

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ (VETERİNER) DOKTORA PROGRAMI

**AYDIN BÖLGESİNDEKİ BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*)
BULUNAN *Varroa destructor*'un (AKAR: *Varroidae*) GENETİK
KARAKTERİZASYONU**

Adnan AYAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF -
15032 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Adnan AYAN tarafından hazırlanan “Aydın Bölgesindeki Bal Arılarında (*Apis mellifera*) Bulunan *Varroa destructor*'un (Akar: *Varroidae*) Genetik Karakterizasyonu” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/01/2017

Üye (T.D.) : Prof.Dr. Osman Selçuk ALDEMİR ADÜ Veteriner Fakültesi

Üye : Prof.Dr. Hasan EREN ADÜ Veteriner Fakültesi

Üye : Prof.Dr. Zeliha SELAMOĞLU OHU Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Prof.Dr. Atila AKÇA KAÜ Veteriner Fakültesi

Üye : Doç.Dr. Nuran AYSUL ADÜ Veteriner Fakültesi

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle danışmanım Sayın Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR'e ; Araştırma laboratuvarlarında uzun uğraşlarda destek olan Hocalarım; Prof. Dr. Hasan EREN, Prof. Dr. Tülin KARAGENÇ, Prof.Dr. Zeliha SELAMOĞLU, Prof.Dr. Atıla AKÇA, Doç. Dr. Nuran AYSUL, Doç. Dr. Süleyman AYPAK, Doç. Dr. Serkan BAKIRCI, Doç. Dr. Armağan Erdem ÜTÜK, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Bilgin BİLGİÇ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan Arkadaşlarım; Ahmet Hakan ÜNLÜ, Selin HACILARLIOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Arif ÇİLOĞLU, Hidayet TUTUN, Ejaz AHMAD, Zahid NASEER, Umair AHSAN'a teşekkür ederim



İÇİNDEKİLER

KABUL ONAYI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Arıcılığın Tarihçesi ve Gelişimi	4
2.2. Arıcılık Yöntemleri	4
2.2.1. Konvansiyonel Arıcılık.....	5
2.2.2. Organik Arıcılık.....	6
2.2.3. Gezgin (Göçer) Arıcılık.....	7
2.3. Arı Yetiştiriciliğinde Kullanılan Arı Irkları ve Ekotipleri.....	9
2.3.1. Dünyada Arı Irkları	9
2.3.2. Türkiye’de Arı Irkları	9
2.4. Bal Arısı Hastalıkları	10
2.4.1. Arıların Bakteriyel Hastalıkları	13
2.4.1.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü	13
2.4.1.2. Avrupa Yavru Çürüklüğü	13
2.4.1.3. Septisemi Hastalığı	13
2.4.1.4. Kabuklu Larva Hastalığı (Tozlu Larva Hastalığı).....	13
2.4.1.5. Spiroplasma	13
2.4.2. Bal Arılarının Viral Hastalıkları	13
2.4.2.1. Akut Arı Felci.....	13
2.4.2.2. Kashmir Arı Virüsü	14
2.4.2.3. Kronik Arı Felci.....	14
2.4.2.4. Torba Çürüklüğü (Sacbrood).....	14
2.4.2.5. Deforme Kanat Virüsü.....	14
2.4.2.6. Yavaş Paraliz Virüsü	14

2.4.2.7. Siyah Ana Arı Virüsü	14
2.4.2.8. Arı X Virüsü	14
2.4.2.9. Bulutlu Kanat Virüsü.....	15
2.4.2.10. <i>Apis iridescent</i> Virüsü	15
2.4.2.11. İsrail Akut Felç Virüsü	15
2.4.3. Bal Arılarının Paraziter Hastalıkları	15
2.4.3.1. Nosemosis (Nosema Hastalığı)	15
2.4.3.2. Amoeba Hastalığı	15
2.4.3.3. Gregarine'ler.....	15
2.4.3.4. Dizanteri Hastalığı.....	16
2.4.4. Bal Arılarının Mantar Hastalıkları.....	16
2.4.4.1. Kireç Hastalığı (Chalkbrood)	16
2.4.4.2. <i>Bettsia alvei</i>	16
2.4.4.3. Taş Çürüklüğü (Stonebrood)	16
2.4.5. Bal Arılarının Ektoparaziter Hastalıkları.....	16
2.4.5.1. <i>Tropilaelaps clareae</i>	16
2.4.5.2. <i>Tropilaelaps koenigerum</i>	16
2.4.5.3. Trakea Akarı	17
2.4.5.4. Büyük Petek Güvesi	17
2.4.5.5. Küçük Petek Güvesi	17
2.4.5.6. Arı Biti	17
2.4.5.7. Küçük Kovan Böceği.....	17
2.4.5.8. <i>Varroa underwoodi</i>	17
2.4.5.9. <i>Euvarroa sinhai</i>	18
2.4.5.10. <i>Euvarroa wongsiri</i>	18
2.4.5.11. <i>Varroa destructor</i>	18
2.4.5.11.1. Hastalığın Epidemiyolojisi ve Yayılışı.....	19
2.4.5.11.2. Hastalığın Etkenleri	20
2.4.5.11.2.1. Etkenlerin Morfolojisi	21
2.4.5.11.2.2. Hastalık Etkenlerinin Yaşam Döngüsü ve Çoğalması.....	21
2.4.5.11.3. Patojenite	23
2.4.5.11.4. Teşhis	25
2.4.5.11.4.1. Moleküler Teşhis Metodları	26
2.4.5.11.4.2. Saflaştırma Metodları (Ekstraksiyon).....	26

2.4.5.11.4.3. <i>Varroa destructor</i> 'un Teşhisinde Kullanılan Moleküler Teknikler	27
2.4.5.11.4.3.1. DNA Tabanlı Teknikler	27
2.4.5.11.4.3.1.1. Standart Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	27
2.4.5.11.5. <i>Varroa</i> ile Mücadele Yöntemleri	28
2.4.5.11.5.1. Kimyasal Mücadele.	28
2.4.5.11.5.2. Organik Asitlerin Kullanımı	33
2.4.5.11.5.2.1. Formik Asit (HCOOH)	33
2.4.5.11.5.2.2. Laktik Asit (CH ₃ CHOH-COOH)	35
2.4.5.11.5.2.3. Oksalik Asit (H ₂ C ₂ O ₄)	35
2.4.5.11.5.3. Biyolojik Kontrol Yöntemleri	36
2.4.5.11.5.3.1. Yavrulu Gözlerin Taşınması ve Tuzak Yöntemi	37
2.4.5.11.5.3.2. Tel Kafesli ve Çekmeceli Taban Uygulama Yöntemleri	37
2.4.5.11.5.3.3. Isı Uygulamalarından Yararlanma	38
2.4.5.11.5.3.4. Genç Ana Arı Kullanma Yöntemi	38
2.4.5.11.5.3.5. Polen Tuzağı Kullanmak	38
2.4.5.11.5.3.6. Erkek Yavru Gözü Üretiminin Sınırlandırılması	39
2.4.5.11.5.3.7. Biyolojik Kontrolde Yeni Bir Yaklaşım	39
2.4.5.11.5.4. Bitkisel Kaynaklı Mücadele	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. GEREÇ	43
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyal	43
3.2. YÖNTEM	43
3.2.1. DNA Ekstraksiyonu	43
3.2.2. Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kiti İle DNA Ekstraksiyonu	43
3.2.3. Pozitif Kontrol Örneğinin Sekansının Belirlenmesi	44
3.2.4. <i>Varroa destructor</i> Mitokondriyal <i>Cox1</i> Geninin İncelenmesi	44
3.2.4.1. Solignac ve ark (2005) tarafından belirlenen Yöntemin uygulanması	44
3.2.4.1.1. Optimizasyon	44
3.2.4.1.2. Amplifikasyon	45
3.2.4.1.3. Agaroz Jel ve Elektroforez	45
3.2.4.1.4. <i>SacI</i> Restriksiyon Enziminin Kullanılması	45
3.2.4.1.5. Agaroz Jel Görüntülenmesi	46
3.2.4.2. Strapazzon ve ark (2009) tarafından belirlenen yöntemin uygulanması	46
3.2.4.2.1. Optimizasyon	46

3.2.4.2.2. Amplifikasyon	46
3.2.4.2.3. AgaroZ Jel ve Elektroforez	47
3.2.4.2.4. <i>Xho</i> I ve <i>Sac</i> I Restiriksiyon Enzimlerinin Kullanılması.....	47
3.2.4.1.5. AgaroZ Jel ve Elektroforez	47
4. BULGULAR	52
4.1. Hücre İzolasyonu ve DNA Ekstraksiyonu	52
4.2. Optimizasyonda Optimal Koşulların Oluşturulması ve Değerlendirilmesi.....	53
4.3. Genetik İlişkinin Değerlendirilmesi	53
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	80

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A.	: Aspergillus
<i>A. mellifera</i>	: <i>Apis mellifera</i>
ABVP	: Akut Arı Felci Virüsü
AKS	: Arı Kayıt Sistemi
p	: Baz çifti
COLOSS	: Prevention of COlonoy LOSSes
Cox1	: Cytochrome oxidase 1
CWV	: Bulutumsu Kanat Virüsü
dk.	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotit
DWV	: Deforme Kanat Virüsü
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
g	: Gram
GTHB	: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
KBV	: Kaşmir Arı Virüsü
M	: Marker
M	: Molar
MgCl₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Millimolar
MRL	: İzleme Metodu Tespit Limiti
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
MTO	: Marmaris Ticaret Odası
N	: Negatif kontrol
°C	: Santigrat
P	: Pozitif kontrol
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMS	: Parasitic Mite Sendrom
RFLP	: Restriksiyon Parçacık Uzunluğu Polimorfizmi

SBPV	: Yavaş Arı Paraliz Virüsü
TAE	: Tris-acetate-EDTA
U	: Ünite
V.	: <i>Varroa</i>
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Gezginci arıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanları.....	8
Şekil 2. Türkiye Bal Yetiştirme Alanları	8
Şekil 3. Nedenlerine Göre Arı Koloni Kayıpları Haritası	12
Şekil 4. Varroanın yaşam döngüsü	23
Şekil 5. Toplanan örneklerin bölgelere göre dağılımı.....	52



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Optimizasyonda Optimal Koşulların Oluşturulması ve Değerlendirilmesi	56
Resim 2. <i>Varroa destructor</i> Cox1 gen amplifikasyonu	57
Resim 3. <i>SacI</i> restiriksiyon enzimi kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri	57
Resim 4. <i>Varroa destructor</i> Cox1 gen amplifikasyonu	58
Resim 5. <i>XhoI</i> ve <i>SacI</i> Restiriksiyon enzimleri kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri	58
Resim 6. <i>XhoI</i> ve <i>SacI</i> Restiriksiyon enzimleri kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri	59



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye arıcılık verileri	2
Tablo 2. Bal arılarında görülen hastalıklar, hastalık etkeni ve etki ettiği dönem	11
Tablo 3. Hastalık etkenlerinin yaygın olarak görüldüğü başlıca bölgeler	20
Tablo 4. <i>Varroa</i> 'nın üreme hızı.....	22
Tablo 5. Kış aylarına <i>Varroa destructor</i> ile giren kolonilerde yaşama gücü.....	24
Tablo 6. Ulusal Kalıntı İzleme Planı'nda ve balda aranan kimyasallar ve MRL değerleri.....	29
Tablo 7. GTHB (2016) Ruhsatlı ithal ektoparazit preparatları	32
Tablo 8. GTHB(2016) Ruhsatlı yerli ektoparazit preparatları.....	32
Tablo 9. Formik Asit Kısa Süreli Uygulama Şekli (Kurt, 2007)	34
Tablo 10. Laktik Asit Uygulama Şekli (Kurt, 2007)	35
Tablo 11. Oksalik Asit Uygulama Yöntemleri ve Öneriler (Kurt, 2007)	36
Tablo 12. GTHB (2016) Ruhsatlı ithal ektoparazit preparatları.....	41
Tablo 13. GTHB(2016) Ruhsatlı yerli ektoparazit preparatları.....	41
Tablo 14. RFLP'de Kullanılan Reaksiyon Karışımları	48
Tablo 15. Aydın Bölgesindeki <i>Varroa destructor</i> Haplotip Dağılımı.....	54
Tablo 16. <i>Varroa destructor</i> kore haplotipi sekans sonucu	55

ÖZET

AYDIN BÖLGESİNDEKİ BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BULUNAN *Varroa destructor*'un (AKAR: *Varroidae*) GENETİK KARAKTERİZASYONU

Ayan A. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Programı
Doktora Tezi, Aydın, 2017.

Bu çalışmada; Aydın bölgesinde bal arılarında (*Apis mellifera*) görülen *Varroa destructor*'un mitokondriyal Cox1 geninin haplotiplerinin belirlenmesi amacıyla farklı iki teknik modifiye edilerek uygulanmıştır.

Haplotip belirlenmesi amacıyla farklı sekansa sahip iki primer (ADA 01) Forward 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' ve Reverse 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' (ADA 02) [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] COXF ve [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'] COXRa seçilmiştir.

(ADA 01) Forward 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' ve Reverse 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' sekansa sahip primerle 376 bp büyüklüğünde DNA amplifiye edilmiştir. Amplifiye ürüne *SacI* restriksiyon enzimi uygulanmış ancak bu restriksiyon enzimi DNA'yı kesmediği görülmüştür.

(ADA 02) [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] COXF ve [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'] COXRa sekansa sahip primerle 570 bp büyüklüğünde amplifiye DNA elde edilmiştir. Elde edilen amplifiye DNA'ya *XhoI* restriksiyon enzimi ve *SacI* restriksiyon enzimleri uygulanmıştır. Ancak *SacI* restriksiyon enzimi DNA'yı kesmediği, *XhoI* restriksiyon enziminin ise elde edilen genomik DNA amplifikasyonunda 270 ve 300 bp büyüklüğünde iki band oluşturduğu saptanmıştır. Sonuçlar karşılaştırıldığında; Elde edilen bandların *V. destructor* Kore haplotipi için spesifik olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; *Varroa destructor*'un haplotipinin belirlenmesine yönelik yapılan bu araştırmada, İncelenen 200 örneğin tamamının *V. destructor* Kore haplotipi olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Varroa destructor*, Genetik karakterizasyon, Aydın

ABSTRACT

GENETIC CHARACTERIZATION OF *Varroa destructor* (FAMILY: *Varroidae*) PREVALENT IN HONEYBEES (*Apis mellifera*) IN THE PROVINCE OF AYDIN IN TURKEY

Ayan A. Department of Veterinary Parasitology, Graduate School of Health Sciences, Adnan Menderes University, PhD Thesis, Aydın, 2016.

The aim of the present study was to identify the haplotypes of the *Varroa destructor* mite which infects honeybees in the province of Aydın in Turkey, using two different modified techniques for the mitochondrial Cox1 gene of the mite.

In order to confirm the haplotype, two primers differing in their sequence i.e. (ADA 01) as forward primer 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' and reverse primer 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' and (ADA 02) with COXF primer [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] and COXRa primer [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'], were selected.

Amplified DNA 376 bp in size was acquired using (ADA 01) forward primer 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' and reverse primer 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3'. *SacI* restriction enzyme was applied to the amplified products; however, this restriction enzyme did not cut the DNA.

Amplified DNA, 570 bp in size was obtained using (ADA 02) COXF primer [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] COXRa and [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3']. *XhoI* and *SacI* restriction enzymes were used for the amplified products. Although, the *SacI* restriction enzyme did not cut the DNA, the *XhoI* restriction enzyme cut the amplified DNA into two fragments (bands), with the sizes of 270 and 300 bp two bands 270 and 300 bp. While comparing the results, these bands were found specific for Korean haplotype of *V. destructor*.

In conclusion, all of the 200 samples of *V. destructor* examined in this study were identified to be the Korean haplotype.

Key words: *Varroa destructor*, genetic characterization, Aydın

1. GİRİŞ

Türkiye, farklı iklim ve doğa koşulları, milyonlarca arılı kovan sayısı, arazi yapısı, çok zengin bitki örtüsü ve bal arısı popülasyonlarındaki genetik çeşitlilik bakımından büyük arıcılık potansiyeline sahip bir ülkedir. Arıcılık, dünyanın diğer ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de hızlı bir gelişim gösteren, yapısal olarak da doğal denge ve tarımsal üretimin devamlılığını ve verimliliğini sağlayan çok önemli bir sektördür (Sıralı, 2010). Arıcılık, Anadolu'nun en eski üretim etkinliklerinden biridir. Eskiden sadece aile ihtiyacını karşılayacak balı üretmek için yapılan arıcılık günümüzde ticari bir iş kolu haline gelmiştir (Kekeçoğlu, 2009). Arıcılık, gerek bitkilerin nektarından bal üretilerek hayvansal üretime, gerekse bitkilerin tozlaşmasında etkin rol oynayarak bitkisel üretime katkıda bulunan, aslında belirtilen her iki yönüyle de insanlığa hizmet eden önemli bir hayvansal üretim faaliyetidir (Sarıözkan ve ark, 2009).

Balın hasadı ve arıların bakımı ile ilgili uzun zamandır süregelen yöntemler ile birlikte arıların da genetik olarak değişime uğraması ve bölgelere uygun tür ve ekotiplerin karakteristik özellikleri ile birlikte balın insan sağlığına olan yararı, arıcılık işinin ticari yönünün oluşturulmasında büyük katkı sağlamıştır. Bu nedenle hem dünyada hem de ülkemizde sanayi devriminden sonra geliştirilen teknik ve teknolojiler, arılara etki eden hastalık ve zararlılara karşı bulunan yöntemler ve laboratuvar bulguları ışığında geliştirilen ilaçlar şimdiye kadar her zaman daha iyiye ve daha kontrollü olarak bu kaynağın üretimi ve tüketimini güçlendirmiştir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

Her ne kadar teknolojinin gelişmesi ile arıcılık altın çağını yaşamaya başlamış olup dünyada bal üretimi hususi olarak artırılmış olsa da hastalıklarla mücadelede kullanılan kimyasallar, deneyimsizlik ve denetimsizlikten dolayı süregelen yanlış inançlar ve uygulamalar ile birlikte bal endüstrisi her an gelişmekte ve her geliştiği an sekteye uğramakta, yeni sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu tür sorunların önüne geçilebilmek için de her gün yeni uygulamalar çıkartılmakta, ülkelerin kanunları bunlara göre düzenlenmekte ve sorun yaratacak hastalıklar için de yeni tedavi yöntemleri dünyanın her yerinde denenmektedir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

Türkiye 6,4 milyon kovan varlığı ile Çin'den sonra dünya ikincisidir. Çin'in kovan başına bal üretimi 46,4 kg iken Dünya ortalaması 23,5 kg'dır. Türkiye arıcılık verileri tablo

1’de verilmiştir. Çam balı üretiminde ise küresel talebin % 90’dan fazlasını tek başına karşılayabilen Türkiye, kovan başına düşen verim sıralamasında ise on ülke arasında son sıralarda yer almaktadır (Konak 2012). Bu üretimi en çok kısıtlayan sebep arı hastalık ve zararlılarıdır (Rangberg ve ark, 2012). Ekonomik kayıplar göz önünde bulundurulduğunda arı hastalık etkenleri içinde *Varroa* önemli yer tutmaktadır. Kolonilerin gelişme hızının azalmasına, bal arılarında kış kaybına, kolonide enfeksiyon oluşmasına, tarlacı arıların uçuş etkinliğinin, nektar ve polen toplama kapasitesinin azalmasına, ergin arılarda vücut deformasyonlarına ve canlı ağırlık kaybına neden olmaktadır. İleri düzeyde enfestasyonlarda ise koloni yok olmakta ve arılıkta ciddi ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (Yücel, 2005). Günümüzde *Varroa*’nın bulunmadığı arılıktan söz etmek neredeyse mümkün değildir. Dünyada ve ülkemizde, bu denli yaygın olan bu arı zararlısı ile mücadelede tamamen ve kalıcı bir yöntem henüz geliştirilmemiştir (Mert ve ark, 2007).

Tablo 1. Türkiye Arıcılık Verileri (2016)

ARICILIK VERİLERİ						
YIL	Arılı Kovan			Bal Üretimi	Bal verimi	Balmumu
	Eski Kovan (adet)	Yeni Kovan (adet)	TOPLAM (adet)	(ton)	(kg/kovan)	(ton)
2002	180.232	3.980.660	4.160.892	74.554	18	3.448
2003	190.538	4.098.315	4.288.853	69.540	16	3.130
2004	162.660	4.237.065	4.399.725	73.929	17	3.471
2005	157.059	4.432.954	4.590.013	82.336	18	4.178
2006	146.950	4.704.733	4.851.683	83.842	17	3.484
2007	135.318	4.690.278	4.825.596	73.935	15	3.837
2008	137.963	4.750.998	4.888.961	81.364	17	4.539
2009	128.743	5.210.481	5.339.224	82.003	15	4.385
2010	137.000	5.465.669	5.602.669	81.115	15	4.148
2011	149.020	5.862.312	6.011.332	94.245	16	4.235
2012	156.777	6.191.232	6.348.009	89.162	14	4.222
2013	183.265	6.458.083	6.641.348	94.694	14	4.241
2014	193.825	6.888.907	7.082.732	103.525	14	4.053
2015	223.015	7.486.621	7.709.636	107.665	14	4.750

<http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf>

Arı hastalık ve zararlıları hem dünyada hem ülkemizde uzun yıllardır endüstriyel arıcılığın en büyük sorunu olmuş, ayrıca ticari bal üretimi söz konusu olduğunda her zaman en

büyük engel olmuştur. Yine de gelişen teknoloji ve yapılan yeni araştırmalar ile hem geleneksel hem de yakın geçmişteki bulguların ışığında dünyada ve ülkemizde en çok bulunan hastalıkların karakterisiğini, özelliklerini, belirtilerini, ve çözüm önerileri konusunda arıcı ve meraklılarına sunulmuştur.

Bu tez çalışmasında; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde *Varroa* yaygınlığıyla ilgili olarak çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da Aydın bölgesinde *Varroa destructor*'un yaygınlığı ve genetik karakterizasyonu ile ilgili hiçbir bildirim bulunmamaktadır. Aydın bölgesinde arıcılığın yoğun olarak yapılması Varroosis ile ilgili sorunların yaşanmasına ve bu nedenle önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle ilgili çalışmada Aydın bölgesinde moleküler teknikler kullanılarak bölgede mevcut olan *Varroa destructor*'un genetik karakterizasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Arıcılığın Tarihçesi ve Gelişimi

Milattan önce 7000 yıllarına ait mağara resimleri, çok eski tarihlere ait arı fosilleri ve tarihi buluntular arı yetiştiriciliği ve arıcılığın insanlık tarihi kadar eski olduğunu göstermektedir. Mısır'da 4000 yıl önce arıcılığın yapıldığı ve o dönemlerde bala büyük önem verdikleri sofralarında ve ayinlerinde bal bulundurdıkları birçok yazılı belgede bildirilmiştir. Babiller balı hem gıda maddesi hem de ilaç olarak kullanmışlardır. Yunanlılar saplardan örülmüş kovan, sepet kovan ve tahta kovan kullanmışlardır. İspanya'da yapılan kazılarda bazı mağaralarda rastlanan arı ve bal resimleri arıcılığın bu ülkelerde de eskiden beri bilindiğini göstermektedir. Boğazköy kazılarında bulunan tarihi kalıntılar MÖ 1300 yıl öncesinde Hititliler devrinde arıcılığın önemli bir zirai faaliyet olduğunu göstermektedir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

MÖ 300'lü yıllarda Aristo, yazmış olduğu "Hayvanlar Tarihi" kitabında kovan içerisinde 3 tip arının olduğunu, arıların çiçek tozu topladıklarını, işçi arılar arasında iş bölümünün olduğunu bildirmiştir. Fatih Sultan Selim dönemlerinde çıkarılan Kanunnamelerde arıcılığa ait hükümler mevcuttur. Arıcılığın gelişmesinde ise, 1637-1680 yıllarında yaşamış olan Jan Swammerdam arı biyolojisi üzerinde çalışmıştır. 1750-1831 yılları arasında yaşamış İsviçreli François Huber "The Encyclopaedia Britannica"da arılara ait bazı bilgilere yer vermiştir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

1857 yılında Alman Mehring ilk temel petek kalıbını keşfetmiş olup, aynı yıllarda yaşamış Dzierson çerçevesi Langstroth kovanını geliştirmiştir. Dzierson, ayrıca arıların partenogenez teorisine göre çoğaldıklarını tespit etmiş ve iki çeşit yavru hastalığı olduğunu savunarak İtalyan arı ırkının yerli iyi bir arı ırkı olduğunu iddia etmiştir (Aldemir ve Bakırcı).

2.2. Arıcılık Yöntemleri

Her ne kadar kontrollü koloni bazlı arıcılık milattan önce 7000 yılına kadar uzansa da özellikle bu dönemden itibaren uzun bir süre arıcılık sadece geleneksel anlamda her hasat döneminde koloninin yok edilişi ile sonuçlanmış ve geleneksel kolonicilik üzerine yapılan ilk

çalışmalar sadece koloniyi koruyarak hasadı elde etmeye yönelik olmakla birlikte ilk kayıtları 18. Yüzyılda ortaya çıkmıştır. (Roffet-Salque ve ark, 2015). Bu dönemden itibaren, her ne kadar geleneksel arıcılık devam gösterse de, arıcılığın hem kovanlar açısından hem de koloni yönetimi açısından farklı gelişmelerle hasat miktarı geliştirilerek ticari anlamda bir sıçrama yapması sağlanmıştır. Günümüzde ise yine arıcılığın farklı yöntemleri mevcut olmakla birlikte, ihtiyaç farklarına göre her biri farklı bir kesime hitap etmektedir.

2.2.1. Konvansiyonel Arıcılık

Konvansiyonel kelime anlamı olarak, geleneksel demektir. Konvansiyonel arıcılıkta öncelikli olarak hedeflenen üretim miktarının yüksek olmasıdır. Organik arıcılıkta ürünün niteliği ön planda tutulurken, konvansiyonel arıcılıkta ürünün niceliği daha ön plandadır. Konvansiyonel arıcılık en güncel haliyle 30 Kasım 2011 tarihli, 28128 sayılı resmi gazetede yer alan “Arıcılık Yönetmeliği” çerçevesinde gerçekleştirilen bir hayvansal üretim faaliyetidir (Resmi Gazete, 2011; Saner ve ark, 2011).

Çoğunlukla Afrika, Asya ve Güney Amerika’da kullanılan en geleneksel arıcılık biçimidir. Taşınmayan ya da taşınmaya uygun olmayan haznelerde arı kolonileri oluşturularak bu kolonilerin ballarından genellikle gereksinim amaçlı üretim yapılarak yararlanılır. Kovanlar herhangi bir yapıdan oluşabilir bu yüzden çoğunlukla kovanın yapısını bozmadan bal hasadı yapmak zorlaşmaktadır. Aynı şekilde kovanlar genellikle taşınmaya veya kontrole uygun olmadığından, yavrulama veya hastalık kontrolü gibi hayati işlemler gerçekleştirilemeyebilir. Hatta bu sebepten dolayı Amerika ve Avrupa ülkelerinde bu tür geleneksel kovanların, ticari amaçlarla kurulmuş kolonilere hastalık bulaşmaması için, belirli bir mesafede bulundurulması için yasalar bulunmaktadır. Arı kolonileri yıl içerisinde hiçbir yere taşınmaz ve sadece yerel floradan toplanan bal ile ihtiyaç karşılama yoluna gidilir. Herhangi bir artırım ya da iyileştirme söz konusu olmadığı için, verim genellikle modern yöntemlere göre oldukça düşüktür. Bu düşüklüğe rağmen koloni yönetimi veya kovan bakımı söz konusu olmadığından basit gereçlerle sadece hasat toplamaya yönelik olarak masraflar da minimumda tutularak ekonomik bir hedef gözetilmeden arıcılık yapılabilmektedir; fakat koloni sağlığı göz önünde bulundurulduğunda modern yöntemlere göre bu tür geleneksel bir arıcılık biçimi oldukça sönük kalmaktadır (Kesarwani, 2014).

2.2.2. Organik Arıcılık

Dünyada organik tarımın yaygınlaşması ile Türkiye’de tüketicilerin organik tarım ürünlerine olan talebi artmıştır (Uygur, 2005). Organik arıcılık, arı ürünlerinin üretiminde, hijyen kurallarına uyularak üretimden tüketime kadar tüm aşamalarında hiçbir suni besleme ve kimyasal ilaçlama yapmadan, doğal yapısı bozulmamış alan veya organik tarım alanlarında her aşaması, organik tarım yönetmeliğine göre bir kontrol ve sertifikasyon kuruluşunca denetlenen ve sertifikalandırılan arıcılık faaliyetleri şeklinde tanımlanmaktadır (Saner ve ark, 2011).

Bir ürünün “organik” olarak tanımlanabilmesi ve pazarlanabilmesi için gerekli birtakım kural ve şartnamelere uyum sağlaması gerekmektedir (DC Council Regulation, 2015). Bu kurallar çerçevesinde olabildiğince kalınarak kovanların genellikle elle üretimi, kolonilerin kimyasallardan uzak bir şekilde, bağışıklığı yüksek jenerasyonun çoğaltımı, verim artırmak için petek boyutlarının coğrafi konum ve yerel floraya göre ayarlanması ve yerel iklime uyum sağlayan arı türlerinin kullanılması gibi yöntemlerle modernlikten çok da uzak olmayacak şekilde sadece üretilecek hasadın en saf haliyle üretilmesine olanak sağlayarak arıları üçüncü parti kimyasallardan ve etkenlerden uzak tutmaya yönelik uygulamalar organik arıcılık olarak nitelendirilir (Lusby, 2014).

Günümüzde organik arıcılık çalışmaları ve bu konudaki faaliyetler Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığınca çıkarılan “Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik” ilkelerine göre yapılmaktadır. Organik arıcılığın esasları ve uygulanmasına ilişkin yönetmelik 18.08.2010 tarihli 27676 sayılı resmi gazetede yayımlanmış olup, günümüz itibarıyla halen yürürlüktedir (Çakal, 2013; Resmi Gazete, 2010).

Organik arıcılıkta temel kavramlar çoğu zaman aynı kalmaktadır ve bunun üzerine oluşturulan yasalar ile de tüketici güvenini sağlamak amacıyla düzenlemeler getirilmiştir. Organik arıcılık yapmak için uyulması gereken kurallardan bazıları ise:

- Kovanlarda tamamen doğal malzemelerin kullanılması,
- Kolonilerin sağlıklı şekilde farklı yollarla korunması ve bakılması (Örnek olarak *Varroa* parazitlerinden korunmak için limon suyu kullanımı verilebilir).
- Avrupa standardı gereği 3 kilometrelik bir alanda saflığı önleyici etkenlerin bulunmaması (İngiltere için yasa 4 mil gerektirmektedir).
- Arıların kendi ballarını tüketmesine izin vermek. Balın tamamını hasat etmektense arıların kış için kendi ballarını tüketmesine izin verilir.

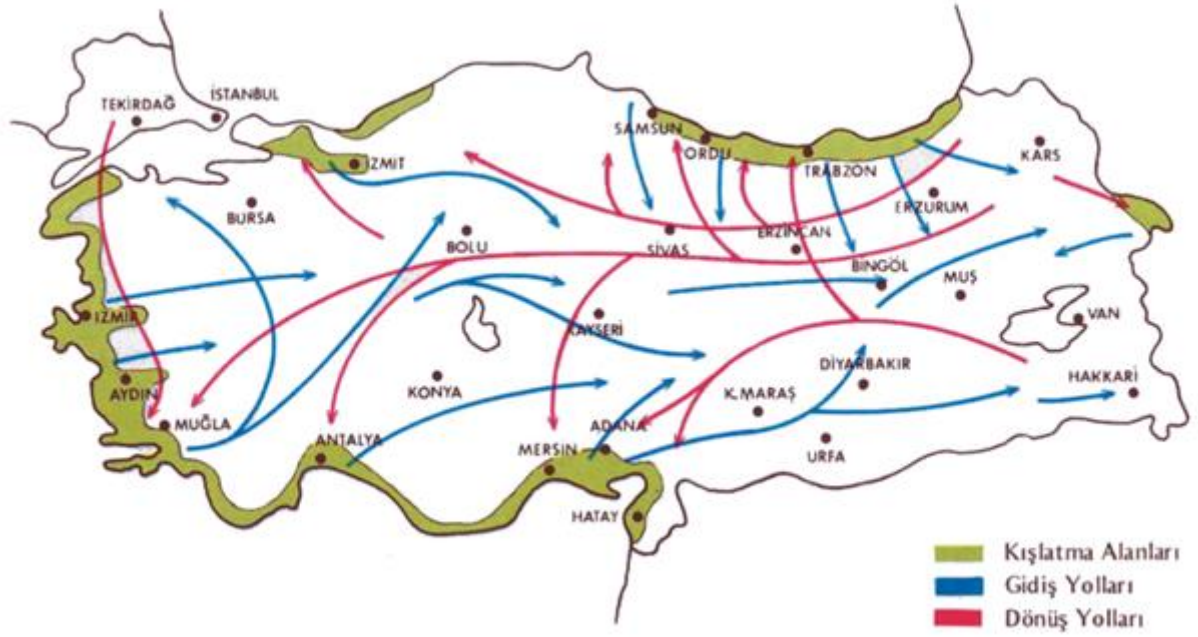
Bunlar sadece Avrupa genel geçer standartları olup örneğin İngiltere’de daha sert ve sıkı farklılıklar gösterebilmektedir. Kısacası organik arıcılık, modernleştirilmiş arıcılığın çözüm bulduğu sorunlara doğal bir yaklaşım ile çözümler arayarak balın kimyasal ve kirletici maddelerden uzak bir şekilde saflaştırılarak yine de geleneksel arıcılığın üzerine verim artırma çalışması yapmayı hedefler (Millar, 2015).

2.2.3. Gezgin (Göçer) Arıcılık

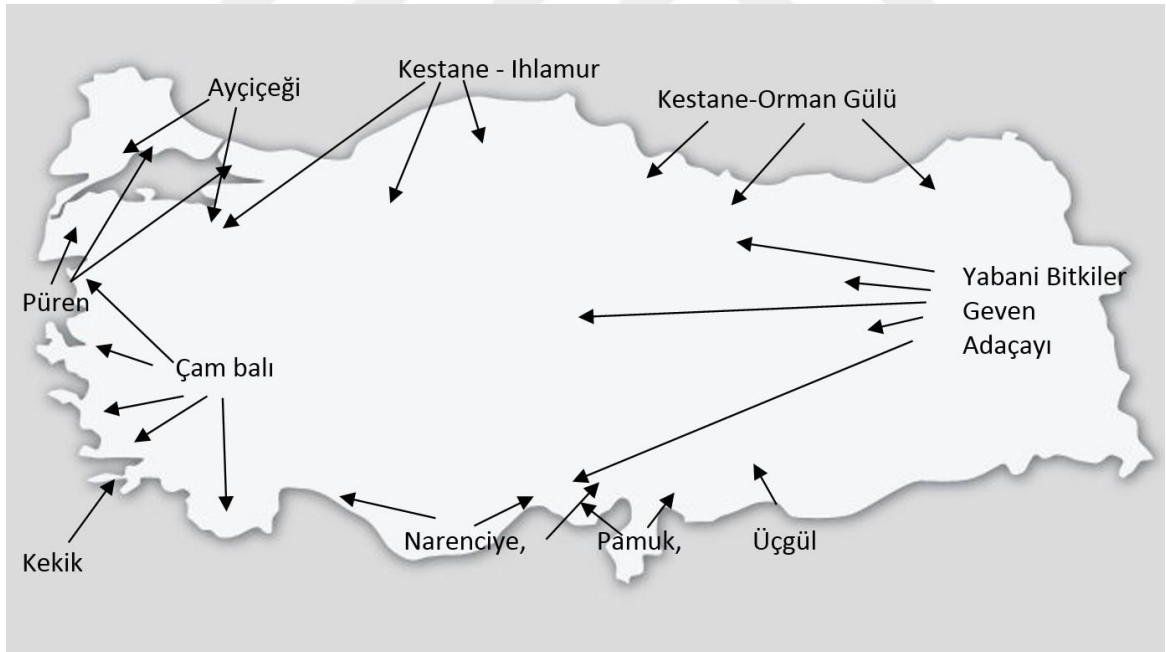
18. yüzyıldan itibaren geliştirilen çerçevesiz kovanlar sayesinde kovana tamamen yerleşmeden ve koloniyi dağıtmadan bal hasadına imkan sağlanması ile birlikte ticari amaçlı bal üretimine yönelik çalışmalar ve geliştirmeler günümüze kadar sürmüştür ve hala devam etmektedir (Wildman, 1768). Bu tür kovanların geliştirilmesi ve döllenmenin arıcı tarafından seçilerek yapılması sayesinde hem nesil üretimi hem de kraliçe arının seçimi tamamen insan kontrolünde olmuştur. Geliştirilen kovanlarla bal hasadı kolaylaşmış, aynı zamanda koloniler kovanlar arasında taşınarak arısütü, arı zehri ve polen gibi yan ürünler de bu şekilde alınabilir hale gelmiştir. Farklı materyallerle hazırlanan gerek hazır gerekse arıcıların inşa edebileceği farklı türde kovanlar ve kullanılan ilaçlama teknikleri ile suni nesil üretiminden, suni petek koyularak arıların sadece bal üretimine yoğunlaştırılması gibi birçok farklı yöntem ile bal üretimi en yüksek noktaya taşınmıştır. Kovanlardaki gelişmeler sayesinde koloniler polenin fazla olduğu bölgelere yıl içerisinde taşınarak, yıllık hasadın miktarı kayda değer şekilde artırılır. Bu yöntem şu anda gelişmiş ülkelerde en yaygın olan yöntem olmakla birlikte, Dünya bal üretiminin çoğunluğunu oluşturmaktadır. (Koç Arıcılık, 2015)

Gezgin arıcılık, bir koloniden daha fazla verim alabilmek ve bitkilerde tozlaşmayı sağlamak amacıyla kovanların bir yerden başka bir yere taşınmasına denir (Sandal ve Kan, 2013). Sonbaharda iklimin daha sıcak ve bitki örtüsünün arıcılık için uygun olduğu Akdeniz, Ege ve Karadeniz kıyı kesimine taşınan kovanlar ilkbahar sonu ve yaz başında tekrar yüksek rakımlı Doğu Anadolu bölgesindeki yaylalara taşınır. Gezgin arıcıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanlarına ilişkin harita şekil 1’de; Türkiye Bal Yetiştirme Alanları (MTO, 2012) ise şekil 2’de sunulmuştur.

Türkiye’deki 6,4 milyon koloninin yaklaşık 5,4 milyonu gezgin arıcılık yapmaktadır (Çakal, 2013).



Şekil 1. Gezgin arıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanları (GTHB Arıcılık Sektör Raporu Ekim, 2013).



Şekil 2. Türkiye Bal Yetiştirme Alanları (MTO, 2012)

2.3. Arı Yetiştiriciliğinde Kullanılan Arı Irkları Ve Ekotipleri

2.3.1. Dünyada Arı Irkları

Bal arıları toplamda tahmini 20.000 olarak belirlenen arı türlerinin sadece küçük bir kısmını temsil etmektedir. Dünyada, günümüzde arıcılık ile uğraşan çoğu insan sadece İtalyan Arısı olarak da bilinen *Apis mellifera ligustica* isimli arı türü ile bal üretimi yapmaktadır. Ticari anlamda en çok kullanılan bu tür farklı bölgelerde yine *Apis mellifera* bal arısının alt türleri de gözlemlenmektedir. Belirtilen 20.000 tür içerisinde toplamda 7 bal arısı türü bulunmakta ve bunların da toplamda 44 alt türü bulunmaktadır (Engel, 1999).

Apis mellifera'nın coğrafik dağılımına ilişkin bilimsel olarak kabul görmüş olan ilk çalışmalar Friedrich Ruttner (1988) tarafından yapılmıştır. Amerikalı bilim adamı Friedrich Ruttner ise arıları: 1-Afrika arıları, 2-Yakın Doğu arıları, 3-Orta Akdeniz ve Güneydoğu Avrupa arıları, 4-Batı Akdeniz ve Kuzeybatı Avrupa arıları olmak üzere dört gruba ayırmıştır. Bu gruplandırmada Kafkas arıları Yakın Doğu arıları grubuna dâhil edilmektedir (Okumuş ve ark, 2012).

2.3.2. Türkiye'de Arı Irkları

Subtropik iklimden karasal iklime kadar değişik iklim koşullarının görüldüğü Anadolu, sahip olduğu zengin ve çeşitli florası ile de Afrika ve Avrupa kara parçaları ile birlikte arının ana yurdu sayılmaktadır. Anadolu, birçok bal arısı ırk ve eko tipinin bulunduğu bir yarımadadır. *Apis mellifera* morfoloji ve genetik karakterler bakımından farklılık göstermektedir. Enzim ve Mitokondriyal DNA (mtDNA) farklılıklarının incelenmesi balarılarında genetik ve coğrafik farklılıkları göstermede oldukça yararlı metotlardır. (Smith ve Brown, 1988; Smith ve ark, 1989; Cornuet ve Garnery, 1991; Hall ve Smith, 1991; Garnery ve ark, 1992; Arias ve Sheppard, 1996; Palmer ve ark, 2000). Anadolu, arı ıslah çalışmaları yapan yabancı bilim adamları tarafından da Dünya üzerindeki önemli ve zengin gen havuzlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Türkiye, Dünya arı ırklarının % 20'sinin gen merkezi olup farklı çevre koşullarında 5 farklı arı genotipi (*Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera meda*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera syriaca*, *Apis mellifera carnica*) bulunmaktadır. Kuzeydoğusunda *Apis mellifera caucasica* (Kafkas arısı), güneydoğusunda

Apis mellifera meda (İran arısı) ve *Apis mellifera syriaca* (Suriye arısı), Trakya bölgesinde *A.m. carnica* (Karniyol arısı) ve geriye kalan diğer alanlarda ise *Apis mellifera anatoliaca* (Anadolu arısı) alt türleri dağılım göstermektedir (Çakmak, 2004; Konak, 2012).

Ülkemizde bu beş alttüre ilaveten Muğla, Gökçeada, Bolu, Trakya, Balıkesir, Kırklareli, Eskişehir, Düzce ve Kıbrıs gibi arı ırk ve eko tiplerinin olduğu, günümüzde moleküler tekniklere morfometri ve enzim polimorfizmine dayanılarak belirlenmiş olup Yığılca eko tipi üzerine araştırmaların yapıldığı bilinmektedir. Bu ırk ve eko tipler hakkında çeşitli tartışmalar olmakla birlikte henüz bu ırklar ve eko tipler üzerinde tam bir bilimsel sınıflandırılma yapılamamıştır (Kence, 2006). En kapsamlı çalışma Kükrer (2013) tarafından yapılmış olup, göçer arıcılığın genetik etkileri ilk defa gösterilmiştir. Ana arı ve kovan satışlarının etkisi ticari amaçlarla sıkça kullanılan Kafkas arısına ait genlerin yayılması üzerinden gösterilmiştir.

2.4. Bal Arısı Hastalıkları

Bal arılarında özellikle gelişme dönemlerinde çok sayıda patojen ve zararlı hastalık oluşturabilmektedir. Dünyadaki hızlı ulaşım, ülkeler ve kıtalar arası arı, arı ürünleri ve arıcılık malzemeleri ticareti arı hastalıklarının kısa sürede tüm ülkelere yayılmasına neden olmuştur. Bilinçsizce ve yanlış yapılan uygulamalar hem ekonomik kayıplara hem de hastalığın sağlam kolonilere yayılmasına neden olmaktadır. Arı hastalıkları ülkemiz arıcılığında önemli kayıplara yol açmaktadır. Arı hastalıkları, hastalığı oluşturan etmene göre; bakteriyel (Amerikan ve Avrupa Yavru Çürüklüğü, Septisemi), fungal (Kireç ve Taş hastalığı), viral (Arı Felci ve Tulumsu Yavru Çürüklüğü), paraziter (*Varroa destructor*, *Acarapis woodi*) ve protozoon (Nosema ve Amoeba) ya da hastalığın oluştuğu konağa göre; ergin ve yavru arı hastalıkları olarak sınıflandırılabilir Bal arılarında görülen hastalıklar, hastalık etkeni ve etki ettiği dönemler tablo 2’de verilmiştir (Uygur ve Girişgin, 2008).

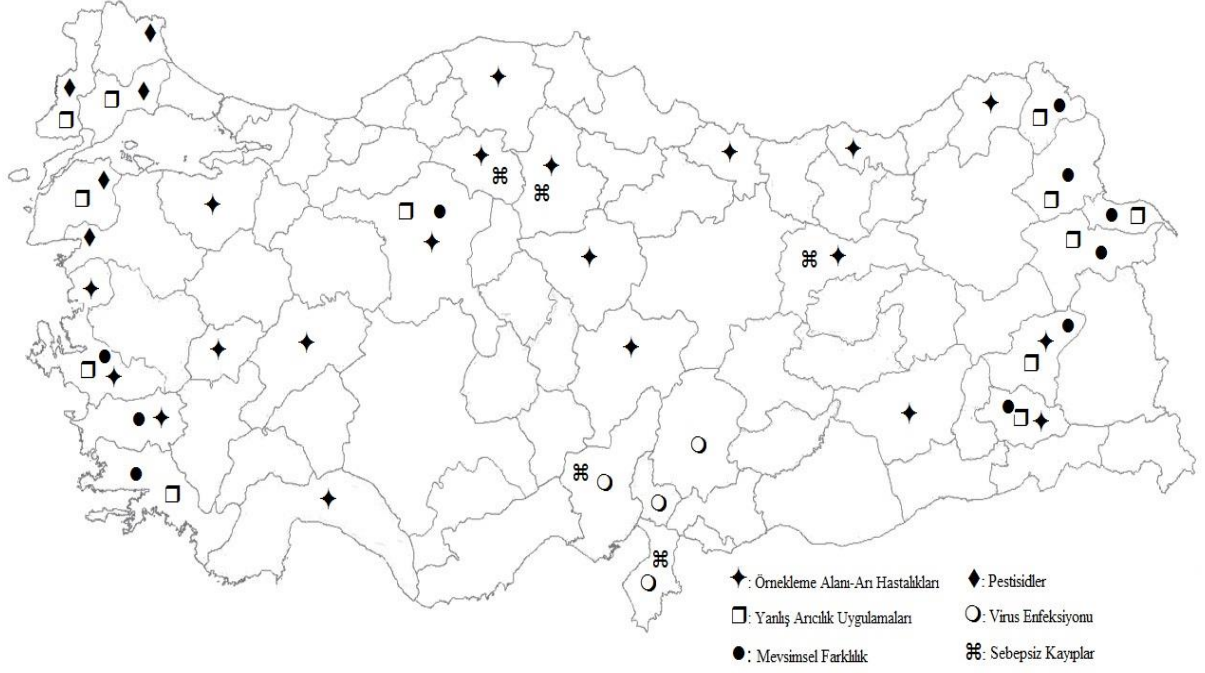
İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıkları ve Bildirimine İlişkin Yönetmelik incelendiğinde arı hastalıklarında ihbarı zorunlu olan iki hastalığın olduğu görülmektedir. Bunlar Küçük kovan kurdu (*Aethina tumida*) ve Amerikan yavru çürüklüğü hastalıklarıdır. Bu hastalıkların ihbarı mecburi olmasına rağmen; Hayvan Hastalıklarında Tazminat Yönetmeliği’nde herhangi bir tazminatlı arı hastalığı bulunmamaktadır (Resmi Gazete, 2012).

Tablo 2. Bal arılarında görülen hastalıklar, hastalık etkeni ve etki ettiği dönem (Uygur ve Girişgin, 2008)

HASTALIK ADI	ETKEN	ETKEN GRUBU	ERGİN/YAVRU BAL ARISI
Amerikan Yavru Çürüğü	<i>Paenibacillus larvea</i>	Bakteri	Yavru
Avrupa Yavru Çürüğü	<i>Melisococcus pluton</i>	Bakteri	Yavru
Septisemi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bakteri	Ergin
Paraliz(arı felci)	20 civarında virüs	Virüs	Ergin
Tulumsu Yavru Çürüğü	<i>Morator aitatulas</i>	Virüs	Yavru
Kireç Hastalığı	<i>Ascospaera apis</i>	Mantar	Yavru
Taş Hastalığı	<i>Aspergillus flavus</i>	Mantar	Ergin/Yavru
Nosema Hastalığı	<i>Nosema apis</i>	Protozoon	Ergin
Nosema ceranae Hastalığı	<i>Nosema ceranae</i>	Protozoon	Ergin
Amoeba Hastalığı	<i>Malpighamoeba mellificae</i>	Protozoon	Ergin
Trakea Akarı	<i>Acarapis woodi</i>	Artropod	Ergin/Yavru
Arı Akarı	<i>Varroa destructor</i>	Artropod	Ergin/Yavru
Bal Mumu (Petek) Güveleri	<i>Galleria mellonella</i> , <i>Achroia grisella</i>	Artropod (insect)	Petek güvesi
Arı Biti	<i>Braula coeca</i>	Artropod (insect)	Ergin
Küçük kovan böceği	<i>Aethina tumida</i>	insect	Kovan bal zararlısı

Günümüzde birçok etmeden dolayı bal arılarında özellikle ABD ve sonrasında Avrupa'da yüksek seviyede ölümler ve koloni kayıplarının endişe verici seviyelere çıkmıştır. Ani koloni sönmeleri olarak adlandırılan; kovan ve çevresinde ölü arıların hiç bulunmadığı veya çok az bulunduğu genellikle tarlacı arıların uçuş için kovan dışına çıkıp geri dönmeleri ile karakterize bir durumdur. Tarmacı arıların kraliçe arı, genç ve yavru arıları kovana terk ederek ortadan kayboldukları bildirilmektedir. Bu durum Türkiye'nin farklı bölgelerinde de görülmüştür (Muz, 2008).

Arı koloni kayıplarının tek bir nedene bağlı olarak değerlendirilemeyeceği; kayıpları enfeksiyona bağlı bakteri, parazit ve virüs, ayrıca zirai kimyasalların usulsüz kullanımı, su ve atmosfere yansıyan çevre kirliliği, iklim değişimleri, radyoaktif ve manyetik kirlilik gibi dış etmenlerin varlığında Arı Koloni Kayıpları oluşabileceği bildirilmiştir (Muz, 2008). Nedenlerine göre arı koloni kayıpları haritası şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. Nedenlerine Göre Arı Koloni Kayıpları Haritası (Muz, 2008)

Arı koloni kayıplarının sebebi araştırılmak üzere Dünya Arı Patologlarının kurduğu COLOSS (Prevention of Colony LOSSes) grubu 53 ülkeden 342 üyesiyle çalışmalara başlamıştır. Her ülke kendi arılarındaki durumu rapor etmiş ve dünyadaki bu kayıplar yorumlanmaya çalışılmıştır. Türkiye COLOSS grubunun yönetim kurulunu oluşturan 6 ülkeden biri olmuştur. Bu süreçte yeni patojenler bulunmuş, arı kayıplarının bazı belirtileri “sendrom” olarak tanımlanmak suretiyle sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Ülkemizde de yüksek düzeyde koloni kayıpları yaşanmıştır. Hacettepe Üniversitesi Arı ve Arı Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi’ne gelen kayıp şikâyetleri kaydedilmiştir (Çakmak, 2012).

AKS (Arı Kayıt Sistemi)’de ki önemi ile dikkat çeken parazitler akar *Varroa spp.*’ dir. 1977 yılından bugüne Türkiye’deki arılıklarda bildirilmektedir. Bal arılarının en önemli ektoparazit akarı olan *V.destructor* ile doğal enfeste arı kolonileri normal şartlar altında 3-4 yıl yaşayabilmektedir. Ancak, akar bal arılarının hemolenfinden beslenmesi sırasında açtığı yara odakları ile vektörlüğünü yaptığı viral, bakteriyel, mantar ve diğer patojenlere geçiş kolaylığı sağlamaktadır. Bal arıları kolonilerinde *Varroa* vektörlüğü yardımıyla gelişen mikts enfeksiyon tablosu ani koloni kayıpları ile ilişkilendirilmiştir. Günümüzde *Varroa* ile mücadelede çeşitli yöntemler geliştirilmiş ve arılıktaki etkisi en aza indirilmeye çalışılmıştır (Muz, 2008).

2.4.1. Arıların Bakteriyel Hastalıkları

2.4.1.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü

Amerikan Yavru Çürüklüğü (*American Foulbrood, Paenibacillus larvae*) larvalara etki eden en yaygın hastalıktır (Genersch, 2006).

2.4.1.2. Avrupa Yavru Çürüklüğü

Avrupa Yavru Çürüklüğü (European Foulbrood, *Melissococcus plutonius*) arı larvalarının iç gövdesine etki eden bakteriyel bir hastalıktır (Bailey ve Ball, 1991).

2.4.1.3. Septisemi Hastalığı

Septisemi hastalığı birkaç farklı bakteri tarafından oluşturulsa da en çok bilineni ve yaygın olanı *Pseudomonas aspipectica*'dır (Sammataro ve Avitabile, 2011).

2.4.1.4. Kabuklu Larva Hastalığı (Tozlu Larva Hastalığı)

Paenibacillus pulvifaciens adlı bakteri sayesinde meydana gelen nadir görülen bir hastalıktır (Kurt, 2014).

2.4.1.5. Spiroplasmosis

İki farklı ana *Spiroplasma melliferum* ve *Spiroplasma apis* türünün bal arılarına etki etmesinden meydana gelen hastalıktır (Schwarz ve ark, 2014).

2.4.2. Bal Arıların Viral Hastalıkları

2.4.2.1. Akut Arı Felci

Bu hastalığa sebep olan virüs Dicistroviridae ailesine aittir (Miranda ve ark, 2010).

2.4.2.2. Kashmir Arı Virüsü

Akut arı felci ile aynı aileye sahip bir virüstür (Kurt, 2014).

2.4.2.3. Kronik Arı Felci

Tamamıyla henüz tanımlanmamış bir virüs tarafından etki göstermektedir (Ribi re ve ark, 2010).

2.4.2.4. Torba  r kl g  (Sacbrood)

Hastalık ilk olarak 1913 yılında Kanada ve Amerika'da görülmüş sonrasında ise 1917 yılında hastalıkla ilgili ilk rapor White tarafından yazılmıştır (Grabensteiner ve ark, 2001).

2.4.2.5. Deforme Kanat Virüsü

Deforme kanat virüsü adından da anlaşılabilceği üzere ana belirtisi olarak deforme olmuş ya da b y yememiş kanatlarla oluşan genç arılarda görülür (Martin ve ark, 2012).

2.4.2.6. Yavaş Paraliz Virüsü

1974'te İngiltere'de keşfi yapılan bu virüs genellikle arının ölümden birkaç gün önce iki  n ayağının felce uğraması ile bilinir (Sammataro ve Yoder, 2012).

2.4.2.7. Siyah Ana Arı Virüsü

Belli bir bölgeye etkisi olmamakla birlikte sadece ana arıların larva ve pupalarında rastlanmaktadır (Snyder, 2013).

2.4.2.8. Arı X Virüsü

Bu virüs genellikle Avrupa ve İngiltere olmak üzere tüm dünyada görülmektedir. (Bailey ve Ball, 1991).

2.4.2.9. Bulutlu Kanat Virüsü

Diğer viral hastalıklara göre daha yaygın olan bir virüstür (Carreck ve ark, 2010).

2.4.2.10. *Apis iridescent* Virüsü

Bu virüs Hindistan'daki *Apis cerana* türü arıların küme oluşturma hastalığına dayandırılır (Bailey ve Ball, 1991).

2.4.2.11. İsrail Akut Felç Virüsü

İsmi ilk teşhis edildiği yerden alan bu virüs, 2002'de ilk kez bir ölü arı kümesindeki pupalar ve arıların incelenmesi ile gözlemlenmiştir (Miranda ve ark, 2010).

2.4.3. Bal Arılarının Paraziter Hastalıkları

2.4.3.1. Nosemosis (Nosema Hastalığı)

Hastalığın sebebi *Nosema apis*'tir. Bu tek hücreli dünyada en yaygın ergin arı hastalığına yol açmaktadır (Kurt, 2014).

2.4.3.2. Amoeba Hastalığı

Malphighamoeba mellifica adlı parazitin meydana getirdiği hastalıktır (Shimanuki ve Knox, 2000).

2.4.3.3. Gregarine'ler

Gregarine sınıfından Leidyana türleri arıların bağırsak yollarına yerleşerek çoğalır ve nektar ya da su ile diğer arılara bulaşır (Kurt, 2014).

2.4.3.4. Dizanteri Hastalığı

Dizanteri hastalığı adi ishal olarak da bilinir (Kurt, 2014).

2.4.4. Bal Arılarının Mantar Hastalıkları

2.4.4.1. Kireç Hastalığı (Chalkbrood)

Ascophera apis isimli 3 farklı alt türe sahip olan mantar bu hastalığı meydana getirir (Cushman ve Patterson, 2015; Moeller ve Williams, 1976).

2.4.4.2. *Betsia alvei*

Çoğunlukla Chalkbrood ile karıştırılan bir mantar türüdür (Campano ve ark, 1999).

2.4.4.3. Taş Çürüklüğü (Stonebrood)

Taş çürüklüğü *Aspergillus* genomundan farklı türlerin oluşturduğu nadir görülen bir hastalıktır (Shimanuki ve Knox, 2000).

2.4.5. Bal Arılarının Ektoparaziter Hastalıkları

2.4.5.1. *Tropilaelaps clareae*

Bir nevi Asya'ya özel *Varroa destructor* olarak düşünülebilir (Mortensen ve ark, 2014).

2.4.5.2. *Tropilaelaps koenigerum*

Sri Lanka bölgesinde görülmekte olup *Tropilaelaps clareae*'den daha küçüktür (Kurt, 2014).

2.4.5.3. Trakea Akarı

Hastalığın etkeni olan *Acarapis woodi* bal arılarının solunum sistemine yerleşir (Rennie, 1921).

2.4.5.4. Büyük Petek Güvesi

Hastalık etkeni *Galleria mellonella*, sarımsı boz renkte ve orta büyüklükte bir kelebek olup geceleri aktiftirler (Zeybek, 1991).

2.4.5.5. Küçük Petek Güvesi

Hastalık etkeni *Achroia grisella* (Fabricius, 1974), Larvaları Kovanlarındaki peteklerdeki balmumu ve polen ile beslenir (Nurulloğlu, 2003).

2.4.5.6. Arı Biti

Etkeni *Braula coeca*, gerçekte bir bit olmayan kanatsız bir insektir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

2.4.5.7. Küçük Kovan Böceği

Aethina tumida yaygın olarak kullanılan ismi ile Small hive beetle Afrika kıtasında Büyük Sahra'nın güneyinde kalan bölümde yerleşmiş bir böcektir (Aldemir ve Bakırcı).

2.4.5.8. *Varroa underwoodi*

Biçim olarak *Varroa destructor* benzeridir. Genellikle Güneydoğu Asya ve Güney Asya'dan bulunmaktadır. Nepal, Güney Kore, Çin ve Papua Yeni Gine'de örneklerine rastlanmaktadır. Boyut olarak ise *Varroa destructor*'dan küçüktür (Kurt, 2014; Anderson ve ark, 1997; Zhou ve ark, 2004).

2.4.5.9. *Euvarooa sinhai*

Sadece *Apis florea* türünü etkilemektedir fakat *Apis mellifera*'da etkili olabileceği gözlemlenmiştir. *Varroa destructor*'un aksine sadece erkek arı gözeneklerinde çoğalma yapar. Farklı türlere bulaşıp bulaşmadığı konusunda henüz bir çalışma yapılmamış olup, çoğalma döngüsü olarak *Varroa destructor*'a benzemektedir. Genellikle Güneydoğu Asya olmak üzere dünyanın farklı bölgelerinde gözlemlenebilir (Koeniger ve ark, 1993).

2.4.5.10. *Euvarroa wongsiri*

Tayland kökenli *Apis andreniformis* arısında gözlemlenen bir parazittir. Genellikle *Euvarroa Sinhai* ile karşılaştırılır. Güneydoğu Asya'da etkendir (Lekprayoon ve ark, 1991).

2.4.5.11. *Varroa destructor*

Varroa destructor, istatistiksel olarak arıcılık ekonomisine en çok zarar veren parazittir. İlk ortaya çıkışı 20. Yüzyılın başında Asya'da *Apis cerana* arısında olmuştur (Kurt, 2014). Bundan sonra ise *Apis mellifera*'ya sıçrayarak 1960'lardan itibaren tüm dünyaya yayılmıştır. Çıplak gözle görülebilen bir yapıya sahiptir. Genellikle 1.1 mm uzunluğunda ve 1.6 mm genişliğindedir. Bu parazitin arılarda yaptığı hastalığa ise varroosis adı verilmektedir. Sadece bal arısı kolonisi içerisinde üreyebilmekte olup yeterince üremesine izin verilirse koloni çöküşlerine yol açabilmektedir (Ritter ve Akrahanakul, 2006). Önceleri *Varroa jacobsoni* adlı tür ile karıştırıldığı için kendi başına incelemesi yapılmamıştır. Bu yüzden, üzerinde kontrol ve tedbir çalışmalarının bir nevi geç başladığı belirtilebilir, zira Anderson ve Trueman 2000 yılında *Varroa jacobsoni*'nin içinde *Varroa destructor*'u ayrı bir tür olarak tanımlamıştır (Delaplane, 2001).

Parazit Türkiye'ye 1976 yılında Bulgaristan üzerinden Trakya bölgesine, oradan da ayçiçeği balı üretmek için bölgeye giden Anadolu'daki arıcıların arılıklarına bulaşmış ve Anadolu'ya taşınmıştır. 1977-78 yıllarında Ege Bölgesinde görülen parazit daha sonra çam balı üretmek amacıyla ülkenin tüm bölgelerinden Ege Bölgesine özellikle Muğla iline gelen arıcıların arılıklarına bulaşmış ve onların kendi bölgelerine dönmeleri ile 4-5 yıl gibi çok kısa bir süre içerisinde tüm ülkeye yayılmıştır. Parazit ülkemizde ilk yıllarda çok büyük

tahribat yaparak yaklaşık 600 bin koloninin sönmesine ve 7000-7500 ton ürün kaybına neden olmuştur (Yücel, 2005).

Parazitin ülkeye girdiği ve tahribat yapmaya başladığı dönemde ülkenin koloni varlığının yaklaşık % 50'sinin ilkel kovanlardan oluşması, bu kovanlarda parazitin varlığının anlaşılmasının ve mücadelesinin zor olması nedeniyle tahribat oranı yüksek olmuştur. Gezgin arıcılığın yaygın bir şekilde yapılması, çam balı üretim döneminde çok fazla arıcının bir araya gelmesi gibi nedenler parazitin ülkemizde çok hızlı yayılmasına neden olmuştur. Bu yıllarda gerek parazit tahribatından dolayı ilkel kovanlardaki kolonilerin sönmesi gerekse arıcılarımızın bilinçlenmeye başlaması sayesinde ilkel kovan kullanım oranı hızla düşmüş ve modern kovan kullanım oranı artmıştır. Zaman içerisinde modern kovan kullanım oranlarının artması parazit mücadeleyi kolaylaştırmış ancak parazitin yayılmasını engelleyememiştir. Bugün parazit ülkemizin tüm bölgelerine yayılmış ve gerekli önlemler alınmadığında her an büyük çaplı koloni sönmelerine neden olabilecek durumdadır (Akyol ve Korkmaz, 2005).

2.4.5.11.1. Hastalığın Epidemiyolojisi ve Yayılışı

Varroa destructor, 2000 yılı öncesinde *Varroa Jacobsoni* olarak bilindiği için yapılan çalışmalar bu iki türün geneline hitap etmektedir. 2000 yılından sonra ise *Varroa Jacobsoni*'nin etkilediği *Apis cerana* arılarında kontrol altına alınabilir düzeyde zararlar yarattığı gözlemlendikten sonra asıl düşmanın *Varroa destructor* olduğu görülmüştür. Bu, *Apis mellifera* arılarının Asya'ya getirildiğinde, normal şartlarda *Apis cerana*'nın *Varroa*'ya karşı oluşturduğu savunma mekanizmalarının olmayışı ile birlikte parazitin ne kadar etkili olabileceği görülmüş ve 1960'lerden itibaren *Apis mellifera*'ya bu parazit yayılmıştır. Bu yayılımın da ani bir şekilde olmayıp 50 ila 100 yıllık bir süreç olduğu savunulmaktadır (Webster ve Delaplane, 2001; Delaplane, 2001).

Parazitin ortaya çıkışı ülkeden ülkeye değişmektedir. 1960'lerde Japonya ve Sovyetler Birliğinde gözlemlenen hastalık, 1960 ve 1970'lerde Doğu Avrupa'ya yayılmış ve Avrupa'ya yayılım sürecini en son 1987'de Portekiz'de ortaya çıkararak sonlandırmıştır. Parazit, çoğalma evrelerini yavru petek gözeneklerinde geçirdiği için yavrulamanın olmadığı kış dönemlerinin uzun olduğu iklimlerde yaşamını sürdürmekte zorlanır. Tropikal bölgelerde ise üreme her ne kadar yıl boyu sürse de dişi *Varroa*'lar üremekte zorluk çekmektedirler. Bunun üzerine eğer arı kolonisi titiz ve temizliğe özen gösteren bir koloni ise *Varroa*, kolonide tutunmakta zorlanır (Thompson ve ark, 2002; Holland, 2012).

Ergin ve yavru bal arılarında görülmekte olan *Varroa*'nın *Varroa jacobsoni*, *Varroa destructor*, *Varroa underwoodi* ve *Varroa rindereri* olmak üzere başlıca 4 önemli türü bulunmaktadır. Bu dört tür, konak spesifitesi ve coğrafi dağılımları açısından farklılık göstermektedir (Anderson, 2000; Anderson ve Trueman, 2000; Aydın ve ark, 2007; Çakmak ve ark, 2003; Warrit ve ark, 2004).

Hastalık Hawaii Adaları, Yeni Zelanda Güney Adası, Avustralya ve Afrika'nın tropik bölgesi dışında tüm Dünya'da yaygın olarak bulunmaktadır. Hastalık etkenlerinin yaygın olarak görüldüğü başlıca bölgeler tablo 3'de belirtilmiştir. Bunun dışında olan türler ise yöresel yayılım göstermektedir. mt-DNA yapısının incelenmesi sonucunda *V. destructor*'un 20'ye yakın suşunun bulunduğu ortaya konmuş olup, bunlardan Kore hattının tüm dünyada yaygın olduğu, Tayland-Japonya hattının ise sınırlı (Asya) bir bölgede yayılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu suşlardan Kore hattı tüm dünyaya arıcılık nakilleri ile yayılmıştır. Ülkemizde farklı bölgelerden 23 il örneği hem moleküler hem de morfometrik olarak incelenmiş ve *V.destructor*'un tek tür olarak varlığı ispatlanmıştır (Anderson ve Truman, 2000; Warrit ve ark, 2004; Aydın ve ark, 2007).

Tablo 3. Hastalık etkenlerinin yaygın olarak görüldüğü başlıca bölgeler (Aydın 2013)

TÜR	YAYILIŞ
<i>Varroa jacobsoni</i>	Güneydoğu Asya-Java
<i>Varroa destructor</i>	Tüm Dünya
<i>Varroa underwoodi</i>	Nepal-Güney Kore
<i>Varroa rindereri</i>	Güney Asya

Asya'da 1950'lerde, Amerika ve diğer kıtalarda da 1980'li yıllarda varlığı saptanmış ve tüm ülkeleri kaplamıştır. Avustralya, Yeni Zelanda (Güney adası) ve Hawaii gibi adalarda uygulanan karantina tedbirleri nedeni ile bu parazite rastlanmamaktadır (Anderson ve Fuchs, 1998; Çakmak ve ark, 2003; Aydın, 2005a; Aydın, 2011).

2.4.5.11.2. Hastalığın Etkenleri

Varroosis'in başlıca etkeni *Varroa destructor*'dur. *Varroa jacobsoni* olarak bilinen yakın türü ise daha kontrol altına alınabilir bir türdür. *Varroa jacobsoni* genellikle Güneydoğu Asya'da görülürken *Varroa destructor* tüm dünyaya yayılmıştır. *Varroa jacobsoni* kimyasal mücadeleye karşı daha duyarlıdır (Kurt, 2014).

2.4.5.11.2.1. Etkenlerin Morfolojisi

Ergin ve dişi *Varroa*'lar kovanda bulunan tüm *Varroa*'ların % 96'sını oluşturmaktadır. Dişiler koyu kızıl kahverengi olup, vücut sırt ve karından basık, üst kısmı hafifçe dışbükeydir. Erkekler ise dişilerden daha soluk kahve ve sarı tondadır. Çıplak gözle çok rahat görülebilmektedir. Sert bir kitin tabakası ile kaplı olan sırt oval bir yapıdadır. Dişi *Varroa*'nın ağız yapısı delici ve emici olmasına rağmen, erkeklerde ağız yapısı beslenmeye uygun olmayıp dişilere sperm taşıyacak şekildedir (Zeybek, 1991; Aydın, 2012).

Dişi *Varroa*'lar sezonda (İlkbahar-Yaz) 2-3 ay sezon dışı (Sonbahar-Kış) 5-8 ay yaşarlar. Yaşamları tamamen kraliçe arının aktivitesi ile paraleldir. Larvalar 3 çift; nimf ve olgunlarında ise 4 çift olan ayaklar kısa ve güçlüdür. Vücutlarında bulunan kılların hepsine birden ketom adı verilmekte ve bu kıllar parazitin arının üzerinde kalabilmesini sağlamaktadır. Parazit genellikle arının baş ile göğüs arasında yaşamasına rağmen, göğüs ile karın arasında ve karın halkalarının arasında da bulunabilmektedir (Zeybek,1991; Webster ve Delaphane, 2001; Sammataro ve Avitable, 2011; Aydın, 2005a).

2.4.5.11.2.2. Hastalık Etkenlerinin Yaşam Döngüsü ve Çoğalması

Varroa'nın arıların pupa ve larva dönemlerinde etkinliği oldukça yüksektir. Ergin dişi *Varroa*'lar 5-5,5 günlük arı larva gözlerine kapanmadan önce girmekte yumurta bırakmadan önce larvanın hemolenfi (kanında bulunan juvenil hormonu) ile beslenir. Yeterince juvenil hormonu alarak yumurtalıkları gelişen *Varroa* ilk yumurtayı gözler kapandıktan 2-3 gün sonra bırakmaktadır. Dişi bir *Varroa* 30 saat ara ile 2-6 yumurta yumurtlamakta ve ilk yumurta erkek ($n=7$ kromozom) daha sonrakilerin ise döllenmiş ($2n=14$ kromozom) dişi yumurtaları olduğu bildirilmektedir. Dişiler 5-6 gün, erkekleri ise 7-8 günde ergin hale gelmektedir (Campano ve ark, 1999). Bir işçi gözünde 3 dişi ergin birey oluşurken erkek arı gözünün kenarlarda (ısının düşük olması) besinin daha fazla olmasından dolayı (erkek arı biyolojisi daha uzundur) 5 dişi erişkin oluşabilmektedir (Zeybek, 1991; Aydın, 2012). Dişiler kapalı gözde çiftleşirken, erkek *Varroa*'lar çiftleşmeyi takiben ölmektedir. Dişi *Varroa*'lar döllenmiş yumurtanın gelişimi ile birlikte yavru gözlerinden çıkmakta 3 ile 150 gün içinde mevsime ve koloninin yavru durumuna bağlı olarak tekrar petek göze girmektedir. Erkek arı gözlerini daha fazla tercih eden *Varroa*'lar işçi gözlerinde 1,8-2,9, erkek arı gözlerinde ise

2,7-3,7 kat oranında artış göstermektedirler. *Varroa*'nın Üreme Hızı tablo 4'de belirtilmiştir. (Zeybek, 1991; Aydın, 2005b).

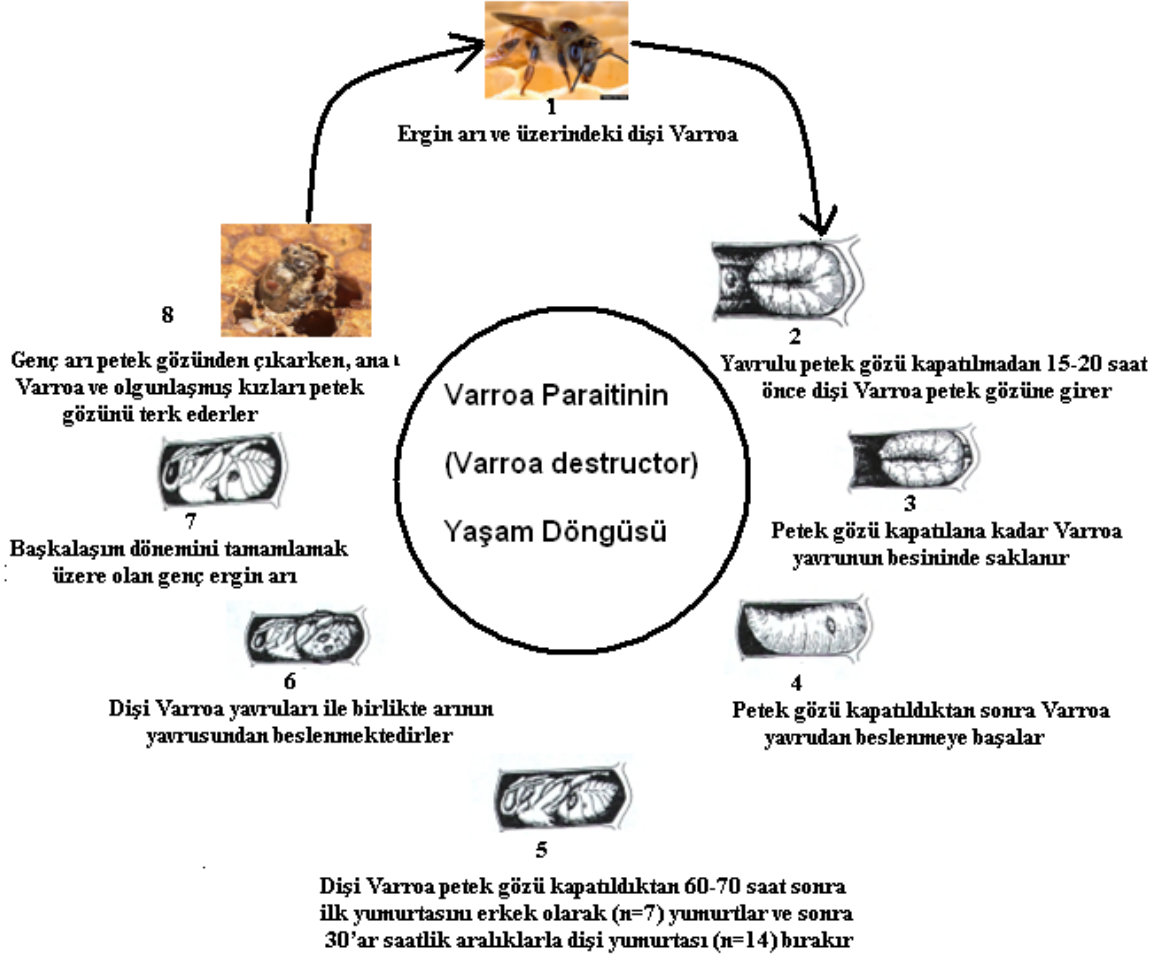
Tablo 4. *Varroa*'nın Üreme Hızı (Aydın 2013)

Sezon Başı Sayı	Üreme Kat Sayısı	Sezonda <i>Varroa</i> Sayısı
1 <i>Varroa</i>	1.2	6 <i>Varroa</i>
1 <i>Varroa</i>	1.7	200 <i>Varroa</i>
1 <i>Varroa</i>	2.7	2000 <i>Varroa</i>

Varroa'lar arılar üzerinden doğal oğul, yağmacılık, rüzgâr ve erkek arının yeni kovanlara girebilmesi yoluyla yayılmaktadır. Özellikle zayıf koloni ile güçlü kolonilerin aynı arılıkta bulunması en fazla görülen şeklidir. Erkek arının kovanlar arasında gezebilme özelliği de parazitin hızla yayılmasında önemli bir etken olarak bildirilmiştir (Aydın, 2012). Kışı sadece ergin arıların üzerinde geçirirler (Campano ve ark, 1999).

Ana arı yüksüklerindeki dişi *Varroa*lar erginleşmeden ana arı gelişimini tamamlayarak gözü terk ettiğinden dolayı *Varroa*'nın ana arı yüksüklerinde çoğalma şansı yoktur. Üzerlerinde 4 - 6 *Varroa* bulunan larvalar gelişmelerini sürdürebilirler. Fakat üzerlerinde daha fazla *Varroa* bulunan larvalar gelişemeyip ölümler veya kanatsızlık, tek kanatlılık, gelişmemiş kanatlar, eksik bacak veya kısa karınlı bireylerin oluşmasına neden olurlar. *Varroa*'nın yaşam döngüsü şekil 4'te gösterilmiştir (Hung ve ark, 1995).

Varroa ile bulaşık arılar huzursuzdur. Ana arının yumurtlama gücü azalır. Üzerlerinde *Varroa* bulunan işçi arılar yavruların bakım ve besleme işini ihmal ettiklerinden dolayı koloni zayıflar. Ergin arı popülasyonu azalmaya başlamış, ana arının yumurtlama performansı düşmüş, yavru gözlerinde noktalı delikler, yavru çürüklüğüne benzer semptomlar ve ölen yavruların gözlerde 'C' şeklinde kalması gibi belirtiler gözlenmektedir (Hung ve ark, 1995).



Şekil 4. *Varroa*'nın yaşam döngüsü (Hung ve ark, 1995)

Varroa'ların gelişmesi için en uygun sıcaklık 34 °C'dir. *Varroa*'ların gelişme ve çoğalmasına; genetik faktörler, koloni koşullarının uygunluğu, yavru alanının miktarı, koloninin *Varroa* bulaşıklık oranı etki etmektedir. *Varroa*'nın çoğalmasında üzerinde geliştiği larvanın cinsiyeti ve ırkı da etkilidir. Kolonilerde yavru üretimi ne kadar erken başlar, ne kadar geç biterse *Varroa*'ların üreme hızı ve gelişmesi de o oranda artmaktadır (Kumova, 2004).

2.4.5.11.3. Patojenite

Arı larva ve pupalarında göz içinde *Varroa* sayısı fazlalığı arı sütü salgılayan hypopharyngeal bezlerin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Parazit sayısına göre değişen oranlarda protein kaybı meydana gelmektedir. Pupa üzerinde 2 ve daha az parazit olması

arının hemolenfindeki protein oranında % 27,3 ve daha fazla olması ise % 50 azalmaya neden olmaktadır (Aydın, 2012). Kış aylarına *V. destructor* ile giren kolonilerde yaşama gücü tablo 5'te gösterilmiştir (Aydın, 2013).

Tablo 5. Kış aylarına *Varroa destructor* ile giren kolonilerde yaşama gücü (Aydın, 2013)

	Koloni/Varroa oranı	Yaşama gücü
Düşük	% 1	% 100
Orta	% 1-3	% 100
Yüksek	% 3-5	% 80
Aşırı	% 10 ve üzeri	% 40

Bir dişi *Varroa* yaşamı boyunca 0,2 mikrolitre arı hemolenfi tüketmektedir. Petek gözündeki *Varroa* sayısı 2 ve altında ise arının yaşam gücünü azaltabilir. Bu sayı 3 ve üzerinde olduğu zaman ergin arıda yaşam kısalığı, kanat kaybı, karın kısalması kanat ve ayaklarda deformasyon, canlı ağırlık kaybı, erkek arılarda sperm üretiminde azalma, uçuş etkinliğinin azalması ve yavru yetiştirmede isteksizlik görülmektedir (Aydın, 2012).

Varroa'yı sadece kendi zararlı etkisiyle düşünmek yanlış olur, birçok viral etken *Varroa* ile taşınmakla (PMS-parasitic mite sendrom) birlikte, Deforme Kanat Virüsü (DWV), Akut Arı Felci Virüsü (ABVP), Bulutumsu Kanat Virüsü (CWV), Kaşmir Arı Virüsü (KBV) ve Yavaş Arı Paraliz Virüsü (SBPV) ülkemizde en fazla görülen virüsler olarak bildirilmiştir (Muz, 2008; Muz ve Muz, 2009; Muz ve ark, 2010; Aydın, 2012).

Parazitle bulaşma oranı % 20-30'a ulaşıncaya kadar zararlı gözle görülür duruma gelir. Ancak bu yoğunluktaki kovanlardan akarın temizlenmesi oldukça zordur (Akyol ve Özkök, 2005). Ergin ve larvaların üzerinde bulunan parazitlerin oluşturdukları lezyonlar arıları diğer hastalıklara karşı predispoze hale getirmektedir. Hastalık kovan dip tahtası üzerindeki kalıntıların, erkek arı gözlerinin ya da erişkin arıların farklı yöntemlerle incelenmesi ile teşhis edilmektedir (Bailey ve Ball, 1991; Jong, 1997; Şimşek, 2005).

Ütük ve ark.'nın (2011) de yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin 36 farklı ilinden 140 başvuru yapılmış; 179 petek ve 20606 arı incelenmiştir. 140 başvurunun 81'inde (% 57.85) enfeksiyon tespit edilmiştir. Yapılan başvuruların 79'unda (% 56.42) varroosis tespit edilmiştir (Ütük ve ark, 2011).

Aydın tarafından (2012)'de yapılan çalışmada Hakkâri yöresinde 712 arı kovanı varroasis yönünden incelenmiş ve araştırma sonucunda incelenen kovanların tümünde varroasis etkeni tespit edilmiştir.

Muz ve ark.'nın (2012) yılında yapmış oldukları çalışmada da çevre sıcaklığındaki mevsim dışı beklenmeyen artışın bazı patojenlere bağlı olarak koloni kayıpları meydana gelmektedir. Hatay yöresindeki altı değişik kışlama alanında 30 farklı arılıktan örneklenen 900 koloninin tamamında *V.destructor*'a rastlanmıştır (Muz ve ark. 2012).

Tunca ve ark.'nın (2012) Kırşehir'de 118 üretici ile yapmış oldukları anket sonucu % 65,3'ünde *Varroa* tespit edilmiştir.

2.3.5.11.4. Teşhis

Canlı ergin arıların üzerleri, kapalı yavru gözleri (özellikle erkek arı gözleri), kovan dip tahtası ile üzerindeki balmumu ve diğer artıklar dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Dikkatlice incelenecek olursa, parazitleri ergin arılar üzerinde görmek mümkündür.

Kovan açıldıktan sonra kovanın orta çerçevelerinden biri alınarak, boş bir yem çuvalı veya bez üzerine arıcı fırçası ile yaklaşık 150-200 adet arı silkelenir. Oradan da boş bir kavanoza arılar aktarılır. Kavanozun içine biraz eter püskürtülür ve 5-10 dk. kavanoz çalkalanır. Arılarda bulunan *Varroa*'lar ayrılır ve bir kısmı kavanozun iç yüzeyine yapışır. Ölen arılar beyaz bir kağıt üzerine çıkarılır. Arılar ve *Varroa*'lar sayılarak arı başına düşen akar sayısı da saptanır.

Diğer bir yöntem de, 150-200 adet arı, içinde sıcak su (50°C) bulunan kavanoza konur, arada bir çalkalanır, yaklaşık 10 dakika sonra arılar kavanozdan alınır. Kalan tortu parazitler yönünden kontrol edilir.

Ergin arı örnekleri alınarak içerisinde deterjan solüsyonu, hexane, gazyağı, mazot, etanol veya alkol gibi maddelerden birisi bulunan bir kavanoz içine konur. 1-30 dakika kadar kavanoz çalkalandıktan sonra arılar çıkarılır ve kavanozdaki mayi tülbent üzerine dökülerek süzülür. Tülbent üzerindeki akarlar alınır. Bu yöntemle de arı başına düşen akar sayısı saptanabilir.

Kovanın dip tahtası üzerindeki döküntülerden akarın kolayca ayrılmasını sağlamak üzere, özgül ağırlığı sudan hafif olan yemeklik sıvı yağlardan yararlanılır. Bir kavanoz içinde bulunan sıvı yağa kovan dip tahtasındaki artıklar (1 kısım döküntü, 10 kısım yağ içine boşaltılıp bir çubukla iyice karıştırılmalıdır) atılır. Çeşitli artıklar hızla dibe çökerken, *V.*

jacobsoni, *Braula coeca* ve bazı kitinli parçalar yağın üzerinde toplanır. Belirli dönemlerde kovan dip tahtası, balmumu artıkları, ölü arılar dikkatlice mikroskop altında veya büyüteçle incelenmelidir.

Kapalı yavru gözlerinde *Varroa* bulunup bulunmadığını tespit etmek için, erkek ve işçi arı gözleri ince uçlu bir pensle açılarak larvalar dikkatlice dışarı çıkarılır. Büyüteç yardımıyla larvalar ve petek gözleri incelenir. Böylece *Varroa*'nın gelişme dönemleri de (larva, protonimf, deutomimf) görülebilir.

Kovanda bal olmadığı dönemlerde bir tabaka beyaz karton veya plastik ile delik büyüklüğü 2 mm veya biraz daha büyük kafes teli, aralarında 6 mm kalacak ve kafes teli üstte olacak şekilde tutturulur ve bir çerçeveye bağlanır. Bu çerçeve larva bulunan peteklerin altına yerleştirilir. Fumigant bir akarisit kullanılmasından 30-40 dakika sonra yetişkin arıların vücudunda, üreme gözlerinde, balmumu artıklarında, kovanın diğer artıklarında ve kovan tabanına yerleştirilen beyaz karton üzerinde parazit aranmalıdır. Varsa ölü akarlar kafes telindeki deliklerden geçer ve kağıt üzerine düşerler. Kafes telinin görevi arıların düşen akarları temizlemesine engel olmaktır. Böyle uygulamalar akar ölümlerinin çok olduğu sonbahar ve yaz aylarında iyi sonuç vermektedir. Ayrıca bu yöntemle, enfestasyonun az olduğu kolonilerdeki parazitlerin tespiti de mümkün olmaktadır. Bu uygulama yaz aylarında arılar kovana girdikten sonra akşam saatlerinde yapılır. Ertesi gün, kağıt ve kafes telinin tutturulduğu çerçeve çıkarılarak ölü akarların varlığı tespit edilir (Aldemir ve Bakırcı 2014).

2.4.5.11.4.1. Moleküler Teşhis Metodları

Günümüzde *V. destructor* haplotipinin tespitinde, moleküler teşhis metodlarından bazıları kullanılmaktadır (Strapazzon ve ark, 2009).

2.4.5.11.4.2. Saflaştırma Metodları (Ekstraksiyon)

Varroa destructor'un genetik analizinin yapılmasında ekstraksiyon amacıyla; Fenol Ekstraksiyon Etanol Presipitasyon Metodu, Snounou Metodu, Wataya Metodu, Chelex Metodu, Sodyum Fosfat Metodu, Dondurma-Çözdürme Metodları kullanılmaktadır.

2.4.5.11.4.3. *Varroa destructor*'un Teşhisinde Kullanılan Moleküler Teknikler

Parazitler insan sağlığını, hem hastalıklara neden olarak doğrudan hem de insanlar için önemli besin kaynağı olan hayvanlarda verim kayıplarına yol açarak dolaylı olarak etkilemektedir. Son 20 yılda moleküler biyolojide kaydedilen gelişmeler, veteriner parazitolojide de önemli uygulama alanları bulmaktadır. Moleküler biyolojideki bu gelişmeler, paraziter hastalıkların kontrolü için yeni yaklaşımların ortaya konmasını sağlamıştır (Gasser 2006).

Biyoteknolojide meydana gelen gelişmeler moleküler tekniklerin parazitoloji alanında da kullanılmasını sağladığı görülmektedir. Konvansiyonel olarak parazitlerin ayrımı ve tanımlanmaları, genellikle morfolojik yapıları, konak spesifiteleri, taşınma şekilleri, patolojik etkileri ve coğrafik orijinlerine göre yapılmaktadır. Ancak bu özellikler, parazitleri tür düzeyinde ayırmada çoğunlukla yetersiz kalmaktadır. Moleküler parazitolojideki gelişmeler, özellikle nükleik asit tabanlı teknikler, özgüllüğü ve duyarlılığı artıran güçlü alternatif tanı araçları sunmuştur (McPherson ve ark, 2000).

Varroa destructor'un moleküler teşhisinde kullanılan nükleik asit tabanlı tekniklerden standart polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), multipleks PCR, nested PCR, in situ PCR, arbitrary-primed PCR (AP-PCR), reverse line blotting (RLB), gerçek zamanlı (real-time) PCR (qPCR), polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), southern blotting; RNA için reverse transkriptaz PCR (RT-PCR) ve northern blotting; protein araştırmalarında ise western blotting gibi teknikler kullanılmaktadır (Strapazzon ve ark, 2009).

2.4.5.11.4.3.1. DNA Tabanlı Teknikler

2.4.5.11.4.3.1.1. Standart Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, bakteri, virüs, mantar, parazit ve protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin primer olarak adlandırılan spesifik komplementer oligonükleotitler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq) kullanılarak in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan oldukça özgün ve güvenilir moleküler biyolojik bir tekniktir (Persing, 1991).

Bu method, çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotit primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanmaktadır (Prichard ve ark 2001).

Oligonükleotit primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre olduktan sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere bağlanmaktadır. Primerlerin hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşmektedir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit organik bazın bulunduğu deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlamaktadır. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olmaktadır. Bir PCR döngüsü DNA'nın tek iplikçik haline gelmesi (denatürasyon), primerin bağlanması (annealing) ve uzama (elongasyon) olmak üzere üç aşamadan oluşur. PCR reaksiyonu, araştırılacak örnekteki DNA'nın çift zincirli yapısı yüksek ısı (94-97 °C, 15-60 sn) yardımıyla birbirinden ayrılır (denatürasyon). Daha sonra düşük ısılarda (50– 65 °C, 30-60 sn) sentetik oligonükleotid primerler, ayrılmış olan tek zincirli DNA üzerinde kendilerine özgü bölgelere bağlanmaktadır (annealing/ hibridizasyon). Isı 72 °C'ye kadar artırılarak DNA polimeraz enziminin yardımıyla DNA zincirini uzatması sağlanır (elongasyon/uzama) (Prichard ve ark, 2001).

Ardı arda tekrarlanan denatürasyon, primerlerin bağlanması ve primerlerin uzaması evreleriyle DNA zincirlerinin sayısı her döngüde 2 katına çıkmaktadır. Sentezlenen DNA ürününün saptanması, kopyaları çıkarılan primerler arasında kalan belli baz çifti büyüklüğündeki bölgenin jel üzerinde veya amplifikasyon yapılan bölgeye uygun tamamlayıcı prob ile hibridizasyon sonrası belirlenmesi ile gerçekleşmektedir (McPherson ve ark, 2000).

PCR yönteminde temel bileşenler; kalıp DNA, kalıp DNA'nın dizilerini tamamlayan tek zincirli oligonükleotidler (primerler), deoksiribonükleotid trifosfat (dNTPler), tampon, MgCl₂ ve ısıya dayanıklı DNA polimerazdır. En çok kullanılan DNA polimeraz *Thermus aquaticus* adı verilen termofilik bakteriden izole edilmekte ve buna Taq DNA polimeraz adı verilmektedir (Siqueira ve ark, 2003).

2.4.5.11.5. Varroa İle Mücadele Yöntemleri

2.4.5.11.5.1. Kimyasal Mücadele

Avrupa Birliği'ne bal ihracatı yapan ülkelerin, MRL belirtilmemiş ilaçların kalıntıları için, günümüz teknolojisinde genel kabul edilen tespit limiti olan 10 mg/kg (ppb) sınırına uymaları önerilmektedir (Martin ve ark, 2002; Bogdanov, 2006).

Kullanılan pestisitler bal ve balmumunda birikmektedir. Balda biriken pestisit ve ilaç kalıntıları bal hasat edildiğinde tek seferlik olarak insanlara zarar verirken, balmumunda biriken pestisitler petek birkaç sezon kullanıldığında daha tehlikeli olmaktadır. Bu durumda yıl içerisinde kovana giren ilaçlarla birlikte peteklerde önceden birikmiş olan pestisitler de yavaş yavaş bala karıştığı için eski petekler kovan içerisinde potansiyel bir pestisit kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Von der Ohe W, 2003).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda yasal olarak izin verilmediği halde ballarda çeşitli antibiyotik kalıntısı bulunmuştur. Kalıntı konusunda sadece Türkiye değil diğer birçok ülkede de balda kalıntı sorunu yaşanmaktadır. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yayımlanan Ulusal Kalıntı İzleme Planı’nın da ve balda aranan kimyasallar ve MRL değerleri tablo 6’da gösterilmiştir. Günümüzde baldaki antibiyotik problemi, bal ticareti için en büyük problemdir (Seğmenoğlu ve Baydan, 2012).

Tablo 6 (GTHB Ulusal Kalıntı İzleme Planı 2016) Ulusal Kalıntı İzleme Planında ve balda aranan kimyasallar ve MRL değerleri

KONTROL EDİLECEK MADDE GRUBU	KONTROL EDİLECEK MADDE	İZLEME METODU TESPİT LİMİTİ MRL($\mu\text{g}/\text{kg}$)
KLORAMFENİKOL	Kloramfenikol	0,3
NİTROFURAN	AHD, AMOZ, AOZ, SEM	-
ANTİBAKTERİYAL MADDELER	Tetrasiklin	
	Oksitetrasiklin	
	Klortetrasiklin	
	Doksisiklin	
	Sulfamerazin	20
	Sulfatiazol	20
	Sulfametazin	10
	Sulfametaksazol	20
	Sulfadimektoksin	5
	Sulfadiazin	10
	Ampisilin	25
	Amoksisilin	25
	Streptomisin	100
	Tilosin	10
	Eritromisin	10
Tilmikosin	10	
Spiramisin	10	
Enrofloksasin	10	
Siprofloksasin	10	

	Danofloksasin	10
	Marbofloksasin	10
	Sarafloksasin	10
	Diflofloksasin	10
	Nalidiksikasit	10
	Flumequin	10
	Oksolinik asit	10
KARBAMATLAR	Karbaril	50
	Karbofuran	100
	Methiocarb	10
	Metomil	100
	Propoksür	50
PYRETROIDLER	Sipermetrin	10
Diğer Farmakolojik Aktif Maddeler	Fumagilin	10
ORGANOKLORLU MADDELER	Beta-endosülfan	10
	Bromopropilat	10
	Amitraz ve metabolitleri	200
ORGANOFOSRLU MADDELER	Metil paration	10
	Malathion	10
	Diazinon	10
	Diklorvas	10
	Klorprifos	10
	Triklorfon	10
	Kaumafos	10
KİMYASAL ELEMENTLER	Kurşun	6,7
	Bakır	5,9
	Kadmiyum	3,6
	Çinko	12,5
DiĞER MADDELER	Naftalin	5

Varroa ile mücadelede yıllar içinde değişik kimyasal savaşım yöntemleri uygulanmıştır (Milani, 1995; Eischen, 1998; Elzen ve ark, 1988; Sammataro ve ark 2000).

Özellikle; son 15 yıldır *Varroa* ya karşı en çok kullanılan sentetik akarisitler organik fosforlu koumafos (Checkmite, Asuntol, Perizin), pyretroitler tau-fluvalinat (Apistan, Klartan,

Mavrik) ve flumetrindir (Bayvarol). Bunun yanı sıra amitraz da kullanılmıştır (Milani ve Barbattini, 1988; Milani ve Lob, 1998; Ritter, 1988).

Varroasis'in kontrolünde arıcılarımızın % 53'ü amitraz, % 30'u tau-fluvalinat, % 13'ü koumafos ve % 4'ü formik asit kullandıklarını belirtmişler ve % 90'ı ilaçlamayı erken ilkbahar ve geç sonbaharda (yavrusuz zamanda) uyguladıklarını ifade etmişlerdir (Aydın ve ark, 2003).

Amitraz:

Amitraz genel olarak ksilen veya petrol ürünleri ile formüle edilen *formamidine* grubu sentetik bir insektisit, akarisitir (Yılmaz ve Yıldızdas, 2003). İlk olarak 1974 yılında pazarlanmıştır. Amitraz alfa-2 (α -2) adrenerjik agonisttir ve etkileri diğer alfa 2 adrenerjik agonist klonidin'e benzemektedir. Zehirlenenlerde merkezi sinir sistemi bulguları (koma-konvülsiyon), miyozis, solunum baskılanması, bradikardi, hipotansiyon, hiperglisemi, poliüri, kusma görülmektedir (Yılmaz ve Yıldızdas, 2003).

Koumafos:

Koumafos içeren ilaçlar ile bal arılarında hem Varroa hem de arı biti enfestasyonlarının mücadelesi tüm dünyada başarılı bir şekilde yapılmaktadır. Sistemik etkiye sahip organik fosforlu bir insektisit ve akarasit olan koumafos bal arılarında *Varroa* mücadelesi için uygulandığında herhangi bir yan etkisinin olmadığı (Akkaya ve Vurusaner, 1997) ve arılar için düşük toksiteye sahip olduğu da bildirilmiştir (Frilli ve ark, 1991).

Ülkemizde tek farmasötik şekil olan çözeltisi kullanılırken diğer ülkelerde farklı farmasötik şekiller olan şerit ve kurabiye formu bulunmaktadır. Portakal ve Yarsan 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada koumafosun farklı formlarının etkinlikleri değerlendirilmiş ve kurabiye form % 99, şerit form % 98, Çözelti şekli ise % 96 etkili bulunmuştur (Portakal ve Yarsan, 2010).

Flumetrin:

Parazitlerin % 95'i ölür, fakat flumethrin kuluçka hücre içinde bulunan larvalara ve çoğalma evresindeki parazitlere etki etmez. Kovan içinde 45 gün boyunca etkinliğini sürdürür ve çoğalma evresinden 15 gün sonra çıkan akarların peş peşe görülen jenerasyonlarını ortadan kaldırır. Aktif maddenin dağılımı, polietilen matriksden yavaş salınım ile 45 gün boyunca gerçekleşir. Artropotların pyrethroidleri metabolize ve detoksifiye etmek için birçok enzimatik yolları vardır. Bu ilaçların metabolize edilmesinde esteraz ve oksidaz enzimleri daha çok kullanılır. Flumethrin merkez esterinin formu olan permetrin acid and 3-phenoxy-4-fluorobenzyl alkolün hidrolize olması ile metabolize olur (Girişgin ve Aydın, 2010).

Fluvalinat:

Varroa destructor 15 yıl önce fluvalinat a karşı dirençli hale gelmiş durumdadır. Flumetrim ve Acrinatrin gibi diğer piretroitlere karşı çapraz dirençte mevcuttur. Kuomofos gibi organik fosforlu ve amitraza karşı bazı akarların direnç geliştirdiği gözlenmiştir. Dirençli akar popülasyonu artabilir ve tahmin edilemeyecek sonuçlar doğurabilir (Sammataro ve ark, 2005; Trouiller, 1998; Lodesani, 2004; Milani, 2001). Ruhsatlı ithal ektoparazit preparatları tablo 7, Ruhsatlı yerli ektoparazit preparatları tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 7. GTHB (2016) Ruhsatlı ithal ektoparazit preparatları

ADI	UYGULAMA	FARMASÖTİK ŞEKİL	ETKEN MADDE
FLUMEVAR	Kovan İçi	Şerit	1 şerit ürün içinde; 32mg flumetrim
APIVAR	Kovan İçi	Şerit	1 adet şerit ürün içinde; 500 mg. amitraz
ABVARC	Kovan İçi	Şerit	1 adet tablet ürün içinde; 400 mg kaumafos
VAROSTOP	Kovan İçi	Şerit	1 adet şerit ürün içinde; 3,6 mg flumetrim
BAYVAROL	Kovan İçi	Şerit	1 şerit ürün içinde; 3,6 mg flumetrim

Tablo 8: GTHB(2016) Ruhsatlı yerli ektoparazit preparatları

ADI	UYGULAMA	FARMASÖTİK ŞEKİL	ETKEN MADDE
FLUVAR	Kovan İçi	Şerit	1 adet şerit ürün içinde; 3,6 mg flumetrim
VARROSET	Kovan İçi	Tütsü kâğıdı	1 adet tütsü kâğıdı ürün içinde; 400 mg amitraz
VAMİTRAT-VA	Kovan İçi	Şerit	1 adet şerit ürün içinde; 20 mg amitraz
RULAMİT-VA	Kovan İçi	Şerit	1 adet şerit ürün içinde; 265 mg amitraz
PERİZİN % 3,2	Oral	Çözelti	1 mL ürün içinde; 32 mg kaumafos
VARROASON	Kovan İçi	Tütsü kağıdı	1 adet tütsü kâğıdı ürün içinde; 20,5 mg amitraz

Kimyasal ilaçlamada son yıllarda organik fosforlu, formamidin ve sentetik pyretroidler ön plana çıkmıştır. Özellikle Coumaphos, Amitraz, Flumethrin ve Fluvalinat en fazla kullanımda olanlardır. Klasik anlamda ilaçlı mücadele erken ilkbahar ve geç sonbahar ilaçlaması önerilirken, yavaş salımlı plastik şerit preparatların 8 haftalık erken sonbaharda (bal hasadını takiben) toplu mücadelede kullanımı, ilaç kullanımının yılda tek sefere düşürülebileceğini göstermiştir. Ortam çevre ısısının günlük 12 °C altına inmesi kovan içinde arıların kış salkımı oluşturmamasından sonra ilacın görevini yapmayacağını iyi bilinmesi gerekmektedir (Ellis, 2001; Girişgin ve Aydın, 2010). *Varroa* direnci oluşmaması için 2-3 yılda bir ilaç değişimi yapılmalıdır (Aydın, 2012).

Tedavi sonucunda akarazitler arı kovanında kalıntı bırakmaktadır. Bu sentetik bileşikler saf bal imajını zedelemektedir. Kalıntının miktarını kullanılan maddenin yıl boyunca kullanım sıklığı etkilemektedir. Maver ve Poklukar, 2003 yılında yapmış oldukları çalışmada amitraz ve kaomofos kullanımının balda kalıntı durumunu değerlendirmiş ve balda kalıntı bıraktığını göstermişlerdir.

2.4.5.11.5.2. Organik Asitlerin Kullanımı

Organik asitler *Varroa* ile mücadelede en çok kullanılan biyo-pestisidlerdir. Uygun zaman ve dozda kullanıldıklarında kolonide ana arı, ergin arı ve yavru popülasyonu üzerinde olumsuz bir etki oluşturmadığı belirtilmektedir (Mert ve ark, 2007).

2.4.5.11.5.2.1. Formik Asit (HCOOH)

Renksiz, uçucu ve zayıf bir organik asittir (Akyol ve Özkök, 2005). Formik asit kısa veya uzun süreli uygulanmaktadır. Kısa süreli uygulamalarda formik asit konsantrasyonu yüksek tutulmalıdır. Formik asitin bir kez uygulanması % 60-80 düzeyinde, 2 kez uygulanması % 90-95 düzeyinde etkili olmaktadır. Entegre kontrol sistemleri ile birlikte kullanıldığında *Varroa* popülasyonunu istenilen düzeyde tutabilmekte, pek çok ülkede entegre mücadelenin bir parçası olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir (Imdorf ve ark, 1999) Formik Asit Kısa Süreli Uygulama Şekli tablo 9'da verilmiştir.

Varroa mücadelesinde formik asidin buharlaşma özelliğinden yararlanılmaktadır. Formik asidin yavaş buharlaşması ilacın etkinliği bakımından önemlidir ve ilacın etkinliği hava koşullarına, uygulama mevsimine, buharlaşma kabının hacmine, kabın kuluçkalığına olan

uzaklığına bağlı olarak değişmektedir (Mert ve ark, 2007). Hava sıcaklığı 10-25 °C'ler arasında olduğunda başarılı sonuçlar vermektedir (Akyol ve Özkök, 2005). 30 °C'den yüksek sıcaklıklarda arı kaybı oluşmaktadır ve 10 °C'den düşük sıcaklıkta ilaç istenilen etkiyi göstermemektedir (Mert ve ark, 2007).

Formik asidin ilkbaharda sub-tropikal iklimlerde hava sıcaklığının aniden artması ile hızla buharlaştığı ve kolonide kapalı yavru gözleri içerisindeki arı pupalarının ölümüne neden olduğu belirtilmektedir (Underwood and Currie, 2003; Girişgen ve ark, 2007).

Formik asitin arı kolonilerinde kullanımı için birçok etkin uygulama metodu geliştirilmiştir. Formik asit balda doğal olarak (% 0,1-0,5) bulunmasına rağmen kalite problemleri meydana gelmemesi için bal hasadından 6–8 hafta önce uygulamayı bitirmiş olmak gerekir (Akyol ve Özkök, 2005). Formik asidin etkinliğinin, kullanılan uygulama şekline bağlı olarak % 60-92 arasında değiştiği belirtilmektedir (Imdorf ve ark, 1997).

Formik asit jel uygulama yöntemi, sprey yöntemine göre kullanım riskini azaltmaktadır. Formik asidin sprey ile uygulanması daha etkili olsa da, çok hızlı buharlaşması toksik etkiyi artırmaktadır (Imdorf ve ark, 1999).

Her ülke ya da her bölge farklı iklim koşullarına, kovan tiplerine ve manejman sistemlerine sahip olduğu için genel bir formik asit uygulamasından söz etmek mümkün değildir. Akdeniz koşullarında formik asit uygulaması yüksek ve değişken hava sıcaklığından dolayı daha zordur. Formik asit uygulaması, bulunulan bölgeye göre adapte edilmelidir (Imdorf ve ark, 1999).

Tablo 9. Formik Asit Kısa Süreli Uygulama Şekli (Kurt, 2007)

		Formik asit	
Uygulama Dönemi	İlk Uygulama: Bal hasadı sonrası. Ağustos başında Son Uygulama: Çevre sıcaklığına bağlı. Eylül sonunda süre 1 hafta		
Uygulama Sayısı	Dönem içinde 2 - 3 kez		
Günlük Sıcaklık	12-20°C (Gün içi uygulamalarında) 20-25°C (Gece ve sabah uygulamalarında) >25 °C (Sabah erken saatlerinde)		
Konsantrasyon	Üstten uygulama % 60 Altan uygulama % 60 - 85. (Çevre sıcaklığına bağlı)		
Doz (Kovan büyüklüğüne bağlı)	Üstten	1 Katlı (mL)	2 Katlı (mL)
	Altan	20 - 30	40 - 50
		20 - 30	40 - 60
Uygulama Etkinliğinin Kontrolü	Doğal akar sayımı. Sayıma başlama: son uygulamadan 14 gün sonra süre 2 hafta. Günde 1 den daha fazla akar olursa 2. uygulama önerilir.		
Uygulamada koruyucu kullanımı	Gözlük, lastik eldiven ve su		

2.4.5.11.5.2.2. Laktik Asit (CH₃CHOH-COOH)

Laktik asit, 15 ml laktik asit 85 ml su ile seyreltilerek hazırlanan karışım her çerçeveye 5 mL dozda püskürtülerek uygulanır. Uygulama zamanında çevre sıcaklığı 0-6 °C olmalıdır. Laktik Asit Uygulama şekli tablo 10'da verilmiştir. Laktik asit petek gözlerini etkileyememektedir bu nedenle tedavi birkaç kez tekrarlanmalıdır. Organik asitlerde klasik tedavide kullanılan ilaçlar gibi kovanda balın bulunmadığı erken ilkbahar veya geç sonbaharda uygulanmalıdır. Çünkü bal bu asitlerin buharını çekmekte ve balın tüketiminde ağızda ekşi bir tat bırakmaktadır. Arıların bu tarz balları tüketmedikleri bildirilmektedir. Bir diğer hususta, bu asitlerin hazırlanış aşamasında toksik etkilerinden korunmak için solunmaması ve vücut ile temasından kaçınılması gerekliliğidir (Aldemir ve Bakırcı, 2014).

Tablo 10. Laktik Asit Uygulama Şekli (Kurt, 2007)

Önerilen Kullanım	Küçük işletmeler, oğullar, küçük kovanlar
Uygulama Dönemi	Bal hasat dönemi dışında yıl boyunca
Sıcaklık	7 °C yüksek olmalı
Uygulama Zamanı	Gün boyunca her zaman, rüzgârsız dönemde
Uygulama Sayısı	2 - 5 kez. Uygulamalar yonteme, mevsime ve Varroa düşmesine bağlıdır
Doz	Petek yüzeylerine %15'lik 5 mL, yaz aylarında popülasyonun artması durumunda peteklere 8 ml uygulanabilir.
Uygulama yöntemi	Arıların üzerine püskürtme, kovan yan duvarlarına püskürtme
Etkinlik	Yavrusuz kolonilerde optimum koşullarda % 80, sırlı yavru bulunan kolonilerde % 20 - 30 etkilidir.

2.4.5.11.5.2.3. Oksalik Asit (H₂C₂O₄)

Oksalik asit, *Varroa* mücadelesinde en sık kullanılan asitlerden birisidir. Oksalik asit, formik asit gibi kapalı yavru gözleri içerisindeki *Varroa*'lara etki etmediğinden, beklenen yararın sağlanabilmesi için kolonide kuluçka üretiminin en az olduğu dönemlerde (geç sonbaharda 1 kez, erken ilkbaharda 1 kez) kullanılmalıdır. Bu şekilde yapılan *Varroa* mücadelesinde ortalama % 90-95 düzeyinde bir başarı sağlandığı bildirilmiştir. Oksalik asit

solüsyonu kovanlara sprey, buharlaşma ve damlatma yöntemleriyle uygulanabilmektedir. Oksalik Asit Uygulama Yöntemleri ve Öneriler tablo 11’de verilmiştir.

Oksalik asit uygulaması 7-30 °C’ler arasında, gün içerisinde rüzgârsız ve kovanların açılabilceği zamanlarda yapılmalıdır. Birden fazla uygulama yapıldığında arı ölümleri artmakta ve gelecek ilkbaharda koloni gelişimi yavaşlayabilmektedir (Mert ve ark, 2007).

Tablo 11. Oksalik Asit Uygulama Yöntemleri ve Öneriler (Kurt, 2007)

Damlatma yöntemi: Çözelti Konsantrasyonu	35 g Oksalik asit dehidrate 1/1 şurup
Miktar	30 mL küçük koloniler 40 mL orta koloniler 50 mL büyük koloniler Çerçeveye göre uygulama yapılırsa 5-6 ml/çerçeve
Uygulama zamanı	Yavrusuz Kolonilerde (Kasım-Aralık)
Püskürtme Yöntemi: Çözelti Konsantrasyonu	30 g Oksalik asit dehidrat/litre suya tamamlanacak
Miktar	Arı ile kaplı her petek yüzeyine 3-4 mL
Uygulama zamanı	Sonbahar ve İlkbaharda
Dikkat Edilecek Noktalar *Sonbaharda 1 uygulama yapılmalı, *Çözelti doğrudan çerçeveler arasındaki arılar üzerine damlatılmalı *Uygulamalar ılık çözeltilerle yapılmalı *Çevre sıcaklığı 0 °C üzerinde olmalı *Solüsyonlar taze hazırlanarak kullanılmalı veya en fazla 15 °C de 6 aydan fazla depolanmamış olması *Bazı özel koşullarda oksalik asitin damla şeklinde uygulanması ilkbaharda kolonileri zayıflatabilir, *Oksalik asit uygulamaları deneyimli kişiler tarafından yapılmalıdır. *Oksalik asitin solunmaması için ağız maskesi kullanılmalıdır. *Oksalik asitin püskürtme (sprey) şeklinde uygulanması arılar tarafından daha iyi tolere edilebilmektedir.	

2.4.5.11.5.3. Biyolojik Kontrol Yöntemleri

Kimyasal madde kullanmadan *Varroa*’yı kontrol altında tutmak için biyolojik kontrol yöntemleri geliştirilmiştir (Akyol ve Korkmaz, 2006).

2.4.5.11.5.3.1. Yavrulu Gözlerin Taşınması ve Tuzak Yöntemi

Varroa'nın üreme ve çoğalma yerleri kapalı yavru gözleridir. Kapalı yavru gözlerinin alınması ile parazitte kovandan uzaklaştırılmış olur. Yavru gözlerinin uzaklaştırılmasında; kapalı işçi arı gözlerinin kovandan uzaklaştırılması ve kapalı erkek arı gözlerinin kovandan alınması şeklinde iki yöntemle yapılmaktadır (Büchler, 1997).

A) İşçi Arı Gözlerinin Kovandan Uzaklaştırılması

Varroa yumurtlamak ve çoğalmak için erkek arı gözlerini tercih etmesinin yanında işçi arı gözlerini de tercih etmektedir. Kolonide işçi arı gözleri bulunan peteklerin alınması ve imha edilmesi parazitin çoğalmasının kontrol altında tutulması bakımından önemlidir. Fazla miktarda işçi arı gözünün alınması nedeniyle koloni gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Goodvin ve Eaton, 2001; Akyol ve Korkmaz, 2006).

B) Erkek Arı Gözlerinde Tuzaklama Yöntemi

Varroa üremek için erkek arı gözlerini işçi arı gözlerine oranla 10-12 kat daha fazla tercih etmektedir. Bu özelliğinden yararlanılarak varroa popülasyonu dengede tutulmaya çalışılmakta ve iki şekilde uygulanmaktadır. Birincisi koloniler belli zamanlarda kontrol edilip tüm kapalı erkek arı gözleri imha edilir ve yılda 5-6 defa tekrarlanmalıdır. İkinci uygulama ise kovana erkek arı gözü bulunan petekler verilir ve ana arı bu peteklere hapsedilerek sadece bu peteklerdeki gözlerle dölsüz yumurta bırakması sağlanır. Erkek arı gözünden oluşan bu petekler sırlandığında kovandan alınarak üzerindeki yavrular varroalar ile birlikte imha edilir (Büchler, 1997; Akyol ve Korkmaz, 2006).

2.4.5.11.5.3.2. Tel Kafesli ve Çekmeceli Taban Uygulama Yöntemleri

İşçi ve erkek arılar gelişimlerini tamamlayıp gözden çıkarken gözdeki *Varroa* yavrularının tamamı gelişimini henüz tamamlayamamıştır. Gelişimini tamamlamak üzere olanlar da arılarla birlikte gözden çıkarlar ama kendilerini idare edecek durumda değildirler. Kovan tabanında veya peteklerin değişik bölgelerinde gelişmelerini tamamlayabilirler. Bu şekilde olan varroalar arılı bölgeden uzak tutulabilirse ya aılıktan ya da soğuktan öürler. Çekmecenin üst kısmına arıların geçemeyeceği ancak Varroaların dökülebileceği bir tel ızgara gerilir. Izgaranın altına düşen ve tekrar arılar üzerine geçemeyen orada soğuk ve aılıktan

ölürler. Bu yöntemin varroa popülasyonunu azaltma oranı % 14-28 arasında değiştiği bildirilmiştir (Akyol ve Korkmaz, 2006).

2.4.5.11.5.3.3. Isı Uygulamalarından Yararlanma

Varroa'lar 34 °C'nin üzerindeki sıcaklıklara arı larva ve pupasından daha duyarlıdır. Ancak sıcaklık uygulamasının tüm kovanda uygulanması hem işçi arıların sıcaktan zarar görmesine hem de işçi arıların kovanda sıcaklığı düşürmek için hava sirkülasyonu yapmaları; gerek ergin arılar gerekse gözlerde yaşayan varroa üzerine etkili olmamaktadır. Uygulamada kapalı yavrulu petekler 44 °C' de 4 saat bekletildikten sonra varroaların % 100'ünün pupaların ise % 5'inin öldüğü belirlenmiştir. Isı uygulamasının gözlerden çıkan arılarda deformasyonlara neden olacağı belirtilmektedir. Bu yöntemin ticari arıcılıkta fazla uygulama şansı bulunmamaktadır (Goodvin ve Eaton, 2001).

2.4.5.11.5.3.4. Genç Ana Arı Kullanma Yöntemi

Varroa'nın üremek için erkek arı gözlerini tercih etmesi ve genç ana arı bulunan kolonilerde erkek arı göz sayısının az olması, erkek arı göz sayısı çok olsa bile genç ana arının dölsüz yumurta bırakma oranının az olması nedeniyle kovandaki erkek yavru sayısını ve böylece varroa sayısını azaltmak amaçlanmaktadır. Farklı yöntemlerle birlikte kullanıldığında etkinlik ve başarı oranı artmaktadır (Akyol ve Korkmaz, 2006).

2.4.5.11.5.3.5. Polen Tuzağı Kullanmak

Polen tuzakları tarladan dönen arıların güçlükle geçebildikleri kovan girişine veya altına yerleştirilen plastik veya metalden yapılmış düzeneklerdir. Kovana girebilmek için plastik levhadaki deliklerden geçen arılar polen yükünü bırakmak zorunda kalırlar hatta birçok durumda arılar üzerindeki varroaların da tuzağa takılarak arılardan ayrılmak zorunda kaldıkları ve tuzak eleğinden alta düştükleri belirlenmiştir. Yöntem tek başına yüksek bir etkinliğe sahip olmayıp diğer yöntemlerle birlikte uygulanmasında yarar vardır (Çakmak ve ark, 2002).

2.3.5.11.5.3.6. Erkek Yavru Gözü Üretimini Sınırlandırılması

Varroa üremek ve çoğalmak için erkek arı gözlerini tercih etmesi ve erkek arının gözden çıkış süresinin daha uzun olması nedeniyle parazit erkek arı gözünde daha çok çoğalabilmektedir. Erkek arı gözünün azaltılması dolayısıyla bu gözlerde çoğalan varroanın da azaltılacağı anlamına gelmektedir. Erkek arı gözü sayısını azaltmak için yapılacak uygulamalar:

- a) Petek üzerinde bulunan erkek arı gözlü bölgelerin kesilip alınması
- b) Erkek arı gözü bulunan temel peteklerin kullanılmaması
- c) Dölsüz yumurta bırakma oranı az olan genç ana kullanılması (Akyol ve Korkmaz, 2006).

2.4.5.11.5.3.7. Biyolojik Kontrolde Yeni Bir Yaklaşım

Biyolojik kontrolde toprakta bulunan insan ve memeli hayvanlar için zararsız (saprofit) olduğu bilinen mantarların entamopatojenik (böcek zararlısı) özellikleri keşfedilmeye başlanmıştır (Aydın, 2005).

Metarhizium anisopliae (*Entomophthora anisopliae*) dünyanın her yerinde bulunan toprak orijinli *Hypomyces* sınıfında bir mantardır. *M.anisopliae* sporlanmış kolonilerinde yeşil renk hâkim olduğu için ‘‘Yeşil Muscardin’’ olarak tanımlanır. Aralarında *V.destructor*'un da olduğu 200'e yakın insekt-akar'ı (Uyuz, Kene, Sinek vb.) enfekte edilebilir. *M.anisopliae* sporları, (Conidia) solunduğu zaman insan ve memeli hayvanlara zararlı olabilir. Patates Dekstroz Agarda (PDA) kolayca kültüre edilebilen sporlar -78 °C'de aylarca canlı saklanabilir, 25 °C ve % 85 nemde 13 saat içinde hızla üretilebilir. *Hirsutella thompsonii* ve *Metarhizium anisopliae*, *V. destructor*'un yoğun bulunduğu kovanlar ile laboratuvar ortamında denenmiş 4-6 gün içinde laboratuvar ortamında tüm *Varroa*'lar ölmüştür. Kovanlarda ise yavrusuz zamanda 7 günde % 90 'ın üzerinde etkisi görülmüş bu etkinin tedavinin 42.gününde % 82 civarında devam ettiği görülmüştür. Balda herhangi bir kalıntı görülmediği gibi işçi arı ve özellikle kraliçe arıda herhangi bir istenmeyen etki görülmemiştir (Aydın, 2005; Kanga ve ark, 2002).

2.4.5.1.5.4. Bitkisel Kaynaklı Mücadele

Kimyasal mücadelede kullanılan akarisitlerin pek çoğunun yanlış kullanımları sonucu, *Varroa* giderek bu ilaçlara karşı direnç kazanmakta, bu nedenle ilaçların etkinliği azalmaktadır (Boecking ve Spivak, 1999).

Ülkemizde arıcılıkla uğraşanların bir kısmı buldukları yörelerden topladıkları veya piyasadan temin ettikleri bitkisel kökenli maddelerle *Varroa* mücadelesi yapmaktadır. Akarasit özelliğine sahip 8-10 bitki türü, doğrudan veya birbirleri ile değişik oranda karıştırılarak kullanılmaktadır. En yaygın olarak kullanılanlar tütün, ardıç katranı, kekik, okaliptüs, pireotu, ceviz yaprağı, lavanta, nane ve çam yaprağıdır (Girişgin ve ark, 2007).

Ardıç katranı bal ve bal mumunda insan sağlığına zararlı olarak kanserojen etki yapma ve balın tadını bozma riski vardır. Girişgin ve ark. (2007) ardıç katranı dumanı uygulaması sonucunda istenilen başarı sağlanamamıştır. Elde edilen toplam varroa sayısı baz alınarak, dumanlamadan sonra çekmeceye düşen varroa sayılarının toplamına göre; ardıç katranı dumanının *V.destructor*'a karşı etkinliği % 3.61 olarak tespit edilmiştir (Kumova, 2004; Kurt, 2007).

Varroa kontrolünde kullanılan sarımsak, tütün, ceviz, domates, acı pelin, sarıçam bitkilerinin bu parazite karşı % 50 -80 etkili olduğu belirlenmiştir. Çam yaprağının yakılması ile açığa çıkan eterik yağ ve bazı alkoloitlerin akar öldürücü etkisi de çok zayıftır. Greyfurt ve sedir yapraklarının karışımı ile elde edilen duman *Varroa* kontrolü için kullanılmıştır. Ceviz yaprağı dumanı ve polen tuzakları ile *Varroa* kontrolünün etkili olduğu; bu yöntemin fiziksel kontrol yöntemleri ile birleştirilerek uygulanması durumunda kolonilerde *Varroa* kontrolünün daha güvenli ve etkili yapılabileceği bildirilmektedir (Kumova, 2004; Kurt, 2007).

Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların *Varroa* Kontrolünde Kullanımı

Uçucu yağlar (Aromatik yağlar, Eterik yağlar, Esanslar, Aetheroleum)

Kuvvetli kokulu, uçucu, yağimsı, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan (bazen katılaştıran) karışımlardır. Bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunurlar. Uçucu yağlar bitkilerde genellikle % 1-2, çoğu kez de < % 1 oranında bulunur (Kaya, 2013).

Esansiyel yağlar ucuz olarak temin edilebilen ve sağlık yönünden tehlikesiz maddelerdir. Ancak bu uçucu yağların uygulamalar sırasında standart duruma getirilebilmesi oldukça zordur. Laboratuvar koşullarında 150 den fazla uçucu yağ bileşiği *Varroa* kontrolünde test edilmiştir (Kumova, 2004; Kurt, 2007; Ruffinengo ve ark, 2005; Imdorf ve

ark, 1999). Çeşitli ülkelerde *Varroa* kontrolünde Catnip yağı (*Napeta cataria*), Cinnomon yağı (*Cinnamomun cassia*), Citronella yağı (*Cynbopoga nardusun*), Eucalypt yağı (*Eucalypt globulus*), Melaleuca yağı (*Melaleuca leucadendron*), Patchouly yağı (*Hedeoma pulegioides*), Pennroyal yağı (*Mentha pulepium*), Peppermint yağı (*Mentha piperita*), Rosemary yağı (*Rosmariunus officinalis*), Spearmint yağı (*Menta spicata*), Tea tree yağı (*Melaleuca alternifolia*), Keklik üzümü yağı, Neem yağı (*Azadirachata indica*) ve kekik yağı (*Thymus vulgaris*) kullanılan esansiyel yağlardır (Kurt, 2007; Kumova, 2004). Kanola, tırfıl ve yoncanın esansiyel yağları koruma amaçlı kullanılabilir (Aydın ve ark, 2004). Bitkilerden hazırlanan bu maddeler akarlar karşı diğer entegre kullanım yöntemleriyle birlikte kullanılmalıdır. Bir defa yapılan uçucu yağ uygulamalarının genellikle *Varroa* popülasyonuna etkili olmadığını göstermektedir (Kurt, 2007; Kumova, 2004).

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan ruhsatlı yerli ve ithal toplam 8 adet bitkisel kökenli ektoparazit ilacı bulunmaktadır. tablo 12, tablo 13 'de ruhsatlı ektoparazit ilaçları gösterilmiştir.

Tablo 12: GTHB (2016) Ruhsatlı ithal ektoparazit preparatları

ADI	UYGULAMA	FARMASÖTİK ŞEKİL	ETKEN MADDE
ABvarBio	Kovan İçi	Tablet	70 g tablet ürün içinde ;13g timol
ECOSTOP	Kovan İçi	Tablet	1 adet tablet ürün içinde ;5g timol, 2 mL mentol
API LIFE VAR	Kovan İçi	Çözelti	1 adet tablet ürün içinde ;% 76 timol, ,% 16,4 Eucalyptus globulus, ,% 3,8 mentol
APIGUARD	Kovan İçi	Jel	1g ürün içinde ;250 mg timol
THYMOVAR	Kovan İçi	Sünger	1 sünger ürün içinde ;15g timol

Tablo 13: GTHB(2016) Ruhsatlı yerli ektoparazit preparatları

ADI	UYGULAMA	FARMASÖTİK ŞEKİL	ETKEN MADDE
BİYOVAR-T	Kovan İçi	Sünger	20.8 g'lık şerit ürün içinde ;15 g timol
THYMOSET	Kovan İçi	Toz	15 g toz da ürün içinde ;7,5 g timol
OBESON	Kovan İçi	Jel	1 g ürün içinde ;250 mg timol

Thymol, doğal thyme yağını (*Thymus vulgaris*) içeren uçucu bir yağ maddesi olduğu için *Varroa* akarına karşı toksik bir etki göstermektedir (Imdorf ve ark, 1994; Lindberg ve ark, 2000).

Kekik (*Thymus vulgaris* L.): Önemli bir kısmını timol (% 30-50), karvakrol (% 1-5), p-simen (% 15-45) ve sitral oluşturur. % 1-3 borneol, kâfur, limonen, linalool, β -pinen, karyofillen, < % 1 bornilasetat, kamfen, ökaliptol, linalilasetat, terpineol, terpinilasetat vardır (Kaya, 2013).

Timol uygulaması 1984 - 1998 yılları arasında çeşitli araştırmacılar tarafından toz ve karışım şeklinde peteklerin aralarına veya petekler üzerinde petri içinde, 8-49 gün süre ile uygulandığında etkinlikte % 66 - 97,8 olarak belirlenmiştir (Kurt, 2007; Kumova, 2004).

Nane (*Mentha piperita* L.): Yapraklarda uçucu yağ, tanen, reçineli maddeler, şekerler, flavonoidler, terpenoidler ve acı maddeler bulunur. Taze yapraklar % 0,5-1, kuru yapraklarda % 3 dolayında uçucu yağ içerir. Uçucu yağda bulunan başlıca maddeler şunlardır: Mentol (%40-50), Neomentol (% 3-3,5), Menton (% 15-20), İzomenton (% 2-3), Mentofuran (% 2-7), Mentilasetat (%3-5), Limonen (%2-3), Ökaliptol (%6-8), Pulegon (% 1), İzopulegol (% 0,5-0,8), β -Karyofillen (% 1), α -Pinen (% 1-3,5), β -Pinen (% 1-2), Trans-sabinen hidrat (% 1), Germakren-D (% 1-2), β -Bourbone (Kaya, 2013).

Ökaliptus ağacı (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.): Kuru yapraklarda % 3-5 uçucu yağ, reçineler, acı maddeler, % 0.01 flavonoidler, metilflavon, ökaliptin, %2-4 triterpenoidler, floroglusinol-seskuiterpen-çifti maddeler, fazla miktarda tanen bulunur. Uçucu yağda %80-90 ökaliptol, 1,4-sineol, Gerianol, Kamfen, İzoborneol, Limonen (%0,5), Ödesmol, p-Simen (% 2,7), α -Pinen (% 2,6), Pinokarveol, 1,4-Sineol, Terpinen-1-ol, Terpinen-4-ol gibi maddeler bulunmaktadır (Kaya, 2013).

Timol ve timol, okalıptus, kâfur ve mentol karışımlı ürünlerin uygulama şekli ve dozları *Varroa* 'lar için yüksek toksik etki oluştururken, arılar bu dozlardaki etkin maddeleri çok iyi tolere edebilmektedir. Kâfur gibi çok uçucu maddeler özel jeller içerisinde hazırlanarak kullanımı uygulamada karşılaşılan zorluklar ortadan kaldırılabilir. Araştırmalar, bu maddelerin doğru kullanımı sonucu balda oluşacak kalıntının eşik düzeyinin altında kaldığını göstermektedir (Kurt, 2007; Kumova, 2004). Bogdanov ve ark.'nın (1998) yapmış oldukları çalışmada balda timol seviyesi 0,02 mg/kg olarak bulmuşlardır. Uygulama mevsimine göre timolün balda bulunan seviyesi değişmektedir (Bogdanov ve ark, 1998).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyal

Bu çalışmada; Aydın bölgesi arıcılık işletmelerindeki kovanlardan ana arı, erkek arı ve işçi arılardan 200 adet yetişkin dişi *Varroa destructor* Eylül 2014 ile Eylül 2015 tarihleri arasında toplanmıştır. Bunun için özellikle arıcılık yönünden zengin Bozdoğan, Buharkent, Çine, Didim, Merkez, Germencik, İncirliova, Karacasu, Karpuzlu, Köşk, Kuşadası, Kuyucak, Nazilli, Paşayaylası, Söke, Sultanhisar, Yenipazar tercih edilmiştir. Toplanan örnekler laboratuvara getirilerek kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Laboratuvara getirilen *V. destructor* örnekleri literatürde (Dietemann ve ark, 2013) bildirildiği şekli ile (Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kiti, 69504) kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

3.2.2. Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kiti İle DNA Ekstraksiyonu

Bu ekstraksiyon yönteminde Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kitine ait protokol takip edilmiştir.

Bu amaçla; daha önce izole edilmiş ve sıvı nitrojende (-20 °C) muhafaza edilmiş *Varroa destructor* 'lar ayrı ayrı otoklavlanmış 2 ml'lik eppendorf tüplere alınarak 65 °C'de 1 dakika bekletilmiştir. Bu işlem 5 kez tekrar edilmiştir. Proteinlerin çöktürülmesi amacıyla 180 µL Buffer ATL ve 20 µL Proteinase K ilave edildikten sonra örnekler vortekslenip tamamen lize oluncaya kadar 56 °C'de 5 saat süreyle benmaride inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

işlemi sonrasında 200 µL Buffer AL eklenip vortekslenmiştir. Ethanol (200 µL) ilavesinden sonra örnekler tekrar vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışım DNeasy spin kolona aktarılıp $6000 \times G$ 'de 1 dk. santrifüj edilmiştir. 500 µL Buffer AW1 eklenip $6000 \times G$ 'de 1 dk. santrifüj edilmiştir. Sonra örneklerle 500 µL Buffer AW2 eklenip ve $20,000 \times G$ 'de 3dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda toplama tüpü atılıp 1.5 mL'lik steril eppendorf spin kolona yerleştirilmiştir. Son aşamada 50 µL Buffer AE eklenip oda sıcaklığında 1 dakika beklenilip $6000 \times G$ 'de 1dk. santrifüj edilmiştir. Daha sonra elde edilen DNA kullanılıncaya kadar $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Pozitif Kontrol Örneğin Sekansının Belirlenmesi

Arıcılık işletmelerinden rasgele seçilmiş bir örneğin haplotipi belirlenip pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sekansı belirlenecek PCR ürünü özel bir firmaya sentezlettirme amacıyla gönderilmiştir.

3.2.4. *Varroa destructor* Mitokondriyal *Cox1* Geninin İncelenmesi

Varroa destructor mitokondriyal *Cox1* Geninin incelenmesinde Strapazzon ve ark, (2009) ve Solignac ve ark, (2005) tarafından belirlenen iki farklı teknik modifiye edilerek kullanılmıştır.

3.2.4.1. Solignac ve ark (2005) tarafından belirlenen Yöntemin uygulanması

3.2.4.1.1. Optimizasyon

Toplam 50 µL'lik reaksiyonda; 35,75 µL DNase/RNase Free Distilled Water (Gibco Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA), 5 µL 10X PCR Buffer (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 3 mM MgCl₂ (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 1 mM dNTP (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 1,5 µl Forward primer (İontek, İstanbul, Turkey), 1,5 µl Reverse primer (İontek, İstanbul, Turkey), 1.25 ünite Taq DNA polimeraz (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) ve 16 ng DNA örneği kullanılmıştır.

3.2.4.1.2. Amplifikasyon

Varroa destructor'un *Cox1* gen bölgesinin amplifikasyonunda (Solignac ve ark. 2005). (ADA 01) 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' Forward ve 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' Reverse primeri ticari bir firmaya sentezlettirilmiştir. Reaksiyon AB Applied Biosystems Veriti marka otomatik Thermal cycler cihazında yapılmıştır. Reaksiyonun aşamaları ön denatürasyon 94°C'de 4 dk, Siklusların herbirindeki denatürasyon 94°C'de 1 dk, annealing 50°C'de 1.30 dk, elongasyon 72°C'de 1.30 dk olup 35 siklus'dan oluşup son uzama aşaması 72°C'de 10 dk'da yapılmıştır.

3.2.4.1.3. Agaroz Jel ve Elektroforez

Amplifiye olmuş DNA fragmentlerini standart marker ile birlikte 1,5 gr agaroz 100 mL 1X TAE (50XTAE; 1 litreye, 242 g Tris, 0.5 M EDTA 100 mL, pH:8) 5 µL Red Safe™ Nucleic Acid Staining Solution (İntron Biotechnology, Korea) kullanılmıştır. Daha sonra 1'er µL Loading Dye 6X Concentrated (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) her bir PCR ürününden 9 µL olacak şekilde loading dye ile karıştırılmıştır. PCR ürünlerinin Kaç bp aralığında olduğunu saptamak için 5 µL 100 bp DNA Ladder (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) ilave edilmiştir. Agaroz jeldeki PCR ürünleri 90 volt doğrusal akımda 1 saat elektroforeze tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra jel görüntüleme cihazında (UV transluminatör, UVP EC3 ChemiHR 410 Imaging System) görüntüleri elde edilmiştir. Oluşan bandlar DNA marker ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.1.4. *SacI* Restriksiyon Enziminin Kullanılması

Varroa destructor Japon ve kore haplotiplerinin tanımlanması için Anderson ve Fuchs (1998)'de belirtildiği gibi tanıma yeri 5'...GAGCTC...3' 3'...CTCGAG...5' olan *SacI* restriksiyon enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. R0156S-0501212 New England Biolabs restriksiyon enzimi ve tablo 14'de belirtilen reaksiyon karışımları kullanılıp 37 °C'de 15 dakika kesim işlemi yapılmıştır. Çalışmanın sonunda enzimin çalışmasını durdurmak için 65°C'de 20 dakika bekletilmiştir.

3.2.4.1.5. Agaroz Jel Görüntülenmesi

SacI restriksiyon enziminin kullanılmasıyla elde edilen ürünlere 2 gr agaroz 100 mL 1XTAE (50XTAE; 1 litreye, 242 g Tris, 0.5 M EDTA 100 ml, pH;8) 5 µL Red Safe™ Nucleic Acid Staining Solution (İntron Biotechnology, Korea) 1XTAE solüsyonu ve 5'er µL Loading Dye 6X Concentrated (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) eklenip karıştırılmıştır. Kesim ürünlerinin kaç bp aralığında olduğunu saptamak için 10 µL 100 bp'lık DNA Ladder (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) bırakılmıştır. Agaroz jeldeki PCR ürünleri 90 volt doğrusal akımda 1 saat elektroforeze tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra jel görüntüleme cihazında (UV transluminatör, UVP EC3 ChemiHR 410 Imaging System) görüntüleri elde edilmiştir. Oluşan bandlar DNA marker ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.2. Strapazon ve ark (2009) tarafından belirlenen yöntemin uygulanması

3.2.4.2.1. Optimizasyon

Solignac ve ark (2005) tarafından uygulanan yöntemin aynısı modifiye edilerek buradada uygulanmıştır Toplam 50 µL'lik reaksiyonda; 35,75 µL DNase/RNase Free Distilled Water (Gibco Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA), 5 µl 10X PCR Buffer (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 3 mM MgCl₂ (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 1 mM dNTP (Geneaid, New Taipei City, Taiwan), 1,5 µL Forward primer (İontek, İstanbul, Turkey), 1,5 µL Reverse primer (İontek, İstanbul, Turkey), 1.25 ünite Taq DNA polimeraz (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) ve 16 ng DNA örneği kullanılmıştır.

3.2.4.2.2. Amplifikasyon

Solignac ve ark (2005) tarafından uygulanan Amplifikasyon yönteminin aynısı modifiye edilerek buradada uygulanmıştır *Varroa destructor*'un *CoxI* gen bölgesinin amplifikasyonunda (ADA 02)

COXF [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] Forward ve COXRa [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'] Reverse primeri ticari bir firmaya sentezlettirilmiştir. Reaksiyon AB Applied Biosystems Veriti marka otomatik Thermal cycler cihazında yapılmıştır. Reaksiyonun aşamaları ön denatürasyon 94 °C'de 4

dakika, Siklusların herbirindeki Reaksiyonun aşamaları ön denatürasyon 94 °C’de 4 dk, Siklusların herbirindeki denatürasyon 94 °C’de 1 dk, annealing 50 °C’de 1.30 dk, elongasyon 72°C’de 1.30 dk olup 35 siklus’dan oluşup son uzama aşaması 72 °C’de 10 dk’da yapılmıştır.

3.2.4.2.3. Agaroz Jel ve Elektroforez

Amplifiye olmuş DNA fragmentlerini standart marker ile birlikte 1,5 gr agaroz 100 mL 1XTAE (50XTAE; 1 litreye, 242 g Tris, 0.5 M EDTA 100 ml, pH;8) 5 µl Red Safe™ Nucleic Acid Staining Solution (İntron Biotechnology, Korea) kullanılmıştır. Daha sonra 1’er µL Loading Dye 6X Concentrated (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) ile bir PCR ürününden 9 µL olacak şekilde loading dye ile karıştırılmıştır. PCR ürünlerinin kaç Bp aralığında olduğunu saptamak için 5 µL 100 bp DNA Ladder (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) ilave edilmiştir. Agaroz jeldeki PCR ürünleri 90 volt doğrusal akımda 1 saat elektroforeze tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra jel görüntüleme cihazında (UV transluinatör, UVP EC3 ChemiHR 410 Imaging System) görüntüleri elde edilmiştir. Oluşan bandlar DNA marker ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.2.4. XhoI ve SacI Restriksiyon Enzimlerinin Kullanılması

Varroa destructor Japon ve kore haplotiplerinin tanımlanması için Anderson ve fuchs (1998)’de belirtildiği gibi tanıma yeri 5’...GAGCTC...3’ 3’...CTCGAG...5’ olan *SacI* restriksiyon enzimi ve 5’...GTCGAG...3’ 3’...GAGCTC...5’ olan *XhoI* restriksiyon enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. R0156S-0501212 New England Biolabs *SacI* restriksiyon enzimi ve R0146S-0581507 olan New England Biolabs *XhoI* restriksiyon enzimi tablo 14’de belirtilen reaksiyon karışımları kullanılıp 37 °C’de 15 dakika kesim işlemi yapılmıştır. Çalışmanın sonunda enzimin çalışmasını durdurmak için 65 °C’de 20 dakika bekletilmiştir.

3.2.4.2.5. Agaroz Jel ve Elektroforez

XhoI ve *SacI* restriksiyon enzimlerinin kullanılmasıyla elde edilen ürünlere 2 gr agaroz tartılıp 100 mL 1XTAE (50XTAE; 1 litreye, 242 g Tris, 0.5 M EDTA 100 ml, pH;8) 5 µL Red Safe™ Nucleic Acid Staining Solution (İntron Biotechnology, Korea) 1XTAE solüsyonu ve 5’er µL Loading Dye 6X Concentrated (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) eklenip

karıştırılmıştır. Kesim ürünlerinin kaç bp aralığında olduğunu saptamak için 10 µL 100 bp'lık DNA Ladder (Geneaid, New Taipei City, Taiwan) bırakılmıştır. Agaroz jeldeki PCR ürünleri 90 volt doğrusal akımda 1 saat elektroforeze tabi tutulmuştur. Bu işlemten sonra jel görüntüleme cihazında (UV transluminatör, UVP EC3 ChemiHR 410 Imaging System) görüntüleri elde edilmiştir. Oluşan bandlar DNA marker ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 14. RFLP'de Kullanılan Reaksiyon Karışımları

	XhoI ve SacI Restriksiyon Enzimleri									
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	1	2	3	4	5	6	7	8
Nükleazsız su	50 µL	36,4 µL	36 µL	36,9 µL	37 µL	36,5 µL	36,7 µL	36,4 µL	36,6 µL	39 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Nükleazsız su	36,5 µL	36,8 µL	36,6 µL	36,6 µL	36,9 µL	36,6 µL	36,5 µL	36,5 µL	36,9 µL	36,5 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Nükleazsız su	37 µL	36,9 µL	36,6 µL	36,4 µL	36,4 µL	36,4 µL	36,8 µL	36,7 µL	36,7 µL	36,6 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	29	30	31	32	33	34	35	36
Nükleazsız su	50 µL	36,4 µL	38,4 µL	38 µL	38,2 µL	38 µL	37,8 µL	37,5 µL	36,1 µL	38 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
Nükleazsız su	32,4 µL	37,7 µL	37,6 µL	37,3 µL	36,5 µL	34,1 µL	37,1 µL	38 µL	38,2 µL	37,4 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

	XhoI ve SacI Restriksiyon Enzimleri									
	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56
Nükleazsız su	37,5 µL	37,4 µL	38,2 µL	37,3 µL	37,7 µL	36,9 µL	37,2 µL	37,1 µL	38 µL	38 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	57	58	59	60	61	62	63	64
Nükleazsız su	50 µL	39,2 µL	36,6 µL	36,4 µL	38,3 µL	37,7 µL	38 µL	37 µL	38,1 µL	38 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
Nükleazsız su	37,8 µL	37,1 µL	37,3 µL	37,8 µL	37,5 µL	37,5 µL	37,6 µL	37,2 µL	37,6 µL	37,4 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
Nükleazsız su	37,4 µL	35,9 µL	38,2 µL	37,4 µL	37,4 µL	37,7 µL	37,7 µL	37,6 µL	38,3 µL	37,9 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	85	86	87	88	89	90	91	92
Nükleazsız su	50 µL	39,2 µL	37,3 µL	37,9 µL	38 µL	37,6 µL	37,8 µL	37,6 µL	37,6 µL	38,2 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102
Nükleazsız su	37,9 µL	37,8 µL	37,8 µL	38,2 µL	38,2 µL	38,1 µL	37,7 µL	37,5 µL	37,5 µL	37,8 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
Nükleazsız su	37,6 µL	38 µL	38 µL	37,3 µL	37,4 µL	37,5 µL	37 µL	37,1 µL	37,6 µL	37,3 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

XhoI ve SacI Restriksiyon Enzimleri										
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	113	114	115	116	117	118	119	120
Nükleazsız su	50 µL	37,9 µ	37,4 µ	37,5 µ	37,7 µ	37,9 µ	37,7 µ	37,6 µ	37,8 µ	37,6 µ
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
Nükleazsız su	37,9 µ	37,9 µ	37,4 µ	37,5 µ	37,5 µ	37,7 µ	37,6 µ	37,5 µ	37,5 µ	37,2 µ
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
Nükleazsız su	37,5 µ	37,4 µ	37,6 µ	37,2 µ	37,6 µ	37,3 µ	37,7 µ	37,7 µ	37,5 µ	37,7 µ
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	141	142	143	144	145	146	147	148
Nükleazsız su	50 µL	37,9 µ	37,5 µ	37 µL	37,6 µ	36,8 µ	37,4 µ	37,2 µ	38 µL	37,6 µ
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158
Nükleazsız su	37,4 µ	37,6 µ	37,6 µ	36,5 µ	37,8 µ	37,5 µ	37,6 µ	37,3 µ	37,6 µ	38 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168
Nükleazsız su	37,6 µ	37,4 µ	37,6 µ	37,5 µ	36,7 µ	36,7 µ	36,6 µ	36,5 µ	36,5 µ	36,4 µ
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

XhoI ve SacI Restriksiyon Enzimleri										
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	169	170	171	172	173	174	175	176
Nükleazsız su	50 µL	38,4 µL	37,2 µL	37,3 µL	37,6 µL	37,6 µL	37,4 µL	37,7 µL	37,8 µL	37,5 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186
Nükleazsız su	38 µL	37,3 µL	37,5 µL	37 µL	37,5 µL	37,5 µL	37,3 µL	37,6 µL	37,6 µL	37,7 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
	Negatif kontrol	Pozitif kontrol	187	188	189	190	191	192	193	194
Nükleazsız su	50 µL	39,1 µL	38,1 µL	38,4 µL	38,5 µL	38,2 µL	39,4 µL	38,6 µL	38,7 µL	38,8 µL
DNA		1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon		5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi		1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

	195	196	197	198	199	200
Nükleazsız su	38,9 µL	39,5 µL	39,5 µL	39,3 µL	39,3 µL	39,1 µL
DNA	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
10X NE Tampon	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Restriksiyon Enzimi	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL

4. BULGULAR

Bu araştırmada; Aydında arıcılığın yoğun yapıldığı başta Kuşadası olmak üzere Karpuzlu, Çine, Bozdoğan, Karacasu, Paşayaylası, Merkez, Söke, Didim, Nazilli, Sultanhisar, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Germencik, Köşk, Yenipazar ilçelerinden toplam 200 örnek toplanarak incelenmiştir. Toplanan örneklerin bölgelere göre dağılımı Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Toplanan örneklerin bölgelere göre dağılımı

https://www.google.com.tr/search?q=Ayd%C4%B1n+Haritas%C4%B1&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwidrv3JpqrQAhWBthQKHXf9CmEQ_AUICSgC&biw=1366&bih=613#imgc=Eh37TrO9a_IwHM%3A

4.1. Hücre İzolasyonu ve DNA Ekstraksiyonu

Bu çalışmada DNA ekstraksiyonu amacıyla Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kiti ile yapılan DNA ekstraksiyon protokolü uygulanmıştır. Her örnekten 50 µL DNA elde edilmiştir. Pozitif kontrol amacıyla rastgele seçilmiş örneğin (Genbank no: AF106899) kore haplotipine ait olduğu tespit edilmiştir. *V. destructor* kore haplotipi sekans sonucu tablo 16'de verilmiştir.

4.2. Optimizasyonda Optimal Koşulların Oluşturulması ve Değerlendirilmesi

Optimizasyonda optimal koşulların oluşturulmasında MgCl₂ 3 mM ile 4 mM, dNTP 0,5 mM ile 1 mM, DNA 16 ng ile 30 ng, Taq DNA polimeraz 1,25 ünite ile 2,5 ünite ve primerler 1,5 µl ile 3 µl arasında değişen miktarlardaki kullanımlar Resim 1’de verilmiştir.

Bu sonuçlara göre 3 mM MgCl₂, 1,25 ünite Taq DNA polimeraz, 1 mM dNTP, ve 16 ng DNA optimal değerler olarak saptanmıştır.

Annealing süresinin optimal değerinin tespiti için 40 °C 1.30 dk ve 50 °C 1.30 dk, 72 °C 1.30 dk, son uzama aşamasında ise 65 °C 10 dk ile 72 °C 10 dk arasında komplementer oluşumu için 70 °C’de 1.30 dk ve 72 °C’de 1.30 dk ısıya tabi tutulmuştur (Resim 1).

Optimal değer olarak; 50 °C’de 1.30 dk, 72 °C 1.30 dk, son uzama aşamasında 72°C’de 10 dk’da, komplementer oluşumu için 72 °C’de 1.30 dk saptanmıştır.

4.3. Genetik İlişkinin Değerlendirilmesi

Farklı primer ve farklı yöntemler kullanılarak elde edilen genomik DNA amplifikasyonları Resim 2-6’da verilmiştir.

Resim 2’de (ADA 01) (Forward 5'-TACAAAGAGGGGAAGAAGCAGCC-3' ve Reverse 5'-GCCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' sekansa sahip primer kullanılmış ve incelenen 200 örnekte *V. destructor Cox1* gen bulguları için 376 bp büyüklüğünde band amplifiye edilmiştir. Amplifiye edilen 376 bp büyüklüğündeki band *V. destructor* için spesifiktir.

Resim 3’te *SacI* restriksiyon enzimi kullanılarak elde edilen genomik DNA amplifikasyonunda 376 bp büyüklüğündeki amplifiye band türe spesifik olup *V. destructor* kore haplotipini oluşturmaktadır.

Resim 4’de (ADA 02) (Forward 5'-GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3' ve Reverse 5'-GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3' sekansa sahip primer kullanılmış ve incelenen 200 örnekte *V. destructor Cox1* gen bulguları için 570 bp büyüklüğünde band amplifiye edilmiştir. Amplifiye edilen 570 bp büyüklüğündeki bend *V. destructor* için spesifiktir.

Resim 5, Resim 6’da *SacI* ve *XhoI* restriksiyon enzimleri kullanılmıştır, ancak amplifiye genomik DNA’yı sadece *XhoI* restriksiyon enzimi kesmiştir. *SacI* restriksiyon enzimi kesmemiştir. *XhoI* restriksiyon enzimi kullanılarak elde edilen genomik DNA

amplifikasyonunda 270 ve 300 bp büyüklüğünde iki band elde edilmiştir. Elde edilen bandlar *V. destructor* kore haplotipi için spesifiktir.

Bu sonuçlara göre *V. destructor*'un genetik karakterizasyonuna yönelik yapılan çalışmada elde edilen band sayıları ve büyüklükleri dikkate alındığında; incelenen 200 örneğin tamamının *V. destructor* kore haplotipi olduğu ve örneklerin hiçbirinde japon haplotipinin saptanmadığı görülmüştür. Aydın bölgesindeki *V. destructor*'un haplotip dağılımı tablo 15'de verilmiştir.

Tablo 15. Aydın Bölgesindeki *Varroa destructor* Haplotip Dağılımı

	Bölge	Numune sayısı	Kore haplotip	Japon haplotip
1	Kuşadası	20	20	0
2	Karpuzlu	10	10	0
3	Çine	10	10	0
4	Bozdoğan	10	10	0
5	Karacasu	5	5	0
6	Paşayaylası	10	10	0
7	Merkez	5	5	0
8	Söke	20	20	0
9	Didim	5	5	0
10	Nazilli	20	20	0
11	Sultanhisar	20	20	0
12	Kuyucak	10	10	0
13	Buharkent	10	10	0
14	İncirliova	15	15	0
15	Germencik	10	10	0
16	Köşk	10	10	0
17	Yeni Pazar	10	10	0

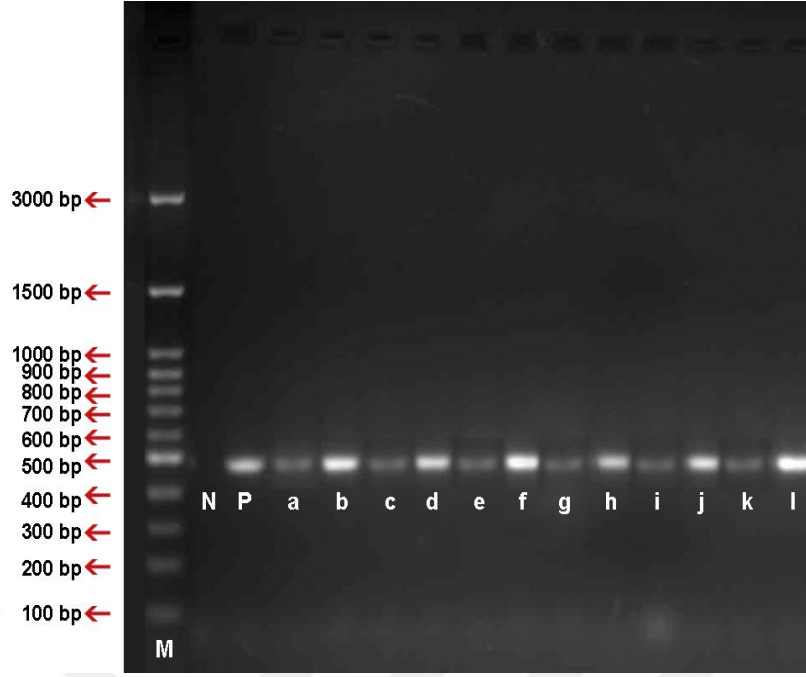
Tablo 16. *Varroa destructor* kore haplotipi sekans sonucu

VAD-VadF (313)

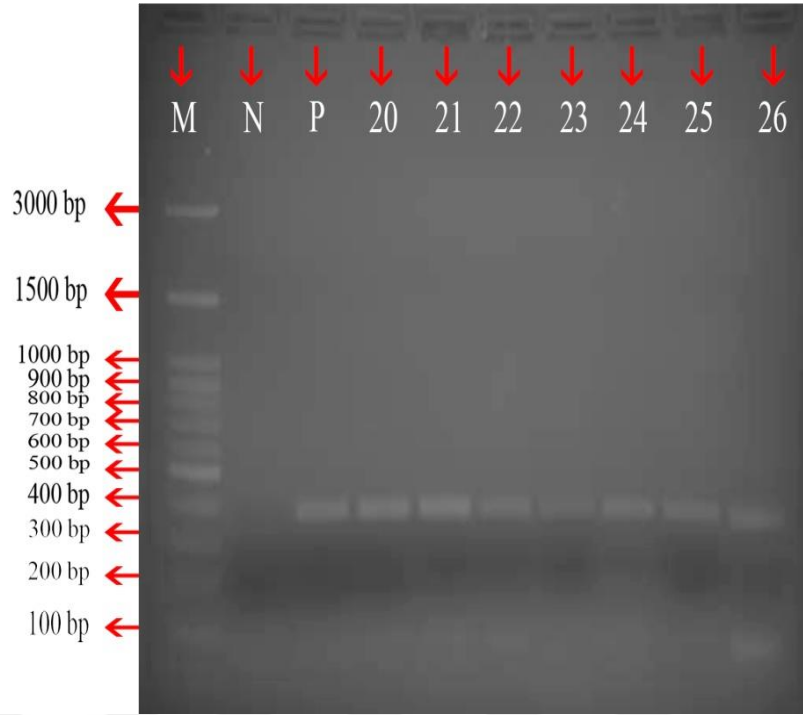
VAD-VadR (325)

Varroa destructor (458)

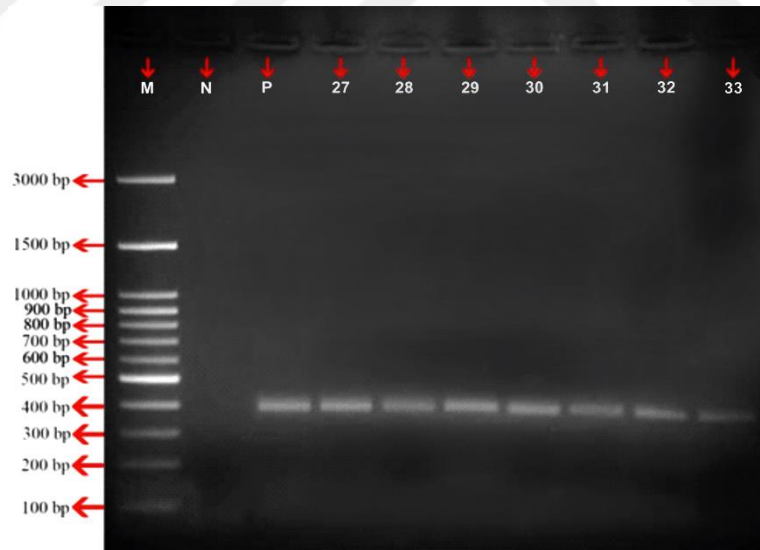
		1	50
VAD-VadF	(1)	-----	-----
VAD-VadR	(1)	-----	-----
<i>Varroa destructor</i>	(1)	ATTTATTTTGATTTTTTGGACACCCAGAAGTTTATATTTTAATTTTGCT	
Consensus	(1)		
		51	100
VAD-VadF	(1)	-----	-----
VAD-VadR	(1)	-----	-----TACAAAGAGGGAAGAAGCA
<i>Varroa destructor</i>	(51)	GGTTTTGGTATTATTTCTCATGTAATTTGTA	TACAAAGAGGGAAGAAGCA
Consensus	(51)		TACAAAGAGGGAAGAAGCA
		101	150
VAD-VadF	(1)	-----	-----GTATTT
VAD-VadR	(21)	GCCTTTTGAAATTTAGGGATAATTTACGCTATAATAACTATCG	GTATTT
<i>Varroa destructor</i>	(101)	GCCTTTTGAAATTTAGGGATAATTTACGCTATAATAACTATCG	GTATTT
Consensus	(101)	GCCTTTTGAAATTTAGGGATAATTTACGCTATAATAACTATCG	GTATTT
		151	200
VAD-VadF	(7)	TAGGTTTTATTGTATGGGCTCATCATATATTTACAGTAGGAATAGATATT	
VAD-VadR	(71)	TAGGTTTTATTGTATGGGCTCATCATATATTTACAGTAGGAATAGATATT	
<i>Varroa destructor</i>	(151)	TAGGTTTTATTGTATGGGCTCATCATATATTTACAGTAGGAATAGATATT	
Consensus	(151)	TAGGTTTTATTGTATGGGCTCATCATATATTTACAGTAGGAATAGATATT	
		201	250
VAD-VadF	(57)	GATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACAATAATTATTGCGGTTCCCTAC	
VAD-VadR	(121)	GATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACAATAATTATTGCGGTTCCCTAC	
<i>Varroa destructor</i>	(201)	GATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACAATAATTATTGCGGTTCCCTAC	
Consensus	(201)	GATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACAATAATTATTGCGGTTCCCTAC	
		251	300
VAD-VadF	(107)	TGGTATTAAAATTTTTCTTGATTAGCAACAATTCATGGTTCTATAGTTA	
VAD-VadR	(171)	TGGTATTAAAATTTTTCTTGATTAGCAACAATTCATGGTTCTATAGTTA	
<i>Varroa destructor</i>	(251)	TGGTATTAAAATTTTTCTTGATTAGCAACAATTCATGGTTCTATAGTTA	
Consensus	(251)	TGGTATTAAAATTTTTCTTGATTAGCAACAATTCATGGTTCTATAGTTA	
		301	350
VAD-VadF	(157)	AATTAGATGTCCCGATAATTTGATCTTTAGGTTTTATTTTTTATTTACT	
VAD-VadR	(221)	AATTAGATGTCCCGATAATTTGATCTTTAGGTTTTATTTTTTATTTACT	
<i>Varroa destructor</i>	(301)	AATTAGATGTCCCGATAATTTGATCTTTAGGTTTTATTTTTTATTTACT	
Consensus	(301)	AATTAGATGTCCCGATAATTTGATCTTTAGGTTTTATTTTTTATTTACT	
		351	400
VAD-VadF	(207)	TTAGGGGTATTACTGGTGAATTTTAGCTAATTCCTTCTATTGATATTGT	
VAD-VadR	(271)	TTAGGGGTATTACTGGTGAATTTTAGCTAATTCCTTCTATTGATATTGT	
<i>Varroa destructor</i>	(351)	TTAGGGGTATTACTGGTGAATTTTAGCTAATTCCTTCTATTGATATTGT	
Consensus	(351)	TTAGGGGTATTACTGGTGAATTTTAGCTAATTCCTTCTATTGATATTGT	
		401	450
VAD-VadF	(257)	TTTACATGATACTTATTATGTAGTAGCACATTTTCACTATGTATTAAGAA	
VAD-VadR	(321)	TTTAC-----	
<i>Varroa destructor</i>	(401)	TTTACATGATACTTATTATGTAGTAGCACATTTTCACTATGTATTAAGAA	
Consensus	(401)	TTTACATGATACTTATTATGTAGTAGCACATTTTCACTATGTATTAAGAA	
		451	
VAD-VadF	(307)	TAGGGGC-	
VAD-VadR	(326)	-----	
<i>Varroa destructor</i>	(451)	TAGGGGCT	
Consensus	(451)	TAGGGG	



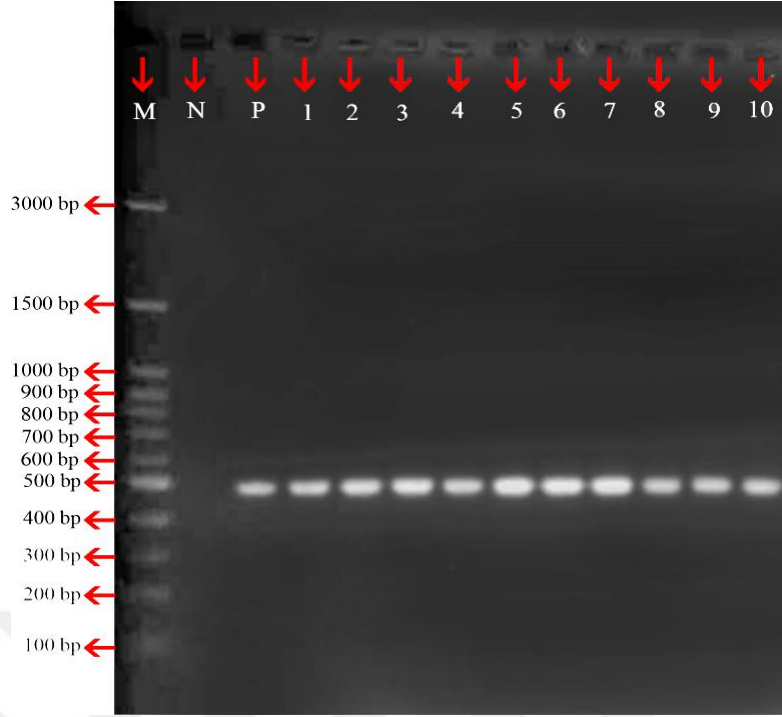
Resim 1. Optimizasyonda Optimal Koşulların Oluşturulması ve Değerlendirilmesi M: Marker, N: Negatif Kontrol, P: pozitif kontrol, a: $MgCl_2$ 4 mM, b: $MgCl_2$ 3 mM, c: dNTP 0,5 mM, d: dNTP 1 mM, e: 30 ng DNA, f: 16 ng DNA, g: 2,5 ünite Taq DNA polimeraz, h: Taq DNA polimeraz 1,25 ünite, i: Annealing 40 °C 1.30 dk, j: Annealing 50 °C 1.30 dk, k: uzama aşaması 70 °C’de 1.30 dk, l: uzama aşaması 72 °C’de 1.30 dk.



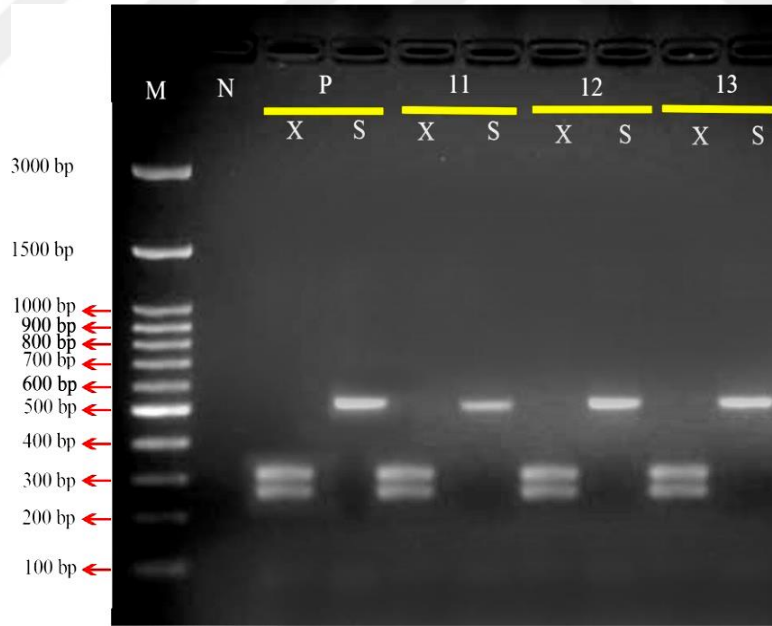
Resim 2. *Varroa destructor* *Cox1* gen amplifikasyonu



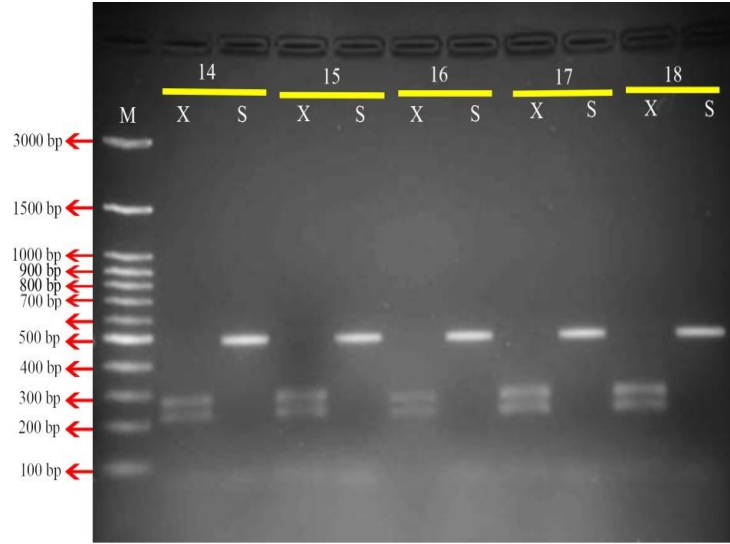
Resim 3. *SacI* restirksiyon enzimi kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri



Resim 4. *Varroa destructor* *CoxI* gen amplifikasyonu



Resim 5. *XhoI* ve *SacI* Restiriksiyon enzimleri kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri



Resim 6. *XhoI* ve *SacI* Restiriksiyon enzimleri kullanılarak elde edilen amplifiye band büyüklükleri

4. TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde bal arılarının en önemli zararlısı olan *Varroa*, ergin ve yavru bal arılarına saldıran, onların hemolenfi ile beslenen bir parazit olarak bilinmektedir. Parazitin kendi zararının yanında birçok virüse vektörlük yapması ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlara ortam hazırlaması nedeniyle *Varroa* bulunan kolonilerde kayıplar üst düzeye çıkmakta ve ciddi ölçüde arıcılığa zarar vermektedir. Arıcılık alanında yüksek düzeyde ilaç kullanımı ve bunun sonucunda balda kalıntı oluşmasına sebep olmaktadır. Bugün Varroosis enfestasyonları Dünya’da ilaca en fazla para ayrılan (yıllık 3.5 milyar US\$) enfestasyonların en başında yer almaktadır (Aydın, 2013).

Bugün ülkemizde 7 milyon civarında arı kolonisi bulunmaktadır. Yılda tek ilaçlama bile yapılsa kovan başı maliyet 5 TL civarındadır. Yaklaşık 16-25 milyon dolar civarı bir ilaç masrafı oluşur ki buna bal ve koloni kayıplarını da eklersek kayıp katlanarak artacaktır (Aydın, 2013).

Varroa destructor tüm dünyada hızlı bir şekilde yayılan arıların bir parazitidir. Koloniler ve sürüler arasında işçilerin ve erkek arıların sürüklenmesi gibi bazı bal arısı biyolojik özelliklerinin yanısıra, bölgede hareketler, göç, tozlaşma alanları ve meyve bahçeleri için koloninin yerdeğiştirmesi ve canlı arıların ticarete kullanılması gibi insan kaynaklı durumlar parazitin hızlı yayılmasında en önemli rolü oynar.

Apis mellifera’da *Varroa destructor*’un Kore ve Japon olmak üzere iki haplotipe sahip olduğu bildiriliyordu (Anderson ve Trueman, 2000). Ancak son son yapılan çalışmalarda Serbia 1 ve Peshter 1 haplotipine sahip olduğuda bildirilmiştir (Gajic ve ark, 2013). *Apis cerana*’da ise *Varroa destructor*’un Kore, Japon, Vietnam, Çin ve Laos haplotipine sahip olduğu bildirilmiştir (Navajas ve ark, 2010, Beaurepaire ve ark, 2015).

Japon haplotipi, ilk olarak geçen yüzyılda Japonya’da *A. cerana*’dan *A. mellifera*’ya geçtiği tespit edilmiştir (Sakai ve Okada, 1973). 1970’li yıllarda bu haplotip *A. mellifera* üzerinde Tayland ve Brezilya’ya dağılmıştır (De Jong and Gonçalves, 1981; Anderson ve Trueman, 2000) ve sonra kuzey Amerika’ya dağılım göstermiştir (de Guzman ve ark., 1999). Avrupa’ya ise 1960’lı yıllarda *A. mellifera*’ üzerinde geçmiştir (Crane, 1978).

Varroa destructor’un hangi haplotipe sahip olduğunu tespit etmek için dünyanın birçok kısmında (Akinwande ve ark, 2012; Beaurepaire ve ark, 2015; Chemurot ve ark, 2016; Gajic ve ark, 2013; Maggi ve ark, 2012; Munoz ve ark, 2008; Navajas ve ark, 2010; Solignac ve ark, 2005; Strapazzon ve ark, 2009) çalışmalar yapılmıştır.

Akinwande ve ark (2012) Nijerya'nın güneybatısındaki Osun, Ogun ve Lagos şehirlerinde 14 kovan *Apis mellifera* üzerinde yaptıkları çalışmada toplam 42 koloni incelemiş ve PCR-Restriksiyon enzim analizini kullanmışlardır. Çalışma sonunda *Varroa destructor*'un Kore haplotipi olduğunu tespit etmişlerdir.

Beaurepaire ve ark (2015) *Apis mellifera* üzerinde yaptıkları çalışmada Filipinlerin Los Banos şehri, Kore'nin Lipa, Dien Bien ve Son La şehirlerinde *A. mellifera* kolonilerinden 263 *A. cerana* kolonilerinden 109 olmak üzere toplam 372 örnek incelemişlerdir. Lipa, Dien Bien ve Son La şehirlerindeki *Apis mellifera*'lardan elde edilen *V. destructor*'ların Kore haplotipi, Los Banos şehrinden *Apis cerana*'lardan elde edilen *V. destructor*'ların Japon haplotipi, Dien Bien ve Son La şehirlerinde Vietnam haplotipi, Cat Ba şehrinde ise Çin haplotipi tespit etmişlerdir.

Chemurot ve ark (2016) Uganda'da Aralık 2014 ile Şubat 2015 tarihleri arasında 170 Bal arısı kolonisi ve Temmuz 2015 ile Eylül 2015 tarihleri arasında 195 Bal arısı kolonisi inceleyerek *V. destructor*'un haplotipini belirlemişlerdir. RNA ekstraksiyonu için QIAamp viral RNA kit protokolünü uygulamışlardır. Çalışmanın sonunda sekans sonuçları Genbank'taki haplotipler ile karşılaştırılmış ve incelenen 9 örneğin tamamının % 100 güney kore haplotipi olduğunu saptanmışlardır.

Gajic ve ark (2013) *Apis mellifera*'da Sırbistan'ın Palic, Belgrad, Vrbica, Bor, Zajecar, Boljevac, Zlatibor, Suvi Do ve Saprance gibi 9 farklı coğrafik bölgesinden toplam 45 adet *V. destructor* toplayıp incelemişlerdir. Çalışma sonucuna göre; Palic 6, Belgrad 4, Vrbica 2, Bor 1, Zajecar 1, Boljevac 3, Zlatibor 2, Suvi Do 4 ve Saprance'dan 3 kore haplotipi bulmuşlardır. Ayrıca Belgrad 6, Vrbica 1, Boljevac 3, Zlatibor 4 ve Saprance'dan 3 yeni Serbia 1 haplotipi ile Suvi Do'danda 2 yeni Peshter 1 haplotipi bulmuşdur.

Maggi ve ark (2012) Arjantin'in Entre Rios, Buenos Aires, Corrientes, Rio Negro, Santa Cruz, Neuquen bölgelerinden Ocak 2006 ile Aralık 2009 tarihleri arasında her kovanlıktan 5 *A. mellifera* kolonisi'nden 100 adet *V. destructor* incelemişler ve incelenen örneklerde japon haplotipine rastlamamış, % 98 kore haplotipine benzerlik gösterdiğini tespit etmiştir.

Solignac ve ark (2005) Fransa (Avignon 92, Alsace 13, Cevennes 12, Ardèche 8, Charente 11, Orne 10, Sarthe 12), Polonya (Varsovie 8), İngiltere (Sheffield 13), İskoçya (Lockkerbia 7), Cezayir 12, Afrika (Pretoria 10), Şili A (Valdivia1 9), Şili B (Valdivia2 9), Şili C (Valdivia3 16), Şili D (La Union1 13), Şili E (La Union2 12), Şili F (Futrono1 14), Şili G (Futrono2 13), Şili H (Futrono3 14), Şili I (Santiago1 12), Şili J Santiago2 23), Arjantin A

6, Arjantin B 7, Fransız Guyana (Sinnamary 10), Meksika (Meksika A 12, Meksika B 13, Meksika C 13, Amerika Birleşik Devletleri (Pensilvanya 6, Michignan 15, Boulder Creek CA 11), Yeni Zellanda (Auckland 6), İsrail (Bet Degan 12), Filipinler (Bico, Luzon 9, Cebu City 8), Çin (Beijing 20), Tayvan (Taichung 12), Japonya (Yatsushiro 21, Machida 22, Noda 7, Yokohama 1, Tokyo 6), Nepal (Kathmandu 5) olmak üzere 17 farklı bölgeden 45 popülasyondan toplam 565 *V. destructor* üzerinde çalışma yapmışlardır. Haplotipini belirlemek için mtDNA kesmede *SacI* restriksiyon enzimi kullanmışlardır. *SacI* restriksiyon enzimi ile kesim yapıldığında 128/124 ve 252/256 bp büyüklüğünde iki fragment elde edilirse japon haplotipi, tek (sindirilmemiş) fragment elde edilirse kore haplotipi için spesifik olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra 12 farklı bölgeden *V. destructor* ve *V. jacobsoni* PCR ürünleri BigDye Terminator metod (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA)'u kullanılarak ABI PRISM 377 automated DNA sequencer (Applied Biosystems Inc.)'da iki yönlü sekanslanmışlardır. Sekans sonuçlarına göre 12 örnekten 10'u kore haplotipi 2'si japon haplotipi, toplam 565 *V. destructor*'un 510'u kore haplotipi olarak bildirmişlerdir. Strapazzon ve ark (2009) Santa Catarina eyaletindeki Blumenau, Joinville, São Joaquim, Mafra ve Caçador şehirlerinden toplanan örnekler Fernando de Noronha ve Pernambuco eyaletinden toplanan örneklerle karşılaştırmışlardır. Kore ve Japon haplotiplerinin ayrımı için *XhoI* ve *SacI* restriksiyon enzimleri kullanmışlardır. PCR ürünlerinin tamamı *XhoI* restriksiyon enzimiyle kesilmiştir. 270 ve 300 bp büyüklüğünde çift band elde edilmiştir. Fakat *SacI* restriksiyon enzimi Santa Catarina'dan toplanan 160 örneği kesmediği için kore haplotipi olduğu, Fernando de Noronha'dan toplanan 30 örnek *SacI* restriksiyon enzimi tarafından kesilip 230-340 bp büyüklüğünde çift band elde edildiği için japon haplotipi olduğunu bildirmişlerdir.

Munoz ve ark (2008) 2001'de *Apis mellifera iberiensis* kolonilerinden İspanyanın Guadalajara şehrinden 10, 2006 ile 2007 tarihleri arasında portekizden 2 örneği içeren tüm Iberian yarım adasından, Balearik adasından 14, Kanarya adalarında bulunan El Hierro'dan 2 örnek olmak üzere 565, toplam 575 *V. destructor* incelemişlerdir. Sonuçlara göre 2001 yılında İspanyanın Guadalajara şehrinde toplanan 10 örnekten 9'unun kore haplotipi 1'inin japon haplotipi olduğu, 2006-2007 yılları arasında Portekiz, Balearik ve Kanarya *XhoI* ve *SacI* adalarından toplanan 565 örneğin tamamının kore haplotipi olduğunu bildirmişlerdir.

Navajas ve ark (2010) *Apis cerana*'da Çin'in; Yunnan bölgesindeki (Kunming şehrinden 2002'de 1, Dayao Co şehrinden 2002'de 1, Xishuanbanna şehrinden 2002'de 1), Guangdong bölgesindeki (Zhuhai şehrinden 2001'de 1, Zhongshan şehrinden 2002'de 1),

Jiangxi bölgesindeki (Nanchang şehrinden 2004'de 5), Hunan bölgesinden 2004'de 1, Japonya'nın; Tokyo şehrindeki Tamagawa Üniversitesinden 1994'de 1, Machida şehrinden 1998'de 1, Shikoku şehrinden 1996'de 1, Taylandın; Bang Changtay şehrinden 2003'de 1, Chiang Mai şehrinden 2003'de 2, Vietnamın; Hanoi şehrinden 1996'da 1 *V. destructor* kolonisi ayrıca Taylandın; Bang Changtay şehrinden 2003'de 1, Chiang Mai şehrinden 2003'de 2 *V. jacobsoni* kolonisi incelenmiştir. *A. mellifera*'da Çin'in; Yunnan bölgesindeki (Xishuanbanna şehrinden 2002'de 1), Jiangxi bölgesindeki Nanchang şehrinden 2004'de 3, Japonya'nın; Tokyo şehrinden 1996'da 1, Tokyo şehrinden 2000'de 1, Korenin; Seoul şehrinden 1996'da 1, Rusya'nın Vladivostok şehrinden 1995'de 1, Tayvanın; Taichung⁽³⁾ şehrinden 2002'de 1, Taylandın; Chiang Mai şehrinden 1997'de 1, Vietnamın Hanoi şehrinden 1996'da 1 koloni incelemişlerdir. Buna göre *A. cerana*'da; *V. destructor*'un Kunming, Dayao Co, Zhuhai, Zhongshan, şehirlerinde Çin haplotipi. Xishuanbanna, Bang Changtay, Chiang Mai ve Hanoi şehirlerinde Vietnam haplotipi. Nanchang ve Hunan şehirlerinde Kore haplotipi. Tokyo, Machida ve Shikoku şehirlerinde Japon haplotipi. *V. Jacobsoni*'de Bang Changtay ve Chiang Mai şehirlerinde Laos haplotipi. *A. mellifera*'da; *V. destructor*'un Xishuanbanna, Nanchang, Tokyo (2000'de), Seoul, Vladivostok ve Hanoi Şehirlerinde Kore haplotipi. Tokyo (1996'da), Taichung ve Chiang Mai şehirlerinde Japon haplotipi tespit etmişlerdir.

Warrit ve ark (2004), Türkiye'nin 8 bölgesinden 10 koloni toplam 50 *V. destructor* incelemişlerdir. Karadeniz; Ereğli'den 4, Kastamonu-İnebolu'dan 7, Sinop-Erfelek'ten 3, Samsun-Bafra'dan 10, Ordu-Yokusdibi 2, Gümüşhane-Kurtun'dan birinci koloniden 2, ikinci koloniden 2, Bayburt 6, Rize-Anzer birinci koloniden 6, ikinci koloniden 4 örnek toplamışlardır. Sekanslanan 18 örnek Anderson & Trueman, 2000; Genbank accession number:AF106899) ile karşılaştırılmıştır. İncelenen tüm örnekler'in Kore haplotipi olduğu bildirmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada ise, *Varroa destructor*'un hangi haplotipe ait olduğunu tespit etmek amacıyla Kuşadası 20, Karpuzlu'dan 10, Çine'den 10, Bozdoğan'dan 10, Karacasu'dan 5, Paşayaylası'ndan 10, Merkez'den 5, Söke'den 20, Didim'den 5, Nazilli'den 20, Sultanhisar'dan 20, Kuyucak'tan 10, Buharkent'ten 10, İncirlioğlu'dan 15, Germencik'ten 10, Köşk'ten 10, Yeni Pazar'dan 10. Toplam 200 örnek toplanarak incelenmiştir.

Bu sayı benzer çalışmalarda (Chemurot ve ark, 2016; Gajic ve ark, 2013) bildirilen veriler uyum içerisindedir.

DNA ekstraksiyonu amacıyla Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit protokolü uygulanmıştır. *V. destructor*'un *CoxI* gen bölgesi Strapazzon ve ark (2009), Solignac ve ark (2005)'e göre incelenmiştir. Solignac ve ark (2005) *CoxI* gen bölgesini incelemek için Forward 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' Reverse 5'-GCCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' primeri ve *SacI* restriksiyon enzimi kullanılmıştır (Solignac ve ark, 2005). Strapazzon ve ark (2009) *CoxI* gen bölgesini incelemek için COXF 5'-GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC-3' Forward ve COXRa 5'-GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC-3' Reverse primeriyle beraber *XhoI* ve *SacI* restriksiyon enzimleri kullanılmıştır (Strappazzon ve ark. 2009).

Solignac ve ark (2005) optimizasyonda; 25 µl'lik reaksiyonda; 2,5 µL 10X Taq polymerase Qiagen buffer, 1 ünite Taq polymerase, 0,25 mM dNTP, 0,5 µM primer, 5 µL Q solüsyonu, 2,5 mM MgCl₂ ve 2 µL DNA. Strappazzon ve ark (2009) ise optimizasyonda; 12,2 µL distile deiyonize su, 1,8 µL PCR buffer, 1,8 µL 2 mM dNTPs, 0,55 µl 50 mM MgCl₂, 0,55 µL 20 mM Forward ve Reverse primer 2,5 ünite Taq DNA polymerase, 2-10 µL DNA kullanılmasını tavsiye etmişlerdir. Ancak optimizasyonda optimal koşulların oluşturulmasında MgCl₂ 3 mM ile 4 mM, dNTP 0,5 mM ile 1 mM, DNA 16 ng ile 30 ng, Taq DNA polimeraz 1,25 ünite ile 2,5 ünite ve primerler 1,5 µL ile 3 µL arasında değişen miktarlarındaki kullanımlar değerlendirilmiş ve sonuçta 3 mM MgCl₂, 1,25 ünite Taq DNA polimeraz, 1 mM dNTP, ve 16 ng DNA optimal değerler elde edilmiştir.

Primerlerin 3' yönüne doğru uzayarak (extention), tutundukları tek zincir DNA'nın karşılığı (komplementer) oluşturmaları için Solignac ve ark (2005) 72 °C'de 1.30 dk. Strappazzon ve ark (2009) ise 64 °C'de 2 dk önermişlerdir Ancak extensiyon süresinin uzun olması gölgelerin oluşabileceği düşüncesini, 65 °C'de 1.30 dk ile 72 °C'de 1.30 dk arasında değişen sıcaklık ve süre değişiklikleri denenmiştir. Optimal koşul olarak literatürde de (Solignac ve ark, 2005) belirtildiği gibi 72 °C'de 1.30 dk da daha iyi bandlar elde edilmiştir.

Aynı şekilde annealing süresinin de değerlendirilmesinde Solignac ve ark (2005) annealing süresini 52 °C'de 1.30 dk Strappazzon ve ark (2009) ise annealing süresini 42 °C'de 1 dk olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise annealing süresini optimal 40 °C 1.30 dk ile 50 °C 1.30 dk arasında değişken değerlendirmeler yapılmış ancak en iyi sonuç 50 °C'de 1.30 dk optimal değer olarak saptanmıştır.

Türkiye'de *V. destructor*'un haplotipinin belirlenmesine yönelik yapılan bu çalışmada; 200 örnek daha önce bildirilen tekniklerle DNA ekstraksiyonu, mitokondriyal *CoxI* geninin

incelenmesine yönelik amplifikasyon teknikleri ve farklı iki enzim kullanılarak genetik ilişki değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak; 200 örneğin tamamının *XhoI* restriksiyon enzimi ile DNA amplifikasyonunda 270 ve 300 bp büyüklüğünde bandlar elde edilmiş, aynı örnekler *SacI* restriksiyon enzimi uygulanmış ancak bu enzimin örneklerin hiçbirini kesmediği görülmüştür. Gerek 270 ve 300 bp'lık bandların elde edilişi gerekse *XhoI* restriksiyon enziminin kesmesi literatürlerde(Solignac ve ark, 2005; Strappazzon ve ark, 2009; Munoz, 2008) bildirildiği gibi *V. destructor* haplotipi için spesifiktir.

Yatığımız bu çalışma ile Türkiye'nin Aydın bölgesinde *V. destructor*'un Kore haplotipine rastlanılmıştır. Bu geçiş, bu haplotipi taşıyan *A. mellifera* bal arılarının taşınmasıyla gerçekleşmiş olabilir. Bu çalışmada Türkiye'nin Aydın ili bölgesinde Japon haplotipine rastlanmadı. Bu da gösteriyor ki, *V. destructor* Japon haplotip taşıyan *A. mellifera* Aydın'a dağılmamış olabilir. Türkiye'nin diğer bölgelerindeki haplotipleri belirlemek için daha fazla çalışma yapılmalıdır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *Varroa destructor*'un genetik karakterizasyonu incelenmiştir. Aydın bölgesindeki arıcılık yönünden zengin Bozdoğan, Buharkent, Çine, Didim, Merkez, Germencik, İncirliova, Karacasu, Karpuzlu, Köşk, Kuşadası, Kuyucak, Nazilli, Paşayaylası, Söke, Sultanhisar, Yenipazar arıcılık işletmelerindeki kovanlardan 200 adet yetişkin dişi *Varroa destructor* Eylül 2014 ile Eylül 2015 tarihleri arasında toplanmıştır.

Genetik karakterizasyonun belirlenmesi için farklı iki teknik modifiye edilerek uygulanmıştır. Ayrıca farklı iki sekansa sahip primer *SacI* restriksiyon enzimi ve *XhoI* restriksiyon enzimleri kullanılarak teşhis değerlendirmeleri yapılmıştır.

Sonuçta elde edilen 200 amplifiye DNA örneğinin gerek (ADA 01) Forward 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' ve Reverse 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3' gerekse (ADA 02) [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] COXF ve [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'] COXRa primeri uygulanmış örneklerin hiçbirinin *SacI* restriksiyon enzimi ile kesilmediği, *XhoI* restriksiyon enzimi uygulanan ADA 02) [5'GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC3'] COXF ve [5'GG(A/T)GACCTGT(A/TA(A/T)AATAGCAAATAC3'] COXRa primeri ile elde edilen amplifiye ürünleri kestiği ve sonuçta *V. destructor* kore haplotipi için spesifik bandlar oluşturduğu saptanmıştır.

Bu ve benzeri moleküler çalışmalar paraziter etkenlerin izolasyonu; teşhisi ve etkenlere yönelik korunma stratejilerinin oluşturulmasında önem arz etmektedir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar ileri dönemde yapılacak çalışmalara zemin oluşturması açısından da önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akinwande KL, Badejo MA, Ogbogu SS.** Incidence of the Korean haplotype of *Varroa destructor* in southwest Nigeria. *Journal of Apicultural Research* 2012, 51(4), 369-370.
- Akkaya H, Vuruşaner C.** "Flumethrin ve Coumaphos'un Balarılarının Varroasis'ine Karşı Etkilerinin Koloni Yapısına Göre Sahada Belirlenmesi. "Field Experiment to Determine the Efficacy of Flumethrin and Coumaphos Against Varroasis According to the State of the Honeybee colonies. """, *Acta Parasitologica Turcica* 1997, 21, 83-86.
- Akyol E, Korkmaz A.** *Bal Arısı (Apis Mellifera) Zararlısı Varroa Destructor'un Biyolojisi. Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005, 5, 122-127.
- Akyol E, Korkmaz A.** Biological methods to control of the *Varroa destructor*. *Uludag Bee Journal* 2006, 6(2), 62-67.
- Akyol E, Özkök D.** *Varroa (Varroa destructor) Mücadelesinde organik asitlerin kullanımı. Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005, 5(4), 167-174
- Aldemir OS, Bakırcı S.** *Bal Arısı Hastalıkları ve Zararlıları. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Aydın, 2014, s 53-94.*
- Anderson D, Trueman JWH.** *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 2000, 24, 165–189.
- Anderson DL, Fuchs S.** Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 1998, 37(2), 69–78
- Anderson DL, Halliday RB, Otis GW.** The occurrence of *Varroa underwoodi* (Acarina: Varroidae) in Papua New Guinea and Indonesia. *Apidologie* 1997, 28, 143-147.
- Anderson DL.** Variation in The Parasitic Mite *Varroa Jacobsoni*. *Apidologie* 2000, 31, 281-292.
- Arıcılık Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 30 Kasım 2011, sayı, 28128.
- Arias MC, Sheppard WS.** Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1996, 5, 557-566.
- Aydın L, Çakmak İ, Güleğen E, Korkut M.** Güney Marmara Bölgesi Arı Hastalıkları ve Zararlıları Anket Sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2003, 3(1), 37-40.

- Aydın L, Güleğen E, Çakmak İ, Girişgin AO.** The Occurrence of *Varroa destructor* Anderson and Trueman, 2000 on honey bees (*Apis mellifera*) in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal sciences* 2007, 31, 189-191.
- Aydın L.** Bal arılarında Varroosis Enfestasyonu. In: Özcel MA, İnci A, Köroğlu E, Karaer Z, Eren H, Yukarı BA, Dumanlı N, Aydın L, Yıldırım A. (edt), Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. Meta Basım, Bornova, İzmir, 2013, s 1347-1352.
- Aydın L.** Sonbaharda Balarısı Hastalık ve Zararlılarının Kontrolü. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005b, 5(4), 59-62.
- Aydın L.** The current status of Varroosis in Turkey and Its control. The 2nd beekeeping Conference Israel-Turkey s 6, 7-9th February 2011, Kfar Menahen Israel.
- Aydın L.** *Varroa destructor*'un kontrolünde yeni stratejiler. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005a, 5(2), 59-62.
- Aydın L.** Varroa İlaçları ve Kontrol Programı. International III. Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, 1-4 November 2012, Muğla Turkey.
- Bailey L, Ball BV.** Honey Bee Pathology (2 nd ed), London, Academic Press, 1991, 3-34.
- Başaran A, Yıldırım N, Gülal Z.** Depreme karşı nasıl bir bina yapılmalı? Türkiye Bilim ve Teknik Araştırma Kurumu", <http://tubitak.gov.tr/w/b08.-html> (16.12.2014). <http://www.mitpress.mit.edu/jrnls-catalog/arch-ed-abstracts/File:jae48-2.html> (5.10.2015).
- Beaurepaire AL, Truong TA, Fajardo AC, Dinh TQ, Cervancia C, Moritz RFA.** Host Specificity in the Honeybee Parasitic Mite, *Varroa* spp. in *Apis mellifera* and *Apis cerana*. PLoS ONE 2015, 10(8), 1-12.
- Boecking O, Spivak M.** Behavioral defences of honey bees against *Varroa jacobsoni* Q. *Apidologie* 1999, 30, 141-158.
- Bogdanov S, Imdorf A, Kilchenmann V.** Residues in wax and honey after Apilife VAR (R) treatment. *Apidologie* 1998, 29(6), 513-524.
- Bogdanov S.** Contaminants of bee products. *Apidologie* 2006, 37, 1-18.
- Büchler R.** Trapping Combs with drone Brood for the Elimination of Varroa Mites. XXXV th International Apicultural Congress of Apimondia, 76/196, 1-6 Eylül, Antwerp, BELÇİKA.
- Campano F, Flores JM, Puerta F, Ruiz JA, Ruz JM.** Fungal diseases of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Bee disease diagnosis* 1999, 25, 61-68.
- Carreck NL, Ball BV, Martin SJ.** The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK. *Journal of Apicultural Research* 2010, 49(1), 66-71.

- Chemurot M, Akol AM, Masembe C, Smet L, Descamps T, Graaf DC.** Factors influencing the prevalence and infestation levels of *Varroa destructor* in honeybee colonies in two highland agro-ecological zones of Uganda. *Experimental and Applied Acarology* 2016, 68(4), 497-508.
- Cornuet JM, Garnery L.** Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogeographic implications. *Apidologie* 1991, 22, 627-642.
- Crane E.** The *Varroa* mite, *Bee World* 1978, 59, 164-167.
- Cushman DA, Patterson R.** A common fungal disease of honey bees, Chalk Brood <http://www.dave-cushman.net/bee/chalkbrood.html> (09.11.2016).
- Çakal MA.** Türkiye’de Arıcılık ve Arı Ürünleri Sektörü, Kuzeydoğu Anadolu Kalkınma Ajansı, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Arıcılık Ve Arı Ürünleri Sektörü http://kudaka.org.tr/apb/tarim_raporlari/tra1_bolgesi_ari_aricilik_urunleri_sektoru_strateji_do_kumani.pdf (07.11.2016).
- Çakmak İ, Aydın L, Güleğen E, H. Wells H.** *Varroa (Varroa destructor)* and Tracheal mite (*Acarapis woodi*) incidence in the Republic of Turkey. *Journal of Apicultural Research* 2003, 42, 57-60.
- Çakmak İ.** Bal Arısı Koloni Kayıpları ve Çözüm Yolları. *Arıcılık Araştırma Dergisi* 2012, 7, 14-19.
- Çakmak İ.** Arıların Yayılma Ekolojisi ve Bitkisel Üretimdeki Rolü. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2004, 4(2), 81-87.
- Danka R, Rinderer TE, Kuznetsov V, Delatte G.** A USDA-ARS project to evaluate resistance to *Varroa jacobsoni* by honey bees of Far-Eastern Russia, *American Bee Journal* 1995, 135, 746–748.
- De Guzman LI, Rinderer TE, Stelzer JA.** DNA evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas, *Biochemical Genetics* 1997, 35, 327-335.
- de Guzman LI, Rinderer TE, Stelzer JA.** Occurrence of two genotypes of *Varroa jacobsoni* Oud. In North America. *Apidologie* 1999, 30, 31–36.
- de Jong D, Gonçalves LS.** The *Varroa* problem in Brazil, *American Bee Journal* 1981, 121, 186–189.
- Delaplane KS.** *Varroa destructor*: revolution in the making. *Bee World* 2001, 82(4), 157-159.
- Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson DL, Locke B, Delaplane KS, Wauquiez Q, Tannahill C, Frey E, Ziegelmann B, Rosenkranz P, Ellis JD.** Standard methods for *varroa* research. *Journal of Apicultural Research* 2013, 52(1), 1-54.

- Eischen FA.** Trials (and tribulations) with formic acid for varroa control. *American Bee Journal* 1998, 138(10), 734-735.
- Ellis M.** Chemical Control of Varroa Mites. Mites of Honey Bee Edit. Webster TC, Delaplane KS. Dadant. Sons Inc. 2001, 179-196.
- Elzen PJ, Eischen FA, Baxter JB, Pettis J, Elzen GW, Wilson WT.** Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. *American Bee Journal* 1998, 138(9), 674-676.
- Engel MS.** The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae: *Apis*). *Journal of Hymenoptera Research* 1999, 8(2), 165-196.
- Fernandez PG.** Acarapidososis or tracheal acariosis. *Options Méditerranéennes* 1999, 25, 107-115.
- Frilli F, Milani N, Barbattini R, Greatti M, Chiesa F, Lob M, D'Agora M, Prota R, Floris L.** The effectiveness of various acaricides in the control of *Varroa Jacobsoni* and their tolerance by honeybees. *Proceeding of the Current state and Development of Research in Apiculture* 1991, 59- 77.
- Gajic B, Radulovic Z, Stevanovic J, Kulisic Z, Vucicevic M, Simeunovic P, Stanimirovic Z.** Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia, based on mtDNA analysis. *Experimental and Applied Acarology* 2013, 61, 97–105.
- Garnery L, Franck P, Baudry E, Vautrin D, Cornuet JM, Solignac M.** Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*) II. Microsatellite loci. *Genetics Selection Evolution* 1998, 30, 49-74.
- Gasser RB.** Molecular tools advances, opportunities and prospects. *Veterinary Parasitology* 2006, 136, 69-89.
- Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen J, Ashiralieva A, Rauch S, Kilwinski J, Fries I.** Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2006, 56(3), 1-11.
- Girişgin AO, Çakmak İ, Çakmak SS, Aydın L.** Varroa'ya karşı ardıç katranı dumanı etkili mi? *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2007, 132-134,
- Girişgin AO, Çakmak İ, Çakmak SS, Aydın L.** Varroa'ya karşı ardıç katranı dumanı etkili mi? *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2007, 132-134.
- Girişgin O, Aydın L.** *Varroa destructor* ile Doğal Enfeste Balarılarında Organik Asitlerin Kullanımı ve Etkinliği. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 16(6), 941-945.

Goodvin M, Eaton VC. Control of Varroa. A Guide for New Zealand Beekeepers. New Zealand by Astra Print, Wellington, 2001 s 13-69

Grabensteiner E, Ritter W, Carter MJ, Davison S, Pechhacker H, Kolodziejek J, Boecking O, Derakhshifar I, Moosbeckhofer R, Licek E, Nowotny N. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 2001, 8(1), 93-104.

GTHB. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Arıcılık Verileri. Ankara, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2012.

Hall HG, Smith DR. 1991. Distinguishing African and European honey bee matrilineages using amplified mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1991, 88, 4548-4552.

Holland M. Varroa mites could devastate our honeybee industry, Malcolm Holland Environment Reporter The Daily Telegraph <http://www.dailytelegraph.com.au/news/nsw/varroa-mites-could-devastate-our-honeybee-industry/story-e6freuzi-1226408275037> (07.11.2016).

Hung ACF, Adams JR, Shimanuki H. Bee parasitic mite syndrome (II) The role of mite and viruses. *American Bee Journal* 1995, 135, 702-704.

Imdorf A, Bogdanov S, Ibanez O, Calderone NW. Use of Essential Oils for the Control of *V.jacobsoni* Honey Bee Colonies. *Apidologie* 1999, 30, 209-228.

Imdorf A, Charriere JD, Kilchenmann V, Tschan A, Bachofen B. The Integrated Control of Varroa without Using the Persistent Varroacide Substances. The XXXV th International Apicultural Congress of Apimondia, 369/176, 1-6 Eylül 1997, Antwerp, BELÇİKA.

Imdorf A, Kilchenmann V, Mmacquelin C, Bogdanov S. Optimization of the use of ApiLife VAR to combat *Varroa Jacobsoni* Qud. in honey bee colonies. *Apidologie* 1994, 25 (1), 49-60.

İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıkları Ve Bildirimine İlişkin Yönetmelik, T.C. Resmi Gazete, 14 Ocak 2012, sayı, 28173.

Johnson RM, Evans JD, Robinson GE, Berenbaum MR. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009, 106, 14790-14795.

Jong DD. Mites: Varroa and other parasites of brood. Morse RA, Flottum K. Eds. Honey Bee Pests, Predators, Diseases. A I Root Company, USA. s 1997, 282-321.

- Kain KC, Brown AE, Lanar DE, Ballou WR, Webster HK.** Response of Plasmodium vivax variants to Chloroquine as determined by microscopy and quantitative polymerase Chain Reaction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1993, 49(4), 478-484.
- Kanga LHB, James RR, Boucias DG.** Hirsutella thompsonii and Metarhizium anisopliae as potential microbial control agents of Varroa destructor a honey bee parasite. *Journal of Invertebrate Pathology* 2002, 81, 175-184.
- Kaya S.** Tıbbi Botanik ve Tıbbi Bitkiler, 2. Baskı. Ankara Medisan Yayınevi, 2013, s 186-221.
- Kekeçoğlu M.** Bal Arısı, Biyoçeşitlilik Ve Koruma Çalışmaları. *Arıcılık Araştırma Dergisi* 2009, 2, 3-5.
- Kence A.** Türkiye Balarılarında Genetik Çeşitlilik Ve Korunmasının Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2006, 1, 25-32.
- Kesarwani D.** Method Of Beekeeping (&) Indigenous Method, Sam Higginbottom Institute of Agriculture Technology (&) Sciences <http://www.slideshare.net/sasyathakur/deeksha-kesarwani> (07.11.2016).
- Koeniger N, Koeniger G, Guzman LD, Lekprayoon C.** Survival of Euvarroa sinhai Delfinado and Baker (Acari, Varroidae) on workers of Apis cerana Fabr, Apis florea Fabr and Apis mellifera L in cages. *Apidologie* 1993, 24, 403-410.
- Konak F.** Türkiye’de arıcılığın gelişimi ve verimlilik çalışmaları. *Standart ekonomik ve teknik dergisi* 2012, 51(601), 34-39.
- Kumova U.** Varroa ile mücadele yöntemleri. 2. Marmara Arıcılık Kongresi Bildiri Kitabı, Aydın L (Ed), Çakmak İ (Ed), Güneş N (Ed), Uludağ Üniv. Basımevi, Bursa, 2004, 83-131.
- Kurt M.** Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları, Arı Hastalıkları <http://vetkontrol.tarim.gov.tr/samsun/Belgeler/Makaleler/ARI%20HASTALIKLARI.pdf> (09.11.2016).
- Kükrer M.** Genetic diversity of honey bee populations in Turkey based on microsatellite markers: a comparison between migratory versus stationary apiaries and isolated regions versus regions open to migratory beekeeping, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2013, 70.
- Kwok S, Higuichi R.** Avoiding false positives with PCR. *Nature* 1989, 339(6221), 237-238.
- Lekprayoon C, Tangkanasing P.** Euvarroa wongsirii, a new species of bee mite from Thailand. *International Journal of Acarology* 1991, 17(4), 255-258.

- Lindberg CM, Melathopoulos AP, Winston ML.** Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa Jacobsoni* (Acari: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidea) parasite. *Journal of Economic Entomology* 2000. 93(2), 189-198.
- Lodesani M.** Control strategies against Varroa mites. *Parassitologia* 2004, 46(1–2), 277–279.
- Lusby D.** The Way Back to Biological Beekeeping, Beesource <http://beesource.com/point-of-view/dee-lusby/the-way-back-to-biological-beekeeping/> (07.11.2016).
- Martin E, Alejandra PM, Claudia F, Marina B, Luis Dhm, Gustavo V, bedascarrasbure E.** Efficacy of Formic Acid in Gel for Varroa Control in *Apis mellifera* L. Importance of the Dispenser Position Inside the Hive. *Veterinary Parasitology* 2002, 24(8), 1-5
- Martin SJ, Highfield AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Nikaido S, Schroeder DC.** Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science* 2012, 336, 1304-1306.
- Maver L, Poklukar J.** Cumafos and amitraz residues in Slovenian honey. *Apiacta* 2003, 38, 54-57.
- McPherson MJ, Moller SG.** The basics. New York, Cromwell Press, 2000, p 1-45.
- Medici S, Quintana S, Ruffinengo S, Marcángeli J, Martínez PG, Fuselli S, Eguaras M.** Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina. *Experimental and Applied Acarology* 2012, 56(4), 309-318.
- Mert G, Yücel B, Köseoğlu M,** 2007. Bal arısı Hastalık ve Zararlıları ile Organik Mücadele Yöntemleri. *Hasad Hayvancılık Dergisi* 2007, 261-263.
- Milani N, Barbattini R.** Effectiveness of Apistan (Fluvalinate) in the control of *Varroa jacobsoni* Oudemans and its tolerance by *Apis mellifera* Linnaeus. *Apicoltura* 1988, 4, 39–58.
- Milani N, Lob M.** Plastic strips containing organophosphorous acaricides to control *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 1998, 138, 612–615.
- Milani N.** Management of the resistance of Varroa mites to acaricides. In: Delaplane, K.S., Webster, T. (Eds.), *Mites of the Honey Bee*. Dadant, Sons, Hamilton, USA, 2001, s 241–250.
- Milani N.** The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie* 1995, 26(5), 415-429.
- Millar A.** Natural bee health and immunity, Bee Health, Diseases, Pests and Problems Workshop, <http://www.brightonlewesbeekeepers.co.uk/wp-content/uploads/2015/01/Bee-Health-Disease-and-problems-Jan-2015-2.pdf> (06.11.2016).
- Miranda JR, Cordoni G, Budge G.** The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology* 2010, 103, 30–47.

- Moeller FE, Williams PH.** Chalkbrood Research at Madison, Wisconsin. *American Bee Journal* 1976, 116(10), 484-495.
- Mortensen AN, Burleson S, Chelliah G, Johnson K, Schmehl DR, Jamie D, Ellis JD.** *Tropilaelaps* spp. Delfinado & Baker (Arachnida: Mesostigmata: Laelapidae), <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/MISC/BEES/Tropilaelaps.htm> (07.11.2016).
- MTO.** Türkiye Arıcılığı. Marmaris Ticaret Odası, 2012.
- Muñoz I, Garrido-Bailón E, Martín-Hernández R, Meana A, Higes M, De la Rúa P.** Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. *Journal of Apicultural Research Bee World* 2008, 47, 310–313.
- Muz D, Muz MN.** Survey on the occurrence of Deformed Wing Virus with multiple parasites of queens (*Apis mellifera L.*) in colony collapsed apiaries of Hatay, Turkey. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 2009 48(3), 204-208.
- Muz MN, Girişgin AO, Muz D, Aydın L.** Molecular detection of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infections in Turkish apiaries with collapsed colonies. *Journal of Apicultural Research* 2010, 49, 342-343.
- Muz MN, Solmaz H, Yaman M, Karakavuk M.** Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 23(3), 147-150
- Muz MN.** Bal arılarında ani koloni sönmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008, 32(3), 271-275.
- Navajas M, Anderson DL, De Guzman LI, Huang ZY, Clement J, Zhou T, Le Conte Y.** New Asian types of *Varroa destructor*: a potential new threat for World apiculture *Apidologie* 2010, 41, 181-193.
- Nurulloğlu ZÜ.** (*Achroia grisella* F. (Lepidoptera: Pyralidae) Larva ve Pupunun Yağ Asidi Bileşimi. *Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 2003, 21, 75-78.
- Ohe von der W.** Control of American Foulbrood by using alternatively eradication method and artificial swarms. *Apiacta* 2003, 38, 137-139.
- Okumuş A, Konak F, Kayaboynu Ü, Bilgi F.** Arı Genotiplerinin Değerlendirilmesinde Moleküler Genetik Tekniklerin Kullanımı. *Arıcılık Araştırma Dergisi* 2012, 8, 3-7.
- Oliver R.** The “Nosema Twins” – Part 1, [ScientificBeekeeping.co](http://scientificbeekeeping.com/the-nosema-twins-part-1/) <http://scientificbeekeeping.com/the-nosema-twins-part-1/> (09.11.2016)
- Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik, T.C. Resmi Gazete, 18 Ağustos 2016, sayı, 27676.

- Palmer MR, Smith DR, Kaftanoglu O.** Turkish honeybees: genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *Journal of Heredity* 2000, 91, 42-46.
- Persing HD.** Polymerase chain reaction: Trends to benches. *Journal of Clinical Microbiology* 1991, 29, 1281-1285.
- Portakal P, Yarsan E.** Karaciğer üzerine etkili zehirli bitkiler. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi* 2010, 22(1-2), 58-6526.
- Prichard R, Tait A.** The role of molecular biology in veterinary parasitology. *Veterinary Parasitology* 2001, 98, 169-194.
- Rangberg A, Diep DB, Rudi K, Amdam GV.** Paratransgenesis: An Approach to Improve Colony Health and Molecular Insight in Honey Bees (*Apis mellifera*). *Integrative and Comparative Biology* 2012, 52(1), 89-99.
- Ribièrè M, Olivier V, Blanchard P.** Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? *Journal of Invertebrate Pathology* 2010, 103, 120-131.
- Ritter W ve Akratanakul P.** Agricultural and food engineering technical report; Honey bee diseases and pests: a practical guide, FAO, Rome, 2006, s 11-17.
- Roffet-Salque M, Regert M, Evershed RP, Outram AK, Cramp LJE, Decavallas O, Dunne J, Gerbault P, Mileto S, Mirabaud S, Pääkkönen M, Smyth J, Šoberl L, Whelton HL, Alday-Ruiz A, Asplund H, Bartkowiak M, Bayer-Niemeier E, Belhouchet L, Bernardini F, Budja M, Cooney G, Cubas M, Danaher EM, Diniz M, Domboróczki L, Fabbri C, González-Urquijo JE, Guilaine J, Hachi S, Hartwell BN, Hofmann D, Hohle I, Ibáñez JJ, Karul N, Kherbouche F, Kiely J, Kotsakis K, Lueth F, Mallory JP, Manen C, Marciniak A, Maurice-Chabard B, Mc Gonigle MA, Mulazzani S, Özdoğan M, Perić OS, Perić SR, Petrasch J, Pétrequin AM, Pétrequin P, Poensgen U, Pollard CJ, Poplin F, Radi G, Stadler P, Stäuble H, Tasić N, Urem-Kotsou D, Vuković JB, Walsh F, Whittle A, Wolfram S, Zapata-Peña L, Zoughlami J.** Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers. *Nature* 2015, 527, 226-230.
- Rozenzvit MC, Zhang LH, Kamanetzky L, Canova SG, Guamera EA, McManus DP.** Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology* 1999, 118 (5), 523-530.
- Ruffinengo S, Eguaras M, Floris I, Faverin C, Bailac P, Ponzi M.** LD50 and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. *Econ Entomology* 2005, 98(3), 651-655.

- Ruttner F.** Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, GmbH 1988, s 2-13.
- Ryan S. Schwarz RS, Teixeira ÉW, Tauber JP, Birke JM, Martins MF, Fonseca I, Evans JD.** Honey bee colonies act as reservoirs for two *Spiroplasma* facultative symbionts and incur complex, multiyear infection dynamics. *MicrobiologyOpen* 2014, 3(3), 341–355.
- Sakai T, Okada I.** The present beekeeping in Japan, *Glean Bee Cult* 1973, 101, 356–357.
- Sammataro D, Gerson U, Needham G.** Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. *Annual Review of Entomology* 2000, 45, 519-548.
- Sammataro D, Untalan P, Guerrero F, Finley J.** The resistance of Varroa mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology* 2005, 31(1), 67–74.
- Sammataro D, Yoder JA.** Honey Bee Colony Health: Challenges and Sustainable Solutions. Boca Raton, CRC Press, 2012, 78-96.
- Sammataro D, Avitabile A.** The beekeeper's handbook (4 nd ed), Ithaca, Cornell University Press, 2011, 189-265.
- Sandal K, Kan C.** Bingöl İlinde Arıcılık Faaliyetleri. *Türk Coğrafya Dergisi* 2013, 60, 1-12.
- Saner G, Yücel B, Yercan M, Karaturhan B, Engindeniz S, Çukur F, Kösoğlu M.** Organik ve konvansiyonel bal üretiminin teknik ve ekonomik yönden geliştirilmesi ve alternatif pazar olanaklarının saptanması üzerine bir araştırma: İzmir ili Kemalpaşa ilçesi örneği. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü 2011, Yayın No:195, Ankara.
- Sarıözkan S, İnci A, Yıldırım A, Düzlü Ö.** Kapadokya'da Arıcılık. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009, 6(2), 143-155.
- Seğmenoğlu MS, Baydan E.** Ballarda Rastlanabilen İlaç Kalıntıları ve Bulaşanlar. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi* 2012, 2, 24-28.
- Shimanuki H, Knox DA.** Diagnosis of Honey Bee Diseases, Washington, Agricultural Research Service U.S. Department of Agriculture, 2000, 15-33.
- Sıralı YD.** Arıcılığın Türkiye İçin Önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi* 2010, 4, 3-4.
- Siqueira jF, Roças IN.** PCR methodology as avaluable tool for identification of endodontic pathogens. *Journal of Dentistry* 2003, 31(5), 333-339.
- Smith DR, Brown WM.** Mitochondrial DNA restriction site polymorphisms in American and Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experientia* 1988, 44: 257-260.

- Smith TM, Miller JR, Russell GL.** Seasonal oceanic heat transports computed from an atmospheric model and ocean temperature climatology. *Dynamics of Atmospheres and Oceans* 1989, 14, 77-92.
- Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, Thaithong S, Brown KN.** Identification of the human malaria parasite species in field samples by the Polymerase Chain Reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1993, 58, 283-292.
- Snyder R.** BQCV (Black Queen Cell Virus), Pest and Disease Control <https://beeinformed.org/2013/12/04/bqcv-black-queen-cell-virus/> (07.11.2016).
- Solignac M, Cornuet JM, Vautrin D, Le Conte Y, Anderson D, Evans J, Cros-Arteil S, Navajas M.** The invasive Korea and Japan types of *Varroa destructor*, ectoparasitic mites of the Western honey bee (*Apis mellifera*), are two partly isolated clones. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 2005, 272, 411–419.
- Strapazzon R, Carneiro FE, Guerra Jr JCV, Moretto G.** Genetic characterization of the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) collected from honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) in the State of Santa Catarina, Brazil. *Genetics and Molecular Research* 2009, 8(3), 990-997.
- Şimşek H.** Elazığ yöresi bal arılarında bazı parazit ve mantar hastalıklarının araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005, 52, 123-126.
- Thompson HM, Brown MA, Ball RF, Bew MH.** First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 2002, 33, 357–366.
- Trouiller J.** Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in Western Europe. *Apidologie* 1998, 29, 537–546.
- Tunca Rİ, Çimrin T.** Kırşehir İlinde Bal Arısı Yetiştiricilik Aktiviteleri Üzerine Anket Çalışması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2012, 2(2), 99-108.
- Underwood RM, Currie RW.** The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology* 2003, 29, 303-313.
- Uygur ÖŞ, Girişgin O.** Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2008, 8(4), 130-142.
- Uygur Ş.** Organik Arıcılık. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005, 5, 103-106.
- Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E.** Echinococcus cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005, 29(3), 171-176.

- Ütük, AE, Pişkin FÇ, Deniz A, Balkaya İ.** Varroosis ve noseiosis üzerine retrospektif bir çalışma. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2011, 22, 11-15.
- Warrıt I, Aydın L, Gulegen E, Wells H.** Varroa (*Varroa destructor*) and tracheal mite (*Acarapis woodi*) incidence in the Republic of Turkey. *Journal of Apicultural Research* 2003, 42(4), 57-60.
- Warrıt N, Hagen TAR, Smith DR, Cakmak I.** A. Survey of Varroa destructor strains on *Apis mellifera* in Turkey. *Journal of Apicultural Research* 2004, 43(4), 190-191.
- Warrıt N, Smith DR, Lekprayoon C.** Genetic subpopulations of *Varroa* mites and their *Apis cerana* hosts in Thailand. *Apidologie* 2006, 37, 19–30.
- WEB_1. (2007). Mitat Kurt, Organik arıcılık kuralları ve hastalıklarla mücadele, Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. <http://traglor.cu.edu.tr/objects/objectFile/nktwAnG5-15122012-10.pdf> (18.10.2016).
- WEB_1. (2015). Koç Arıcılık, Arıcılık Çeşitleri. <http://www.kocaricilik.com/faydali-blgler/aricilik/aricilik-cetler.html> (20.10.2016).
- WEB_1. (2016). T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ruhsatlı Veteriner Tıbbi Ürünler. <http://www.gkgm.gov.tr/vtu/RListe.aspx> (27.12.2016).
- WEB_1. (2016). T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Hayvancılık Genel Müdürlüğü, Arıcılık Verileri. <http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf> (18.10.2016).
- Webster TC, Delaplane KS.** Mites of Honey Bee. Dadant and Sons Publish. Illinois, 2001, 280.
- Wildman T.** A Treatise on the Management of Bees (1 nd ed), London, 1768, (2 nd ed) 1770, s 57.
- Yılmaz HL, Yildizdas DR.** Amitraz poisoning, an emerging problem: epidemiology, clinical features, management and preventive strategies. *Archives of Disease in Childhood* 2003, 88(2), 130-134.
- Yücel B.** Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinde Varroa (*Varroa jacobsoni* Q.) ile Mücadelede Farklı Organik Asitlerin Kullanılmasının Koloni Performansı Üzerine Etkileri. *Hayvansal Üretim* 2005, 46(2), 33-39.
- Zeybek H. 19 91:** Arı Hastalıkları ve Zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Etlık, Ankara, 1991, 96.

Zhou T, Anderson D, Huang Z, Huang S, Yao J, Ken T, Zhang Q. Identification of Varroa mites (Acari: Varroidae) infesting *Apis cerana* and *Apis mellifera* in China. *Apidologie* 2004, 35, 645–654.



ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Ayan Adnan
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Kütahya
Telefon : 05434399817
E-mail : adnan_ayan43@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı	2017
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2011-2012	Van/Yüzüncü Yıl Veteriner Fakültesi A.B.D.	Üniversitesi Parazitoloji Araş. Gör.
2012-2016	Aydın/Adnan Üniversitesi Sağlık Enstitüsü	Menderes Bilimleri Araş. Gör.

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

- Aldemir O.S., E. Şimşek, A. Ayan. The First Case of Otomyiasis Caused by Sarcophaga spp. (Diptera; Sarcophagidae) Larvae in a Goose in the World (Dünyada İlk Kez Bir Kazda Sarcophaga spp. Larvaları Tarafından Oluşturulan Otomyiasis Olgusu). **Türkiye Parazitol Derg** 2014; 38: 211-3.
- Ural D.A., A. Ayan, N. Aysul, C. Balıkçı, K. Ural. Secnidazol Treatment to Improve Milk Yield in Sheep with Giardiasis. **Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.** 2014; 9(2): 74-82.

- Ural K., C. Balıkçı, Ü. Karademir, M. Gültekin, İ. Akın, A. Ayan. Melatonin Implant for Treatment of Generalized and Localized Alopecia in Dogs Melatonin Implant for Treatment of Generalized and Localized Alopecia in Dogs, **Animal Health, Production and Hygiene**. 2015 4(1): 360-364.
- Khan JM, S. El-Ashram, HB. Liu, SH. Khan, **A. Ayan**, XY Liu, H. Wang, XM. Tang, X. Suo, MF. Hassan. Transgenic *Eimeria mitis* Expressing Chicken IL-4 Mediated Decrease in Pathogenicity Compared to Wild Type *Eimeria mitis* Strains in Broiler Chickens **Pakistan Veterinary Journal**. 2016; 36(4): 415-420.
- Karademir,U., K. Ural, N. Aysul, **A. Ayan**, S. Toplu, O. Ortlek, C. Balıkci, A. Kunyeli, H. Erdogan, The efficacy of chloroquine treatment against naturally occurring Giardia duodenalis infection in lambs. **Journal MVZ Cordoba**. 2016; 21(2): 5328-5335.
- Umar S, K. Aqil, R. Qayyum, M. Younus, Q. un-Nisa, S. Ali, MA. Shah, M. Irfan, M. Usman, A. Ali, A. Ali, **A. Ayan**, M. Yaqoob. Haematology and blood chemistry references values for clinically healthy red-wattled lapwing (*Vanellus indicus*) **European Journal of Wildlife Research**. DOI 10.1007/s10344-016-1052-7
- Gultekin M, K. Ural, N. Aysul, **A. Ayan**, C. Balıkci, G. akyildiz. The efficacy of chloroquine treatment of Giardia duodenalis infection in calves. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, 2016; 85: 335-342.

2. PROJELER

Aydın Bölgesindeki Bal Arılarında (*Apis Mellifera*) Bulunan *Varroa destructor*'un (Akar: *Varroidae*) Genetik Karakterizasyonu (BAP)

Improvement of current and development of new vaccines for theleriosis and babesiosis of small ruminants (Avrupa Birliği FP-7)

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

- Koyunlarda Doğal Yolla Oluşan Sarcoptik Uyuzda 14 Günlük Eprinomektin Sağaltımı Adnan AYAN, Songül TOPLU, Onur ÖRTLEK, Canberk BALIKÇI, Mehmet GÜLTEKİN, Ahmet KÜNYELİ, Nuran AYSUL, Kerem URAL PB056 s151 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu 5-9 Ekim 2015 ERZURUM
- Dünyada İlk Kez Bir Kazda Sarcophaga spp. Larvaları Tarafından Oluşturulan Otomyiazis Olgusu Osman Selçuk Aldemir Emrah Şimşek Adnan Ayan PB034 s134 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu 5-9 Ekim 2015 ERZURUM
- Bir Gerbilde (*Meriones unguiculatus*) *Dentostomella translucida* Adnan AYAN, Metin PEKAĞIRBAŞ, Süleyman AYPAK, Tülin KARAGENÇ PB046 s143 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu 5-9 Ekim 2015 ERZURUM
- Kadınlarda Bazı Jinekolojik Problemlerin Destek Tedavisinde Hayıt Balının Kullanımı Zeliha SELAMOĞLU, Osman Selçuk ALDEMİR, Adnan AYAN s60 Uluslararası

Katılımlı Marmaris Apiterapi ve Arı Ürünleri Sempozyumu 20-22 Kasım 2015
MARMARİS

- *Giardia sp.* ile doğal infekte buzağlarda hipomagnezemi Songül TOPLU, Kerem URAL, Nuran AYSUL, Adnan AYAN, Mehmet GÜLTEKİN, Canberk BALIKÇI PB05 s272 4. Sürü Sağlığı Yönetimi Sempozyumu 25-28 Mayıs 2016 Antalya
- Alic Ural, D., Ayan, A., Aysul, N., Balıkçı, C., Ural, K. (2015). “Secnidazol treatment to improve milk yield in sheep with giardiasis”. XXI ASPA Congress, Milano, Italy. 9-12.Haziran. 2015.ge: TR;font-weight:normal;mso-bidi-font-weight:bold'>Assessment Of Renal Function Using Canine Cystatin-C Levels In Canine Babesiosis And Ehrlichiosis”. Acta Veterinaria-Beograd. 65 (1). 56-65. 2015.
- Karagenc T, Bilgic HB, Jabbar A, Langley G, Shkap V, Hacilarlioglu (Uner) S, Bakirci S, Köse O, Unlu AH, Aksulu A,Pekağırbaş M, Ayan A, Seitzer U. An investigation on the effectiveness of Babesia ovis-infected cell culture in protecting against ovine babesiosis, Apicowplexa 3rd International Meeting on Apicomplexan Parasites in Farm Animals, Moredun Research Institute, Edinburgh, (Poster bildiri), 30th June – 3th July, 2015
- Ural K, Aysul N, Alıç Ural D, Ayan A, Süer C. Efficacy of eprinomectin for the treatment of cheyletiellosis in cats. European Feline Congress 29th June – 3th July, Malta. Journal of Feline Medicine and Surgery 18, 744–749. 2016
- Ural K, Aysul N, Alıç Ural D, Ayan A, Süer C. Single dose secnidazole treatment for giardiasis in cats. European Feline Congress 29th June – 3th July, Malta. Journal of Feline Medicine and Surgery 18, 744–749. 2016

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

- Ural, K., Gültekin, M., Tuna, G.E., Aysul, N., Karademir, Ü., Akın, İ., Ayan, A. (2015). Develerde Alopesi, Kepeklenme ve Kabuklanma ile Seyreden Sarkoptik Uyuzda Eprinomektin Sağaltımı. XI. Veteriner İç hastalıkları Kongresi, 21-24 Mayıs 2015, Samsun.

4. ARAŞTIRMA

- Nazilli Hayvanat Bahçesindeki hayvanlarda bazı bağırsak parazitlerinin patogenezinin ve parazitolojik etkilerinin araştırılması, Nazilli Hayvanat Bahçesindeki hayvanlarda bazı bağırsak parazitlerinin patogenezinin ve parazitolojik etkilerinin araştırılması, Nazilli, Araştırma, (Ulusal) Temmuz 2016-Ekim 2016
- Nazilli Hayvanat Bahçesindeki Hayvanlarda Giardia Asemblajlarının B-giardin Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile tayini ve zoonotik önemi, Nazilli Hayvanat Bahçesindeki Hayvanlarda Giardia Asemblajlarının B-giardin Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile tayini ve zoonotik önemi, Nazilli, Araştırma,(Ulusal) Haziran 2016-Ekim 2016