Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg. 2016, **56 (2)** 48-55 **Araştırma Makalesi** / Research Article

# Bazı Türkiye Yerli ve Ticari *Bombus terrestris* Populasyonlarındaki Genetik Çeşitliliğin Mikrosatelit Markerler Kullanılarak Belirlenmesi

**Hasan Meydan[1], Bahar Argun Karslı[2], Fehmi Gürel[2], Murat Soner Balcıoğlu[2], Mehmet Ali Yıldız[3]**

*[1] Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya, Türkiye*
*[2] Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Antalya, Türkiye*
*[3] Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Ankara, Türkiye*

**Geliş Tarihi /** Received: 15.10.2016**, Kabul Tarihi /** Accepted: 09.12.2016

**Özet:** *Bombus terrestris* L. Türkiye doğal faunasında en yaygın bulunan bombus türüdür ve temel vejetasyonda tozlaşma yapmaktadır. *B. terrestris* arısı kitlesel olarak üretilmekte ve Türkiye dahil çok sayıda ülkede ticari olarak tozlaşmada kullanılmaktadır. Araştırmada, 2 adet Türkiye doğal ve 2 adet de ticari firma populasyonlarının beş mikrosatelit lokusu (BT20, B100, B116, B119 ve B126) bakımından tanımlanması amaçlanmıştır.

Çalışılan populasyonlarda ortalama gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterezigotluk (Ho), beklenen heterezigotluk (He) ve Fis değeri sırasıyla Na=7.8±4.9, Ne=4.6±3.1, Ho=0.480±0.228, He=0.637±0.293, Fıs=0.204±0.145 olarak tahmin edilmiştir. Populasyonların Hardy-Weinberg genetik dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Populasyonlar içinde populasyonlar arasındakinden çok daha fazla genetik varyasyon saptanmıştır. Araştırma sonucunda çalışılan beş mikrosatelit lokusu bakımından doğal ve ticari bombus populasyonlarının benzer genetik yapılarda olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler**: *Bombus terrestris*, mikrosatelit, genetik çeşitlilik

## Determination of Genetic Variation in Some Native and Commercial *B. terrestris* Populations in Turkey by Microsatellite Markers

**Abstract:** *Bombus terrestris* L. is the most common bumble bee species found in Turkey's natural fauna with all the major native vegetation types in Turkey. On the other hand *B. terrestris* is reared extensively today on a mass scale and is widely spread commercially in many countries including Turkey where it is used as a pollination agent. Worker bee samples were collected from 2 native *B. terrestris* populations and 2 commercial companies. The genetic structure of the native and commercial *B. terrestris* populations in Turkey were investigated by using 5 microsatellite markers (BT20, B100, B116, B119 and B126).

The mean number of alleles (Na), effective number of alleles (Ne), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), and Fıs values overall population were estimated as Na=7.8±4.9, Ne=4.6±3.1, Ho=0.480±0.228, He=0.637±0.293, Fıs=0.204±0.145 respectively. There was not significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in the population. Most of the genetic variation was found within populations rather than among populations. Our results showed that all the *B. terrestris* native and commercial populations have similar genetic structure.

**Key words**: *Bombus terrestris*, microsatellites, genetic diversity

## Giriş

Zarkanatlılar (Hymenoptera) takımının Apoidae üst familyasında yer alan arılar, doğal florada ve bitkisel üretimde en etkili tozlaştırıcı türdür (Özbek, 2010). Bal arılarına oranla daha iri yapıda olan bombus arıları, hareketli tarlacılık davranışları ile hem doğal hem de kültüre alınmış birçok bitki türü için en iyi tozlaştırıcılardır (Kearns ve Thomson, 2001). Bombus arıları iri vücutları, yüksek tarlacılık kapasiteleri, düşük sıcaklık ve ışık yoğunluğunda çalışabilmeleri, daha sakin olmaları ve sera dışına daha az çıkma eğilimi göstermeleri gibi özellikleri nedeniyle örtü altı yetiştiricilikte bal arılarına göre daha başarılı olmuşlardır ve tozlaşma amacıyla örtü altı yetiştiricilikte kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır (Goodwin ve Steiner, 1997; Williams, 1998; Benton, 2000; Gösterit ve Gürel, 2005; Gürel ve Gösterit, 2009). Farklı iklim ve habitat koşullarına iyi uyum sağlayan bombus arıları, Kuzey Kutbu'ndan Güney Amerika' ya kadar geniş bir coğrafya'da yaşayabilmektedir. Dünyada 239 bombus türü tanımlanmıştır (Williams, 1998; Benton, 2000; Cameron, 2007). Türkiye'de ise 50'ye yakın tür belirlenmiştir.

**Yazışma adresi / Correspondence:** *Yrd.Doç.Dr. Hasan Meydan, Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya. E-posta: meydan@akdeniz.edu.tr*

Dünyadaki tür dağılımına bakıldığında Türkiye'nin bombus arıları açısından çok önemli bir gen merkezi olduğu anlaşılmaktadır (Özbek, 1979, 1983, 1990, 1997; Aytekin, 2001).

Tozlaşmada kullanmak amacıyla, yaygın dağılım gösterdiği, kolay elde edilebildiği, daha büyük koloni oluşturduğu ve yıl boyu yetiştiriciliğe daha uygun olduğu için ticari yetiştiricilikte en çok tercih edilen tür *Bombus terrestris*' tir (Hingston ve ark., 2002). Dünyada yılda yaklaşık bir milyon adet ticari üretilmiş *B. terrestris* kolonisi tozlaşma amacıyla kullanılmaktadır (Velthuis ve Doorn, 2006). Üretilen *B. terrestris* kolonilerinin % 95'i dünyada ve Türkiye'de örtü altı domates yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Gürel ve Gösterit, 2009). Tozlaşma amacıyla serada kullanılan her bir bombus kolonisinde genellikle koloni yaşamının sonlarına doğru sayıları birçok faktöre bağlı olarak değişmekle birlikte yüze yakın ana arı ve bunun birkaç katı erkek arı üretilebilmektedir. Üretilen ana ve erkek arılar sera dışına çıkabilmekte ve doğal ortamda koloni oluşturabilmektedir (Gürel ve Gösterit, 2009). Ticari olarak kullanılmaya başlandıktan kısa bir süre sonra bu türün bu şekilde yayılmasının; yuva yeri ve besin kaynakları bakımından yerel arı populasyonları ile rekabet, yerel bombus alttür ve ekotipleri ile melezlenme, parazit ve patojenlerin yayılması gibi doğal ekosisteme zarar verebilecek bazı sorunlara yol açabileceği bildirilmiştir (Dafni ve ark., 2010; Goulson ve ark., 2010). Türkiye'de ticari olarak kullanılan *B. terrestris* kolonileri yabancı firmalardan sağlanan ana arılardan üretilmektedir ve bu ana arıların genetik kökeni bilinmemektedir. Bu nedenle zaman içinde Türkiye yerli *B.terrestris* genotiplerinin ticari kolonilerde üretilen ana arı ve erkek arılarla çiftleşmesi ve melezlenmesinin kaçınılmaz olacağı tahmin edilmektedir. Bu nedenle, Türkiye yerli bombus populasyonlarının doğal genetik yapısının farklılaşmaya açık olduğu ifade edilebilir. Özellikle Akdeniz sahil kesiminde çok sınırlı bir alanda yılda on binlerce ticari kolooninin kullanıldığı ve *B. terrestris*' in uyum ve rekabet yeteneği ve ekolojik esnekliği düşünüldüğünde Akdeniz Bölgesi'ndeki yerel *B. terrestris* populasyonlarında melezlenme riskinin oldukça yüksek olduğu çok açıktır. Bu nedenle yerli *B. terrestris* populasyonlarının genetik yapısının ve populasyonlar arasındaki gen akışının belirlenmesi elzemdir (Gösterit ve Gürel, 2005; Gürel ve ark., 2008).

Morfolojik özellikler kullanarak yürütülen bu taksonomik çalışmalar ile Türkiye'de 50'a yakın tür tanımlamış, bazı türlerin yayılma alanları, biyolojileri ve bitki tercihleri belirlenmiştir (Özbek 1979; 1983; 1990; 1997). Türkiye bombus populasyonlarının DNA seviyesinde tanımlanmasına yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmaların ilkinde AFLP yönteminden yararlanılarak Batı Akdeniz ve Ege bölgesindeki yerel bombus türlerinin tanımlanması amaçlanmış ve çalışılan primerler bakımından populasyonlar içinde ve arasında yeterli seviyede polimorfizm tespit edilememiştir (Gürel ve Basım, 2003). Bir diğer çalışmada ise Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'dan örneklenen bazı *B. terrestris* populasyonları içindeki heterozigotluk ile populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların 4 adet mikrosatelit lokusu kullanılarak poliakrilamid jel (PAGE) elektroforezi ile tespit edilmesine çalışılmıştır (Beton 2004).

Bu çalışmada, Türkiye'de ticari olarak *B. terrestris* kolonisi üretimi yapan iki firmadan alınan *B. terrestris* populasyonları ile ticari *B. terrestris* kolonilerinin yoğun olarak kullanıldığı Antalya ve Aydın'daki yerli *B. terrestris* populasyonlarından alınan işçi arı örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Bu tip çalışmalarda yaygın olarak kullanılan 5 mikrosatelit lokusu bakımından DNA fragment analizi yapılarak genotipler belirlenmiş ve mikrosatelit DNA polimorfizmlerinden yararlanılarak Türkiye faunasında doğal olarak bulunan *B. terrestris* populasyonları DNA düzeyinde tanımlanmıştır. Ayrıca Türkiye doğal faunasında bulunan *B. terrestris* populasyonları ile ticari genotipler arasındaki genetik benzerlik/farklılıklar ortaya konmuş ve çalışılan populasyonlar arasında her hangi bir gen akışının olup olmadığı tartışılmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada, Antalya ve Aydın bölgelerinde bulunan 2 adet Türkiye yerli *B. terrestris* populasyonu ile Türkiye'de *B. terrestris* kolonisi satışı yapan 2 adet ticari firmaya (Koppert ve Biobest) ait populasyon olmak üzere toplam 4 adet populasyonu temsil eden (her populasyondan 25 işçi arı toplam 4x25= 100 işçi arı) işçi arı örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Arazide işçi arı örnekleri toplanırken geniş bir alan taranmış böylece mümkün olduğunca farklı yuvalardan işçi arı örnekleri toplanmıştır. Toplanan

işçi arı örnekleri % 95'lik etanol içeren ependorf tüplerine konulmuş ve DNA izolasyonu yapılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Toplam genomik DNA, bombus arılarının göğüs kısımlarından standart fenol- kloroform yöntemi (Murray ve ark. 2008) kullanılarak izole edilmiştir. Genomik DNA izolasyonunun miktar ve saflık kontrollerinin yapılmasında NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)'den yararlanılmış ve izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının (kırılıp kırılmadığı) kontrolleri % 2'lik agaroz jellerinde yapılmıştır.

Üzerinde durulan mikrosatelit lokuslarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılabilmesi için Tablo 1'de verilen primer setleri kullanılmıştır. PCR için gerekli karışım; 10 x PCR buffer, 2mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTP, 10 pmol ileri (forward) ve ters (reverse) primer, 1 U *Taq* DNA polimeraz enzimi ve 100 ng genomik DNA koyularak örnek başına toplam 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımın termal cycler cihazında önce 94°C'de 3 dakika tutulduktan sonra her bir döngüsü; 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye olacak şekilde 35 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonra örnekler, 72°C'de 10 dakika tutularak PCR işlemi tamamlanmıştır (Solignac ve ark., 2003). Bombus örneklerinin genotipleri Otomatik DNA Dizi Analizi Sistemi (*ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer*) ile fragment analizi yapılarak belirlenmiştir.

**Tablo 1.** Çalışılan mikrosatelit lokuslar

| Lokus | Tekrar dizilimi | Tm (°C) | Allel genişliği | Primerler (5' → 3') | Kaynak |
|---|---|---|---|---|---|
| BT20 | $(CT)_{21}$ | 52 | 127-145 | F: TTCCACAGCGTTTTCTTAAGTC<br>R: ATGGACGGCGAGATCGTGAG | Funk et al. 2006 |
| B100 | $(CT)_{12}GTC(CT)_3$ | 58 | 146-178 | F: CGTCCTCGTATCGGGCTAAC<br>R: CGTGGAAACGTCGTGACG | Estoup et al. 1996 |
| B116 | $(AT)_6(GT)_4AT(GT)_5$ | 58 | 172-176 | F: CCACAGTGCAAAGTTTCTG<br>R: GAATCAGGAGGCGCACG | Estoup et al. 1996 |
| B119 | $(CT)_7CG(CT)_4$ | 52 | 130-136 | F: GATCGTGCTAGAAAAGGAAG<br>R: CCACAGTGCAAAGTTTCTG | Estoup et al. 1996 |
| B126 | $(CT)_{12}GT(CT)_{10}$ | 57 | 176-182 | F: GCTTGCTGGTGAATTGTGC<br>R: CGATTCTCTCGTGTACTCC | Estoup et al. 1995 |

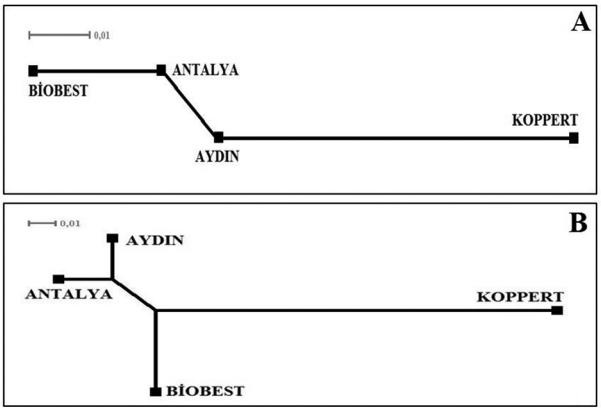
Populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ölçülmesinde Nei'nin genetik mesafe (D) değerinden yararlanılmıştır (Nei, 1978). Mikrosatelit çalışmalarında standart kabul edilen allel genişlikleri (AG), allel sayısı (Na) ve etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) istatistikleri hesaplanmıştır. Bu amaca yönelik olarak istatistik değerlerin hesaplanmasında ve uygun veri analizlerin yapılmasında POPGENE (Yeh ve ark., 1997), Arlequin v. 2.00 (Excoffier, ve ark. 2005), Cervus v. 3.0.3 (Marshall ve ark., 1988), Structure 2.2 (Pritchard ve ark., 2000) ve SplitsTree 4.0 (Huson ve Bryant, 2006) yazılımlarından yararlanılmıştır.

## Bulgular

Türkiye bombus populasyonlarında çalışılan 5 mikrosatelit lokusun tamamının polimorfik yapıda olduğu görülmektedir. Bu temelde, çalışılan populasyonlardaki mevcut genetik farklılığın/benzerliğin ortaya çıkarılmasında lokus seçiminin isabetli yapılmış olduğu ifade edilebilir. Her bir lokusta tespit edilen allel genişlikleri (AG), gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluklar ile PIC ve Wright (1978)'ın homozigotlaşma katsayısı (Fis) değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Çalışılan mikrosatelit lokuslar için F-istatistikleri ($F_{IT}$, $F_{IS}$ ve $F_{ST}$) ile $F_{ST}$ değerine bağlı olarak hesaplanan gen akışı değerleri (Nm) Tablo 3'te verilmiştir. Türkiye bombus populasyonları arasında standart genetik mesafe (D) ve genetik benzerlik istatistikleri Nei (1972)'ye göre hesaplanmış ve Tablo 4'te verilmiştir. Çalışılan bombus populasyonlarında ikişerli Fst değerleri ve genetik mesafeler kullanılarak elde edilen Komşu Birleştirme (NJ, Neighbour Joining) dendogramları Şekil 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Bombus populasyonlarında çalışılan 5 mikrosatelit lokusunda örnek sayısı (N), allel genişliği (AG), gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluklar ile PIC ve Fis değerleri

| Lokus | N | AG | Na | Ne | Ho | He | PIC | Fis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BT20 | 94 | 118-146 | 12 | 9.2 | 0.823 | 0.896 | 0.898 | 0,069 |
| B100 | 93 | 149-172 | 12 | 4.6 | 0.398 | 0.785 | 0.835 | 0,490 |
| B116 | 94 | 170-172 | 2 | 1.2 | 0.202 | 0.183 | 0.257 | 0,112 |
| B119 | 95 | 127-131 | 3 | 2.0 | 0.505 | 0.505 | 0.416 | 0,006 |
| B126 | 95 | 170-188 | 10 | 5.4 | 0.463 | 0.819 | 0.849 | 0,431 |
| Ortalama ± St. Sap. | | | 7.8 ± 4.9 | 4.6 ± 3.1 | 0.480 ± 0.228 | 0.637 ± 0.293 | 0.760 ± 0.229 | 0.204 ± 0.145 |




**Şekil 1.** Çalışılan bombus populasyonlarında ikişerli Fst değerleri kullanılarak (A) ve genetik mesafeler kullanılarak (B) elde edilen Komşu Birleştirme (NJ, Neighbour Joining) dendogramı

**Tablo 3.** Çalışılan bombus populasyonlarında F-istatistikleri ($F_{IS}$. $F_{IT}$. $F_{ST}$ ) ve Gen Akışı (Nm) değerleri.

| Lokus | Fis | Fit | Fst | Nm |
|---|---|---|---|---|
| BT20 | 0.0292 | 0.0705 | 0.0426 | 5.6 |
| B100 | 0.4429 | 0.4918 | 0.0877 | 2.6 |
| B116 | 0.1311 | 0.1125 | 0.0165 | 14.9 |
| B119 | 0.0027 | 0.0011 | 0.0015 | 16.6 |
| B126 | 0.3901 | 0.4322 | 0.0689 | 3.4 |
| Ortalama | 0.2036 | 0.2453 | 0.0524 | 4.5 |

**Tablo 4.** Çalışılan bombus populasyonları arasındaki Nei (1972)'nin standart genetik benzerlik (köşegenin üstü) ve genetik mesafe (köşegenin altı) değerleri

| | Koppert | Bizbio | Antalya | Aydın |
|---|---|---|---|---|
| Koppert | **** | 0.7980 | 0.8799 | 0.8777 |
| Biobest | 0.2256 | **** | 0.9137 | 0.9189 |
| Antalya | 0.1279 | 0.0903 | **** | 0.9605 |
| Aydın | 0.1304 | 0.0845 | 0.0403 | **** |

## Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada, Türkiye bombus populasyonlarından 2 farklı doğal populasyona ilave olarak örtü altı bitkisel üretimde yaygın olarak kullanılan 2 farklı ticari populasyon olmak üzere toplam 4 populasyon 5 mikrosatelit lokus (BT20, B100, B116, B119 ve B126) bakımından tanımlanmıştır.

BT20 lokusu için tespit edilen en düşük allel 118 bç, en yüksek allel ise 146 bç olup toplam 12 farklı allel tespit edilmiştir. B100 lokusu için tespit edilen en düşük allel 149 bç, en yüksek allel ise 172 bç olup toplam 12 farklı allel tespit edilmiştir. B116 lokusu için tespit edilen allel genişliği 170-172 bç'dir ve sadece 2 farklı allel tespit edilmiştir. B119 lokusu için ise tespit edilen allel genişliği 127-131 bç olup 3 farklı allel tespit edilmiştir. B126 lokusu için tespit edilen en düşük allel 170 bç, en yüksek allel ise 188 bç olup toplam 10 farklı allel tespit edilmiştir (Tablo 2). Lokuslardaki allel sayıları dikkate alındığında Türkiye bombus populasyonlarında varolan genetik varyasyonun tespit edilmesinde öncelikli olarak çalışılması gerekli lokusların ortalamanın üzerinde allel sayısına sahip olan B116 ile B119 haricindeki diğer lokusların olduğu ifade edilebilir. Beton (2004) tarafından Ankara ve Kuzey Kıbrıs'tan toplanan bombus arısı örnekleri üzerinde yapılan araştırmada B100 lokusunda allel genişliği 150-170 bç arasında olmak üzere toplam 7 farklı allel ve B126 lokusunda allel genişliği 176-196 bç arasında olmak üzere toplam 9 farklı allel tespit edilmiştir.

Üzerinde çalışılan tüm mikrosatelit lokuslar dikkate alındığında ortalama allel sayısı 7.8 olarak hesaplanmıştır. Etkili allel sayısı (Ne) bakımından ise en yüksek değer 9.2 (BT20) ve en düşük değer ise 1.2 (B116) olmakla beraber ortalaması 4.6 ola-

rak hesaplanmıştır. Buna göre genetik varyasyonun tespit edilmesinde öncelikli olarak çalışılması gerekli lokusların ortalama değerin üzerinde Ne değerine sahip olan BT20 ve B126 lokuslarının olduğu ifade edilebilir.

Gözlenen heterozigotluklar (Ho) bakımından en düşük Ho değeri B116 (0.202) lokusunda tespit edilirken, Ho değerinin en yüksek olduğu lokus ise BT20 (0.823) lokusudur. Tüm lokuslar üzerinden ortalama Ho değeri 0.480 olarak hesaplanmıştır. Beklenen heterozigotluk (He) bakımından ise elde edilen değerler 0.183 (B116) ila 0.896 (BT20) arasında değişmektedir.

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) bakımından en düşük PIC değeri B116 (0.257) lokusunda tespit edilirken, PIC değerinin en yüksek olduğu lokus ise BT20 (0.898) lokusudur. Tüm lokuslar üzerinden ortalama PIC değeri 0.760 ± 0.229 olarak hesaplanmıştır. Bu değerden hareketle Botstein ve ark. (1980) tarafından geliştirilen kriterler çerçevesinde Türkiye bombus populasyonlarının tanımlanmasında yüksek seviye bilgi sağlayan etkin markerlerin kullanılmış olduğu ifade edilebilir. Bu veriler, genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla çalışılan lokusların doğru seçildiğini göstermektedir. Bolstein ve ark. (1980) göre, PIC değeri 0.25 ile 0.50 arasında olan B116 ile B119 lokusları orta seviyede bilgi sağlayıcı lokuslar olarak değerlendirilmektedir. PIC değeri 0.50 den büyük olan lokusların (BT20, B100 ve B126) yüksek seviyede bilgi sağlayabilecek ve Türkiye bombus populasyonlarının tanımlanmasında etkin bir şekilde kullanılabilecek lokuslar olduğu görülmektedir.

Akrabalı yetişme katsayısı (Fis) değerleri tüm lokuslarda pozitif olarak hesaplanmıştır. Lokus seviyesinde en düşük Fis değeri B132 (0.054) lokusunda tespit edilirken, Fis değerinin en yüksek olduğu lokus ise B100 (0.490) lokusudur. Tüm lokuslar üzerinden ortalama Fis değeri 0.204 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan lokuslar bakımından bombus populasyonlarının Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapma göstermedikleri (veya populasyonların Hardy-Weinberg genetik dengesinde oldukları) ve populasyonlardaki çiftleştirmelerin rastgele yapılmış olduğu ifade edilebilir.

Çalışılan bombus populasyonları tek bir populasyon olarak düşünüldüğünde bu populasyonun akrabalı yetiştirme katsayısı ya da Hardy-Weinberg genetik dengesinden sapması ($F_{IT}$) ortalama olarak 0.245 olarak belirlenmiştir. Türkiye bombus populasyonları arasındaki genetik farklık ($F_{ST}$) ise ortalama olarak 0.052 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Bu sonuçlara göre, Türkiye bombus populasyonları arasında tespit edilen % 24.53'lük toplam genetik varyasyonun % 20.36'sı her bir bombus populasyonu içindeki farklılıklardan kaynaklanırken, % 5.24'ü ise bombus populasyonları arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Türkiye bombus populasyonları arasındaki genetik farklılığın bir ölçüsü olarak kullanılan bu % 5.24'lük farklılık istatitistik olarak önemlidir. Çalışılan bombus populasyonları arasında tespit edilen bu farklılık, Hartl ve Clark (2007) tarafından geliştirilen kritere göre bombus populasyonlarının birbirlerinden orta seviyede farklılaştığının göstergesidir.

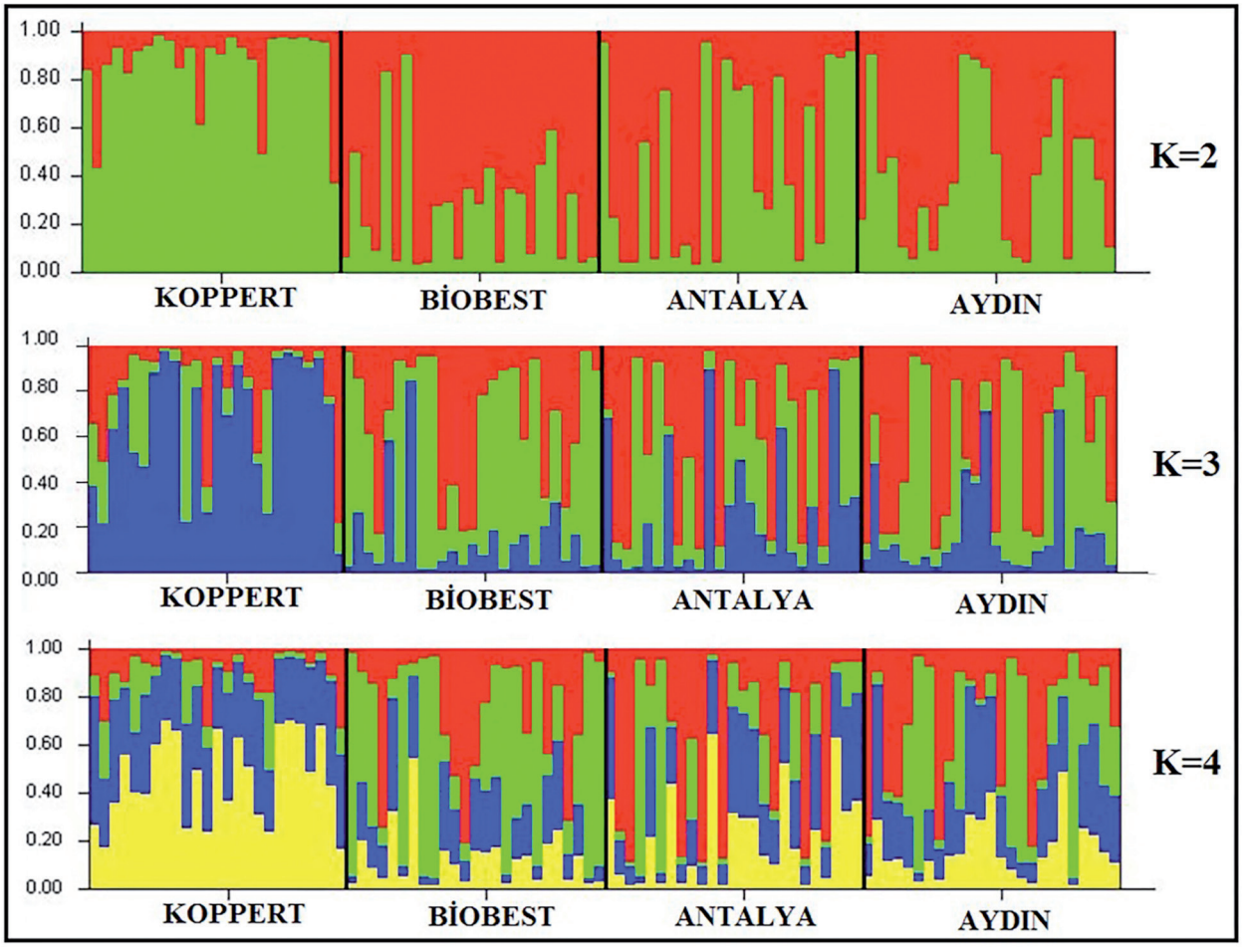
Nm değerleri Tablo 3'teki $F_{ST}$ değerlerinden yararlanılarak hesaplanmıştır. $F_{ST}$ değerleri ortalama olarak 0.0524 olarak hesaplanmıştır. Gen akışı (Nm) değerleri Nm=0.25(1-Fst)/Fst olarak hesaplanmış ve 4.5 olarak bulunmuştur. Hartl ve Clark (2007) tarafından geliştirilen kritere göre, ikişerli Nm (2Nm) değeri populasyonlar arasında göç eden bireylerin bir ölçütü olarak kullanılmaktadır. Buradan hareketle, her generasyon populasyonlar arasında göç eden bireylerin sayısı ortalama 9.0 olarak tahmin edilmiştir.

Çalışılan bombus populasyonları arasındaki standart genetik mesafeler 0.0403-0.2256 değerleri arasında değişmektedir. Koppert ile Biobest bombus populasyonları arasındaki genetik farklılığın diğerlerine oranla daha büyük olduğu anlaşılmaktadır. Bununla beraber birbirine en çok benzeyen populasyonların Antalya ve Aydın populasyonları olduğu görülmektedir (Tablo 4).

Çalışılan bombus populasyonlarında kümeleme analizleri, ikişerli Fst değerleri kullanılarak ve genetik mesafeler kullanılarak yapılmış ve elde edilen Komşu Birleştirme (NJ, Neighbour Joining) dendogramı Şekil 1'de verilmiştir. Şekil 1 incelendiğinde, kullanılan her iki kümeleme yöntemi bakımından da Türkiye yerli bombus populasyonlarının ayrı grupta sınıflandığı görülmüştür. Ancak Biobest ticari populasyonu da yerli arılara çok yakın gruplanmıştır. Sadece Koppert populasyonunun diğer

populasyonlardan çok ayrı bir şekilde sınıflandığı belirlenmiştir.

Genetik yapı analizi (Structure) yönteminde küme sayısı 2 ila 4 arasında değişen K değeri için 100.000 tekrarlı bir modeli test etmek için 1.000 iterasyon yapılarak işlem yapılmıştır (Earl ve Von-Holdt, 2012). K=2 olduğu zaman ticari bombus populasyonlarından olan Koppert diğer populasyonlardan ayrılarak farklı bir küme oluşturmuş ve diğer populasyonlar birbirinden ayrılmamıştır. Bu durum K=3 ve K=4 olduğunda da benzer şekilde gerçekleşmiştir (Şekil 2).




**Şekil 2.** Çalışılan bombus populasyonlarının Genetik Yapı (Structure) Analizi kullanılarak gruplandırılması

Bu araştırmada elde edilen bulguların karşılaştırmalı olarak tartışılmasına olanak sağlayacak, Türkiye bombus populasyonları üzerinde mikrosatelit yöntem kullanılarak yapılmış olan sadece bir çalışmaya rastlanılmıştır. 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. Çalışmada 4 adet (B11, B100, B124 ve B126) mikrosatelit lokus kullanılmış ve genotiplerin belirlenmesinde poliakrilamid jel (PAGE) elektroforez sisteminden yararlanılmıştır. PAGE yönteminde aralarında çok az farklılıklar bulunan fragmentlerin birbirinden ayrılması çok zordur ve jellerin standart olarak değerlendirilerek birbirleriyle karşılaştırılması son derece güçtür. Belirtilen bu nedenlerden dolayı her iki araştırma sonuçlarının karşılaştırmalı olarak çok daha etkin bir şekilde tartışılması mümkün olamamıştır.

Morfometrik özellikler ve enzim sistemleri kullanılarak Türkiye *B.terrestris* populasyonlarındaki farklılıkları saptamaya yönelik de az sayıda

çalışma bulunmaktadır. Bu çerçevede yapılan bir çalışmada Akdeniz ve Ege Bölgesi sahil kesiminden toplanan *B. terrestris* arıları *B.t.dalmatinus* olarak tanımlanmışken (Yeninar ve ark., 2000), başka bir çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi'nden (Adana, Hatay, Mersin) toplanan *B. terrestris* arıları *B.t. lucoformis* olarak tanımlanmıştır (Aslan ve Şekeroğlu, 1996). Trakya ve Batı Anadolu'da *B. t. dalmatinus* ve Güney Anadolu'da *B.t lucoformis* olmak üzere muhtemelen Türkiye'de iki alttür bulunduğu ancak bu iki alttürü taksonomik olarak ayırmanın ve kesin yayılma sınırlarını belirlemenin de kolay olmadığı bildirilmiştir (Özbek, 1997). Benzer şekilde, Aytekin ve ark. (2003) Bulgaristan, Yunanistan ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları ana arı ve işçi arılara ait 157 *B. terrestris* örneğini altı enzim sistemi ve 28 morfolojik karakter kullanarak *B. t. lucoformis* ve *B. t. dalmatinus* alttürlerine ayırmaya çalışmışlardır.

Bu çalışma ile hem Türkiye'de ticari olarak *B. terrestris* üretimi yapan firmalara ait populasyonlar (Koppert ve Biobest) hem de Türkiye doğal faunasında bulunan iki adet *B. terrestris* populasyonu (Antalya ve Aydın) bu tip çalışmalarda yaygın olarak kullanılan 5 mikrosatelit lokus bakımından DNA düzeyinde tanımlanmıştır. Araştırmada elde edilen sonuç, Türkiye'de doğal olarak bulunan *B. terrestris* populasyonları ile ticari üretilen *B.terrestris* populasyonları arasında genetik olarak önemli bir farklılığın saptanmamış olmasıdır. Yapılan kümeleme analizlerinde ticari populasyonlar (özellikle Biobest) bütün olarak doğal populasyonlardan ayrılmamıştır. Türkiye doğal florasında bulunan *B. terrestris* populasyonlarının *B. terrestris dalmatinus* alttürüne ait olduğu bilinmektedir. Dünyada ve Türkiye'de ticari olarak *B. terrestris* üretimi yapan firmaların da kitlesel üretimdeki üstünlükleri nedeniyle *B. terrestris dalmatinus* alttürünü tercih ettikleri bilinmektedir. Bu çalışmanın sonuçları bilimsel olarak bu görüşü desteklemektedir.

Yapılan bu çalışma ile iki adet Türkiye doğal ve iki adet de ticari firma populasyonları beş mikrosatelit lokusu bakımından tanımlanmış ve ortalama gözlenen allel sayısı (Na), etkili allle sayısı (Ne), gözlenen heterezigotluk (Ho), beklenen heterezigotluk (He) ve Fis değeri sırasıyla Na=7.8±4.9, Ne=4.6±3.1, Ho=0.480±0.228, He=0.637±0.293, Fıs=0.204±0.145 olarak tahmin edilmiştir. Çalışılan bu dört populasyonun Hardy-Weinberg genetik dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kümeleme analizleri sonucunda Türkiye yerli bombus populasyonlarının ayrı grupta sınıflandığı görülmesine rağmen, doğal ve ticari bombus populasyonlarının benzer genetik yapılarda olduğu sonucuna varılmıştır. Türkiye bombus populasyonlarının genetik yapılarının tanımlanmasına yönelik DNA düzeyinde yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla; Türkiye bombus populasyonlarının genetik yapıları hakkında daha ayrıntılı bilgilere ulaşılabilecek, populasyonlardaki genetik çeşitlilik tanımlanabilecek ve yerli bombus populasyonlarının korunmasına yönelik programlar geliştirilebilecektir. Moleküler genetik alanındaki hızlı gelişmelerle beraber, son yıllarda geliştirilen tek nükleotit polimorfizmi (SNP) gibi yeni teknikler kullanılarak bu tarz çalışmalar sürdürülmelidir.

**Teşekkür**

Bu çalışma, Prof. Dr. Fehmi GÜREL Yürütücülüğünde tamamlanan ve TÜBİTAK tarafından desteklenen TOVAG 109O342 numaralı projeden özetlenmiştir. Bu proje kapsamında örneklerin toplanmasında destek veren tüm bilim insanlarına teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

1. Aslan MM, Şekeroğlu E (1996): Doğu Akdeniz Bölgesi (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) Bombus Türleri Üzerine Faunistik Çalışmalar, *Türkiye 3. Entomoloji Kongresi*, Ankara.
2. Aytekin AM, Rasmont P, Çağatay N (2003): Bombus terrestris lucoformis Krüger ve Bombus terrestris dalmatinus Dalla Torre'de (Hymenoptera:Apidae) moleküler ve morfometrik varyasyon, *Mellifera*, 3(6), 2-8.
3. Aytekin AM (2001): Bombus Arılarının Türkiye'deki Durumu ve Geleceği, Teknik Arıcılık, 74, 16-20.
4. Benton T (2000): The bumblebees of Essex. The Nature of Essex Series, No: 4, Loginga Books, Essex, Pp 179.
5. 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.
6. Botstein D, White RL, Skolnik M, Davis RW (1980): Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms, *Am. J. Hum. Genet*., 32, 314-331.
7. Cameron SA, Hines HM, Williams PH (2007): A comprehensive phylogeny of the bumble bees (Bombus), Biological journal of the Linnean Society, 91, 161-188.
7. Dafni A, Kevan P, Gross CL, Goka K (2010): Bombus terrestris, pollinator , invasive, and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes, *Appl. Entomol. Zool*. 45(1),101-113.
8. Earl DA, VonHoldt BM (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing. STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources vol. 4 (2) pp. 359-361.

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

10. Estoup A, Solignac M, Cournet JM, Goudet J, Scholl A (1996): Genetic differentiation of continental and island populations of Bombus terrestris (Hymenoptera:Apidae) in Europe, *Molecular Ecology*, 5(1), 19-31.

11. Excoffier LGL, Schneider S (2005): Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online 1*, 47-50.

12. Funk CB, Schmid-Hempel R, Schmid-Hempel P (2006): Microsatellite loci for *Bombus* spp. *Molecular Ecology*, 6, 83-86.

13. Goodwin S, Steiner M (1997): Introduction of *Bombus terrestris* for Biological Pollination of Horticultural Crops in Australia, Gosford IPM Services. Gosford N. S. W. 2251 Australia.

14. Goulson D (2010): Impact of non-native bumblebees in Western Europe and North America, *Appl.Entomol.Zool*.45(1), 7-12.

15. 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.

16. Gösterit A, Gürel F (2005): Comparison of development patterns of imported and native Bombus terrestris L. (Hymenoptera: Apidae) colonies in Mediterranean Coastal Region. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 29, 393-398,

17. Gürel F, Gösterit A, Eren Ö (2008): Life-cycle and foraging patterns of native Bombus terrestris (L.) (Hymenoptera, Apidae) in the Mediterranean region, Insect. Soc. 55, 123-128.

18. Gürel F, Gösterit A (2009): The Suitability of Native *Bombus terrestris dalmatinus* (Hymenoptera: Apidae) Queen for Mass Rearing, *Journal of Apicultural Science*, 53 (1), 67-73.

19. Hartl DL, Clark AG (2007): Principles of Population Genetics, Fourth Edition, Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.

20. Hingston AB, Smedley JM, Driscoll DA, Corbett S (2002): Extent of Invasion of Tasmanian Native Vegatation by the Exotic Bumblebee *Bombus terrestris* (Apoidea: Apidae), *Austral. Ecology*, 27, 162-172.

21. Huson DH, Bryant D (2006): Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Molecular Biology and Evolution*, 23(2), 254-267.

22. Kearns CA, Thomson JD (2001): *The Natural History of Bumblebees*, Universtiy Pres of of Colorado, pp 130.

23. Marshall TC, Slate J, Kruuk L, Pemberton JM (1998): Statistical Confidence for Likelihood-Based Paternity Inference in Natural Populations, *Molecular Ecology*, 7, 639-655.

24. Murray TE, Fitzpatrick U, Brown MJF, Paxton RJ (2008): Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs. *Conserv. Genet*., 9:653-666.

25. Nei M (1978): Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance From a Small Number of Individuals, *Genetics*, 89, 583-590.

26. Nei M (1972): Genetic Distance Between Populations, *Am. Nat*., 106, 283-292.

27. Özbek HA (1990): New Bumblebee Species of Pyrobombus Dalla Torre (Hymenoptera, Apidae, Bombinae) in Estern Anatolia, Turkey, Türkiye Entomoloji Dergisi, 14 (4), 207-214.

28. Özbek H (2010): Arılar ve İnsektisitler, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 10 (3), 85-95.

29. Özbek H (1997): Bumblebee Fauna of Turkey with Distribution Maps (Hymenoptera: Apidae, Bombinae) Part 1: Alpigenobombus Skorikov, Bombias Robertson and *Bombus latreille*, *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 21 (1), 37-56.

30. Özbek H (1983): Doğu Anadolu'nun Bazı Yörelerindeki Bombinae (Hymoneptera: Apoidae, Bombidae) Türleri Üzerindeki Taksonomik ve Bazı Biyolojik ÇalıĢmalar, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 621, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum, Pp: 70.

31. Özbek H (1979): Erzurum Civarında Yonca (*Medicago sativa* L.) ve Korunga (*Onorbychis sativa* L.)' daki Polinatör Arılar (Apidae: Hymoneptera), Bunların Faaliyetleri ve Tohum Bağlama Etkileri, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, Pp: 150.

32. Pritchard K, Stephens M, Donnelly P (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.

33. Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, Mougel F, Baudry E, Estoup A, Garnery L, Haberl M, Cornuet JM (2003): Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera*) genome. *Molecular Ecoogy.* Note, 3(2): 307.

34. Velthuis HHW, Doorn A (2006): A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination, *Apidologie*, 37, 421-451.

35. Williams PH (1998): An annotated checklist of bumblebees with an analysis of patterns of description. *Bulletin of the Natural History Museum: Entomology Series* 67, 79-152.

36. Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX (1997): POPGENE, The User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

37. Yeninar H, Duchateau MJ, Kaftanoğlu O, Velthuis H (2000): Colony developmental patterns in different local populations of the Turkish bumblebee, *Bombus terrestris dalmatinus*. *Journal of Apicultural Research*, 39, 107-116.