T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Avrupa Kırmızı Orman Karıncası *Formica pratensis* (Hymenoptera: Formicidae)'de Genetik Akrabalığın RAPD PCR ile belirlenmesi

Onur EDİZ

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE

EDİRNE-2016

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE	
Doç. Dr. Murat TOSUNOĞLU	
Doç. Dr. Volkan AKSOY	

Tarih: 26/12/2016

Tarih: 26/12/2016

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİYÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

26/12/2016

Onur EDİZ

Yüksek Lisans Tezi
Onur EDİZ
T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu araştırmada, Trakya Bölgesi'nde tespit edilen 17 *Formica pratensis* (Hymenoptera; Formicidae) kolonisi arasındaki genetik yakınlık RAPD-PCR yöntemi ile belirlenmiş ve kolonilerin genetik yakınlıkları ve aralarındaki fizikel mesafenin tür içi saldırganlık düzeyi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Koloniler arasındaki saldırganlık düzeyleri hem arazide hem de laboratuvar ortamında ikili karşılaştırmalar şeklinde test edilmiş ve her bir koloni eşleştirmesi için ortalama bir saldırganlık skoru belirlenmiştir. Kullanılan koloniler arasındaki genetik yakınlığın belirlenmesi için kolonilerden işçi karıncalar örneklenerek laboratuvara getirilmiştir ve bu örneklerden DNA izolasyonları yapılarak farklı primerlerin kullanıldığı bir RAPD-PCR protokolü uygulanmıştır. PCR ürünleri agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiş ve her bir örnek için bant varlığı ya da yokluğu bilgilerinden yola çıkılarak dendrogramlar oluşturulmuştur. Oluşturulan dendrogramlar koloniler arasındaki genetik yakınlığın bir göstergesi olarak kullanılmış ve tespit edilen genetik yakınlık ve kolonilerin aralarındaki fiziksel mesafe ile saldırganlık düzeyleri arasındaki ilişki korelasyon analizi uygulanarak belirlenmiştir.

Sonuçlar arazide tespit edilen saldırganlık düzeyinin yüksek olduğu ortaya koymuş ve saldırganlık düzeyi ile kolonilerin fiziksel uzaklıkları arasında belirgin bir pozitif ve/veya negatif bir korelasyon olmadığı belirlenmiştir. Laboratuar saldırganlık düzeylerinin ise, arazi saldırganlık düzeylerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Genetik yakınlık analizi sonuçları ile karıncaların saldırganlık düzeyleri arasında da

anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar *F. pratensis*'in çalışmaya dahil edilen kolonilerinde tür içi saldırganlığın yüksek olduğunu ve koloniler arasındaki genetik yakınlık miktarındaki artışın bu saldırganlığı düşürmediğini göstermektedir. Diğer taraftan, laboratuvar ortamında düşen saldırganlık düzeyi *F. pratensis*'in oldukça teritoriyal bir tür olduğunu ve türdaşları ile karşılaşılan alanın, aralarındaki genetik yakınlık düzeyi ne olursa olsun, kolonilerin saldırgan davranışları üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Yıl : 2016
Sayfa Sayısı : 51
Anahtar Kelimeler : Avrupa kırmızı orman karıncası, *Formica pratensis*, tür içi saldırganlık, RAPD-PCR.

Master's Thesis
Onur EDİZ
Trakya University Institute of Natural Sciences
Biology Department

ABSTRACT

The genetic relatedness among 17 *Formica pratensis* (Hymenoptera; Formicidae) colonies was determined using RAPD-PCR technique and the effects of genetic relatedness and the physical distance between the colonies on the level of intraspecific aggression were investigated. The level of aggression among the colonies was tested both in nature and in laboratory conditions as dyadic encounters and an average aggression score was determined for each colony pair tested. Workers of the tested colonies were sampled and brought to the laboratory for genetic analysis in which a RAPD-PCR protocol was employed using different primers. The PCR products were run on agarose gels and dendrograms were drawn based on presence and absence of band profiles in the gel. The dendrograms were used as indicators of genetic relatedness of the colonies and the correlations between the level of genetic relatedness and physical distances of the colonies with their aggression levels were determined.

The results showed that workers showed a high level of aggression in nature and that no significant positive and/or negative correlation was present between the agression level and physical distances of the colonies. The level of aggression in laboratory conditions was found to be low when compared to natural field levels. The results also showed that there was no significant correlation between the genetic relatedness of the colonies and the level of their aggressive behaviours. In conclusion, the overall results showed that the studied colonies of *F. pratensis* exhbited high aggressive behaviours towards conspesifics and that the increasing genetic relatedness had no reducing effect on aggression. On the other hand, the decreased aggression in

laboratory conditions proved that *F. pratensis* is a highly territorial species and the nature of encounters with conspecifics greatly affected its aggressive behaviour irrespective of genetic relatedness among the members of different colonies.

Year : 2016
Number of Pages : 51
Keywords : European Red Wood Ant, *Formica pratensis*, intraspecific aggression, RAPD-PCR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana her konuda destek olan, değerli bilgi birikiminin yanı sıra her türlü maddi ve manevi yardımlarını benimle paylaşan ve tecrübelerinden yararlandığım çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ders, arazi, laboratuar çalışmaları ve tez yazım aşamalarımda tecrübelerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Volkan AKSOY'a katkıları ve yardımlarından dolayı en içten minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatıma anlam veren ve bugünlere gelmemi sağlayan, her konuda maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, sevgili annem Nezahat EDİZ ve sevgili babam Hamit EDİZ'e en içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım. Çok değerli eşim hayat arkadaşım Gizem EDİZ'e tez çalışmalarım süresince verdiği desteklerden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürem boyunca yardımlarını esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili arkadaşlarım Mehmet Yiğit KANDEMİR, Mesut BAŞIBÖYÜK, Ebru BİLGİÇ, Ayşegül TÜRKÖZ ve Ece ZAİMOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmaya TÜBAP 2014-43 kodlu proje ile maddi destek sağlayan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin başta yöneticileri olmak üzere tüm yetkililerine, RAPD-PCR çalışmalarını yaptığımız TUTAGEM laboratuvarı yöneticileri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT iii
TEŞEKKÜR v
SİMGELER VE KISALTMALAR viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
TABLOLAR DİZİNİ x
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 6
GENEL BİLGİLER 6
2.1. Karıncalarda Sosyallik ve Saldırganlık 6
2.2. Karıncalarda Üretilen Kimyasallar 7
2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) 7
2.3.1. PCR Oluşum Mekanizması 7
2.3.2. PCR'nin Temel Bileşenleri 7
2.4. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) PCR 8
2.4.1 RAPD PCR Kullanım Alanları 9
2.4.2. RAPD PCR ile Karıncalarda Genetik Yakınlığın Belirlendiği Bazı Çalışmalar 9
2.5. *F. pratensis*'de Mikrosatellit Tekniğininde Kullanıldığı Saldırganlık Çalışmaları 10
BÖLÜM 3 11
MATERYAL METOD 11
3.1. Materyal 11
3.1. Saldırganlık Deneyleri 13
3.1.1. Arazi Saldırganlık Deneyleri 13
3.1.2. Laboratuvar Saldırganlık Deneyleri 14
3.2. RAPD-PCR ile Yuvalar Arasındaki Akrabalık Derecesinin Belirlenmesi 15
3.2.1. DNA İzolasyonu 15
3.2.1.1. Doku Hazırlığı 15
3.2.1.2. Binding DNA 16
3.2.1.3. Washing DNA 16
3.2.1.4. Eluting DNA 16
3.2.2. İzolasyon Sonrası DNA Miktar Ölçümü 17

3.3. RAPD-PCR Aşaması 18
3.3.1. RAPD-PCR Protokolü 19
3.3.2. Agaroz Jel Hazırlanması ve PCR Ürünlerinin Jelde Yürütülmesi 20
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmüş PCR Örneklerinin Görüntüleme Sisteminde İncelenmesi 21
3.3.4. Dendrogram Çizilmesi 21
BÖLÜM 4 22
SONUÇLAR 22
4.1. RAPD-PCR Sonuçları 22
4.2. RAPD-PCR Bantlarina Göre Çizilen Dendrogramlar 26
4.3. Tür İçi Saldırganlık Düzeyi ve Koloniler Arası Fiziksel Mesafe Arasındaki İlişki 29
4.4. Laboratuvar Saldırganlık - Mesafe Korelasyonları 35
BÖLÜM 5 40
TARTIŞMA 40
KAYNAKLAR 44
ÖZGEÇMİŞ 51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ark	Arkadaşları
DNA	Deoksiribonükleik asit
Km	Kilometre
M	Metre
R	Korelasyon katsayısı
°C	Santigrat derece
Bç	Baz çifti
Cm	Santimetre
Dk	Dakika
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
EtBr	Etidyum Bromid
G	Gram
kb	Kilobaz
Mg	Miligram
M	Molarite
µL	Mikrolitre
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
RNA	Ribonükleik asit
TAE	Tris Asetat Etilen Diamin Tetraasetik Asit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışmaya dâhil edilen *F. pratensis* yuvalarının örneklendiği lokaliteler ……. **14**

Şekil 4.1. OPH03 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü…….. **23**

Şekil 4.2. OPO11 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü……. **23**

Şekil 4.3. OPB10 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü……. **24**

Şekil 4.4. OPO02 primeri için RAPD-PCR ürünleri agoroz jel görüntüsü……. **24**

Şekil 4.5. OPO03 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü..…… **25**

Şekil 4.6. OPO10 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü…..... **25**

Şekil 4.7. RAPD-PCR bantlarına göre AHC (Agglomerative Hierarchical Clustering) hiyerarşik kümeleme analizi benzerlik (similarity) dendrogramı……. **27**

Şekil 4.8. RAPD-PCR bantlarına göre AHC (Agglomerative Hierarchical Clustering) hiyerarşik kümeleme analizi farklılık (dissimilarity) dendrogramı….. **28**

Şekil 4.9. Tablo 4.3'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi……. **31**

Şekil 4.10. Tablo 4.4'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi…… **32**

Şekil 4.11. Tablo 4.5'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi…… **33**

Şekil 4.12. Tablo 4.6'da verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi……. **34**

Şekil 4.13. Tablo 4.7'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi……. **36**

Şekil 4.14. Tablo 4.8'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi…… **37**

Şekil 4.15. Tablo 4.9'da verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi…… **38**

Şekil 4.16. Tablo 4.10'da verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi……. **39**

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Arazi çalışması yapılan lokalitelerin koordinat ve *Formica pratensis* yuvalarının büyüklük verileri. ……. **12**

Tablo 3.2. Saldırganlık deneylerinin değerlendirilmesinde kullanılacak davranışsal tepkiler ve bu tepkilere karşılık gelen puanlar…… **13**

Tablo 3.3. Qubit metoduyla ölçülen DNA miktarları…… **17**

Tablo 3.4. Nanodrop (NDrop) ile DNA Miktar ve Saflık ölçüm sonuçları…….. **18**

Tablo 3.5. Kullanılan RAPD primerleri…… **19**

Tablo 3.6. Uygulanan PCR işlemindeki şartlar……. **20**

Tablo 4.1. Şekil 4.7'de verilen benzerlik dendrogramına göre yapılan *F. pratensis* gruplandırmaları…….. **29**

Tablo 4.2. Korelasyon ilişkisinin kuvvet derecesi……. **29**

Tablo 4.3. Aynı lokaliteye ait yuvaların kendi aralarındaki saldırganlık mesafe verileri…… **30**

Tablo 4.4: 1. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri.. **31**

Tablo 4.5. 2. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri.. **32**

Tablo 4.6. 3. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri .. **33**

Tablo 4.7. Aynı lokaliteye ait yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/mesafe verileri…… **35**

Tablo 4.8. 1. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuar saldırganlık mesafe verileri …… **36**

Tablo 4.9. 2. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/mesafe verileri …… **37**

Tablo 4.10. 3. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/mesafe verileri ……. **38**

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Yuvadaş tanıma (nestmate recognition) sosyal bir canlı grubu olan karıncaların biyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır [1]. Karıncalar kendi yuvalarından olan karıncaları kendi yuvalarından olmayanlardan ayırt etme konusunda oldukça başarılıdırlar. Yabancı bir yuvadan gelen karıncalara karşı genellikle saldırgan davranışlar sergilenir ve bu bireyler yuvaya sokulmazlar [2, 3]. Sergilenen saldırgan davranışın derecesi yalnızca türler arasında değil, aynı zamanda bir türün bireyleri arasında da değişiklik gösterebilir [4]. Yuva bireylerinin tanınması esas olarak kütikular hidrokarbonlar gibi kimyasal ipuçlarına bağlı olarak gerçekleşse de genetik ve çevresel etkenler gibi başka önemli faktörler de vardır ancak bu faktörlerin ne kadar etkili oldukları konusu hala tartışılmaktadır [3, 4, 5]. Kütikular hidrokarbon profilinin bileşenleri de hem genetik kontrol altındadır [6] hem de çevresel faktörlerce belirlenmektedir [7]. Genetik bir temel söz konusu olduğunda, aralarında akrabalık bulunan karınca kolonilerinde paylaşılan çok daha fazla tanıma ipucu söz konusu olacağından, çevresel faktörler ve aralarındaki fiziksel mesafe ne olursa olsun bu kolonilerin akraba olmayan kolonilerle karşılaştırıldığında birbirlerine karşı daha az saldırgan olmaları beklenir [8].

Bir karınca kolonisindeki işçi karıncalar başka kolonilere ait karıncalarla karşılaştıklarında, tanıdık oldukları kimyasal bir şablondan farklı tanıma ipuçları tespit ederlerse aralarında saldırgan etkileşimler meydana gelebilir. Bir türün farklı kolonilerine ait bireyler (ya da farklı türler) arasındaki saldırganlık besin elde edilebilirliği ya da daha önceki karşılaşmalarda gerçekleşen kavgalar gibi faktörlere bağlıdır. Dahası, saldırgan bir davranışın karınca kolonileri arasındaki sınırların belirlenmesi gibi önemli bir ekolojik etkisi olabilir ki bu da sonucunda ekosistem dinamiklerini etkileyen bir durum olarak ortaya çıkar [9, 10, 11, 12].

Elde edilebilir besin miktarı ve yuva materyali gibi çeşitli çevresel etkenlerin karınca kolonileri arasındaki saldırgan davranışlar üzerinde etkisinin genetik temelli ipuçlarına göre daha baskın olabildiği tespit edilmiştir ancak çeşitli karınca türleri için genetik olarak belirlenen bazı ayırt edici özelliklerin varlığı ileri sürülmüş ve bunların kraliçelere bağlı koloni kokusunun belirlenmesinde (oluşmasında) büyük etkileri olduğu bulunmuştur [7, 10, 13, 14, 15, 16]. Bir kolonideki işçi karıncaların genetik kökenleri kolonideki kraliçenin birden fazla erkek ile çiftleşmesi veya birden fazla kraliçe varlığı nedeniyle çeşitlilik gösterir ki bu durumda hassas bir genetik tanıma davranışı akraba kayırma nedeniyle son derece zararlı olabilir. Bir koloninin sosyal yapısı da yuvadaş tanımayı etkilemektedir. Örneğin, polidom (çoklu yuvalı) koloniler genellikle birden çok kraliçeye sahiptirler [14] ve bu durum genetik temelli koku ipuçlarında monodom (tek yuvalı) yuvalara göre daha fazla çeşitlilik olmasına neden olmaktadır. Polidom sistemlerin bir diğer özelliği de yuvalar arasında besin paylaşımı ve sık sık meydana gelen işçi karınca ve kuluçka değişimidir [17]. Bu durum da polidom sistemlerde aynı yuvadan olmayan karıncalar arasındaki saldırganlık düzeyini düşürmekte ya da saldırganlığı tamamen ortadan kaldırmaktadır [6, 18, 19].

Yuvadaş tanıma eğer gerçekten genetik bir temele dayanıyor ise, aralarında akrabalık yakınlığı bulunan yuvalar daha fazla tanıma ipucunu paylaşacakları için aralarındaki saldırganlık da daha az olacaktır. Karıncalar ile gerçekleştirilen bazı çalışmalar ise, saldırganlığın koloniler arasındaki fiziksel yakınlığa bağlı olduğunu ve koloniler arası mesafe artışının saldırganlık olasılığını arttırdığını ortaya koymuştur [20]. Saldırganlık ile fiziksel mesafe arasındaki bu ilişki, uzaktaki koloniler arasındaki akrabalığın muhtemelen daha uzak olacağı olasılığı ile açıklanabilir. Koloniler

arasındaki saldırganlığa fiziksel mesafenin etkisi ile ilgili "***sevgili düşman***" (dearenemy) ve "***kötü komşu***" (nastyneighbor) etkileri olmak üzere iki olgu ileri sürülmüştür [21]. Sevgili düşman etkisi bir türün, kendi türünden olan komşularına, yabancı bir türe gösterdiğinden daha az saldırgan davranışlar sergilediği durumlarda söz konusu olur ve bu tarz bir farklılığın söz konusu türün aynı ortamdaki rakipleri ile olası kavgaları sonucunda ödeyeceği bedeli aza indirici bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Kötü komşu etkisi ise, ortak paylaşılan bir alandaki aynı kaynakları kullanma olasılığından dolayı, bir türün yabancılardan ziyade komşusuna karşı daha saldırgan olduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır [21, 22] *Pristomyrmex pungens, Iridomirmex purpureus, Linepithema humile, Oecophyllas maragdina* gibi karıncalar [23] ve termitlerden *Nasutitermes corniger* ile gerçekleştirilen çalışmalarda [24] kötü komşu etkisinin varlığı gösterilmiştir.

Teritori (savunak) savunması söz konusu olduğunda kötü komşu etkisine ters bir durumdan söz edilebilir. Karınca kolonileri genellikle aynı yuva bölgesini uzun yıllar boyunca kullanırlar ve özellikle yığın şeklinde yuva yapan ya da bitki-ilişkili karıncalar kolonilerinin yerini nadiren değiştirirler. Bu karınca türleri genellikle territoriyaldirler ve yuva ile etrafındaki besin arama alanlarını rakiplerine karşı savunurlar [25, 26, 27]. Bu tarz bir teritoriyal savunma da saldırganlığı arttırabilir çünkü sürekli olarak kendi türünden olan komşularla karşılaşmalar yaşanır ve territoriyal alan sahibinin saldırma olasılığı daha yüksektir.

Formica pratensis türü karıncaların tür içi saldırganlık düzeylerine ilişkin olarak günümüze kadar çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiş ve birbirleriyle kısmen örtüşen kısmen de çatışan sonuçlar elde edilmiştir. Beye vd (1998), İsveç'in güney bölgesindeki bir *F. pratensis* populasyonunda tespit ettikleri ve aralarında 5 ile 260 metre arasında değişen fiziksel mesafeler bulunan 10 yuvaya ait işçi karıncalardan mikrosatellit DNA izolasyonu gerçekleştirmiş ve koloniler arasındaki genetik yakınlığı belirlemişlerdir [13]. Araştırıcılar aynı zamanda bu 10 koloni arasındaki saldırganlık düzeylerini davranışsal olarak test etmiş ve elde ettikleri sonuçları koloniler arasındaki genetik yakınlık ve fiziksel mesafe ile ilişkilendirerek analiz etmişlerdir. Elde edilen bulgular hem genetik yakınlığın hem de fiziksel mesafenin saldırgan davranış ile güçlü bir ilişkisi olduğunu ortaya koymuşsa da çoklu regresyon analizi genetik yakınlığın

saldırganlık üzerindeki etkisinin fiziksel mesafeye göre daha güçlü olduğunu göstermiştir. Pirk ve ark. (2001) da *F. pratensis*'in monodom ve polidom yuvalarını kullanarak yuva içi genetik yakınlığın bu türdeki yuvadaş tanımaya olan etkisini test etmişlerdir [28]. 37 farklı yuvanın kullanıldığı çalışmada 27 yuvadan örneklenen işçilerin DNA mikrosatellitleri kullanılarak bir genotiplendirme yapılmış ve yuvalar arasındaki mesafe ile genetik yakınlığın pozitif yönde ilişkili olduğunu tespit edilmiştir. Saldırganlık seviyeleri kullanılarak yapılan bir karşılaştırma sonucunda monodom ve polidom yuvalar arasında bir farklılık olmadığı ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar, test edilen yuvalar arasındaki saldırgan davranışın hem yuvalar arasındaki fiziksel mesafe ile hem de saldırganlık deneylerinin gerçekleştirildiği kolonilerin yuva içi genetik yakınlıkları ile pozitif ilişkili iken, verici kolonilerin (yuvalarından alınarak saldırganlık testinin gerçekleştirildiği yuvalara konan karıncalar) genetik uzaklıkları ya da yuva içi genetik yakınlıkları ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Çoklu regresyon analizi sonuçları da bu çalışmaya dâhil edilen kolonilerde gözlenen saldırgan davranışlarda fiziksel mesafenin genetik etkenlere göre çok daha güçlü bir etkisinin olduğunu ortaya koymuştur. Tüm bu sonuçlar *F. pratensis*'deki saldırganlık düzeyleri üzerindeki çevresel ve genetik etkenlerin görece önemlerinin oldukça değişken olduğuna işaret etmektedir.

F. pratensis ile son dönemde yapılan bir çalışmada ise yakın kolonilerdeki karıncaların birbirlerine karşı çok daha saldırgan oldukları tespit edilmiştir [30]. "Kötü komşu etkisi" kapsamında değerlendirilen bu durum ve daha önce gerçekleştirilen çalışmalar değerlendirildiğinde *F. pratensis*'deki tür içi saldırganlığın populasyondan populasyona değişebildiği ortaya çıkmaktadır. Populasyonlar arasındaki bu farklılık diğer bazı karınca türlerinde de tespit edilmiştir [9]. *F. pratensis*'in Trakya Bölgesi'ndeki kolonileri ile doğal ortamda gerçekleştirilen saldırganlık düzeyleri ile ilgili elde edilen ön sonuçlar, teste tabi tutulan tüm kolonilerin birbirlerine karşı oldukça saldırgan davranışlar sergilediklerini göstermiştir [31]. Kullanılan yuvalar arasındaki fiziksel mesafenin çok değişken olması genetik yakınlığın bir etkisi olmadığını ya da bu kolonilerin genetik olarak birbirlerinden uzak olabileceklerini işaret etmektedir. Ancak, birbirlerine çok yakın yuvalarda genetik olarak yüksek bir yakınlık derecesinin olması bekleneceğinden, bu türdeki tür içi saldırganlık düzeyi ile genetik yakınlık derecesi ve yuvalar arası mesafe bileşenlerinin saldırganlık üzerindeki etkilerinin, daha önceki

çalışmalardan farklı bir genetik ayıraç kullanılarak araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Dolayısı ile bu tez çalışmasında;

1. *F. pratensis*'in Trakya Bölgesi'ndeki populasyonlarından örneklenen kolonileri arasındaki genetik yakınlığın RAPD-PCR analizi ile değerlendirilip ortaya çıkan akrabalık derecelerinin dendrogramlar şeklinde gösterilmesi ve

2. *F. pratensis* kolonileri arasında tespit edilen saldırganlık düzeyleri üzerineyuvalar arası mesafe ve koloniler arasında tespit edilen genetik yakınlığın etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Karıncalarda Sosyallik ve Saldırganlık

Karıncalar koloniler halinde yaşamaları ve merkezi beslenme stratejisine sahip olmaları nedeniyle sosyal böcekler olarak ifade edilirler. Karıncalar aynı türe ait olsalar dahi farklı yuvalarda yaşayan koloniler ile karışmaya karşı koymaktadırlar [32, 33]. Bu davranışı yuva üyelerini ortak kimyasal işaretle ya da koloni kokusuyla tanıyarak gerçekleştirdikleri ileri sürülmüştür. Bu kokuların eksikliğinde ya da yabancı koku varlığında saldırganca tepki gösterirler [16, 34, 35, 36].

Bireylerin birbirlerini tanımada kullandıkları ipuçları genetik kökenli olabildiği gibi çevresel kaynaklı da olabilmektedir [10, 37, 38]. Bir insanın diğer bir insanı yüzü ya da vücut şekli ile tanımasına benzer şekilde karıncalar da diğer karıncaları vücutları üzerinde ya da çevresindeki kimyasal kokular aracılığı ile tanırlar [39, 40]. Bu tanıma işlemi karıncalarda çok kısa bir süre içinde gerçekleşir. İki karınca yuvalarında ya da yuva dışında karşılaştıklarında antenlerini kullanarak birbirlerinin vücutlarına temas ederler ve koku izleri ile birbirlerini tanımaya çalışırlar.

2.2. Karıncalarda Üretilen Kimyasallar

Crozier ve Dix'in ileri sürdükleri geştalt modeline göre, bireylerin ayırımda kullanacakları ipuçları yuvadaki her bir birey tarafından üretilmektedir. Bu kimyasal ipuçları bireylerin birbirlerini temizlemeleri ya da sıvı besin paylaşımı yoluyla sürekli olarak bir bireyden diğer bir bireye geçmektedir [15]. Yapılan davranışsal çalışmalar, iki ayrı türe özgü bileşiklerin tüm bireylere aktarıldığını ve geştalt modelin öngördüğü gibi tüm bireylerce öğrenildiğini ortaya koymuştur [41, 42, 43].

2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Dr. Kary B. Mullis'in 1980'li yıllarda PCR ile yaptığı çalışmalar kendisine 1993 yılında kimya alanında Nobel ödülü getirmiştir ve PCR 1980'li yıllardan itibaren hızla kullanılmaya başlanan bir teknik olmuştur. Invitro koşullarda istenilen bir genin ya da özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasının elde edilmesi PCR (polimeraz zincir reaksiyonu, PZR) tekniği olarak adlandırılır. Burada istenilen bir DNA parçasının kopyaları primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmektedir [44].

2.3.1. PCR Oluşum Mekanizması

Bir PCR döngüsü denatürasyon, primerin bağlanması ve uzama olarak isimlendirilen üç ana aşamadan oluşur. Bu işlemin art arda tekrarlanması ile DNA parçaları üssel olarak artar [44].

2.3.2. PCR'nin Temel Bileşenleri

- **Kalıp DNA:** PCR'de kalıp DNA tek veya çift iplikli olabileceği gibi RNA'da kullanılabilir.
- **Polimerazlar:** DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği oluşturur.
- **Primerler:** Polimeraz enzimlerinin sentezi başlatabilmesi için kalıp DNA'nın tamamlayıcı dizisine bağlanan kısa DNA parçalarıdır.

Primerler 20-30 nükleotid uzunluğundadır. Sentez yönü 5' ucundan 3' ucuna doğrudur.

- **dNTP (Deoksiribonükleozidtrifosfat) Karışımı:** dATP, dGTP, dTTP, dCTP yüksek saflıkta ya tek tek ya da dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanır.
- **Tamponlar ve $MgCl_2$:** DNA polimerazın optimum aktivitesi ve stabilitesi için uygun bir kimyasal ortam sağlar. pH 8.3-9.0 arasındaki tampon genellikle optimum sonuç verir. Tamponlar kullanılan enzimlere uygun olarak ticari olarak sağlanabilir. Optimum $MgCl_2$ konsantrasyonu yaklaşık olarak 1mM-5mM arasında değişmekle birlikte çoğu durumda 1.5 mM optimum sonucu verir.
- **PCR Engelleyicileri (İnhibitörleri) ve Arttırıcıları:** Çeşitli maddeler reaksiyonu hızlandırır veya yavaşlatabilmektedir. Bu faktörler farklı PCR'da farklı etkilere sahip olabilirler.

2.4. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) PCR

RAPD-PCR (Randomly Amplified Polimorphic DNAs) ilk defa 1990'da rastgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı ve PCR'ı temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır [45]. RAPD, nükleotid dizi bilgisine sahip olmadan polimorfizmin belirlenmesini sağlar. Başka bir ifade ile farklı primerler farklı RAPD polimorfizmleri üretmektedir; yani farklı örneklerde ortaya çıkan farklı bant (polimorfik bantlar) oluşumları filogeni ile ilgili bilgi vermektedir [46].

RAPD'in temelini oluşturan rastgele seçilen primerler yaklaşık 10 nükleotidlik dizilerdir. RAPD primerleri dizi sıralamaları ile katologlanmıştır ve ticari olarak satılmaktadır.

Farklı bireylerde nükleotid dizilimi de değişik olduğundan, bireylerden birinde bir primer bağlanma yerinin kaybı ya da değişmesi çoğalan PCR ürünleri arasında özgün bant/bantların kaybolmasına yol açar. PCR ile elde edilen ürünlerin jel

elektroforezi ile analiz sonucu meydana gelen bant profillerinin benzerlik/benzemezlik dereceleri belirlenerek polimorfizm hakkında fikir edinilir.

2.4.1 RAPD PCR Kullanım Alanları

- Adli tıpta,
- Kalıtsal hastalıklarla infeksiyon hastalıklarının tanısında,
- Tarımda tohum saflığının ve seçilmiş genotiplerin belirlenmesinde,
- Tür tanısında,
- Evrimde,
- Arkeolojide [44],

Tür, ırk ve hatta populasyonlar arasındaki genetik ilişkiler ve tür, ırk ve cinsiyete özgü DNA bantlarının belirlenmesi [47, 48, 49] çalışmalarında RAPD-PCR tekniği kullanılmaktadır.

RAPD PCR genetik harita oluşturmak için [50, 51], ayrıca yusufçuklarda babalık testi için [52], parazit eşek arılarında polimorfizmleri belirlemek için [53, 54] kullanılmıştır. RAPD-PCR kısa sürede yüzlerce yeni marker ile genetik haritalar oluşturmaya imkân sağlayan genetik bir tekniktir [55]. RAPD tekniği ile küçük farklılıkları bile tespit etmek mümkün olabilir.

2.4.2. RAPD PCR ile Karıncalarda Genetik Yakınlığın Belirlendiği Bazı Çalışmalar

Kore'de Kım ve ark. (2002) *Formica* cinsi karıncaların filogenisini yapmak için RAPD tekniğini kullanmıştır. Çalışmada kullanılan *Formica lemani, F. candida, F. yessensis, F. japonica, F. sanguinea ve Camponotus japonicus türleri kullanılmıştır.* Çalışmada 13 morfolojik karakterin ölçüm sonuçlarına göre bu türlere ait filogeni tahmin edilmiştir. Daha sonra RAPD-PCR ile de bir filogeni yapılmış ve bu iki filogeni birbirleri ile kıyaslanmıştır [56].

Bir başka çalışmada benzer olarak Kım ve ark. (2003) Kore'nin güney bölgelerinde ve Jeju adasının Kuzey bölgelerinde bulunan *F. japonica* türü ile çalışmıştır. Kore'de *F. japonica* türünün farklı kolonilerdeki bireylerinin büyüklüklerinin farklı olduğu fark edilmiştir. Kore 'de 10 yerel populasyonda rakıma göre moleküler varyansı araştırmak için RAPD-PCR ve morfometrik analizler yapılmıştır. Yapılan bu iki analiz değeri içinde ayrı ayrı filogeniyi gösteren dendrogramlar çizilmiştir [57].

2.5. *F. pratensis*'de Mikrosatellit Tekniğininde Kullanıldığı Saldırganlık Çalışmaları

İsveç'in güneyinde 300x80 metrelik bir alanda bulunan bir populasyonda *F. pratensis'in* [28] monodom ve polidom yuvalarında yuvadaş tanıma davranışları test edilmiştir. 37 çift yuvada yuvalar arası 207 saldırganlık testi yapılmıştır. Saldırganlık testlerinde, bir yuvadan alınan birey başka bir yuvanın üzerine bırakılmış ve işçi bireylerin davranışları gözlenmiştir. Bireylerin davranışlarına göre saldırganlık skorları verilmiştir. Bu türe ait 27 yuvanın 555 bireyi kullanılarak DNA mikrosatellit tekniği yuvaların birbirleri ile akrabalık derecelerinin belirlenmesi için kullanılmıştır [28].

Beye ve ark (1998) İsveç'in güney bölgesinde 10 *F. pratensis* yuvasında çalışmıştır. Yuvalar arası mesafenin 2,5 metre ile 260 metre arasında değiştiği *F. pratensis* populasyonunda genetik akrabalığı mikrosatellit DNA polimorfizmi ile belirlenmiştir. İsveç'in güney bölgesinde yuvadaş tanıma davranışı, yuvalar arası işçi bireylerin saldırganlık düzeyleri ile test edilmiştir. Bu çalışmada araştırıcılar FL 12, FL 20, FL 21, FL 29 lokusları ile çalışmıştır [13].

F. pratensis ile gerçekleştirilen bu iki çalışmada bu türde saldırganlık seviyesini etkileyen iki unsurun (genetik mesafe ve yuvalar arası fiziksel mesafe) saldırganlık davranışındaki önemi araştırılmıştır. Bu çalışmalarda saldırganlık için her iki etkenin de önemli olduğu görülse de Pirk ve ark. saldırganlıkta fiziksel mesafenin, Beye ve ark (1998) ise genetik mesafenin daha önemli olduğunu ileri sürmüştür [13, 28].

BÖLÜM 3

MATERYAL METOD

3.1. Materyal

Formica pratensis Retzius, 1783 ülkemizde sadece Trakya Bölgesi'nde dağılım gösteren bir türdür ve *Formica* cinsinin diğer bir türü olan ve ülkemizde sadece Anadolu'da dağılım gösteren Formica *rufa* L. 1761 ile birlikte orman karıncaları grubuna dahil edilmektedir. Paleartktik zon içerisinde Avrupa'da Portekiz'den Sibirya'ya, Kuzey İtalya'dan orta İsveç'e kadar uzanan bir dağılıma sahip olan *F. pratensis* [58, 59] bu dağılımından dolayı Avrupa Kırmızı Orman Karıncası (European Red Wood Ant) olarak tanınmaktadır.

F. pratensis yuvaları büyük yığınlar (höyükler) şeklindedir ve yuva küçük dal parçaları, otlar ve samandan inşa edilir. Yuvaları birbirlerinden izole olma eğilimindedir ve yine her bir yuvanın bir ya da birkaç kraliçeli olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmaya Trakya Bölgesi'nin kuzeyinde 6 farklı lokalitede tespit edilen 17 *F. pratensis* yuvası dâhil edilmiştir (Şekil 3.1). Ziyaret edilen lokaliteler ve yuvalara ait bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir. 2014 yılı Mayıs ayında gerçekleştirilen 7 günlük bir arazi çalışması süresince yuvalar arasında arazi saldırganlık deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yakın yuvalarda metre ile ölçüm yapılarak, uzak yuvalarda ise Google Earth programından elde edilen uydu görüntüleri baz alınarak yuvalar arasındaki uzaklık değerleri kaydedilmiştir. Laboratuar saldırganlık deneyleri için her

koloniden yuva materyali ile birlikte canlı (plastik kaplar içinde), RAPD-PCR analizleri için ise %96 saflıkta etil alkol içeren tüplerde ölü karınca örnekleri alınmıştır.

Tablo 3.1. Arazi çalışması yapılan lokalitelerin koordinat ve *Formicapratensis* yuvalarının büyüklük verileri. D; büyük çap,d;yuvanın küçük çapı, h; yükseklik, V; hacim (Hacim V= 2/3 x π x D/2 x d/2 x H formülü ile hesaplanmıştır) [60]. (* yuva tahribatı nedeniyle yuva ölçümleri yapılamamıştır).

	Lokalite	Koordinat	Rakım (m)	D(cm)	d(cm)	h(cm)	V(dm^3)
1.	Doğanköy 1	41° 56' 13" N 26° 41' 20" E	395	70	20	50	35
2.	Doğanköy 2	41° 56' 28"N 26° 41' 20" E	394	90	40	60	108
3.	Asilbeyli 1	41° 39' 32"N 27° 13' 51" E	102	70	40	40	56
4.	Asilbeyli 2	41° 39' 31"N 27° 14' 03" E	97	30	10	20	3
5.	Asilbeyli 3	41° 39' 28"N 27° 14' 04" E	94	60	35	40	42
6.	Ulukonak 1	41° 39' 31" N 27° 01' 51" E	95	80	30	50	60
7.	Ulukonak 2	41° 39' 37"N 27° 01' 54" E	98	50	20	30	15
8.	Ulukonak 3	41° 39' 39"N 27° 01' 55" E	98	90	40	70	126
9	Sivriler 1	41° 47' 00" N 27° 52' 06" E	272	50	15	50	187,5
10.	Sivriler 2	41° 47' 06"N 27° 51' 52" E	305	40	20	30	12
11.	Sivriler 3	41° 47' 06"N 27° 51' 53" E	304	80	30	70	84
12.	Balaban 1	41° 49' 18"N 27° 40' 43" E	440	90	40	40	72
13.	Balaban 2	41° 40' 20" N 27° 40' 42" E	440	100	50	60	150
14.	Balaban 3*	41°49'33" N 27°40'32" E	443				
15.	Ahmetler 1	42° 00' 37" N 27° 11' 12" E	488	90	50	40	90
16.	Ahmetler 2	42° 00' 36" N 27° 11' 15" E	486	100	50	30	75
17.	Ahmetler 3	42° 00' 35" N 27° 11' 16" E	486	100	60	70	210

3.1. Saldırganlık Deneyleri

3.1.1. Arazi Saldırganlık Deneyleri

Koloniler arasındaki saldırganlık düzeylerinin belirlenmesi için, çalışmaya dahil edilen tüm koloniler/yuvalar birbirleri ile ikili gruplar halinde, (verici ve alıcı koloniler/yuvalar olarak) eşleştirilmiş ve deneyler gerçekleştirilmiştir. Alıcı bir yuva saldırganlık testinin gerçekleştirildiği verici bir yuva ise, işçileri alınarak saldırganlık testinin gerçekleştirildiği alıcı yuva üzerine konan yuva olarak tanımlanmıştır. Verici bir yuvadan alınan işçi karıncalar su bazlı beyaz bir boya ile gasterlerinden işaretlenmiş, plastik bir kapta sakinleşmeleri sağlandıktan sonra testin yapılacağı alıcı yuva üzerine dikkatli bir şekilde bırakılmıştır. 2 dakikalık bir süre boyunca alıcı yuva üzerindeki karıncalar ile yuvaya konan işaretli karınca arasındaki davranışsal etkileşimler gözlenerek her bir etkileşim Tablo 3.2.'deki saldırganlık skor tablosuna göre puanlandırılmış ve bir saldırganlık skoru elde edilmiştir. Her bir yuva eşleştirmesi için toplam 5 farklı test gerçekleştirilmiş ve elde edilen saldırganlık skorlarının ortalaması alınarak eşleştirmeler için tek bir skor değeri hesaplanmıştır.

Tablo 3.2. Saldırganlık deneylerinin değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal tepkiler ve bu tepkilere karşılık gelen puanlar. Testler sonucunda ≥ 7'lik bir puana sahip olan koloniler monogin, ≤ 4'lük bir skora sahip olan koloniler de poligin olarak gruplandırılmış, 5 ve 6 puan durumunda ise testler tekrarlanmıştır.

PUAN	DavranışTepkisi
9	Hemen kavga, asit püskürtme, abdomen bükük.
8	Etrafı çevirme, anten-bacak ısırma, sonunda asit püskürtme.
7	8'deki gibi ama sonra ısırmayı bırakmak.
6	7'deki gibi ama abdomen bükme yok.
5	Alarm, koşma, kaçınma, abdomen havaya kaldırma-titretme.
4	Mandibül açık, hemen anten teması ve sibling.
3	Hemen antennal temas<2 sn.'den fazla
2	Hemen antennal temas>2 sn'den az ve diğerini takip veya rakip sabitse durma.
1	2'deki gibi fakat rakip takip etme veya durma davranışına neden olmaz.



Şekil 3.1. Çalışmaya dâhil edilen *F. pratensis* yuvalarının örneklendiği lokaliteler (Lokalite numara karşılıkları Tablo 3.1' de verilmiştir). GoogleEarth programı kullanılarak elde edilmiştir.

3.1.2. Laboratuvar Saldırganlık Deneyleri

Araziden plastik yaşatma kapları ile laboratuvara nakledilen yuva örnekleri uygun aydınlanma, sıcaklık ve nem koşullarına sahip iklim odasına konularak ortam şartlarına alışmaları sağlanmıştır. İklim odasına alışma süreci bittikten sonra laboratuvar saldırganlık deneyleri gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar saldırganlık testleri için iki farklı yuvaya ait iki işçi karınca alınmış, bir tanesi gasterinden işaretlenmiş ve etil alkol ile temizlenmiş boş bir kapta karşı karşıya gelmeleri sağlanarak 2 dakikalık bir süre boyunca aralarında etkileşim gözlenerek Tablo 3.2'de verilen saldırganlık skor tablosuna göre puanlandırılmış ve bir saldırganlık skoru elde edilmiştir. Her bir yuva çifti için 5 karınca çifti kullanılmış ve ortalama bir saldırganlık skoru belirlenmiştir. Saldırganlık testinin yapıldığı kap her bir test öncesi etil alkol ile tekrar silinerek bir önceki test esnasında kap içerisine bırakılmış olması muhtemel kimyasallar ortamdan silinmiştir.

3.2. RAPD-PCR ile Yuvalar Arasındaki Akrabalık Derecesinin Belirlenmesi

Saldırganlık testlerinde kullanılan farklı *F. pratensis* yuvaları arasındaki genetik akrabalığın belirlenebilmesi için RAPD-PCR ile genetik yakınlık analizleri gerçekleştirilmiştir. Örneklenen her bir yuvadan 20 işçi karınca alınarak % 90'lık etil alkol içeren deney tüplerine konmuş ve laboratuara getirilerek genetik analizlere kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için PureLinkGenomik DNA Mini Kit (Invitrogen) kullanılmıştır.

3.2.1.1. Doku Hazırlığı

1. DNA izolasyonu yapılacak işçi karıncaların abdomenleri; formik asit içeriklerinden dolayı, bir bistüri yardımı ile kesilerek uzaklaştırılmış ve kalan vücut kısımları bir mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır.
2. Mekanik parçalamayı gerçekleştirmek için örneklerle birlikte her bir tüpe çelik DNase- RNasefree bilyeler eklenmiştir.
3. Tüm örnekler, mekanik kırma etkisinin arttırılması için -150°C' de 1 dk bekletilmiştir.
4. Mekanik parçalanma için tüpler doku parçalayıcıda (Nextadvance BBX24 Bullet Blender homogenizer, USA) 2 dakika süre ile maksimum hızda bekletilmiştir.(3 ve 4. Maddelerdeki işlemler 2 kez tekrarlanmıştır)
5. Her bir tüpe 180 µl genomik digestion buffer ve 20 µl proteinaz K eklenmiş ve tüpler hücre zarında ve diğer hücre kompartmanlarında bulunan proteinleri parçalamak için 56°C' de 3.5 saat süre ile çalkalama cihazına konulmuştur (MixingBlock Mb-102).
6. Tüpler 24.000 g'lik hızda 3 dakika süre ile santrifüj edilmiştir (HermleZ326K, Germany).

7. Üst sıvı (Süpernatant) alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 20 µl RNAaz eklenip vortekslenerek oda sıcaklığında 2 dk beklenmiştir.
8. Tüplere 200 µl Genomic Lysis/Binding Buffer eklenmiştir.
9. 200µl % 96' lık etanol eklenerek 5 sn süre ile vortekslenmiştir.

3.2.1.2. Binding DNA

1. Spin kolon çıkarılmıştır.
2. 640 µl kadar lizat spin kolona eklenmiştir.
3. 10.000 g'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.
4. Alttaki sıvı atılmış ve spin kolonu koleksiyon tüpüne alınmıştır.

3.2.1.3. Washing DNA

1. Kolona 500 µl washBuffer 1 eklenmiştir.
2. 10.000 g'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.
3. Üst kısmı yeni koleksiyon tüpüne alınmıştır.
4. 500 µl wash Buffer 2 eklenmiştir.
5. Maksimum hızda (24.000 g'de) oda sıcaklığında 3 dk santrifüj edilmiştir.

3.2.1.4. Eluting DNA

1. Spin kolon 1.5 µl mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır.
2. 80 µl GenomikElutionBuffer eklenmiştir.
3. 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
4. Maksimum hızda 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.
5. Altta kalan kısım alınarak DNA izolasyonu tamamlanmıştır.
6. DNA -20 ˚C'de saklanmıştır.

3.2.2.İzolasyon Sonrası DNA Miktar Ölçümü

İzolasyon sonucu elde edilen DNA'nın miktar ve saflığı İnvitrogenQubit ve ThermoNanodrop cihazları kullanılarak ölçülmüştür.

Qubit cihazı DNA-RNA-proteinlere bağlanan floresan boyadan kaynaklanan ışık şiddetini ölçerek miktar tayini yapmaktadır. İnvitrogenQubit cihazında DNA miktarının tayini için QubitdsDNA BR assay kit kullanılmıştır. Kit QubitdsDNA BR reagent(Component A), QubitdsDNAbuffer (Compnent B), QubitdsDNA BR standart 1 (Compnent C) ve QubitdsDNA BR standart 2 (Component D) kimyasallarını içermektedir. Kit ile ölçüm yapılırken herbir örnek için QubitdsDNA BR reagent'ten 1µl ve QubitdsDNA buffer' den 199 µl kullanılmıştır. Oluşturulan 200µl'lik hacimden 198µl'si, miktar ölçümü yapılacak DNA'dan 2µl alınarak 0.5ml'lik tüp içinde karıştırılmış ve 2 dk inkübasyondan sonra Qubit cihazı içinde ölçümü yapılmıştır. Kitte mevcut olan diğer kimyasallar (standartlar) kalibrasyon işleminde kullanılmaktadır.

Elde edilen DNA'ların saflık kontrolü nanodrop (Thermo, MultiscanGo) ile A260/A280 oranı ölçülerek belirlenmiştir. DNA miktarları ise Qubit cihazı ile Qubit protokolü ile belirlenmiştir. Bunun için, 199 µl Qubitbuffer ve 1 µl Qubitreagent eklenerek mix hazırlanarak Qubit ölçüm tüplerine 198 µl paylaştırılmış ve 2 µl DNA eklenerek 2 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilen örnekler cihazda okunmuş, değerler ng/ µl olarak cihaz tarafından hesaplanmıştır.

Tablo 3.3. Qubit metoduyla ölçülen DNA miktarları.

Örnek Lokalitesi	Miktar(nanogram/ml)
Ahmetler 1	6,44
Ahmetler 2	8,84
Ahmetler 3	7,60
Balaban 1	6,12
Balaban 2	7,48
Balaban 3	10
Asilbeyli 1	3,29
Asilbeyli 2	14,3

Asilbeyli 3	10,50
Sivriler 1	< 0,05
Sivriler 2	< 0,05
Sivriler 3	< 0,05
Doğanköy 1	9,84
Doğanköy 2	12,5
Ulukonak 1	8,56
Ulukonak 2	6,12
Ulukonak 3	9,32

Tablo 3.4. Nanodrop (NDrop) ile DNA Miktar ve Saflık ölçüm sonuçları

	Miktar (nanogram/ml)	**Saflık**
Ahmetler 1	52,3	1,27
Ahmetler 2	258	1,2
Ahmetler 3	22,4	1,59
Balaban 1	53	1,34
Balaban 2	24,1	1,65
Balaban 3	38,4	1,44
Asilbeyli 1	33,8	1,22
Asilbeyli 2	47,2	1,44
Asilbeyli 3	24,6	1,74
Sivriler 1	22,2	1,67
Sivriler 2	10,1	1,84
Sivriler 3	23,8	1,74
Doğanköy 1	31	1,48
Doğanköy 2	37,1	1,52
Ulukonak 1	24,1	1,71
Ulukonak 2	33,7	1,35
Ulukonak 3	32,1	1,58

3.3. RAPD-PCR Aşaması

RAPD-PCR için uygulanan protokol aşağıda kullanılan primerler ise Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5. Kullanılan RAPD primerleri.

Üretici Firma Katalog Kodu	**Primerin baz dizisi**
OPO-02	ACGTAGCGTC
OPO-03	CTGTTGCTAC
OPO-04	AAGTCCGCTC
OPO-05	CCCAGTCACT
OPO-07	CAGCACTGAC
OPO-10	TCAGAGCGCC
OPO-11	GACAGGAGGT
OPO-12	CAGTGCTGTG
OPO-15	TGGCGTCCTT
OPO-18	CTCGCTATCC
OPB-10	CTGCTGGGAC
OPB-12	CCTTGACGCA
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPA-03	AGTCAGCCAC
OPA-05	AGGGGTCTTG
OPH-03	AGACGTCCAC
OPH-02	TCGGACGTGA
OPH-09	TGTAGCTGGG
OPH-17	CACTCTCCTC
OPB-03	CATCCCCCTG

3.3.1. RAPD-PCR Protokolü

1. 0,5 µl primer (10 piko mol)
2. 12,5 µl Mastermix
3. 9 µl distile su

4. 3 µl (bazı denemelerde 2 kullanıldı) template (DNA) eklenir. (Qubit ve nanodrop ölçümlerinden elde edilen DNA miktarlarına göre)

Life tech marka Veriti model PCR cihazında Tablo 3.6'da verilen şartlarda PCR işlemleri yapılmıştır.

Tablo 3.6. Uygulanan PCR işlemindeki şartlar.

Aşama	Sıcaklık	Süre	Tekrar Sayısı
1. Aşama	95˚C	3 dk	X 1
2. Aşama	95˚C	30 sn	X 40
	37˚C	30 sn	
	72˚C	90 sn	
3. Aşama	72˚C	30 dk	X 1

3.3.2. Agaroz Jel Hazırlanması ve PCR Ürünlerinin Jelde Yürütülmesi

% 2,5' lik 600 ml agaroz jel hazırlamak için 15 gr agar hassas terazide tartılarak beher içine konulmuş ve % 2,5' lik TAE (Tris asetik edta) ile toplam hacim 600 ml'ye tamamlanmış, içerisine 10 µl etidyum bromür eklenmiştir. Mikro dalga fırın içinde agaroz tümüyle çözününceye kadar kaynatılmıştır. Sıcaklık 45-50°C' ye düştüğünde jel 25 taraklı tepsiye dökülmüştür.

İlk kuyucuğa 5 µl DNA ladder (invitrogen 100bp DNA ladder) yüklenmiştir.

PCR ürünlerinin her 5µl'sine 1µl yükleme boyası (bluejuice, invitrogen) olacak şekilde karıştırılarak agaroz jeldeki kuyucuklara sırasıyla yüklenmiştir. Buna göre her 25µl PCR ürününe 5µl yükleme boyası eklenmiş ve toplam hacimden 15µl alınarak jeldeki kuyucuklara örnekler sırasıyla yüklenmiştir.

PCR ürünlerinin jele yüklenmesi tamamlandıktan sonra 60 mA'de 300 dk elektroforez işlemi yapılmıştır.

3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmüş PCR Örneklerinin Görüntüleme Sisteminde İncelenmesi

Agaroz jel yatay elektroforez cihazına (Bio-Rad) konularak görüntülenmiş, fotoğrafları çekilmiş ve bant ağırlıklarının Microsoft Excel dökümü kaydedilmiştir. Kaydedilen Excel dosyasından alınan veriler bant varlığı 1, bant yokluğu 0 ile gösterilerek bir tablo haline getirilmiştir.

3.3.4. Dendrogram Çizilmesi

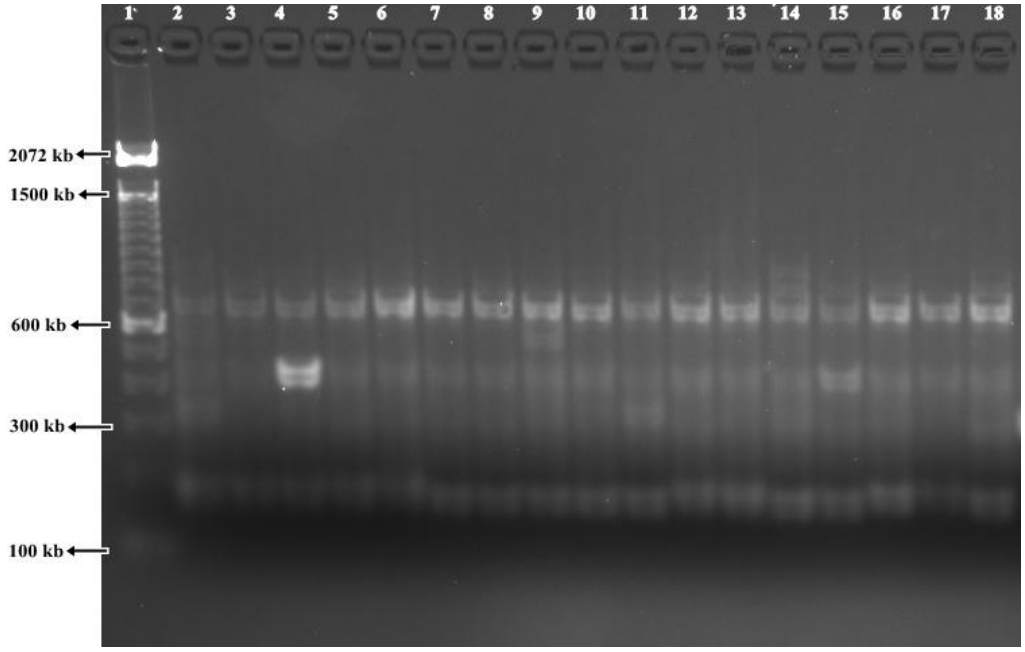
Excel dosyasına çevrilerek P A U P Version 4.0b10 for 32-bit Microsoft Windows kullanılarak UPGMA dendrogramları çizilmiştir.

BÖLÜM 4

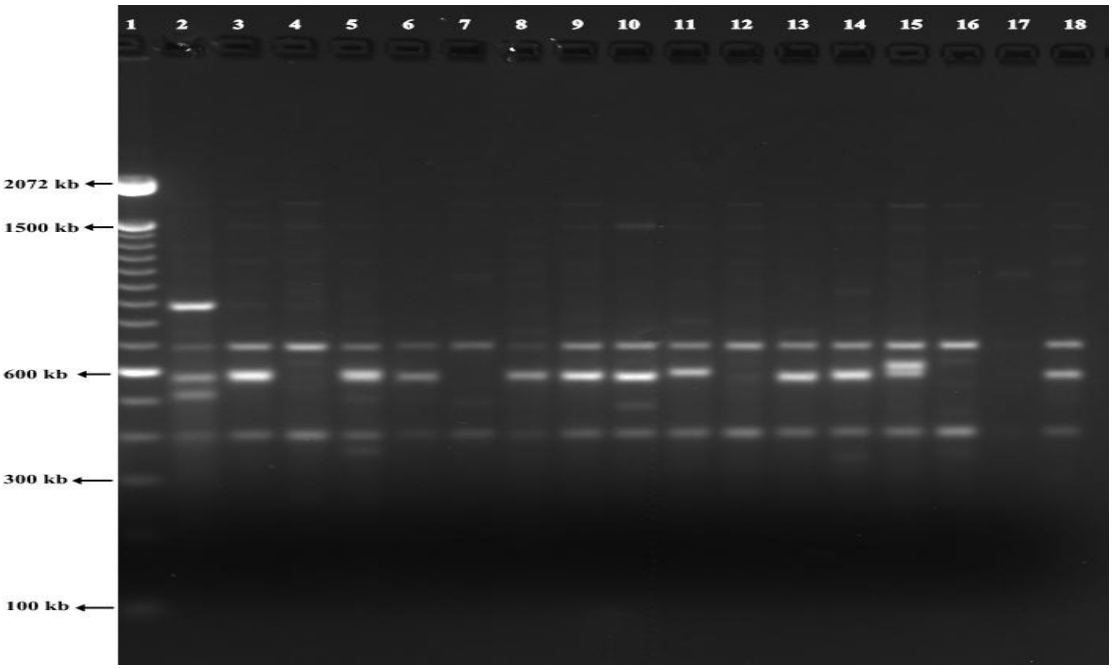
SONUÇLAR

4.1. RAPD-PCR Sonuçları

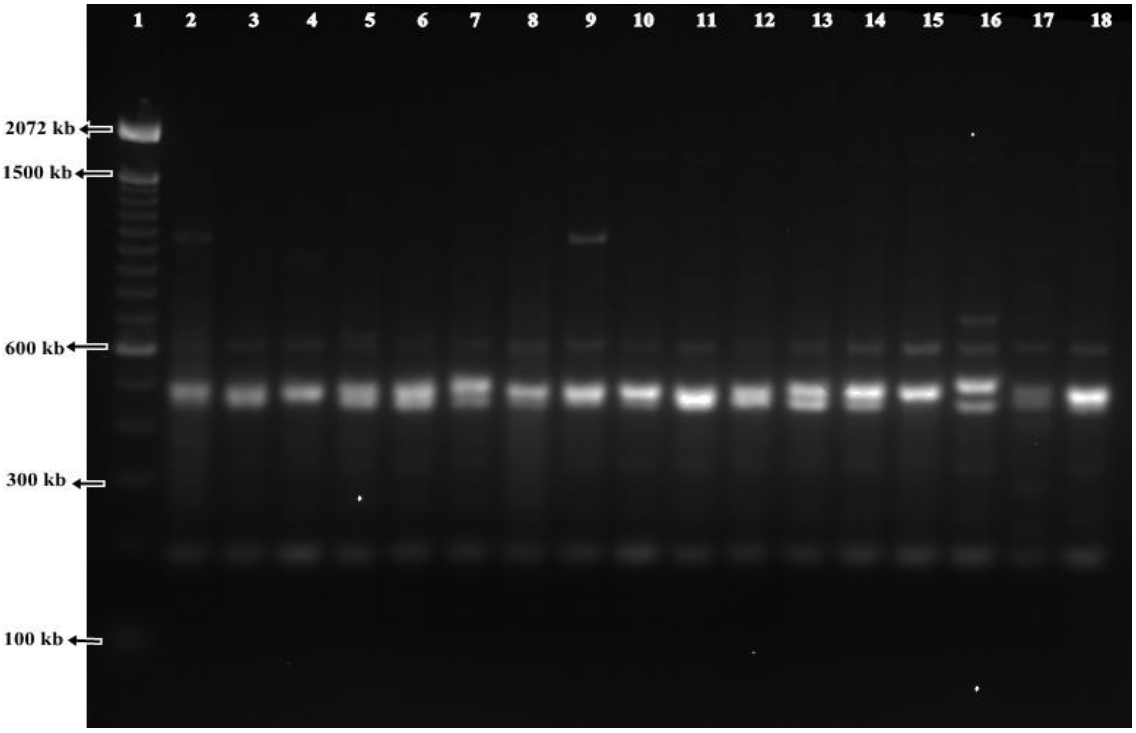
DNA izolasyonu sonrası PCR işlemine tabi tutulan DNA ürünleri bant oluşum farklılıklarını görebilmek amacıyla agaroz jelde yürütülmüş ve görüntüleme sistemine konularak bantlar incelenmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6). 20 RAPD primeri ile yapılan ön denemeler sonucu bazı primerlerin oluşturdukları bant sayılarının azlığından dolayı bu primerler *F. pratensis*'in Trakya bölgesi populasyonlarında genetik yakınlığın belirlenmesi için kullanılmamıştır.



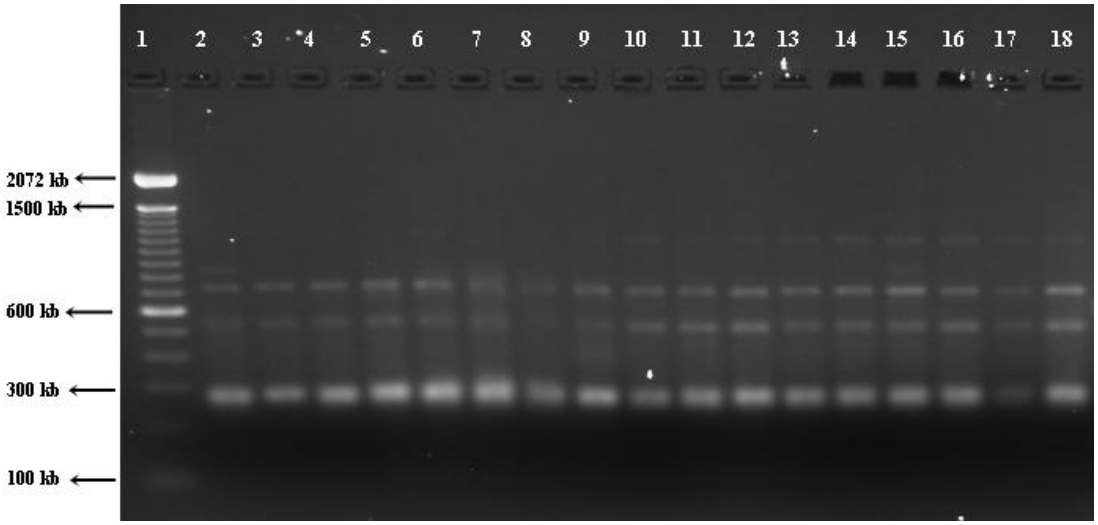
Şekil 4.1. OPH03 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (1; markır, 2; Ahmetler 1, 3; Ahmetler 2, 4; Ahmetler 3, 5; Balaban 1, 6; Balaban 2, 7; Balaban 3, 8; Asilbeyli 1, 9; Asilbeyli 2, 10; Asilbeyli 3, 11; Ulukonak 1, 12; Ulukonak 2, 13; Ulukonak 3, 14; Doğanköy 1, 15; Doğanköy 2, 16; Sivriler 1, 17; Sivriler 2, 18; Sivriler 3).



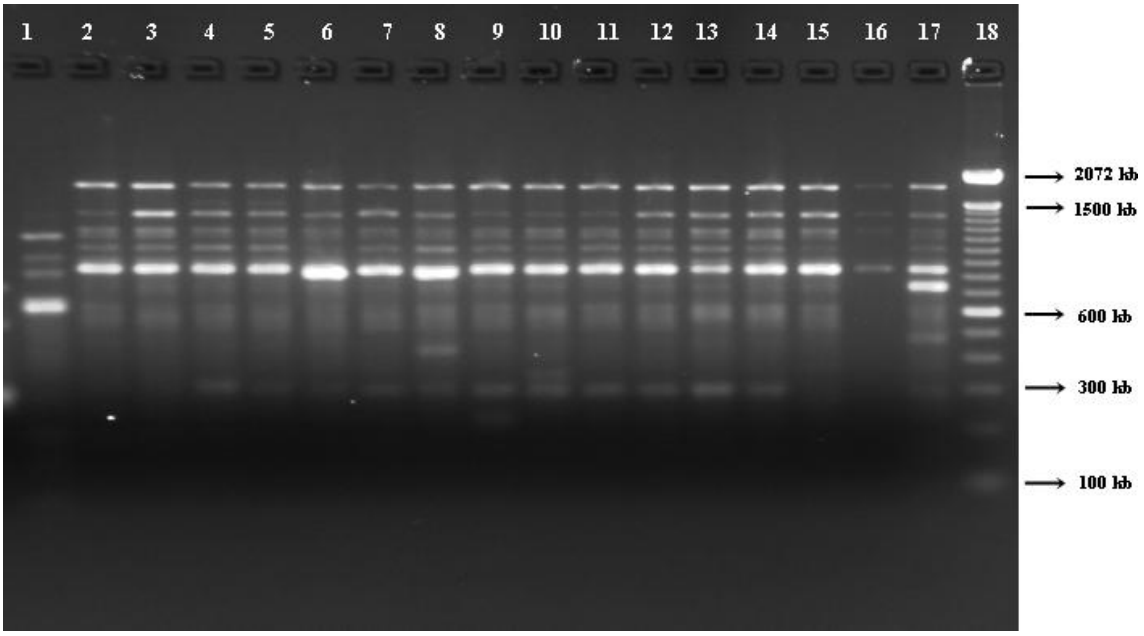
Şekil 4.2. OPO11 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (bknz Şekil 4.1).



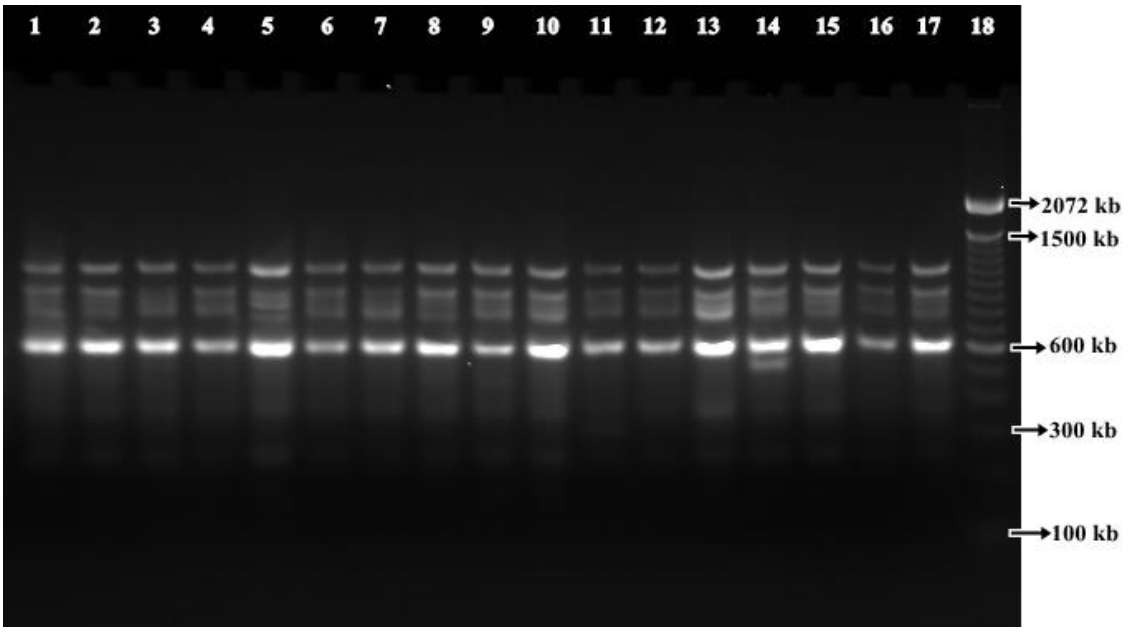
Şekil 4.3. OPB10 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (bknz Şekil 4.1).



Şekil 4.4. OPO02 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (bknz Şekil 4.1).



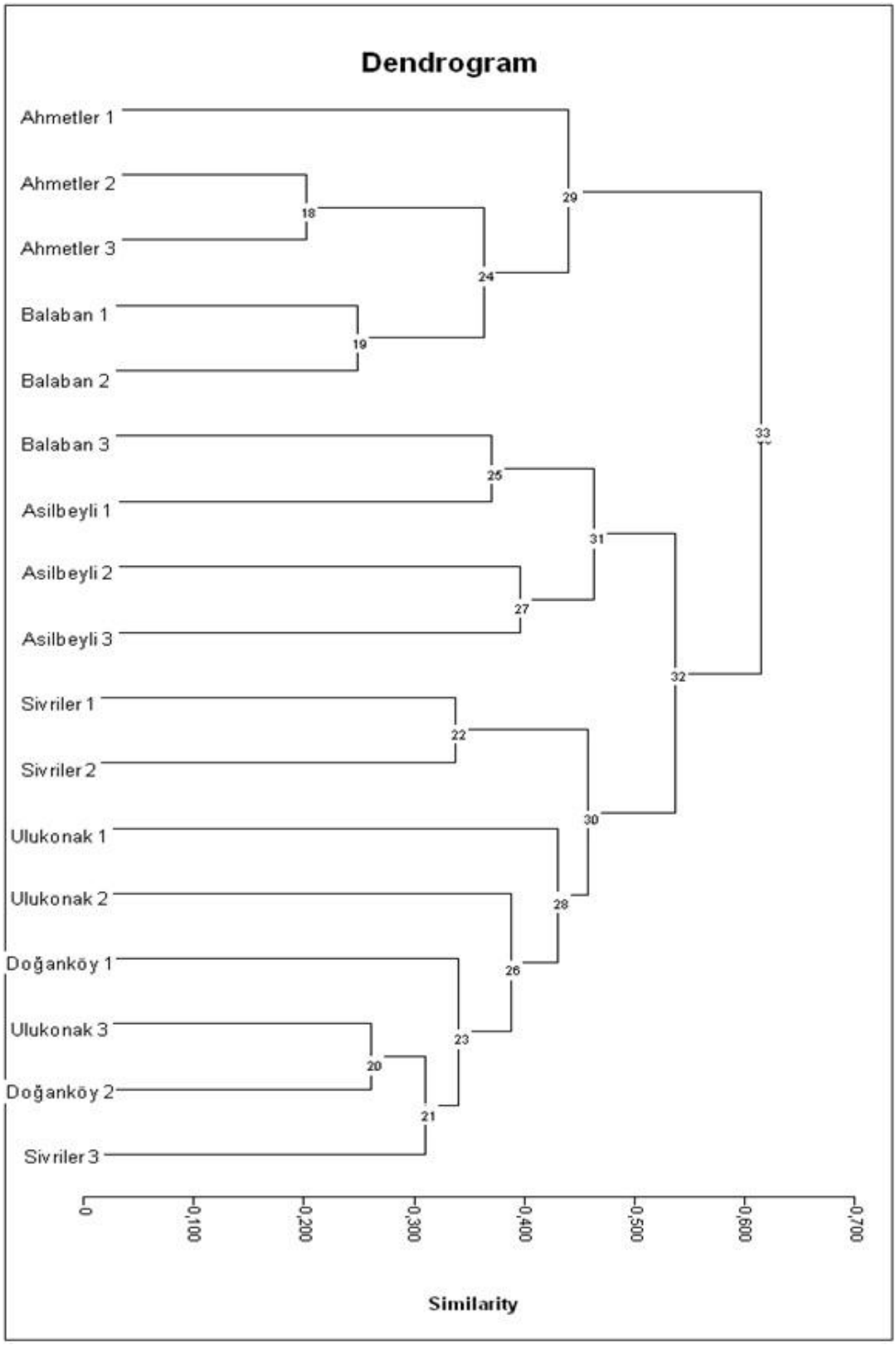
Şekil 4.5. OPO03 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (1; Ahmetler1, 2; Ahmetler 2, 3; Ahmetler 3, 4; Balaban 1, 5; Balaban 2, 6; Balaban 3, 7; Asilbeyli 1, 8; Asilbeyli 2, 9; Asilbeyli 3, 10; Ulukonak 1, 11; Ulukonak 2, 12; Ulukonak 3, 13; Doğanköy 1, 14; Doğanköy 2, 15; Sivriler 1, 16; Sivriler 2, 17; Sivriler 3, 18; Markır).



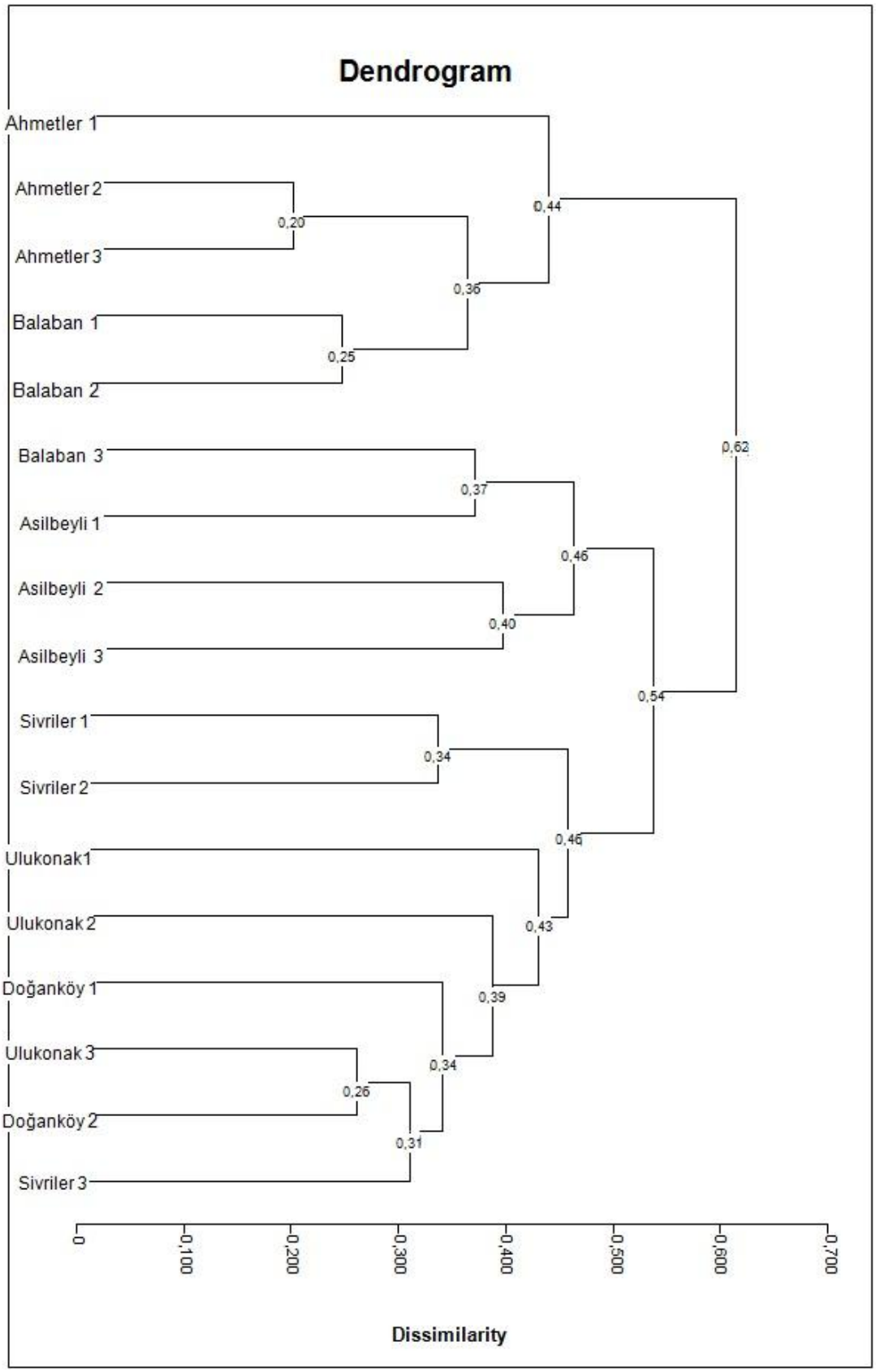
Şekil 4.6. OPO10 primeri için RAPD-PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü. Şekilde üst kenarda verilen sayılar kuyucuk numaralarını temsil etmektedir (bknz Şekil 4.5).

4.2. RAPD-PCR Bantlarina Göre Çizilen Dendrogramlar

RAPD-PCR bantlarına göre çizilen dendrogramlar bant varlığı 1, bant yokluğu 0 ile gösterilerek Microsoft Office Excel programında bir tablo oluşturulmuş ve bu veriler üzerinden Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'deki dendrogramlar çizilmiştir.



Şekil 4.7. RAPD-PCR bantlarına göre hiyerarşik kümeleme analizi (AHC= Agglomerative Hierarchical Clustering) benzerlik (similarity) dendrogramı.



Şekil 4.8. RAPD-PCR bantlarına göre hiyerarşik kümeleme analizi (AHC= Agglomerative Hierarchical Clustering) farklılık (dissimilarity) dendrogramı.

4.3. Tür İçi Saldırganlık Düzeyi ve Koloniler Arası Fiziksel Mesafe Arasındaki İlişki

Korelasyon analizlerinde aynı lokalitelere ait yuvalar arası saldırganlık-mesafe korelasyonları yapılmıştır. Ayrıca Şekil 4.7'de verilen benzerlik dendrogramına göre *F. pratensis* yuvalarına ait korelasyonlar yapılmak üzere 3 farklı grup oluşturulmuştur. Tablo 4.1'de bu gruplandırmalar verilmiştir.

Tablo 4.1. Şekil 4.7'de verilen benzerlik dendrogramına göre yapılan *F. pratensis* gruplandırmaları.

1. Grup	2. Grup	3. Grup
Ahmetler 1	Balaban 3	Sivriler 1
Ahmetler 2	Asilbeyli 1	Sivriler 2
Ahmetler 3	Asilbeyli 2	Sivriler 3
Balaban 1	Asilbeyli 3	Ulukonak 1
Balaban 2		Ulukonak 2
		Ulukonak 3
		Doğanköy 1
		Doğanköy 2

F. pratensis kolonileri arasındaki fiziksel mesafeler 20 metre ile 10000 metre gibi geniş bir aralığa yayıldığı için koloniler arasındaki saldırganlık ile fiziksel mesafe arasındaki ilişkinin analizinde mesafe değerlerine Log10 dönüşümü uygulanmış ve bu değerler kullanılmıştır (Şekil 4.9). Korelasyon değerlerininin güvenililirliği Tablo 4.2' ye göre yorumlanmıştır.

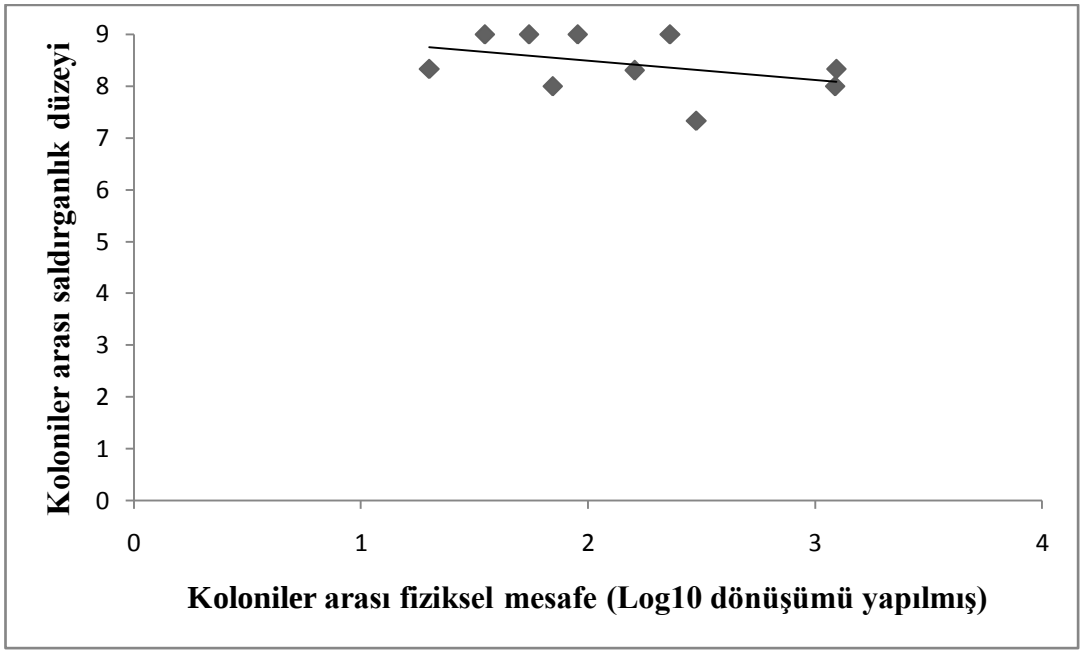
Tablo 4.2. Korelasyon ilişkisinin kuvvet derecesi.

Hesaplamanın kuvvet derecesi	Pozitif	Negatif
DÜŞÜK	+ 0,1 ile + 0,3	-0,1 ile -0,3
ORTA	+ 0,3 ile + 0,5	-0,3 ile -0,5
KUVVETLİ	+0,5 ile + 1	-0,5 ile - 1

Tablo 4.3. Aynı lokaliteye ait yuvaların kendi aralarındaki saldırganlık mesafe verileri.

Lokalite	Arazide saldırganlık Testi yapılan yuva eşleşmeleri	Yuvalar arası mesafe (m)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Saldırganlık testi skoru
Ahmetler	Ahmetler 1 vs. Ahmetler 2	55	1,740362	9
	Ahmetler 1 vs. Ahmetler 3	90	1,954242	9
	Ahmetler 2vs. Ahmetler 3	35	1,544068	9
Balaban	Balaban 1 vs. Balaban 2	70	1,845098	8
	Balaban 1 vs. Balaban 3	230	2,361727	9
	Balaban 2 vs. Balaban 3	160	2,204119	8,3
Asilbeyli	Asilbeyli 1 vs Asilbeyli 2	300	2,477121	7,33
Sivriler	Sivriler 1 vs. Sivriler 2	20	1,301029	8,33
	Sivriler 1 vs. Sivriler 3	1225	3,088136	8
	Sivriler 2 vs. Sivriler 3	1240	3,093421	8,33

Tablo 4.3'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında zayıf negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=-0,39207) (Şekil 4.9).

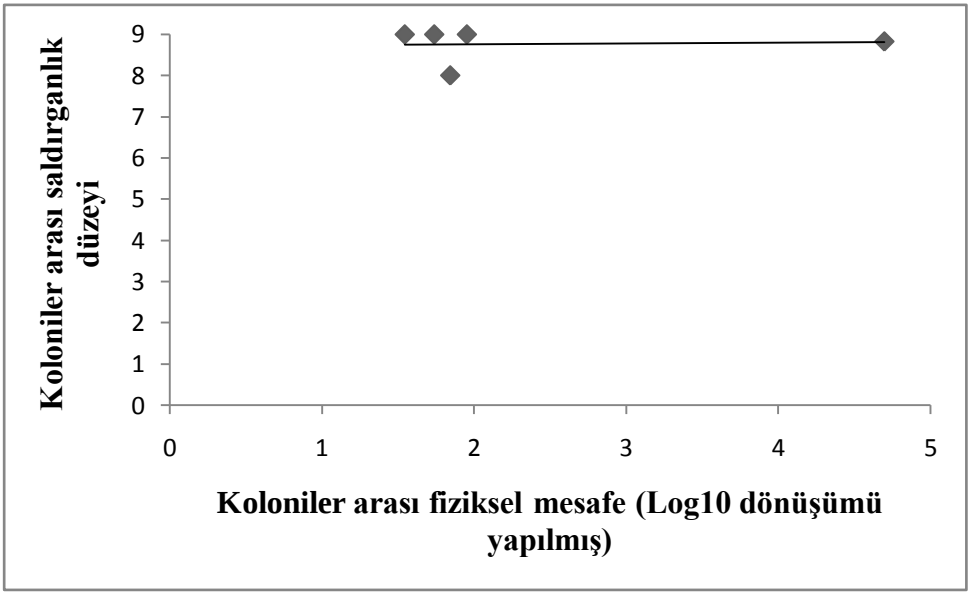


Şekil 4.9. Tablo 4.3'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Tablo 4.4. 1. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Arazi saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Ahmetler 1	Ahmetler 2	55	1,740362	9
Ahmetler 1	Ahmetler 3	90	1,954242	9
Ahmetler 2	Ahmetler 3	35	1,544068	9
Ahmetler	Balaban	50000	4,698970	8,83
Balaban 1	Balaban 2	70	1,845098	8

Tablo 4.4'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında çok zayıf pozitif ilişki tespit edilmiştir (r=0,04943) (Şekil 4.10).



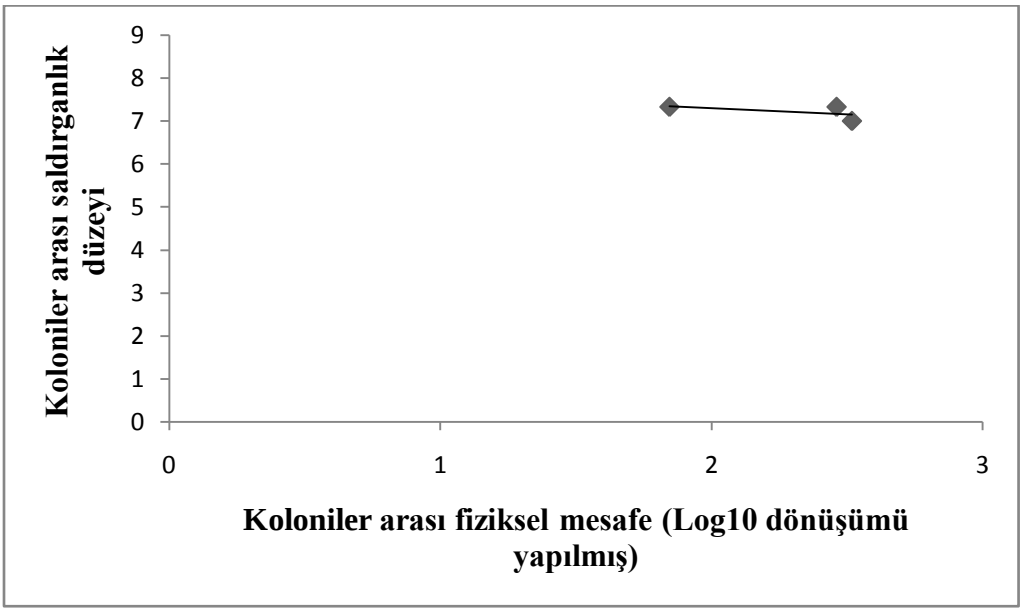
Şekil 4.10. Tablo 4.4'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Ahmetler-Balaban olarak verilen veri bu lokalitelerdeki farklı yuvalara ait saldırganlık skorlarının ortalaması olarak verilmiştir. Bu ortalamanın alınmasının sebebi verilen lokalitelerin arasındaki mesafeler oldukça büyük olup, bu büyük mesafelerin arasında ihmal edilebilecek kadar ufak rakamların olmasıdır. Bu şekilde çizilen grafikler daha anlaşılır ve görsel olmaktadır. Diğer gruplarda da benzer şekilde büyük mesafe değerlerine sahip yuvaların saldırganlık değerleri ortalamaları alınarak tablolarda verilmiştir. Bu ortalamaların alındığı yuvalardaki veriler lokalite numarası verilmeden sadece lokalite ismi verilerek yazılmıştır.

Tablo 4.5. 2. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. Yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Arazi saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Asilbeyli 1	Asilbeyli 2	290	2,462397	7,33
Asilbeyli 1	Asilbeyli 3	330	2,518513	7
Asilbeyli 2	Asilbeyli 3	70	1,845098	7,33

Tablo 4.5'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında kuvvetli negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r= -0,563619) (Şekil 4.11).

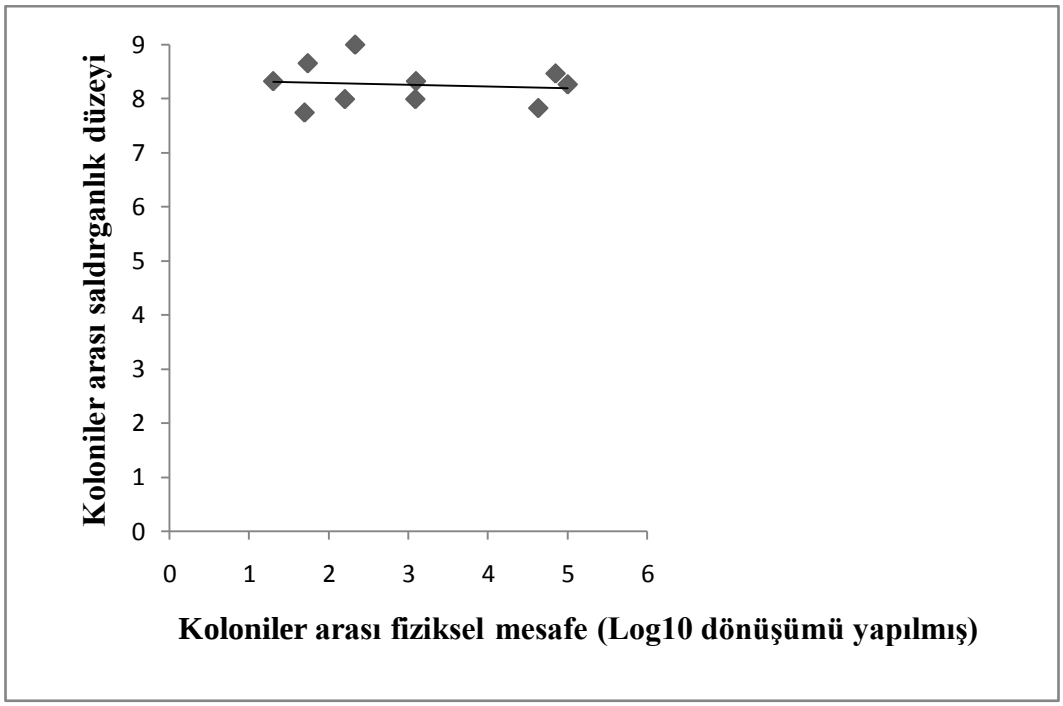


Şekil 4.11. Tablo 4.5'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Tablo 4.6. 3. Grup yuvaların kendi aralarındaki arazi saldırganlık mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Arazi saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Sivriler 1	Sivriler 2	20	1,301029	8,33
Sivriler 1	Sivriler 3	1225	3,088136	8
Sivriler	Ulukonak	71000	4,851258	8,47
Sivriler 2	Sivriler 3	1240	3,093421	8,33
Sivriler	Doğanköy	100000	5,000000	8,27
Ulukonak 1	Ulukonak 2	160	2,204119	8
Ulukonak 1	Ulukonak 3	215	2,332438	9
Ulukonak 2	Ulukonak 3	55	1,740362	8,66
Ulukonak	Doğanköy	43000	4,633468	7,83
Doğanköy 1	Doğanköy 2	50	1,698970	7,75

Tablo 4.6'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında zayıf negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=-0,11524) (Şekil 4.12).



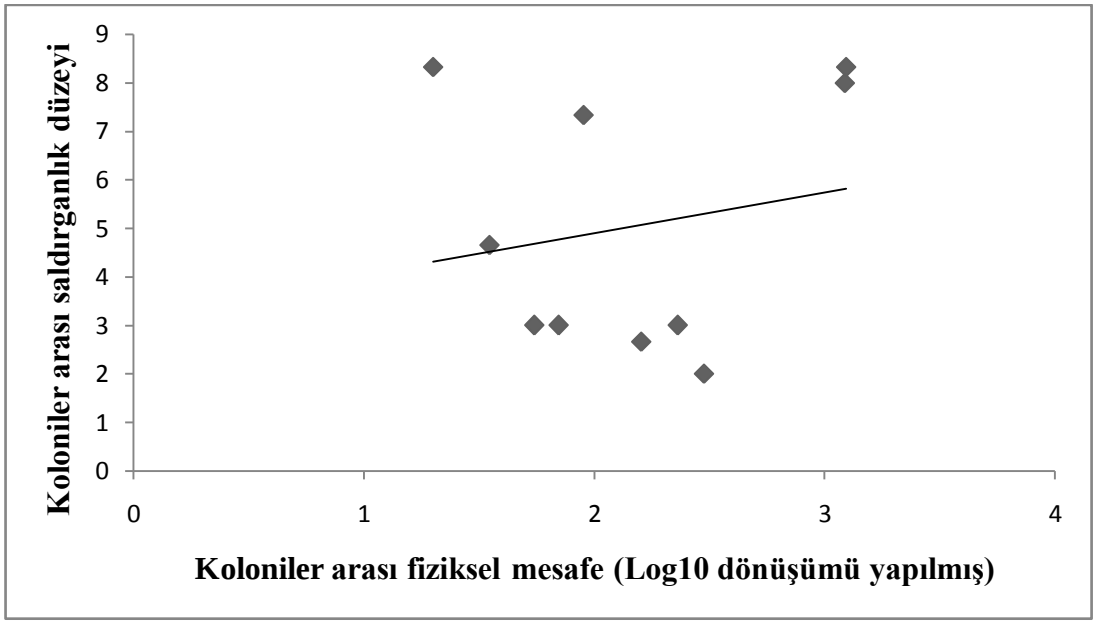
Şekil 4.12. Tablo 4.6'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

4.4. Laboratuvar Saldırganlık - Mesafe Korelasyonları

Tablo 4.7. Aynı lokaliteye ait yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/ mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Laboratuvar saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Ahmetler 1	Ahmetler 2	55	1,740362	3
Ahmetler 1	Ahmetler 3	90	1,954242	7,33
Ahmetler 2	Ahmetler 3	35	1,544068	4,66
Balaban 1	Balaban 2	70	1,845098	3
Balaban 1	Balaban 3	230	2,361727	3
Balaban 2	Balaban 3	160	2,204119	2,66
Asilbeyli 1	Asilbeyli 2	300	2,477121	2
Sivriler 1	Sivriler 2	20	1,301029	8,33
Sivriler 1	Sivriler 3	1225	3,088136	8
Sivriler 2	Sivriler 3	1240	3,093421	8,33

Tablo 4.7'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin laboratuvardaki saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında zayıf pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=0,191726) (Şekil 4.13).

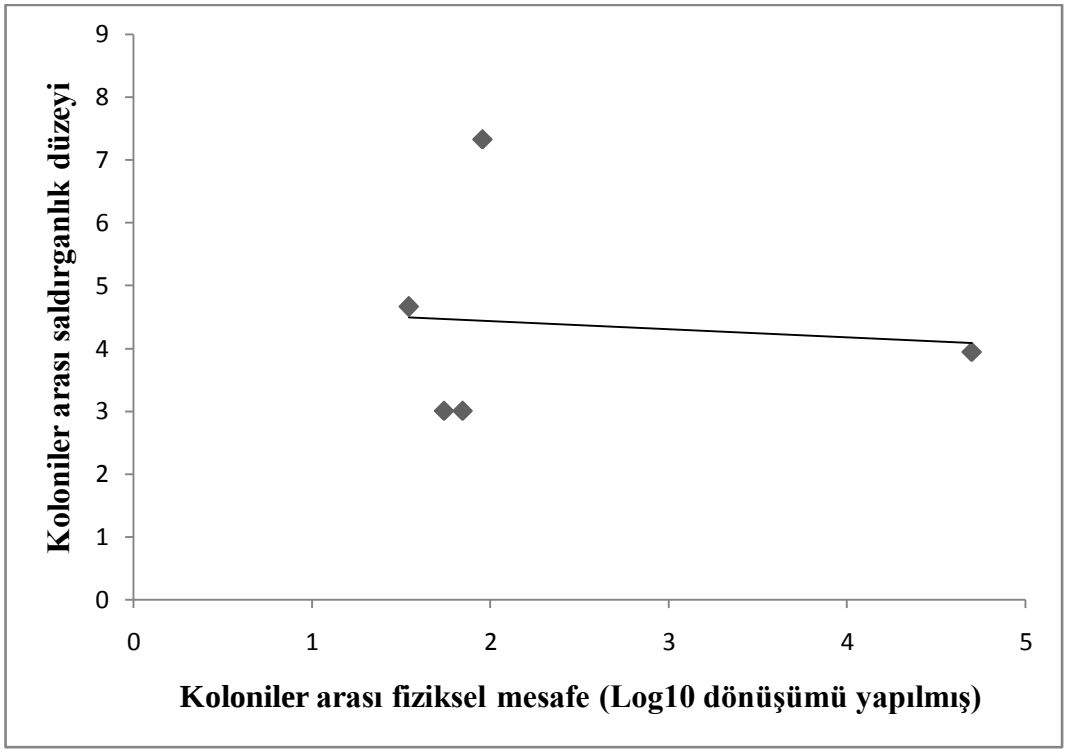


Şekil 4.13. Tablo 4.7'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Tablo 4.8. 1. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuar saldırganlık/mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Laboratuvar saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Ahmetler 1	Ahmetler 2	55	1,740362	3
Ahmetler 1	Ahmetler 3	90	1,954242	7,33
Ahmetler	Balaban	50000	4,698970	3,94
Ahmetler 2	Ahmetler 3	35	1,544068	4,66
Balaban 1	Balaban 2	70	1,845098	3

Tablo 4.7'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin laboratuardaki saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında çok zayıf negatif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=-0,0943) (Şekil 4.14).

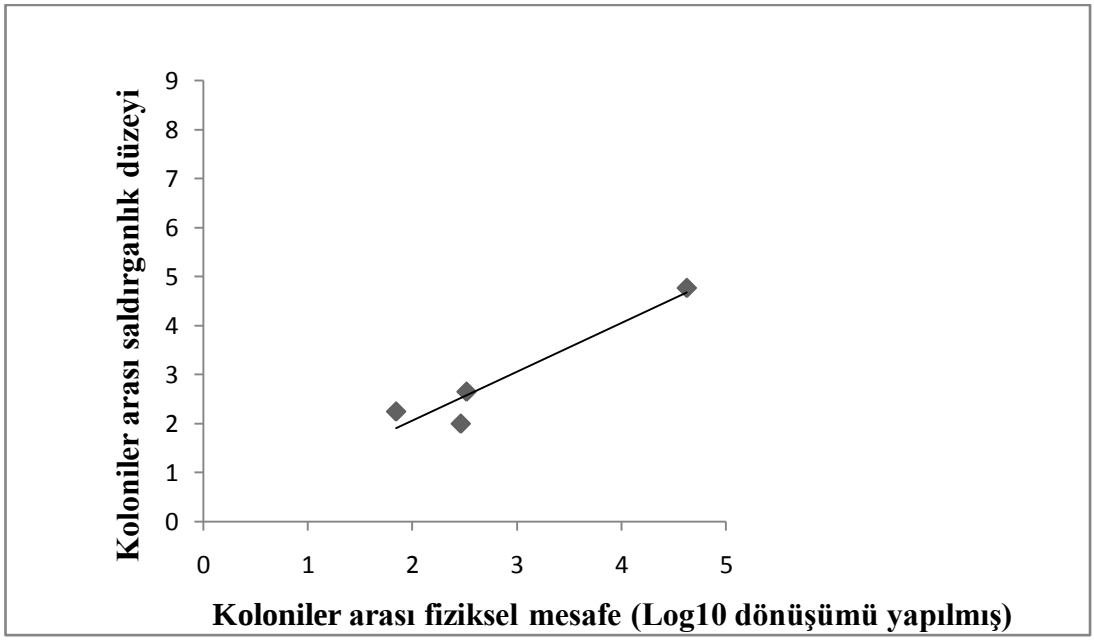


Şekil 4.14. Tablo 4.8'de verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Tablo 4.9. 2. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Laboratuvar saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Balaban	Asilbeyli	42000	4,623249	4,77
Asilbeyli 1	Asilbeyli 2	290	2,462397	2
Asilbeyli 1	Asilbeyli 3	330	2,518513	2,66
Asilbeyli 2	Asilbeyli 3	70	1,845098	2,25

Tablo 4.9'de verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin laboratuardaki saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında çok kuvvetli pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=0,956646) (Şekil 4.15).



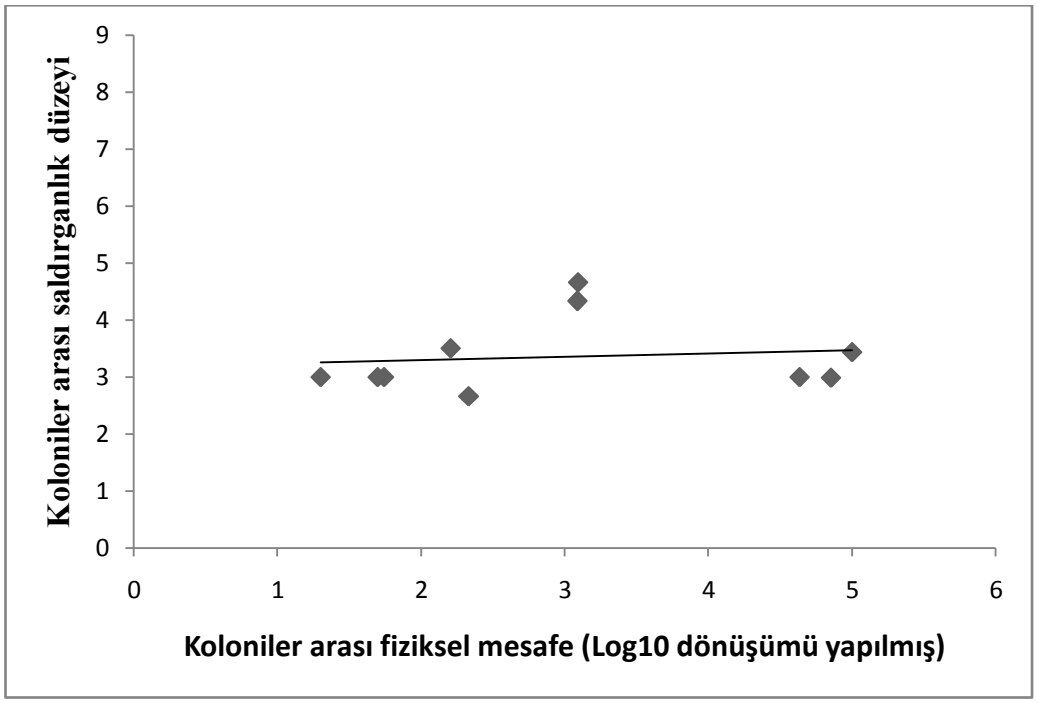
Şekil 4.15. Tablo 4.9'da verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

Tablo 4.10. 3. Grup yuvaların kendi aralarındaki laboratuvar saldırganlık/mesafe verileri.

Saldırganlık deneyi yapılan 1. yuva	Saldırganlık deneyi yapılan 2. yuva	Yuvalar arası Mesafe (metre)	Yuvalar arası fiziksel mesafe (Log10 dönüşümü yapılmış)	Laboratuvar saldırganlık skoru ortalaması (9 üzerinden)
Sivriler	Ulukonak	71000	4,851258	2,99
Sivriler	Doğanköy	100000	5,000000	3,44
Sivriler 1	Sivriler 2	20	1,301029	3
Sivriler 1	Sivriler 3	1225	3,088136	4,33
Sivriler 2	Sivriler 3	1240	3,093421	4,66
Ulukonak 1	Ulukonak 2	160	2,204119	3,5
Ulukonak 1	Ulukonak 3	215	2,332438	2,66
Ulukonak	Doğanköy	43000	4,633468	3
Ulukonak 2	Ulukonak 3	55	1,740362	3
Doğanköy 1	Doğanköy 2	50	1,698970	3

Tablo 4.10'da verilen yuvalar arası fiziksel mesafe değerleri ile saldırganlık düzeyi arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile test edilmiş ve kolonilerin

laboratuvar saldırganlık düzeyleri ile aralarındaki fiziksel mesafeler arasında zayıf pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir (r=0,121025) (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Tablo 4.10'da verilen koloni eşleştirmelerine göre *F. pratensis*'de tür içi saldırganlık düzeyi ve koloniler arası fiziksel mesafe ilişkisi.

4 gruplandırmaya ait laboratuvar ve arazi saldırganlıklarının mesafe ile göstermiş oldukları korelasyon değerlerine ait yukarıda verilen veriler Tablo 4.11'de toplu olarak verilmiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Trakya Bölgesi'nde tespit edilen 17 *Formica pratensis* kolonisindeki tür içi saldırganlık düzeyleri hem türün doğal ortamında hem de laboratuvar koşullarında test edilmiş ve doğal ortamda yüksek bir saldırganlık olduğu, ancak bu yüksek saldırganlığın laboratuvar koşullarında düştüğü tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen ve birbirlerine çok yakın konumlanmış ve genetik analiz sonuçlarına göre aralarında genetik bir yakınlık olduğu tespit edilmiş kolonilerde dahi yüksek saldırganlık düzeylerinin tespit edilmiş olması, *F. pratensis*'in yuva savunması konusunda toleranslı olmadığına ve komşu türdaşları ile yüksek bir rekabet yaşadığına işaret etmektedir. Komşu türdaşlara karşı yüksek saldırgan davranışlar şeklinde ortaya çıkan bu durum "***kötü komşu***" olgusu ile açıklanmaktadır. ***Kötü komşu*** olgusuna göre bir tür kendisine yakın konumlanmış türdaşlarına karşı, uzakta konumlanmış türdaşlarına göre çok daha fazla saldırgan davranışlar sergilemektedir [29]. Doğal ortam testleri esnasında komşu yuvalara ait işçi karıncaların, aynı bölgede olmalarına rağmen farklı besin alanlarını ziyaret ettiklerinin ve besin alanlarına giden yollarının asla kesişmediğinin gözlenmiş olması bu savunma ve rekabet davranışını desteklemektedir. Doğal ortamda görülen bu yüksek saldırganlık kolonilerin monodom özellikte oluşları ile açıklanabilir. *F. pratensis* hem polidom hem de monodom koloniler oluşturabilen bir türdür. Monodom koloniler tek bir kraliçe tarafından yönetildikleri için, farklı monodom koloniler arasında ortak tanıma ipuçlarının azlığına bağlı olarak saldırganlık düzeyi de artış gösterecektir. Diğer taraftan, polidom yuvalardaki çok kraliçelilik ve yuvalar arası işçi

trafiği hem koloni kokularının karışmasına hem de geniş bir tanıma kimyasalı repertuarına neden olmakta, bu durum da polidom yuvaların türdaşlarına karşı olan saldırgan davranışlarının azalmasına neden olmaktadır. Polidom koloniler arasında saldırganlık olmayışı bu kolonilerin ortak bir genetik kökeni olduğunun da bir göstergesidir [61].

F. pratensis'in farklı popülasyon ile gerçekleştirilen saldırganlık deneylerinde farklı sonuçlar elde edilmiştir ve koloniler arasındaki fiziksel mesafe ve genetik yakınlığın saldırganlık üzerindeki etkisinin değişkenlik gösterebildiği ortaya konmuştur. Örneğin, Kiss ve Kóbori (2014) Romanya'daki *F. pratensis* populasyonlarda yaptıkları araştırmalarında fiziksel olarak yakın yuvaların uzak yuvalara göre daha yüksek saldırganlık gösterdiğini rapor etmişler ve bu durumu ***kötü komşu*** olgusu ile açıklamışlardır [19]. Kötü komşu etkisi başka karınca türlerinin tür içi saldırgan davranışlarının açıklanmasında da kullanılmış bir olgudur [62, 63, 64, 65]. Beye vd. (1998) ve Pirk vd. (2001)'in *F. pratensis* ile gerçekleştirdikleri çalışmalar ise bu türdeki tür içi saldırganlık düzeyinin hem kolonilerin genetik yakınlıkları hem de aralarındaki fiziksel mesafe ile pozitif yönde ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu iki çalışmanın sonuçlarına göre *F. pratensis* kolonileri arasındaki saldırganlık düzeyinin kolonilerin fiziksel uzaklıklarına bağlı olarak artış göstermesi türün bazı popolasyonlarında "sevgili düşmanım" olgusunun da görülebildiğine işaret etmektedir [13, 28].

Gerek bu çalışmada gerekse de *F. pratensis'*in başka populasyonları ile gerçekleştirilen önceki çalışmalarda farklı saldırganlık düzeylerinin genetik ve çevresel faktörlerin farklı etkilerinin olduğunun gösterilmiş olması *F. pratensis*'in saldırgan davranışları açısından bir esnekliğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu tarz bir popülasyonlar arası farklılık diğer bazı karınca türlerinde de tespit edilmiştir [23, 63, 66]. Thomas vd. (1999), *Iridomyrmex purpureus* türü karınca işçilerinde yuvadaş olmayanların tanınmasının bir koloninin çevresinde bulunan türdaşların yoğunlukları tarafından etkilendiğini tespit etmişlerdir [63]. Çok sayıda yuva içeren alanlardaki kolonilerin az sayıda yuva içeren alanlardaki kolonilere göre çok daha saldırgan davranışlar sergilediği gözlenmiştir. Bu durum, komşu yuvaların kavga ile

sonuçlanması muhtemel ve enerji kaybına yol açacak karşılaşmalardan uzak durmaları gerçeği ile açıklanabilir [67]. Bu çalışmaya dahil edilen 17 *F. pratensis* kolonisinden bazıları bulundukları alandaki tek koloniler oldukları için, bu kolonilerdeki yüksek saldırganlık düzeyleri sadece tür içi rekabet ile açıklanamaz. Bu yuvaların monodom özellikleri ve diğer yuvalarla olan görece düşük akrabalık yakınlıkları da saldırganlığın artmasında etkili etkenler arasındadırlar.

Doğal ortam ve laboratuvar koşullarında *F. pratensis*'de farklı saldırganlık düzeylerinin tespit edilmiş olması bu türün saldırgan davranışlarının "koşullar" tarafından da etkilendiğini göstermektedir. Rekabet halinde olan türdaşlar arasındaki önceki karşılaşmalar (kolonilerin birbirlerini tanımaları), habitat tipi, mevsim ve besin kaynaklarının değeri ve yuvadaş olmayan türdaşların karşılaştıkları yerin karakteri (yuva, besine giden yol, besin alanı vb.) gibi ekolojik etkenler bu "koşullar" olarak ele alınabilirler. Saldırgan davranış üzerine bu tarz bir koşul etkisinin var olduğu çeşitli sosyal böcek gruplarında gösterilmiştir [67, 68, 69, 70]. *Formica xerophila* ve *F. integroides* ile gerçekleştirdikleri bir çalışmada karıncaların teritorileri içerisinde gerçekleşen rekabetçi karşılaşmaların, nötral bir alanda gerçekleşen karşılaşmalara göre daha fazla saldırgan etkileşimler ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, yuvadaş olmayan türdaşlara karşı sergilenen saldırgan davranışların düzeyinin, yuvadan uzaklaştıkça azaldığı bilinmektedir [71, 72]. Eğer kolonilere özgü birtakım kimyasal işaretlerin yuva yeri ile ilgili olarak karıncalara bilgi sağladığı varsayılırsa, bu varsayım kullanılarak *F. pratensis*'in laboratuvar koşullarındaki saldırganlık düzeyindeki düşüşü açıklanabilir. Dahası, laboratuvardaki test koşullarında olduğu gibi, yuvadaşların olmayışı, teste katılan karıncalara yuvanın uzakta konumlandığı bilgisini veriyor olabilir. Bu bilgi de testteki bireylere yuva ile ilgili bir tehlikenin olmadığını söyleyeceğinden aralarındaki saldırganlık düzeyinin düşük olması mantıklı bir sonuç olarak karşımıza çıkar. Örneğin bir çalışmada *Cataglyphis cursor* türü karıncaların yuvalarına yakın alanlarda çok daha saldırgan oldukları, yuvadan uzaklaştıkça karıncalardaki saldırganlığın azaldığı tespit edilmiştir [73]. Her ne kadar, çevresel etkenlerin saldırganlık üzerindeki etkisinin genetik etkenlere göre çok daha az olduğunu söyleyen çalışmalar var ise de [74, 75], laboratuar koşullarında çevresel ipuçlarının olmayışı karıncaların saldırganlık konusundaki eksiyon eşik değerlerini arttırmış ve

dolayısıyla da düşük saldırganlığa neden olmuş olabilir. Örneğin; Chen ve Nonancs (2000), 2 ay süre ile laboratuvar şartlarında tutulan *L. humile* işçilerinde saldırganlığın tamamen ortadan kalkmış olmasını çevresel etkenlerin saldırganlığın belirlenmesindeki önemlerine bağlamışlardır [76].

Sonuç olarak, çalışmaya dahil edilen *F. pratensis* kolonileri arasındaki saldırganlık düzeyinin bir dereceye kadar genetik ve çevresel etkenler tarafından belirlendiği tespit edilmiştir. Farklı *F. pratensis* populasyonlarında görülen farklı saldırgan davranışlar, türün davranışsal açıdan esnekliğe sahip olduğunun ve lokal koşullardan etkilendiğinin bir göstergesi olarak ele alınmıştır. *F. pratensis*'te tür içi saldırganlığın doğal ortam ve laboratuvar ortamlarında farklı olduğunun tespit edilmiş olması, türün doğal ortamda aktif savunma davranışları sergileyerek zindeliğine katkı sağlayacak bir savunma mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar genetik ve çevresel etkenlerin saldırganlık üzerindeki etkilerinin belirli bir tür için genel eğilim sergilemediğini göstermesi açısından önemlidir. Karınca kolonilerindeki genetik yakınlık koloniler arasındaki saldırgan davranışların temel belirleyicisi olsa da lokal çevresel etkenlerin de türün davranışlarının belirlenmesinde rol oynadıkları bir gerçektir. Bu açıdan bakıldığında, farklı genetik ve sosyal organizasyonlara sahip başka karınca türleri ile gerçekleştirilecek sonraki çalışmaların konu ile ilgili çok daha değerli veriler ortaya koyacağı açıktır. Genetik ve çevresel kaynaklı saldırgan davranışların türler arasında farklılık/benzerlik gösterdiğinin tespiti, sosyal yaşamın en üst mertebesine ulaşmış bu gizemli grubun evrimsel başarısının açıklanmasına da katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

[1] STRASSMANN J.E., PAGE R.E. J.R., ROBINSON G.E., SEELEY T.D. , ***Kin selection and eusociality,*** Nature, 471, E5-E6 (2011).

[2] CROZIER R.H., PAMILO P., ***Evolution of Social Insect Colonies: Sex Allocation and Kin Selection***, (Oxford University Press, Oxford, 314 pp. 1996).

[3] STURGIS S.J., GORDON D.M., ***Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review.*** -Myrmecol. News, 16, 101-110, (2012).

[4] D'ETTORRE P., LENOIR A., ***Nestmate recogntion.*** In: Ant ecology, Lach L., Parr C. L. & Abbott K. L. Eds., Oxford University Press, Oxford, pp. 194-209 (2010).

[5] HOWARD R.W., BLOMQUIST G.J., ***Ecological,behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons.*** - Annu. Rev. Entomol., 50, 371-393, (2005).

[6] Martin SJ., Drijhout FP.,***Nestmate and task cues are influenced and encoded diffrerntly within ant cuticular hydrocarbon profiles.*** J. Chem. Ecol 35, 368-374, (2009).

[7] Liang, D.,Silverman, J.. ***You are what you eat: diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, Linepithema humile,*** Naturwissenschaften, 87, 412–416, (2000).

[8] NICOLAS THURIN, SERGE ARON. ***Seasonal nestmate recognition in the polydomous ant Plagiolepis pygmaea.*** ANIMAL BEHAVIOUR, 75, 1023e1030 doi:10.1016/j.anbehav.2007.08.013, (2008).

[9] Van Wilgenburg, E., Ryan, D., Morrison, P., Marriott, P. J. and Elgar, M. A. ***Nest- and colony-mate recognition in polydomous colonies of meat ants (Iridomyrmex purpureus).*** Naturwissenschaften 93, 309-314, (2006).

[10] Gamboa, G. J., Reeve, H. K., Ferguson, D. and Wacker, T. L.. ***Nestmate recognition in social wasps: the origin and acquisition of recognition odours.*** Anim. Behav. 34, 685-695, (1986).

[11] Haering R, Fox BJ. ***Short-term coexistence and long-term competitive displacement of two dominant species of Iridomyrmex: the successional response of ants to regenerating habitats.*** J Anim Ecol 56, 495-507, (1987).

[12] Davidson DW, ***An experimental study of diffuse competition in harvester ants.*** Am Nat 125, 500-506, (1985).

[13] M. Beye, Neumann, P, Chapuisat, M, Pamilo, P, Moritz, R. F. A. ***Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant Formica pratensis.*** Behav Ecol Sociobiol, 43, 67–72, (1998).

[14] Hölldobler B. and Wilson E.O. ***The Ants.*** Belknap Press,Cambridge, Mass (1990).

[15] Crozier, R. H. and Dix, M. W..***Analysis of two genetic models for the innatecomponents of colony odor in social Hymenoptera.*** Behav. Ecol. Sociobiol. 4, 217-224, (1979).

[16] Carlin, N.F. & Hölldobler, B. ***The kin recognition system of carpenter ants (Camponotus spp.). I. Hierarchical cues in small colonies.*** Behav. Ecol. Sociobiol. 19, 123–134, (1986).

[17] Debout G., Schatz B., Elias M. and McKey D. ***Polydomy in ants: what we know, what we think we know, and what remains to be done.*** Biol. J. Linn. Soc. 90, 319-348.(2007).

[18] Chapuisat, M., Bocherens, S. & Rosset, H. ***Variable queen number in ant colonies: no impact on queen turnover, inbreeding, and population genetic differentiation in the ant Formica selysi.*** Evolution 58, 1064–107, (2004).

[19] KISS, K., Kóbori, O. ***Intraspecific relations at Formica pratensis Retz. (Hymenoptera: Formicidae),*** Myrmecological News 10, 111, (2007).

[20] Langen T.A., Tripet F. and Nonacs P. ***The red and the black:habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert Pheidole ants.*** Behav. Ecol. Sociobiol. 48, 285-292, (2000).

[21] Temeles E.J. ***The role of neighbors in territorial systems - Whenare they dear enemies.*** Anim. Behav. 47, 339-350, (1994).

[22] Mueller C.A. and Manser M.B. ***'Nasty neighbours' rather than 'dear enemies' in a social carnivore.*** Proc. R. Soc. Biol. Sci. Ser. B 274, 959-965, (2007).

[23] E. van Wilgenburg, M. A. Elgar. ***Colony structure and spatial distribution of food resources in the polydomous meat ant Iridomyrimex purpureus.*** Insect.Soc. volume 54, Issue 1, pp5-10 (2007).

[24] Dunn R, Messier S, ***Evidence for the opposite of the dear enemy phenomenon in termites.*** J Insect Behav 12, 461-464, (1999).

[25] Adams E.S. ***Territory defense by the ant Azteca trigona – Maintenance of an arboreal ant mosaic***. Oecologia 97, 202-208, (1994).

[26] Franks N.R., Dornhaus A., Hitchcock G., Guillem R., Hooper J. And Webb C., ***Avoidance of conspecific colonies during nest choice by ants*.** Anim. Behav. 73, 525-534, (2007).

[27] Ho¨lldobler B. and Lumsden C.J., ***Territorial strategies in ants***. Science 210, 732-739, (1980).

[28] PIRK, C.W.W., Neumann, P., Moritz, R.F.A., Pamilo, P. **Intranest relatedness and nestmate recognition in the meadow ant *Formica pratensis* (R.).** Behavioral Ecology and Sociobiology, 49, 366 –374, (2001).

[29] Benedek K., Kobori O.T., ***'Nasty neighbour' effect in Formica pratensis Retz.Hymenoptera: Formicidae)***, North-western Journal of Zoology, 10, 141101, (2014).

[30] R., Pamilo, P. ***The evolution of polygyny and polydomy in mound building ants.*** Acta Entomologici Fennici, 42, 65–77, (1983).

[31] Mesut BAŞIBÖYÜK, ***Formica pratensis (Hymenoptera: Formicidae)'de tür içi saldırganlık.*** (Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Edirne, 2014).

[32] Field, A.M., ***Artifical mixed nests of ants*** , Biol. Bull. , 5:320–325,(1903).

[33] Forel, A., ***Le monde social desfourmis***, vol 4. Libraire Kundig Geneva, (1923).

[34] Wallis, D. I. ,***Aggressive behaviour in the ant Formica fusca***, Anim. Behav. 10, 267 – 274, (1962) .

[35] Mabelis, A.A., ***Wood ant wars: There lation ship between aggression and predation in the red wood ant (Formica polyctena Förster),*** Neth. J. Zool. 29,109 – 120, (1979).

[36] Stuart, R. J., ***Transient nestmate recognition cues contribute to a multicolonial population structure in the ant Leptothorax curvispinosus***, Behav. Ecol. Sociobiol. 21,229 – 235, (1987).

[37] Wilson, E.O., ***The Insect Societies***, (BelknapPress of Harvard University Press, Cambridge, MA,1971).

[38] Breed, M., ***Nestmate recognition in honeybees***, Anim. Behav. 31, 86 – 91, (1983).

[39] Dahbi, A.,Lenoir, A., Tinaut, A., Taghizadeh, T., Francke, W. And Hefetz A.,***Chemistry of the postpharyngeal gland secretion and it simplication for the phylogeny of Iberian Cataglyphis species (Hymenoptera; Formicidae)***, Chemoecology. 7(4): 163-171, (1996).

[40] Lenoir, A., Malosse, C. And Yamaoka, R., ***Chemical mimicry between parasitic ants of the genus Formico xenus and their host Myrmica (Hymenoptera; Formicidae)***, Biochemical Systematics and Ecology. 25(5), 379-389, (1999).

[41] Bagnères, A.G., C. Errard, C. Mulhein, C. Julieand C. Lange,. ***Induced mimicry of colony odours in ants*** , J. Chem. Ecol. 17,1641– 1664, (1991).

[42] Errard, C., ***Development of interspecificrecognitionbehaviour in the ants Manica rubida and Formica selysi (Hymenoptera: Formicidae) in mixed species groups***, J. InsectBehav. 7, 83 – 99 , (1994a).

[43] Errard, C., ***Long-term memory involved in nestmate recognition in ants***. Anim. Behav.48.263 – 371 , (1994b).

[44] Güler Temizkan, Nazlı Arda, ***Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler***(Nobel Tıp Kitabevi, 3. Baskı, 2008).

[45] Williams, J.G.K. , Kubelik, A.R. , Livak, K.J.,Rafalski, J.A. , Tingey, S.V. , ***DNA Polimorphism Amplified By Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers***, Nucleic Acids Research, Vol 18, 6531-6535 , (1990).

[46] Innis MA, Gefland DH, SninskyJJ: ***PCR Strategies***. (Academic Press, 39-67, San Diago, 1995).

[47] Appa Rao KBC, Bhat KV, Totey SM. ***Detection of species specific genetic markers in farm animal sthrough random amplified polymorphic DNA (RAPD)*** , Genetic Anal. Biomol Eng,13, 135-138, (1996).

[48] Devrim AK, Kaya N., ***An investigation on DNA polymorphism of the cattle breeds in the province of Kars by RAPD-PCR technique***, Revue MédVét, 157(2), 88-91, (2006).

[49] Sharma D, Appa Rao KBC, Totey SM. ***Measurement of within and between population genetic variability in quails***. BriPoultSci, 41, 29-32, (2000).

[50] Hadrys, H., M. Balick, and B. Schierwater. ***Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology***. Molecular Ecology 1, 5-63, (1992).

[51] Tingey, S.V. and J.P. del Tufo, ***Genetic analysis with random amplified polymorphic DNA markers***. Plant Physiol. 101, 349-352, (1993).

[52] Hadrys, H., B. Schierwater, S.L. Dellaporta, R. DeSalle, and L.W. Buss, ***Determination of paternity in dragon flies by random amplified polymorphic DNA finger printing*** , Mol. Ecol. 2: 79-87, (1993).

[53] Edwards, O.R. and M.A. Hoy, ***Polymorphisms in two parasitoids detected using random amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR***. Boil.Control. 3, 243-257, (1993).

[54] Roehrdanz, R.L., D.K. Reed, and R.L. Burton, ***Use of polymerase chain reaction and arbitrary primers to distinguish laboratory raised colonies of parasitic Hymenoptera*** , Biol. Control 3, 199-206, (1993).

[55] Ragot, M. and D.A. Hoisington, ***Molecular markers for plant breeding: Comparisons of RFLP and RAPD genotyping costs***. Theor. Appl. Genet. 86: 975-984. (1993).

[56] KIM, Joong, Hyon and Byung, Jin KIM, ***Systematic Study of Korean Formica Ants Using RAPD***, Korean Journal of Entomology vol32, no3 pp161-164, (2001).

[57] KIM, Joong-Hyon, Seong oon, PARK and Byung-Jin KIM, ***Molecular Phylogeny among Local Populations of Formica japonica (Hym. Formicidae) in Korea***, Korean Journal of EntomologyVol. 33, No. 2, pp. 93~98, (2003).

[58] Collingwood C.A.,***The Formicidae (Hymenoptera) of Fennoscandia andDenmark, Fauna Entomologica Scandinavica***, Vol. 8, Scandinavian Science Press. Ltd. pp.174, (1979).

[59] Radchenko A. G.,***Fauna Europaea: Formicidae. In: Noyes J. (Ed.), Fauna Europaea: Hymenoptera: Apocrita. Fauna Europaea version 2.4***, Available at: http://www.faunaeur.org (Accessed on 22 February 2013), (2007).

[60] Philippe BONNEIL, Christophe BOUGET. ***Forest insect studies: methods and techniques key considerations for standardization, An overview of the reflections of the "Entomological Forest Inventories" working group (Inv.Ent.For.)***LES DOSSIERS FORESTIERS no.19 Published by the French Office National des Forêts (March 2009).

[61] Helantera, H., Strassmann, J.E., Carrillo, J., Queller, D.C.,. ***Unicolonial ants: where do they come from, what are they and where are they going?*** Trends in Ecology & Evolution, 24, 341–349. (2009).

[62] Gordon, D.M., ***Ants distinguish neighbors from strangers .*** Oecologia. 81, 198–200., (1989).

[63] Thomas, M.L., Parry, L.J., Allen, R.A., Elgar, M.A.,. ***Geographic affinity, cuticular hydrocarbons and colony recognition in the Australian meat ant Iridomyrmex purpureus.*** Naturwissenschaften, 86, 87–92, (1999).

[64] Thomas, M.L., Payne-Makrisa, C.M., Suarez, A.V., Tsutsui, N.D., Holway, D.A.,. ***When supercolonies collide: territorial aggression in an invasive and unicolonial social insect.*** Mol Ecol. 15, 4303–4315, (2006).

[65] Sanada-Morimura, S., Minai, M., Yokoyama, M., Hirota, T., Satoh, T., Obara, Y., ***Encounter-induced hostility to neighbors in the ant Pristomyrmex pungens.*** *Behavioral Ecology* 14,713–718, (2003).

[66] Stuart, R.J., Herbers, J.M.,. ***Nest mate recognition in ants with complex colonies: within- and between-population variation.*** Behav. Ecol. 11, 676-685, (2000).

[67] Hölldobler, B., ***Recruitment behaviour, home range orientation and territoriality in harvester ants, Pogonomyrmex.*** Behavioral Ecology and Sociobiology 1, 3-44, (1976).

[68] Pfennig, D. W., Reeve, H. K., ***Neighbor recognition and context-dependent aggression in a solitary wasp, Spheciusspeciosus (Hymenoptera: Sphecidae).*** Ethology, 80, 1–18, (1980).

[69] Tanner, C.J., Adler, F. R.. ***To fight or not to fight: context-dependent interspecific aggression in competing ants.*** Anim Behav. 77, 297–305,(2009).

[70] Couvillon, M.J., Segers, F.H.I.D., Cooper-Bownan, R., Truslove, G., Nascimiento, D.L., Nascimiento, F.S., Ratnieks, F.S.L.. ***Context affects nestmate recognition errors in honey bees and stingless bees.*** J Exp Biol. 216, 3055–3061. (2013).

[71] Gamboa, G.J, Reeve, H.K,, Holmes, W.G., . ***Conceptual issues and methodology in kin-recognition research: a critical discussion.*** Ethol. 88, 109-127. (1991).

[72] Starks, P.T., Fischer, D.J., Watson, R.E., Melikian, G.L., Nath, S.D., ***Context-dependent nestmate-discrimination in the paper wasp, Polistesdominulus: a critical test of the optimal acceptance threshold model.*** Anim Behav. 56, 449–458, (1998).

[73] Mayade, S., Cammaerts, M.C., Suzzoni, J.P., ***Home-range marking and territorial marking in Cataglyphiscursor (Hymenoptera, Formicidae).*** Behav. Proc. 30, 131- 142, (1993).

[74] Suarez, A.V., Holway, D.A., Liang, D.S., Tsutsui, N.D., Case, T.J., ***Spatio-temporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant.*** Anim Behav. 64, 692–708, (2002).

[75] Holway, D.A., Suarez, A.V., Case, T.J., ***Loss of intraspecific aggression in the success of a wide spread invasive social insect.*** Science 282, 949–952, (1998).

[76] Chen, J.S.C., Nonacs, P., ***Nestmate recognition and intraspecific aggression based on environmental cues in Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae).*** Ann Entomol Soc Am. 93, 1333– 1337, (2000).

ÖZGEÇMİŞ

03.12.1989 tarihinde Edirne'nin Uzunköprü ilçesinde doğdum. İlköğretimi Kırklareli Hamdi Helvacıoğlu İ.Ö.O.'unda 2002 yılında tamamladım. Orta öğrenimimi Kırklareli Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği Lisesi'nde 2006 yılında tamamladım. 2007 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladım ve 2012 yılında mezun oldum. 2013-2014 bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.