2011

ESKİŞEHİR

Uluslararası Katılımlı
I. ALİ NUMAN KIRAÇ
TARIM KONGRESİ VE FUARI
27-30 Nisan 2011
ESKİŞEHİR

BİLDİRİLER/ PROCEEDINGS

CİLT III /VOLUME III

1st National Agriculture Congress and
Exposition on behalf of
Ali Numan Kıraç with
International Participation
April 27-30, 2011

Editörler/Edited by

Dr. Hasan TOSUN
Dr. Ece TURHAN
Dr. Zehra AYTAÇ

CamScanner ile tarandı

2011
1.TK
ESKİŞEHİR

Uluslararası Katılımlı
I. Ali Numan Kıraç
Tarım Kongresi ve Fuarı
27-30 Nisan, 2011

BOMBUS ARILARINDA MOLEKÜLER TEKNİKLERİN KULLANILMASI

Bahar ARGUN KARSLI [1], Fehmi GÜREL[2]

ÖZ

Bombus arıları, hem doğal hem de kültüre alınmış bitkilerin en önemli tozlaştırıcılarıdır. Türkiye' de farklı iklim koşullarına ve vejetasyon tiplerine uyum sağlamış çok sayıda bombus tür, alt tür ve ekotip bulunmaktadır. Ancak Türkiye'deki bombus arısı tür çeşitliliği, bombus türlerinin ülke genelinde dağılımı ve populasyon yoğunlukları bilinmemektedir. Son yıllarda genetik biliminde yaşanan hızlı gelişmeler çok sayıda moleküler markerin tanımlanmasını sağlamıştır. Bu markerlerin çoğu mikrosatelit ve mtDNA lokusları içindeki dizi farklılıklarından türetilmiştir. Moleküler markerler bombus arılarıyla ilgili çalışmalarda da kullanılmış ve bu çalışmalar sonucunda populasyonların genetik yapılarının belirlenmesi, genom haritalaması, populasyonlar arasındaki genetik farklılık ve benzerliklerden yararlanarak filogenetik ilişkilerin saptanması, taksonomik olarak tartışmalı tür ve alttürlerin tanımlanması, populasyonlara ait demografik ve genetik parametrelerin tahmin edilmesi, populasyonlar arasındaki gen akışı ve melezlenme seviyelerinin belirlenmesi, populasyonlardaki genetik daralmanın ve azalan arı populasyonlarının saptanması ve bu azalışta genetik faktörlerden kaynaklanan etkilerin belirlenmesi konularında yeni ve önemli bilgilere ulaşılmıştır. Bu bildiride mikrosatelit ve mtDNA markerlerinin özellikleri kısaca açıklanmış ve bombus arılarında bu markerler kullanılarak yapılan çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bombus arısı, moleküler markerler, mtDNA, mikrosatelit

ABSTRACT

Bumble bees are valuable pollinators of both crops and native plants. In turkey, there are many bumble bee species, sub-species and ecotypes each adapted to specific ecological conditions. However, the current status and population densities of these bumble bees' are not known. In recent years, the rapid advances in genetic science have led to identification of a large number of molecular markers. Most of these are derived from sequence differences within mtDNA and microsatellite loci. These molecular markers have been applied in studies of bumble bees, consequently new, and sometimes striking information about determination of the genetic structure of populations, levels of hybridization and gene flow between populations, genetic drift, genome mapping, identification of taxonomically controversial species and subspecies, estimation of demographic and genetic parameters of populations have been obtained. In this paper, characteristics of microsatellite markers and mtDNA were briefly explained, and bumble bees studies using these markers were described.

Key words: Bumble bee, molecular markers, mtDNA, microsatellite

[1] Yüksek Lisans Öğrencisi, Zootekni Bölümü, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye
e-posta: bhrargun@akdeniz.edu.tr
[2] Prof. Dr., Zootekni Bölümü, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye
e-posta: fgurel@akdeniz.edu.tr

CamScanner ile tarandı

GİRİŞ

Dünyada yaklaşık 20 bin türü tanımlanan arılar (Michener, 2000), tozlaştırıcı olarak vazgeçilemez rollerinden dolayı karasal ekosistemlerin ayrılmaz bir parçasıdır. Bal arılarına göre daha iri yapılı, yoğun tüylü ve göz alıcı renklere sahip olan bombus arıları bal arılarından sonra hem doğal hem de kültüre alınmış bitkilerin en önemli tozlaştırıcılarıdır. Yaklaşık 250 türü tanımlanan bombus arıları başta Avrupa olmak üzere Asya, Kuzey Afrika ve Amerika'ya kadar geniş bir yayılma alanına sahiptir (Williams, 1998). Tozlaşmadaki önemleri yaklaşık yüz yıl önce belirlenen bombus arıları, 25 yıldır da kitlesel olarak üretilmekte ve örtü altı yetiştiricilikte tozlaştırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Dünyada yılda bir milyondan fazla ticari üretilmiş bombus kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır. Üretilen kolonilerin % 90' nından fazlasını *Bombus terrestris* türü oluşturmaktadır. Tüm dünyada bir taraftan bombus arılarının tozlaşma amacıyla kullanımına yönelik yoğun bir ilgi ve talep oluşmakta diğer taraftan ise ticari olarak üretilmiş bombus arılarının kullanımı sonucunda ekoloji üzerinde oluşabilecek olası olumsuz etkiler tartışılmaktadır (Velthuis ve Doorn, 2006). Tozlaşma amacıyla seralarda kullanılan bombus kolonilerinde koloni yaşamının sonlarına doğru çok sayıda ana ve erkek arı üretilmektedir. Üretilen ana ve erkek arılar sera dışına çıkabilmekte ve doğal ortamda koloni oluşturabilmektedirler. Ticari üretilmiş *B. terrestris* arılarının bu şekilde yayılmasının besin kaynakları ve yuva yeri için yerel tozlaştırıcılarla rekabet, parazit ve patojenlerin taşınması ve yerel genotiplerin melezleşmesi gibi bazı sorunlara yol açabileceği bildirilmektedir. Buna karşın son yıllarda yapılan çok sayıda araştırmada bombus arıları ve diğer tozlaştırıcıların populasyon yoğunlukları ve tür çeşitliliklerinin tüm kıtalarda önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle kaybolma tehlikesi altındaki bombus türlerinin saptanması, bombus arısı populasyonlarının azalış sebepleri ve bu azalışın ekoloji üzerine yapabileceği olumsuz etkiler ve bombus türlerinin korunmasına yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Gürel ve Gösterit, 2007).

Moleküler genetik alanındaki son gelişmeler, çok sayıda moleküler markerin tanımlanmasını sağlamıştır. Markerlerin çoğu mikrosatelit ve mtDNA lokusları içindeki dizi farklılıklarından türetilmiştir. Bu moleküler markerler çok çeşitli organizmalara uygulanmış ve bu çalışmalar sonucunda türlerin biyolojisi, ekolojisi, davranışı, populasyon dinamiği ve evrimi hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır. Son yıllarda bombus arılarında da geliştirilen mikrosatelit ve mtDNA markerler; populasyonların genetik yapılarının belirlenmesi, genom haritalaması, populasyonlar arasındaki genetik farklılık ve benzerliklerden yararlanarak filogenik ilişkilerin saptanması, taksonomik olarak tartışmalı tür ve alt türlerin tanımlanması, populasyonlara ait demografik ve genetik parametrelerin tahmin edilmesi, populasyonlar arasındaki gen akışı ve melezlenme seviyelerinin belirlenmesi, populasyonlardaki genetik daralmanın ve azalan arı populasyonlarının saptanması ve bu azalışta genetik faktörlerden kaynaklanan etkilerin belirlenmesi gibi farklı çalışmalarda kullanılmıştır (Gerloff, vd., 2003; Darvill vd., 2006; Kanbe vd., 2008; Kim vd., 2009; Kondo vd., 2009; Wolf vd., 2010). Bu bildiride mikrosatelit ve mtDNA markerlerinin özellikleri kısaca açıklanmış ve bombus arılarında bu markerler kullanılarak yapılan çalışmalar derlenmiştir.

MİTOKONDRİYAL DNA (MtDNA)

Mitokondri, ökaryotik hücrelerin enerji üretimi görevini üstlenen ve kendi DNA'sına sahip sitoplazmik bir organeldir. Sayıları enerji ihtiyacına göre, hücreden hücreye değişen mitokondriler, 1–7 mikrometre uzunluğunda, çubuk şeklinde ve 2–3 mikrometre çapında küresel yapılardır. Mitokondriyal proteinlerin % 2' si mitokondriyal genom tarafından sentezlenirken, % 98' i nükleer gen tarafından sentezlenerek, mitokondriye taşınır. Hayvan mtDNA' sı 16.569 baz çifti içeren küçük, çift zincirli, dairesel bir moleküldür ve 2 adet ribozomal RNA geni (16S ve 12S rRNA), 22 adet transfer RNA geni ve 13 adet protein geni olmak üzere toplam 37 gen içermektedir. Ayrıca kodlanmamış bir bölgesi vardır. Bu bölge 'A+T ' ce zengin kontrol bölgesi olup, replikasyon ve transkripsiyondan sorumludur (Wolstenholme, 1992; Dowling vd., 1996).

CamScanner ile tarandı

Oksijen radikallerine daha fazla maruz kalmasından ve koruyucu ve tamir sistemlerinin bulunmamasından dolayı mtDNA, çekirdek DNA' ya oranla daha fazla mutasyona uğrar ve bu nedenle çekirdek DNA' ya göre 10–20 kat daha hızlı evrimleşir. MtDNA tek bir DNA molekülünden oluştuğu için çekirdek DNA molekülünde homolog kromozomlar arasında gerçekleşen parça değişimi (crossing over) meydana gelmemekte ve bunun sonucunda döllerde yeni kombinasyonlar oluşmamaktadır. Mitokondriyal genom hayvanların çoğunda rekombinasyon olmaksızın, anneden gelen genlerle kalıtım kazanır. Öyle ki bütün gen seti tek ata tarafından kalıtımlanır (Avise, 1994). Diğer bir deyişle, anneden yavruya geçer. Bu nedenlerle mitokondriyal DNA' dan geliştirilen markerler tür ve alt tür düzeyinde grupların ayrılmasında ve evrim ve filogenetik ilişkilerin tahmin edilmesinde başarıyla kullanılmaktadır. MtDNA seviyesinde var olan genetik çeşitlilikten yararlanılarak populasyonların tanımlanması amacıyla sitokrom oksidaz b (*cytob*), sitokrom oksidaz I (*COI*), sitokrom oksidaz II (*COII*), *COI-COII* arası intergenik bölge vb. gen bölgelerinde PCR-RFLP ve dizi analizi markerleri geliştirilmiştir. Geliştirilen mtDNA PCR-RFLP markerleri sayıca az olmasına rağmen, özellikle aynı grup içinde yer alan türler arasındaki evrimsel ilişkilerin ortaya konulmasında ve haplotiplerin belirlenmesinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Pirounakis vd., 1998; Kim vd., 2009).

MİKROSATELİTLER (SSR)

Mikrosatelitler DNA' da 1–6 baz çiftinden oluşan kısa, ardışık tekrarlı dizilerdir (Hancock, 1999). Mikrosatelit lokuslar basit Mendel kalıtımına uygun olarak, kodominant kalıtım yoluyla generasyonlar boyunca aktarılırlar ve yüksek derecede polimorfizm gösterirler (Moritz ve Hills, 1996). Homolog kromozomlar arasındaki eşit olmayan parça değişimi, genetik sürüklenme (drift) ve DNA molekülünün replikasyonu sırasında oluşabilecek mutasyonlar mikrosatelit lokuslardaki çoklu alelizmin kaynaklarındandır. Bu özelliklerinden dolayı; akrabalık, ebeveyn tayini gibi köken belirleme, tür içi ve türler arası varyasyonu, melezlemeleri saptama, populasyonlara ait genetik ve demografik parametreleri tahmin etme, genom haritalama ve filo-coğrafya ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca mikrosatelitler, üreme davranışının etkilerini ve tehlike altındaki populasyonların dağılımını değerlendirmede de kullanılmışlardır. Mikrosatelitler kodominant marker olduğundan heterezigotlarla homozigotların ayırt edilebilmesinde etkili olarak kullanılmaktadır. Kolay uygulanabilmesi ve tekrarlanabilir (farklı laboratuarlarda yapılan analizlerde benzer sonuçların elde edilebilir) olması da mikrosatelitleri önemli kılan özelliklerdendir. Ancak mikrosatelit markerlerin uygulanabilmesi için çalışılan organizmaya ait primerlerin önceden bilinmesi gerekmektedir. Mikrosatelitlerin en büyük dezavantajı yeni marker geliştirilmesinin güçlüğüdür. Yeni markerlerin geliştirilmesi için genomik DNA klonlarının tekrarlanan oligonükleotit içeren problarla bulunması, nükleotid dizilişlerinin belirlenmesi ve yan yana tekrarlanan yapıların başlangıç ve bitiş yerlerinden özel başlatıcı DNA' lar geliştirilmesi gerekmektedir. Bu da oldukça fazla işgücü gerektiren pahalı bir işlemdir (Devrim ve Kaya, 2004; Arias vd., 2006).

Bombus arısı ile ilgili genetik çalışmalarda kullanılmak amacıyla çok sayıda mikrosatelit marker geliştirilmiştir. Estoup vd. (1995; 1996) tarafından geliştirilen 13 adet mikrosatelit lokus (B10, B11, B96, B100, B101, B116, B118, B119, B121, B124, B126, B131 ve B132) bombus türlerinde yukarda sıralanan konularla ilgili yapılan çok sayıda çalışmada yaygın olarak kullanılmıştır. Bu lokuslara ilave olarak son yıllarda Funk vd. (2006) tarafından geliştirilen 44 mikrosatelit lokusun *B. terrestris* türü için yüksek derecede polimorfizm gösterdiği saptanmıştır. Buna karşın haritalama çalışmaları için genom içinde daha yoğun tekrarlanabilir marker dizilerinin olması istenir. Bu nedenle Stolle vd. (2009) hem haritalama hem de populasyon genetiği çalışmalarını daha güvenilir kılmak için *B. terrestris* türünde polimorfik olan 123 yeni mikrosatelit lokus saptamışlardır. Bu lokuslardan 34 adedi *B. terrestris* dışındaki 9 bombus türü için de test edilmiş ve bunlardan 25 tanesi en az bir türde polimorfizm göstermiştir.

CamScanner ile tarandı

ÇALIŞMALARDA İNCELENEN ÖZELLİKLER VE KULLANILAN İSTATİSTİKLER

Yaklaşık 250 türü tanımlanan bombus arılarının taksonomik olarak sınıflandırılmasında son yıllara kadar morfometrik özelliklerden ve alozim polimorfizmden yararlanılmıştır. Morfometrik karakterlerde öne çıkan iki özellik renk ve erkek arı üreme organı yapısıdır. Ancak morfometrik özellikler birbirine çok benzeyen ve yakın akraba türlerdeki taksonomik belirsizliği çözememiştir. Ayrıca doğal olarak çok geniş bir alana yayılmış olan bombus türlerinde çok sayıda alt tür ve ekotip bulunmaktadır. Sadece *B. terrestris* türünde yaklaşık dokuz adet alt tür saptanmıştır (Rasmont, 2008). Bu nedenle bombus arılarında tür içi ve türler arası farklılıkları belirlemede başvurulan en etkin ve güncel yöntem DNA markerleridir.

Arı populasyonlarının azalışını belirlemede genellikle genetik çeşitlilikle ilgili veriler kullanılır. Bunlar, efektif populasyon büyüklüğündeki (Ne) değişim ve azalma, populasyondaki genetik daralmanın belirlenmesi, alellik zenginliğin belirlenmesi, heterezigotluk derecesi gibi özelliklerdir. Genetik çeşitlilik, populasyonların değişen çevre koşullarına uyum sağlamaları için gerekli bir ön koşuldur. Populasyonun efektif büyüklüğü genetik çeşitlilik düzeyinin önemli bir belirtecidir. Küçük efektif büyüklüğe sahip populasyonlar güçlü bir drift gösterirler ve böylece büyük efektif büyüklüğe sahip populasyonlara göre daha az genetik varyasyona sahip olurlar. Sonuç olarak, küçük populasyonların gelecekte kendi çevrelerinde olabilecek değişikliklere (yeni hastalık ve zararlılar, pestisit uygulamaları, yeni giren türler, habitatların parçalanması, iklimsel değişiklikler vb.) karşı sınırlı evrimsel tepkilere sahip olacağı ve böylece bu populasyonların yok olma sürecinin artacağı beklenir. Ayrıca arı populasyonlarının azalışını belirlemede cinsiyeti belirleyen alellerin sayısı, diploit erkek arı frekansı ve akrabalı yetiştirme dejenerasyonu önemli göstergelerdir. DNA markerleri kullanılarak populasyonların genetik yapısı ve çeşitliliği ile ilgili elde edilen verilerden uygun istatistik programlarla; alel genişliği, alel sayısı, etkili alel sayısı, gözlenen ve beklenen heterezigotluk değerleri, homozigotlaşma indeksi hesaplanabilmekte, populasyonları arasındaki genetik benzerliklerin / farklılıkların belirlenmesi amacıyla da F_{ST} istatistiği (F_{ST}), gen akışı (Nm,), genetik farklılaşma katsayı (G_{ST}) ve yansız genetik uzaklık (D) değerlerinden yararlanılmaktadır.

BOMBUS ARILARINDA MİKROSATELİT VE MTDNA MARKERLERİ KULLANILARAK YAPILAN ÇALIŞMALAR

Moleküler markerler kullanılarak yapılan ilk çalışmalar büyük ölçüde Avrupa' da yaygın ve çok bulunan *B. terrestris* türünde yoğunlaşmış ve bu çalışmalarda Avrupa' nın çeşitli bölgelerinde bulunan *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapıları incelenmiştir. Avrupa kıtası içinde *B. terrestris* populasyonlarının yaygın olması ve izolasyonu sağlayacak önemli bariyerlerin bulunmaması nedeniyle kıta içinde populasyonlar arasındaki farklılığın fazla olmadığı buna karşın çeşitli Kanarya ve Akdeniz adalarındaki populasyonların farklı olduğu belirtilmiştir (Estoup vd., 1998; Gegear vd., 2005). Estoup vd. (1998) *B. terrestris* türünün karasal ve ada populasyonlarındaki genetik farklılaşmayı saptayabilmek için Avrupa kıtasından 8, Akdeniz adalarından 5 ve Tenerife adasından bir populasyonda 10 mikrosatelit lokusu ve COII mitokondriyal gen dizisini incelemişlerdir. Populasyonların çoğunda 10 mikrosatelitten sekizi yüksek seviyede polimorfizm göstermiştir. Sonuçta ada populasyonları kıtasal populasyonlardan kesin olarak ayrılmışlar, fakat kıta içindeki *B. terrestris* populasyonları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bazı araştırıcılar morfolojik ve kıl rengi yapısındaki farklılıklara bağlı olarak Kanarya adalarındaki ve Mader adasındaki bombus arısı populasyonlarını *B. terrestris'* ten farklı olarak *B. canariensis* ve *B. maderensis* olarak ayrı türler gibi ya da *B. terrestris*' in alt türleri olarak tanımlamaktadır. Widmer vd. (1999) bu adalardaki bombus populasyonları ile kıtasal *B. terrestris*' lerin filocoğrafik ilişkilerini belirlemek için dört Kanarya adasının her birinden bir populasyonla Mader adasından bir populasyonda 9 mikrosatellit lokustaki ve mitokondriyal cyt b genindeki varyasyonu incelemişlerdir. Adalar arasında ve adalarla - kıta arasındaki genetik farklılıklar önemli bulunmuştur. Mikrosatelitler Kanarya adaları populasyonlarının farklılığını güçlü olarak desteklemişlerdir. Fakat Mader adasındaki populasyon Avrupa kıtasındaki *B. terrestris* populasyonlarına genetik olarak daha benzer bulunmuştur. Mader adası populasyonu kıtasal

CamScanner ile tarandı

B. terrestris' in en yaygın haplotipini paylaşmaktadır. Nükleer ve mtDNA verilerinin her ikisi de göstermiştir ki Kanarya ve Mader adası bombus populasyonları ortak bir kolonileşme tarihini paylaşmamaktadır.

B. pascuorum' da *B. terrestris* türüne benzer şekilde Avrupa' da geniş alanlara yayılmış ve *B. terrestris* türü ile aynı bölgelerde de sıklıkla görülen bir bombus türüdür. Pirounakis vd. (1998) Avrupa'nın 13 bölgesinden topladıkları *B. pascuorum* örneklerinde mtDNA cyt b geninde 400 baz çiftlik bir fragmenti sekanslayarak genetik çeşitliliği araştırmışlardır. *B. pascuorum'* da bütün kıta Avrupa' sı boyunca populasyonlar birbirine benzer fakat bu populasyonlarla İtalya Alplerinin güneyindeki populasyonlar farklı bulunmuştur (Pirounakis vd., 1998; Widmer vd., 1999). Bu farklılığın, Alplerin kuzey ve güney arasında bir bariyer oluşturmasından kaynaklanabileceği, *B. terrestris* türünde ise kraliçe arıların çok daha iri olmasından dolayı daha uzun mesafelere uçabildikleri ve bu nedenle Alpleri geçerek populasyonlar arasındaki farklılaşmaları azalttıkları düşünülmektedir.

Shao vd. (2004) *B. ignitus*' un Asya' da yedi kıta ve ada populasyonlarını karşılaştırmışlar ve kıta populasyonlarını genetik olarak benzer fakat uzak ada populasyonlarını farklı bulmuşlardır. Bu nedenle sıradağlar veya büyük su alanları (ada vb.) gibi önemli bariyerlerle ayrılan populasyonlarda genetik yapının farklılaştığı gözlenmiştir. Kim vd. (2009) ise Kore yarımadasında 15 farklı bölgeden toplam 160 adet *B. ardens* örneği toplanmışlar ve bu örneklerde 658 bç' lik mitokondriyal COI genini sekanslamışlardır. Analiz sonuçlarında toplam 8 haplotip, 8 değişken nükleotit elde edilmiş ancak bir haplotip bütün bölgelerde yaygın olarak dağılım göstermiştir. Tüm bireyler arasında çok düşük genetik farklılıklar saptanmış ve Kore yarımadasında bulunan *B. ardens* populasyonlarının biyocoğrafik bariyerlere maruz kalmadığı ve rasgele çiftleşmelerle oluştuğu sonucuna varılmıştır.

Tüm dünyada çok sayıda bombus türü yaşam alanlarının tahribatı ve tek tip tarımın yaygınlaşmasından dolayı dramatik bir şekilde azalmaya başlamıştır. Çünkü bombus arıları ve diğer sosyal Hymenopteralar düşük efektif populasyon büyüklükleri ve yayılma alanlarındaki belirsizliğe karşı hassastırlar. Ayrıca tozlaştırıcıların mevcut populasyon büyüklükleri, dağılımları ve genetik çeşitlilikleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu amaçla, Hermann vd. (2007) *B. jonellus* ve *B. muscorum* türlerinde, Darvill vd. (2010) ise yarı doğal habitatlar ve çiçekli araziler içindeki *B. pascuorum'* da, dağılma/yayılma yetenekleri, koloni yoğunluğu, akrabalı yetiştirme ve populasyon yapısını incelemek için mikrosatelit markerler kullanmışlardır. İlk çalışmada *B. jonellus'* un *B. muscorum*' dan daha yüksek bir yayılma eğilimi ve efektif populasyon büyüklüğü gösterdiği saptanmıştır. *B. pascuorum*' da ise çiçekli araziler bombus arısı bolluğunu pozitif etkilemektedir. Ancak arazi gözlemleriyle belirlenen koloni yoğunluğunun bombus arılarının yayılma yetenekleri ilişkili olmadığı, yuva sayısındaki artıştan kaynaklandığı bulunmuştur. Buna ek olarak populasyonun F_{ST} ve F_{IS} değerleri hesaplanarak populasyon yapısı ve yaşam gücü hakkında yorum yapılmıştır.

Bombus türleri genelde tek eşli oldukları için akrabalı yetiştirmenin olumsuz etkilerine düşük efektif populasyon büyüklüklerinden dolayı maruz kalmaktadır. Diploit erkek arı üretimi akrabalı yetiştirmenin önemli bir göstergesidir. Darvill vd. (2006) Britanya anakarası üzerinde populasyonları parçalanmış ve azalmış bir bombus türü olan *B. muscorum* örneklerinde 9 mikrosatelit lokusdaki varyasyonu incelemişler ve aralarında 10 km ve daha uzak mesafeler bulunan tüm populasyonlar arasında önemli farklılıklar saptamışlardır. İncelenen 16 populasyondan 10' u darboğaza girmiş, 3 populasyonda da düşük miktarda (frekansta) diploit erkek arı görülmüştür. Nadir görülen türlerden *B. sylvarum* ve *B. distinguendus* da da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Ellis vd., 2006; Charman vd., 2010). Gerçekten, genetik olarak izole edilmiş bütün populasyonlar arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Buna karşın, her üç nadir türde de genetik çeşitlilik yaygın türlerle karşılaştırıldığında azalmıştır ve bu azalma ada populasyonlarında daha da şiddetli olmuştur.

Bombus türlerinin çoğunda ana arı tek bir erkek arı ile çiftleşmesine karşın az sayıda bombus türü birden fazla erkek arıyla çiftleşmektedir. Ana arının tek eşli veya çok eşliliğini belirlemede de mtDNA ve mikrosatelit lokuslar kullanılmaktadır. Payne vd. (2003) Kuzey Amerika ve Avrupa' da bulunan

CamScanner ile tarandı

çok sayıda bombus türünde mtDNA ve mikrosatelit markerler kullanarak çoklu eşliliği incelemişlerdir. İncelenen türler içinde *Pyrobombus* altcinsine ait dört bombus türünün birden çok babalı kolonilere sahip olduğunu bulmuşlardır. Benzer şekilde Kokuva vd. (2009) *Bombus ardens, B. diversus,* ve *B. honshuensis* Japon yerli bombus populasyonlarında çoklu babalığı tahmin etmek için mikrosatelitlerin polimorfik genetik verileri kullanmışlar ve araştırılan kolonilerin hiç birinde çok eşlilikle ilgili bir kanıt bulamamışlardır.

Tek bir kraliçe tarafından yönetilen yıllık Hymenoptera topluluklarında, kraliçe arının çiftleşme sıklığı ve işçi arıların yumurtlaması koloninin akrabalık yapısını ve koloni içi çatışmayı etkileyen önemli faktörlerdir. Bu nedenle, mikrosatelitler kraliçe arının çiftleşme yapısını ve erkeklerin ebeveynliğini belirlemede de kullanılmıştır. Alaux vd. (2004) *B. terrestris* türünde, Takahashi vd. (2008a) ise *B. ignitus* türünde erkek arıların kraliçe veya işçi arıdan türeyip türemediklerini belirlemek için polimorfik lokus bölgelerini analiz etmişlerdir. Her iki çalışmanın sonucunda hem kraliçe arıdan hem de işçi arılardan türemiş erkek arılara rastlanmıştır. Dolayısıyla bu bulgular erkek arı üretimiyle ilgili kraliçe arı ve işçi arılar arasındaki çatışmanın tahmin edilmesine yardımcı olmuştur. Aynı zamanda koloni içindeki akrabalık derecesi de tespit edilebilmiştir.

Moleküler markerler ayrıca doğal ve kültüre alınmış tür ve alttürler arasındaki çiftleşmelerin saptanması (Kanbe vd., 2008; Nagamitsu vd., 2009), tartışmalı tür ve alttürlerin doğru tanımlanması (Wolf vd., 2010), koloni yoğunluğu, habitat paylaşımı, tarlacılık ve uçuş mesafesinin belirlenmesi, (Chapman vd., 2003; Kraus vd., 2009), istilacı bombus türlerinin yerli türler üzerindeki etkilerinin ve efektif populasyon büyüklüğünün tahmin edilmesi (Schmid-Hempel vd., 2007; Inoue vd., 2008; Takahashi vd., 2008b), cinsiyet oranları ve erkek üretimiyle ilgili çatışmaların tespiti (Brown vd., 2003), tarihsel ve güncel örneklerin kıyaslanarak populasyon yapılarındaki değişimlerinin incelenmesi (Lozier ve Cameron, 2009) gibi çok farklı konulardaki çalışmalarda da kullanılmaktadırlar.

Türkiye' de ise bombus populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik olarak iki araştırmaya rastlanmıştır. Bunlardan ilki Gürel ve Basım (2003) tarafından yürütülen bir TÜBİTAK projesidir. Projede AFLP yönteminden yararlanılarak Batı Akdeniz ve Ege bölgesindeki yerel bombus türlerinin tanımlanması ve ithal edilen ticari bombus arıları ile yerel arılar arasındaki olası melezlemelerin saptanması hedeflenmiştir. Projede, 25 farklı AFLP primeri ve poliakrilamid jel (PAGE) elektroforez sisteminden yararlanılarak genotiplerin belirlenmesine ve populasyonların heterozigotluk seviyelerinin tespit edilmesine çalışılmıştır. Türkiye bombus populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik olarak yürütülen ikinci araştırma ODTÜ Biyoloji Bölümünde tamamlanan bir yüksek lisans çalışmasıdır. Beton (2004) tarafından yapılan çalışmada Türkiye ve Kuzey Kıbrıs' dan örneklenen bazı *B. terrestris* populasyonları içindeki heterozigotluk ile populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesine çalışılmıştır. Araştırmada, Adana, Antakya, Ankara, Bartın, Samsun ve Kıbrıs' ı temsil eden toplam 86 işçi, 10 ana ve 119 erkek arı materyal olarak kullanılmıştır. DNA seviyesinde yürütülen çalışmalarda ise esas olarak Ankara ve Kıbrıs populasyonları üzerinde durulmuştur. Çalışmada morfometrik ölçümlere ilave olarak 4 adet (B11, B100, B124 ve B126) mikrosatelit lokustaki polimorfizmden yararlanılarak Ankara ve Kıbrıs populasyonların tanımlanmasına ve karşılaştırılmasına çalışılmıştır. Araştırmada genotiplerin belirlenmesinde poliakrilamid jel (PAGE) elektroforez sisteminden yararlanılmıştır. Çalışmada lokus başına tespit edilen alel sayının 7 ila 12 arasında değiştiği ifade edilmiştir. Lokus başına tespit edilen ortalama alel sayısının Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla 7.25 ve 5.25 olduğu ifade edilmiştir. Üzerinde durulan toplam 4 lokus bakımından ortalama heterozigotluğun Ankara ve Kıbrıs populasyonlarında sırasıyla yaklaşık olarak 0.84 ± 0.01 ve 0.68 ± 0.03 olduğu bildirilmiştir. Ankara ve Kıbrıs populasyonları arasındaki genetik farklılığın ($F_{ST} = 0.09351$, $p<0.001$) istatistiki olarak önemli olduğu ortaya konmuştur. Tamamlanan tez çalışmasında, yerel *B. .terrestris* populasyonlarının tozlaşmada kullanılmak üzere ithal edilen yabancı orijinli türlere karşı korunması gerektiği sonucuna varılmıştır.

CamScanner ile tarandı

SONUÇ

Türkiye üç kıtayı birleştiren coğrafik konumu ve bölgeden bölgeye farklılıklar gösteren jeolojik ve iklimsel özellikleri nedeniyle biyolojik zenginlik bakımından yeryüzündeki en önemli merkezlerden birisidir. Bombus arıları, Türkiye biyolojik zenginliğinin önemli bir parçasıdır. Türkiye' de farklı iklim koşullarına ve vejetasyon tiplerine uyum sağlamış çok sayıda bombus tür, alttür ve ekotip bulunmaktadır. Az sayıda yapılan çalışma ile yaklaşık 50 adet bombus türü tanımlanmıştır. Ancak Türkiye' deki bombus türlerinin mevcut durumu, ülke genelindeki dağılımı ve populasyon yoğunlukları bilinmemektedir. Doğal yapının giderek bozulması arı populasyonları üzerinde büyük bir baskı yaratmaktadır. Özellikle küçük, izole populasyonlar yok olma tehdidi ile karşı karşıyadır. Dış faktörlerin yanı sıra populasyonların genetik yapıları da bu süreci hızlandırmaktadır.

B. terrestris Türkiye doğasında bulunan en yaygın bombus türüdür. Hemen hemen her bölgede çok farklı habitatlarda bulunmaktadır. Ancak farklı damızlık stoklardan üretilen ve tozlaşma amacıyla seracılık sektöründe kullanılan *B. terrestris* kolonilerinde çok sayıda ana arı ve erkek arı üretilmektedir. Bu ana ve erkek arılar sera dışına çıkabilmekte, doğal populasyonlara ait ana ve erkek arılarla çiftleşebilmekte ve koloni oluşturabilmektedir. Her yıl Akdeniz Bölgesinde yaklaşık 100.000 adet ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle özellikle Akdeniz Bölgesindeki doğal populasyonların genetik yapılarında açılma olma olasılığı oldukça yüksektir. Ayrıca ticari kolonilerde üretilen cinsiyetlerin doğadaki diğer tozlaştırıcılar üzerine etkileri de bilinmemektedir. Sonuç olarak son yıllarda geliştirilen DNA markerleri Türkiye' de de hızlı ve güvenilir tür tanımlama, azalan arı populasyonlarını belirleme ve yerel genotiplerin saflığını test etmede çok önemli kolaylıklar sunmaktadır. Bu nedenle DNA markerleri kullanarak Türkiye arı populasyonlarının genetik yapılarının saptanması ve korunmasına yönelik çalışmalar desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

Alaux, C., Savarit, F., Jaisson, P., Hefetz, A., 2004. ''Does the queen win it all? Queen-worker conflict over male production in the bumblebee, *Bombus terrestris*''. Naturwissenchaften 91, pp. 400-403.

Arias, M.C., Brito, R.M., Francisco, F.O., Moretto, G., Olivera, F.F., Silvestre, D., Sheppard, W.S., 2006. ''Molecular markers as tool for population and evolutionary studies of stingless bees''. Apidologie 37, pp. 259-274.

Avise, J.C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution, Chapman and Hall, New York.

Beton, D., 2004. ''Morphometric and genetic differentiation between Anatolia and Cyprus *Bombus terrestris* (L. 1758) populations''. Msc thesis, Middle East Technical University, Turkey, pp. 86.

Brown, M.J.F., Schmid-Hempel, R., Schmid-Hempel, P., 2003. ''Queen-controlled sex ratios and worker reproduction in the bumble bee *Bombus hypnorum*, as revealed by microsatellites''. Molecular Ecology 12, pp. 1599-1605.

Chapman, R.E., Wang, J., Bourke, F.G., 2003. ''Genetic analysis of spatial foraging patterns and resource sharing in bumble bee pollinators''. Molecular Ecology 12, pp. 2801-2808.

Charman, T.G., Sears, J., Green, R.E., Bourke, A.F.G., 2010. ''Conservation genetics, foraging distance and nest density of the scarce Grest Yellow Bumblebee (*Bombus distinguendus*)''. Molecular Ecology 19, pp. 2661-2674.

Darvill, B., Ellis, J.S., Lye, G.C., Goulson, D., 2006. ''Population structure and breeding in a rare and declining bumblebee, *Bombus muscorum* (Hymenoptera: Apidae)''. Molecular Ecology 15, pp. 601-611.

Darvill, B., O'Connor, S., Lye, G.C., Waters, J., Lepais, O., Goulson, D., 2010. ''Cryptic differences in dispersal lead to differential sensitivity to habibat fragmentation in two bumblebee species''. Molecular Ecology 19, pp. 53-63.

Devrim, A.K., Kaya, N., 2004. ''Genetik polimorfizm ve mikrosatelitler''. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi 10(2), pp. 215-220, Kars.

CamScanner ile tarandı

Dowling, T.E., Moritz, C., Palmer, J.D., Rieseberg, L.H., 1996. Nucleic acids lll: analysis of fragments and restriction sites. Molecular Systematics, Sinaour Assosiciates, Massachusetts, pp. 249-320.

Ellis, J.S., Knight, M.E., Darvill, B., Goulson, D., 2006. ''Extremely low effective population sizes, genetic structuring and reduced genetic diversity in a threatened bumblee species, *Bombus sylvarum* (Hymoneptera:Apidae)''. Molecular Ecology 15, pp. 4375-86.

Estoup, A., Scholl, A., Poureu, A., Solignac, M., 1995. ''Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites''. Molecular Ecology 4, pp. 89-93.

Estoup, A., Solignac, M., Cournet, J.M., Goudet, J., Scholl, A., 1996. ''Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe''. Molecular Ecology 5, pp. 19-31.

Funk, C.R., Schmid-Hempel, R., Schmid-Hempel, P., 2006. Microsatellite loci for Bombus spp. Molecular Ecology Notes 10.1111, pp. 1471-8286.

Gegear, R.J., Otterstatter, M.C., Thomson, J.D., 2005. ''Does parasitic infection impair the ability of bumblebees to learn flower-handling techniques?''. Animal Behaviour 70, pp. 209-215.

Gerloff, C.U., Ottmer, B.K., Schmid-Hempel, P., 2003. ''Effects on inbreeding on immune response and bodt size in a social insect, *Bombus terrestris*''. Functional Ecology 17, pp. 582-589.

Gürel, F., Basım, H., 2003. ''Batı Akdeniz ve Ege Sahil Bölgesindeki Yerel *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) Genotiplerinin AFLP Tekniği ile Belirlenmesi ve Yabancı Genotip İntrodüksiyonunun Saptanması''. TÜBİTAK, Proje No: TOGTAG-TARM 2575-2.

Gürel, F., Gösterit, A., 2007. ''*Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) arısının yıl boyu kitlesel üretiminde uygulanan teknikler ve karşılaşılan sorunlar''. 5. Ulusal Bilim Kongresi, 5–8 Eylül 2007, s. 1–10 Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Van.

Hancock, J.M., 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanism, in Goldstein D.B., Schlötterer C., Microsatellites: Evolution and applications. Oxford University Pres, New York, pp. 1-9.

Herrmann, F., Westphal, C., Robin, F.A. Moritz-Steffan-Dewenter, I., 2007. ''Genetic diversity and mass resources promote colony size and forager densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes''. Molecular ecology 16, pp. 1167-1178.

Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K., 1996. Molecular Systematics, 2nd ed., Sinauer Associates, Massachusetts.

Inoue, M.N., Yokoyama, J., Washitani, I., 2008. ''Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymoneptera : Apidae)''. Journal Insect Conserv 12, pp. 135-146.

Kanbe, Y., Okada, I., Yoneda, M., Goka, K., Tsuchida, K., 2008. ''Interspecific mating of the introduced bumblebee *Bombus terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrita sapporoensis* results in inviable hybrids''. Naturwissenschaften 95, pp. 1003-1008.

Kim, M.J., Yoon, H.J., Im, H.H., Jeong, H.U., Kim, I.M., Kim, S.R., Kim, I., 2009. ''Mitochondrial DNA sequence variation of the bumblebee, *Bombus ardens* (Hymoneptera: Apidae)''. Journal of Asia-Pasific Entomology 12, pp. 133-139.

Kokuva, N., Toqunaga, Y., Goka, K., 2009. ''Effective paternity in natural colonies of Japanese native bumble bees''. Ecol Res 24, pp. 1111-1115.

Kondo, I.K., Yamanaka, D., Kanbe, Y., Kunitake, K.K., Yoneda, M., Tsuchida, K., Goka, K., 2009. ''Reproductive disturbance of Japanese bumblebees by the introduced European bumblebee *Bombus terrestris*''. Naturwiessenchaften 96, pp. 467-475.

Kraus, F.B., Wolf, S., Moritz, R.F., 2009. ''Male flight distance and population substructure in the bumblebee *Bombus terrestris*''.Journal of Animal Ecology 78, pp. 247-252.

Lozier, J.D., Cameron, S.A., 2009. ''Comparative genetic analyses of historical and contemporary collections highlight contrasting demographic histories for the bumble bees *Bombus pensylvanicus* and *B. impatiens* in Illinois''. Molecular Ecology 18, pp. 1875-1886.

Michener, C.D., 2000. The bees of the world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.

CamScanner ile tarandı

Nagamitsu, T., Yamagishi, H., 2009. ''Nest density, genetic structure, and triploid workers in exotic *Bombus terrestris* populations colonized Japan''. Apidologie 40, pp. 429-440.

Payne, C.M., Laverty, T.M., Lachance, M.A., 2003. The frequency of multiple paternity in bumble bee colonies based on microsatellite DNA at the B10 locus''. İnsect. Soc. 50, pp. 375-378.

Pirounakis, K., Koulianos, S., Schmid-Hempel, P., 1998. ''Genetic variation among European populations of *Bombus pascuorum* (Hymenoptera: Apidae) from mitochondrial DNA sequence data''. Eur. J. Entomol. 95, pp. 27-33.

Rasmont, P., Coppee, A., Michez, D. Meulemeester, D.T., 2008. ''An overwiew of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae)''. Ann. Soc. Entomol. 44 (1), pp. 243-250.

Schmid-Hempel, P., Estoup, A., Scholl, A., 1998. ''Population genetic structure and colonization history of *Bombus terrestris* from the Canary Islands and Madeira''. Heredity 81, pp. 563-572.

Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R., Brunner, P.C., Seman, O.D., Allen, G.R., 2007. ''Invasion success of the bumblebee, *Bombus terrestris*, despite a drastic genetic bottleneck''. Heredity 99, pp. 414-422.

Shao, Z.Y., Mao, H.X., Fu, W.J., Ono, M., Wang, D.S., Bonizzoni, M., Zhang, Y. P., 2004. ''Genetic structure of Asian populations of *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Apidae)''. Journal Heredity 95, pp. 46-52.

Stolle, E., Rohde, M., Vautrin, D., Solignac, M., Schmid-Hempel, R., Widmer, A., Schmid-Hempel, P., Moritz, F.A., 2009. ''Novel microsatellite DNA loci for *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758)''. Molecular Ecology Resources 9, pp. 1345-1352.

Takahashi, J.,Itoh, M., Shimizu, I., Ono, M., 2008a. ''Male parentage and queen mating frequency in the bumblebee *Bombus ignitus* (Hymenoptera: Bombinae)''. Ecol. Res. 23, pp. 937-942.

Takahashi, J., Ayabe, T., Mitsuhata, M., Shimizu, I., Ono, M., 2008b. ''Diploid male production in a rare and locally distributed bumblebee, *Bombus florilegus* (Hymoneptera: Apidae)''. Insect. Soc. 55, pp. 43-50.

Velthuis, H.H.W., Doorn, A., 2006. ''A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination''. Apidologie 37, pp. 421-451.

Widmer, A., Schmid-Hempel, P., 1999. ''The population genetic structure of a large temperate pollinator species, *Bombus pascuorum* (Scopoli) (Hymoneptera: Apidae)''. Molecular Ecology 8, pp. 387-398.

Williams, P.H., 1998. An annotated checklist of bumblebees with an analysis of patterns of description. Bulletin of the Natural History Museum: Entomology Series 67, pp. 79–152.

Wolf, S., Rohde, M., Moritz, F.A., 2010. ''The reliability of morphological traits in the differentiation of Bombus terrestris and *B. lucorum* (Hymoneptera: Apidae)''. Apidologie 41, pp. 45-53.

Wolstenholme, D.R., 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution, Mitochondrial Genomes. Academic Pres, pp. 173-216 San Diego.

CamScanner ile tarandı