

	santrifüj edilerek çöktürülmesi
Manuel Hassas Terazi Dijital Hassas Terazi	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerinin tartılması
Gradient Thermal Cyclers	PCR ile ilgili gen bölgesinin çoğaltılması
Çalkalayıcı Isıtıcı	DNA izolasyonu ve çözeltilerin hazırlanması
Agaroz Jel Elektroforez Takımları	mtDNA ve PCR ürünlerinin, restriksiyon sonucu elde edilen bant modellerinin belirlenmesi
Güç Kaynakları	Elektroforez sistemlerinin elektrik ortamlarının sağlanması
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile RFLP lokusların jelde görüntülenmesi ve bilgisayar ortamına aktarılması
Mikro Dalga Fırını	Agaroz jellerin hazırlanması
Derin Dondurucu (-20 °C)	Örnek ve çeşitli sarf malzemelerin saklanması
Çeker Ocak	Çeşitli tampon çözeltilerin hazırlanması
Otoklav	Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu

3.1.3. Çalışmada kullanılan tampon çözeltiler

PCR ve RFLP analizi sonrasında elde edilen ürünlerin kontrolü amacıyla yapılan elektroforez ve agaroz jellerin hazırlanmasında kullanılan stok ve tampon çözeltilerin bileşimleri Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Elektroforez sırasında kullanılan tampon çözeltilerin bileşimleri

Tampon Çözelti	Molarite/Miktar	İçerik
10 X TBE Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	108.0 g 55.0 g 40.0 ml 1 litreye tamamlanır	Tris Borik Asit 0.5 M EDTA (pH 8,0) Deiyonize bdH ₂ O
1 X TBE Elektroforez/ Jel Tampon Çözeltisi	100 ml 1 litreye tamamlanır	10 X TBE Deiyonize bdH ₂ O

3.2. Yöntem

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Toplanan ergin işçi arı örnekleri, % 95'lik etanol içeren 1.5 ml'lik efendorf tüpler içerisinde laboratuvar ortamına getirilmiş ve -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Genomik DNA izolasyonu, Hall (1986, 1990)' ın tanımladığı fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemine göre mevcut laboratuvar şartlarında optimize edilerek yapılmıştır. Aşağıda belirtilen işlem sıraları sonucunda genomik DNA izole edilmiştir.

1. Gün

-20 °C'de etanol içinde tutulan arı örneklerin göğüs (Thorax) kısmı, bisturi yardımıyla ufak parçalar elde edilmiş ve 1.5 mL'lik efendorf tüpler içerisine konulmuştur. Bu tüpler içerisinde daha sonra 500 µL TEN tamponu (1 M NaCl, 0.5 M EDTA, 1 M Tris (pH 8.0)) eklenip örneklerin homojenizatörde ezilmesi sağlanmıştır. Ardından bu örnekler içerisine 25 µL SDS (% 20), 10 µL Proteinaz K (20 mg/mL) eklenmiş ve tüpler +58 °C'de 5 saat bekletilmiştir.

Bekletilen örnekler 13000 rpm (devir/dakika)'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatantlar (üstttte kalan sıvı kısım) farklı tüplere alınmıştır. Tüpler içerisine 150 µL fenol + 150 µL kloroform izoamil alkol (24:1) eklenerek 10 dakika vortekslenerek karışımı sağlanmıştır. Tüpler 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek fazların birbirinden ayrılması sağlanır ve oluşan süpernatant kısımları yeni tüplere alınır. Tüplere 300 µL kloroform izoamil alkol eklenip 10 dakika vorteks ve 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen süpernatant kısmı yeni tüplere aktarıldıktan sonra üzerlerine 800 µL % 95'lik etanol (-20 °C bekletilen) ve 50 µL 3M sodyum asetat eklenmiştir. Daha sonra örnekler -20 °C'de gece boyu bekletilmiştir.

2.gün

-20 °C'den alınan örnekler 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan pelet, %70 'lik etanol ile iki kez muamele edilerek yıkanmıştır. Ardından çeker ocakta tüplerin kapakları açılarak 1 saat bekletilmiş peletlerin kuruması sağlanmıştır. Bu peletlere 100 µL TE tamponu (10:1) ve 5 µL Rnaz (10 mg/mL) ilave edilerek +37 °C'de çözdürülmüştür.

Örneklerden izole edilen total DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının (kırılıp kırılmadığı) kontrolleri % 1'lik agaroz jelde yapılmıştır. Jel üzerinde örneklerin tek bant oluşturduğu tek parça olduklarına işarettir. Elde edilen DNA molekülleri PCR işlemi yapıncaya kadar +4 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Mitokondriyel DNA 16S rDNA ve ND5 bölgelerinin PCR ile çoğaltılması

DNA izolasyonunu takiben hedeflenen mitokondriyel DNA 16S rDNA ve ND5 bölgelerinin çoğaltılması amacıyla PCR işlemi yapılmıştır. Şekil 3.1'de nükleotid dizisi verilen 16S rDNA ve Şekil 3.2 te nükleotid dizisi verilen ND5 lokusları spesifik primerler ile PCR cihazında çoğaltılarak *DraI*, *SwaI* ve *MboII* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. mtDNA, PCR-RFLP analizi sırasında kullanılan primerler, restriksiyon enzimleri ve kaynaklar Çizelge 3.4'de verilmiştir.

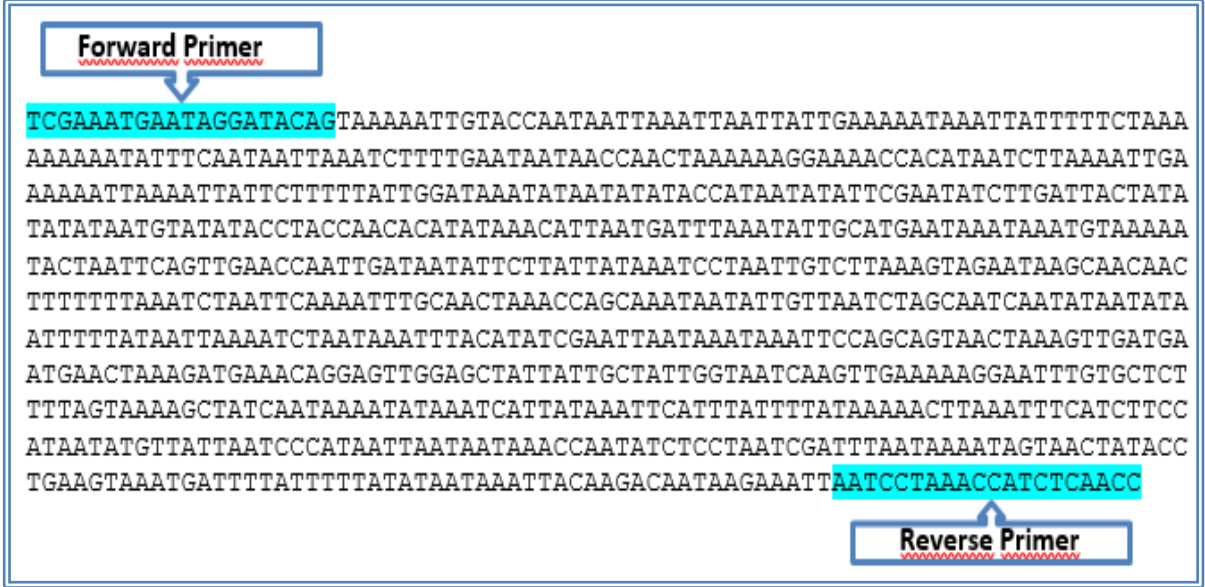
Çizelge 3.4. PCR-RFLP sırasında kullanılan primerler, restriksiyon enzimleri ve kaynak

Mitokondriyel DNA Lokusları	Primerler (5'→3')	Enzim	Kaynak
16S rDNA (965 bç)		<i>DraI</i>	
16S rDNA-*F	CAACATCGAGGTCGCAAACATC	<i>SwaI</i>	Bouga ve ark., 2005
16s rDNA -*R	GTACCTTTTGTATCAGGGTTGA	<i>MboII</i>	
ND5 (822 bç)		<i>DraI</i>	
ND5 -F	TCGAAATGAATAGGATACAG	<i>SwaI</i>	Bouga ve ark., 2005
ND5 -R	GGTTGAGATGGTTTAGGATT	<i>MboII</i>	

*F, ileri primer; *R, geri primer



Şekil 3.1. mtDNA 16S rDNA gen bölgesi nükleotid dizisi



Şekil 3.2. mtDNA ND5 gen bölgesi nükleotid dizisi

mtDNA 16S rDNA ve ND5 lokuslarının amplifiye edilmesi sırasında kullanılan PCR reaksiyonu ve konsantrasyonları Çizelge 3.5’te, sıcaklık ve döngüleri Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.5. PCR reaksiyonu ve konsantrasyonları

Ana Stok	Son konsantrasyon	Kullanılan miktar (μL)	
		16S rDNA	ND5
DNA	20 ng	2,5 μL	2,5 μL
10X PCR Buffer	1 X	2,5 μL	2,5 μL
MgCl ₂ (50 mM)	2 mM	1,0 μL	0,75 μL
dNTPler (1 mM)	2 mM	5,0 μL	5,0 μL
İleri Primer (10 μM)	0,5 μM	0,83 μL	0,82 μL
Geri Primer (10 μM)	0,5 μM	0,83 μL	0,82 μL
Taq polimeraz (5U/ μL)	1-2 U	0,5 μL	0,3 μL
dH ₂ O	-	11,84 μL	12,31 μL

PCR reaksiyonu toplam hacmi 25 μL olacak şekilde laboratuvar koşullarında optimize edilmiştir.

Çizelge 3.6. PCR sıcaklık ve döngüleri

Pcr programları	16S rDNA lokusu	ND5 lokusu
Ön denaturasyon	94 °C →4 dak.	94 °C → 4 dak.
Denaturasyon	94 °C →1 dak.	94°C→1 dak.
Bağlanma	55 °C→ 1 dak.	50°C→1 dak.
Uzama	72 °C → 2 dak.	72 °C →2 dak.
Son uzama	72°C → 15 dak.	72 °C → 15 dak.

PCR ürünleri % 2'lik agaroz jellerinde kontrol edilmiştir. Çizelge 3.3'te agaroz jel hazırlamak için gerekli olan tampon çözeltiler ve bileşimleri verilmiştir. % 2'lik agaroz jel için; hassas terazide 2 g agaroz tartılıp daha sonra 100 mL 1X TBE tampon çözeltisi erlen içerisinde karıştırılmış ve 3-5 dk mikrodalga fırında kaynatılarak çözünmesi sağlanmıştır. Ardından hafifçe çalkalanarak 50-60 °C'ye kadar soğutululan çözelti içerisine 2.5 μL RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (INtRON Biotechnology 21141) ilave edilmiştir. Bu çözelti taraklı jel tablasına yavaşça dökülmüş, jelin donması beklenmiştir. Tabladan tarak çıkartılarak jel, 1X TBE jel tampon çözeltisi ile bulunan yatay elektroforez ünitesine yerleştirilmiştir. PCR ürünleri örnek yükleme tampon çözeltisi ile karıştırılmış ve kuyulara yüklenip yaklaşık

1.0-1.5 saatte elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra görüntüleme örneklerin kontrolleri yapılmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.3 Mitokondriyel DNA 16S rDNA ve ND5 bölgelerinin *DraI*, *SwaI* ve *MboII* restriksiyon enzimleri ile kesimi

Mitokondriyel genomda 965 baz çifti uzunluğundaki 16S rDNA ve 822 baz çifti uzunluğundaki ND5 bölgelerinde polimorfizm tespit etmek amacıyla *DraI*, *SwaI* ve *MboII* restriksiyon enzimleri (ER0221, ER1241 ve ER0821, Thermo Fisher Scientific) kullanılmıştır. Bu lokuslar özgün primerler yardımıyla PCR cihazında çoğaltılmış ve Çizelge 3.7.'de verilen reaksiyon kullanılarak restriksiyon enzimleri ile protokole uygun olarak PCR ürünlerinin inkübasyonu yapılmıştır. Kullanılan restriksiyon enzimleri, tanıma dizileri ve fragment büyüklükleri Çizelge 3.8.'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. *DraI*, *SwaI* ve *MboII* restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyonu

PCR Ürünü	10µL	37°C de (<i>SwaI</i> 30°C) 1-16 saat inkübe edilmiş ve ardından 65°C de 20 dakika inaktive edilmiştir.
Enzim	1-2 µL	
Buffer	2 µL	
dH ₂ O	18 µL	

Çizelge 3.8. Kullanılan restriksiyon enzimleri, tanıma dizileri ve fragment büyüklükleri

Enzim	Özgün tanıma dizisi (5' → 3')	16S rDNA lokusunda kesim sonucu elde edilen fragment büyüklüğü (bç)	ND5 lokusunda kesim sonucu elde edilen fragment büyüklüğü(bç)
<i>DraI</i>	5'....TTT^AAA....3' 3'...AAA^TTT.....5'	315,212,226,116,92,70,44	440, 270,112
<i>SwaI</i>	5'...ATTT^AAAT...3' 3'...TAAA^TTTA...5'	359, 324, 282	552, 270
<i>MboII</i>	5'...GAAGA(N) ₈ ...3' 3'...CTTCT(N) ₈5'	635, 330	662, 160

Restriksiyon enzimleri ile muamele sonrası elde edilen ürünler % 2.5'lik agaroz jel elektroforezi ile sabit voltajda 90 dakika yürütülmüştür. RFLP ürünlerinin elektroforetik analizinden sonra jeller UV görüntüleme sisteminde 260/280 nm dalga boyu ışıktaki görüntülenerek, fotoğrafları çekilmiş ve bilgisayara kaydedilmiştir.

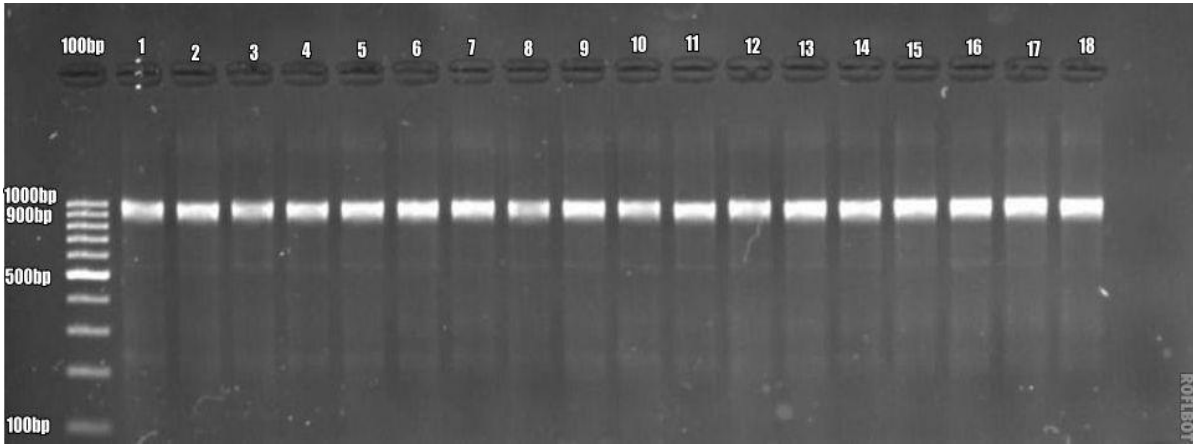
3.2.4. DNA dizi analizi

Bu tez çalışmasında PCR-RFLP yöntemi ile elde edilen genotiplerin doğrulanması amacıyla DNA dizi analizi işlemi, ticari bir firmadan hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. (MedSanTek laboratuvar malzemeleri San. ve Tic. Ltd. Şti) PCR ürünlerinin saflaştırılıp forward ve reverse primer vasıtasıyla çift yönlü dizileme işlemi, kapiller elektroforez (ABI 3500XL Genetic Analyzer, USA) cihazında yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. 16S rDNA Gen Bölgesinin PCR Çoğaltımı

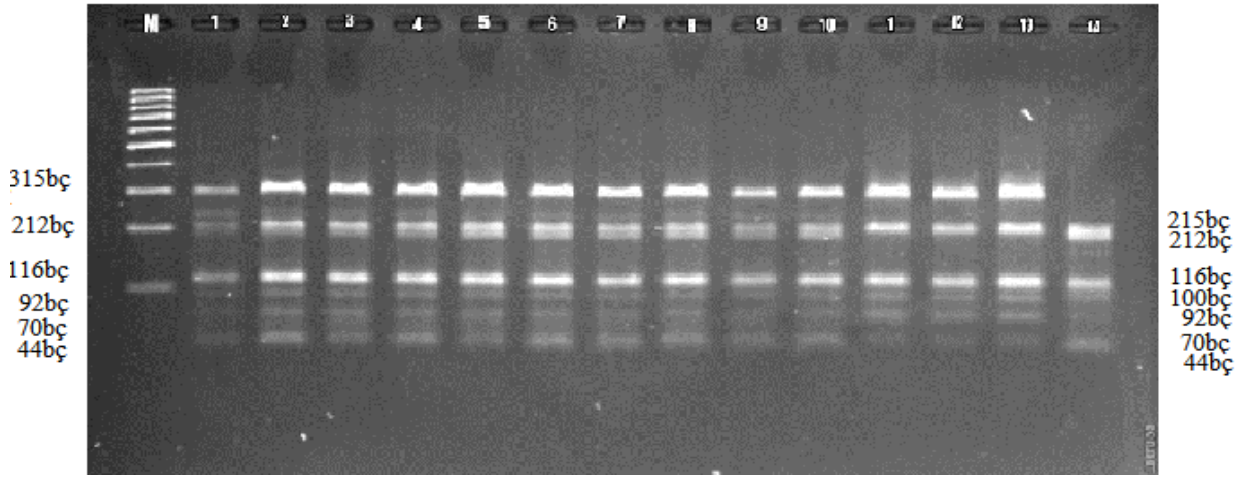
16S rDNA bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda 965 bp'lik PCR ürünü elde edilmiştir. Bu PCR ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. PCR ile amplifikasyon sonucunda tüm örneklerde 965 bp uzunluğunda tek bant meydana gelmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 16S rDNA gen bölgesine ait PCR ürünleri (1-18 örnekler). M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 4.örnekler: Tekirdağ, 5.- 8.örnekler: Kırklareli, 9.-12. örnekler: Edirne,13.- 15.örnekler: Çanakkale, 16.-18.örnekler: Gökçeada'dan alınmıştır.)

4.1.1. 16S rDNA gen bölgesinin *DraI* enzimi ile kesimi

Çalışılan bal arısı populasyonlarında 16S rDNA gen bölgesinin *DraI* enzimi ile muamele edilmesi sonucunda 2 farklı haplotip belirlenmiştir. Bu haplotiplerden Tip 1 haplotipinde 315, 212, 116, 116, 92, 70 ve 44 bp'lik 7 farklı bant gözlenmiştir. Söz konusu çalışmada Gökçeada/Zeytinlikköy'den alınan bir örnekte farklı bir kesim modeli tespit edilmiş olup bu haplotip Tip 2 olarak ifade edilmiştir. Tip 2 haplotipinde 215, 212, 116, 116, 100, 92, 70 ve 44 bp'lik 8 bant elde edilmiştir. Diğer örneklerin tamamının Tip1 haplotipinde olduğu gözlenmiştir. (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. 16S rDNA gen bölgesinin *DraI* enzimi kesim sonucu; 1-13. Örnekler: Tip 1 haplotipi, 14. Örnek: Tip 2 haplotipi, M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1-3. örnekler: Tekirdağ, 4-7. örnekler: Kırklareli, 8-10. örnekler: Edirne, 11-12. örnekler: Çanakkale, 13-14. örnekler: Gökçeada'dan alınmıştır.)

16S rDNA/*DraI* kesimi bakımından farklılık gösteren bu iki grup arasında yalnızca tek bir nokta mutasyonu olduğu görülmüştür. 965 bç büyüklüğünde 16S rDNA gen bölgesinin 705. pozisyonda meydana gelen nokta mutasyonu sonucu (C→T transizyonu) 2. bir kesim noktası daha oluşmuştur ve CTTAAA şeklinde olan DNA dizisi TTTAAA olarak yeni bir *DraI* kesim noktası oluşturmuştur. Bu farklı kesim sonucu jelde 215, 212, 116, 116, 100, 92, 70 ve 44 bç'lik 8'li bant modeli oluşturan kesim profili elde edilmiştir (Şekil 4.2)

Bouga ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada Yunanistan ve Kıbrıs'a özgü bal arısı örneklerinin 16S rDNA bölgesinin *DraI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu tek kesim noktasına sahip olduğu ve 557 bç ve 407 bç olmak üzere iki bant elde ettiklerini bildirmişlerdir.

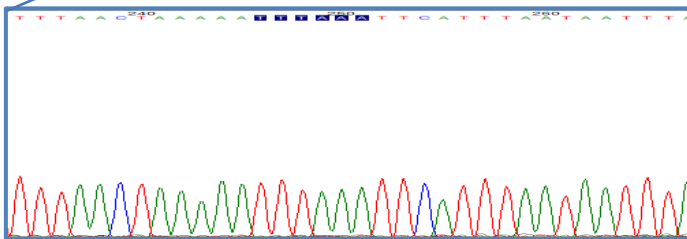
Kekeçoğlu ve ark. (2009), Türkiye bal arısı popülasyonlarını PCR-RFLP metoduyla incelemişlerdir. 16S rDNA/*DraI* bakımından iki haplotip (A: 557 bç, 407 bç ve B: 964 bç) belirlemişlerdir. Ivonova ve ark. 2010 Bulgaristan arı popülasyonlarını 16S rDNA/*DraI* enzimi kesimi bakımından incelemişler ve tek haplotip (B: 964 bç) belirlemişlerdir.

Özgül ve ark. (2012) yılında Türkiye bal arılarında yaptıkları çalışmada 16S rDNA/*DraI* bakımından iki farklı haplotip (C: 315, 212, 116, 116, 92, 70, 43 bç ve D: 358, 212, 116, 116, 92, 70 bç) belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada Özgül ve ark. ile benzer olarak C haplotipi görülmüştür. C haplotipine ek olarak Gökçeada/Zeytinlikköy'den alınan

örnekte 16S rDNA gen bölgesinin 705. pozisyonda meydana gelen nokta mutasyonu sonucu yeni bir *DraI* kesim noktası oluşmuştur. Bu farklı kesim sonucu jelde 215, 212, 116, 116, 100, 92, 70 ve 44 bç'lik 8'li bant modeli oluşan kesim profili elde edilmiştir (Şekil 4.3).

Range 1: 1 to 889 [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous ?

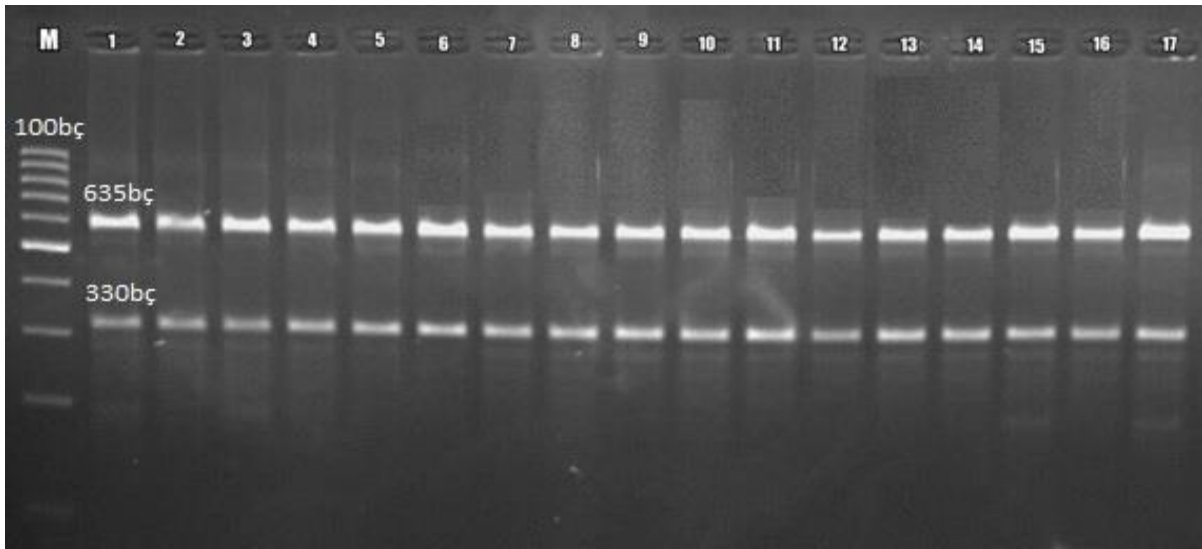
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1626 bits(880)	0.0	887/890(99%)	1/890(0%)	Plus/Minus
Query 51	TACGCTGTTATCCCTAAGGtaattttattcttttaattacaatttataattcaaaaaatta	110		
Sbjct 889	TACGCTGTTATCCCTAAGGTAATTTATTCTTTTAATTACAATTTATAATTCAAAAATTA	830		
Query 111	tctttatatcaaaaattaaatcttaaataaagtttattaaatttaCCAATCCTCCCAATCa	170		
Sbjct 829	TCTTTATATCAAAATTAATCTTAAATAAAGTTTATTAATTTACCAATCCTCCCAATCA	770		
Query 171	aatttaactcttaaatatattttataaaaattataaataaaa tttaaaa aattaaattaaattC	230		
Sbjct 769	AATTTAATCTTAAATATATTTATTAATAAATTATAAATAAA TTTAAAA AATTAATTAATTC	710		
Query 231	TATAGGGTCTTATCGTCCCAataaattaaatttttagaatttttaactaaaaa tttaaaa ttcat	290		
Sbjct 709	TATAGGGTCTTATCGTCCCAATAATTAATTTTAGAATTTTAACTAAAAA TTTAAA TTCAT	650		
Query 291	ttaataatttagagacagttattttttCATTAAATCTTTTCATACAATTCTTCAATTAATA	350		
Sbjct 649	TTAATAATTTAGAGACAGTTATTATTTTCATTAAATCTTTTCATACAATTCTTCAATTAATA	590		
Query 351	GACAATTTATTATGCTACCTTTGTACAGTCAACATACTGCAGCTA TTTAAA ATAATTCAT	410		
Sbjct 589	GACAATTTATTATGCTACCTTTGTACAGTCAACATACTGCAGCTA TTTAAA ATAATTCAT	530		
Query 411	TGAGCAGATCGACCTAAAAATTATAATCAACAGGACATGTTTTTGATAAACAGGTTGaataa	470		
Sbjct 529	TGAGCAGATCGACCTAAAAATTATAATCAACAGGACATGTTTTTGATAAACAGGTTGAATAA	470		
Query 471	tatattttgccgaatttcc tttaaaa ttatataatacaaaaatattcattataaaaatataacttt	530		
Sbjct 469	TATATTTGCCGAATTCC TTTAAA TTATATAATACAAAATATCATTATAAAAATATAACTTT	410		
Query 531	attactaatctaactactattttctatatattttattaattaaaaatataaaatttttatagaaa	590		
Sbjct 409	ATTACTAATCTAATCATTATTTCTATATTTTATTAATTAATAATAAAAATTTTATAGAAA	350		
Query 591	aaataaaatataaaa tttaaaa cattattataattttataaaattataaaattattaaattataaa	650		
Sbjct 349	AATAAAATATAAA TTTAAA TCATTATTAATTTATAAATTAATAATTTAAATTTAAATTTAA	290		
Query 651	attaaagaaaaatattatctctataacattaaaaaattaaaaattaaatttttatcttaaat	710		
Sbjct 289	ATTAAGAAAAATATTATCTCTATAACATTAAAAATTAAAAATTAATTTTAT TTTAAA	230		
Query 711	ttatagattatcccataaaatttttaataataaaaaattaaataaaattaaaataaaattttatt	770		
Sbjct 229	TTATAGATTATCCATAAAATTTTAAATATAAAAAATTAAATAATTAAAAATAAAATTTAATT	170		
Query 771	tactaaaaataaattatatactaaattaaattttctcaaaaaaaaCTAGATATTAATAAGTT	830		
Sbjct 169	TACTAAAAATAATTATATCTAAATTAATTTATTTCTAAAAAACTAGATATTAATAAGTT	110		
Query 831	CGTTTAAACATTTAATTTCTAAATCTATATTTATAATTTTATTGCTACa aaaaaaaTAATA	890		
Sbjct 109	CGTTTAAACATTTAATTTCTAAATCTATATTTATAATTTTATTGCTACAAAAAAAATAATA	50		
Query 891	TAAATTTAGCTCCCTTATTTTCGAGATA TTTAAA ATCATTAAATAAATTT 948			
Sbjct 49	TAAATTTAGCTCCCTTATTTTCGAGATA TTTAAA ATCATTAAATAAATTT 1			



Şekil 4.3. 16S rDNA/*DraI* restriksiyon enzimi kesim noktaları

4.1.2 16S rDNA gen bölgesinin *Mbo*II enzim ile kesimi

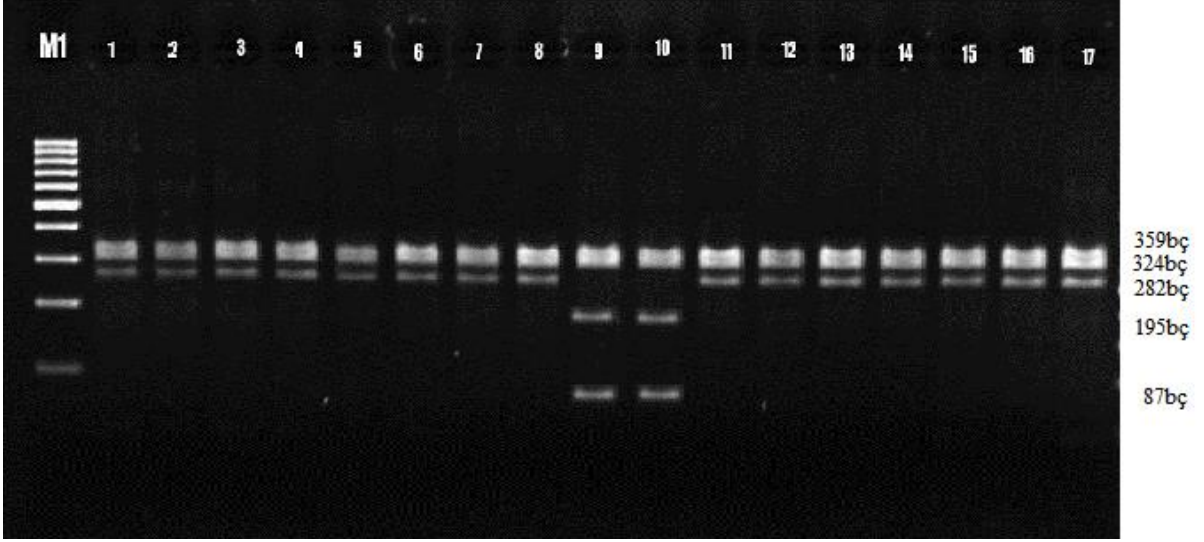
16S rDNA lokusunun 965 bç'lik bölümü PCR ile çoğaltılmış ve ardından *Mbo*II restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri % 2,5'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Bu lokusta *Mbo*II restriksiyon enzimi ile inkübasyonu sonucu 635 ve 330 bç'lik 2 banttan oluşan bir model elde edilmiştir. Çalışılan tüm örneklerde bu lokus da aynı bant modeli tespit edilmiştir. Tüm örneklerin tek bir haplotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. 16S rDNA gen bölgesinin *Mbo*II enzim kesimi 1 -14 Örnekler: Tip 1 haplotipi, M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 4.örnekler: Tekirdağ, 5.- 8.örnekler: Kırklareli, 9.-12. örnekler: Edirne,13.- 15.örnekler: Çanakkale, 16.-17.örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

4.1.3. 16S rDNA gen bölgesinin *Swa*I enzimi ile kesimi

Trakya bal arısı popülasyonlarında 16S rDNA bölgesinin *Swa*I enzimi ile muamele edilmesi sonucunda 2 farklı haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotiplerden Tip 1 haplotipinde 359, 324 ve 282 bç'lik 3 farklı banttan oluşan kesim profili belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada Tekirdağ/Çerkezköy'den alınan iki örnekte farklı bir kesim modeli tespit edilmiş olup bu haplotip Tip 2 olarak ifade edilmiştir. Tip 2 haplotipinde 359, 324, 195 ve 87 bç'lik 4 farklı bant modeli elde edilmiştir. Diğer örneklerin tamamının Tip1 haplotipinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

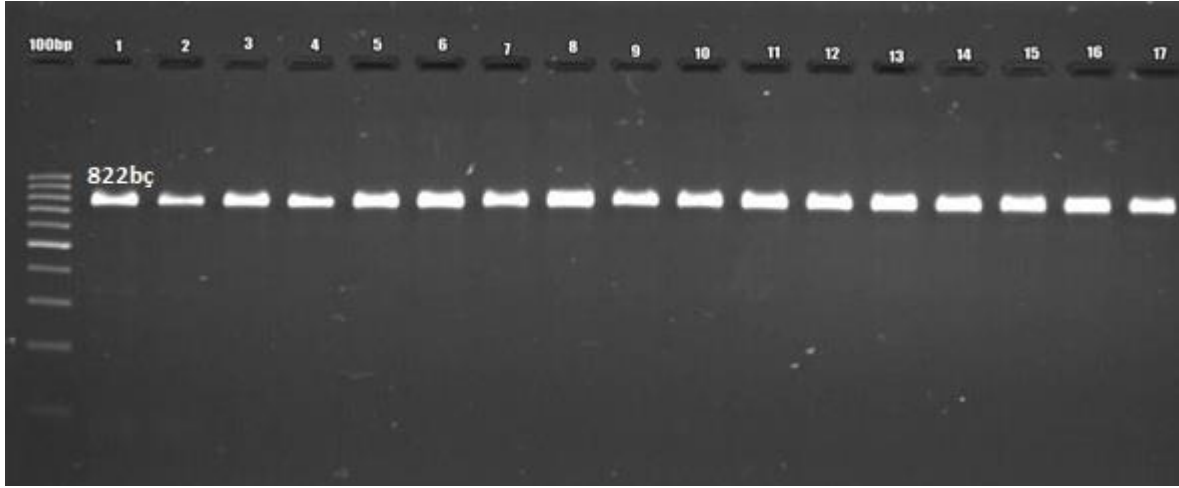


Şekil 4.5. 16S rDNA gen bölgesinin *SwaI* enzimi kesim sonucu. 1-8. ve 11-17. örnekler: Tip 1 haplotipi, 9-10. örnekler: Tip 2 haplotipi (Tekirdağ/Çerkezköy), M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.-4.örnekler: Edirne, 5.-8. örnekler: Kırklareli, 9.-12. örnekler: Tekirdağ, 13.- 15.örnekler: Çanakkale, 16.-17.örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

16S rDNA/*SwaI* bakımından farklılık gösteren bu iki grup arasında yalnızca tek bir nokta mutasyonu olduğu görülmüştür. 965 bç büyüklüğünde 16S rDNA gen bölgesinin 196. nükleotidinde (A→T transversiyonu) meydana gelen nokta mutasyonu sonucu *SwaI* enziminin yeni bir kesim noktası oluşmuştur. ATTAAAAAT şeklinde olan DNA dizisi, ATTTTAAAT olduğundan yeni bir *SwaI* kesim noktası oluşturmuştur. Bu farklı kesim sonucu jelde 359, 324, 195 ve 87 bç'lik 4 farklı bant görülmüştür (Şekil 4.5). Dizi analizi sonucu elde edilen sekansta 16S rDNA/*SwaI* restriksiyon enzimi kesim noktaları ve oluşan mutasyonun yeri Şekil 4.6'de gösterilmiştir.

4.2. ND5 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

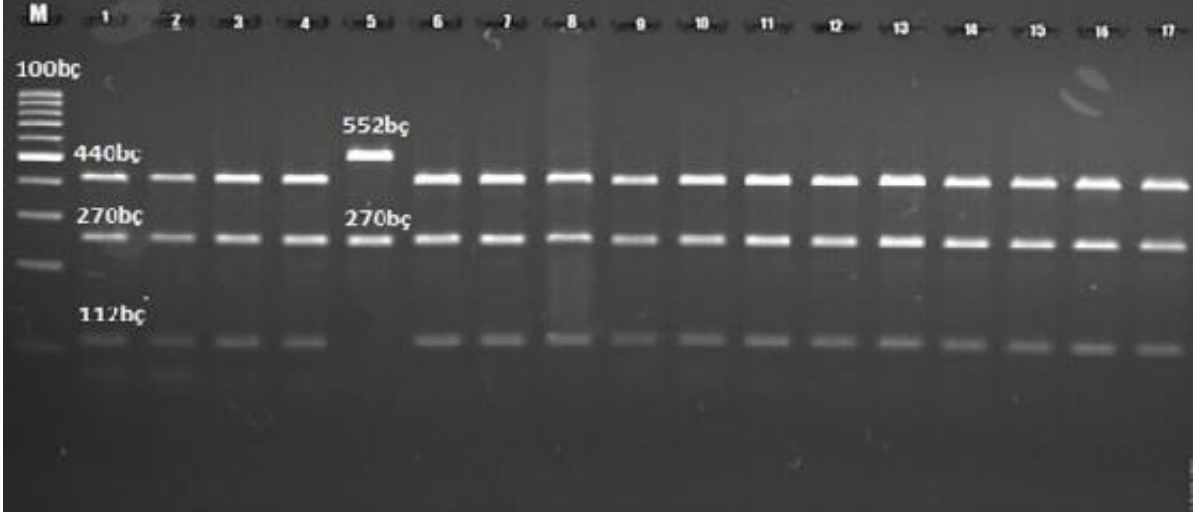
ND5 bölgesinin ilgili primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılması sonucunda 822 bç'lik PCR ürünü elde edilmiştir. Bu PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. 822 baz çiftinden oluşan PCR ürünlerinin başarıyla çoğaltıldığı gözlenmiştir. PCR ürünlerine ait örnek sonuçlar Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. ND5 gen bölgesinin PCR ürünleri 1-17 örnekler, M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 4.örnekler: Tekirdağ, 5.- 8.örnekler: Kırklareli, 9.-12. örnekler: Edirne,13.- 15.örnekler: Çanakkale, 16.-17.örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

4.2.1. ND5 gen bölgesinin *DraI* enzim ile kesimi

Trakya bal arısı popülasyonlarında ND5 bölgesinin *DraI* enzimi ile muamele edilmesi sonucunda iki farklı haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotiplerden Tip 1 haplotipinde 440, 270 ve 112 bç'lik 3 farklı banttardan oluşan kesim profili tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada Edirne/Meriç-Hasırcıarnavutköy'den alınan bir örnekte farklı bir kesim modeli tespit edilmiş olup, haplotip Tip 2 olarak ifade edilmiştir. Tip 2 haplotipinde 552 ve 270 bç'lik 2 farklı bant modeli elde edilmiştir. Diğer örneklerin tamamının Tip1 haplotipinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. ND5 gen bölgesinin *DraI* enzimi kesim sonucu; 1-4. ve 6-17. Örnekler: Tip 1 haplotipi, 5. Örnek: Tip 2 haplotipi (Edirne/Meriç-Hasırcıarnavutköy), M: Invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 4.örnekler: Tekirdağ, 5.- 8.örnekler: Edirne, 9.-12. örnekler: Kırklareli,13.- 15.örnekler: Çanakkale, 16.-17.örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

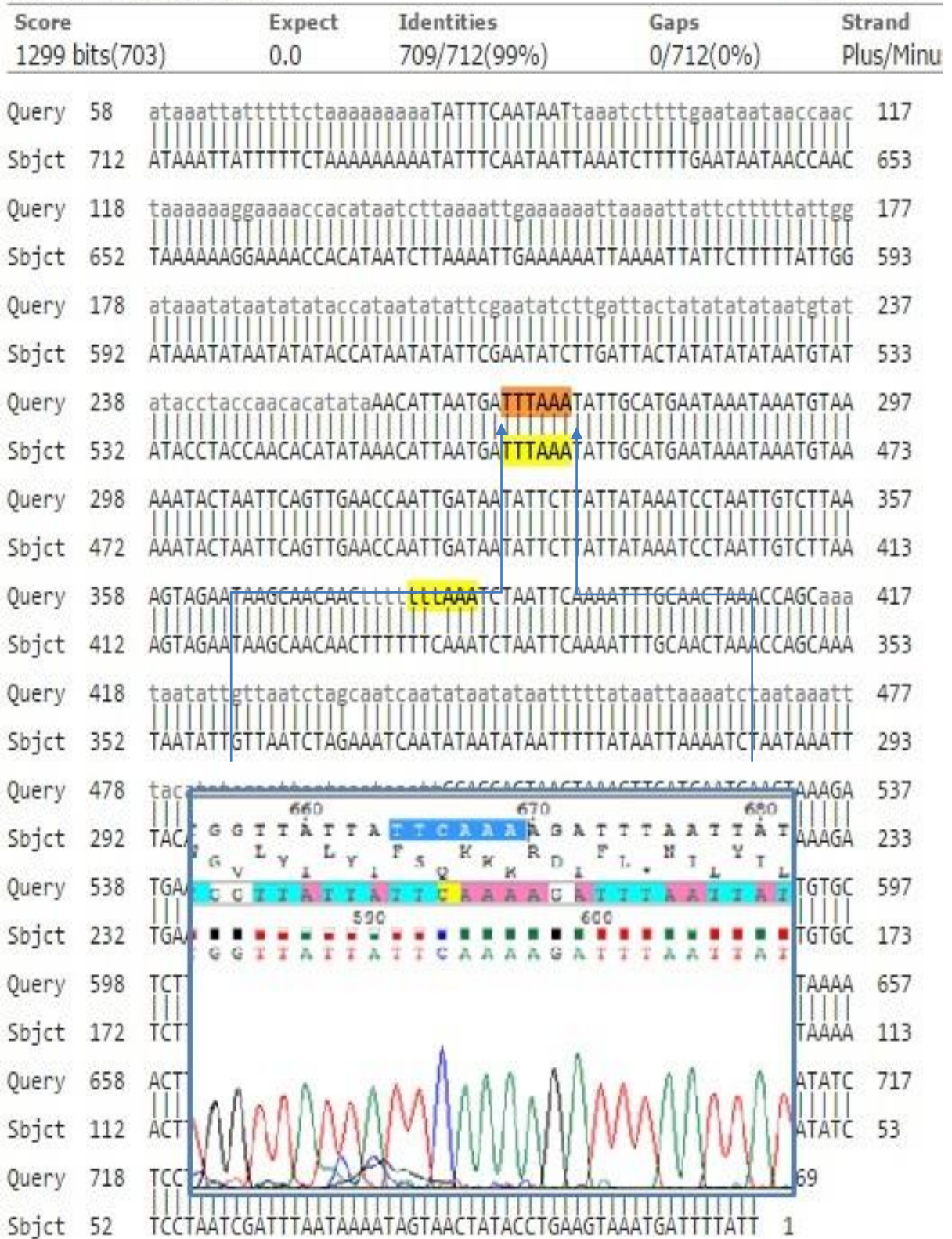
ND5/*DraI* bakımından farklılık gösteren bu iki grup arasında yalnızca tek bir nokta mutasyonu olduğu görülmüştür. Referans dizisine göre ND5 gen bölgesinin 383. pozisyonda (T→C transizyonu) tek nükleotid değişimi sonucu *DraI* restriksiyon enziminin kesim noktası kaybolmuştur. Böylece var olan kesim noktası kaybolmuş ve **TTT**A~~A~~AA şeklinde olan DNA dizisi, **TT**CAAA şeklinde değişmiştir. Bu farklı kesim sonucu jelde 112, 270 ve 440 bç'lik 3 bant sayısı 440 bç'lik bantın kaybolması ile 552 ve 270'lik 2 farklı bant modeli oluşan kesim profili elde edilmiştir (Şekil 4.8 ve şekil 4.9).

Bouga ve ark. (2005), Yunan ve Kıbrıs bal arısı popülasyonlarını PCR-RFLP methodologyyla incelemişler ve ND5/*DraI* bakımından iki kesim noktası sonucu A: 429, 285 ve 108 bç uzunluğunda bantlar oluştuğu bildirilmiştir. Yunan ve Kıbrıs arı popülasyonlarının ND5/*DraI* bakımından tek haplotipe sahip olduğu bildirilmiştir. Ivanova ve ark. 2010 Bulgaristan arı popülasyonlarını alloenzim ve PCR-RFLP yöntemleriyle incelemişlerdir. Bouga ve ark. (2005) ile benzer olarak ND5/*DraI* bakımından A: 429, 285 ve 108 bç uzunluğunda üç bant oluştuğunu bildirmişlerdir.

Özdil ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada Türkiye arı popülasyonlarını ND5/*DraI* bakımından incelemişlerdir. *DraI* restriksiyon enzimi kesim sonucunda çalışmamız ile benzer olarak B: 440, 270 ve 112 bç uzunluğunda üç bant oluştuğunu bildirmişlerdir.

Range 1: 1 to 712 [Graphics](#)

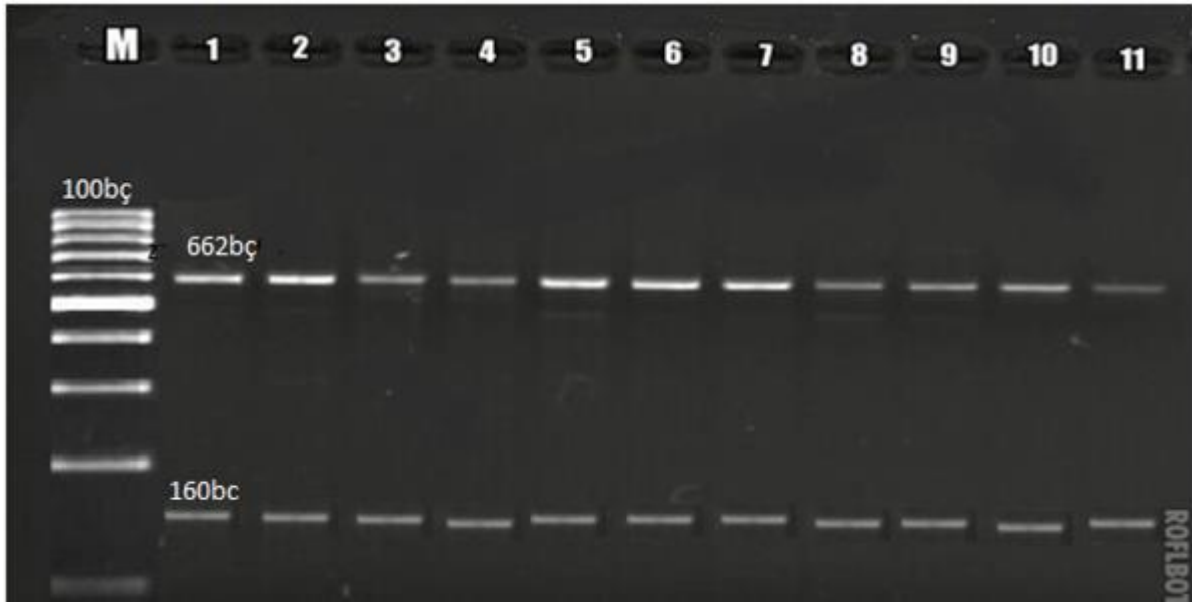
▼ Next Match ▲



Şekil 4.9. ND5/DraI restriksiyon enzimi kesim noktaları

4.2.2. ND5 gen bölgesinin *Mbo*II enzimi ile kesimi

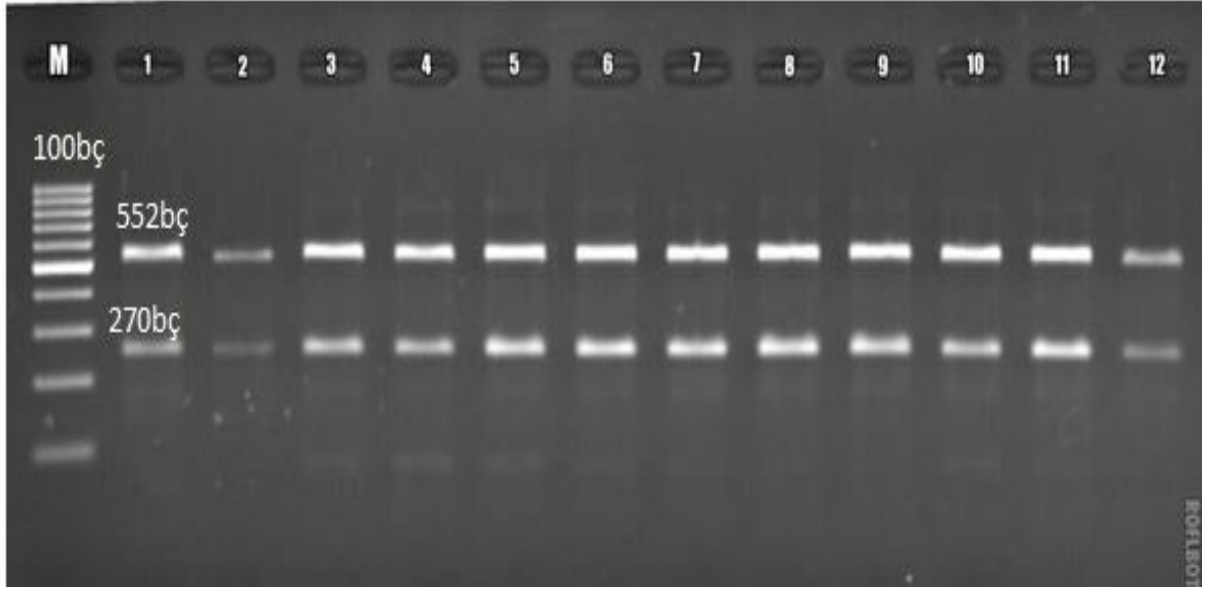
ND5 lokusunun yaklaşık 822 bç'lik bölümü PCR ile çoğaltılmış daha sonra *Mbo*II restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu lokusta *Mbo*II restriksiyon enzimi kesimi sonucu 662 ve 160 bç'lik 2 banttardan oluşan bir model tespit edilmiştir. Çalışılan tüm örneklerde bu lokusta aynı bant modeli tespit edilmiş, farklı kesim profili bulunamayıp tüm örnekler tek haplotip göstermekte ve bu sonuçlar % 2.5'lik agaroz jelde gösterilmiştir (Şekil 4.10)



Şekil 4.10. ND5 gen bölgesinin *Mbo*II enzim kesimi 1 -11 Örnekler: Tip 1 haplotipi M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 2. örnekler: Tekirdağ, 3.- 4.örnekler: Kırklareli, 5.-7. örnekler: Edirne, 8.-9.örnekler: Çanakkale, 10.-11. örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

4.2.3. ND5 gen bölgesinin *Swa*I enzimi ile kesimi

ND5 lokusunun yaklaşık 822 bç'lik bölümü PCR ile çoğaltılmış ve *Swa*I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu lokusta *Swa*I restriksiyon enzimi kesim noktasının (Çizelge 3.8) bulunduğu ve bu enzim ile kesim sonucu 552 ve 270 bç'lik 2 banttardan oluşan bir modelin elde edilmiştir. Çalışılan tüm örneklerde ND5 lokusunda *Swa*I restriksiyon enzimi ile kesim sonucu aynı bant modeli tespit edilmiş ve bu sonuçlar % 2.5'lik agaroz jelde gösterilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. ND5 gen bölgesinin *SwaI* enzim kesimi, 1-12 Örnekler: Tip 1 haplotipi, M: invitrogen™ 100 bp DNA Ladder. (1.- 2. örnekler: Tekirdağ, 3.- 4.örnekler: Kırklareli, 5.-7. örnekler: Edirne, 8.-9.örnekler: Çanakkale, 10.-11. örnekler: Gökçeada yörelerinden alınmıştır.)

Bu çalışmada, Trakya bölgesinde bulunan beş farklı ilden alınan bal arısı örneklerinde mtDNA 16S rDNA ve ND5 bölgeleri ve *DraI*, *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri kullanılarak PCR-RFLP analiziyle genetik varyasyon tanımlanmıştır. Alınan tüm işçi arı örneklerinde yapılan analiz sonucu 16s rDNA/*DraI* bakımından 2 haplotip belirlenmiştir. Tip 1 haplotipinde 315, 212, 116, 116, 92, 70, 44 bç olmak üzere 7 bant, Tip 2 haplotipinde 215, 212, 116, 116, 100, 92, 70, 44 bç olmak üzere 8 bant gözlenmiştir. 16s rDNA/*MboII* bakımından incelendiğinde ise tüm örneklerin aynı kesim profiline sahip olduğu görülmüş ve tek bir haplotip ortaya konmuştur. 16s rDNA/*SwaI* ile kesim sonucu 2 haplotip belirlenmiştir. Tip 1 haplotipinde 359, 324, 282 bç olmak üzere 3 bant görülürken, Tip 2 haplotipinde 359, 324, 195, 87 bç olmak üzere 4 bant görülmüştür. PCR-RFLP sonucu oluşan bant profilleri ve haplotipler Şekil 5.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1. 16S rDNA gen bölgesi bant profili ve haplotipleri

<i>DraI</i>		<i>MboII</i>	<i>SwaI</i>	
Tip 1	Tip 2	Tip 1	Tip 1	Tip 2
-	215	635	359	359
315	212	330	324	324
212	116		282	195
116	116		-	87
116	100			
92	92			
70	70			
44	44			

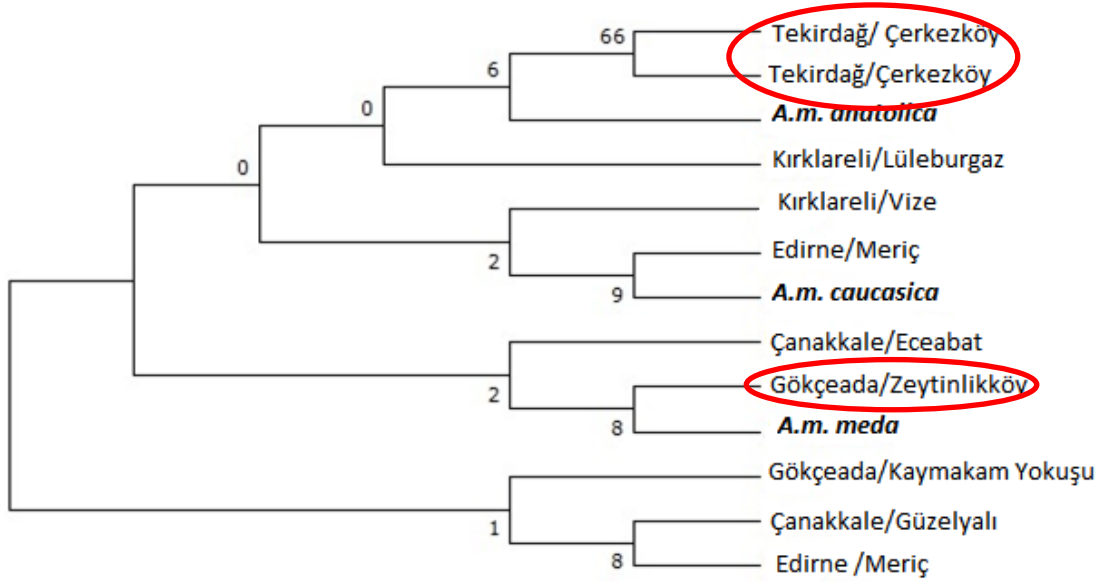
Alınan arı örneklerinde mtDNA'nın ND5 bölgesinde PCR-RFLP analizi ile *DraI*, *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri kullanılarak genetik varyasyon tanımlanmıştır. Alınan tüm işçi arı örneklerinde yapılan analiz sonucu ND5/*DraI* bakımından 2 haplotip belirlenmiştir. Tip 1 haplotipinde 440, 270, 112 bç olmak üzere 3 bant, Tip 2 haplotipinde 552, 270 bç olmak üzere 2 bant gözlenmiştir. ND5/*MboII* ve ND5/*SwaI* bakımından incelendiğinde ise tüm örneklerin aynı kesim profiline sahip olduğu görülmüştür. PCR-RFLP sonucu oluşan bant desenleri ve haplotipler Şekil 5.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. ND5 gen bölgesi bant profili ve haplotipleri

<i>DraI</i>		<i>MboII</i>	<i>SwaI</i>
Tip 1	Tip 2	Tip1	Tip1
440	552	662	552
270	270	160	270
112	-		

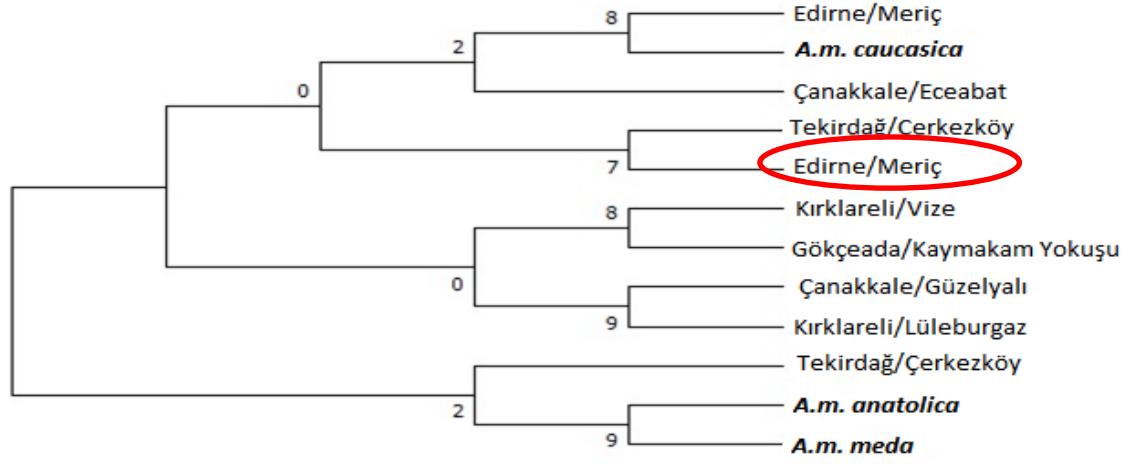
Trakya bal arısı örneklerinde 16S rDNA gen bölgesinde PCR-RFLP yöntemi ile tespit edilen haplotipler ile NCBI veribankasından alınan referans Kafkas (*A. m. caucasica*), İran (*A. m. meda*) ve Anadolu arısı (*A. m. anatolica*) örnekleri ile yapılan DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacında (Neighbour Joining Dendogram) 16SrDNA/*SwaI* bakımından Tip 2 haplotipi(Tekirdağ/Çerkezköy), Anadolu arısı ile aynı kümede bulunurken, 16S rDNA/*DraI* bakımından Tip 2 haplotipi (Gökçeda/Zeytinlikköy) İran arısı ile aynı

kümede yer almıştır (Şekil 5.1). Analiz edilen tüm Trakya örneklerinde Tip1 haplotipi yaygın bulunan haplotiptir.



Şekil 5.1. 16S rDNA gen bölgesi DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacı (Neighbour Joining Dendogram)

Trakya bal arısı örneklerinde ND5 gen bölgesinde PCR-RFLP yöntemi ile tespit edilen haplotipler ile NCBI veribankasından alınan referans Kafkas (*A. m. caucasica*), Suriye (*A. m. meda*) ve Anadolu arısı (*A. m. anatolica*) örnekleri ile yapılan DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacında (Neighbour Joining Dendogram) ND5/*DraI* bakımından Tip 2 haplotipi (Edirne/Meriç), Kafkas arısına yakın kümede yer almıştır (Şekil 5.2). Analiz edilen tüm Trakya örneklerinde Tip1 haplotipi yaygın bulunan haplotiptir.



Şekil 5.2. ND5 gen bölgesi DNA dizi analizi sonucu elde edilen Komşu Birleştime Ağacı (Neighbour Joining Dendogram)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada, Türkiye'nin Trakya bölgesinin 5 farklı yöresine ait bal arılarında mitokondriyel DNA molekölü bakımından genetik yapının tanımlanması, olası yeni haplotiplerin belirlenmesi ve farklı bölgelerde yetiştirilen populasyonlar arasındaki farklılıkların tespit edilmesi amacıyla 16S ribozomal DNA (16S rDNA) ve NADH dehidrogenaz 5 (ND5) gen bölgeleri *DraI*, *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile kesim (PCR-RFLP) ve DNA dizi analizi yöntemlerinden yararlanılarak araştırılmıştır.

Restriksiyon enzimleri ile kesim ve DNA dizi analizi sonucu elde edilen nükleotid farklılıkları temelinde ırklar/alttürler, ekotipler ve hatta populsyonlar arasındaki benzerlik ve farklılıklar araştırılabilmekte ve tüm türlerde genetik yakınlık ve uzaklıklar ortaya konabilmektedir. Bu tez çalışmasında iki farklı mitokondriyel gen bölgesi (16S rDNA ve ND5) araştırılarak Trakya bal arısı populasyonlarında genetik benzerlik/farklılıklar araştırılmıştır. Söz konusu genler ve farklı enzimler ile kesim sonucu populasyonları ayırt etmede kullanılabilir farklılıklar elde edilememiştir ancak 16S rDNA gen bölgesinin *DraI* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile ND5 gen bölgesinin ise *DraI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu varyasyon bulunmuş ve farklı haplotipler elde edilmiştir.

16S rDNA gen bölgesinin *DraI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu tüm örneklerde Tip 1 haplotipi tespit edilirken, Gökçeada/Zeytinlikköy'den alınan bir örnekte Tip 2 haplotipi olarak ifade edilen yeni bir haplotip ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. Trakya bal arısı populasyonlarında yaygın bulunan 16S rDNA/*DraI*, Tip 1 haplotipi; Özdil ve ark. (2012)'de bildirilen C haplotipi ile benzer bulunmuştur. 16S rDNA/*DraI*, Tip 2 haplotipi ilk kez bu tez çalışmasında tespit edilmiştir.

16S rDNA gen bölgesinin *MboII* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu tüm örneklerde tek bir haplotip (Tip 1) tespit edilmiş, bu enzim bakımından Trakya bal arısı populasyonlarında varyasyon bulunamamıştır.

16S rDNA gen bölgesinin *SwaI* restriksiyon enzimi ile kesimi daha önce çalışılmamıştır, bu nedenle kesim sonucu elde edilen haplotipler ilk kez bu tez çalışmasında ortaya konmuştur. 16S rDNA/*SwaI* kesimi sonucu nerdeyse tüm Trakya bal arısı örneklerinde

Tip 1 haplotipi tespit edilirken, Tekirdağ/Çerkezköy'den alınan iki örnekte Tip 2 haplotipi bulunmuştur.

Çalışılan bir diğer gen bölgesi olan ND5 geni, *DraI*, *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile kesilmiş ve sadece *DraI* restriksiyon enzimi ile kesim sonucu varyasyon tespit edilmiştir. Trakya bal arısı popülasyonlarında ND5/ *DraI* restriksiyon enzimi bakımından Tip 1 haplotipi yaygın bulunan haplotip iken; Edirne/Meriç-Hasırcıarnavutköy'den alınan bir örnekte farklı bir kesim modeli tespit edilmiş olup, bu haplotip Tip 2 olarak ifade edilmiştir. DNA dizi analizi sonucu çizilen Komşu Birleştirme Ağacında Edirne/Meriç-Hasırcıarnavutköy *A. m. caucasica* ile yakın kümede yer almıştır. Buradan yola çıkarak bu Edirne/Meriç'ten alınan bir kısım örneklerin Kafkas orijinli olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ND5/*DraI* restriksiyon enzimi bakımından Tip II haplotipinin oluşmasına neden olan ND5 geninin 383. pozisyonda T→C transizyonunun Kafkas arı ırkına özgü bir nükleotid değişimi olup olmadığı ileride yapılacak ayrıntılı çalışmalarda incelenmeli ve eğer söz konusu nükleotid değişimi sonucu elde edilen kesim farklılığı, Kafkas arısına özgü bulunursa bu kesim farklılığı Kafkas bal arısının teşhis ve tespit edilmesinde genetik marker olarak kullanılmalıdır. Bu konuda ayrıntılı çalışmalar yapılarak bu haplotip test edilmelidir.

ND5 gen bölgesinin *MboII* ve *SwaI* restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu tüm örneklerde tek bir haplotip (Tip 1) tespit edilmiş, bu enzimler bakımından ND5 gen bölgesinde Trakya bal arısı popülasyonlarında varyasyon bulunamamıştır.

Bu tez çalışmasında 16S rDNA ve ND5 gen bölgelerinin PCR-RFLP ve DNA dizi analizi ile birlikte değerlendirilmesi sonucu Trakya Bölgesi bal arısı popülasyonlarında elde edilen haplotipler ortaya konmuştur. Söz konusu bal arısı popülasyonlarının büyük bir kısmı, benzer haplotipler içerisinde bulunmuştur. Az sayıda örnekte varyasyon tespit edilmiştir. Bu örnekler Gökçeada, Tekirdağ ve Edirne'den alınan az sayıda örneklerdir. Varyasyon bulunan örneklerin bir kısmının *A. m. caucasica* orijinli olabileceği tespit edilmiştir. Bu durumun sebepleri olarak bölgeye zaman zaman yoğun bir şekilde Kafkas ana arısı getirilmesi ve gezginci arıcılığın neden olabileceği düşünülmektedir. Daha ayrıntılı örnekleme ve farklı restriksiyon enzimleri ve gen kombinasyonları ile çalışmalar yapılarak hem bu hipotez test edilmeli ve Trakya bal arısı popülasyonlarının genetik yapısı daha ayrıntılı olarak tanımlanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Adam B (1983). In Search of Best Strains of Honeybees. 2nd Edition, Northern Bee Books, 206p, UK.
- Adam B (1987). Breeding the Honeybee. Northern Bee Books, 118 s UK.
- Akyol E, Şahinler N, Özkök D (2006). Honeybee (*Apis mellifera*) Races, Ecotypes and Their General Characteristics in Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances, 5(9):771-774.
- Alattal Y, Alsharhi M, Alghamdi A, Alfaify S, Mig-Dadi H, Ansari M (2014). Characterization of the Native Honey Bee Subspecies in Saudi Arabia Using the mtDNA COI-COII Intergenic Region and Morphometric Characteristics. Bulletin of Insectology, 67(1): 31-37.
- Alburaki M (2009). Genetic Analyses of Syrian Honeybee diversity *Apis mellifera syriaca*. Apimondia, Montpellier, France.
- Alpatov WW (1948). The Races of Honeybees and Their Use in Agriculture. (In Russian) Sredi prirodi 4: 1-65.
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG (1981). Sequence and Organization of the Human Mitochondrial Genome. Nature, 290:457.
- Arias MC, Sheppard WS (1996). Molecular Phylogenetics of Honey Bee Subspecies (*Apis mellifera* L.) Inferred from Mitochondrial DNA Sequence. Molecular Phylogenetics and Evolution, 5(3):557-566.
- Avise JC, Shapira JF, Daniel SW, Aquadro CF, Lansman RA (1983). Mitochondrial DNA Differentiation During the Speciation Process in Peromyscus. Molecular Biology and Evolution, 1: 147-164.
- Awetisjan GA (1978). Apiculture, Apimondia Publishing house, Bucharest in: Awetisjan GA, Gubin WA, Davydenko IK (1969). Selection of Carpathian bees. Proc. Int. Beekeep. Cong. 22: 366-371.
- Bilash GD, Makarov H, Sedich AW (1976). Geographic Classification of Honeybee Races in the USSR. Apimondia Symp Genetics Selection Reproduction, 140-150.
- Birand, H (2001). Alıç Ağacı ile Sohbetler. TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları 35, 7.Basım, 339. Ankara.
- Bodenheimer FS (1941). Studies on the Honeybee and Beekeeping in Turkey. Merkez Ziraat Mücadele Enstitüsü, Ankara.
- Bodenheimer, FS (1942). Studies on the honeybee and beekeeping in Turkey. Merkez Zirai Mücadele Enstitüsü Ankara, 59 pp, Istanbul, Turkey.
- Bouga M, Harizanis PC, Kiliyas G, Alahiotis S (2005). Genetic Divergence and Phylogenetic Relationships of Honey Bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Populations from

- Greece and Cyprus Using PCR-RFLP Analysis of Three mtDNA Segments. *Apidologie* 36: 335-344.
- Brown WM, George M JR, Wilson AC (1979). Rapid Evolution of Animal Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (76): 1967-71.
- Buttel-Reepen H (1906). *Apistica. Beitrage Zur Systematic, Biologie, Sowie Zur Geschichtlichen und Geographischen Verbreitung der Honigbiene (Apis mellifera L.), ihrer Varietaten und der übrigen Apis- Arten.* Veroff Zool Mus, 118-120, Berlin.
- Chen H, Leibenguth F (1995). Restriction Endonuclease Analysis of Mitochondrial DNA of Three Farm Animal Species: Cattle, Sheep and Goat. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem Mol Biol*, 111 (4): 643-649.
- Chinnery PF, Schon EA (2003). Mitochondria. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 74: 1188-1199.
- Collet T, Arias MC, Del Lama MA (2007). 16S mtDNA Variation in *Apis mellifera* Detected by PCR-RFLP. *Apidologie*, 38: 47-54.
- Cornuet JM, Garnery L (1991). Mitochondrial DNA Variability in Honeybees and It's Phylogeographic Implications. *Apidologie*, 22: 627- 642.
- Crane E (1984). *The World's Beekeeping: Past and Present.* Ed: Dadant and Sons. The Hive and the Honey Bee. Dadant and SonsInc. Illinois. 1-18.
- Crozier RH, Crozier YC (1993). The Mitochondrial Genome of the Honeybee *Apis mellifera*: Complete Sequence and Genome Organization. *Genetics*, 133: 97-117.
- Cummins JM (1998). Mitochondrial DNA in Mammalian Reproduction. *Rev. Reprod*, 3: 172-182.
- Danan, C, Sternberg, D, Van-Steirteghem, A, Cazaneuve, C, Duguesnoy, P, Besmond, C, Gossens, M, Lissens, W, Amselem, S (1999). Evaluation of Paternal Mitochondrial Inheritance in Neonates Born After Intracytoplasmic Sperm Injection. *American J. Human Genet.* (65): 463-473.
- Darendelioğlu Y, Kence A (1992). Morphometric Study on Population Structure on Honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Türkiye 2. Entomoloji Kongresi*, 387-396.
- Doğaroğlu M (1981). *Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Arı Irk ve Tiplerinin "Çukurova Bölgesi" Koşullarında Performanslarının Karşılaştırılması.* Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Doğaroğlu M, Özdemir M, Polat C (1992). *Türkiye’deki Önemli Balarısı (Apis mellifera L.) Irk ve Ekotiplerinin Trakya Koşullarında Performanslarının Karşılaştırılması,* *Doğa-Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 16: 403-414.
- De La Rúa P, Galián J, Serrano J, Moritz RFA (2001). Genetic Structure and Distinctness of *Apis mellifera* L. Populations from the Canary Islands. *Molecular Ecology*, 10: 1733-1742.

- De la Rúa PR, Jaffé R, Dall'Olio I, Muñoz J, Serrano (2009). Biodiversity, Conservation and Current Threats to European Honeybees. *Apidologie*, 40(3): 263-284.
- Engel MS (1999). The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*), *Journal of Hymenoptera Research*. 8(2): 165-196.
- Fakhri B (2008). Farklı İran Bal Arısı (*Apis mellifera meda*) Populasyonlarında COI-COII Mitokondriyel DNA Lokusları Arasında Yer Alan Bölgedeki Genetik Varyasyonun PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Fıratlı Ç, Budak E (1994). Türkiye'de Çeşitli Kurumlarda Yetistirilen Ana Arılar ile Oluşturulan Bal Arısı *Apis mellifera* L. Kolonilerinin Fizyolojik, Morfolojik ve Davranış Özellikleri. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Yayın No: 1390.
- Fıratlı Ç, Gençer HV (1994). Dünya Arıcılığı ve Türkiye'nin Yeri. Türkiye 2. Teknik Arıcılık Kongresi. 28: 20-28, Ankara
- Fourtounis D (1999). Mutations in the Control Region of the Mitochondrial Genome Linked to Traits of Economic Value in White Leghorns. Thesis of Master degree. McGill University. Canada.
- Franck P, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1998). The Origin of West European Subspecies of Honeybees (*Apis mellifera*): New Insights from Microsatellite and Mitochondrial Data. *Evolution*, 52(4); 1119-1134.
- Franck P, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (2000a). Molecular Confirmation of a Fourth Lineage in Honeybees from the Near East. *Apidologie*, 31: 167-180.
- Franck P, Garnery L, Celebrano G, Cornuet JM (2000b). Hybrid Origins of Honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*A. m sicula*). *Molecular Ecology*, 9: 907-921.
- Franck P, Garnery L, Loiseau A, Oldroyd BP, Hepburn HR, Solignac M, Cornuet JM (2001). Genetic Diversity of the Honeybee in Africa: Microsatellite and Mitochondrial Data. *Heredity*, (86): 420-430.
- Ftayeh HA, Meixner M, Fuchs S (1994). Morphometrical Investigation in Syrian Honeybees. *Apidologie*, 25(4): 396-401.
- Garnery L, Vautrin D, Cornuet JM, Solignac M (1991). Phylogenetic Relationships in the Genus *Apis* Inferred from Mitochondrial DNA Sequence Data. *Apidologie*, 22: 87-92.
- Garnery L, Cornuet JM, Solignac M (1992). Evolutionary History of the Honey Bee *Apis mellifera* Inferred from Mitochondrial DNA Analysis. *Molecular Ecology*, 1; 145-154.
- Garnery L, Solignac M, Celebrano G, Cornuet JM (1993). A Simple Test Using Restricted PCR Amplified Mitochondrial DNA to Study the Genetic Structure of *A. Mellifera* L. *Experientia*, 49:1016-1021.
- Garnery L, Mosshine EH, Oldroyd BP, Cornuet JM (1995). Mitochondrial DNA Variation in Moroccan and Spanish Honey Bee Populations. *Molecular Ecology*, 4: 465-471.

- Genç F, Dülger C, Dodoloğlu A, Kutluca S (1999). Kafkas, Orta Anadolu ve Erzurum Balarısı (*Apis mellifera* L.) Genotiplerinin Erzurum Koşullarındaki Bazı Fizyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması. Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences, 23 Ek sayı 4: 645-650.
- Gençer HV, Fıratlı Ç (1999). Orta Anadolu (*A. m. anatoliaca*) ve Kafkas (*A. m. caucasica*) Arılarının Morfolojik Özellikleri. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23(1):107-113.
- Güler A, Kaftanoğlu O (1999). Determination of Performances Some Important Races and Ecotypes of Turkish Honeybee (*Apis mellifera* L.) Under Migratory Beekeeping Conditions. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23 (3): 577-581
- Güler A, Kaftanoğlu O, Yeninar N (1999). Türkiye'deki Önemli Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Irk ve Ekotiplerinin Morfolojik Karakterler Açısından İlişkilerinin Diskriminant Analiz Yöntemi ile Saptanması. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, Ek Sayı 23: 337-343.
- Güler A, Akyol E, Gökçe M, Kaftanoğlu O (2002). Artvin ve Ardahan Yöresi Bal Arılarının (*Apis mellifera* L.) Bazı Morfolojik Özellikleri Yönünden İlişkilerinin Belirlenmesi, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 26: 596-603.
- Gray MW (2012) Mitochondria. Brenner's Online Encyclopedia of Genetics. 2nd Ed, Academic Press, USA.
- Gyllensten U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC (1991). Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA in Mice. Nature, 352(6332): 255-257.
- Hall HG (1986). DNA Differences Found Between Africanized and European Honeybees. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 83(13): 4874-4877.
- Hall HG (1990). Parental Analysis of Introgressive Hybridization Between African and European Honeybees Using Nuclear DNA RFLPs. Genetics, 125: 611-621.
- Hall HG, Smith DR (1991). Distinguishing African and European Honey Bee Matrines Using Amplified Mitochondrial DNA. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 88: 4548-4552.
- Hecht W (1990). Studies on Mitochondrial DNA in Farm Animals. In genome Analysis in Domestic Animals, 259-268.
- Hiendleder S, Lewalski H, Wassmuth R, Janke A (1998). The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. Journal of Molecular Evolution, 47(4): 441-448.
- Hutchison III CA, Newbold JE, Potter SS, Edgell MH (1974). Maternal Inheritance of Mammalian Mitochondrial DNA. Nature, 251: 536-538.
- Ivanova EN, Petrov P, Bouga M, Emmanouel NG, Tunca RI, Kence M (2010). Genetic Variation in Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Populations from Bulgaria. Journal of Apicultural Science, 54: 51-62.

- Kaftanoğlu O, Kumova U, Bek Y (1993). GAP Bölgesinde Çeşitli Balarısı (*Apis mellifera* L.) Irklarının Performanslarının Saptanması ve Bölgedeki Mevcut Arı Irklarının Islahı Olanakları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi GAP Yayınları No:74, Adana.
- Kandemir I, Kence A (1995). Allozyme Variation in Central Anatolian Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Populations. *Apidologie*, 26: 503-510.
- Kandemir İ, Kence M, Kence A (2000). Genetic and Morphometric Variation in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Populations of Turkey. *Apidologie*, 31: 343–356.
- Kandemir İ, Kence M, Kence A (2005). Morphometric and Electrophoretic Variation in Different Honeybees (*Apis mellifera*) Population. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 885-890.
- Kandemir İ, Kence M, Sheppard WS, Kence A (2006). Mitochondrial DNA Variation in Honey bee (*Apis mellifera* L.) Populations from Turkey. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 45(1): 33-38.
- Karacaoğlu M (1989). Orta Anadolu. Karadeniz Geçit ve Ardahan İzole Bölgeleri Arılarının Bazı Morfolojik Özellikleri Üzerinde Bir Arastırma. A.Ü. FenBilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmamış), Ankara.
- Karacaoğlu M, Fıratlı Ç (1998). Bazı Bal Arısı Ekotipleri (*Apis mellifera anatoliaca*) ve Melezlerinin Özellikleri. 1. Morfolojik Özellikler. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 22: 17-21.
- Kauhausen-Keller D, Ruttner F, Keller R (1997). Morphometric Studies on the Microtaxonomy of the Species *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 28: 295-307.
- Kaneda H, Hayashi J.I, Takahama S, Taya C, Lindahl K.F, Yonekawa H (1995). Elimination of Paternal Mitochondrial DNA in Intraspecific Crosses During Early Mouse Embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (92): 4542–4546
- Kence M, Güldüren Z, Kence A (2006). Seasonal Variation of Phosphoglucosmutase (PGM) Enzyme Polymorphism in Honeybees (*Apis mellifera* L.) of Turkey. *Proceedings of Second European Congress of Apidology*. p.54.
- Kekeçoğlu M, Bouga M, Harizanis P, Soysal MI (2009). Genetic Divergence and Phylogenetic Relationships of Honey Bee Populations from Turkey using PCR-RFLP's Analysis of two mtDNA Segments, *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 15 (6): 589-597.
- Kekeçoğlu M, Soysal MI (2010). Genetic Diversity of Bee Ecotypes in Turkey and Evidence for Geographical Differences. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(5): 5646-5653.
- Kılıç, F, Bilgen, G (2006). İzmir ili bal arısı (*Apis mellifera* L.) populasyonlarında enzim polimorfizmi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 43 (1), 75-84.
- Kono Y, Kohn JR (2015). Range and Frequency of Africanized Honey Bees in California (USA). *PLoS ONE* 10(9): e0137407.
- Lewin B (1987). *Genes*, Third edition, John Wiley & Sons, pp. 422- 431. Kanada

- Maa TC (1953). An Inquiry into the Systematics of the Tribus Apidini or Honeybees (Hymenoptera). *Treubia*, 21: 525-640.
- Manfredi G, Thyagarajan D, Papadopoulou LC, Pallotti F, Schon EA (1997). The Fate of Human Sperm-Derived mtDNA in Somatic Cells. *Am. J. Hum. Genet.* (61): 953-960.
- Martimianakis S, Klossa-Kilia E, Bouga M, Kiliyas G (2011). Phylogenetic Relationships of Greek *Apis mellifera* Subspecies Based on Sequencing of mtDNA Segments (COI and ND5). *J. Apicult. Res.* 50: 42–50.
- Meghen C, MacHugh DE, Bradley DG (2002). Genetic Characterization and West African Cattle. <http://www.fao.org/docrep/t1300t/t1300t0j.htm> (Erişim tarihi: 15.03.2017).
- Meixner, MD, Sheppard, WS, Poklukar, J (199). Asymmetrical distribution of a mitochondrial DNA polymorphism between 2 introgressing honeybee subspecies. *Apidologie*, 24: 147-153.
- Milner A (1996). Introduction to Understanding Honeybees, Their Origins, evolution and diversity. <http://www.bibba.com/bibborig.html.pdf> (Erişim tarihi, 23.05.2017)
- Moritz RF, Hawkins CF, Crozier RH, Mackinley AG (1986). A Mitochondrial DNA Polymorphism in Honeybees. *Eperientia*, 42: 322-324.
- Moritz RF (1994). Molecular Biology of the Honeybee. *Advances in Insect Physiology*, 25: 105-149.
- Moritz RF, Cornuet JM, Kryger P, Garnery L, Hepburn HR (1994). Mitochondrial DNA Variability in South African Honeybees. (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 25: 169-178.
- Nelson DL, Cox MM (2005) *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*, Çeviri Editörü Kılıç N, Palme Yayıncılık, 172s, Ankara.
- Okumuş A, Konak F, Kayaboynu Ü, Bilgi F (2012). Arı Genotiplerinin Değerlendirilmesinde Moleküler Genetik Tekniklerin Kullanımı. *Arıcılık Araştırma*. 8: 3-7
- Otis G.W (1996). Distribution of Recently Recognized Species of Honeybees (Hymenoptera: Apidae: Apis) in Asia. *J. Kansas Entomol. Soc.*, 69: 311-333.
- Özdil F, Yıldız MA, Meydan H, Gençer HV (2006). Genetic Structure of Turkish Honeybee Populations Based on RAPD and mtDNA RFLP Markers. 2nd European Conference of Apidology, s. 53, Prag/Çek Cumhuriyeti.
- Özdil F, Gedik Y, Meydan H, Yıldız MA, Özkan MM (2007). Molecular Characterization of Turkish Honeybee Populations (*Apis mellifera* L.) Inferred from Mitochondrial DNA RFLP and Sequence Data. IBRA International Conference on Recent Trends in Apicultural Science, s. 47, Mikkeli, Finlandiya.
- Özdil F (2007). Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Markerleri Kullanılarak Türkiye'nin Farklı Yörelere Ait Bal Arılarının Tanımlanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Özdil F, Yıldız MA, Hall HG (2009). Molecular Characterization of Turkish Honey Bee Populations (*Apis mellifera*) Inferred from Mitochondrial DNA RFLP and Sequence Results. *Apidologie*, 40: 570–576.
- Özdil F, Meydan H, Yıldız MA, Hall HG (2011). Genetic diversity of Turkish honey bee populations based on RFLPs at a nuclear DNA locus. *Sociobiology*, 58: 719–732.
- Özdil, F, Aytekin, İ, İlhan, F, Boztepe, S (2012). Genetic Variation in Turkish Honeybees *Apis mellifera anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. meda* (Hymenoptera: Apidae) Inferred from RFLP Analysis of Three mtDNA Regions (16S rDNA-COI-ND5). *European Journal of Entomology*, 109 (2): 161-167.
- Palmer MR, Smith DR, Kaftanoğlu O (2000). Turkish Honeybees: Genetic Variation and Evidence for a Fourth Lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *The Journal of Heredity*, 91 (1): 42-46.
- Piljug A (2016). Bosna Hersek Yerli Koyunları ve Keçilerindeki Mitokondriyal DNA (mtDNA) D-loop Polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi.
- Pinto MA, Johnston JS, Rubink WL, Coulson RN, Patton JC, Sheppard WS (2003). Identification of Africanized Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Mitochondrial DNA: Validation of a Rapid Polymerase Chain Reaction-Based Assay. *Annals of the Entomological Society of America*, 96 (5): 679-684.
- Rahimi, A (2015). Study of the Genetic Diversity of Iranian Honey Bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) Populations Using the mtDNA COI-COII Intergenic Region. *Biologija*: 61: 54-59.
- Rothenbuhler WC, Kulinčević JM, Kerr WE (1968). Bee Genetics. *Ann. Rev. Genet.* 2: 413-438.
- Rokas A, Ladoukakis E, Zouros E (2003). Animal Mitochondrial DNA Recombination Revisited. *Trends in Ecology and Evolution*, 18 (8): 411-417.
- Ruttner H (1976) Untersuchungen über die Flugaktivität und das Paarungsverhalten der Drohnen. 6. Flug auf und über Höhenrücken. *Apidologie* 7, 331-341
- Ruttner F, Tassencourt L, Louveaux J (1978). Biometrical Statistical Analysis of the Geographic Variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie*. 9(4): 363-381.
- Ruttner F (1988). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer-Verlag, 193 p, Berlin.
- Ruttner F (1992). *Naturgeschichte der Honigbienen*. Ehrenwirth Verlag, 357 p, München.
- Saara F (1999). *Phylogenetic Analysis of Mitochondrial DNA: Detection of Mutations in Patients with Occipital Stroke*. Oulu University Library, Finland. <http://jultika.oulu.fi/files/isbn9514255674.pdf> (Erişim tarihi: 03.06.2017)
- Sheppard WS, Arias MC, Grech A, Meixner MD (1997). *Apis mellifera ruttneri*, a New Honey Bee Subspecies from Malta. *Apidologie*, 28 (5): 287-293.

- Sheppard WS, Meixner MD (2003). *Apis mellifera pomonella*, a New Honey Bee Subspecies from Central Asia. *Apidologie*, 34 (4): 367–375.
- Smith DR, Brown WM (1990). Restriction Endonuclease Cleavage Site and Length Polymorphisms in Mitochondrial DNA of *Apis mellifera mellifera* and *A. m. carnica* (Hymenoptera Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 83(1): 81-88.
- Smith DR (1991). mtDNA and Honeybee (*Apis mellifera* L.) Biogeography, Diversity in the Genus *Apis*, Boulder CO, USA.
- Smith DR, Slaymaker A, Palmer M, Kaftanoğlu O (1997). Turkish Honeybees Belong to the East Mediterranean Mitochondrial Lineage. *Apidologie*, 28 (5): 269-274.
- Smith DR (2002). Genetic Diversity in Turkish Honey Bees. *Uludağ Bee Journal*, 3(2):10-17.
- Solignac M (1991). Preparation and Visualization of Animal Mitochondrial DNA for RFLP Analysis. NATO ASI series, Vol. H57. *Molecular Techniques in Taxonomy* (Edited by G.M. Hewitt et al.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sušnik S, Kozmus P, Poklukar J, Meglic V (2004). Molecular Characterization of Indigenous *Apis mellifera carstica* in Slovenia. *Apidologie*, 35: 623-636.
- Upholt WB, Dawid IB (1977). Mapping of Mitochondrial DNA of Individual Sheep and Goats: Rapid Evolution in the D-loop Region. *Cell*, 11 (3): 571-583.
- Ursing BM, Arnason U (1998). Analyses of Mitochondrial Genomes Strongly Support a Hippopotamus-Whale Clade. *Proc. Royal Soc. London Series B-Biological Sci.* 265 (1412): 2251-2255.
- Wang L, Hellman U, Eriksson S (1996). Cloning and Expression of Human Mitochondrial Deoxyguanosine Kinase cDNA. *FEBS Lett*, 390 (1): 39-43.
- Whitfield CW, Behura SK, Berlocher SH, Clark AG, Johnston JS, Sheppard WS, Smith DR, Suarez AV, Weaver D, Tsutsui ND (2006). Thrice out of Africa: Ancient and Recent Expansions of the Honey Bee, *Apis mellifera*. *Science*. 314: 642–645.
- Wilson E. (1971). *Insect Societies*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 548p.
- Zhang Y.P, Shi L.M (1992). Mitochondrial DNA Polymorphisms in Animals: A Review. *Zoological Research* 13 (3): 289-298.
- Zhao X, Chu M, Li N, Wu C (2001). Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Science in China Series C-Life Sciences*, 44 (3): 321-326.
- Zhao X, Li N, Guo W, Hu X, Liu Z, Gong G, Wang AH, Feng J, Wu C (2004). Further Evidence for Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA in the Sheep (*Ovis aries*). *Heredity*, 93 (4): 399-403.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı: Ayşe GÜDER

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul-18.01.1990

Eğitim Durumu

Önlisans Öğrenimi: Kırklareli Üniversitesi/ Gıda Teknolojisi (2010)

Lisans Öğrenimi: Namık Kemal Üniversitesi /Tarımsal Biyoteknoloji (2015)

Yüksek Lisans Öğrenimi: Namık Kemal Üniversitesi

İletişim

E-Posta Adresi: ayse.gdr@hotmail.com