

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Varroa destructor*'un Akdeniz Bölgesi İzolatlarının Moleküler
Karakterizasyonu**

Esra ASLAN TOKGÖZ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Ocak, 2023

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

Varroa destructor'un Akdeniz Bölgesi İzolatlarının Moleküler
Karakterizasyonu

Esra ASLAN TOKGÖZ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 30/01/2023 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Armağan Erdem ÜTÜK (Danışman)
: Doç. Dr. Tülin GÜVEN GÖKMEN
: Dr. Öğr. Üyesi Ufuk EROL

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: TYL-2020-13232

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak
gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Varroosis	2
1.2.1. Varroosis'e Neden Olan Türler.....	2
1.2.2. <i>Varroa destructor</i> 'un Farklı Haplotipleri ve Bunun Arıcılık Açısından Önemi.....	2
1.2.3. <i>Varroa destructor</i> 'un Dünyaya Yayılışı	4
1.2.4. <i>Varroa destructor</i> 'un Yaygınlığı	6
1.2.5. <i>Varroa destructor</i> 'un Neden Olduğu Kayıplar.....	8
1.2.6. <i>Varroa destructor</i> 'un Morfolojik Özellikleri.....	8
1.2.7. <i>Varroa destructor</i> 'un Yaşam Döngüsü.....	9
1.2.8. Varroosiste Görülen Klinik Semptomlar.....	13
1.2.9. Arı Kolonilerinde Direnç ve Tolerans.....	14
1.2.10. Varroosis'in Tanısı	16
1.2.11. <i>Varroa destructor</i> 'un Genotiplendirilmesinde Kullanılan Yöntemler.....	17
1.2.12. Varroosis'in Tedavisi ve Kontrolü	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	21
2.1. Dünya Geneline Yapılan Çalışmalar.....	21
2.2. Türkiye'de Yapılan Çalışmalar.....	27
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal	29
3.2. Metot	29
3.2.1. <i>Varroa</i> Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu	29
3.2.2. Hedef DNA'nın Amplifikasyonu (PZR).....	31
3.2.3. Agaroz Jel Elektrophorez ve PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi	31
3.2.4. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Dizi Analizi.....	32
3.2.5. Dizin Verilerinin Hizalanması ve Filogenetik İlişkilerinin Belirlenmesi.....	32
3.2.6. Genetik Çeşitlilik İndeksleri ve Şebeke Analizleri	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin PZR Bulguları.....	34

4.2. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Dizin Analiz Sonuçları	35
4.3. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Filogenetik Analiz Sonuçları	40
4.4. Genetik Çeşitlilik İndeksleri ve Şebeke Analiz Sonuçları	43
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	71



***Varroa destructor*'un Akdeniz Bölgesi İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu**

Esra ASLAN TOKGÖZ

Danışman: Prof.Dr. Armağan Erdem ÜTÜK

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Varroa cinsi içerisinde *V.jacobsoni*, *V.underwoodi*, *V.rindereri* ve *V.destructor* olmak üzere morfolojik olarak birbirinden ayırt edilebilen dört akar türü bulunur. Dünya genelinde en yaygın ve patojen olan tür *V.destructor*'dur. *V.destructor*'un patojenitesi birbirinden farklı haplogrupları vardır. Bu haplogruplar içerisinde de varyantlar bulunur. Akarın en yaygın ve patojen olan haplogrubu Kore 1 (K1)'dir. Bu çalışmanın amacı *V.destructor*'un Akdeniz bölgesi bal arılarında (*Apis mellifera*) parazitlenen izolatlarının moleküler karakterizasyonunu yapmak ve ülkemizdeki varyantları belirlemektir. Bu amaçla Adana, Mersin, Antalya, Osmaniye ve Burdur illerindeki arılıklardan toplanan 125 dişi akar incelendi. Her bir akar bir izolat olarak kabul edildi. Örneklerden DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra mt-COI geninin 500 bp, mt-CytB geninin ise 985 bp'lık bölgeleri PZR ile çoğaltılıp dizilendi. Elde edilen dizin verileri, GenBank'taki referans dizinlerle karşılaştırıldı. Aynı zamanda filogenetik, haplotip ve şebeke analizleri yapıldı. Yapılan analizler Akdeniz bölgesinde K1 haplogrubunda yer alan üç varyantın bulunduğunu gösterdi. Burdur izolatlarından birinin kendine özgü bir varyant olduğu ve dünyadaki diğer varyantlardan farklı bir mutasyona sahip olduğu anlaşıldı. Bu nedenle bu varyant K1 haplogrubunun Burdur 1 (K1:B1) varyantı olarak adlandırıldı. Antalya'nın Kepez, Konyaaltı ve Döşemealtı ilçelerinden elde edilen toplam 5 izolatın Sırbistan P1 varyantı olduğu belirlendi. Çalışmamızda en yaygın varyantın ise V14 olduğu görüldü. Referans dizinlerle yaptığımız analizler V14'ün aslında bir varyant grubu olduğunu ve içerisinde K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, K1:12, K1:14, K1:15 ve Sırbistan S1 varyantlarını barındırdığını gösterdi. Çalışma sonucunda derin seviyede haplotip ve varyant analizi için mt-COI ve CytB genlerinin kısmi dizilerine ilave olarak diğer mitokondrial gen bölgelerinin (COII, COIII, Atp6, ND4, ND5, ND4L) birlikte değerlendirilmesi, ayrıca paternal kalıtımı ve muhtemel hibridizasyon olaylarını incelemeye olanak sağlayan mikrosatellit analizlerinin de yapılması gerektiğine karar verildi.

Anahtar Kelimeler: Varroa, Haplotip, Moleküler Karakterizasyon, Varyant.

**Molecular characterization of Mediterranean region
isolates of *Varroa destructor***

Esra ASLAN TOKGÖZ

Advisor: Prof.Dr. Armağan Erdem ÜTÜK

Department of Biotechnology

ABSTRACT

There are four morphologically distinguishable species, *V.jacobsoni*, *V.underwoodi*, *V.rindereri* and *V.destructor*, in the genus of *Varroa*. *V.destructor* is the most prevalent and pathogen species. There are different haplogroups which have different pathogenic effects in the species of *V.destructor* and also there are variants of these haplogroups. Korea 1 (K1) is the most prevalent and pathogenic haplogroup of *V.destructor*. The aim of this study was to determine the variants of *V.destructor* in Turkey by molecular characterization of the mite isolates which parasitise honey bees (*A.mellifera*) in the Mediterranean region. For this aim, a total of 125 mites were examined from Adana, Mersin, Antalya, Osmaniye and Burdur provinces. Each mite was accepted as an isolate. After the DNA extraction, 500 bp region of mt-COI and 985 bp region of mt-CytB genes were amplified by PCR. Obtained amplicons were sequenced and compared with the reference sequences from the GeneBank. At the same time, phylogenetic, haplotype and network analysis were performed. Analysis results showed that there were three variants of K1 haplogroup in the Mediterranean region of Turkey. One of the Burdur isolates was detected as a unique variant that has a different mutation from the other isolates in the GeneBank. For this reason we called it Burdur 1 variant of K1 haplogroup (K1:B1). Five isolates from Kepez, Konyaaltı and Döşemealtı counties of Antalya province was detected as P1 variant of Serbia. The most prevalent variant was V14. Further analysis with the reference sequences indicated that this was a variant group that contains K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, K1:12, K1:14, K1:15 and Serbia S1 variants. At the end of the study, we decided that in addition to partial sequences of mt-COI and mt-CytB, other mitochondrial genes (COII, COIII, Atp6, ND4, ND5, ND4L) should be investigated for deep level haplotype and variant analysis and also microsatellite analysis should be performed for clear understanding of paternal inheritance and possible hybridization events.

Keywords: *Varroa*, Haplotype, Molecular Characterisation, Variant.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince büyük bir sabır ve ilgiyle değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam kıymetli zamanını ayırarak bana faydalı olabilmek için elinden geleni yapan, yol gösteren, ilham ve örnek aldığım, söylediği her kelimenin hayatıma kattığı değerleri asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Armağan Erdem ÜTÜK'e sonsuz teşekkür ederim.

Beni bugünlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren, maddi manevi tüm desteklerini veren, bu hayattaki en büyük şansım olan annem Dürdane ASLAN'a ve babam Seval ASLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu süreçte beni hiç yalnız bırakmayarak maddi manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. Berat Selim TOKGÖZ'e sonsuz teşekkür ederim.



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında numunelerin toplandığı odaklar, numunelerin odaklara göre dağılımı ve incelenen akar sayıları.....	30
Çizelge 4.1. Varroa türleri, bu türler içerisinde bulunan farklı haplogruplar ve bunlara ait GenBank erişim numaraları (Anderson ve Trueman, 2000)	37
Çizelge 4.2. Mt-CytB dizilerine göre belirlenen 3 farklı varyanta ait baz çifti karşılaştırma tablosu. Üst kısımlarda nükleotid farklılıkları, alt kısımlarda yüzde benzerlikler verilmiştir	40
Çizelge 4.3. Mt-COI geninin 423 bp'lik dizileri baz alınarak incelenen 462 izolatın nötralite test sonuçları. TD: Tajima'nın D testi, FLD: Fu ve Li'nin D testi, FLF: Fu ve Li'nin F testi, FFs: Fu'nun Fs testi, $P<0,05$	45
Çizelge 4.4. Tez çalışması ve farklı ülkelerden incelenen mt-COI bölgesinin 420 bp'lik bölgesi incelenen izolatların sayısı, GenBank erişim numaraları ve haplotip analiz sonuçları.....	46
Çizelge 4.5. Varyant analizinde kullanılan referans dizinlerin orijinleri, GenBank erişim numaraları ve tespit edilen varyantların dağılımı.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Akar örneklerinin toplandığı odaklar	29
Şekil 4.1.	<i>V.destructor</i> 'un mt-COI geninin yaklaşık 500 bp'lik ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. M: DNA ladder, 1: Pozitif kontrol, 2: Negatif kontrol, 3,4,5,6,7: <i>V.destructor</i> 'un saha izolatları.....	35
Şekil 4.2.	<i>V.destructor</i> 'un mt-CytB geninin yaklaşık 1000 bp'lik ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. M: DNA ladder, 1: Pozitif kontrol, 2: Negatif kontrol, 3,4,5,6,7: <i>V.destructor</i> 'un saha izolatları.....	35
Şekil 4.3.	Tez çalışmasında kullanılan 125 izolatın mt-COI geninin 468 bp'lik bölgesini temsil eden Turkey (OQ096706-830) adlı konsensus dizisi.....	36
Şekil 4.4.	Tez çalışmasında kullanılan 119 izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesini temsil eden TURMDT adlı konsensus dizisi.....	38
Şekil 4.5.	Tez çalışmasında kullanılan 5 izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesini temsil eden TURAL adlı konsensus dizisi	39
Şekil 4.6.	Tez çalışmasında kullanılan Burdur 13 nolu izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesinin nükleotid dizisi.....	39
Şekil 4.7.	Mt-CytB geninin çoklu dizin analizinde substitisyonların yeri ve bunların aminoasit değişimleri üzerindeki etkileri.....	40
Şekil 4.8.	<i>V.destructor</i> ve <i>V.jacobsoni</i> 'nin farklı haplogrupları ile Akdeniz Bölgesi izolatlarının [Turkey (OQ096706-830)] filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç. Ağaç mt-COI geninin kısmi dizilerine (477 bp) göre Maximum Likelihood yöntemi ile hazırlanmış ve taksonların GenBank erişim numaraları parantez içerisinde belirtilmiştir. <i>V.underwoodi</i> dış grup olarak kullanılmıştır. Dallar bootstrap (5000 döngü) değerlerine göre renklendirilmiştir.....	42
Şekil 4.9.	<i>V.destructor</i> 'un farklı haplogrupları ile Akdeniz bölgesi izolatlarını temsil eden TURMDT ve TURAL adlı konsensus dizileri ve TURBD13'ün filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç. Ağaç mt-CytB geninin kısmi dizilerine (730 bp) göre Maximum Likelihood yöntemi ile hazırlanmış ve taksonların GenBank erişim numaraları parantez içerisinde belirtilmiştir. Ağacı köklendirmek için orta nokta köklendirme yöntemi kullanılmıştır. Dallar bootstrap (5000 döngü) değerlerine göre renklendirilmiştir.	43
Şekil 4.10.	<i>V.destructor</i> 'un mt-COI geninin 423 bp'lik bölgesine göre hazırlanan şebeke analiz sonucu. Dairelerin boyutu, her bir haplotipin frekansı ile orantılıdır. Haplotipleri ayıran mutasyonların sayısı, tire işaretleri ile gösterilmiştir. H: Haplotip	48

Şekil 4.11. *V.destructor*'un mt-CytB geninin 730 bp'lik bölgesine göre hazırlanan şebeke analiz sonucu. Dairelerin boyutu, her bir varyantların frekansı ile orantılıdır. Varyantları ayıran mutasyonların sayısı, tire işaretleri ile gösterilmiştir. V:
Varyant51



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

İnsanlık tarihinin en eski mesleklerinden birisi olan arıcılık, dünyada ve ülkemizde önemli hayvancılık kollarından birisidir. Arıcılık faaliyetleri sonucunda üretilen bal, bal mumu, polen, propolis, arı sütü, arı zehri, apilarnil ve arı ekmeği gibi ürünler, beslenme amacıyla, medikal amaçlarla ve sanayide yaygın olarak kullanılır (Doğanay ve Aydın, 2017; Waykar ve Alqadhi, 2016).

Arılar, polinasyona sağladığı katkı nedeni ile bulunduğu bölge florası açısından oldukça önemli canlılardır. Bu bağlamda değerlendirildiğinde arı, bitkisel ve hayvansal üretimin devamlılığı ile sağlıklı bir ekosistemin oluşumu için en temel unsurlardan birisidir (Hung ve ark., 2018).

Arıcılık, fazla sermaye, iş gücü ve ekipman gerektirmeyen önemli bir iş koludur ayrıca tarım ve hayvancılıkla uğraşan ailelerin temel geçim kaynağı olabileceği gibi yan gelir elde etmek amacıyla da yapılabilecek meslekler arasındadır. Arıcılık için gerekli olan tüm ekipman ve canlı materyal ülkemizde üretilebilmekte ve herhangi bir tedarik sıkıntısı yaşanmamaktadır (Doğanay ve Aydın, 2017).

Çok geniş bir coğrafyaya sahip olması, farklı iklimlerin görülmesi ve zengin floral kaynakların bulunması nedeni ile ülkemizin hemen hemen her bölgesinde arıcılık yapılabilmektedir (Burucu, 2018).

Ülkemizde ortalama 100'ün üzerinde koloniye sahip olan arıcılar, genellikle gezginci arıcılık yapmakta ve koloniler belirli bölgelerde kışlatılmaktadır (Doğanay ve Aydın, 2017).

Türkiye, koloni varlığı bakımından Çin ve Hindistan'dan sonra dünyada üçüncü, bal üretimi bakımından ise Çin'den sonra ikinci sırada yer almaktadır. Dünyada kovan başına ortalama bal verimi 2016 yılı verilerine göre 19,7 kilogram (kg), Çin'de 54,9 kg, ülkemizde ise 13,4 kg'dır. Bu veriler ülkemiz arıcılığının ciddi birtakım problemlerle karşı karşıya olduğunu ortaya koymaktadır (Burucu, 2018).

Ülkemizde kovan sayısı ve bal üretimi bakımından Ege Bölgesi birinci, Akdeniz Bölgesi ikinci ve Doğu Karadeniz Bölgesi ise üçüncü sırada yer alır. En çok üretimin yapıldığı ilk üç il ise sırasıyla Ordu, Muğla ve Adana'dır (Burucu, 2018; Doğanay ve Aydın, 2017).

Yetiştirme hataları, çevre kirliliği, küresel iklim değişiklikleri, genetiği değiştirilmiş bitkiler, istilacı türler, habitat kaybı, pestisitler ve hastalıklar arıcılıkta verim ve koloni kayıplarına neden olmaktadır (Hristov ve ark., 2020).

Bakteri, virus, mantar ve parazitler (protozoon, helminth ve arthropodlar) arılarda enfeksiyöz hastalıklara neden olur. Bu hastalıklar içerisinde en önemli olanı hiç şüphesiz ki Varroosis'tir (Doğanay ve Aydın, 2017).

1.2.Varroosis

Varroosis, Varroa (Mesostigmata: Varroidae) cinsinde bulunan akarlar nedeni ile arı kolonisinin sağlığının ve ömrünün azalması olarak tanımlanır (Boecking ve Genersch 2008).

Dünya genelinde hastalığın en önemli etkeni *Varroa destructor*'dur. Etken ergin ve yavru bal arıları üzerinde oluşturduğu direkt hasarlar yanında bazı viruslara vektörlük yapması ve birçok bakteriyel hastalığa zemin hazırlaması nedeniyle ülkemizde ve dünyada arı kolonilerinin yok olmasına, ciddi ekonomik kayıpların ortaya çıkmasına ve ekolojik dengelerin bozulmasına yol açmıştır (Doğanay ve Aydın, 2017).

1.2.1. Varroosis'e Neden Olan Türler

Günümüzde Varroa cinsi içerisinde *V.jacobsoni*, *V.underwoodi*, *V.rindereri* ve *V.destructor* olmak üzere morfolojik olarak birbirinden ayırt edilebilen dört akar türü bulunmaktadır (Rosenkranz ve ark., 2010).

Bunlar içerisinde ilk tanımlanan tür *Apis cerana*'da tespit edilen *V.jacobsoni*'dir. *V.jacobsoni*'den sonra *A.cerana*'da *V.underwoodi* ve *A.koschevnikovi*'de *V.rindereri* türleri tespit edilmiştir (Delfinado-Baker ve Aggarwal, 1987; De Guzman ve Delfinado-Baker, 1996; Oudemans, 1904).

V.underwoodi Nepal ve *V.rindereri* ise Borneo'da yayılım göstermektedir. Geçmişte *V.jacobsoni*'nin hem *A.cerana* hem de *A.mellifera*'da enfestasyonlara neden olan ve dünya genelinde en yaygın Varroa türü olduğu düşünülmüştür (Rosenkranz ve ark., 2010).

Ancak yapılan çalışmalar *V.jacobsoni*'nin aslında iki kardeş türü ve çok sayıda haplotipi barındıran bir tür kompleksi olduğunu ortaya koymuş ve *V.destructor* dördüncü bir tür olarak Varroidae ailesindeki yerini almıştır (Anderson ve Trueman, 2000)

1.2.2. Varroa destructor'un Farklı Haplotipleri ve Bunun Arıcılık Açısından Önemi

Günümüzde *V.destructor*'un dünya genelinde en yaygın ve oluşturduğu koloni kayıpları nedeni ile de en önemli Varroa türü olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar bu akarın dünyanın farklı bölgelerinde farklı türden bal arısı kolonilerinde enfestasyona neden olduğunu ve patojeniteleri birbirinden farklı haplotiplerinin bulunduğunu ortaya koymuştur (Traynor ve ark., 2020).

Haplotiplerinin isimlendirilmesinde bilim dünyası tarafından kabul edilmiş belirli bir kriter bulunmamaktadır ancak genel olarak haplotipler tespit edildikleri ülke ve bölgelere göre adlandırılmaktadır (Anderson ve Trueman, 2000).

Anderson ve Trueman (2000) yaptıkları çalışma ile Varroa cinsi içerisinde yer alan dört türün statüsü netlik kazanmıştır. Bu çalışma ile ayrıca *V.jacobsoni*'nin Ambon, Bali, Borneo, Flores, Java, Lombok, Malezya, Sumatra ve Sumbava olmak üzere dokuz, *V.destructor*'un ise Çin

(C), Kore (K), Japon/Tayland (J), Nepal (N), Vietnam (V) ve Sri Lanka (SL) olmak üzere altı farklı haplotipi bulunduğu tespit edilmiştir (Anderson ve Trueman, 2000).

Sonraki yıllarda çeşitli moleküler markörlerin kullanımı ile *V.jacobsoni* ve *V.destructor*'un daha farklı haplotiplerinin olduğu da tespit edilmiştir (Traynor ve ark., 2020).

Navajas ve ark (2010), *V.destructor*'un farklı varyantlarını tespit etmek amacıyla yaptıkları bir çalışmada elde ettikleri izolatların mitokondrial sitokrom C oksidaz alt ünite I (mt-COI) geninin 458 baz çiftlik (bç) bölgesine göre sınıflandırmıştır. Bu çalışmada daha önce Anderson ve Trueman (2000) tarafından tespit edilen haplotipler birer haplogrup olarak tanımlanmıştır. Ayrıca mt-COI genine ilave olarak, mt-COII, Sitokrom B (CytB) ve mt-membrane ATP sentetaz 6 (Atp6) genlerinin birleştirilmiş sonuçlarına göre genetik farklılık gösteren izolatları haplogruplar içerisindeki varyantlar olarak tanımlanmıştır.

Bazı araştırmacılar bu adlandırmayı benimserken, diğerleri farklı isimlendirmeler yapmaya devam etmiştir (Dietemann ve ark., 2019; Gajić ve ark., 2013; Gajić ve ark., 2016; Gajić ve ark., 2019; Lin ve ark., 2021; Ogihara ve ark., 2020).

Günümüzde *V.destructor*'un Kore (K) ve Japon (J) haplogruplarının *A.mellifera*'da enfestasyona neden olduğu bilinmektedir (Anderson ve Trueman, 2000).

Japon haplogrubu, K haplogrubundan daha küçük bir coğrafi yayılıma sahiptir ve bu haplogrup içerisinde 6 varyant (J1:1, J1:2, J1:3, J1:4, J1:5, J1:6) bulunmaktadır. Kore haplotiplerinin ise K1 ve K2 olmak üzere iki haplogrubu vardır. Bu haplogruplardan K2 günümüzde tek varyantla (K2:1) temsil edilmektedir. K1 haplogrubu içerisinde ise 17 varyant (S1, P1, K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, K1:5, K1:6, K1:7, K1:8, K1:9, K1:10, K1:11, K1:12, K1:13, K1:14, K1:15) bulunduğu bildirilmiştir. *V.destructor*'un J ve K haplogruplarından sonra genetik çeşitliliği en fazla olan C haplogruplarıdır (C1, C2, C3, C4) (Gajić ve ark., 2013; Gajić ve ark., 2016; Gajić ve ark., 2019; Lin ve ark., 2021; Navajas ve ark., 2010).

Ancak unutulmaması gereken noktalardan birisi bu haplogrupların kullanılan marköre, akarların orjinlerine, kullanılan tekniklere, zamana ve çalışmayı yapan araştırmacılara göre farklı şekillerde adlandırılabilirdir. Nitekim 2020 yılında yapılan bir çalışmada mt-nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz alt ünite 4 (ND4) bölgesine göre K haplogrubunun ArgN1 ve ArgN2 adlı iki farklı varyantı tanımlanmıştır. Ayrıca bazı araştırmacılar buldukları varyantları haplogrup olarak kabul etme eğilimindedir (Gajić ve ark., 2013; Gajić ve ark., 2016; 2019; Muntaabski ve ark., 2020).

Parazitlerde konak değişimleri biyolojik invazyonlara ve yeni konak popülasyonlarında şiddetli yıkımlara neden olan enfeksiyöz hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Kumshick ve ark., 2015; Pimental ve ark., 2005; Wells ve Clarck, 2019).

Parazitlerin doğal yaşam alanlarındaki konak değişim mekanizmalarının daha iyi anlaşılması bu organizmaların sebep oldukları hastalıkların olumsuz etkilerinin hafifletilmesi, korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi ve konak-parazit ilişkisindeki birlikte evrim

mekanizmalarının aydınlatılabilmesi açısından son derece önemlidir (Kolar ve Lodge, 2001; Thomson, 1994; Woolhouse ve ark.,2005).

Konak değişimini başlatan çok farklı mekanizmalar bulunmaktadır. Bu olayın niteliği günümüzde tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak allopatrik olarak bulunan iki farklı konağın insan eliyle bir araya getirilmesi, parazitlerin genetik çeşitliliğinin fazla ve konak spesifitesinin düşük olması ve türler arası hibritlerin oluşması gibi nedenlerin konak değişiminde etkili olabileceği belirtilmektedir (Depotter ve ark., 2016; Longdon ve ark., 2014; Wells ve Clarck, 2019).

Varroa jacobsoni ve *V.destructor*'un asıl konağı *A.cerana*'dır. Her iki tür de orijinal konaklarında erkek yavru gözlerinde üremekte ancak aynı başarıyı işçi yavru gözlerinde gösterememektedir. Bunun temel sebebi konak ve parazit arasında çok uzun zamandır devam eden birlikte evrim süreci sonucunda gelişmiş olan konak parazit dengesidir (Anderson ve Trueman, 2000).

Apis cerana kolonilerinde görülen sosyal immünite bu akarların neden olduğu ciddi koloni kayıplarına engel olmaktadır. Çünkü bu sosyal böcekler tımar aktivitesi (grooming) sayesinde akarları kendilerinden (auto-grooming) ve diğer koloni bireylerinden (allo-grooming) uzaklaştırma yeteneğine sahiptir. Ayrıca bu arılar yoğun enfeste yavru gözlerini tespit edip, erkek arı larvalarının yavru gözünden çıkmasına engel olmakta ve akarlarla birlikte erkek arı larvalarını ölüme terk etmektedir (entombing). Benzer hijyenik davranış özelliklerini Afrikalılaşmış bal arıları da göstermektedir (Kurze ve ark., 2016).

İnsanoğlunun *A.mellifera*'yı yüksek verim özelliğinden dolayı Asya'ya taşıması *V.destructor*'un *A.cerana*'dan, *A.mellifera*'ya geçmesine neden olmuştur. *A.mellifera*'nın hem bireysel hem de sosyal immüniteden (auto-grooming, allo-grroming, entombing) yoksun olması akarların bu kolonilerde hızla üremesi ile sonuçlanmıştır. Orijinal konağında sadece erkek yavru gözlerinde üreyen akarlar *A.mellifera*'da hem erkek hem de işçi yavru gözlerinde üreme şansını yakalamıştır. Ayrıca *V.destructor*'un bu konak değişimi bir zamanlar Asya'da lokalize olan akara dünyaya yayılma şansı tanımıştır (Rosenkranz ve ark., 2010).

Varroa destructor'un farklı haplogrupları bulunmasına rağmen konak değişimini J ve K haplogrubu başarmıştır. Bu iki haplogrup içerisinde ise K haplogrubunun üreme potansiyelinin yüksek olması onu daha patojen ve yaygın bir parazit haline getirmiş ve dünyanın bazı bölgelerinde J haplogrubunun yerini almasına neden olmuştur (Oktaviano-Salvade ve ark., 2017; Rosenkranz ve ark., 2010).

1.2.3. *Varroa destructor*'un Dünyaya Yayılışı

Varroa destructor'un *A.cerana*'dan, *A.mellifera*'ya nasıl geçtiği tam olarak bilinmemektedir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde 2000 yılına kadar yapılan çalışmalarda *V.destructor*, *V.jacobsoni* ile karıştırılmış ve verilerin tamamı yanlış bir şekilde *V.jacobsoni* olarak kayıt altına alınmıştır (Anderson ve Trueman, 2000).

Varroa jacobsoni ilk olarak 1904 yılında Endonezya'nın Java adasında *A.cerana*'da tanımlanmıştır (Oudemans, 1904).

Üzerinden çok geçmeden 1909 yılında etken Japonya'da *A.cerana*'da tespit edilmiştir. *Varroa* akarının *A.cerana*'dan *A.mellifera*'ya ilk geçişinin 1877 yılında Japonya'da gerçekleştiğine inanılmaktadır ancak 1957 yılına kadar buradaki *A.mellifera* kolonilerinde akarlar tespit edilememiştir (Crane, 1984; Saiki ve Okada, 1973).

Japon arıcıların 1971 yılında *A.mellifera* kolonilerini Paraguay'a göndermeleri ile hastalık Güney Amerika'da yayılmaya başlamıştır. Daha sonra etken 1972 yılında Brezilya'da, 1975 yılında Arjantin ve 1976 yılında Uruguay'da tespit edilmiştir. Güney Amerika'daki tüm enfestasyonların kaynağının Paraguay olduğu düşünülmektedir (De Jong ve ark., 1982b).

Geçmişte Japonya'da tespit edilip, Paraguay, Arjantin ve Uruguay hattını izleyen akarın günümüzde *V.destructor*'un J haplogrubu olduğuna inanılmaktadır (Maggi ve ark., 2012).

Varroa destructor'un Asya'dan Avrupa'ya geçişinin 1950'lerin sonlarına doğru Ukraynalı arıcıların *A.mellifera* kolonilerini Rusya'nın uzak doğusunda yer alan Primorski bölgesine getirmeleri ile başladığına inanılmaktadır. Rusya'da *A.cerana*'da *Varroa* enfestasyonları 1952 yılında bildirilmesine rağmen, etkenin *A.mellifera*'ya ne zaman geçtiği tam olarak bilinmemektedir. Çok kısa bir süre sonra akarlar Rusya'da hızla yayılmış ve 1965 yılı itibarı ile Rusya'nın batısında geniş çaplı *Varroa* enfestasyonları tespit edilmiştir (De Jong ve ark., 1982b).

Varroa destructor 1967 yılında Bulgaristan'da tespit edilmiş ve bu enfestasyonların kaynağının Balkanlardan ithal edilen kraliçe arılar olduğu düşünülmüştür. Akarlar 1975 yılında Romanya ve Polonya, 1977 yılında Yugoslavya ve Almanya, 1978 yılında ise Yunanistan, Çekoslovakya ve Macaristan'da tespit edilmiştir (De Jong ve ark., 1982b).

Enfeste arı kolonilerinin 1975 yılında Romanya'dan Tunus'a, 1976 yılında ise Bulgaristan'dan Libya'ya gönderilmesi ile *V.destructor* Afrika kıtasına da giriş yapmıştır. Daha sonraki yıllarda ise uluslararası kraliçe ve koloni ticareti nedeni ile akar tüm Avrupa'ya yayılmaya başlamıştır (De Jong ve ark., 1982b).

Varroa destructor'un Rusya'nın Primorski bölgesinde konak değiştirerek, *A.cerana*'dan *A.mellifera*'ya geçen ve buradan Balkanlar yoluyla önce Avrupa sonra Afrika ve nihayetinde dünyaya yayılan haplogrubunun ise K haplogrubu olduğu belirtilmektedir (Maggi ve ark., 2012).

Varroa destructor 1987 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin Wiskonsin eyaletinde Florida'dan getirilen arılarda tespit edilmiştir. Yapılan morfolojik incelemeler sonucunda bu arıların Güney Amerika kökenli olabileceği bildirilmiştir (De Guzman ve ark., 1997).

Etken günümüzde Avustralya dışında dünya genelinde yaygın olarak bulunmaktadır (Rosenkranz ve ark., 2010).

Varroa destructor'un ülkemize 1976 yılında Bulgaristan üzerinden girdiği düşünülmektedir. Akarlar daha sonra Trakya bölgesinden gezginci arıcılık faaliyetleri ile tüm

Anadolu'ya yayılmaya başlamış ve 1983 yılı itibarı ile de ülkemizdeki tüm illerde tespit edilmiştir (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

1.2.4. *Varroa destructor*'un Yaygınlığı

Varroa destructor'un Dünyadaki Yaygınlığı

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan ulusal düzeydeki çalışmalarda incelenen arı numunelerine göre *V.destructor*'un yaygınlığı 2009 yılında %82,35 (14/17), 2010 yılında %94,22 (277/294), 2011 yılında %92,46 (638/690), 2012 yılında %94,25 (672/713), 2013 yılında %88,62 (685/773), 2014 yılında %90,58 (375/414), 2015-2016 yıllarında %92 (744/811), 2016-2017 yıllarında %86,1 (809/940) ve 2017-2018 yıllarında ise %89,5 (848/947) olarak tespit edilmiştir (Fahey ve ark., 2022a, Fahey ve ark., 2022b, Fahey ve ark., 2022c; Traynor ve ark., 2016).

Avrupa Birliği üyesi 17 ülkenin (Belçika, Danimarka, İngiltere ve Galler, Estonya, Finlandiya, Almanya, Fransa, Yunanistan, Macaristan, İtalya, Letonya, Litvanya, Polonya, Portekiz, Slovakya, İspanya ve İsveç) dahil olduğu bir çalışmada *V.destructor*'un arılık düzeyindeki yaygınlığı 2012 yılı sonbaharında %14,88 (347/2332) ve ilkbaharında ise %12,79 (293/2290) olarak belirlenmiştir (Chauzat ve ark., 2016).

Estonya genelinde 2012-2013 yıllarında arılıkların %98,5 (193/196), kolonilerin ise %78,9 (1841/2332)'unda etkene rastlanmıştır (Môtus ve ark., 2016).

Varroosis'in arılıklar düzeyinde yaygınlığının Polonya'da %55 (57/104), İrlanda'da %72,6 (98/135), Yeni Zelanda'nın Kuzey Adası'nın Auckland bölgesinde ise %27,7 (178/641) olduğu bildirilmiştir (Coffey ve ark., 2013; Stevenson ve ark., 2005; Topolska ve ark., 2008).

Bulgaristan'da hastalıklı ve ölü kolonilerden toplanan arı numunelerinin incelenmesi neticesinde *V.destructor*'un yaygınlığı 2014 yılı için %55 (48/87), 2015 yılı için %31 (14/47), 2015-2016 yıllarında ise %36 (79/220) olarak tespit edilmiştir (Salkavo ve ark., 2016; Salkavo ve ark., 2018).

İran'da *V.destructor*'un arılık düzeyindeki yaygınlığının Kürdistan eyaletinde %61 (61/100), Batı Azerbaycan eyaletinde ise %81,3 (141/174) olduğu bildirilmiştir (Bahrami ve ark., 2018; Khezri ve Moharami, 2017).

Pakistan'da Kasım 2016-Mayıs 2017 tarihleri arasında 14 koloniden toplanan arı örneklerinin %5,19 (16/308)'unda *V.destructor* tespit edilmiştir (Hussain ve ark., 2018).

Nepal'in Palpa Bölgesinde Şubat-Ekim 2017 tarihleri arasında iki arılıktan toplanan altlık, kuluçka ve yetişkin arı örnekleri incelenmiş ve *V.destructor*'un yaygınlığının birinci arılığa ait altlık materyalinde %34,77 (97/279), kuluçkalarda %37,9 (105/279) ve erişkin arılarda %52,51 (146/279); ikinci arılığa ait altlık materyalinde %37,9 (83/219), kuluçkalarda %52,51 (114/219) ve erişkin arılarda ise %9,59 (21/219) olduğu bildirilmiştir (Shrestha ve ark., 2020).

Güney Kore'nin 12 bölgesindeki arılıkların %85,1 (40/47)'inde *V.destructor* tespit edilmiştir (Truong ve ark., 2022).

Kenya genelinde 2010 yılında incelenen arılıkların %89,5 (17/19)'inde, kolonilerin ise %83 (55/66)'ünde, 2014 yılında yapılan bir başka çalışmada ise Uasin Gishu bölgesindeki kolonilerin %86,49 (32/37)'unda Varroosis tespit edilmiştir (Muli ve ark., 2014; Mwangi ve ark., 2017).

Uganda'nın dört farklı bölgesindeki arılıkların %93 (27/29) ve kolonilerin %75,3 (61/81)'ünde Varroa etkenlerinin varlığı bildirilmiştir (Namayanja ve ark., 2016).

Tanzanya'da Ağustos 2010-Mayıs 2012 tarihleri arasında arılıkların %92 (23/25) ve kolonilerin %48 (84/175)'inde etkene rastlanmıştır (Mumbi ve ark., 2014).

Etiyopya'nın Oromia Bölgesel Eyaleti, Doğu Wollega Bölgesi'nde hastalık prevalansının kuru mevsimde %78,5 (200/292) ve yağışlı mevsimde ise %69,6 (170/292), Kuzey Gondar bölgesinde ise %30,5 (117/384) olduğu rapor edilmiştir (Arega, 2020; Nega ve ark., 2019).

Nijerya'da koloni düzeyinde prevalanslar 2009-2011 yılları arasında %78,57 (31/42), 2018 yılında ise %87 (106/122) olarak tespit edilmiştir (Akinwande ve ark., 2012; Dukku ve ark., 2019).

Burkina Faso'nun Cascades Bölgesi'nde yer alan Mondon köyünde iki farklı arılıkta yapılan çalışmada koloni düzeyinde prevalanslar sırasıyla %93 (44/48) ve %83 (39/48) olarak bildirilmiştir (Kabore ve ark., 2022).

Madagaskar'da 2011-2012 yılları arasında kolonilerin %31 (215/695)'inde etkene rastlanmıştır (Rasolofoarivao ve ark., 2013).

Varroa destructor'un Türkiye'deki Yaygınlığı

Ülkemizde yapılan çalışmalar sonucunda *V.destructor*'un koloni düzeyinde yaygınlığı Bingöl'de %33,92 (760/2440), Elazığ'da %58,8 (187/218), Hakkari'de %100 (712/712), Hatay'da %100 (900/900) ve Kars'ta %100 (2870/2870) olarak tespit edilmiştir (Aydın, 2012; Kesik ve ark., 2022; Muz ve ark., 2012; Önk ve Kılınç, 2014; Seven ve Yeninar, 2010).

Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Arı Hastalıkları Laboratuvarı'na 2006-2010 yılları arasında Türkiye'nin 36 farklı ilinden yapılan 140 başvuru incelemiş ve başvuruların %56,42 (79/140)'sinde etkene rastlamıştır (Ütük ve ark., 2011).

Marmara, Ege, Karadeniz, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki 39 farklı odaktan 204 koloni Varroa yönünden incelenmiş ve kolonilerin %41 (84/204)'inde *V.destructor*'a rastlanmıştır (Çakmak ve ark., 2003).

Yapılan anket çalışmaları sonucunda Düzce'de kışlatma kayıplarının %23,8'inin Varroa kaynaklı olduğu (Kekeçoğlu ve ark., 2013), Bursa ve Yalova illerinde arıcıların %58'inin (Aydın ve ark., 2003), Edirne, Tekirdağ, Kırklareli, İstanbul ve Çanakkale illerindeki arıcıların ise %71,1'inin (Sıralı ve Doğaroğlu, 2005) Varroa'yı en önemli arı zararlısı olarak gördüğü, Tokat ilindeki arıcıların %99'unun en çok karşılaştığı arı zararlısının Varroa olduğu (Yalçın, 2015), Aydın, Denizli, İzmir, Manisa ve Muğla yöresi arıcılarının %94'ünün (Özbilgin ve ark., 1999), Kırşehir'deki arıcıların ise %65,3'ünün (Tunca ve Çimrin, 2012) kolonilerinde Varroa tespit ettiği bildirilmiştir.

1.2.5. *Varroa destructor*'un Neden Olduğu Kayıplar

Varroa destructor'un bal arısı kolonileri ve polinasyon üzerinde oluşturduğu olumsuz etki sonucunda dünya genelinde milyarlarca dolar ekonomik kaybın olduğu tahmin edilmektedir (Nazzi ve Le Conte, 2016).

Etken ABD'ye 1980 yılındaki girişinden sonra büyük kayıplara neden olmuştur. ABD'de ortalama koloni kaybının 2015-2016 yıllarında %40,5 ve 2020-2021 yıllarında ise %45,5 olduğu belirtilmiştir (Brodschneider ve ark., 2018; Kulhanek ve ark., 2017; Steinhauer ve ark., 2021).

Avrupa'da yapılan bölgesel çalışmalarda *Varroa* kaynaklı koloni kayıplarının 2016-2017 yıllarında %20,9 ve 2018-2019 yıllarında %16,7 olduğu bildirilmiştir (Brodschneider ve ark., 2018; Gray ve ark., 2020).

Uruguay'da ortalama kış kayıplarının 2013-2014 yıllarında %18,3 olduğu ve bu kayıpların %61,5'inin parazit ve hastalık kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Antunez ve ark., 2017).

V.destructor'un sebep olduğu tahmini yıllık ekonomik kayıpların İngiltere'de 13.837.000 İskoçya'da 6.523.000 ve Galler'de 6.758.000 İngiliz sterlini (£), Avusturya'da 2,8, Çekya'da 0,7 ve Makedonya'da ise 0,5 milyon euro (€) olduğu belirtilmiştir (Stojanov ve ark., 2021; Williams ve ark., 2010).

Avustralya'da *V.destructor*'un ülkeye girmesi durumunda ortaya çıkacak ortalama tahmini yıllık ekonomik kayıp 16,4-38,8 milyon ABD doları (US\$) olarak hesaplanmıştır (Cook ve ark., 2007).

Yeni Zelanda'da *Varroa* kaynaklı tedavi maliyetlerinin koloni başına 8,00-11,25 Yeni Zelanda doları olduğu bildirilmiştir (Stahlmann-Brown ve ark., 2022).

Trinidad ve Tobago ikiz ada devletinde *Varroa* kontrolünde Apistan şeritlerin kullanımının yıllık tahmini maliyeti 20.759,84 US\$ olarak hesaplanmıştır (Evans ve ark., 2014).

Erzurum'da *Varroa* kaynaklı tedavi maliyetinin koloni başına en düşük 0,31 ve en yüksek 16,52 US\$ olduğu tespit edilmiştir (Emsen ve ark., 2010).

1.2.6. *Varroa destructor*'un Morfolojik Özellikleri

Varroa destructor'un ortalama vücut uzunluğu 1167,3 ($\pm 26,8$) mikrometre (μm) ve genişliği 1798,9 ($\pm 41,2$) μm 'dir. *V.jacobsoni* ise daha küçük olup 1063 ($\pm 26,4$) X 1506,8 (± 36) μm ölçülerindedir (Anderson ve Trueman, 2000).

Varroa cinsi akarlarda eşeyssel dimorfizm belirgindir. Vücut gnathosoma ve idiosoma olmak üzere iki temel bölümden oluşur. İdiosoma vücudun en büyük bölümüdür ve plaklardan meydana gelmiştir. Dişi akarda idiosoma dorso-ventral basık ve elipsoidal olup eni boyundan fazladır. Dişilerde bacaklar kısa ve güçlüdür, konağa tutunmasına yardımcı olan apotel adı verilen özelleşmiş yapılara sahiptir. Dorsal ve ventral plaklar yüksek oranda sklerotinize olmuştur ve kıvrımsı-kahve bir renge sahiptir. Plaklar arasında bulunan ince ve esnek membranlar beslenme ve yumurta oluşumu sırasında dişi akara genişleme imkânı sağlar. Erkek akarlarında ise vücut armut

şeklinde. Erkeklerin vücutlarında skleretinizasyon az olup özellikle dorsal plak ve bacaklarda yoğunlaşmıştır. Erkekler tüm gelişim safhalarında dişilerden daha küçüktür ancak bacakları vücut uzunluğuna oranlandığında dişilerinkilerden daha uzundur (De Ruijter ve Kaas, 1983; Rozenkranz ve ark., 2010).

Gnathosoma anterioventral olarak yerleşmiştir. Bu kısımda ikişer adet duyusal palp ve keliserden oluşan ağız bulunur. Keliserler bazal, medial ve distal olmak üzere 3 segmentten oluşur. Son segmentte dişi akarlarda hareketli iki diş bulunurken, erkeklerde bunun yerine spermodaktil adı verilen ve spermin dişi genital kanala iletilmesini sağlayan kanül benzeri bir yapıya dönüşmüştür (Rozenkranz ve ark., 2010).

Dişi genital sistem ovaryum, uterus, vajina, spermateka ve genital delikten oluşur. Spermateka döllenme gerçekleşene kadar spermanın depolanmasını sağlar. Erkek genital sistem ise vücudun arkasında bulunan tek bir testisle başlar. Testisten çıkan iki vas deferens birleşerek ejakulatör kanalı oluşturur ve ejakulatör kanal ikinci çift bacaklar arasındaki sternal plağın kenarına açılır (Rozenkranz ve ark., 2010).

Akarın tüm vücudu ketom adı verilen kıllarla kaplıdır. Bunların bazıları mekanik, bazıları da kimyasal reseptörlerdir. Ön iki bacağın üzerinde duyusal çukur organları bulunduğundan bu bacaklar hareketten ziyade duyusal fonksiyonlara sahiptir ve genellikle böceklerdeki anten gibi havada tutulur (Rozenkranz ve ark., 2010; Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

1.2.7. *Varroa destructor*'un Yaşam Döngüsü

Varroa destructor konağına sıkı bir bağımlılık gösterir ve serbest yaşamlı bir safhası yoktur. Akarın dişilerinin yaşamında üreme ve yayılma olmak üzere iki belirgin safha vardır. Ayrıca akarların yaşam döngüsünde yumurta, larva, protonimf, dötönimf ve erişkin dönemleri bulunur. *V.destructor*'un uyum gücü, uygun zamanda doğru ipuçlarını algılayarak uygun konağı bulmasına, bu konakta hayatta kalmasına, üremesine ve yayılmasına bağlıdır (Rozenkranz ve ark., 2010; Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

***Varroa destructor*'un Uygun Konağı Bulma Mekanizmaları**

Zorunlu bir parazit olan *V.destructor* koloniler arası bulaşma dönemleri dışında tüm yaşamını karanlık kovanda ve özellikle de kapalı yavru gözlerinin içerisinde geçirir (Rozenkranz ve ark., 2010).

Akarların sahip oldukları duyu organları vasıtasıyla sıcaklık (Le Conte ve Arnold, 1987; Le Conte ve Arnold, 1988) nem (Kraus ve Velthuis, 1997) ışık, titreşim (Kirchner, 1993) ve kimyasal maddeleri (Ziegelmann ve ark., 2013) algılayabildikleri ancak konaklarını bulmalarını sağlayan en önemli faktörün kimyasal ipuçları olduğu bildirilmiştir (Reams ve Rangel, 2022; Rozenkranz ve ark., 2010).

Varroa destructor kimyasal ipuçları sayesinde konağın yaşını belirleyebilir, ergin ve yavru arıları, işçi (bakıcı ve tarlacı) arıları, erkek ve kraliçe arıları birbirinden ayırt edebilir. *Varroa* akarları erkek yavru gözlerini, işçi yavru gözlerine ve işçi yavru gözlerini de kraliçe arı yavru gözlerine tercih eder ayrıca kovan içi yayılma döneminde bakıcı arıları tarlacı ve erkek arılara, orta yaşlı bakıcıları genç bakıcılara, koloniler arası yayılma döneminde ise tarlacı arıları bakıcı arılara tercih eder. Konak tercihinin akarın başarılı bir şekilde hayatta kalması ve üremesi için geliştirmiş olduğu bir adaptasyon olduğu düşünülmektedir (Reams ve Rangel, 2022; Rozenkranz ve ark., 2010).

Akarın doğru konağı bulmasındaki diğer faktörlerin ise petek gözlerin büyüklüğü, derinliği, eski ya da yeni oluşu ile yavru gıdasında bulunan birtakım bileşenler olabileceği ifade edilmiştir (Reams ve Rangel, 2022; Rozenkranz ve ark., 2010).

Varroa destructor'un konağı tanınması ve ona yönelmesindeki en önemli kimyasal ajanların arıların sahip olduğu kütiküler hidrokarbonlar (KHK) olduğuna inanılmaktadır. Arıların KHK kompozisyon ve oranlarının yavrularda, erkek ve işçi arılarda, genç ve yaşlı erginlerde farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Reams ve Rangel, 2022; Rozenkranz ve ark., 2010).

Akar *A.cerana*'da erkek, *A.mellifera*'da ise hem erkek hem de işçi yavru gözlerinde üreyebilir ancak öncelikli tercihi her zaman erkek arı yavru gözleridir ve erkek arı yavrularının enfestasyon oranının işçi arı yavrularından 8-10 kat fazla olduğu bildirilmiştir (Boot ve ark., 1995; Calderone ve Kuenen, 2001; Fuch, 1990; Lin ve ark., 2018).

Henüz netleşmemiş olsa da bu durumun birkaç farklı sebebi olduğuna inanılmaktadır. Erkek ve işçi yavrularının KHK içeriğindeki birtakım farklılıkların enfestasyon oranında da farklılığa neden olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca enfestasyon farklılığının diğer sebeplerinin erkek yavru gözlerinin, işçi yavru gözlerinden daha uzun süre açık kalması ve bakıcı arıların erkek yavru gözlerini işçi yavru gözlerinden çok daha fazla ziyaret etmesi olabileceği belirtilmiştir (Reams ve Rangel, 2022; Rozenkranz ve ark., 2010).

Ana arı yavru gözlerindeki enfestasyon oranının erkek ve işçi arı yavru gözlerinden daha düşük olmasının ana arı larvalarının beslendiği arı sütü içerisindeki oktanoik asit miktarının işçi ve erkek arı yavruların beslendiği arı sütünden daha yüksek olmasından kaynaklandığına inanılmaktadır (Harizanis, 1991; Nazzi ve ark., 2009).

İnvazyonda önemli olan bir diğer noktanın larva ile yavru gözünün üst açıklığı arasındaki mesafe olduğu, bu mesafenin 7-7,5 mm olduğu durumda akar tarafından invazyonun başlatılabileceği bildirilmiştir (Beetsma ve ark., 1999; Goetz ve Koeniger, 1993).

Ayrıca eski peteklerin akarlar için daha çekici olduğu, bunun sebebinin ise uzun süre kullanıma bağlı olarak yavru gözlerinin küçülmesi ve larvanın yavru gözünün tepesine olan mesafesinin azalması sonucunda kokonların kokusunu daha fazla yayması olabileceği ifade edilmiştir (Piccirillo ve Jong, 2004; Rosenkranz ve ark., 2010).

Varroa destructor'da Üreme

Üreme safhasına başlayabilmek için kurucu olarak adlandırılan döllenmiş dişiler beşinci dönem arı larvası bulunan yavru gözlerine girer ve sonra larva ile hücre tabanı arasında yavru gıdası içerisinde bekler. Bu adaptif hareket sayesinde akarlar bakıcı arılar tarafından fark edilmezler (Aumeier ve ark., 2002; Ifantidis, 1988).

Petek gözler kapatıldıktan yaklaşık beş saat sonra yavru arılar larval gıdayı tüketir ve akarlar larvanın yağ dokusu (fat body) ile beslenmeye başlar. Yavru gözü kapatıldıktan yaklaşık 60 saat sonra dişi akar ilk yumurtasını meydana getirir (Ifantidis, 1983; Ifantidis ve ark., 1998; Ramsey ve ark., 2019).

İlk yumurta döllenmemiştir ve haplo-diploid cinsiyet belirleme sisteminden dolayı bu yumurtalardan erkek bireyler çıkar, bununla birlikte daha sonraki yumurtalar döllenmiştir ve akar 30 saatlik aralıklarla yumurtlamaya devam eder (Ifantidis, 1990; Martin, 1994; Martin, 1995).

Dişi akar yumurtladıktan sonraki ilk saatlerde yumurta içerisinde larvalar gelişir (Nannelli, 1985).

Yumurtadan çıkan larvalar protonimf ve dötonimf safhalarını geçirdikten sonra erişkin hale gelir. Erkekler 5.8 günde, dişiler ise 6.6 günde olgunlaşır (Donze ve Guerin, 1994; Ifantidis, 1990; Martin, 1994; Rehm ve Ritter, 1989).

Anne akar, nimflerinin beslenebilmesi için arı pupasının kütikulasına delik açar. Burası beslenme bölgesi adını alır ve genellikle arı pupasının beşinci segmenti üzerindeki dışkı toplanma bölgesinin yanındadır (Donze ve Guerin, 1994; Kanbar ve Engels, 2003).

Bu davranış ebeveyn bakımı olarak adlandırılan sürecin zorunlu bir bölümüdür, çünkü nimf dönemindeki akarların keliserleri arı pupasının kütikulasını delemek kadar sert değildir ayrıca erkek akarlarda da spermodaktilite dönüşmüştür (Donzé ve Guerin, 1994).

Erkekler dişilerden önce olgunlaşıp dışkı toplanma bölgesine giderek ilk olgunlaşan dişiye bekler. Çiftleşme sadece petek göz içerisinde gerçekleştiğinden dişiler dışkı toplanma sahasına ulaşır ulaşmaz erkek akar dişi ile çiftleşir (Donzé ve ark., 1996).

Erkek spermatoforu kendi genital deliğinden alarak, keliserleri yardımıyla dişinin gonoforuna yerleştirir. Döllenmeden sonraki iki gün içinde yuvarlağımsı yapıda olan prespermatozoa spermatekaya göç ederek burada iğsi bir yapı kazanır. Anne akarın ikinci kızı olgunlaşana kadar ilk dişi ve erkek birçok kere çiftleşir ve çiftleşen dişi dışkı toplanma bölgesine gider. Dişinin spermatekası 35 kadar spermatozoa alabilir (Donzé ve Guerin, 1994; Donzé ve ark., 1996).

Çiftleşme davranışını başlatan dişinin seks feromonlarıdır. Yeni olgunlaşan dişilerin yaydığı oleik asit, palmitik asit, stearik asit, etil palmitat, etil oleat ve etil stearat gibi kimyasallar erkekler tarafından algılandığında çiftleşmeye sebep olur. Bu uçucu feromonlardan dolayı yeni gömlek değiştiren genç dişi, yaşlı dişi ve dötokrizalislerden çok daha çekicidir. Bu sayede dişi bir akar olgunlaştığında erkek akar yaşlı dişi ile çiftleşmeyi durdurup yeni olgunlaşan dişi ile

çiftleşmeye başlar (Rozenkranz ve ark., 2010; Ziegelmann ve ark., 2008; Ziegelmann ve ark., 2013).

Bir yavru gözü genellikle bir kurucu dişi akar tarafından istila edilir ve yavrular akraba içi çoğalma gösterir. Ancak bazı durumlarda tek bir yavru göz birden fazla kurucu dişi tarafından istila edilebilir ve bu durumda yavrularda akraba dışı çiftleşmeler de görülebilir. Yavru gözünde birden fazla erkek bulunduğu dişi akarlar politandri görülür (Beaurepaire ve ark., 2019; Donzé ve ark., 1996).

Bazı durumlarda çiftleşmemiş olan dişi akar yayılma safhasını başlatabilir bu durumda bir yavru gözünü istila ettikten sonra döllenmemiş bir yumurta bırakır. Bu yumurtadan çıkan erkek yavrusu ile çiftleşir ve sonrasında döllenmiş yumurtalarını üretmeye başlar. Bu bulgular Varroa akarlarının yumurta üretmek için çiftleşmeye gereksinim duymadığını arenotokoz partogenez ile üreyip yeni bir popülasyon oluşturabileceğini ortaya koymaktadır (Häußermann ve ark., 2020).

Bal arılarında üremeyen akar yüzdesi konağın türüne, alt türüne, iklimsel faktörlere ve konak toleransına bağlı olarak hafif değişiklikler gösterebilir (Fries ve ark., 1994; Martin, 1998; Rosenkranz, 1999).

Varroa destructor'da Yayılma

Yayılma safhası erişkin dişi akarın yavru gözünden çıkması ile başlar. Kurucular ve kızları arı yavru gözünden çıkmadan önce ona tutunur, erkekler ve olgunlaşmamış dişiler ise yavru gözlerinde kalır ve daha sonra da ölürlür (Donzé ve ark., 1996).

Dişi akarlar yavru gözünden ayrıldıktan sonra üzerinde bulunduğu arıdan bakıcı arılara geçer. Bunun sebebi bakıcı arıların akarları yavru gözlerine daha kolay taşımalarıdır (Kuenen ve Calderone, 1997; Xie ve ark., 2016).

Ancak yılın farklı dönemine göre de akarların erişkin arı tercihleri değişebilir. Mesela kolonide enfestasyonun yoğun olduğu dönemlerde akarlar daha çok tarlacı arılar üzerinde bulunur (DeGrandi-Hoffman ve ark., 2016).

Yayılma safhasında akarlar yeni kolonileri enfeste edebilir. Bu genellikle gezginci arıcılık, arıların kovan şaşırmaları ve bal çalmak için diğer kovanlara girmeleri sonucunda oluşur (Peck ve Seeley, 2019; Peck ve ark., 2016).

Artan akar popülasyonu nedeni ile arı kolonileri zayıf düşer ve bu gibi durumlarda diğer kolonilerdeki tarlacı arılar bal hırsızlığı yapmak için zayıf kolonilere girer. Akarlar bu tip hırsız tarlacı arılara veya kendi kolonilerindeki tarlacı arılara tutunarak yeni kolonileri enfeste eder (Peck ve Seeley, 2019).

İlave olarak koloni birleştirme gibi nedenlerle hastalık, koloniler arasında yayılabilir. Bazı çalışmalarda erkek arı toplanma alanlarındaki arılar üzerinde akarlar tespit edilmiştir. Çiftleşmeden dönen erkek arıların komşu kolonilere girmesinin de akarların arıların arasında yayılmasına neden olabileceği ifade edilmiştir (Galindo-Cardona ve ark., 2020; Mortensen ve ark., 2018).

Hastalığın yayılmasında etkili olabilecek bir diğer faktörün arının bireysel davranışı olabileceği belirtilmektedir. Varroa akarlarının İtalyan ırkı arılara daha rahat tutunabildiği, ancak bunu Afrikalılaşmış arılarda İtalyan arılarından daha etkin bir şekilde yapamadığı belirtilmiştir (Rivera-Marchand ve ark., 2012).

Akarın diğer kolonilere yayılmasında çiçeklerin de etkili olabileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Peck ve ark., 2016).

1.2.8. Varroosiste Görülen Klinik Semptomlar

Varroa akarları arılara çok farklı şekillerde zarar verir. Konakların en duyarlı olduğu dönem larval ve pupal dönemlerdir. Yavru gözü içerisindeki konaklar ontogenetik gelişimleri sırasında çok fazla yağ doku kaybeder ve yavru gözlerinden çok zayıf olarak çıkar. Kilo kaybı yavru gözü içerisindeki kurucu birey sayısı ve bunların ürettiği yavru akar sayısına bağlıdır, ancak tek bir akar bile yavru gözünden çıkan genç arılarda %7 oranında canlı ağırlık kaybına neden olur (De Jong ve ark., 1982a; Schatton-Gademayer ve Engels, 1998).

Enfestasyon düzeyine göre erkek arılar %11-19 oranında canlı ağırlık kaybetmekte ve bu durum arıların uçuş performansını düşürmektedir (Duay ve ark., 2002; Duay ve ark., 2003).

İşçi arıların yaşam süresinin kısaldığı ve tarlacılık aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir (Amdam ve ark., 2004; De Jong ve ark., 1982a; Schneider ve Drescher, 1987).

Ayrıca tarlacı arılarda öğrenme kapasitesinin azaldığı, koloniden uzak kaldığı, koloniyeye dönme oranının ve yön bulma yeteneğinin azaldığı tespit edilmiştir (Kralj ve Fuchs, 2006; Kralj ve ark., 2007; Ruano ve ark., 1991).

Akarların yağ cisimcikleri ile beslenmesi arılar üzerinde birçok olumsuz etkiye sebep olmaktadır. Çünkü yağ cisimciklerinin arının gelişimi, metamorfoz, pestisid detoksifikasyonu, immünite ve metabolik etkileri bulunmaktadır (Ramsey ve ark., 2019).

Ayrıca *V.destructor* konak hemolenfindeki hemosit ve melanin miktarının azalmasına neden olmaktadır. Hemositler ve melanin arılarda yara iyileşmesi ve patojenlerin kapsülasyonunda rol oynayarak arının patojenlere karşı korunmasını sağlamaktadır (Koleoglu ve ark., 2018).

Akarlar sahip oldukları delici-emici ağız yapıları nedeni ile arılar üzerinde oluşturdıkları lezyonlar sekonder bakteriyel enfeksiyonlara zemin hazırlar (Kanbar ve Engels, 2003).

Ayrıca *V.destructor* Kaşmir arı, torba çürüklüğü, akut arı felci, İsrail akut arı felci ve deforme kanat virüslerine vektörlük yapmaktadır. Arı pupalarının hemosolüne virüs partiküllerinin ve akar salyasında bulunan yabancı birtakım proteinlerin inokülasyonu latent enfeksiyonların aktivasyonuna ve viral hastalık semptomlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Boecking ve Genersch, 2008; De Miranda ve Genersch, 2010).

Bal arısı kolonilerinde dikkati çeken dağınık yavru gözleri, deforme arılar, hijyenik davranış ve kraliçe bakımı gibi sosyal davranışların kaybı, koloni popülasyonundaki hızlı düşüş ve

koloninin çökmesi gibi belirtilerin *V.destructor*'un direkt etkisinden ziyade viral enfeksiyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Rosenkranz ve ark., 2010).

Orta düzeydeki Varroa enfestasyonlarında dahi arı kolonisinin üreme kapasitesi ve uyum gücü azalmaktadır. Çünkü enfeste olan erkek arıların çiftleşme şansı düşmekte ve enfeste koloniler daha az oğul vermektedir (Duay ve ark., 2002; Fries ve ark., 2003; Villa ve ark., 2008).

Düşük Varroa enfestasyonlarda semptomlar belirgin değildir ve hastalık genellikle gözden kaçır. Orta dereceli enfestasyonlar bal arısı kolonisinin büyümesini ve bal üretimini azaltabilir ancak semptomlar hala belirgin olmayabilir. Ancak Sonbahar döneminde akar popülasyonu artmaya, konak popülasyonu ise azalmaya devam eder (Fries ve ark., 2003).

Bal arısı kolonisindeki son kırılma ise düzensiz yavru gözleri, sürünen deforme arılar, kraliçe bakımının bırakılması ve arı popülasyonunun açıklanamayan düşüşü ile karakterize parazitik akar sendromudur (Shimanuki ve ark., 1994).

Kolonilerde hasarın ortaya çıkmasına neden olan net bir akar eşik değeri yoktur. Bu sayı kolonideki ergin arı ve yavru sayısı, mevsim ve viral hastalıklara bağlı olarak büyük değişiklik gösterir (Rozenkranz ve ark., 2010).

Almanya şartlarında kışın enfestasyon oranı %7'nin üzerine çıktığında kolonilerin çökebileceği ifade edilmiştir (Liebig, 2001).

Amerika'nın güneyinde yüksek ekonomik kayıplara neden olabilecek eşik değerinin koloni başına 3000-4000 akar olduğu, yaz döneminde erişkin arılardaki enfestasyon oranının %30'u aşması durumunda bu kolonilerin bir sonraki kışı görme şanslarının olmadığı ifade edilmiştir (Delaplane ve Hood, 1999; Fries ve ark., 2003).

1.2.9. Arı Kolonilerinde Direnç ve Tolerans

Birbirinden ayrılması gereken iki konak savunma stratejisi vardır. Bunlar direnç ve toleranstır. Bazen birbirleri ile karıştırılan bu iki kelime aslında ekolojik, epidemiyolojik ve evrimsel etkileri yönünden birbirinden oldukça farklıdır (Kurze ve ark., 2016; Råberg ve ark., 2009).

Direnç konağı parazitin zararlı etkilerinden korur ve bu esnada parazit zarar görebilir, tolerans ise konağı parazitin etkilerinden korurken parazit zarar görmez. Bu nedenle konakta direnç artarken, parazitin prevalansı düşer ancak konakta tolerans gelişirken parazitin prevalansı ya hiç etkilemez ya da artar. Yani direnç parazitin uyum gücünü bozar bu nedenle parazit konağın savunma sistemini alt edebilmek için bir seleksiyon baskısına maruz kalır, eş zamanlı olarak konak da güçlenen parazite karşı ilave mekanizmaları devreye sokar ve bu durum konak-parazit arasında antagonistik bir birlikte evrimin gelişimine neden olur. Diğer yandan tolerans parazit üzerinde bir seleksiyon baskısı oluşturmaz. Direnç ve tolerans enfeksiyöz hastalıkların epidemiyolojisi ile konak ve parazitin birlikte evrimi üzerinde çok radikal değişikliklere neden olduğundan bu iki

olgunun anlaşılması konak parazit ilişkilerinin ekolojik ve evrimsel özelliklerinin anlaşılmasında anahtar role sahiptir (Råberg ve ark., 2009).

Sosyal böcek topluluklarında direnç ve tolerans kavramları topluluk ve birey düzeyinde ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Dirençli bireylerden oluşan bir koloninin, koloni düzeyinde de dirençli olması muhtemeldir. Ancak kolonideki tüm bireylerin dirençli olmadığı durumlarda uyum gücünde herhangi bir olumsuzluk ortaya çıkmadan koloni hastalığı tolere edebilir (Kurze ve ark., 2016).

Arılarda bireysel olarak patojenlere karşı gelişmiş fizyolojik, immünolojik ve davranış mekanizmaları bulunur. Koloni seviyesinde yanıt ise bireysel immün yanıtın farklı bir olgudur. Bu davranışta kolonideki bireyler arasında eşgüdümlü davranışsal bir yardımlaşma vardır. Parazitlere karşı olan bu toplu savunma sosyal immünite adını alır (Cremer ve Sixt, 2009).

Apis mellifera'nın *V.destructor*'a karşı direnci koloni ve bireysel düzeyde farklı mekanizmalarla ortaya çıkar. Koloni düzeyindeki temel mekanizma oğul verme davranışdır. Oğul veren kolonide enfestasyon ortadan kalkarken geride kalan kolonideki Varroa enfestasyon oranı yavrusuz geçen periyotta düşer. Koloni seviyesinde tolerans yeni yuva bölgesinde üremenin zamanlaması ve yavru tipine bağlı olarak ortaya çıkar. İlk önce işçi arı yavru gözlerinin üretilmesi akarların uyum gücünü azaltır (Fries ve ark., 2003).

Oğul vermenin bir diğer formu ise non-reproduktif oğul vermedir (kaçış). Bu olguda kraliçe dahil tüm koloni yuva, yavru ve gıda stoklarını geride bırakarak ortamı terk eder ve farklı bir yerde yuva kurar. Bu vesile ile tüm parazit ve patojenler geride bırakılmış olur. Bu nedenle non-reproduktif oğul verme arıların Varroa'ya karşı koloni düzeyindeki savunmalarında en etkin yöntemdir. Bu davranış, şartların olumsuz hale geldiği durumlarda Afrika bal arılarında da görülebilmektedir (Hepburn ve Radloff, 1998).

Üzerinde en çok çalışılan direnç mekanizması Varroa Sensitif Hijyendir (VSH). Hijyenik davranış, yavru gözlerindeki enfestasyonu tespit etme, yavru gözünü açma ve enfeste yavruyu uzaklaştırma gibi bir dizi reaksiyondan oluşur (Cremer ve ark., 2007; Moritz ve Fuchs, 1998; Oxley ve ark., 2010; Tsuruda ve ark., 2012).

Bu uygulamanın koloni için bir maliyeti vardır. Şayet akar tanıma eşiği çok düşük ise çok sayıda sağlıklı pupada uzaklaştırılır (Vandame ve ark., 2002).

Apis cerana'da erkek yavru gözlerinin kapakları oldukça serttir ve yapısından dolayı açıklığı tepededir. Bu durum akar enfestasyonlarına karşı önemli bir adaptasyon olarak düşünülebilir. Şayet erkek yavru gözlerine birden fazla akar girerse, işçi arılar erkek arılara yavru gözünden çıkması için yardımcı olmazlar ve onları akarlarla birlikte ölüme terk ederler. Bu mekanizma koloni içindeki Varroa enfestasyonunun azalmasını ve koloni başına 800 akar seviyesinde kalmasını sağlar. Bu uygulamaya gömme (entombing) adı verilmektedir (Rath, 1999).

Tımar (grooming) davranışı erişkin bal arılarının yayılma safhasındaki akarları kendilerinin (otogrooming) ve kolonideki diğer arıların (allo-grooming) üzerinden uzaklaştırmasıdır. Akarlar

arıya göre nispeten büyük olmalarına rağmen kütiküler hidrokarbonları kullanarak arı üstünde ve yavru gözlerinde saklanır. Ayrıca Varroalar bir koloniden başka bir koloniye geçtiklerinde de kamufler olmak için hidrokarbon profillerini değiştirirler (Kather ve ark., 2015; Le Conte ve ark., 2015).

Akarlar uzun süren yayılma safhalarında konakların abdominal levhaları arasına çok iyi tutunmaya uyum sağlamıştır ancak bu adaptasyona rağmen *A.cerana* akarları tespit edip uzaklaştırabilir (Le Conte ve ark., 2015).

Varroa destructor'a karşı arılarda ortaya çıkan direncin en sağlam iki örneği İsviçre'nin Gotland adası ve Fransa'nın Avignon adasındaki arı kolonilerinde doğal seleksiyon sonucunda ortaya çıkmış olan dirençtir. Her iki vakada da az çok farklılıklar olsa da akar üremesi engellenmiştir. Yavru gözlerine giren akarlar ya yavru üretmeyi başaramamış ya da yumurtlama da geç kalmıştır (Le Conte ve ark., 2007; Locke ve Fries, 2011; Locke ve ark., 2012).

Bu popülasyonlarda koloni seviyesinde toleransın oluşumunda erkek yavrulardaki bireysel direncin etkili olduğu ve bu durumun akarlarda popülasyon büyümesini azalttığı bildirilmiştir (Locke ve ark., 2012).

Bilindiği gibi *V.destructor* erkek yavru gözlerini işçi yavru gözlerinden daha fazla tercih eder. Bunun nedeni erkek yavruların daha büyük olması ve yavru gözleri kapatıldıktan sonraki gelişim süresinin işçi yavrulardan 2 gün daha fazla (14 gün) olmasıdır. Kape bal arılarında (*A.mellifera capensis*) işçi gelişimi yavru gözü kapatıldıktan sonra ortalama 9 günde (diğer arılarda 12 gün) tamamlanır. Bu nedenle akar tek bir reproduktif döngü gösterebilir ve *A.mellifera capensis* kolonilerindeki popülasyon büyümesi engellenmiş olur (Moritz ve Hänel, 1984).

1.2.10. Varroosis'in Tanısı

Hastalığın tanısı amacıyla uygulama kolaylığı ve güvenilirliği birbirinden farklı olan yöntemler kullanılmaktadır (Roth ve ark., 2020).

Tam polen çekmecesini olan kovanlarda çekmeceler akar varlığı yönünden incelenebilir veya kovanda bal bulunmayan bir dönemde kovan dip tahtası temizlenip, üzerine beyaz bir kâğıt serildikten sonra koloniye akarisid uygulaması yapılır ve kovan dip tahtası üzerine düşen akarlar aranır (Doğanay ve Aydın, 2017; Zeybek, 1991).

Tanı amacıyla yavru gözleri açılarak yavrular incelenir, pozitif vakalarda larva ve pupa üzerindeki akar sayıları belirlenebilir (Roth ve ark., 2020; Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

Erişkin arılar üzerindeki akarları belirlemek için eter yuvarlama yöntemi kullanılabilir. Bu yöntemde 100-300 arı geniş ağızlı bir cam kavanoza konur ve üzerlerine bir sprey vasıtasıyla iki saniye boyunca diethyl eter sıkılır, sonrasında kavanoz on saniye boyunca güçlü bir şekilde çalkalanır, bunu takiben kavanoz horizontal olarak üç kere yuvarlanır. Bu işlem sonrasında ölüp kavanoz kenarına yapışan akarlar sayılır. Enfestasyon oranı akar sayısı, arı sayısına bölünerek hesaplanır (Roth ve ark., 2020; Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

Eter her zaman akarları uzaklaştıramayabilir. Bunun yerine çalkalama yöntemi kullanılabilir. Çalkalama yönteminde solüsyon olarak sıcak su, alkol veya deterjan kullanılabilir, ancak en çok önerilen %70'lik alkol (metil, etil veya izopropil)'dür. Arılar yukarıdaki gibi kavanoza konduktan sonra üzerine alkol eklenip çalkalanır. Bir dakikalık güçlü bir çalkalamanın akarların %90'ının arılardan ayrılmasına neden olacağı belirtilmiştir. Sonra solüsyon akarların geçebileceği büyüklükte gözenekleri olan bir tel süzgeçten pamuk bir bez üzerine süzülür ve bez üzerinde kalan akarlar incelenir. Enfestasyon oranı bir önceki yöntemdeki gibi belirlenir (Roth ve ark., 2020; Shimanuki ve Knox, 2000).

Bir diğer yöntem ise yapışkan levha yöntemidir. Bu yöntemde kovan dip tahtasına üzerine yerleştirilen yapışkan levhalar kullanılır. Bu levhalar üzerine akarların geçebileceği ancak arıların geçemeyeceği ince gözenekli ızgaralar konularak arıların zemine yapışması engellenir. Gün aşırı gözlemler yapılarak levha üzerindeki akar sayısı not edilir (Roth ve ark., 2020).

Son yöntem ise pudra şekeri çalkalama metodudur. Bu yöntemde ise 60 mililitre (ml)'lik bir kap dolusu arı (200 ± 25 arıya denk gelir) geniş ağızlı bir cam kavanoza konur, üzerine bir-iki yemek kaşığı pudra şekeri ilave edilip bir dakika çalkalanır ve daha sonra bir dakika beklenir. Akarların geçebileceği ölçüde delikli bir kapağa sahip olan kavanoz ters çevrilip bir dakika daha çalkalanır ve zemin üzerinde düşen akarlar sayılır. Arılara zarar vermemesi ve diğer yöntemlerden daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi nedeni ile hastalığın tanısında önerilen bir yöntemdir (Doğanay ve Aydın, 2017; Roth ve ark., 2020).

1.2.11. *Varroa destructor*'un Genotiplendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

Varroa cinsi içerisindeki genetik varyasyonu belirlemek için başlangıçta morfometrik analizler kullanılmıştır (Delfinado-Baker, 1988; Delfinado-Baker ve Houck, 1989).

Daha sonra teknolojinin ilerlemesi ile varyantları tespit etmek için biyokimyasal yöntemler denenmiştir (Biasiolo, 1992; Nation ve ark., 1992; Rosenkranz ve ark., 1989).

Moleküler tanı yöntemlerinin devreye girmesi ile özellikle bir tür kompleks olan *V.jacobsoni*'nin durumu netlik kazanmaya başlamıştır (Anderson ve Trueman, 2000).

İlk kullanılan moleküler yöntem Random Amplified Polymorphic DNA- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RAPD-PZR) olmuştur. Bu yöntem sayesinde genotip farklılıkları yorumlanabilir hale gelmiştir (De Guzman ve ark., 1997; De Guzman ve ark., 1998; De Guzman ve ark., 1999; Kraus ve Hunt, 1995).

Bunu PZR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi takip etmiştir. Daha stabil olan bu yöntemde çalışmaların neredeyse tamamında hedef mt-COI geninin kısmi dizileri olmuştur. Geçmişten günümüze en çok tercih edilen iki enzim ise *SacI* ve *XhoI*'dir. Bu iki enzim sayesinde Varroa türleri ve *V.destructor*'un J ve K haplotipleri birbirinden ayrılabilir. *XhoI* her iki haplotipte, *SacI* ise sadece J haplotipinde kesim yapmaktadır (Anderson ve Fuchs,

1998; De Guzman ve ark., 1998; Garrido ve ark., 2003; Muñoz ve ark., 2008; Oktaviano-Salvade ve ark., 2017; Pinto ve ark., 2022; Strapazzon ve ark., 2009; Zhou ve ark., 2004).

Hiç şüphesiz ki haplogrupların analizinde en etkili yöntem DNA dizileme olmuştur. Bu teknik sayesinde tüm haplogruplar ve gruplar içi varyantlar tespit edilebilmektedir (Anderson ve Fuchs, 1998; Anderson ve Trueman, 2000; Dietemann ve ark., 2019; Gajić ve ark., 2013; Gajić ve ark., 2016; Gajić ve ark., 2019; Li ve ark., 2019; Lin ve ark., 2021; Navajas ve ark., 2010).

Dizilemede en çok mt-COI geninin 458 bp'lik bölgesi tercih edilmiştir. Bu bölgenin dizin verileri ile dört Varroa türü birbirinden ayrılabilir. Ayrıca *V.jacobsoni* ve *V.destructor*'un ana haplogrupları rahatlıkla tespit edilebilmektedir (Anderson ve Fuchs, 1998; Anderson ve Trueman, 2000; Li ve ark., 2019; Maggi ve ark., 2012; Oktaviano-Salvade ve ark., 2017; Rasolofoarivao ve ark., 2013; Warrit ve ark., 2006; Zhou ve ark., 2004).

Mitochondrialt-COI genine ilave olarak mt-COII, mt-COIII, mt-Atp6, mt-ND4, mt-ND5, mt-ND4L ve mt-CytB genleri de markör olarak birçok çalışmada kullanılmıştır (Muntaabski ve ark., 2020; Navajas ve ark., 2010; Ogihara ve ark., 2020; Solignac ve ark., 2005)

Varroa akarlarının popülasyon yapılarını daha iyi anlayabilmek için DNA dizilemeye ilave olarak mikrosatellit analiz yöntemleri de kullanılmaktadır. Haplotip analizi sadece maternal kalıtımı değerlendirmeye olanak sağlarken mikrosatellit analizleri paternal özellikleri ve akarın farklı türleri ya da haplotipleri arasında bir üreme izolasyonu olup olmadığını değerlendirmeye imkân sunmaktadır (Dietemann ve ark., 2019; Rodriguez ve ark., 2020; Lin ve ark., 2021; Strapazzon ve ark., 2009)

1.2.12. Varroosis'in Tedavisi ve Kontrolü

Varroosis'de Ekonomik Eşik Değer ve Entegre Akar Mücadelesi

Varroosis'de ekonomik eşik değer, çevresel faktörler (ortalama yağış, kolonilerin bulunduğu coğrafi bölge ve gıda stokları), genetik faktörler (arı türleri, alt türleri) ve bu faktörlerin karşılıklı etkileşimine bağlı olarak değişebilir. Örneğin akar popülasyonu, yağış oranı ortalamanın altında olduğu yıllarda daha düşük, bal ve yavrulu göz sayısı fazla olan kolonilerde ise daha yüksektir (Rozenkranz ve ark., 2010; Reams ve Rangel, 2022).

Yine akar popülasyonu ilkbaharda arı larvalarının gelişimine paralel olarak artar ve dişi akar sonbaharda son genç işçiler çıkıncaya kadar üremeye devam eder. Dişi akar kraliçe arı ile eş zamanlı olarak yumurtlamayı bırakır (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

Entegre akar mücadelesi (EAM)'nin amacı bal arılarının sağlığını korumak, ilaçlara karşı direnç gelişimini ve arı ürünlerinde kalıntı problemini engellemek ayrıca en az tedaviyi uygulayarak en yüksek kârı sağlamaktır (Roth ve ark., 2020).

Entegre akar mücadelesi ile diğer kontrol yöntemleri arasındaki temel fark, EAM'de görüntüleme yöntemleri kullanılarak koloni içerisindeki Varroa popülasyonu sezonal ekonomik eşik değerin altında tutulur. Bu yöntemde organik akarisitler tercih edilir, ancak sentetik akarisitler

de kullanılabilir. Sentetik akarisitler kullanılacaksa rotasyonel olarak kullanılmaları önerilir. Şayet arı kolonisindeki akar sayısı ekonomik eşik değerin altında ise ilaç uygulaması yapılmaz ancak iyi arıcılık uygulamalarına devam edilir (Roth ve ark., 2020).

Varroosis'de Akarisid Kullanımı

Varroosis'in tedavisinde sentetik ve organik akarisitler kullanılmaktadır. Sentetik akarisitler içerisinde en çok kullanılan etken maddeler amitraz, kumafos ve taufluvalinat'tır. Bu maddelerin aşırı kullanımı dünya genelinde direnç gelişimine neden olmuştur. Ayrıca bu maddeler arılarda davranış değişikliklerine, erken erişkin ölümlerine ve koloni kayıplarına neden olmuştur (Doğanay ve Aydın, 2017; Roth ve ark., 2020).

Akarisitlerin sebep olduğu ekolojik ve ekonomik problemler farklı organik bileşiklerin kullanımını popüler hale getirmiştir. Bu grupta organik asitler (oksalik asit, formik asit ve laktik asit) ve esansiyel yağlar (timol, kamfor, adaçayı, karanfil ve kekik) bulunmaktadır. Organik bileşikler kovanlarda ve arı ürünlerinde nadiren kalıntı bırakmaları nedeni ile sentetik akarisitlerden daha güvenlidir (Doğanay ve Aydın, 2017; Roth ve ark., 2020).

Varroosis'de Kültürel, Mekanik ve Biyolojik Kontrol Yöntemleri

Akarisitlere karşı direnç gelişimini engellemek amacıyla çok sayıda alternatif yöntem üzerinde çalışılmaktadır. Bu yöntemlerden en iyi sonucu elde etmek için uygulanacakları bölgelerde arıların biyoekolojik özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir (Doğanay ve Aydın, 2017; Roth ve ark., 2020).

Arıcılıktan en iyi verimi elde etmenin yolu arı kolonisinde stres faktörlerini ortadan kaldırmak ve arıların bağışıklığını aktif tutmaktır. Bu amaçla kovanların iyi bir şekilde havalandırılması, uygun bir şekilde yerleştirilmesi, kovanlar üzerinde farklı işaretlerin bulunması, kalabalık yetiştirmeden kaçınılması, eski peteklerin imhası, genç kraliçe kullanımı, kolonilerin sık sık akar ve hastalıklar yönünden incelenmesi gibi iyi yetiştiricilik uygulamaları koloni sağlığı açısından çok önemlidir (Doğanay ve Aydın, 2017).

Bahar ve yaz aylarında kraliçe arının kafeslenmesi, yavru üretiminin durdurulması, tuzak peteklerin eklenmesi ve erkek yavru gözlerinin uzaklaştırılması akar sayısında önemli ölçüde düşüşlere sebep olmaktadır. Ayrıca arıların üzerine pudra şekeri uygulanarak tımar aktivitesinin aktivasyonu ve yapışkan zemin uygulaması ile kovan dip tahtasına düşen akarların kovana tekrar dönüşünün engellenmesi akar mücadelesinde kullanılan diğer yöntemlerdir (Gregorc ve ark., 2022; Roth ve ark., 2020).

Bahsedilen yöntemler dışında günümüzde henüz pratiğe aktarılmamış ve deneme aşamasında olan birçok metot bulunmaktadır. Yalancı akrepler, entomopatojenik mantarlar, çeşitli bakteri ve virüsler, kairomonlar ve iyi huylu Varroa haplotiplerinin akar mücadelesinde kullanılması konusunda birçok çalışma yapılmış ancak bunların birçoğu henüz sahada

denenmemiştir. Bir diğ er öneri ise Varroa türlerine dirençli ırkların yetiştirilmesidir. Bu uygulamadan bazı olumlu sonuçlar alınsa da bunun uzun vadeli bir seçenek olduğu ve güncel sorunları   z mek için yeterli olmadığı ifade edilmektedir (Gregorc ve ark., 2022; Roth ve ark., 2020).

Bu çalışmanın amacı;

Ülkemizde arıcılığın çok yoğun olarak yapıldığı Akdeniz Bölgesi'ndeki bal arısı kolonilerinde toplanan Varroa izolatlarının iki farklı gen bölgesini (mt-COI ve mt-CytB) amplifiye edip dizileyerek, ülkemizdeki haplogrupları, bu haplogruplar içerisindeki varyantları tespit etmek;

Ülkemizdeki haplogrup veya varyantların birbirleri ve dünyadaki izolatlarla olan filogenetik ilişkilerini belirlemek;

Elde edilecek veriler sayesinde hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına ve hastalığa karşı korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Varroa destructor'un farklı haplotipleri ve bu haplotiplerin biyocoğrafik özelliklerini belirlemek amacıyla dünya genelinde çok sayıda çalışma yapılmıştır (Traynor ve ark., 2020).

Ancak konu ile ilgili olarak ülkemizde yapılan çalışma sayısı oldukça azdır ve bu çalışmalarda kullanılan örnek sayıları Türkiye popülasyonlarını temsil edebilecek nitelikte değildir (Utuk ve ark., 2022). Bu bölümde dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalar ayrı başlıklar halinde incelenecektir.

2.1. Dünya Genelinde Yapılan Çalışmalar

Varroa jacobsoni'nin keşfinden sonra akarın *A.cerana* ve *A.mellifera* üzerindeki patolojik etkilerinin farklı olduğu dikkati çekmiş ve *V.jacobsoni*'nin bir tür kompleksi olabileceği fikri benimsenmeye başlamıştır (Anderson ve Trueman, 2000).

Etkenin patolojik etkilerine bağlı olarak üç biyotip (A, B, C) tanımlanmıştır. Biyotip A'nın *A.mellifera*'nın hem erkek hem de işçi yavru gözlerinde parazitlendiği ve ağır koloni kayıplarına neden olduğu, Biyotip B'nin *A.cerana*'nın sadece erkek yavru gözlerinde parazitlenerek minimal düzeyde koloni kayıplarına neden olduğu ve Biyotip C'nin ise Afrikalılaşmış arıların hem erkek hem de yavru gözlerinde parazitlendiği ancak bu arıların yavru gözlerinin kapalı kalma süresinin kısa olması ve akarın sınırlı bir üreme potansiyeline sahip olması nedeni ile genellikle koloni kayıpları oluşturmadığı tespit edilmiştir (Delfinado-Baker, 1988).

Varroa jacobsoni'deki coğrafik varyasyonu belirlemek amacıyla Almanya, Polonya, Rusya, Hollanda, Tunus, İran, İsrail, Nepal, Sri Lanka, Malezya, Tayland, Çin, Kore, Papua Yeni Gine, Filipinler, ABD ve Brezilya'daki *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerinde toplam 462 akar morfolojik olarak incelenmiştir. Bu çalışmada *V.jacobsoni*'nin monomorfik olduğu ve tek bir tür olabileceği belirtilse de ABD'den toplanan örneklerin Brezilya'dan toplanan akarlarla, Avrupa ve Asya'dan toplanan akarlardan daha fazla benzediği tespit edilmiş ve ABD'deki akarların kökeninin Güney Amerika olabileceği ifade edilmiştir (Delfinado-Baker ve Houck, 1989).

Avrupa ve Çin ile Güney Amerika'dan toplanan akarların enzim analizlerinin yapıldığı iki farklı çalışmada *V.jacobsoni* içerisindeki varyasyonun oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (Biasiolo, 1992; Rosenkranz ve ark., 1989).

Benzer şekilde ABD ve İtalya'dan toplanan akarların kütiküler hidrokarbon analizleri sonucunda da farklı izolatlar arasında bir varyasyon tespit edilememiştir (Nation ve ark., 1992).

Genetik analizlerin devreye girmesi ile çalışmalar farklı bir boyut kazanmıştır. Yapılan bir çalışmada Almanya ve ABD'deki *A.mellifera* kolonileri ile Malezya'daki *A.cerana* kolonilerinden toplanan akarlardan elde edilen DNA örnekleri RAPD-PZR yöntemi ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda ABD izolatlarının Alman izolatlarından ayrılabilirdiği, Kuzey Amerika ve Alman

izolatlarının birbirine Malezya izolatlarından daha fazla benzediği bu nedenle Kuzey Amerika'daki akarların kökeninin Avrupa olabileceği belirtilmiştir (Kraus ve Hunt, 1995).

Dünyanın farklı bölgelerinden (ABD, Rusya, Almanya, İtalya, İspanya, Portekiz, Fas, Japonya, Porto Riko ve Brezilya) toplanan akarlardan izole edilen DNA'nın RAPD-PZR yöntemi ile incelenmesi neticesinde Rus (R) ve Japon (J) olmak üzere iki farklı genotip tanımlanmıştır. Rusya, ABD, Almanya, İtalya, İspanya, Portekiz ve Fas izolatlarının R, Japon, Brezilya ve Porto Riko izolatlarının ise J genotipine ait olduğu tespit edilmiştir (De Guzman ve ark., 1997).

De Guzman ve ark (1998) farklı ülkelerdeki *A.mellifera* (ABD, Rusya, Almanya, İtalya, İspanya, Portekiz, Fas, Japonya, Porto Riko ve Brezilya) ve *A.cerana* (Japonya) kolonilerinden akar örnekleri topladıktan sonra izole ettikleri DNA örneklerini RAPD-PZR ve PZR- RFLP tekniği ile incelemiştir. Çalışma sonucunda J, R ve Papua Yeni Gine (PNG) olmak üzere üç farklı genotipin varlığı ortaya konulmuş, ayrıca Japon, Brezilya ve Porto Riko izolatlarının J, ABD, Rusya, Almanya, İtalya, İspanya, Portekiz ve Fas izolatlarının R genotipine dahil olduğu ve bunların PNG genotiplerinden farklı olduğu tespit edilmiştir.

Anderson ve Fuchs (1998) *V.jacobsoni* içerisindeki farklı genotipleri ve muhtemel genotiplerin konak tercihi ile üreme özelliklerini belirlemek amacıyla deneysel bir çalışma tasarlamıştır. Çalışmada mt-COI geninin 458 baz çiftlik (bp) bölgesi PZR ile çoğaltılıp dizilenmiştir. Aynı zamanda mt-COI geninin kısmi dizileri PZR ile çoğaltılıp, iki farklı restriksiyon enzimi ile (*SacI* ve *XhoI*) kesilmiştir. Bu çalışma sonucunda Alman (GER), R ve PNG olmak üzere üç farklı genotip tanımlanmıştır. Alman ve PNG genotipleri arasında %6,8'lik bir nükleotid farklılığı olduğu tespit edilmiştir. Alman genotipinin PNG'den daha patojen olduğu, PNG genotipinin 1904 yılında *A.cerana* kolonilerinde tespit edilen ilk akar olduğu ve *A.mellifera* yavru gözlerinde üreyemediği bunula birlikte GER genotipinin *A.mellifera*'da yavru gözlerinde üreyebildiği bildirilmiştir. Bu çalışma ile ilk defa genotip farklılıklarının etkenin patojenitesi üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir.

Kanada, Meksika ve ABD'deki arı kolonilerinden toplanan akarlardaki genetik varyasyonu belirlemek amacıyla izole edilen DNA örnekleri RAPD-PZR yöntemi ile incelenmiş ve çalışma sonucunda Kanada ve ABD'de R ve K genotiplerinin birlikte bulunduğu, Rusya'da ise yalnızca R genotipinin bulunduğu bildirilmiştir (De-Guzman ve ark., 1999).

Varroa jacobsoni'deki genetik varyasyon ve bu varyasyonun biyocoğrafik özellikleri Anderson ve Trueman (2000)'nın yaptığı çalışma ile netlik kazanmıştır. Bu çalışma kapsamında dünya genelinde *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerindeki Varroa izolatları toplanarak detaylı morfometrik ve moleküler analizler yapılmış ayrıca akarların arı kolonilerindeki üreme özellikleri değerlendirilmiştir. Moleküler analiz amacıyla mt-COI geninin 458 bp'lik bölgesi PZR ile çoğaltılıp dizilenmiş ve bu diziler baz alınarak filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Aynı bölgenin *SacI*, *XhoI* ve *ApoI* enzimleri ile kesilip incelenmesi neticesinde tür ve haplotip düzeyinde

tanıya yardımcı olacak net veriler elde edilmiştir. Bu veriler günümüzde halen tanı amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları 2000 yılına kadar yapılan araştırmalara açıklık getirmiş ve sonraki yıllarda yapılacak çalışmalar için de temel taşı olmuştur. Elde edilen verilerin bazıları halen güncelliğini korurken, bazıları değişmektedir. Çalışmanın önemli bulguları şu şekilde özetlenebilir;

Varroa rindereri ve *V.underwoodi* fiziksel ve genetik özellikleri itibari ile müstakil birer türdür. *V.jacobsoni* 18 farklı haplotipi barındıran bir tür komplekstir ve içerisinde *V.destructor* adı verilen ikinci bir türü barındırır. *V.jacobsoni*'nin Ambon, Bali, Borneo, Flores, Java, Lombok, Malezya, Sumatra ve Sumbava olmak üzere dokuz farklı haplotipi vardır.

Varroa destructor'un ise C, K, J, N, V ve SL olmak üzere altı farklı haplotipi bulunmaktadır. Bu akar dünyada en yaygın *Varroa* türüdür, *V.jacobsoni*, *V.rindereri* ve *V.underwoodi* ise daha sınırlı bir coğrafik yayılım alanına sahiptir.

Varroa jacobsoni *A.cerana*'da sadece erkek yavru gözlerinde ürerken, *A.mellifera*'da üreyememektedir. *V.destructor*'un sadece K ve J haplotipleri *A.mellifera*'da enfestasyona neden olabilmektedir. *V.destructor* orijinal konağı olan *A.cerana*'da sadece erkek yavru gözlerinde ürerken, yeni konağı olan *A.mellifera*'da hem erkek hem de işçi yavru gözlerinde üreyebilmektedir.

Kore haplotipi J haplotipinden daha patojendir. K haplotipi Asya, Avrupa, Afrika, Orta-Doğu ve Amerika'da, J haplotipi ise Japonya, Tayland, Kuzey ve Güney Amerika'da yaygınlık gösterir. *V.destructor*'un K ve J haplotipleri *A.mellifera*'ya geçtikten sonra tekrar *A.cerana* kolonileri arasında yayılma özelliğini kaybetmiştir ancak *A.mellifera*'ya geçiş bu akarın tüm dünyaya yayılmasına katkı sağlamıştır.

Filipin haplotipleri (Luzon 1, Luzon 2, Mindano) *V.destructor* ve *V.jacobsoni*'den farklıdır ancak genetik olarak *V.destructor*'a daha yakındır. Daha önceki çalışmalarda tanımlanan R ve GER genotipleri aslında *V.destructor*'un K haplotipi, J genotipi J haplotipi ve PNG haplotipi ise *V.jacobsoni*'nin Java haplotipidir.

Konak tür ve alt türlerindeki genetik çeşitlilik yeni *Varroa* varyantlarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Hindistan'daki *A.cerana*'nın genetik olarak Sri Lanka'daki *A.cerana*'dan farklı olması bu ülkede daha farklı *Varroa* haplotiplerinin bulunmasını muhtemel kılmaktadır.

Çin'de *A.mellifera* ve *A.cerana*'da enfestasyona neden olan *Varroa* haplotiplerini belirlemek amacıyla toplanan örneklerin mt-COI geni PZR-RFLP ve DNA dizileme yöntemleri ile incelenmiştir. *A.mellifera*'dan toplanan örneklerin tamamının K haplotipi olduğu belirtilmiştir. Ancak *A.cerana*'dan toplanan örneklerde daha önce bulunan Çin ve Vietnam haplotiplerine ilave olarak Çin 2 (C2) adı verilen yeni bir haplotip tespit edilmiştir (Zhou ve ark., 2004).

Varroa destructor'un *A.mellifera*'da parazitlenen popülasyon yapısını belirlemek amacıyla 17 ülkeden 45 koloniye ait 450 dişi akardan elde edilen DNA örnekleri mikrosatellit analizi ve mt-COI bölgesinin dizilenmesi ile incelenmiştir. Bu çalışmada *V.destructor*'un K ve J haplotiplerindeki genetik çeşitliliğin çok az olduğu ve bunların klon benzeri bir yapılanma

gösterdikleri tespit edilmiştir. Ancak mikrosatellit analizleri her iki haplotip arasında nadiren de olsa çiftleşmeye bağlı hibritler olabileceğini ortaya koymuştur (Solignac ve ark., 2005).

Tayland'da Varroa türleri ile konağı olan *A.cerana*'nın farklı haplotipleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada *V.destructor*'un sadece Vietnam haplotipi, *V.jacobsoni*'nin ise NThai1, NThai2, Samui1 ve Malezya1 haplotipleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca farklı konak popülasyonlarındaki Varroa popülasyonlarının da genetik olarak farklılaştığı ve lokal popülasyonlara göre farklı karakterler göstererek adapte olabildikleri belirtilmiştir (Warrit ve ark., 2006).

İspanya'nın İber yarımadası ile Kanarya ve Balerya adalarından toplanan Varroa izolatlarının mt-COI geni PZR-RFLP tekniği ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen 574 örneğin K haplotipi, Guadalajara'da *A.mellifera iberiensis*'ten elde edilen bir örneğin ise J haplotipi olduğu tespit edilmiştir. Bu J haplotipinin Avrupa'da tespit edildiği ilk çalışmadır (Muñoz ve ark., 2008).

Almanya ve Brezilya'da *V.destructor* haplotipleri ve akarların fertilitelerinin zamana bağlı değişimi değerlendirilmiş ve akar fertilitelerinin sadece haplotipe bağlı bir olgu olmadığı, bunun aynı zamanda konağa bağlı faktörlerden de etkilendiği belirlenmiştir. Bu çalışmada Almanya ve Brezilya'da PZR-RFLP yöntemi ile *V.destructor*'un sadece K haplotipi tespit edilmiştir. Ayrıca Brezilya'da *V.destructor*'un fertilitelerinin 1998 yılından 2001 yılına kadar olan dönemde bir artış gösterdiği bildirilmiştir (Garrido ve ark., 2003).

Brezilya'da *V.destructor* üzerine devam eden çalışmalar Afrikalılaşmış bal arılarında *V.destructor*'un 1980'li yıllarda işçi gözlerinde %56 olan fertilitelerinin 2005-2006 yıllarında %86'ya çıktığını ortaya koymuştur (Carneiro ve ark., 2007).

Bunun üzerine akarın J ve K haplotiplerinin yer değiştirmiş olabileceği fikri gündeme gelmiş ve Strapazzon ve ark (2009) bu durumu teyid etmek amacıyla Brezilya'nın Santa Katarina ve Pernambuko eyaletlerinden topladıkları akar izolatlarını PZR-RFLP ve mikrosatellit analiz yöntemleri ile incelemiştir. Çalışma sonucunda Santa Katarina izolatlarının tamamının K haplotipi, Fernando de Noronha izolatlarının ise J haplotipi olduğunu görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda Brezilya'ya ilk giriş yapan haplotipin J olduğu bilinmektedir. Bu bilgiye ilave olarak Santa Katarina'da mikrosatellit analizleri ile çok az oranda tespit edilen J alelleri ve PZR-RFLP ile incelenen izolatlarının tamamının K haplotipi olması Brezilya'da bu haplotipin J haplotipinin yerini almaya başladığını göstermiştir.

Fernando de Noronha'da sadece J haplotipinin bulunmasının sebebinin coğrafik izolasyon olduğu belirtilmiş ve bu izolasyonun da adada 1984 yılından sonra biyolojik materyal girişinin yasaklanmasına bağlı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mikrosatellit analizi sonucunda tespit edilen bir heterozigot birey iki haplotip arasında hibridizasyon oluşabileceğini ve henüz tam bir üreme izolasyonunun şekillenmediğini ortaya koymuştur.

Brezilya’da 2017 yılında yapılan bir başka çalışmada PZR-RFLP ve DNA dizileme yöntemleri ile incelenen tüm akar izolatlarının K haplotipi olduğu tespit edilmiş ve bu ülkede K haplotipinin J haplotipi ile yer değiştirmeye devam ettiği gözlenmiştir (Oktaviano-Salvade ve ark., 2017).

Pinto ve ark (2022) Brezilya’daki Afrikalılaştırılmış bal arılarında parazitlenen *V.destructor* izolatlarının genetik ve reproduktif profillerini incelemek amacıyla ülkenin 14 farklı bölgesinden çok sayıda akarı PZR-RFLP ve DNA dizileme yöntemleri ile incelemiştir. Bu çalışmada da K haplotipinin çok yaygın olduğu, J haplotipinin çok küçük izole bölgelerde bulunduğu ve aynı kolonide K ve J haplotiplerinin birlikte enfestasyona neden olduğu tespit edilmiştir.

Arjantin’de *A.mellifera* kolonilerinden toplanan akarların mt-COI bölgesinin dizilenmesi ile *V.destructor*’un K haplotipinin varlığı tespit edilmiştir (Maggi ve ark., 2012).

Yine Arjantin’de 2020 yılında yapılan bir çalışmada ülkenin 10 farklı bölgesindeki *A.mellifera* kolonilerinden toplanan akar izolatlarının mt-COI, mt-ND4, mt-ND4L ve mt-ND5 genleri dizilenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen tüm izolatların mt-COI gen dizilerinin K1 haplogrubu (K1:1 ve K1:2) ile uyumlu olduğu ve yeni bir markör olarak mt-ND4 bölgesinin Varroa cinsi akarların genotiplendirilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Muntaabski ve ark., 2020).

Batı Afrika’da yer alan Nijerya ve Benin ile Madagaskar’da yapılan çalışmalarda incelenen tüm izolatların K haplotipi olduğu tespit edilmiştir. Nijerya izolatları morfometri ve PZR-RFLP, Benin izolatları ise PZR-RFLP ve mikrosatellit analizi, Madagaskar izolatları ise mt-COI bölgesinin dizilenmesi yöntemleri ile incelenmiştir (Akinwande ve ark., 2012; Kelomey ve ark., 2017; Rasolofoarivao ve ark., 2013).

Küba’da toplanan akar örneklerinin PZR-RFLP ve mikrosatellit analiz yöntemleri ile incelenmesi sonucunda adada bulunan akarların tamamının K haplotipi olduğunu ortaya konmuştur (Rodriquez ve ark., 2020).

Navajas ve ark (2010) Varroa akarlarının Asya izolatlarındaki genetik varyasyonu değerlendirmek amacıyla detaylı bir çalışma planlamıştır. Bu çalışma kapsamında sadece *V.destructor*’un bulunduğu Çin, Kore, Japonya, Uzak Doğu Rusya, Tayvan ve Vietnam ile *V.destructor* ve *V.jacobsoni* ile birlikte bulunduğu Tayland gibi ülkelerdeki 21 *A.cerana* ve 11 *A.mellifera* kolonisinden akar örnekleri toplanmıştır. Elde edilen izolatların mt-COI, mt-COII, mt-Atp6 ve mt-CytB genleri PZR ile çoğaltılıp dizilenmiştir.

Bu çalışmada daha önce birçok araştırmada kullanılan ve önemli bir markör olan mt-COI geninin 458 bp’lik kısmının dizin verilerine göre C1, C2, J1, K1 ve V1 haplotiplerine ilave olarak C3 adı verilen yeni bir haplotip belirlenmiştir. *V.jacobsoni*’nin ise Laos 1 (L1) haplotipi tespit edilmiştir.

Çin, Kore, Japonya, Uzak Doğu Rusya, Tayvan ve Vietnam’da *V.destructor* Tayland’da ise hem *V.destructor* hem de *V.jacobsoni*’nin varlığı teyid edilmiştir.

Daha önce Anderson ve Trueman (2000) tarafından mt-COI geninin 458 bp'lik bölgesine göre belirlenen haplotiplerin statüsü haplogrup olarak yeniden tanımlanmış ve bu gruplar içerisindeki nükleotid farklılığı gösteren bireyler varyant olarak kabul edilmiştir.

Birleştirilmiş mt-DNA (COI, COII, Atp6 ve CytB) sonuçları incelenen izolatlar içerisinde 19 farklı varyantın olduğunu ortaya koymuştur. Bu varyantların K1 haplogrubu içerisinde K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, J1 haplogrubu içerisinde J1:1, J1:2, J1:3, J1:4, J1:5, J1:6, C1 haplogrubu içerisinde C1:1, C1:2, C2 haplogrubu içerisinde C2:1, C3 haplo grubu içerisinde C3:1, V1 haplogrubu içerisinde V1:1, V1:2, V1:3 ve L1 haplogrubu içerisinde ise L1:1 ve L1:2 olduğu ifade edilmiştir.

Araştırmacılar Kuzeybatı Asya'dan *A.mellifera*'da beş (K1:1, K1:2, K1:3, J1:1 ve J1:6), *A.cerana*'da sekiz (K1:3, J1:2, J1:3, J1:4, V1:1, V1:2, C2:1, C3:1), Tayland'da *A.mellifera*'da bir (J1:5) ve *A.cerana*'da ise dört (V1:3, V1:4, L1:1, L1:2) varyant tespit etmişlerdir. Her iki bölgede de *A.mellifera*'nın sadece K1 ve J1 haplogrupları ile enfeste olduğu dikkati çekmiştir.

Bu çalışmada *V.destructor*'un yeni tespit edilen bazı varyantlarının Asya'da *A.mellifera*'da başarılı bir şekilde kolonize olduğu ve henüz Asya dışına çıkmayan bu varyantların arıcılık için yeni bir tehdit oluşturabileceği belirtilmiştir. Araştırmacılar *A.mellifera*'nın yeni varyantlarla kolonizasyonunda, akara maruziyet süresinin önemli olduğunu, uzun süren konak parazit teması sonucunda *A.cerana* ve *A.mellifera*'nın simpatrik olarak bulunduğu bölgelerde *A.cerana*'da bulunan ancak *A.mellifera*'yı parazitize etmeyen varyantların zaman ilerledikçe *A.mellifera*'ya adapte olabileceğini bildirmiştir. Ayrıca bu çalışma sonuçlarına göre Asya'da *V.destructor*'da görülen polimorfizmin, dünya genelinde *A.mellifera*'da görülmemesinin, akarın *A.cerana*'dan *A.mellifera*'ya geçişi sonrasında ortaya çıkan darboğaz etkisinden kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

Ogihara ve ark (2020) Japonya'daki *V.destructor*'un *A.mellifera* ve *A.cerana* kolonilerinden toplanan izolatlarındaki genetik polimorfizmi belirlemek amacıyla mt-COI, mt-COIII, mt-Atp6 ve mt-CytB genlerini PZR ile çoğaltıp dizilemiştir. Çalışma sonucunda mt-COIII, mt-Atp6 ve mt-CytB genlerinin kısmi dizilerinde varyasyon tespit edilemezken mt-COI gen dizilerine göre her iki arı türünde K1:1/2, *A.cerana*'da ise J1:3 varyantları tespit edilmiştir.

Sırbistan'da *A.mellifera* kolonilerini parasitize eden akarın mt-COI ve mt-CytB genleri incelenmiş ve bu çalışmalar sonucunda *V.destructor*'un K haplogrubu'nun S1 ve P1 olmak üzere iki yeni varyantı belirlenmiştir (Gajić ve ark., 2013; Gajić ve ark., 2016; Gajić ve ark., 2019).

Çin'de *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerinden toplanan akarlar PZR-RFLP ve mt-COI geninin 458 bp'lik kısmının dizilenmesi ile incelenmiştir. Çalışmada *A.mellifera* kolonilerinin K, *A.cerana* kolonilerinin ise C haplotipi ile enfeste olduğu görülmüştür (Li ve ark., 2019).

Roberts ve ark (2015) yaptıkları çalışma ile *V.jacobsoni*'nin iki farklı genotipi'nin Papua Yeni Gine'de *A.cerana*'dan *A.mellifera*'ya geçip üreyebildiğini tespit etmiş ve bu konak değişim

sürecinin *V.destructor*'dakine benzer bir şekilde olabileceğini ayrıca dünya arıcılığı için yeni bir tehdit oluşturabileceğini ifade etmiştir.

Dietemann ve ark (2019) Tayland'ın 5 farklı bölgesinde *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerinden topladıkları akarları mt-COI DNA dizileme ve mikrosatellit analiz yöntemleri ile incelemiştir. Çalışma da haplotip analizleri ile eş zamanlı olarak akarların yavru gözlerindeki üreme durumları incelenmiştir.

Kuzey Tayland'ta *A.mellifera* kolonilerinde tek bir istisna dışında akarların tamamının K haplotipi olduğu tespit edilmiştir. Bir akarın ise *V.jacobsoni*'nin NT3 haplotipi olduğu ancak bunun yavru gözlerinde üreyemediği bildirilmiştir. Yine bu bölgede *V.destructor*'un V1, C2 ve K1 haplogrubunun *A.cerana* kolonilerinin erkek yavru gözlerinde başarı ile ürediği görülmüştür.

İlginç olarak bazı *A.cerana* kolonilerinin hem *V.destructor* hem de *V.jacobsoni* ile enfeste olduğu tespit edilmiştir. Eş zamanlı enfeste olan kolonilerden birinde *V.jacobsoni*'nin NT3, *V.destructor*'un ise K1, V1 ve C1 haplogrupları belirlenmiştir. Yani hem tür düzeyinde hem de haplotip düzeyinde bir miks enfestasyon dikkati çekmiştir. Araştırmacılar bu durumun farklı tür ve haplotipler arasında bir hibridizasyon şekillenmesine ve yeni türlerin ortaya çıkmasına neden olabileceğini ve bunun Asya ötesinde dünya arıcılığı için büyük bir tehdit oluşturabileceğini belirtmiştir.

Güney bölgelerindeki *A.cerana* kolonilerinde en yaygın haplotipin *V.jacobsoni*'nin M1 haplotipi olduğu ve bunun erkek yavru gözlerinde ürediği görülmüştür. Ayrıca *V.jacobsoni*'nin S haplotiplerinin adada daha önce tespit edilen S1 haplotipinden 4 nükleotid farklı olduğu görülmüş ve bu yeni haplotip S2 olarak adlandırılmıştır.

Bu çalışmada yapılan mikrosatellit analizlerinin sonucunda ise bazı *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerinde *V.jacobsoni* ve *V.destructor* hibritlerinin olduğu, her iki tür arasında tam bir üreme izolasyonunun şekillenmediği ancak hibritleşmenin çok nadir gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Çin'de *A.cerana* ve *A.mellifera* kolonilerinden toplanan akarların genotiplendirilmesi ve iki farklı arı popülasyonundaki üreme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla izolatların mt-COI ve mt-CytB genleri dizilenmiş, mikrosatellit analizi yapılmış ve kolonilerdeki yavru gözleri açılarak akarların üreme durumu gözlenmiştir (Lin ve ark., 2021).

Bu çalışma sonucunda Çin'de *V.destructor*'un daha önce tespit edilen K1:1/2 ve K1:3 varyantları ile K2:1 ve K1:5, K1:6, K1:7, K1:8, K1:9, K1:10, K1:11, K1:12, K1:13, K1:14, K1:15 adı verilen yeni varyantları tespit edilmiştir.

Çin'in doğusunda *V.destructor*'un konak değiştiren varyantlarının hem *A.cerana* hem de *A.mellifera* kolonilerindeki erkek ve işçi yavru gözlerinde başarı ile çoğalabildiği ancak konak değiştirmeyen orijinal popülasyonun bunu başaramadığı gözlenmiştir. Mikrosatellit analizleri yeni haplotiplerin her iki arı türünü enfeste ederken, orijinal konaktaki haplotiplerin sadece *A.cerana*'da erkek yavru gözlerinde enfestasyonlara neden olabildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca *A.cerana*'yı

enfeste eden K haplotiplerinin şu ana kadar bildirilenlerden çok daha yaygın olduğu, iki haplogrup içerisinde 14 varyant barındırdığı ve akrabalı üremesine rağmen yüksek bir evrimsel potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir.

2.2. Türkiye’de Yapılan alışmalar

Ülkemizde *V.destructor*’un genotiplendirilmesi konusunda ilk alışma Warriot ve ark (2004) tarafından yapılmıştır. Araştırıcılar Zonguldak, Kastamonu, Sinop, Samsun, Ordu, Gümüşhane, Bayburt ve Rize’den toplanarak gönderilen toplam 50 akar örneğini PZR-RFLP yöntemi ile incelemiş ve örneklerin tamamının K haplotipi olduğunu tespit etmiştir. Toplanan örneklerden 18 tanesinin 360 bp’lik bölgesinin dizileyerek PZR-RFLP sonuçlarının doğruluğunu teyid etmişlerdir. Ancak bu çalışmada GenBankası’na herhangi bir veri girişi yapılmamıştır.

Siirt ve Aydın illerinde yapılan çalışmalarda toplanan akarların PZR-RFLP yöntemi ile incelenmesi neticesinde *V.destructor*’un K haplotipi tespit edilmiştir (Ayan ve ark., 2017; Ayan ve Aldemir, 2018).

Koç ve ark (2021) Zonguldak, Ordu, Ankara, Eskişehir ve Muğla illerindeki *A.mellifera* kolonilerinden topladıkları 21 akarın mt-CytB, mt-Atp6 ve mt-COIII genlerini amplifiye ederek dizilemiş ve mt-Atp6 gen dizilerinin polimorfik olduğu ve bu sonuçlara göre çalışma alanlarındaki akarların K haplotipi olduğunu ifade etmiştir. Bu çalışmada ilgili gen dizileri Genbankasına yüklenmiştir.

Utuk ve ark (2022) Ankara, ankırı, Çorum, Kırşehir, Kırıkkale, Hakkâri, Hatay, Samsun ve Tekirdağ illerinden topladıkları akar örneklerinin mt-COI geninin 458 bp’lik kısmını amplifiye edip dizilemiş ve çalışma sonucunda bu illerden toplanan akarların K haplotipi olduğunu tespit etmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için 12.08.2020 tarihinde, 2020-6/1525 sayılı yazı ile Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izinler alınmıştır.

3.1. Materyal

Bu çalışmanın materyalini Türkiye'de arıcılığın yaygın bir şekilde yapıldığı Akdeniz Bölgesi'nde yer alan Adana, Mersin, Antalya, Osmaniye ve Burdur illerindeki arılıklardan toplanan dışı akarlar oluşturdu (Şekil 3.1). Örnekler Mayıs-Ekim 2020 tarihleri arasında 11 farklı ilçedeki 20 arılıktan toplandı (Çizelge 3.1).

Örneklerin toplandığı odakların gösterildiği haritanın hazırlanmasında QGIS 3.22.11 (<https://www.qgis.org/en/site/about/index.html>) yazılımı kullanıldı.

Örnekler kapaklı plastik numune kutularına alınarak soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı ve DNA ekstraksiyonu yapılncaya kadar -80 santigrad derece (°C)'de muhafaza edildi.



Şekil 3.1. Akar örneklerinin toplandığı odaklar

3.2. Metot

3.2.1. Varroa Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu

Laboratuvara ulaştırılan materyalden sayım yapıldı ve saha çalışmaları sonucunda 2870 adet akar toplandığı tespit edildi. Her ilden 25 adet akar olacak şekilde, toplamda 125 örnekten DNA ekstraksiyonu yapıldı. Çalışmada her bir akar bir izolat olarak kabul edildi.

DNA ekstraksiyonunda QIAamp Cadore Pathogen Mini kit (QIAGEN Cat. No: 154043327, Almanya) kullanıldı. Uygulamalar üretici firmanın prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi.

DNA ekstraksiyon işlemlerinden önce Buffer ACB'ye 40 ml isopropanol (Merck, Germany) Buffer AW1'e 130 ml ve Buffer AW2'ye ise 190 ml absolut ethanol (Tekkim, Türkiye) eklendi.

Ekstraksiyon öncesinde seçilen her bir akar içerisinde seramik boncuklar bulunan tüplere alındı ve üzerine 750 mikrolitre (µl) Phosphate Bufferet Saline (PBS) eklendi. Tüpler Magna Lyser

(Roche, Almanya) cihazına yerleştirildi ve 5000 devir/dakika (rpm)'da 30 saniye (sn) süre ile osilasyona maruz bırakılarak akar dokularının parçalanması ve homojenize olması sağlandı.

Elde edilen homojenatlar, 8000 rpm'de 1 dakika (dk) süre ile santrifüj (Thermo MICROCL 21R) edildi. Üstte kalan süpernatanttan 200 µl alınarak 1,5 ml'lik microsantrifüj tüplerine aktarıldı.

Her bir süpernatant'ın üzerine 20 µl proteinase K ve 100 µl VXL eklendi ve örnekler 20-25 °C'de 15 dk boyunca inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda her bir tüpe 350 µl Buffer ACB eklendi ve bir vortex (BIOSAN Bio Vortex V1, Letonya) yardımı ile karıştırıldı.

Toplama tüplerinin içerisine spin kolon tüpler yerleştirildi ve üzerlerine vortekslenmiş karışımın tamamı aktarıldı. Tüplerin kapakları kapatılarak 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi.

Santrifüj işlemi sonrası toplama tüpleri içlerindeki sıvı ile birlikte atıldı. Spin kolon tüpler yeni toplama tüplerine aktarıldı. Her bir spin kolon üzerine 600 µl AW1 eklendi ve 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi.

Santrifüj işlemi sonrası toplama tüpleri, içlerindeki sıvı ile birlikte atıldı. Spin kolon tüpler yeni toplama tüplerine aktarıldı. Her bir spin kolon üzerine 600 µl AW2 eklendi ve 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi.

Bu işlemden sonra 14000 rpm'de 10 sn olacak şekilde ikinci bir santrifüj işlemi yapıldı. Yeniden 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine konulan spin kolonlar üzerine 50 µl Buffer AVE eklendi ve bu tüplerin kapakları kapatılarak oda ısısında 1 dk inkubasyona bırakıldı.

İnkubasyonu sonrası yeniden 8000 rpm'de 1 dk santrifüj gerçekleştirildi. Daha sonra üstte bulunan spin kolon atılarak microsantrifüj tüp içerisindeki genomik DNA (gDNA) PZR'da kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında numunelerin toplandığı odaklar, numunelerin odaklara göre dağılımı ve incelenen akar sayıları

İl	İlçe	Arılık No	İncelen numune sayısı
Osmaniye	Merkez	1	25
Adana	Çukurova	1	3
		1	5
	Yüreğir	2	4
		1	5
	Tufanbeyli	2	4
		Sarıçam	1
2	2		
Mersin	Tarsus	1	6
		2	5
	Erdemli	1	5
		2	4
		3	5
Antalya	Kepez	1	10
		2	3
	Döşemealtı	1	4
		2	1
	Konyaaltı	1	3
		2	4
Burdur	Merkez	1	25
Toplam	11	20	125

3.2.2. Hedef DNA'nın Amplifikasyonu (PZR)

Çalışmada hedef olarak mt-COI geninin 458 bp ve mt-CytB geninin ise 985 bp'lik bölgeleri seçildi. Mt-COI genini çoğaltmak için COXIF (5'-GG(A/G)GG(A/T)GA(C/T)CC(A/T)ATT(C/T)T(A/T)TATCAAC-3') ve COXIR (5'-GG(A/T)GACCTGT(A/T)A(A/T)AATAGCAAATAC-3'), mt-CytB genini çoğaltmak için de CytbF-1 (5'-GCAGCTTTAGTGGATTTACCTAC-3') ve CytbPRIM (5'-CTACAGGACACGATCCCAAG-3') primer çiftleri kullanıldı (Anderson ve Fuchs, 1998; Navajas ve ark., 2002; Navajas ve ark., 2010).

Laboratuvara soğuk zincirde ve liyofilize halde getirilen primerler kısa bir santrifüj işleminden sonra steril distile su (Multicell Steril Water, Wisent Bioproducts) ile sulandırıldı. Sulandırma sonrasında 100 pikomol (pmol)/ μ l'lik stok solüsyon ve bunların beş kat sulandırılması sonrasında da rutin çalışmalarda kullanmak üzere 20 pmol/ μ l'lik ara solüsyonlar hazırlandı. Ayrıca 10 milimolar (mM)/ml olan dNTP (Thermo 10mM/1ml) karışımından 1mM/ml olacak şekilde sulandırarak rutin kullanım solüsyonu hazırlandı.

Her iki gen bölgesini çoğaltmak için aynı içeriğe sahip PZR karışımı ve aynı PZR döngüleri kullanıldı.

Amplifikasyon aşamasında Thermoscientific Dream Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher, Lithuania) kiti kullanıldı. Çalışmada bir örnek için 45 μ l olacak şekilde PZR karışımı hazırlandı. Bu karışıma 5 μ l 10xTaq buffer (20 mM MgCl₂ Qty: 1,25 ml), 5 μ l dNTP mix (1mM/ml), 0,25 μ l TaqDNA polymerase (5U/ μ l), primer çiftlerinin her birinden 2 μ l (20 pmol/ μ l) (Alpha DNA, Quebec) ve 30,75 μ l distile su (Multicell Steril Water, Wisent Bioproducts) eklendi. Bu karışım üzerine ekstraksiyon sonrasında elde edilen gDNA'dan 5 μ l eklendi.

Çoğaltma işlemi (AB Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler, Signapure) 95°C'de 3 dk'lık bir ön denatürasyondan sonra 35 siklus 95°C'de 1dk denatürasyon, 48 °C'de 1 dk bağlanma, 72°C'de 1 dk uzama işlemi ve 72°C'de 5 dk'lık bir son uzama aşamalarından oluştu.

Amplifikasyon aşamasında pozitif kontrol olarak Utuk ve ark., (2022) tarafından DNA dizileme yöntemi ile *V.destructor* olduğu teyid edilen gDNA'lar, negatif kontrol olarak da steril distile su (Multicell Steril Water, Wisent Bioproducts) kullanıldı.

3.2.3. Agaroz Jel Elektroforez ve PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi

Elektroforez aşamasından önce Tris-Borik Asit- Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) (5X TBE) solüsyonu hazırlandı. Bu amaçla bir balon joje içerisine 54,4 gr Tris base (BioShop, Kanada), 27,2 gr Borik asit (BioShop, Kanada) ve 4,6 gr EDTA (BioShop, Kanada) konulup üzerine 1 litre (L) distile su eklendi ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda (Nüve NS-108, Türkiye) kimyasalların tamamen çözünmesi sağlandı. Beş kat yoğun olan bu çözelti kullanılmadan önce distile su ile 1 X olacak şekilde seyreltilti.

Elektroforez aşamasından önce %1,5'luk agarose jel hazırlandı. Bu amaçla bir balon joje içerisine 0,75 gr agaroz (BioShop, Kanada) ve 50 ml 1xTBE ilave edildi ve mikrodalga fırında (Arçelik, MD 201 B) ısıtılarak agarozun tamamen çözünmesi sağlandı. Bu çözeltinin ısısı el yakmayacak seviyeye indiğinde içerisine 3 µl ethidium bromür (10mg/ml, Vivantis) eklenip karıştırıldı ve daha sonra tarakların yerleştirildiği tepsiye dikkatli bir şekilde dökülüp donması bekledi.

Taraklar çıkarıldıktan sonra jel tepsisi, içerisinde 1xTBE bulunan elektroforez tankına (Thermo Scientific Easycast B2) yerleştirildi. Tüm saha örnekleri, DNA ladder, pozitif ve negatif kontroller yükleme tamponu (Eco-Tech Clear band 6xDNA Loading Dye blue) ile 1/3 oranında karıştırıldıktan sonra jelin kuyucuklarına yüklendi.

Örnekler 120 voltta 45 dakika yürütüldükten sonra UV transilluminatöründe (Biostep, UXT-20M-15K) DNA bantları görüntülenip fotoğrafları çekildi (Kodak Gel Logic 112). Kaliteli bantların gözleendiği örnekler DNA dizileme işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.4. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Dizi Analizi

Amplifiye edilen örnekler ticari bir firmaya (Medsantek, İstanbul, Türkiye) gönderilerek çift yönlü DNA dizin analizleri yaptırıldı. Elde edilen kromatogramlar Geneious Prime 2021.0.3 (<https://www.geneious.com>) adlı yazılım kullanarak açıldı ve kalite skorları incelendi. Aynı program ile her bir izolata ait 5'-3' ve 3'-5' yönündeki dizinler birleştirilerek bir konsensus dizin oluşturuldu. Dizin kalitesi düşük bulunan bazı örnekler dizileme için yeniden aynı firmaya gönderildi.

3.2.5. Dizin Verilerinin Hizalanması ve Filogenetik İlişkilerinin Belirlenmesi

V.destructor'un mt-COI ve mt-CytB dizilerini karşılaştırmak amacıyla NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ve BOLDSYSTEMS (<https://www.boldsystems.org/>) adlı veri tabanlarında bulunan diziler indirilerek lokal bir veri tabanı oluşturuldu.

Çoklu dizin analizinde Clustal Omega (<http://www.clustal.org/omega/>) ve baz çifti karşılaştırma tablolarının hazırlanmasında QIAGEN CLC Main Workbench 22.0.2 adlı programlar kullanıldı. Filogenetik ağaç oluşturmada önce elimizdeki verinin doğasına en uygun olan evrim modeli ModelFinder programı ile belirlendi (Kalyaanamoorthy ve ark., 2017).

Filogenetik ağaçları (Maximum Likelihood) oluştururken IQ-TREE algoritması kullanıldı (Nguyen ve ark., 2015). Newick formatına dönüştürülen ağaçlar FigTree v1.4.4 programı ile grafik haline getirildi (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>). Ağaç topolojisinin güvenilirliğini belirlemek amacıyla Bootstrap analizi (5000 replications) yapıldı (Felsenstein, 1985).

3.2.6. Genetik Çeşitlilik İndeksleri ve Şebeke Analizleri

Haplotip sayıları (h), haplotip çeşitliliği (H_d), nükleotid çeşitliliği (π), tarafsızlık endeksleri (Tajima'nın D ve F_u 'ların istatistikleri), F_u ve L_i 'nin D ve F testleri DnaSP 6 adlı program yardımıyla hesaplandı (Rozas ve ark., 2017).

Nötralite testlerinin güvenilirliğini artırmak için demografik parametre olarak standart nötral model kullanıldı ve 1000 eşleşme yapıldı.

Grup içi ve gruplar arası uzaklıklar (P distance), korunmuş bölgeler (C), değişken bölgeler (V), parsimonik bilgi verici bölgeler (P) ve tekil mutasyon sayısı (S) DnaSP 6 (Rozas ve ark., 2017) ve MEGAX 10.2.6 (Tamura ve ark., 2021) adlı programlar yardımıyla belirlendi.

Haplotip şebeke analizleri median joining algoritmasıyla Network 10.2.0.0 ve Network Puplicer adlı programları (<https://www.fluxus-engineering.com/netwinform.htm>) kullanılarak yapıldı. Karakter ağırlıkları karakterlerin değişim sıklığına göre belirlendi. Karakter ağırlıkları mutasyon sayılarına ve substitisyon şekline göre ayarlandı. Buna göre dört mutasyon beş, üç mutasyon on, iki mutasyon 15 ve tek mutasyona sahip karakterlere 20 puan verildi ayrıca transversiyonlara transisyonların iki katı puan verildi. Epsilon değeri beş olarak seçildi.

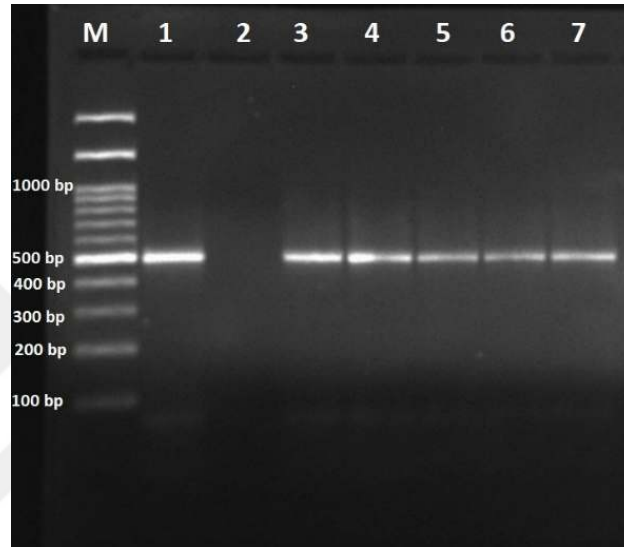


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

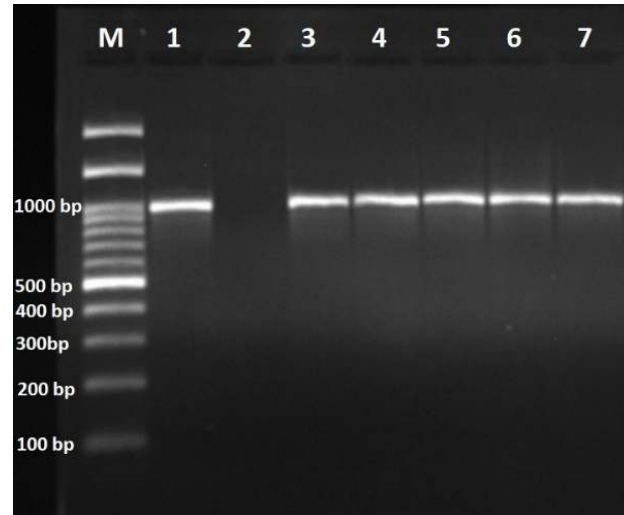
4.1. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin PZR Bulguları

Yapılan farklı çalışmalarda COXIF ve COXIR primer çiftinin 454-570 bp'lik bir bölgeyi çoğalttığı bildirilmiştir (Anderson ve Fuchs, 1998, Anderson ve Trueman, 2000; Strapazzon ve ark., 2009).

Bu çalışmada ise COXIF ve COXIR primer çifti ile yaklaşık 500 bp'lik, CytbF-1 ve CytbPRIM primer çifti ile de yaklaşık 1000 bp'lik bölgeler çoğaltıldı (Şekil 4.1 ve 4.2)



Şekil 4.1. *V.destructor*'un mt-COI geninin yaklaşık 500 bp'lik ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. **M:** DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol, **2:** Negatif kontrol, **3,4,5,6,7:** *V.destructor*'un saha izolatları



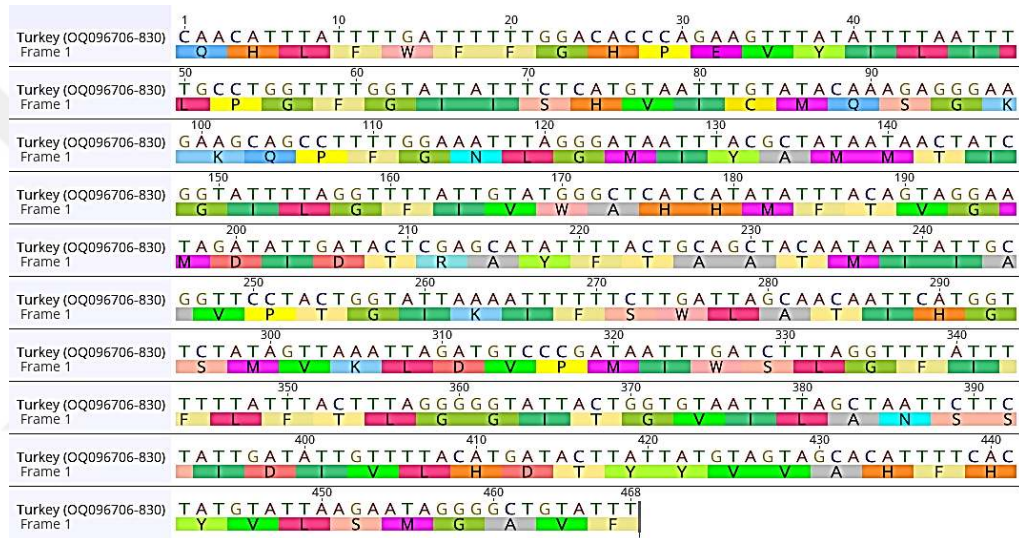
Şekil 4.2. *V.destructor*'un mt-CytB geninin yaklaşık 1000 bp'lik ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. **M:** DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol, **2:** Negatif kontrol, **3,4,5,6,7:** *V.destructor*'un saha izolatları

4.2. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Dizin Analiz Sonuçları

Kromatogramlar incelendikten sonra 125 örneğin mt-COI geninin 468 bp, mt-CytB geninin ise 879 bp'lık bölgeleri GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)'a sunuldu. Mt-COI dizileri için OQ096706-OQ096830 ve mt-CytB dizileri için de OQ104612-OQ104736 kabul numaraları alındı.

İncelenen 125 örneğin tamamının mt-COI geninin 468 bp'lık bölgesinin birbiri ile %100 uyumlu olduğu tespit edildi (Şekil 4.3).

Oluşturulan konsensus dizisi (Turkey OQ096706-830) *V.jacobsoni* ve *V.destructor*'un farklı haplogruplarına ait referans dizilerle (Çizelge 4.1) karşılaştırıldı ve elimizdeki akarların *V.destructor*'un K1 haplogrubu ile %100 uyumlu olduğu görüldü.



Şekil 4.3. Tez çalışmasında kullanılan 125 izolatın mt-COI geninin 468 bp'lık bölgesini temsil eden Turkey (OQ096706-830) adlı konsensus dizisi

Varroa cinsi içerisindeki haplogrupları belirlemek amacıyla en çok kullanılan bölge mt-COI geninin 458 bp'lık kısmı olduğu bilinmektedir (Anderson ve Fuchs, 1998; Anderson ve Trueman, 2000; Li ve ark., 2019; Maggi ve ark., 2012; Oktaviano-Salvade ve ark., 2017; Rasolofoarivao ve ark., 2013; Warrit ve ark., 2006; Zhou ve ark., 2004).

Bu bölgenin dizin bilgileri temel haplogrupları belirlemeye olanak sağlamasına rağmen haplogruplar içerisindeki varyantların ayırımında yetersiz kalmaktadır. Bu bölge kullanılarak yapılan incelemede C1 haplogrubu C2, C3 ve C4 haplogruplarından ayrılabilmesine rağmen C2, C3 ve C4'ün kendi aralarında ayırımı mümkün olamamaktadır. Benzer şekilde K1 ve K2 haplogrupları birbirinden ayrılabilirken, K1 haplogrubu içerisindeki 17 varyantın kesin ayırımı sağlanamamaktadır (Dieteman ve ark., 2019; Gajic ve ark., 2019; Zhou ve ark., 2004; Lin ve ark., 2021).

Bu nedenle çalışmamızda mt-COI bölgesinin 458 bp'lik kısmı izolatlarımızın haplogrup düzeyinde tanıda, CytB genin 876 bp'lik kısmı ise varyant analizinde kullanıldı.

Çizelge 4.1. Varroa türleri, bu türler içerisinde bulunan farklı haplogruplar ve bunlara ait GenBank erişim numaraları (Anderson ve Trueman, 2000)

Tür	Haplogrup	Erişim Numarası
<i>V.underwoodi</i>	-	AF107260
<i>V.rindereri</i>	-	AF107261
<i>V.destructor</i>	Çin 1 (C1)	AF106900
	Kore 1 (K1)	AF106899
	Japon 1 (J1)	AF106897
	Nepal 1 (N1)	AF106898
	Vietnam 1 (V1)	AF106901
	Srilanka 1 (SL1)	AF106896
<i>V.jacobsoni</i>	Ambon 1	AF106908
	Bali 1	AF106909
	Borneo 1	AF106907
	Flores 1	AF106902
	Java 1	AF106910
	Lombok 1	AF106904
	Malezya 1	AF106906
	Sumatra 1	AF106905
	Sumbava 1	AF106903
Henüz durumu netleşmemiş izolatlar	Luzon1	AF106894
	Luzon 2	AF106895
	Mindano	AF106893

Çalışmamız kapsamında GenBank'a ülkemizin farklı bölgelerinden *V.destructor*'a ait 224 veri girişi yapıldığı görüldü.

Elâzığ (n: 52, OP420922-OP420972) ve Malatya (n: 50, OP420871- OP420921) illerinden yüklenen verilerin 407 bp uzunlukta olduğu ve mt-COI geninin 403-809 pozisyonları ile uyumlu olduğu tespit edildi. Ancak girişi yapılan dizilerin mt-COI geninin haplogrup tanısında en çok tercih edilen 687-1167 pozisyonlarının dışında kaldığı görüldü. Bu nedenle bu örnekler *V.destructor* olarak kabul edildi ancak haplogrup ve varyant analizinde kullanılmadı.

Utuk ve ark (2022) tarafından veri girişi yapılan Ankara, Çankırı, Çorum, Elazığ, Kırşehir, Kırıkkale, Hakkâri, Hatay, Samsun ve Tekirdağ izolatlarına ait dizinlerin (n: 10 MW729721-MW729730), bu çalışmadaki konsensus dizisi (Şekil 4.3) ve K1 haplogrubuna ait referans dizin (AF106899) ile %100 uyumlu olduğu tespit edildi.

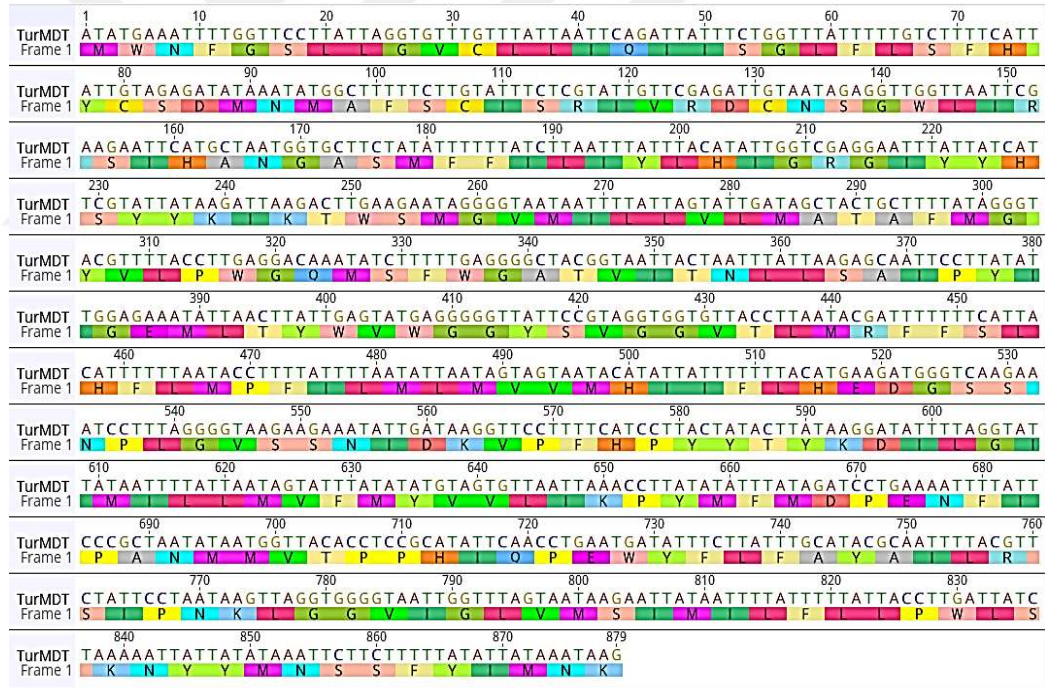
Bingöl (n: 83, OP642218- OP642299), Ankara (n: 20, OP604744-OP604763) ve Sivas (n:8, OP081058- OP081065) izolatlarına ait verilerin sırayla 318 bp, 314-338 bp ve 345 bp uzunlukta ve K1 haplogrubu ile uyumlu oldukları görüldü.

Dünya genelinde ise Brezilya (n: 47), Çin (n: 28), Mısır (n: 1), Güney Kore (n: 17), Hindistan (n: 64), İran (n: 22), Irak (n: 6), Japonya (n: 5), Kanada (n: 3), Madagaskar (n: 13), Sırbistan (n: 2), Suriye (n: 2), Tayland (n: 14), Tayvan (n: 223), Yeni Zellanda (n: 13) ve Vietnam

(n: 40) gibi ülkelerden 500 veri girişi yapıldığı tespit edildi. Bu verilerden mt-COI geninin 698-1156 bp'lik bölgesinin dışında kalan, 420 bp'den kısa olan ve odak bilgileri bulunmayan dizinler değerlendirmeye alınmadı.

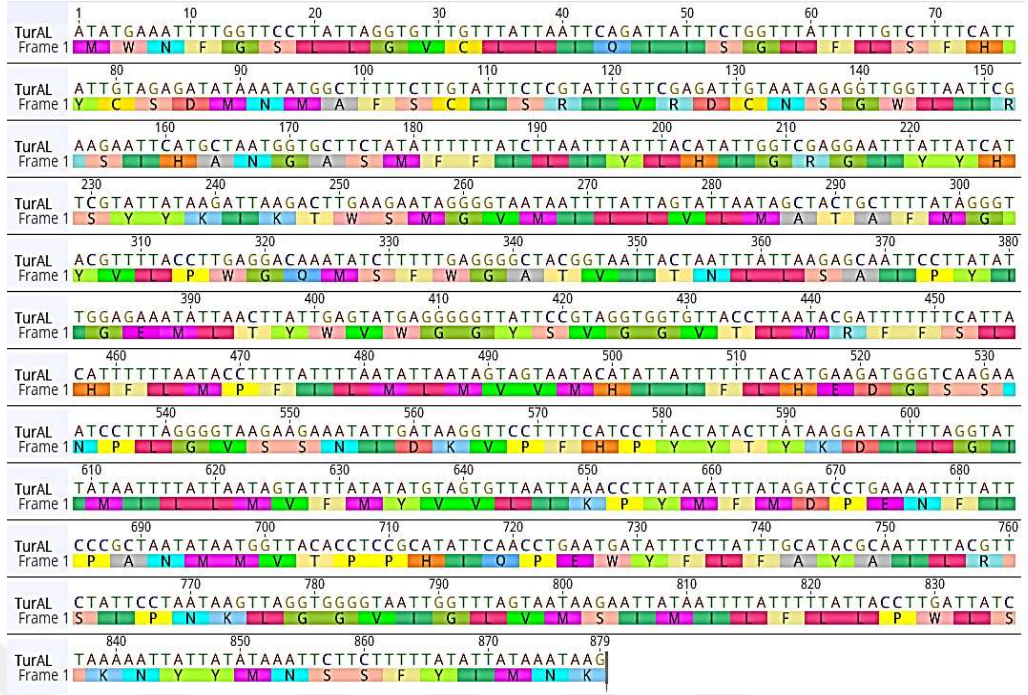
İnceleme sonucunda Tayvan (n: 197, OK335527-31, OK335542-737), Brezilya (n: 47, KU196784, KY380010-55), Hindistan (n:32, VMHB001-32), Çin (n:28, MN450531-48, MN551178-79, GQ379057, GQ379059-60, GQ379062, GQ379065-GQ379068), Madagaskar (n:13, JX827474-86), Japonya (n:5, GQ379070-74), Tayland (n:4, MN450548, GQ379063, GQ379064, GQ379073, GQ379078), Suriye (n:2, LN873222, LN873226), Vietnam (n:2, GQ379058, GQ379061) ve Mısır (n:1, MK482687) izolatlarına ait 331 dizin ile *V.destructor* haplotiplerine ait referans diziler (n:6) genetik çeşitlilik ve şebeke analizleri için uygun bulundu.

Mt-CytB genin yönünden yapılan incelemede 125 izolatımızın 119'unun (OQ104612-42, OQ104643-47, OQ104649, OQ104651-54, OQ104656-60, OQ104662-72, OQ104674-736) birbirine %100 benzerlik gösterdiği tespit edildi. Analizlerde işlem kolaylığı sağlamak amacıyla bu 119 dizin için TURMDT adlı bir konsensus dizisi oluşturuldu (Şekil 4.4).



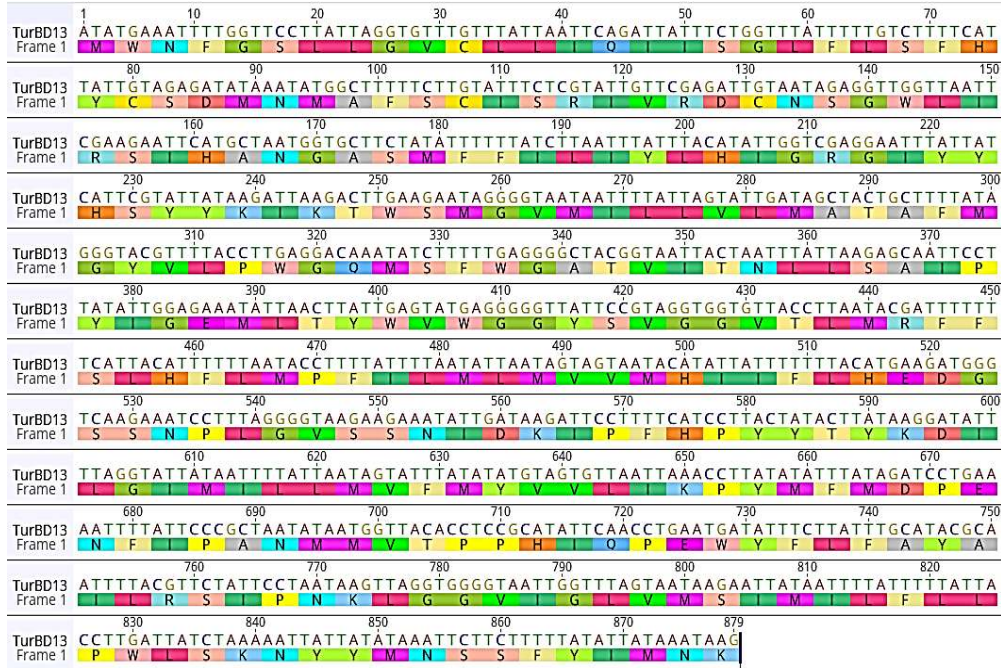
Şekil 4.4. Tez çalışmasında kullanılan 119 izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesini temsil eden TURMDT adlı konsensus dizisi

Benzer şekilde Antalya'dan elde edilen TURAL33 (OQ104643), TURAL38 (OQ104648) TURAL40 (OQ104650), TURAL45 (OQ104655) ve TURAL51 (Q104661) kodlu izolatlarımız birbirlerine %100 benzerlik gösterdiğinden bu beş izolat için de TURAL adlı ikinci bir konsensus dizisi oluşturuldu (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Tez çalışmasında kullanılan 5 izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesini temsil eden TURAL adlı konsensus dizisi

Burdur'dan tespit edilen 13 nolu izolatın (OQ104674) Akdeniz bölgesinde incelediğimiz diğer izolatlardan farklı olduğu görüldü. Bu nedenle bu dizin TURBD13 adıyla tek başına değerlendirildi (Şekil 4.6)



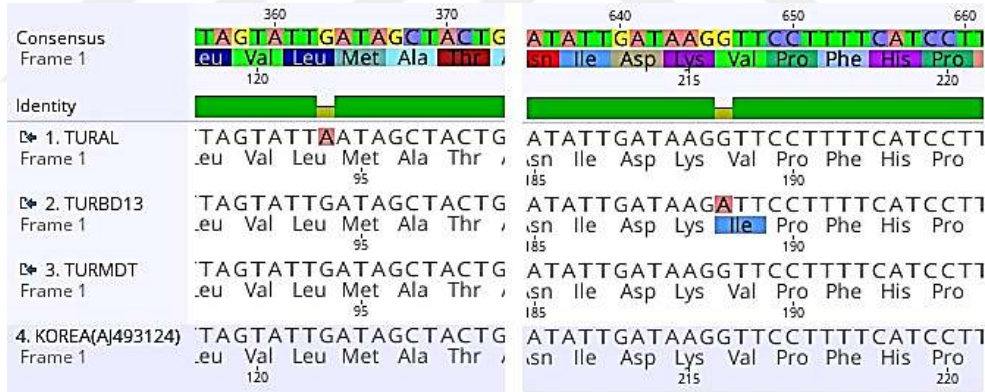
Şekil 4.6. Tez çalışmasında kullanılan Burdur 13 nolu izolatın mt-CytB geninin 879 bp'lik bölgesinin nükleotid dizisi

Konsensus dizilerinden TURAL'nin TURMDT'ye %99,89 (1 nükleotid farklı) ve TURBD13 no'lu izolata ise %99,77 (2 nükleotid farklı) oranında benzerlik gösterdiği dikkati çekti. Elimizdeki veriler ışığında ülkemizde K1 haplogrubunun üç farklı varyantının bulunduğu tespit edildi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Mt-CytB dizilerine göre belirlenen 3 farklı varyanta ait baz çifti karşılaştırma tablosu. Üst kısımlarda nükleotid farklılıkları, alt kısımlarda yüzde benzerlikler verilmiştir

	TURAL	TURBD13	TURMDT	K (AJ493124)
TURAL		2	1	1
TURBD13	99,77		1	1
TURMDT	99,89	99,89		0
K (AJ493124)	99,89	99,89	100,00	

GenBank'tan indirilen K haplotipine ait mitogenom dizisinin (AJ493124) CytB genine göre yaptığımız analizde oluşturduğumuz konsensus dizilerinin referans genin 82-960 pozisyonları arasında yer aldığı, 119 izolatomızı temsil eden TURMDT konsensus dizimizin K haplogrubu ile %100 uyum gösterdiği, 5 izolatomızı temsil eden TURAL konsensus dizisinde 363. pozisyonda sinonim bir mutasyona sahip olduğu (G→A), TURBD13 dizisinin ise 646. pozisyonda non-sinonim (G→A, Val→Ile) bir mutasyona sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Mt-CytB geninin çoklu dizin analizinde substitisyonların yeri ve bunların aminoasit değişimleri üzerindeki etkileri

Mt-CytB bölgesi için Türkiye'nin Ankara (n: 19, MW553985- MW553987, MW553989- MW553994, MW553996-MW554005), Ordu (n: 1, MW554006), Muğla (n: 1, MW553988) ve Zonguldak (n: 1, MW553995) illerinden Genbank'a toplam 22 veri girişi yapıldığı tespit edildi.

Bu illerden yüklenen verilerin ilk 852 bp'lık kısmının %100 uyumlu olduğu ancak 853-882 bp'lık aralıkta dizin verilerinin uygun bir şekilde temizlenmemesi sonucunda ortaya çıktığını düşündüğümüz nükleotid farklılıkları tespit edildi. Bu nedenle bu izolatların 1-852 bp'lık kısmı değerlendirmeye alındı ve hepsinin aynı varyant olduğuna karar verildi. Bu izolatların konsensus dizisi ile TURMDT konsensus dizisinin %100 uyumlu olduğu görüldü.

Elimizdeki 3 farklı varyantı analiz etmek için Çin (n: 26, GQ379100, GQ379103-GQ379106, GQ379095, GQ379097, GQ379098, MN450549- MN450566), Tayvan (n: 1, GQ379107), Tayland (n: 3, GQ379101, GQ379102, GQ379111), Güney Kore (n: 1, GQ379094), Vietnam (n: 2, GQ379096, GQ379099), Japonya (n: 5, GQ379108-GQ379110, GQ379112, AP019523), Sırbistan (n: 2, JX970944, JX970945), Suriye (n: 2, LN873225, LN873229) Fransa (n:1, AJ493124) ve ABD (n: 2, AY163547, NC004454)'den girişi yapılan 45 veri kullanıldı.

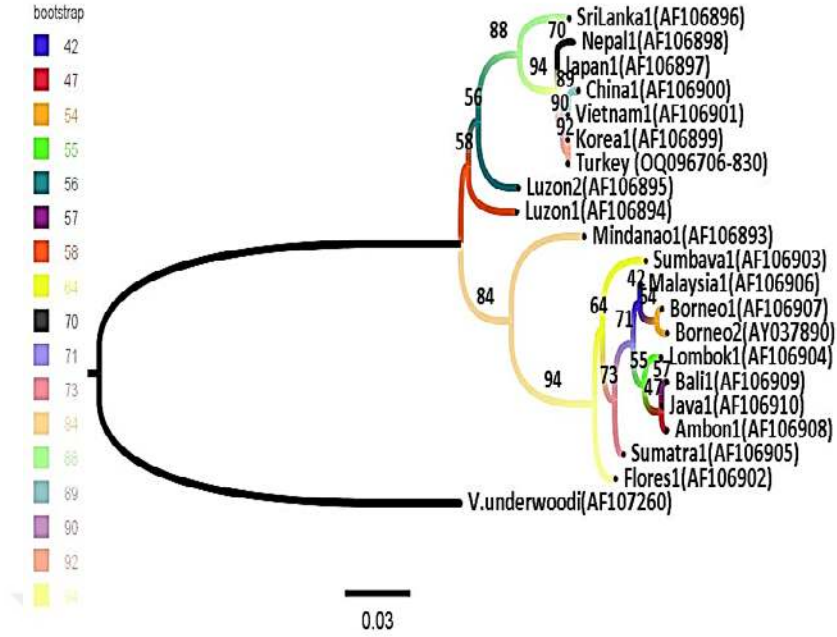
Yapılan çoklu dizin analizi sonrasında elde edilen verilerden baz çifti karşılaştırma tablosu hazırlandı. Ayrıca aynı veriler DNASP6 programı ile incelendi (Rozas ve ark., 2017). Yapılan değerlendirmeler sonucunda Antalya'dan elde edilen TURAL konsensus dizisinin Sırbistan Pesther 1 (P1) varyantı ile %100 uyumlu olduğu, TURBD13 (OQ104674)'ün kendine özgü bir varyant olduğu ve diğer varyantlara %98,04-99,86 oranında benzediği tespit edildi.

Diğer 119 izolatu temsil eden TURMDT konsensus dizisinin ise K1:1-4, K1:12, K1:14-15, Sırbistan S1 (JX970944) varyantları ile Fransa (AJ493124), Japonya (AP019523) ve ABD (NC004454) izolatları ile %100 uyumlu olduğu görüldü.

Ayrıca bu dizinin, K2-1 haplogrubu ile K1 haplogrubu içerisinde bulunan K1: 5-11, K1:13 ve Suriye varyantlarına (LN873225, LN873229) %98,22-99,86 oranında benzediği tespit edildi.

4.3. Mt-COI ve mt-CytB Genlerinin Filogenetik Analiz Sonuçları

Bu çalışmada mt-COI geninin 458 bp'lik bölgesine dayalı bir filogeni oluşturmak için *V.destructor* ve *V.jacobsoni*'ye ait referans diziler kullanıldı (Çizelge 4.1). *V.underwoodi* dış grup olarak atandı. Çalışmamızda kullandığımız izolatları temsilen Turkey (OQ096706-830) adlı konsensus dizisi kullanıldı (Şekil 4.3). Elimizdeki veriye en uygun evrim modeli TPM3+F+I olarak belirlendi. Oluşturulan filogenetik ağaç (Şekil 4.8) incelendiğinde tez izolatlarımızın Korea1(AF106899) haplogrubu ile aynı klad içerisinde bulunduğu ve %92 dal destek değeri aldığı tespit edildi. Ayrıca *V.destructor*'un Sri Lanka1 (AF106896), Nepal1 (AF106898), Japan1 (AF106897), China1 (AF106900), Vietnam1 (AF106901), Kore1 (AF106899) haplogrupları ile Turkey (OQ096706-830)'in tek bir klad oluşturduğu ve grubun %88 dal destek değeri aldığı görüldü. Luzon1(AF106894) ve Luzon2 (AF106895) izolatları çok iyi dal destek (%58-56) değerleri almasa da *V.destructor* ile aynı klad içerisinde yer aldı.



Şekil 4.8. *V.destructor* ve *V.jacobsoni*'nin farklı haplogrupları ile Akdeniz Bölgesi izolatlarının [Turkey (OQ096706-830)] filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç. Ağaç mt-COI geninin kısmi dizilerine (477 bp) göre Maximum Likelihood yöntemi ile hazırlanmış ve taksonların GenBank erişim numaraları parantez içerisinde belirtilmiştir. *V.underwoodi* dış grup olarak kullanılmıştır. Dallar bootstrap (5000 döngü) değerlerine göre renklendirilmiştir.

Anderson ve Trueman (2000) yaptıkları filogenetik analizde Mindanao1 (AF106893) izolatlarını *V.destructor*'a daha yakın olduğunu ifade etmelerine rağmen yaptığımız filogenetik analizde bu izolatın *V.jacobsoni* ile aynı klad içerisinde yer aldığı ve bu kladın aldığı dal destek değerinin (%84) hiç de düşük olmadığı tespit edildi.

Anderson ve Trueman (2000) yaptıkları çalışmada *Tetranychus urticae* adlı akara ait dizinleri dış grup olarak kullanmış, ayrıca filogenetik analizde diğer izolatlardan 32 bp daha kısa olan *V.rindereri*'yi de değerlendirmeye almıştır. Ağaç oluştururken Parsimoni ve Maximum likelihood yöntemlerini kullanmışlardır. Maximum Likelihood ağaçlarını oluştururken substitisyon modeli olarak HKY85'i seçmişlerdir.

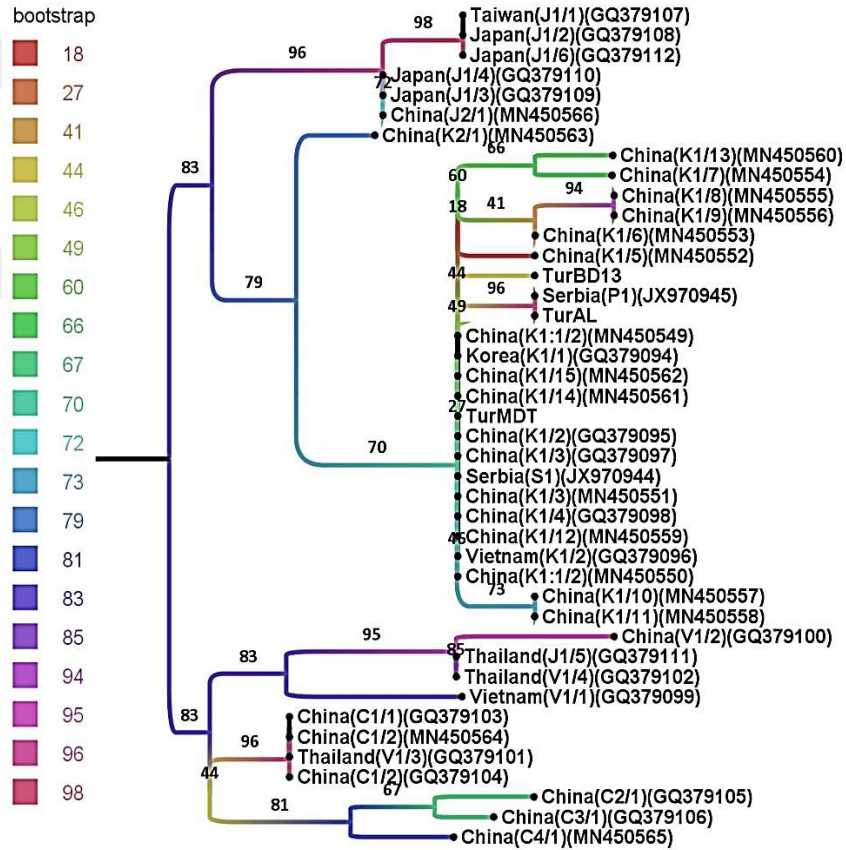
Bu çalışmada ise ağaç oluştururken Maximum Likelihood yöntemi ve IQ-TREE algoritması kullanılırken TPM3+F+I substitisyon modeli olarak seçildi. Ayrıca diğer izolatlardan 32 bp daha kısa olan *V.rindereri* değerlendirme dışı bırakılırken *V.underwoodi* dış grup olarak atandı. Bu çalışmada Mindanao1(AF106893) izolatlarının Anderson ve Trueman (2000)'ın yaptıkları çalışmadakinden farklı kladlarda yer almış olmasının, bu iki çalışmada kullanılan yöntem farklılıklarından kaynaklanmış olabileceği kanaatine varıldı.

Varyant analizi için CytB geninin 879 bp'lik bölgesinin çoklu dizin analizinden sonra uyum göstermeyen kısımlar uzaklaştırıldı ve 730 bp'lik bölge kullanılarak ikinci bir filogenetik ağaç hazırlandı.

Filogenetik ağaç hazırlanırken Navajas ve ark (2010), Gajic ve ark (2013) ile Lin ve ark (2021)'nın çalışmalarında tespit ettikleri varyantlara ait dizinler referans olarak seçildi. Akdeniz bölgesi izolatlarından daha önce oluşturduğumuz iki varyanta ait TURMDT ve TURAL adlı konsensus dizileri ile üçüncü ve özgün bir varyant olduğunu düşündüğümüz TURBD13 izolatına ait üç dizin kullanıldı.

Uygun bir dış grup bulunamadığı için orta nokta köklendirme yöntemi kullanıldı. TPM3u+I+F elimizdeki veriye en uygun substitisyon modeli olarak belirlendi.

Oluşturulan ağaç (Şekil 4.9) incelendiğinde %70 ve üzeri dal destek değerleri alan üç büyük klad dikkati çekti. Birinci kladı %96 dal destek değeri alarak J1:1-4, J1:6 ve J2:1 haplotipleri, ikinci ve en büyük kladı %79 dal destek değeri alan ve diğerlerinden çok net bir şekilde ayrılan K1 ve K2 haplogruplarının olduğu grup, üçüncü kladı ise %83 dal destek değeri alan C1-4 haplogrupları ile V1:1-4 ve J1:5 varyantlarının yer aldığı grup oluşturdu.



Şekil 4.9. *V. destructor*'un farklı haplogrupları ile Akdeniz bölgesi izolatlarını temsil eden TURMDT ve TURAL adlı konsensus dizileri ve TURBD13'ün filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç. Ağaç mt-CytB geninin kısmi dizilerine (730 bp) göre Maximum Likelihood yöntemi ile hazırlanmış ve taksonların GenBank erişim numaraları parantez içerisinde belirtilmiştir. Ağacı köklendirmek için orta nokta köklendirme yöntemi kullanılmıştır. Dallar bootstrap (5000 döngü) değerlerine göre renklendirilmiştir.

Mt-CytB geninin 730 bp'lik kısmı tek başına kullanıldığında birinci klad içerisinde J1:1-4, J1:6 ve J2:1'in bulunduğu ve J1 haplogrubu içerisinde yer alması gereken J1:5 varyantının üçüncü grupta yer aldığı dikkati çekti.

Üçüncü kladta yer alan C1, C2, C3, C4 ve V1 haplogruplarında klad düzeyinde iyi bir yapılanma görülmediği tespit edildi. Örneğin J1:5 varyantının V1 haplogrubunun yer aldığı kladta bulunması ve V1:3 varyantının C1 haplogrubunun yer aldığı kladta bulunması mt-CytB geninin 730 bp'lik kısmının bu haplogrupları ayıracak bir filogeni için yetersiz olduğunu gösterdi.

İkinci kladta yer alan TURBD13'ün tek başına bir klad oluşturduğu, TURAL konsensus dizisinin P1 (JX970945) varyantı ile birlikte ayrı bir klad oluşturduğu ve %96 dal destek değeri aldığı tespit edildi.

Ayrıca TURMDT konsensus dizisinin K1 haplogrubunda yer aldığı ancak K1:1 (GQ379094), K1:2 (GQ379095-96), K1:3 (GQ379097), K1:4 (GQ379098), K1:1/2 (MN450549-50), K1:12 (MN450559), K1:14 (MN450561), K1:15 (MN450562) ve Sırbistan S1 (JX970944) varyantları ile aynı dal uzunluğuna sahip olduğu ve birbirinden ayırlamadığı görüldü.

Yine TURMDT konsensus dizisinin K1 haplogrubunda yer almasına rağmen K1:5-11 (MN450552-58), K1:13(MN450560), P1 (JX970945) varyantları ve TURBD13 (OQ104674) ve TURAL konsensus dizisi ile temsil edilen izolatlarla daha uzak olduğu dikkati çekti.

4.4. Genetik Çeşitlilik İndeksleri ve Şebeke analiz Sonuçları

Mt-COI geninin 423 bp'lik dizileri baz alınarak toplam 462 izolat değerlendirildi. Bunun 125'ini tez çalışmasında kullanılan izolatlar, 331'ini dünyanın farklı bölgelerinden GenBank'a yüklenen izolatlar ve altısını da *V.destructor*'un altı haplogrubuna ait referans dizinler oluşturdu (Çizelge 4.1, 4.4).

Mt-COI geninin incelenen kısmı içerisinde 388 bp'lik bölgenin korunmuş, 35 bölgenin değişken ve 7 bölgenin parsimonik olarak bilgi verici özellikte olduğu görüldü. Ayrıca toplam mutasyon sayısının 37, tekil mutasyon sayısının ise 28 olduğu tespit edildi.

Tüm izolatlar incelendiğinde 23 farklı haplotip belirlendi ve haplotip çeşitlilik değerinin (hd) ise 0,5598 olduğu görüldü (Çizelge 4.4).

Nötralite testlerinin sonuçlarının negatif ve istatistiksel olarak önemli bulunması ender haplotiplerin yüksek oranda görüldüğünü ve bir popülasyon genişlemesi olduğunu gösterdi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Mt-COI geninin 423 bp'lik dizileri baz alınarak incelenen 462 izolatın nötralite test sonuçları. TD: Tajima'nın D testi, FLD: Fu ve Li'nin D testi, FLF: Fu ve Li'nin F testi, FFs: Fu'nun Fs testi, $P < 0,05$

TD	P	FLD	P	FLF	P	FFs	P
-2,11115	0	-9,35615	0	-7,34291	0	-14,7792	0

Brezilya, Japonya, Madagaskar ve bu çalışmada incelenen izolatlarda grup içi uzaklıklar 0 olarak belirlendi ($pd = 0$). Bu gruplarda bulunan izolatların monomorfik olması ($h:1, Hd:0$) nedeni ile nötralite testleri yapılamadı. Japon izolatlarının J1 (H14), Brezilya, Madagaskar ve tez çalışmamızdaki izolatların K1 (H20) haplogrubunda yer aldığı görüldü (Çizelge 4.4).

Tayland izolatları arasında uzaklık 0.00394, haplotip çeşitliliği 0,83333 ve haplotip sayısı üç olarak tespit edildi. İncelenen izolatların C1 (H4), V1 (H8) ve K1 (H20) haplogrubunda yer aldığı görüldü. Nötralite test sonuçları istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Çizelge 4.4).

Çin izolatlarında grup içi uzaklık 0.00361 ve haplotip çeşitliliği 0,69048 olarak belirlendi. İncelenen izolatların *V.detsructor*'un C1 (H4), C3 (H9), V1 (H8), K1 (H20) ve K2 haplogrublarında yer aldıkları görüldü. Ayrıca K1 haplogrubunda bulunan K1:7, K1:9 ve K1:14 varyantları da mt-COI geninin 423 bplik bölgesinde ayırt edilebildi. Bu grupta haplotip çeşitliliği ve haplotip sayıları nispeten yüksek ve nötralite testlerinin sonuçları negatif olmasına rağmen nötralite test sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.4).

İncelenen iki Suriye izolatı arasındaki mesafenin 0.00473 olduğu, izolatlardan birinin K1 (H20) haplogrubunda yer alırken diğerinin özgün bir haplotip (H7) olduğu tespit edildi. Vietnam'a ait iki izolat arasındaki mesafenin 0.00473 olduğu ve bu izolatların V1 (H8) ve K1 (H20) haplogrubunda yer aldığı görüldü. Suriye ve Vietnam gruplarını temsil eden birey sayısının dördün altında olması nedeni ile nötralite testleri yapılamadı (Çizelge 4.4).

Hindistan'a izolatlarına ait grup içi uzaklık 0.00206, haplotip sayısı 11, haplotip çeşitliliği 0,53427 olarak belirlendi. İncelenen 22 izolatın K1 (H20) haplogrubunda yer aldığı, diğer izolatların her birinin ise özgün birer haplotip olduğu (H5, H6, H13, H16, H17, H18, H19, H21, H22, H23) görüldü.

Tayvan izolatlarında grup içi uzaklık 0.00123, haplotip sayısı üç ve haplotip çeşitliliği 0,27929 olarak tespit edildi. Bu izolatlar 165'i J1 (H14), 28'i K1(H20) haplogrublarında yer alırken dördünün H15 haplotipine sahip olduğu belirlendi.

Hindistan ve Tayvan gruplarında Theta değeri 0 olduğu için nötralite testlerinin simulasyon sonuçları oluşturulamadı. Bunun sebebinin haplotip çeşitliliği indeksi değerinin ve polimorfik bölge sayısının düşük olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Çizelge 4.4. Tez çalışması ve farklı ülkelerden incelenen mt-COI bölgesinin 420 bp'lik bölgesi incelenen izolatların sayısı, GenBank erişim numaraları ve haplotip analiz sonuçları.

Ülke	Haplotipler	Haplotip sayısı	Erişim numaraları
Sri Lanka	H1 (SL1)	1	AF106896
Mısır	H2	1	MK482687
Nepal	H3 (N1)	1	AF106898
Çin	H4 (C1)	4	MN551179, MN450546, GQ379065-66
	H8 (V1)	1	GQ379062
	H9 (C3)	1	GQ379068
	H10 (K1/9)	1	MN450538
	H11 (K2/1)	4	MN450545, MN450547, MN450548, GQ379067
	H12 (K1/7)	1	MN450536
	H15 (K1/14)	1	MN450543
	H20 (K1)	15	MN450539-40, MN450542, MN450544, GQ379059, MN450533, MN450537, MN450541, GQ379060, MN551178, GQ379057, MN450531-32, MN450534-35
Hindistan	H5	1	VMHB020-11
	H6	1	VMHB012-11
	H13	1	VMHB004-11
	H16	1	VMHB009-11
	H17	1	VMHB016-11
	H18	1	VMHB002-11
	H19	1	VMHB006-11
	H20 (K1)	22	VMHB001-2/11, VMHB003/11, VMHB005/11, VMHB007-8/11, VMHB010-11/11, VMHB013/11, VMHB014-15/11, VMHB017-19/11, VMHB021-24/11, VMHB026/11, VMHB029-31/11
	H21	1	VMHB025-11
	H22	1	VMHB027-11
	H23	1	VMHB028-11
	H7	1	LN873226
Suriye	H20 (K1)	1	LN873222
Vietnam	H8 (V1)	1	GQ379061
	H20 (K1)	1	GQ379058
Tayland	H8 (V1)	2	GQ379063-64
	H14 (J1)	1	GQ379073
	H20 (K1)	1	MN179648
Tayvan	H14 (J1)	165	OK335542-583, OK335585-603, OK335605-692, OK335694-709
	H20 (K1)	28	OK335710-37
	H15	4	OK335527-30
Türkiye	H20 (K1)	125	OQ096706-830
Brezilya	H20 (K1)	47	KU196784, KY380010-55
Japonya	H14 (J1)	5	GQ379070-74
Madagaskar	H20 (K1)	13	JX827474-86

Şebeke analiz sonuçları incelendiğinde K1 (H20) haplogrubunun yıldız benzeri bir yapılanmaya sahip olduğu, diğer haplotiplerden 1-11 mutasyonla ayrıldığı ve incelenen izolatların %54,97 (254/462)'sini temsil ettiği belirlendi. İkinci büyük haplogrup olan J1 (H14)'in diğer haplogruplardan 1-9 mutasyonla ayrıldığı ve incelenen izolatların % 37,22 (172/462)'sini temsil ettiği görüldü. Ayrıca K2 (H11), C1 (H4), V1 (H8), SL1 (H1) ve N1(H3) haplogruplarının ise nadir görüldüğünü tespit edildi (Şekil 4.10).

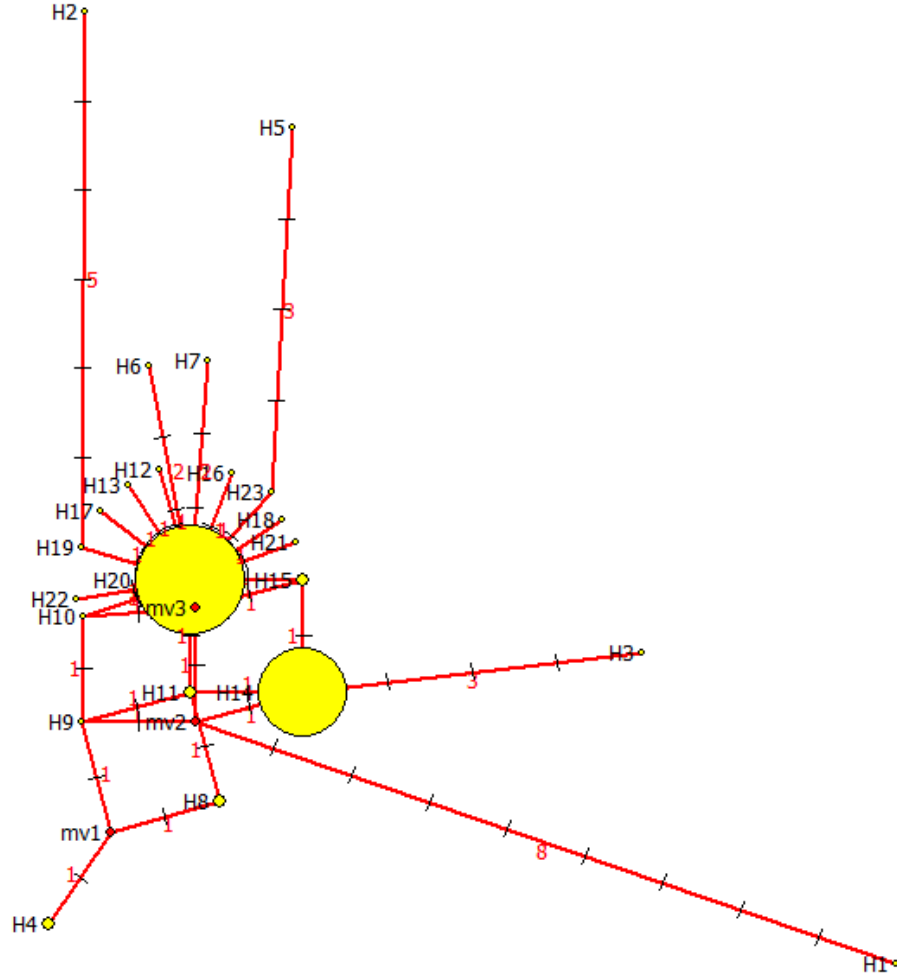
Yapılan incelemede nadir haplotiplerin en sık görüldüğü ülkelerin Hindistan ve Çin olduğu, Brezilya, Japonya, Madagaskar ve bu çalışmada incelenen izolatların izole popülasyonlar halinde bulunduğu belirlendi.

Asya'da Varroa haplotiplerinin biyocoğrafik özelliklerinin, konakları olan *A.cerana*'nın biyocoğrafik özellikleri ile ilişkili olduğu ve yeni konak varyantlarının akarda da farklı varyantların ortaya çıkmasına neden olabileceği belirtilmiştir. *A.cerana*'nın Hindistan'daki varyantlarının Sri Lanka'dakilerden farklı olduğu bilinmektedir (Anderson ve Trueman, 2000)

Hindistan ve Çin'de görülen nadir haplotip sayısının diğer ülkelerden fazla olmasının nedeninin bu ülkelerde konaklardaki varyasyonun fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Hindistan'da tespit edilen özgün haplotiplerin K1 haplogrubundan bir (H13, H16, H17, H18, H19, H21, H22, H23), iki (H6) ve dört mutasyonla (H5) farklılaştığı görüldü (Şekil 4.10).

Şebeke analizinde mt-COI geninin 423 bp'lik bölgesinin K1:9 (H10), K1:7 (H12), K1:14 (H15) varyantlarının K1 (H20) haplogrubundaki diğer varyantlardan ayrılabilceği ancak aynı grubun diğer üyelerini ayırmada yetersiz kaldığı anlaşıldı (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *V.destructor*'un mt-COI geninin 423 bp'lık bölgesine göre hazırlanan şebeke analiz sonucu. Dairelerin boyutu, her bir haplotipin frekansı ile orantılıdır. Haplotipleri ayıran mutasyonların sayısı, tire işaretleri ile gösterilmiştir. H: Haplotip

Varyant analizi için mt-CytB geninin 730 bp'lık dizileri kullanıldı. Bu çalışmada elde ettiğimiz Akdeniz bölgesi izolatlarından oluşturulan TURMDT ve TURAL adlı konsensus dizileri ile TURBD13 izolatına ait üç dizin daha önceki referans dizinler ile karşılaştırıldı (Navajas ve ark., 2010, Gajic ve ark.,2013; Lin ve ark., 2021) (Çizelge 4.5).

Yapılan ön incelemede mt-CytB geninin 706 bp'lık bölgesinin korunmuş, 24 bölgesinin değişken ve 18 bölgesinin parsimonik olarak bilgi verici özellikte olduğu görüldü. Ayrıca toplam mutasyon sayısının 24, tekil mutasyon sayısının 6 ve toplam varyant sayısının ise 19 olduğu tespit edildi.

İncelenen izolat sayılarının az olması nedeni ile nötralite testleri yapılmadı. Bu çalışmada mt-CytB geninin 730 bp'lık bölgesine göre incelediğimiz 119 izolat 14 nolu varyant ile uyumlu bulundu. Ancak bunun aslında bir varyant grubu olduğu ve içerisinde K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, K1:12, K1:14, K1:15 ve Sırbistan S1 varyantlarını barındırdığı görüldü (Navajas ve ark., 2010, Gajic ve ark.,2013; Lin ve ark., 2021). Şebeke analizinde de V14'ün diğer varyantlardan 1-9 mutasyonla ayrıldığı dikkati çekti (Şekil 4.11).

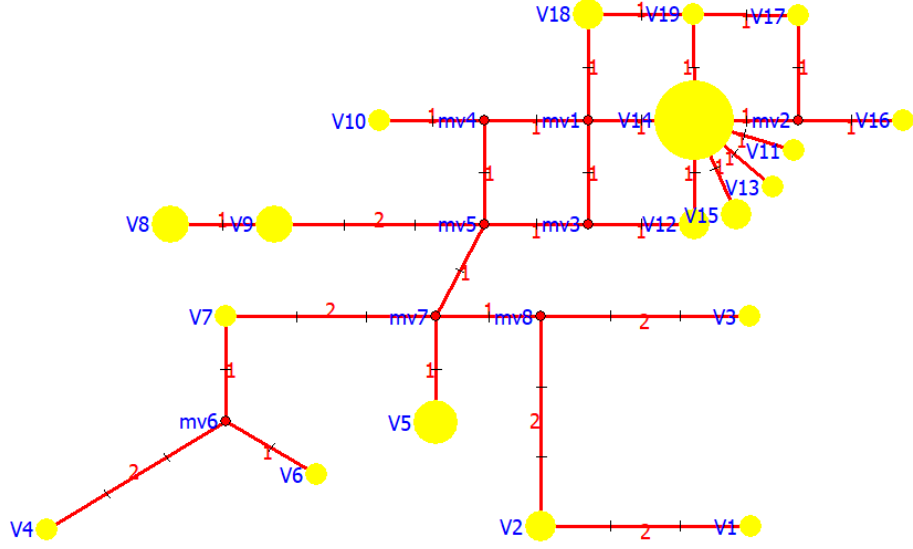
Akdeniz bölgesinde tespit edilen 15 nolu varyantın Antalya'dan elde edilen beş izolatu ve Sırbistan P1 varyantını barındırdığı dikkati çekti. Bu izolatların birbiri ile %100 uyumlu olması ve filogenetik ağaçta %96 dal destek değeri ile aynı kladta yer alması ülkemizde P1 varyantının bulunduğunu ortaya koydu (Şekil 4.9). Ülkemizde P1 varyantı olan toplam beş izolattan ikisinin Kepez'de iki farklı aralıkta, ikisinin Konyaaltı'nda bir aralıkta ve birinin de Döşemealtı'nda bir aralıkta tespit edildi. Ayrıca bu varyantın bulunduğu odaklarda 14 nolu varyantla birlikte enfestasyona neden olduğu dikkati çekti. Bu durum ise P1 varyantının yayılma potansiyeli olduğunu gösterdi. Şebeke analizinde bu varyantın V14 grubundan bir mutasyonla ayrıldığı görüldü (Şekil 4.11).

Burdur'dan elde edilen 13 No.lu varyantın tek bireyle temsil edildiği, filogenetik ağaçta tek bir klad oluşturduğu ve şebeke analizinde V14 grubunda bir mutasyonla ayrıldığı görüldü (Şekil 4.9, 4.11). Elde edilen veriler bunun K1 haplogrubunda bulunan yeni bir varyant olduğunu destekledi ve bu varyanta Burdur1 (B1) varyantı adı verildi.

Çin'de 14, Japonya'da iki, Tayland'da iki, Tayvan'da bir, Kore'de bir, Vietnam'da iki ve Sırbistan'da ise iki varyant tespit edildi. Bunlardan V2, V5, V8, V9, V12, V14 ve V18'in birer varyant grubu olduğu görüldü (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Varyant analizinde kullanılan referans dizinlerin orijinleri, GenBank erişim numaraları ve tespit edilen varyantların dağılımı

Ülke	Haplotipler	Varyant sayısı	Erişim numaraları
Çin	V1 (V1:2)	1	MN450563
	V4 (C4:1)	1	MN450565
	V5 (C1:1-3, V1:3)	3	GQ379103-04, MN450564
	V6 (C2:1)	1	GQ379105
	V7 (C3:1)	1	GQ379106
	V9 (J1:3-4, J2:1)	1	MN450566
	V10 (K2:1)	1	MN450563
	V11 (K1:5)	1	MN450552
	V12 (K1:10-11)	2	MN450557-58
	V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15, S1)	9	MN450549-51, MN450559, MN450561-62, GQ379095-98
	V16 (K1:13)	1	MN450560
	V17 (K1:7)	1	MN450554
	V18 (K1:8-9)	2	MN450555-56
	V19 (K1:6)	1	MN450553
Türkiye	V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15, S1)	119	OQ104612-42, OQ104643-47, OQ104649, OQ104651-54, OQ104656-60, OQ104662-72, OQ104674-736
	V15 (P1)	5	OQ104643, OQ104648, OQ104650, OQ104655, Q104661
	V13 (B1)	1	OQ104674
Japonya	V8 (J1:1-2, J1:6)	2	GQ379108, GQ379112
	V9 (J1:3-4, J2:1)	2	GQ379109-110
Tayland	V2 (J1:5, V1:4)	2	GQ379111, GQ379102
	V5 (V1:3)	1	GQ379101
Tayvan	V8 (J1:1-2, J1:6)	1	GQ379107
Kore	V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15)	1	GQ379094
Vietnam	V3 (V1:1)	1	GQ379099
	V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15)	1	GQ379096
Sırbistan	V15 (P1)	1	JX970945
	V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15, S1)	1	JX970945



Şekil 4.11. *V.destructor*'un mt-CytB geninin 730 bp'lık bölgesine göre hazırlanan şebeke analiz sonucu. Dairelerin boyutu, her bir varyantların frekansı ile orantılıdır. Varyantları ayıran mutasyonların sayısı, tire işaretleri ile gösterilmiştir. V: Varyant



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ülkemizde *V.destructor*'un haplotiplerini belirlemeye yönelik çalışma sayısı oldukça azdır ve büyük bir kısmı lokal, sınırlı sayıda örnekle ve haplogrup düzeyinde yapılmıştır (Ayan ve ark., 2017; Ayan ve Aldemir, 2018; Koç ve ark., 2021; Utuk ve ark., 2022; Warriort ve ark., 2004)

Bu çalışma, ülkemizde haplogrup ve varyant analizine yönelik en geniş kapsamlı çalışmadır. Çalışma sonucunda Türkiye'de K1 haplogrubunun üç farklı varyantı tespit edildi. Bunlardan V14'ün bir varyant grubu olduğu ve içerisinde K1:1, K1:2, K1:3, K1:4, K1:12, K1:14, K1:15 ve Sırbistan S1 varyantlarını barındırdığı görüldü. Sırbistan P1 varyantı (V15) ülkemizde ilk defa tespit edildi. Ayrıca Burdur ilimizde tespit ettiğimiz bir varyantın (V13) GenBank'a veri girişi yapılan izolatların hepsinden farklı ve özgün bir varyant olduğu anlaşıldı ve buna Burdur 1 (K1:B1) adı verildi.

Bu çalışma sonucunda mt-COI geninin 458 bp'lik bölgesinin Varroa cinsi içerisindeki dört türün ve *V.destructor*'un bazı haplogruplarının (C1, C3, N1, V1, S1, J1, K1, K2) ayırımında yeterli olduğu ancak varyant analizi için uygun olmadığı görüldü. Benzer şekilde mt-CytB geninin 730 bp'lik bölgesinin de *V.destructor*'un V1:1, V1:2, V1:3, C2:1, C3:1, C4:1, K1:5, K1:13, K1:7, K1:6, P1, K1:B1, K1:P1 ve K2:1 varyantlarının ayırımına olanak sağlarken, V2 (J1:5, V1:4), V5 (C1:1-3, V1:3), V8 (J1:1-2, J1:6), V9 (J1:3-4, J2:1), V12 (K1:10-11), V14 (K1:1-4, K1:12, K1:14-15, S1) ve V18 (K1:8-9) gruplarındaki varyantların ayırımında yetersiz kaldığı tespit edildi.

Çalışmamızda incelediğimiz izolatların mt-COI geni yönünden monomorfik ve mt-CytB geni yönünden haplotip sayısının üç ve haplotip çeşitlilik değerinin (0,09277) çok düşük olduğu dikkati çekti. Bu durumun akarın soy içi çiftleşme eğiliminin yüksek olması, konak değişimi sırasında ortaya çıkan ilave popülasyon darboğazı etkisi ve akar yeni bölgelere yayıldıktan sonra ortaya çıkan kurucu etkisi sonucunda meydana geldiği kanaatine varıldı (Dynes ve ark., 2017; Navajas ve ark., 2010; Solignac ve ark., 2005).

Günümüzde *V.destructor*'daki genotip farklılıklarının etkenin patojenitesi üzerinde, konak tür ve alt türlerindeki genetik çeşitliliğin ise yeni Varroa varyantlarının ortaya çıkmasında ve akarın fertilitesi üzerinde etkili olabildiği bilinmektedir (Anderson ve Fuchs, 1998; Anderson ve Trueman, 2000; Garrido ve ark., 2003).

Patojenitesi yüksek haplotipler farklı coğrafik bölgelerde diğer haplotiplerin yerini alabilmekte, bazı türler ve haplotipler arasında hibridizasyonlar şekillenebilmektedir. Arı kolonilerinde farklı Varroa türleri veya bu türlerin farklı haplotiplerinin neden olduğu miks enfeksiyonlar hibridizasyon ve yeni Varroa türlerinin ortaya çıkmasına zemin hazırlayabilmektedir (Dietemann ve ark., 2019; Pinto ve ark., 2022; Strapazzon ve ark., 2009).

Geçmişte *V.jacobsoni* ve *V.destructor*'un *A.cerana*'da sadece erkek yavru gözlerinde üreyebildiğine, *V.jacobsoni*'nin *A.mellifera*'da üreyemediğine, J haplotipinin yaşam alanının

Japonya, Tayland, Kuzey ve Güney Amerika ile sınırlı olduğuna ayrıca türlerin üreme bakımından izole olduğuna inanılmaktaydı (Anderson ve Trueman, 2000).

Ancak geçen 23 yıllık süre içerisinde yapılan çalışmalar *V.jacobsoni*'nin yavaş yavaş *A.mellifera*'ya adapte olmaya başladığını, *V.destructor*'un yeni tespit edilen bazı varyantlarının Asya'da *A.mellifera*'da başarılı bir şekilde kolonize olduğunu ve J haplogrubunun orijinal yayılım alanından çıktığı ve dünyaya yayılma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur (Muñoz ve ark., 2008; Navajas ve ark; 2010; Roberts ve ark., 2015; Solignac ve ark., 2005; Strapazzon ve ark., 2009; Warrit ve ark., 2006).

Elimizdeki yeni veriler ışığında ortaya çıkması muhtemel yeni haplotipler ve türler dünya arıcılığı için yeni bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle güncel verileri takip ederek muhtemel tehditleri elemine etmek ve ülkemiz arıcılığını korumak için arı nakillerinin kontrol altında tutulması, daha geniş coğrafik alanlarda periyodik olarak örneklem yapılması ve akarların genetik profillerinin incelenmesi gerekmektedir. Genetik analizlerle eş zamanlı olarak tespit edilen genotiplerin konaklarındaki genetik varyasyonlar ve akarların bu konaklardaki üreme potansiyelleri değerlendirilmeli ve potansiyel tehdit oluşturabilecek haplotip ve varyantlar takip edilmelidir.

Bu incelemelerde derin seviyede varyant analizi yapabilmek için mt-COI ve mt-CytB genlerinin kısmi dizilerine ilave olarak diğer mitokondrial gen bölgelerinin (CO-II, CO-III, Atp6, ND4, ND5, ND4L) incelenmesi ve birlikte değerlendirilmesi, ayrıca sadece maternal kalıtımı değerlendirmemize yardımcı olan haplotip analizleri dışında paternal kalıtımı ve muhtemel hibridizasyon olaylarını incelemeye olanak sağlayan mikrosatellit analizlerinin de yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akinwande, K. L., Badejo, M. A., Ogbogu, S. S., 2012. Incidence of the Korean haplotype of *Varroa destructor* in southwest Nigeria. *Journal of Apicultural Research*, 51(4): 369-370.
- Amdam, G. V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A., Omholt, S.W., 2004. Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering? *Journal of Economic Entomology*, 97 (3): 741-747.
- Anderson, D. L., Fuchs, S., 1998. Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 37:2, 69-78.
- Anderson, D., 2000. Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 31: 281-292.
- Anderson, D. L., Trueman, J.W.H., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24:165-189.
- Andino, G. K., Gribskov, M., Anderson, D.L., Evans, J. D., Hunt, G.J., 2016. Differential gene expression in *Varroa jacobsoni* mites following a host shift to European honey bees (*Apis mellifera*). *BMC Genomics*, 17:926.
- Anonim, 2019: Hayvan Hastalıkları ile Mücadele ve Hayvan Hareketleri Kontrolü Programı, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü.
- Antúnez, K., Invernizzi, C., Mendoza, Y., Van-Engelsdorp, D., and Zunino, P., 2017. Honeybee colony losses in Uruguay during 2013–2014. *Apidologie*, 48: 364-370.
- Arega, A., 2020. The Prevalence of Honeybee Diseases and varroa mite in Selected Districts of East Wollega Zone, Oromia National Regional State, Ethiopia. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 7(4): 46-59.
- Aumeier, P., Rosenkranz, P., Francke, W., 2002. Cuticular volatiles, attractivity of worker larvae and invasion of brood cells by Varroa mites. A comparison of Africanized and European honey bees. *Chemoecology*, 12: 65-75.
- Ayan, A., Aldemir, O.S., 2018. Genetic characterization of *Varroa destructor* (Family: Varroidae) prevalent in honeybees (*Apis mellifera*) in the province of Aydın in Turkey. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1):26-32.
- Ayan, A., Aldemir, O.S., Selamoglu, Z., 2017. Analysis of COI gene region of *Varroa destructor* in honeybees (*Apis mellifera*) in province of Siirt. *Turkish Journal of Veterinary Research*, 1(1):20-23.
- Aydın, A., 2012. Hakkâri yöresinde varroasis'in yaygınlığı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(3), 129-130.

- Aydın, L., Çakmak, İ., Güleğen, E., Korkut, M., 2003. Güney Marmara Bölgesi Arı Hastalıkları ve Zararlıları Anket Sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5:71-78.
- Bahrami, M., Mohammadzadeh, D., Emami, S. J., Rabiee, M. H., Bokaie, S., 2018. A Survey on Prevalence and Risk Factors of Varroasis in West Azerbaijan, Iran. *International Journal of Acarology*, 44: 185-188.
- Beaurepaire, A. L., Ellis, J. D., Krieger, K. J., Moritz, R. F. A., 2019. Association of *Varroa destructor* females in multiply infested cells of the honeybee *Apis mellifera*. *Insect Science*, 26: 128-134.
- Beetsma, J., Boot, W. J., Calis, J., 1999. Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud.: from bees into brood cells. *Apidologie*, 30: 125-140.
- Bhatta, C. P., Reddy, M.S., Smith, D.R., 2019. Scientific note: *Varroa jacobsoni* and *V.destructor* on hill and plains strains of *Apis cerana* in southern India. *Apidologie*, 51:391-394.
- Biasiolo, A., 1992. Lack of allozyme variability among Varroa mite populations. *Experimental and Applied Acarology*, 16: 287-294.
- Boecking, O., Bienefeld, K., Drescher, W., 2000. Heritability of the Varroa-specific hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117: 417-424.
- Boecking, O., Genersch, E., 2008. Varroosis-the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 3: 221-228.
- Boot, B., Tolasch, T., Steidle, J. L. M., Rosenkranz, P., 2013. The mating behavior of *Varroa destructor* triggered by a female sex pheromone. Part 2: identification and dose-dependent effects of components of the Varroa sex pheromone. *Apidologie*, 44: 481-490.
- Boot, W. J., Calis, J. N., Beetsma, J., 1992. Differential periods of Varroa mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Experimental and Applied Acarology*, 16: 295-301.
- Boot, W. J., Schoenmaker, J., Calis, J. N. M., Beetsma, J., 1995. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 26: 109-118.
- Boot, W. J., Tan, N.Q., Dien, P.C., Huan, L.V., Dung, N.V., Long, L.T., Beetsma, J., 1996. Reproductive success of *Varroa jacobsoni* in brood of its original host, *Apis cerana*, in comparison to that of its new host, *Apis mellifera*. *Bulletin of Entomological Research*, 87: 119-126.
- Brodtschneider, R., Gray, A., Adjlane, N., Ballis, A., Brusbardis, V., Charrière, J. D., Chlebo, R., Coffey, M. F., Dahle, B., de Graaf, D. C., 2018. Multi country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey. *Journal of Apiculture Research*, 57: 452-457.
- Burucu, V., 2018. Ürün raporu, Arıcılık 2017. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara, 37s.

- Calderone, N. W., and Kuenen, L. P. S., 2003. Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping. *Apidologie*, 34: 543-552.
- Calderone, N. W., Kuenen, L.P.S., 2001. Effects of western honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony, cell type, and larval sex on host acquisition by female *Varroa destructor*(Acari: Varroidae). *Journal of Economic Entomology*, 94: 1022-1030.
- Carneiro, F. E., Torres, R.R., Strapazzon, R., Ramirez, S.A., Guerra, J.C.V., Koling, D.F., Moretta, G., 2007. Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor*(Anderson and Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Brazil. *Neotropical Entomology*, 36: 949-952.
- Chauzat, M. P., Jacques, A., EPILOBEE consortium, Laurent, M., Bougeard, S., Hendriks, P., Ribiere-Chabert, M., 2016. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance. *Apidologie* 47, 348–378.
- Coffey, M. F., Barth, S., Hayes, K., Breen, J., 2013. The health status of Irish honeybee colonies in 2006. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 52: 39-51.
- Cook, D. C., Thomas, M. B., Cunningham, S. A., Anderson, D. L., De Barro, P. J., 2007. Predicting the economic impact of an invasive species on an ecosystem service. *Ecological Applications*, 17(6): 1832-1840.
- Crane, E., 1984. Living with Varroa in Japan. *Bee World*, 65 (4):149-150.
- Cremer, S., Armitage, S. A., Schmid-Hempel, P., 2007. Social immunity. *Current Biology*, 17(16): R693-702.
- Cremer, S., Sixt, M., 2009. Analogies in the evolution of individual and social immunity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364, 129-142.
- Criscione, D. C., Poulin, R., Blouin, M. S., 2005. Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes. *Molecular Ecology*, 14: 2247-2225.
- Çakmak, İ., Aydın, L., Gulegen, E., Wells, H., 2003. Varroa (*Varroa destructor*) and tracheal mite (*Acarapis woodi*) incidence in the Republic of Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 42(4): 57-60.
- De Guzman, L. I., Rinderer, T. E., Stelzer, J. A., 1997. DNA Evidence of the Origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochemical Genetics*, 35(9-10): 327-335.
- De Guzman, L. I., Rinderer, T. E., Stelzer, J. A., 1999. Occurrence of two genotypes of *Varroa jacobsoni* Oud. in North America. *Apidologie*, Springer Verlag, 30 (1): 31-36.
- De Guzman, L., Rinderer, T. E., Stelzer, J. A., Anderson, D., 1998. Congruence of RAPD and mitochondrial DNA markers in assessing *Varroa jacobsoni* genotypes. *Journal of Apicultural Research*, 37(1): 49-51.

- De Guzman, L. I., Delfinado-Baker, M., 1996. A new species of *Varroa* (Acari: Varroidae) associated with *Apis koschevnikovi* (Apidae: Hymenoptera) in Borneo. *International Journal of Acarology*, 22: 23-27.
- De Jong, D., De Jong, P. H., Gonçalves, L.S., 1982a. Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *V. jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, 21:165-216.
- De Jong, D., Morse, R. A., Eickwort, G.C., 1982b. Mite pests of honeybees. *Annual Review of Entomology*, 27(1):229-252.
- De Meeûs, T., McCoy, K., Prugnolle, F., Chevillon, C., Durand, P., Hurtrez-Boussès, S., Renaud, F., 2007. Population genetics and molecular epidemiology or how to 'débusquer la bête'. *Infection, Genetics and Evolution*, 7: 308-332.
- De Miranda J., Genersch E., 2010. Deformed wing virus. *J. Invertebr. Pathol.* S48–S61
- De Miranda, J., Cordon, G., Budge, G., 2010. The Acute Paralysis virus–Kashmere bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology*, Suppl : S30-47.
- De Ruijter, A., Kaas, J. P., 1983. The anatomy of the *Varroa* mite. In: Cavalloro, R. (Ed.), *Varroa jacobsoni* Oud affecting honey bees: Present status and needs. A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 45-47.
- DeGrandi-Hoffman, G., Ahumada, F., Zazueta, V., Chambers, M., Hidalgo, G., deJong, E. W., 2016. Population growth of *Varroa destructor*(Acari: Varroidae) in honey bee colonies is affected by the number of foragers with mites. *Experimental and Applied Acarology*, 69: 21-34.
- Del Piccolo, F., Nazzi, F., Della Vedova, G., Milani, N., 2010. Selection of *Apis mellifera* workers by the parasitic mite *Varroa destructor* using host cuticular hydrocarbons. *Parasitology*, 137: 967-973.
- Delaplane, K. S., Hood, W. M., 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie*, 30: 383-395.
- Delfinado-Baker, M., Aggarwal, K., 1987. A new *Varroa* (Acari: Varroidae) from the nest of *Apis cerana* (Apidae). *International Journal of Acarology*, 13: 233-237.
- Delfinado-Baker, M. D., 1988. Variability and biotypes of *Varroa jacobsoni* Oudemans. *American Bee Journal*, 128: 567-568.
- Delfinado-Baker, M. D., Houck, M. A., 1989. Geographic variation in *Varroa jacobsoni* (Acari, Varroidae): application of multivariate morphometric techniques. *Apidologie*, 20(4): 345-358.
- Depotter, J. R. L., Seidl, M. F., Wood, T. A. Thomma, B. P. H. J., 2016. Interspecific hybridization impacts host range and pathogenicity of filamentous microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 32: 7-13.

- Dietemann V, Beaufort A, Page P, Yañez O, Buawangpong N, Chantawannakul P, Neumann P
2019. Population genetics of ectoparasitic mites *Varroa* spp. in eastern and western honey
bees. *Parasitology*, 146: 1429-1439.
- Doğanay, A., Aydın, L., 2017. Bal Arısı, Yetiştiriciliği, Ürünleri Hastalıkları. 1. Baskı. Dora Basım
Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Bursa, 470s.
- Donzé, G., Guerin, P. M., 1994. Behavioral attributes and parental care of *Varroa* mites parasitizing
honeybee brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 34: 305-319.
- Donzé, G., Herrmann, M., Bachofen, B., Guerin, P. M., 1996. Effect of mating frequency and
brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa*
jacobsoni. *Ecological Entomology*, 21: 17-26.
- Duay, P., de Jong, D., Engels, W., 2002. Decreased flight performance and sperm production in
drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructormites* during
pupal development. *Genet. Mol. Res.* 1, 227–232.
- Duay, P., de Jong, D., Engels, W., 2003. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply
infested by *Varroa destructormites*. *Apidologie* 34, 61–65.
- Dukku, U. H., Techer, M., Vincent, S. N., 2019. A country-wide survey of *Varroa destructor*, an
ectoparasitic mite of honeybees, in Nigeria: a preliminary report. *Journal of Apicultural
Research*, 59(1): 59-62.
- Dynes, T. L., De Roode, J. C., Lyons, J. I., Berry, J. A., Delaplane, K. S., Brosi, B. J., 2017. Fine
scale population genetic structure of *Varroa destructor*, an ectoparasitic mite of the honey
bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 48: 93-101.
- Emsen, B., Dodoglu, A., Genç, F., 2010. Bal Arısı (*Apis mellifera*) kolonilerinde *Varroa*
destructor ile mücadelede organik bileşikler ile bu ürünlerin ekonomik açıdan
değerlendirilmesi. *Mellifera*, 10 (30): 32-36.
- Evans, E., Seepersad, G., Iton, A., Churaman, J., Felix, N., Misir, V., Moonsammy, S., 2014.
Socioeconomic assessment of the impact of an invasive alien species on the beekeeping
industry in Trinidad and Tobago: The case of *Varroa jacobsoni* or Varroa Mite. (N.
Ramnanan editör). *Economic impact of IAS in the Caribbean case studies*, CABI, West
Indies, s. 80-86.
- Fahey, R., Rennich, K., Nessa, A., Swan, N., Steinhauer, N., Eversole, H., Reynolds, D., Evans, J.,
vanEngelsdorp, D., Rose, R., 2022a. 2015-2016 national honey bee disease survey report.
[https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/honey_bees/downloads/2015-
2016-National-Survey-Report.pdf](https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/honey_bees/downloads/2015-2016-National-Survey-Report.pdf) [Son erişim tarihi: 09.12.2022].
- Fahey, R., Rennich, K., Nessa, A., Swan, N., Steinhauer, N., Eversole, H., Reynolds, D., Evans, J.,
vanEngelsdorp, D., Rose, R., 2022b. 2016-2017 National honey bee disease survey report.
[https://ushoneybeehealthsurvey.info/wp-content/uploads/sites/3/2020/04/APHIS-2016-
2017-Summary-Report-Final.pdf](https://ushoneybeehealthsurvey.info/wp-content/uploads/sites/3/2020/04/APHIS-2016-2017-Summary-Report-Final.pdf) [Son erişim tarihi: 09.12.2022].

- Fahey, R., Rennich, K., Nessa, A., Swan, N., Steinhauer, N., Eversole, H., Reynolds, D., Ryan, J., Rose, R., Evans, J., vanEngelsdorp, D., 2022c. 2017-2018 APHIS national honey bee disease survey summary report. <https://ushoneybeehealthsurvey.info/wp-content/uploads/sites/3/2020/04/2017-2018-Summary-Report.pdf> [Son erişim tarihi: 09.12.2022].
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Journal of Molecular Evolution*, 39:783-791.
- Fries, I., Camazine, S., Sneyd, J., 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World*, 75: 5-28.
- Fries, I., Hansen, H., Imdorf, A., Rosenkranz, P., 2003. Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie*, 34: 389-398.
- Fuchs, S., 1990. Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie*, 21: 193-199.
- Gajić, B., Muñoz, I., De la Rúa, P., Stevanović, J., Lakić, N., Kulišić, Z., Stanimirović, Z., 2019. Coexistence of genetically different *Varroa destructor* in *Apis mellifera* colonies. *Experimental and Applied Acarology*, 78: 315–326.
- Gajić, B., Radulovic, Z., Stevanovic, J., Kulisic, Z., Vucicevic, M., Simeunovic, P., Stanimirovic, Z., 2013. Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia, based on mtDNA analysis. *Experimental and Applied Acarology*, 61:97–105.
- Gajić, B., Stevanovic, J., Radulovic, Z., Kulisic, Z., Vejnovic, B., Glavinic, U., Stanimirovic, Z., 2016. Haplotype identification and detection of mitochondrial DNA heteroplasmy in *Varroa destructor* mites using ARMS and PZR–RFLP methods. *Experimental & Applied Acarology*, 70(3): 287-297.
- Galindo-Cardona, A., Scannapieco, A. C., Russo, R., Escalante, K., Geria, M., Lepori, N., Ayup, M. M., Muntaabski, I., Liendo, M. C., Landi, L., Giray, T., Monmany-Garzia, A., 2020. *Varroa destructor* parasitism and genetic variability at honey bee (*Apis mellifera*) drone congregation areas and their associations with environmental variables in Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8: 1-14.
- Garrido, C. 2004. Reproduktionssteuerung bei der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* Anderson & Trueman (ehemals *Varroa jacobsoni*). Ph.D. Thesis at the Faculty of Biology at the University of Hohenheim, 82 pp.
- Garrido, C., Rosenkranz, P., Paxton, R. J., Gonçalves, L. S., 2003. Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil. *Apidologie*, 34: 535-541.
- Goetz, B., Koeniger, N., 1993. The distance between larva and cell opening triggers broodcell invasion by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 24: 67-72.

- Gray, A., Adjlane, N., Arab, A., Ballis, A., Brusbardis, V., Charrière, J. D., Chlebo, R., Coffey, M. F., Cornelissen, B., de Costa, C. A., 2020. Honey bee colony winter loss rates for 35 countries participating in the COLOSS survey for winter 2018–2019, and the effects of a new queen on the risk of colony winter loss. *Journal of Apiculture Research*, 59: 744-751.
- Gregorc, A., Domingues, C., Tutun, H., Sevin, S., 2022. What has been done in the fight against *Varroa destructor*: from the past to the present. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 69: 229-240.
- Harizanis, P.C., 1991. Infestation of queen cells by the mite *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 22: 533-538.
- Häußermann, C. K., Giacobino, A., Munz, R., Ziegelmann, B., Palacio, M. A., Rosenkranz, P., 2020. Reproductive parameters of female *Varroa destructor* and the impact of mating in worker brood of *Apis mellifera*. *Apidologie*. 51: 1-14.
- Häußermann, C. K., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., 2018. Spermatozoa production in male *Varroa destructor* and its impact on reproduction in worker brood of *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology*, 74: 43–54.
- Hepburn, H.R., Radloff, S.E., 1998. *Honeybees of Africa*. Springer, Berlin.
- Hristov, P., Shumkova, R., Palova, N., Neov, B., 2020. Factors Associated with Honeybee Colony Losses: A Mini-Review. *Veterinary Sciences*, 7(4):166.
- Hung, K.L., Kingston, J.M., Albrecht, M., Holway, D.A., Kon, J.R., 2018. The worldwide importance of honeybees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285 (20172140): 1-8.
- Hussain, R., Farooq, S., Kalsoom, M., Ur Rehman, H., 2018. Prevalence of *Varroa destructor* on honeybees hives in district Karak, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1): 169-171.
- Ifantidis, M. D., 1988. Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie*, 19: 387-396.
- Ifantidis, M.D., 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honey bee brood cells. *Journal of Apicultural Research*, 22: 200-206.
- Ifantidis, M.D., 1990. Re-examination of some parameters concerning reproduction of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. In: *Proceedings of the International Symposium on Recent Research on Bee Pathology*, Gent, Belgium, pp. 20-26.
- Kabore, B. A., Yougbaré, M., Dahourou, L. D., Dera, K. M., Sawadogo, S. E., Traore, A., Belem, A. M. G., 2022. Preliminary study on the prevalence of *Varroa* spp. in honeybee colonies in the village of Mondon (Burkina Faso). *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 20(2): 141-144.

- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K.F., von Haeseler, A., Jermin, L.S., 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14: 587-589.
- Kanbar, G., Engels, W., 2003. Ultrastructure and bacterial infection of wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae punctured by Varroa mites. *Parasitology Research*, 90 (5): 349-354.
- Kather, R., Drijfhout, F.P., Martin, S.J., 2015. Evidence for colony-specific differences in chemical mimicry in the parasitic mite *Varroa destructor*. *Chemoecology*, 25: 215-222.
- Kekeçoğlu, M., Göç Rasgele, P., Acar, F., Kaya, S. T., 2013. Düzce ilinde bulunan arıcılık işletmelerinde görülen koloni kayıplarının, bal arısı hastalık ve zararlılarının ve mücadele yöntemlerinin araştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(3): 99-108.
- Kelomey, A. E., Paraiso, A., Sina, H., Legout, H., Garnery, L., Baba-Moussa, L., 2017. Genetic characterization of the honeybee ectoparasitic mite *Varroa destructor* from Benin (West Africa) using mitochondrial and microsatellite markers. *Experimental and Applied Acarology*, 72(1):61-67.
- Kesik, H. K., Kutlu, M. A., Günyaktı Kılınç, Ş., Gül, A., Şimşek, S., 2022. Bingöl ili bal arılarında varroasis'in yaygınlığı. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 9(1): 26-32.
- Khezri, M., Moharami, M., 2017. The Incidence of *Acarapis woodi* and *Varroa destructor* in Kurdistan Apiaries, Iran. *Animal and Veterinary Sciences*, 5(6): 97-101.
- Kirchner, W.H., 1993. Lichtsinn und vibrationssinn der Varroa-milbe. *Apidologie*, 24: 490-491.
- Koç, N., İnak, E., Jonckheere, W., Van Leeuwen, T., 2021. Genetic analysis and screening of pyrethroid resistance mutations in *Varroa destructor* populations from Turkey. *Experimental and Applied Acarology*, 84:433-444.
- Kolar, C.S., Lodge, D.M., 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 199-204.
- Koleoglu, G., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., Hamiduzzaman, M. M., Guzman-Novoa, E., 2018. *Varroa destructor* parasitism reduces hemocyte concentrations and prophenol oxidase gene expression in bees from two populations. *Parasitology Research*, 117: 1175-1183.
- Kralj, J., Brockmann, A., Fuchs, S., Tautz, J., 2007. The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L. *Journal of comparative physiology. A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology*, 193 (3): 363-370.
- Kralj, J., Fuchs, S., 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, 37 (5): 577-587.
- Kraus, B., Hunt, G., 1995. Differentiation of *Varroa jacobsoni* Oud populations by random amplification of polymorphic DNA (RAPD). *Apidologie*, 26: 283-290.

- Kraus, B., Velthuis, H.H.W., 1997. High humidity in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brood nest limits reproduction of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Naturwissenschaften*, 84:217-18.
- Kuenen, L. P. S., Calderone, N. W., 1997. Transfers of Varroa mites from newly emerged bees: preferences for age and function specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior*, 10: 213-228.
- Kulhanek, K., Steinhauer, N., Rennich, K., Caron, D. M., Sagili, R. R., Pettis, J. S., Ellis, J. D., Wilson, M. E., Wilkes, J. T., Tarpy, D. R., 2017. A national survey of managed honey bee 2015-2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apiculture Research*, 56: 328-340.
- Kumschick, S., Bacher, S., Evans, T., Markova, Z., Pergl, J., Pysek, P., Vaes-Petignat, S., van der Veer, G., Vila, M., Nentwig, W., 2015. Comparing impacts of alien plants and animals in Europe using a standard scoring system. *Journal of Applied Ecology*, 52: 552-561.
- Kurze, C., Routtu, J., Moritz, R. F. A., 2016. Parasite resistance and tolerance in honeybees at the individual and social level. *Zoology*, 119: 290-297.
- Le Conte, Y., Arnold, G., 1987. Influence de l'âge des abeilles *Apis mellifera* L et de la chaleur sur le comportement de *Varroa jacobsoni* (Oudemans). *Apidologie*, 18: 305-320.
- Le Conte, Y., Arnold, G., 1988. Etude du thermopreferendum de *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 19: 155-164.
- Le Conte, Y., De Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rousselle, J.-C., Becard, J.-M., 2007. Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie*, 38: 566-572.
- Le Conte, Y., Huang, Z.Y., Roux, M., Zeng, Z.J., Christides, J.P., Bagnères, A.G., 2015. *Varroa destructor* changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts. *Biol. Lett.* 11, 20150233.
- Li, W., Wang, C., Huang, Z.Y., Chen, Y., Han, R., 2019. Reproduction of distinct *Varroa destructor* genotypes on honey bee worker brood. *Insects*, 10: 372.
- Liebig, G., 2001. How many Varroa mites can be tolerated by a honey bee colony? *Apidologie*, 32: 482-484.
- Lin, Z., Qin, Y., Page, P., Wang, S., Li, L., Wen, Z., Hu, F., Neumann, P., Zheng, H., Dietemann, V., 2018. Reproduction of parasitic mites *Varroa destructor* in original and new honeybee hosts. *Ecology and Evolution*, 8: 2135-2145.
- Lin, Z., Wang, S., Neumann, P., Chen, G., Page, P., Li, L., Hu, F., Zheng, H., Dietemann, V., 2021. Population genetics and host specificity of *Varroa destructor* mites infesting eastern and western honeybees. *Journal of Pest Science*, 94: 1487-1504.
- Locke, B., Fries, I., 2011. Characteristics of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Sweden surviving *Varroa destructor* infestation. *Apidologie*, 42: 533-542.
- Locke, B., Le Conte, Y., Crauser, D., Fries, I., 2012. Host adaptations reduce the reproductive success of *Varroa destructor* in two distinct European honey bee populations. *Ecology and Evolution*, 2:1144-1150.

- Longdon, B., Brockhurst, M.A., Russell, C.A., Welch, J.J. Jiggins, F.M., 2014. The evolution and genetics of virus host shifts. *PLoS Pathogen*, 10: e1004395.
- Maggi, M., Medici, S., Quintana, S., Ruffinengo, S., Marca´ngeli, J., Gimenez Martinez, P., Fuselli, S., Eguaras, M., 2012. Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina. *Experimental and Applied Acarology*, 56:309–318.
- Martin, S., 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling*, 109: 267-281.
- Martin, S.J., 1994. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 18:87-100.
- Martin, S.J., 1995. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 19:199-210.
- Moritz, R.F.A., Fuchs, S., 1998. Organization of honeybee colonies: characteristics and consequences of a superorganism concept. *Apidologie*, 29: 7-21.
- Moritz, R.F.A., Hänel, H., 1984. Restricted development of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. in the Cape honey bee, *Apis mellifera capensis* Esch. *Journal of Applied Entomology*, 97: 91-95.
- Mortensen, A. N., Jack, C. J., Ellis. J. D., 2018. The discovery of *Varroa destructor* on drone honey bees, *Apis mellifera*, at drone congregation areas. *Parasitology Research*. 117: 3337-3339.
- Mõtus, K., Raie, A., Orro, T., Chauzat, M. P., Viltrop, A., 2016. Epidemiology, risk factors and varroa mite control in the Estonian honeybee population, *Journal of Apicultural Research*, 55(5), 396-412.
- Muli, E., Patch, H., Frazier, M., Frazier, J., Torto, B., Baumgarten, T., Kilonzo, J., Nganga Kimani, J., Mumoki, F., Masiga, D., Tumlinson, J., Grozinger, C., 2014. Evaluation of the distribution and impacts of parasites, pathogens, and pesticides on honey bee (*Apis mellifera*) populations in East Africa. *PLoS ONE* 9(4): e94459.
- Mumbi, C. T., Mwakatobe, A. R., Mpinga, I. H., Richard, A., Machumu, R., 2014. Parasitic mite, *Varroa* species (Parasitiformes: Varroidae) infesting the colonies of African honeybees, *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae) in Tanzania. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(3): 188-196.
- Muñoz, I., Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., Meana, A., Higes, M., De la Rúa, P., 2008. Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. *J. Apicult. Res.* 47 (4), 310–313.
- Muntaabski, I., Russo, R. M., Liendo, M. C., Palacio, M. A., Cladera, J. L., Lanzavecchia, S. B., Scannapieco, A. C., 2020. Genetic variation and heteroplasmy of *Varroa destructor* inferred from ND4 mtDNA sequences. *Parasitology Research*, 119: 411-421.

- Muz, M. N., Solmaz, H., Yaman, M., Karakavuk, M., 2012. Kış salkımı erken bozulan arı kolonilerinde paraziter ve bakteriyel patojenler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 23 (3), 147-150.
- Mwangi Muhoro, A., 2017. To evaluate the occurrence, prevalence and distribution of Varroa mite (*Varroa destructor*) and associated insect pests of honey bee (*Apis mellifera*) in Uasin Gishu County, Kenya. Degree of master of entomology in the school of science University of Eldoret, Kenya, 84s.
- Namayanja, D., Akol, A. M., Kugonza, D. R., 2016. Prevalence of Varroa mite infestations among honey bee colonies in Uganda. fifth RUFORUM biennial regional conference, Cape Town, South Africa, RUFORUM Working Document Series (ISSN 1607-9345), 14 (2), 459- 465.
- Nannelli, R., 1985. Ulteriori conoscenze sulla morfologia e lo sviluppo, della larva e delle ninfe di *Varroa jacobsoni* Oud (Mesostigmata: Varroidae). Estratto da REDIA, vol. LXVII, pp. 287–303.
- Nation, J. L., Sanford, M. T., Milne, K., 1992. Cuticular hydrocarbons from *Varroa jacobsoni* Experimental and Applied Acarology, 16: 331-344.
- Navajas, M., Anderson, D. L., De Guzman, L. I., Huang, Z. Y., Clement, J., Zhou, T., Le Conte, Y., 2010. New Asian types of *Varroa destructor*: a potential new threat for world apiculture. Apidologie, 41: 181-193.
- Navajas, M., Le Conte, Y., Solignac, M., Cros-Arteil, S., Cornuet, J. M., 2002. The complete sequence of the mitochondrial genome of the honeybee ectoparasite mite *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata). Molecular Biology and Evolution, 19(12), 2313-2317.
- Nazzi, F., Bortolomeazzi, R., dela Vedova, G., del Piccolo, F., Annoscia, D., Milani, N., 2009. Octanoic acid confers to royal jelly Varroa-repellent properties. Naturwissenschaften, 96: 309-314.
- Nazzi, F., Le Conte, Y., 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. Annual Review of Entomology, 61:1, 417-432.
- NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Son erişim tarihi: 25.12.2022].
- Nega, T., Yayeh, M., Mitiku, T., Birhan, M., Bogale, B., Chanie, M., Kinubeh, A., 2019. Prevalence of Parasitic Honeybee Diseases, Pests and Predators in North Gondar Zone. Online Journal of Animal and Feed Research, 9(5): 198-205.
- Nguyen L.T., Schmidt H.A., Von Haeseler A., Minh B.Q., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 32:268-274.
- Octaviano-Salvadé, C. E., Leher, C. E., De Jong, D., Pinto, P. M., Delgado-Cañedo, A., Boldo, J. T., 2017. A scientific note on genetic profile of the mite *Varroa destructor* infesting apiaries in Rio Grande do Sul state, Brazil. Apidologie, 48: 621-622.

- Ogihara, M. H., Yoshiyama, M., Morimoto, N., Kimura, K., 2020. Dominant honeybee colony infestation by *Varroa destructor*(Acari: Varroidae) K haplotype in Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 55: 189-197.
- Oudemans, A.C., 1904. On a new genus and species of parasitic acari. Notes from the Leyden Museum, 24: 216–222.
- Oxley, P.R., Spivak, M., Oldroyd, B.P., 2010. Six quantitative trait loci influence task thresholds for hygienic behaviour in honeybees (*Apis mellifera*). *Molecular Ecology*, 19:1452-1461.
- Önk, K., Kılıç, Y., 2014. Kars yöresindeki bal arılarında varroosis'in yaygınlığı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 14(2):69-73.
- Özbilgin, N., Alataş, İ., Balkan, C., Öztürk, A. İ., Karaca, Ü., 1999. Ege Bölgesi arıcılık faaliyetlerinin teknik ve ekonomik başlıca karakteristiklerinin belirlenmesi. *Anadolu*, 9(1): 149-171.
- Peck, D. T., Seeley. T. D., 2019. Mite bombs or robber lures? The roles of drifting and robbing in *Varroa destructor* transmission from collapsing honey bee colonies to their neighbors. *PLoS One*. 14: e0218392.
- Peck, D. T., Smith, M. L., Seeley. T. D., 2016. *Varroa destructor* mites can nimbly climb from flowers onto foraging honey bees. *PLoS One*, 11: e0167798.
- Piccirillo, G.A., De Jong, D., 2004. Old honey bee brood combs are more infested by the mite *Varroa destructor* than are new brood combs. *Apidologie*, 35:359-364.
- Pimentel, D., Zuniga, R., Morrison, D., 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, 52,:273-288.
- Pinto, F. A., Teixeira, E. W., Guimaraes-Cestaro, L., Martins, M. F., Alves, M. L. T. M. F., Message, D., 2022. *Varroa destructor* in Africanized honey bees in Brazil: genetic and reproductive profile. *Sociobiology*, 69(1): e7340.
- Råberg, L., Graham, A. L., Read, A. F., 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 364: Philosophical Transactions of the Royal Society B, 37-49.
- Ramsey, S. D., Ochoa, R., Baughan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J. M., Ellis, J. D., 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116: 1792-1801.
- Rasolofoarivao, H., Cle´mencet, J., Ravaomanarivo, L. H. R., Razafindrazaka, D., Reynaud, B., Delatte, H., 2013. Spread and strain determination of *Varroa destructor*(Acari: Varroidae) in Madagascar since its first report in 2010. *Experimental and Applied Acarology*, 60: 521-530.

- Rath, W., 1999. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 30: 97-110.
- Reams, T., Rangel, J., 2022. Understanding the enemy: a review of the genetics, behavior, and chemical ecology of *Varroa destructor*, the parasitic mite of *Apis mellifera*. *Journal of Insect Science*, 22(1): 1-10.
- Rehm, S.M., Ritter, W., 1989. Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie*, 20: 339-343.
- Rivera-Marchand, B., Oskay, D., Giray, T., 2012. Gentle Africanized bees on an oceanic island. *Evolutionary Applications*, 5: 746-756.
- Roberts, J.M., Anderson, D.L., Tay, W.T., 2015. Multiple host shifts by the emerging honeybee parasite, *Varroa jacobsoni*. *Molecular Ecology*, 24(10): 2379-2391.
- Rodriguez, A., Yadro, C. A., Perez, A., Invernizzi, C., Tomasco, I., 2020. Characterization of *Varroa destructormites* In Cuba using mitochondrial and nuclear markers. *Journal of Apicultural Science*, 64(2): 335-343.
- Rosenkranz, P., 1999. Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie*, 30: 159-172.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B., 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: 96-119.
- Rosenkranz, P., Issa, M., Rachinsky, A., Strambi, A. and Strambi, C., 1989. Honeybee-Varroa relationships: a comparison of africanized and carniolan colonies. In: R. Cavalloro (Editor), Present status of Varroaosis in Europe and progress in the Varroa mite control. Proc. E.C. Experts' Group Meeting, Udine, 1988. C.E.C., Luxembourg, pp. 193-198.
- Roth, M. A., Wilson, J. M., Tignor, K. R., Gross, A. D., 2020. Biology and Management of *Varroa destructor*(Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1): 1-8.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., Sánchez-Gracia, A., 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34: 3299-3302.
- Ruano, M.V., Fernandez, F.M., Ochoa, A.C., Valenzuela, 1991. Varroasis disturbs the orientation of bees its influence on parasitosis development. *Vida Apicola*, 48: 55-57.
- Sakai, T., Okada, I., 1973. The present beekeeping in Japan. *Glean Bee Cult*, 101: 356-357.
- Salkova, D. S., Georgieva, T. E., Gurgulova, K. I., Takova, S. B., Panayotova-Pencheva, M. S., Movsesyan, S. O., 2016. Prevalence and distribution of *Nosema* spp. and *Varroa destructor* in honeybee colonies in Bulgaria. *Center for Parasitology of the Institute of Problems of Ecology and Evolution, Proceedings, Moscow*, 151-152.

- Salkova, D., Gurgulova, K., Georgiev, I., 2018. Invasion of Bee Samples with *Varroa destructor*. Tradition and Modernity in Veterinary Medicine, 3(4): 25-29.
- Schatton-Gademayer, K., Engels, W., 1988. Blood proteins and body weight of newly-emerged worker honeybees with different levels of parasitization of brood mites. Entomologia Generalis, 14: 93-101.
- Schneider, P., Drescher, W., 1987. Einfluss der Parasitierung durch die Milbe *Varroa jacobsoni* aus das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera*. Apidologie 18, 101–106.
- Seven, İ., Yeninar, H., 2010. Elazığ yöresindeki arıcılık işletmelerinin hastalık, parazit ve zararlılar yönünden incelenmesi. e-Journal of New World Sciences Academy, 5(2): 52-65.
- Shimanuki, H., Calderone, N.W., Knox, D.A., 1994. Parasitic mite syndrome: the symptoms. The American Bee Journal, 134: 117-119.
- Shimanuki, H., Knox, D.A., 2000. Diagnosis of honey bee diseases. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook, No. AH- 690, 61 pp.
- Shrestha, N., Gautam, I., 2020. Seasonal prevalence of Asian honeybee ectoparasitic mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman, 2000 in Madanpokhara Apiaries, Palpa, Nepal. Nepalese Journal of Zoology, 4(2): 61-67.
- Sıralı, R., Doğaroğlu, M., 2005. Trakya Bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları üzerine anket sonuçları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 5:71-78.
- Solignac, M., Cornuet, J. M., Vautrin, D., Le Conte, Y., Anderson, D., Evans, J., Cros-Arteil, S., Navajas, M., 2005. The invasive Korea and Japan types of *Varroa destructor*, ectoparasitic mites of the Western honeybee (*Apis mellifera*), are two partly isolated clones. Proceedings of the Royal Society, 272: 411-419.
- Stahlmann-Brown, P., Hall, R. J., Pragert, H., Robertson, T., 2022. Varroa Appears to Drive Persistent Increases in New Zealand Colony Losses. Insects, 13(7), 589.
- Steinhauer, N., Aurell, D., Bruckner, S., Wilson, M., Rennich, K., vanEngelsdorp, D., Williams, G., 2021. United States honey bee colony losses 2020-2021: preliminary results. https://beeinformed.org/wp-content/uploads/2021/06/BIP_2020_21_Losses_Abstract_2021.06.14_FINAL_R1.pdf [Son erişim tarihi: 09.12.2022].
- Stevenson, M. A., Benard, H., Bolger, P., Morris, R. S., 2005. Spatial epidemiology of the Asian honey bee mite (*Varroa destructor*) in the North Island of New Zealand. Preventive Veterinary Medicine, 71: 241-252.
- Stojanov, D.P., Dimitrov, L., Danihlík, J., Uzunov, A., Golubovski, M., Andonov, S., Brodschneider, R., 2021. Direct economic impact assessment of winter honeybee colony losses in three european countries. Agriculture, 11(398):1-11.

- Strapazzon, R., Carneiro, F. E., Guerra Jr., J. C. V., Moretto, G., 2009. 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*, 8 (3): 990-997.
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38:3022-3027.
- Thompson, J.N., 1994. *The Coevolutionary Process*. Chicago, USA: University of Chicago Press.
- Topolska, G., Gajda, A., Hartwig, A., 2008. Polish honey bee colony-loss during the winter of 2007/2008. *Journal of Apicultural Science*, 52(2): 95-103.
- Traynor, K. S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., vanEngelsdorp, D., 2016. Multiyear survey tageting disease incidence in US honey bees. *Apidology*, 47(3): 325-347.
- Traynor, K.S., Mondet, F., De-Miranda, J.R., Techer, M., Kowallik, V., Oddie, M.A.Y., Chantawannakul, P., McAfee, A., 2020. *Varroa destructor*: A Complex Parasite, crippling honeybees worldwide. *Trends in Parasitology*, 36 (7): 592-606.
- Truong, A. Yoo, M. S., Yun, B. R., Kang, J. E., Noh, J., Hwang, T. J., Seo, S. K., Yoon, S. S., Cho, Y. S., 2022. Prevalence and pathogen detection of Varroa and Tropilaelaps mites in *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) apiaries in South Korea. *Journal of Apicultural Research*. DOI: 10.1080/00218839.2021.2013425.
- Tsuruda, J.M., Harris, J.W., Bourgeois, L., Danka, R.G., Hunt, G.J., 2012. High-resolution linkage analyses to identify genes that influence Varroa sensitive hygiene behavior in honey bees. *PLoS One*, 7: e48276.
- Tunca, R. İ., Çimrin, T., 2012. Kırşehir ilinde bal arısı yetiştiricilik aktiviteleri üzerine anket çalışması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2): 99-108.
- Tutkun, E., Boşgelmez, A., 2003. Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri. *Bizim Büro Basımevi*, Ankara, 365s.
- Utuk, A.E., Dogan, O., Tokgoz, E.A., Girisgin, A.O., Ozuicli, M., Saygin, B., 2022. A Preliminary molecular study on the haplotypes of *Varroa destructor* in Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 77 (2): 81-86, 2022.
- Ütük, A. E., Pişkin, F. Ç., Deniz, A., Balkaya, İ., 2011. Varroosis ve noseosis üzerine retrospektif bir çalışma. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 22: 11-15.
- Vandame, R., Morand, S., Colin, M.E., Belzunces, L.P., 2002. Parasitism in the social bee *Apis mellifera*: quantifying costs and benefits of behavioral resistance to *Varroa destructormites*. *Apidologie*, 33: 433-445.

- Villa, J.D., Bustamante, D.M., Dunkley, J.P., Escobar, L.A., 2008. Changes in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony swarming and survival pre- and postarrival of *Varroa destructor*(Mesostigmata: Varroidae) in Louisiana. *Annals of the Entomological Society of America*, 101(5): 867-871.
- Warrit, N., Hagen, T.A.R., Smith, D.R., Cakmak, I., 2004. A Survey of *Varroa destructor* strains on *Apis mellifera* in Turkey. *Journal of Apiculture Research*, 43(4): 190-191.
- Warrit, N., Roan Smith, D., Lekprayoon, C., 2006. Genetic subpopulations of Varroa mites and their *Apis cerana* hosts in Thailand. *Apidologie*, 37:19-30.
- Waykar, B., ve Alqadhi, Y.A., 2016. Beekeeping and Bee Products; Boon for Human Health and Wealth. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 4(3): 20-27.
- Wells, K., Clark, N.J., 2019. Host specificity in variable environments. *Trends in Parasitology*, 35: 452-465.
- Williams, F., Eschen, R., Harris, A., Djeddour, D., Pratt, C., Shaw, R. S., Varia, S., Lamontagne-Godwin, J., Thomas, S. E., Murphy, S. T., 2010. The economic cost of invasive non-native species on Great Britain. CABI Head Office, Nosworthy Way, Wallingford OX10 8DE, UK. 199s.
- Woolhouse, M.E., Haydon, D.T., Antia, R., 2005. Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 238-244.
- Xie, X., Huang, Z. Y., Zeng, Z., 2016. Why do Varroa mites prefer nurse bees? *Scientific Reports*, 15:6, 28228.
- Yalçın, F., 2015. Tokat ili merkez ilçede arıcılık yapan işletmelerde bal ve diğer arı ürünlerinin organik üretim potansiyeli. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(2), 14-23.
- Yang, X., Cox-Foster, D., 2007. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134:405-412.
- Zeybek, H., 1991. Arı Hastalıkları ve Zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara, 96s.
- Zhou, T., Anderson, D. L., Huang, Z. Y., Huang, S., Yao, J., Ken, T., Zhang, Q., 2004. Identification of Varroa mites (Acari: Varroidae) infesting *Apis cerana* and *Apis mellifera* in China. *Apidologie*, 35: 645-654.
- Ziegelmann, B., Steidle, H., Lindenmayer, A., Rosenkranz, P., 2008. Sex pheromones trigger the mating behaviour of *Varroa destructor*. *Apidologie*, 39: 598.
- Ziegelmann, B., Tolasch, T., Steidle, J. L. M., Rosenkranz, P., 2013. The mating behavior of *Varroa destructor* triggered by a female sex pheromone. Part 2: identification and dose-dependent effects of components of the Varroa sex pheromone. *Apidologie*, 44: 481-490.

ÖZGEÇMİŞ

Esra ASLAN TOKGÖZ. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 1993 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandı. Beş yıl sürelik eğitimini 1998 yılında tamamladı. 2007-2011 yılları arasında Zonguldak Tarım İl Müdürlüğü’nde Veteriner Hekim olarak çalıştı. 2011-2013 yılları arasında Ankara TAGEM’de Veteriner Hekim olarak çalıştı. 2013 yılından itibaren halen Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü’nde Veteriner Hekim olarak çalışmaktadır. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana bilim dalında yüksek lisans eğitimine başlamış ve başarılı bir şekilde tamamlamıştır.

