

## SONUÇ RAPORU

### Türkiye Bal Arıları Genetik Farklarının Koloni Dayanıklılığına (Vitality) Etkileri

Program Kodu: **2515**

Proje No: **109 T 547**

Proje Yürütücüsü:

**Prof.Dr. Aykut Kence (2009-2014)**

**Doç. Dr. C. Can Bilgin (2014-2015)**

Araştırmacılar:

Dr. Hasan Hüseyin ÜNAL

Doç.Dr. Meral KENCE

Prof.Dr. Banu YÜCEL

Danışman:

Prof.Dr. Muhsin DOĞAROĞLU

Mayıs 2016

ANKARA

## ÖNSÖZ

Ülkemizin biyoçeşitliliğinin korunmasında ana hedeflerden birisi tür ve populasyonların barındırdıkları genetik çeşitliliğin varlığını sürdürmesidir. Bu türlerden bazıları aynı zamanda ekolojik ve ekonomik öneme sahiptir. Balarısı (*Apis mellifera*) bal üretimi ve tozlaşma hizmeti açısından bütün dünyada özel bir önem taşır. Türkiye'deki arı genetik çeşitliliğinin önemi son yıllarda daha iyi anlaşılmış, ancak yine son yıllarda artak koloni kayıpları arıcılık dünyasında önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır.

Bu proje ile ülkemizde bulunan farklı arı soylarının, gerek genetik farklılıklar, gerek sabit veya göçer arıcılık yapılmasına bağlı olarak hastalık etmenlerine ve pestisitlere direnç anlamında ne gibi farklar gösterdikleri araştırılmıştır. Projede doktora öğrencileri Mehmet Kayım, Okan Can Arslan, Cansu Özge Tozkar ve yüksek lisans öğrencileri Mert Kükreler, Eda Gazel Karakaş, Filiz Yeni yer almış, aralarından üçü bursiyer olarak görevlendirilmişlerdir.

Proje henüz sürerken proje yürütücüsü hocam Prof.Dr. Aykut Kence'nin zamansız vefatı projeyi sekteye uğratmış ve öngörülenden daha uzun sürede bitmesine yol açmıştır. Projede görev alan lisansüstü öğrencilerin bir kısmının tez çalışmaları da aynı nedenle henüz tamamlanmamıştır.

Proje kapsamında bursiyerlerin deneyim ve bilgi kazanmalarına önemli katkı sağlanmıştır. Projeden önemli sayıda yurtdışı bildiri ve yayın üretilmiş ve üretilmeye devam edilmektedir. Projenin sonuçlarının Türkiye arıcılık sektörüne önemli katkıları olacağını umuyoruz.

Projenin sonuçlanmasındaki gecikmede gösterdiği sabır ve anlayış için TÜBİTAK'a, projeye emeği geçen tüm meslektaşlarımıza ve öğrencilerimize teşekkürü bir borç biliriz.

Proje ekibi adına

Doç.Dr. Can Bilgin



## İÇİNDEKİLER

Tablo listesi	iv
Şekil listesi	vii
Özet	x
Abstract	xi
<b>GİRİŞ</b>	1
<b>LİTERATÜR ÖZETİ</b>	1
Arı ölümleri ve olası çözümler	1
Türkiye arılarının genetik çeşitliliği	2
Hastalık, parazit ve diğer stres etkenlerinin incelenmesi	3
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	5
Geometrik Morfometri Analizi	6
<b>SSR ve ISSR çalışması</b>	7
SNP Analizi	10
Enfeksiyon Deneyleri	10
Yetiştirme ve Gözlem Deneyleri	11
Aktivite deneyleri (Perizin)	11
Aktivite Deneyleri (İmidaklopid)	14
Nosema ile Enfeksiyon Deneyleri	16
<b>BULGULAR</b>	17
B. Genetik Yapı Analizi	22
B1. Geometrik Morfometri Analizi Bulguları	23
B2. ISSR ve SSR Bulguları	26
B3. SNP Analizi	36

Pestisid Etkisi	38
Perizin Etkisi	38
İmidakloprid Etkisi	42
Nosema Ceranae ile Enfekte arılarda Gen Ekspresyonu Bulguları	44
<b>TARTIŞMA</b>	64
<b>SONUÇ</b>	67
<b>KAYNAKLAR</b>	68
<b>EK 1</b> Proje Kapsamında Yapılan Yayınlar ve Toplantılarda Sunulan Bildiriler	73
<b>EK 2</b> Anket ve Örnekleme Verileri	76

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Mikrosatelit bölgeleri ve primer grupları

Tablo 2. Deneyleerde kontrol grubu dışında kullanılan dozlar

Tablo 3. Besleme çözeltilerinin hazırlanış yöntemi. 2500 ppb çözelti için 200,000 ppb stok imidakloprid solusyonundan 50µl alınmış ve %50'lik sükröz ile 4ml'ye (4000µl) tamamlanmıştır.

Tablo 4. 100ppb ve daha düşük imidakloprid konsantrasyonuna sahip besleme çözeltilerinin hazırlanış yöntemi. 100 ppb çözelti için 500 ppb çözeltiden 800 µl alınmış ve %50'lik sükröz ile 4ml'ye (4000µl) tamamlan

Tablo 5. RT-PCR için oligonukleotit primerleri ve sekans tanımları

Tablo 6. Sabit ve göçer aralıklardan örneklerin toplandığı kaynaklar ve örnek sayıları. İllere ait örnek sayıları: Edirne 5, Tekirdağ 3, Düzce 10, Bolu 4, Zonguldak 1, Eskişehir 8, Kütahya 2, Bilecik 1, Bitlis 31, Elazığ 4, Erzurum 1.

Tablo 7. Populasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri (üst çapraz) ve populasyonlar arasında göç eden birey sayıları (alt çapraz) - sabit koloniler

Tablo 8. Populasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri - göçer koloniler (beyaz renkli kareler istatistiksel olarak anlamlı farkları, gri renkli kareler anlamlı olmayan farkları belirtir)

Tablo 9. Populasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri - tüm koloniler (beyaz renkli kareler istatistiksel olarak anlamlı farkları, gri renkli kareler anlamlı olmayan farkları belirtir)

Tablo 10. Lokus temelli allel çeşitliliği

Tablo 11. Populasyonlara göre allel varlığı

Tablo 12. Populasyonlara göre allel zenginliği

Tablo 13. AMOVA sonuçları. İstatistiki olarak anlamlı sonuçlar \* ile işaretlenmiştir. \* sayısı anlamlılık seviyesine denk düşmektedir

Tablo 14. Göçer ve sabit arıcılarda yerel kümeler üyelik katsayıları arasında kıyaslamalar. Göçer ve Sabit kolonları göçer ve sabit arılıkları temsil eden örnek sayısını göstermektedir. (\*\*:  $P < 0,1$  ve \*\*\*:  $P < 0,001$ )

Tablo 15. Yalıtılmış ve göçer arıcılığa açık bölgelerde yerel kümeler üyelik katsayıları arasında kıyaslamalar. Parantez içindeki rakam örnek sayısını göstermektedir. (\*\*\*:  $P < 0,001$ )

Tablo 16. Kendi popülasyonu dışında kalan kümeler üyelik katsayıları

Tablo 17. Alttür ve ekotiplere ait perizin doz gruplarının 6,12, 24 saatlik ortalama lokomotor aktivite verilerinin kontrol grupları ile karşılaştırılmasının tek yönlü ANOVA p değerleri \*  $P < 0.05$

Tablo 18. İki-yönlü varyans analizinde elde edilen  $p$ -değerleri. Kontrol grubu ve 5, 10, 50 ppb imidakloprid ile beslenen işçi arılar arasındaki aktivite farkları ilk 3, 6 ve 12 saatlik veriler için anlamlı sonuçlar vermemiştir. Farklı ırklar ise ilk 3 saatlik periyot hariç bütün periyotlar için anlamlı bir biçimde farklı aktivite göstermiştir. İlk 1 ve 3 saatlik periyotlar dışında hiçbir periyot için doz ve ırk arasında bir etkileşim tespit edilmemiştir. \*  $p < 0.05$

Tablo 19. Irkların kontrol grubu ve imidakloprid (5, 10 ve 50 ppb) uygulanan arılar bazında izleme periyodu içinde ilk 1, 3, 6, 12 ve 24 saatte gösterdikleri *dakikalık ortalama aktivite* verileri. Her kolon farklı bir ırkı temsil etmektedir. Her satır ise farklı bir izleme periyodunu temsil etmektedir. Satırlar yukarıdan aşağıya sırasıyla 1, 3, 6, 12 ve 24 saatlik izleme periyodunu temsil etmektedir.

Tablo 20. *N.cerenae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Tablo 21. *N.cerenae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 22. *N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Tablo 23. *N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 24.*Defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Tablo 25.*Defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 26.*Defensin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi

Tablo 27.*Defensin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 28.*Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Tablo 29.*Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 30.*Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Tablo 31.*Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 32.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) varyans analizi

Tablo 33.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 34.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Tablo 35.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 36.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

Tablo 37.*Apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 38.*Abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi



Tablo 39.*Abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 40.*Abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

Tablo 41.*Abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analiz ortalamaları

Tablo 42.*Eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Tablo 43.*Eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 44.*Eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Tablo 45.*Eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Tablo 46.*Eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

Tablo 47.*Eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Geometrik morfometri analizinde kullanılan arı kanadı üzerinde işaretlenmiş 19 adet nirengi noktası

Şekil 2. Arıların muhafaza edildiği plastik peynir kapları

Şekil 3. Aktivite izleme monitörü (TriKinetics Inc.). Aktivite monitörü 32 tane 15 mm çapında tp alabilmektedir. Aktivite monitörü tek bir arı için 24 saat içinde maksimum 86,400 veri sağlayabilmektedir.

Şekil 4. Anket çalışmalarının kaçının gezginci (G), kaçının sabit (S) arıcı üzerinde yapıldığı bilgisi (2010-2011)

Şekil 5. Bölgelere göre sabit arıcılarda görülen yüzde koloni kaybı (ortalama  $\pm$  standart hata)

Şekil 6. Tüm bölgelere ait sabit ve gezginci arıcıların ortalama yüzde koloni kayıplarının (ortalama  $\pm$  standart hata) karşılaştırılması

Şekil 7. 2011 Anketleri için Yinelemeli Bölünme Regresyonu sonucu elde edilen karar ağacı.  
\* Fruktoz ile besleme. \*\* Koloni azalma sendromu (*Colony Depopulation Syndrome*, CDS)

Şekil 8. Beş bölgeye ait bal arısı bireylerinin PCR profillerine bir örnek

Şekil 9. Kanonik değişken analizine göre 6 bölgeye ait toplam 150 adet kovan örneğinin 3 boyutlu grafikte ayrışması

Şekil 10. Kanonik değişken analizine göre 6 bölgeye ait 30 arıcıdan alınan örneklerin 3 boyutlu grafikte ayrışması (her arıcıdan birden fazla kovan örneklenmiştir)

Şekil 11. 6 bölgeyi temsil eden populasyonların Euclid uzaklıklarına göre UPGMA dendogramı

Şekil 12. Muğla'dan örneklenen sabit ve gezginci arıcıların arıları arasındaki farkın iki boyutlu PCA analizi ile gösterimi

Şekil 13. PCoA analizi sonuçları

Şekil 14. Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen 50 bal arısı kolonisinin 994 SNP bazına dayalı PCA analizi

Şekil 15. Nei'nin genetik uzaklıkları kullanılarak oluşturulan köksüz UPGMA soyağacı

Şekil 16. Nei'nin genetik uzaklıkları kullanılarak oluşturulan köksüz Komşu Birleştirme ağacı

Şekil 17. Sabit kolonilerde PCoA sonucu

Şekil 18. Tüm kolonilerde PCoA sonucu

Şekil 19. Sabit kolonilerde FCA sonucu

Şekil 20. Tüm kolonilerde FCA sonucu

Şekil 21. Sabit kolonilerde bireylerin kümelere tayini

Şekil 22. Göçer arıcılara ait kolonilerde bireylerin kümelere tayini

Şekil 23. Tüm kolonilerde bireylerin kümelere tayini

Şekil 24. Farklı populasyonlardan toplanan 50 Türkiye bal arısı ile bir Afrika-Avrupa melez arısının karşılaştırılmasının 994 TNP bazında yapısal analizi. Aynı renkler ortak alelleri göstermektedir. Kırmızı renk Afirka-Avrupa benzer alellerin işaret etmektedir.

Şekil 25. SNP sonuçlarına göre elde edilen uzaklık matrisi kullanılarak çizilen bir filogenetik ağaç. Anadolu arılarının hepsi üst kümelenmede yer aldığı halde Edirne ve Kırklareli arıları altta ayrı bir küme oluşturmaktadır.

Şekil 26. 5 arı altürü ve üç ekotipe ait işçi arı bireylerinin 6,12 ve 24 saatlik ortalama  $\pm$  Standart sapma lokomotor aktivite(sensörden geçiş sayısı/dak.) verileri

Şekil 27. Normalize edilmiş *N.cerenae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

Şekil 28. Normalize edilmiş *N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 29. Normalize edilmiş *defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

Şekil 30. Normalize edilmiş *defensin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 31. Normalize edilmiş *hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

Şekil 32. Normalize edilmiş *hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 33. Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) tek yönlü varyans analizi

Şekil 34. Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 35. Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 36. Normalize edilmiş *abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 37. Normalize edilmiş *abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 38. Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

Şekil 39. Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

Şekil 40. Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

## ÖZET

Türkiye zengin bir bal arısı genetik çeşitliliğini barındırması yanında kovan sayısı ve bal üretiminde dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Son yıllarda giderek olumsuz etkileri artan parazit, hastalık, kimyasal etkenlere dayalı veya nedeni açıklanamayan koloni ölümleri gerek ekolojik, gerek ekonomik açıdan ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu proje ile Türkiye'nin farklı bölgelerinden ve farklı (sabit/göçer) yetiştirilen arılardan alınan çok sayıda örnek morfometrik, genetik ve transkriptomik yaklaşımlarla değerlendirilmiştir. Yöntem olarak yetiştiricilerle anket, geometrik morfometri, ISSR ve SNP belirteçleri ile genetik yapı analizleri, *Nosema ceranae* ile enfekte olmuş bireylerde gen ekspresyonu gibi geniş bir yelpazeden yöntemler kullanılmış, elde edilen bulgular istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Morfometrik ve genetik analizler daha önceki çalışmalarda elde edilmiş ülkemizdeki coğrafi farklılıkları teyit etmiştir. Bu bağlamda Trakya bölgesinde yaygın *carnica* tipi arıların varlığı ve Anadolu arılarından belirgin farklılıkları saptanmıştır. Bunun yanısıra Kafkas, Hatay ve Anadolu arıları genetik açıdan farklı kümeler oluşturmuşlardır. Perizin ve imidaklopridin arıların lokomotor aktivitesine etkileri ırklar/ekotipler arasında genelde anlamlı farklar göstermemiştir. *N. ceranae* ile enfekte arılarda kontrole göre defensin, hymenoptaecin, apidacaein ve abaecin ekspresyonu genelde artış göstermiştir.

Göçer arıcılığın genetik etkileri ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. Sabit kovanlar arasında genetik mesafe göçer arıcılara ait kovanlar arasındakinin dört katıdır. Ana arı ve kovan satışlarının etkisiyle ticari amaçlarla sıkça kullanılan Kafkas arısına ait genlerin yayıldığı, Kafkas ve Anadolu arılarının genetik olarak diğer bölgeleri en çok etkileyen gruplar oldukları görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar Türkiye balarılarında daha evvel gözlenen yüksek düzeydeki coğrafi genetik yapı ve çeşitliliği teyit etmiş ve bu çeşitliliğin korunması için politikalar geliştirme ihtiyacının altını çizmiştir. Son derecede değerli bir miras olarak genetik çeşitliliğin mevcut arıcılık yapısı ile hala korunmuş olduğu, ancak gerek göçer arıcılığın, gerek denetimsiz arı ticaretinin olumsuz etkileri nedeniyle tedbir alınmadığı takdirde bu mirasın kaybedilebileceği gerçeği açıktır.

**Anahtar Kelimeler:** balansı, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*, coğrafi farklılık, genetik, geometrik morfometri, pestisit, lokomotor aktivite, gen ekspresyonu, göçer arıcılık

## ABSTRACT

Turkey is among the foremost countries in terms of number of hives and honey production as well as hosting a rich genetic variation in honeybees. However, an increasing threat both ecological and economical is that of worldwide colony loss due to parasites, pathogens, chemicals or unknown reasons. This project has studied a large number of bee samples obtained from migratory and stationary apiaries from various regions of Turkey by using morphometric, genetic and transcriptomic approaches. Methods range widely from questionnaires with beekeepers to geometric morphometry, genetic structure analysis with ISSR and SNP markers, and to measuring gene expression in individuals infected with *Nosema ceranae*, with the results being statistically interpreted.

Our morphometric and genetic analyses confirmed geographical distinctiveness already demonstrated by previous work. In this context, the presence and uniqueness of *carnica* type bees in Thrace, and their distance from Anatolian honeybees is noteworthy. Populations from Caucasus, Hatay and the rest of Anatolia have also formed clusters of their own. No significant differences in locomotor activity was detected among subspecies/ecotypes when treated with perizin or imidaklopridin. Expression of defensin, hymenoptaecin, apidacaein and abaecin generally increased after infection with *N. ceranae*.

The impact of migratory beekeeping has been demonstrated for the first time with our study. The genetic distance within stationary apiaries is four times larger than that of migratory apiaries. Due to queen bee and hive sales, genes of the commonly utilized Caucasus honeybees are getting spread commercially, while Anatolian genes introgress due to geographic proximity, leading these two groups to have the most impact genetically.

The findings of this project have confirmed the high levels of genetic variation and geographical structure previously known and have shown the need for developing policies towards the conservation of this variation. It has been possible so far to preserve the much valuable genetic variation with the current structure of the industry, but it is clear that unless precautions are taken to limit the negative impact of migratory beekeeping and of the unregulated sales of honeybees this rich heritage is likely to be lost.

**Keywords:** honeybee, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*, geographical variation, genetics, geometric morphometry, pesticides, locomotor activity, gene expression, migratory beekeeping



## 1. GİRİŞ

Bu projenin amacı Türkiye bal arısı ırklarının parazit, hastalık, kimyasal etkenlere yanıtlarının karşılaştırılması ile kolonilerin dayanıklılığında populasyon genetik farklarının etkilerini belirlemektir. Bu etkenler arasında hastalık mücadelesi için kovanlara uygulanan ilaçlar olabileceği gibi arıların besin ararken karşılaştığı kimyasal bulaşmış ortamlar da olabilir. Diğer bir etken ise arıların besin eksikliği gibi streslerle karşılaşmasıdır. Proje arıların bu dış etkenlere, hastalık ve parazitlere yanıtlarını deneylerin yanı sıra hastalık yükü ve sıklığı karşılaştırmaları yoluyla izlemeyi öngörmüştür.

Temel hipotezimiz Türkiye arıcılarının sabit arıcılık yapan küçük kısmının (%10-15'inin) elinde görece yalıtılmış olan arı soylarının genel olarak arıcılıkta görülen kayıplardan sorumlu olan etkenlere karşı direnç farkları gösterebileceğidir. Bu durumda dirençli arıların bulunduğu bölgelerde geniş bir yaygınlığa rağmen düşük bir hastalık yükü beklenmektedir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Arı Ölümleri ve Olası Çözümler

Türkiye'de yakın zamanda görülen bölgesel arı ölümleri (bkz. Giray ve ark. 2007) ABD ve Avrupa'da görülen ölümlere benzemektedir (bkz. Odlroyd 2007, van Engelsdorp ve ark. 2007). Ölümün olduğu yerlerde normal kayıpların üzerinde ve nedeni bilinmemektedir. Ölümde birçok etmen rol oynuyor olabilir. COLOSS grubu ve Avrupa Arı Genetiği grubu toplantılarında böyle arı ölümlerine yol açabilecek yeni ya da bilinmeyen etkilerin beklenebileceği konuşulmuş ve olası kalıcı çözüm yollarından birisi olarak arı populasyonlarının genetik farklarından yararlanılması olduğu kararlaştırılmıştır (EurBee Genetics Sonuç Bildirisi, Aykut Kence ve Tuğrul Giray 2007). Bu projemiz COLOSS grubunun bir alt grubu olan 'Bee Vitality' ya da yaklaşık çevirisi ile 'Arı Dayanıklılığı' araştırma grubunun etkinlikleri içinde yer almaktadır.

Arıların günümüzde üst üste gelen birçok farklı etmene maruz kalmaları sonucu öldükleri düşünülmektedir. Bu etmenler başta Varroa olmak üzere parazitler ve başta IAPV (İsrail Akut Paraliz Virüsü, Chen ve Evans 2007) olmak üzere yeni çıkan hastalıklar, çevredeki kimyasal maddeler (örn. yeni tip tarım ilaçları bkz. Maxim ve Sjulius 2007), arı zararlılarına karşı kullanılan kimyasal madde ve antibiyotikler, uzun yol (gezici arıcılık) ve iklim değişikliği gibi yeni stres etkenleri olarak özetlenebilir (Oldroyd 2007). Bu etmenlerin birçoğu ile arılar zaten hep karşılaşmaktaydılar ve çoğunun klasik belirleme ve arılara uygulama yöntemleri bilinmektedir (bkz. Antibiyotikler: Martel ve Coudert 1993, Martel ve ark. 2006, beslenme: Naiem ve ark. 1999, neonikotinoidler: Decourtye ve ark. 2003, arı akar ilacı Perizin: Pettis ve ark. 2004, Nosema: bkz. Chen ve ark. 2008). Ancak örneğin ABD için azalan arı genetik çeşitliliğinin arıların değişen etkenlere uyum sağlamasına imkân sağlamadığı düşünülmektedir (Sheppard 2006). Gerçekten de gelecekte arılara yönelik tehdidin nereden geleceğini bilemediğimiz için bir önemli genel çözüm farklı etkenlere dayanıklılığı belirlenmiş farklı arı genetik kaynaklarını elde bulundurmaktır (EurBee Genetics Group Meeting 2008).

Ana arı yumurtlamaya devam etmesine rağmen işçi arıların kovan içinde veya etrafında ölü arı bulunmadan ortadan kaybolmasıyla kendini gösteren ani koloni kayıpları Koloni Çökme Sendromu (Colony Collapse Disorder) olarak tanımlanmaktadır (Van Engelsdorp et al., 2009, Neumann and Carreck, 2010). İlk olarak ABD’de 2006/2007 kışında gözlemlenen sendrom Avrupa ve Türkiye’de de görülmüştür (Van Engelsdorp et al., 2012, Van der Zee et al., 2012, Giray et al.,2010).

Bal arılarının tüm bu faktörlere karşı verdikleri mücadelede dayanıklılıkları binlerce yıl içerisinde biriken adaptasyonlarda ve genetik çeşitlilikleri içerisinde saklanan potansiyellerde aranmalıdır. Yukarıda sıralanan çeşitli faktörlerin ve bunları etkileşimlerinin yakın zamanda görülen koloni kayıplarına etkide bulunmakta oldukları bahsi geçen çalışmalarda gösterildiğinden, bal arılarının birey, ekotip ve alttür seviyelerinde bu faktörlere tolerans ve dirençlerinin çeşitliliği incelemeye değerdir. Yerel koşullara uyum sağlamış çeşitlerin en azından kimi çevresel kaynaklı stres etmenlerine daha az maruz kalacağı düşünülebileceğinden bu yerel popülasyonların korunması önem arz etmektedir.

## 2.2 Türkiye Arılarının Genetik Çeşitliliği

Türkiye bu açıdan çok iyi durumda sayılabilir. Az sayıda da olsa % 10-15 kadar arıcımız buldukları yörelerin arı popülasyonları elde bulundurmaktadır (Giray ve ark. 2007). Popülasyon genetiği çalışmalarımız farklı yıllarda farklı tekniklerle bu durumu doğrulamıştır. Türkiye’de dünyadaki arı ırklarının % 20’si mevcuttur ve bu ırklar belli bölgelerde genel arı popülasyonundan yalıtılmış olarak yaşamaktadırlar (Kandemir ve Kence 1995, Kandemir ve ark. 2000, 2005, 2006, Kence 2006, Bodur ve ark. 2007). Türkiye’de bulunan ırklar *Apis mellifera caucasica*, *A.m. anatolica*, *A.m. carnica*, *A.m.syriaca* ve *A.m.meda* olarak belirlenmiştir (Bodur ve ark. 2007). *A. mellifera*’nın şimdiye kadar belirlenen en az 29 alttürü, morfometrik, genetik, ekolojik, fizyolojik ve davranışsal karakterlerine göre, mitokondriyal DNA grup A, grup M, grup C ve grup O olmak üzere 4 ana kökene ayrılmışlardır (Han ve ark. 2012). *A. m.anatoliaca*, *A. m. carnica* ve *A. m. caucasica* grup C’ye dahil iken, *A. m. syriaca* grup O içerisinde (Ruttner ve ark. 1978, Ruttner 1988, Franck ve ark. 2000, Arias ve Sheppard 1996). Türkiye’ nin pek çok coğrafi bölgesinde *A. m. anatoliaca* bulunurken, kuzeydoğu bölgesinde *A. m. caucasica*, güneydoğu bölgesinde *A. m. meda*, Trakya bölgesinde *A. m. carnica* ve Hatay civarındaki güney bölgelerde ise *A. m. syriaca* bulunmaktadır (Palmer ve ark. 2000, Kandemir ve ark. 2006).

İtalyan arısıyla aynı büyüklükteki açık renkli Karniyol arısı, bazı parazit ve hastalıklara karşı gösterdiği direnç, uysal davranışsal özelliği ve işçi arı popülasyonun nektar mevcudiyetine göre bahar ve yaz aylarındaki bal üretimini ayarlayabilme özelliği nedeniyle muhtelif arıcıların tercih ettiği en popüler ikinci arı alttürüdür (<http://www.melitabees.com/carniolan.html>). *A. mellifera anatoliaca*, yerel olarak adapte olmuş Muğla, Giresun ve Yığılca gibi ekotipleriyle, kuzeyden güneye, doğudan batıya tüm Anadolu’da yayılış göstermektedir (Bouga 2011). Nektar toplama kabiliyetleri çok yeterli olmasa da, olağanüstü ve de farklı iklim koşullarına yüksek üreme gücüyle uyum sağlayabilirler (Ruttner 1988). Muğla arısı farklı özelliklere sahip bir *A. m. anatoliaca* ekotipidir. Diğer bölgelerdeki Anadolu arıları kışa hazırlanmak için yavrulamayı durdurmuşken, Muğla arısı yavrulayarak sonbaharda da büyük bir popülasyon oluşturmaya devam eder. *A. m. anatoliaca* ekotipi olan Yığılca arısının da büyüklüğü fazladır (Doğaroğlu 2009). *Apis mellifera meda* ise kuru iklim, zayıf bitki örtüsü ile kaplı otlak alanlar, yerli hastalıklar ve zararlı böcekler gibi sert koşullara gösterdiği uyum nedeniyle önemli bir genetik kaynaktır (Bienefeld ve Pirchner, 1992; Tahmasbi ve ark. 2007). *A. mellifera caucasica* alttürü, kuzeydoğu Türkiye’de Gürcistan sınırı yakınlarında, özellikle Ardahan ve Artvin’de bulunur (Kandemir ve ark. 2000). Koyu renkli kitin tabakasına sahip bu alttür, *A.m. carnica* ile

şekil ve büyüklük açısından aynıdır (Ruttner 1988). Sarı vücut rengine sahip *A. mellifera syriaca* Ortadoğu'daki arı alttürleri arasında en küçük olandır. Nektar toplamada iyi olmasına rağmen bu alttüre ait kolonilerin yönetimi agresif davranış özelliklerinden dolayı oldukça zordur (Ruttner 1988). Aşırı yaz sıcaklarında, kuru-sıcak bölgelere bal akışı olmaksızın adapte olabilirler (Al Ghzawi ve ark. 2001a).

Bu arı ırklarının tayini için şimdiye kadar bir kaç yöntemin bir arada kullanılması gerekmektedir, ama yeni geliştirilen tek nükleotit çeşitliliği (SNP) dizinleri (microarray) ile tek tek arıların ait oldukları ırk ve populasyon belirlenebilmektedir (Whitfield ve ark. 2006a). Yaptığımız bir SNP dizini geliştirme projesi sonucunda ortaklarımız Charles D. Whitfield ve Tuğrul Giray ile Türkiye arı ırklarını belirlemek için 4000 arı SNP'inden yalnız 750'sini kullanan ideal bir dizin geliştirdik. Bu projede tüm arı örnekleri ve ODTÜ arılığına deney amaçlı getirilecek kovanların ırk belirlenmesi klasik yöntemlerin yanında bu 750 primer setli SNP dizini ile yapılmıştır.

### **2.3 Hastalık, Parazit ve Diğer Stres Etkenlerinin İncelenmesi**

Hastalık etmenleri ve parazitlerin bölgelerde farklı arı ırklarında dağılımı en azından bu iki önemli etken için ırklar arası farkların belirlenmesini sağlayabilir. Hastalık ve parazitlere yanıt deneylerin yanı sıra hastalık yükü ve sıklığı karşılaştırmaları ile de izlenebilir. Hastalık yükü bir kolonide hastalık etmeninin ulaştığı populasyon düzeyidir. Örneğin Varroa akarı için bir koloniden bir gecede yapışkan tuzaklara düşen akar sayısı 100'ün üzerinde ise kontrol edilmesi gereken düzeyde bir hastalık olduğu söylenebilir (bkz. Rivera-Marchand ve ark. 2008). Hastalık yaygınlığı ise hastalık yükü az ya da çok olmasına bakmadan bir bölgedeki kolonilerin ne kadarında hastalık etmeninin görüldüğünü ifade eder. Bu durumda dirençli arıların bulunduğu bölgelerde geniş bir yaygınlığa rağmen düşük bir hastalık yükü beklenmektedir. Ayrıca tüm populasyonların genlerindeki farklılıkların incelenmesi ile genetik çaprazlar yapmaksızın genlerin örneğin direnç ile ilgisi belirlenebilmektedir.

Hastalık etmenlerini bulmayı zorlaştıran bir durum, sağlıklı arıların bağırsağında yaşayan yaklaşık 8 bakteri türünden oluşan tipik bir mikrobiyotanın bulunmuş olmasıdır. Bu canlılar henüz laboratuvar kültürüne alınamamıştır ve dolayısıyla kültür yöntemleri ile tayin edilememektedirler. Bu canlıların varlığından yakınlarda yapılan, kültür yöntemi kullanmayan birbirinden bağımsız, arılarla ilintili mikropları araştıran bir kaç çalışma sayesinde haberdar

olduk (Babiendreier 2007, Jeyaprakash 2003, Mohr 2006, Cox-Foster 2007). Bu sekiz bakteri türü arılar dışında hiç bir canlıda bulunmamıştır, ama Kuzey Amerika, Avrupa, Avustralya, ve Afrika'dan alınmış bütün bal arısı örneklerinde tespit edilmişlerdir. Tıpkı insanların normal bağırsak florası gibi arının normal bağırsak florasını temsil ettikleri düşünülmektedir. Bu arı bağırsak mikrobiyotasının önemli bir farkı memeliler (Dethlefsen 2007) ve termitler (Warnecke 2007) gibi gruplarda görüldüğünden çok daha basit olması ve az sayıda bakteri içermesidir. Bu nedenle sağlıklı arıda bulunan bağırsak florasının tanımı ve bir referans olarak belirlenmesi mümkün olacaktır ve böyle bir referans noktası bileşenlerde değişimin ya da oranlarda değişimin sağlık durumunda değişimleri belirlemek için kullanılmasını sağlayacaktır. Daha önce ABD'de yapılmış olan bir meta-genomik çalışmasında bazı bağırsak bakterilerinin oranları 'Koloni Çökme Sendromu (Colony Collapse Disorder) ve sağlıklı kovan bireylerinde farklılıklar göstermiş ve CCD tanısı için kullanılabileceği düşünülmüş, ama çalışmanın örnek sayısındaki kısıtlama nedeniyle istatistik olarak denenememiştir (Cox-Foster 2007).

Arıların hastalık, parazit, ya da diğer stres etkenlerinden etkilendikleri ve etkilenme seviyeleri bir diğer ölçü ile de belirlenebilir. Bu da arıların bağışıklık ve stres genlerinin ifade seviyesidir (bkz. Gregory ve ark. 2005). Ortak çalıştığımız Dr. Evans bu genlerin etkinliğini belirleyecek, 12 geni hedef alan bir RT-PCR paneli protokolünü bizimle paylaşmıştır. Bu genler balarısı tüm genomu için hazırlanmış gen yongası ya da DNA mikrodizinleri deneylerinde belirlenmiştir. DNA mikrodizinleri (DNA microarrays) tıptan tarıma birçok alanda binlerce genin etkinlik seviyesini aynı anda verimli bir şekilde izlemeyi sağlamıştır. Balarısı mikrodizinleri arının davranış ve gelişimini anlamakta da önemli rol oynamıştır (Whitfield ve ark. 2002, 2003, 2006b). Bilinen ve bilinmeyen balarısı hastalık etmenlerini tanımlamak üzere ve hastalık riskini belirtecek balarısı genlerinin etkinlik düzeyini ölçmek üzere tasarlanmış yeni teknikleri kullanarak Dr. Evans ve ortakları bizim kullanacağımız 12 geni seçmişlerdir (Evans 2006, Evans ve ark. 2006). Hem bal arısının (Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006) hem de temel patojenlerinin (Qin 2006) tam genom dizisi bilindiği için DNA mikrodizinleri ve diğer genomik teknikler bu hastalıklı ve sağlıklı arılarda ifade farkı gösteren genleri belirlemede kullanılabilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Proje hedeflerine ulaşmak için birbirini tamamlayan ancak farklı teknik yaklaşımlar kullanılmıştır. Materyal olarak (bölgelere ve işletme şekline göre arı kayıplarının düzeyini, hastalık etmenlerinin prevalansını ve filogenetik ilişkileri belirlemek için) Türkiye'nin farklı arı soylarını temsil eden seçilmiş bölgelerden arılar kullanılmıştır. Aktvite deneyleri için farklı bölgelerden toplanmış "saf" soylar olarak ODTÜ'deki araştırma arılığında mevcut kovanlardan arılar kullanılmıştır.

Arı kayıplarının yaşandığından yakınılan, yerli ve gezginci arıcılık yapılan 5 bölgede arıcılar ile bire bir görüşülmüş ve bu yörelerde arı kayıplarının boyutlarını belirlemek için sistematik sörvey ve veri toplama çalışması ile arı örnekleme birlikte yürütülmüştür. Hastalık profili çıkartmak amacıyla araziden koloni örnekleri 2009 sonbaharından 2011 ilkbaharına kadar aralıklarla başlanarak ülke çapında arıcılık etkinlikleri ve arı popülasyonlarına göre belirlenen 5 bölgeden toplanmıştır. Bu örnekler her bölge için sabit ve göçer kovanları temsil etmektedir. Seçilmiş bölgeler Ankara (Bölge 1, ODTÜ araştırma arılığındaki kovanlar), Muğla, (Bölge 2), Artvin ve Ordu (Bölge 3), Kırklareli ve Tekirdağ (Bölge 4), Hatay ve Adana'dır (Bölge 5). Örnekleme önemli bir kısmı sonbaharda ve tekrar erken ilkbaharda yapılmıştır (bkz. Ekler). Sonbaharda arıların sağlığı başarılı kışlama için en önemli etken olarak bilinir. Erken ilkbahar ise kovanların kıştan çıkma durumlarını ve tarlacılık ve tozlaşmaya katkı yapacak nüfusunu belirlemek için önemli bir dönemdir. "İlkbahar" bölgelerde nektar akış döneminin başlamasını takip eden ilk iki hafta olarak (Şubat ila Mayıs), "Sonbahar" ise bölgede kuvvetli nektar akışının bitmesinden sonraki bir aylık süre (Ağustos ila Kasım) olarak tanımlanmıştır.

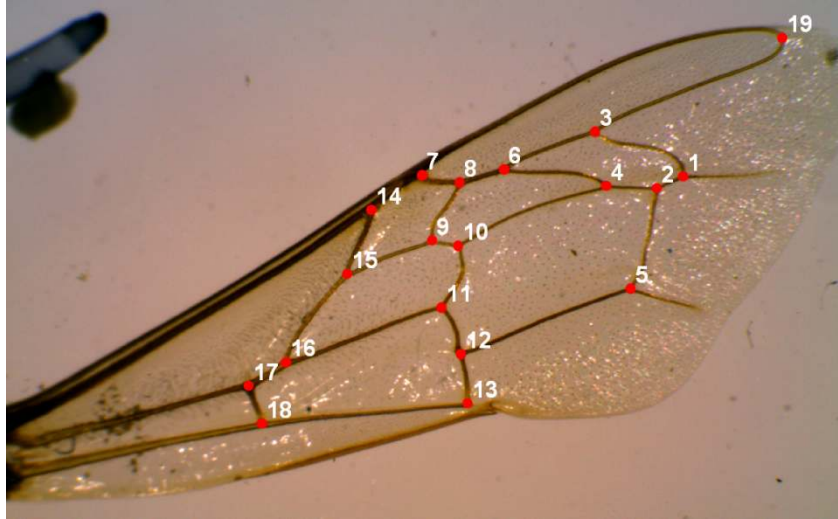
Uzun mesafe taşımacılığın göçer arılara etkisini belirlemek için iki ayrı göç yolunu takip eden, Tekirdağ-Muğla ve Ardahan-Muğla arası kovanlarını taşıyan arıcıların kovanlarından sonbahar göçü başında (Ağustos), ve geri dönüşlerinden bir hafta önce Muğla'da örnek toplanmıştır. Bölgelerde yerel arı tipi ve diğer arı tipleri ya da ırkları varsa bunlar ayrı ayrı örneklendirilmiştir. Yerli arı bölge 2'de Muğla arısı (*Apis mellifera anatolica*), Bölge 5'de Suriye arısı (*Apis mellifera syriaca*), Bölge 3'de Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*), Bölge 1'de Anadolu arısı (*Apis mellifera anatolica*) ve Bölge 4'de Kırklareli arısı (*Apis mellifera carnica*) olarak kabul edilmiştir.

Her arılıktan 6-12 kovan örneklemiş, örnekler 150 ml'lik plastik peynir kutularına canlı olarak toplanmış 200-250 arıdan oluşmuştur. Arılar kutulara arılar için geçici besin olarak kek (bal ve pudra şekeri karışımı) ya da ikiye kesilmiş sade lokum konularak araştırma birimine ulaştırılmışlardır. Değişik analizler için hemen kullanılan arılar haricindeki arılar hemen -80°C derin donduruculara yerleştirilmiştir.

Materyal olarak yukarıda belirtilen örneklerin kullanılması dışında, yapılan deney ve analizlerin kendine özgü yöntemleri aşağıda ayrıntılı olarak ayrı ayrı sunulmuştur.

### 3.1 Geometrik Morfometri Analizi

Analizde kullanılan örnekler her bölge için sabit kovanları temsil etmektedir. Morfometrik yöntemle göre balarısı ırklarını ayırabilmek için arıların kanat fotoğrafları Leica dijital stereomikroskop sistemi ile görüntülenmiştir. Kanatlar üzerindeki 19 adet nirengi noktası tps-dig2 software (Rohlf 2004) ile işaretlenmiş (Şekil 7) ve tps-util software (Rohlf 2004) ile tps data formatı NTSYS formatına dönüştürülmüştür. Veriler geometrik morfometri yöntemine göre NTSYS programı ile analiz edilmiştir.



**Şekil 1.** Geometrik morfometri analizinde kullanılan arı kanadı üzerinde işaretlenmiş 19 adet nirengi noktası

NTSYS programında çok değişkenli ayrışım fonksiyonu (kanonik değişken analizi) analizine göre populasyonlar ayrıştırılmıştır.

### 3.2 SSR ve ISSR çalışması

RAPD (*Randomly amplified polymorphic DNA*) tekniği rastgele seçilmiş 9-10 baz uzunluğundaki baz dizilimine sahip primerlerle çoğaltılan DNA fragmentleri arasındaki farkların belirlenmesine dayanmaktadır (Williams ve ark.1990). Bu yöntem basit ve elde edilen polimorfizmi belirlemede başarılı olsa da rastgele dizimli primerler kullanıldığı için tekrar edilebilirliği çok azdır. Bu arada tekrarlanan kısa (1-9 baz) dizilerden oluşan, ökaryot genomlarında yaygın olarak bulunan ve mikrosatellit ya da basit sekans tekrarı (*Simple Sequence Repeats*, SSR) olarak adlandırılan yapıların türler arasında uzunlukları açısından yüksek oranda polimorfizme sahip oldukları belirlenmiştir (Tautz 1988). Aynı zamanda codominant Mendel kalıtımı da gösteren mikrosatellitler değerli genetik belirteçler olarak kabul edilmişlerdir. Mikrosatellit içeren gen lokuslarındaki varyasyon, PCR yoluyla belirlenebilir ve bu varyasyon, tek tek bireyleri genotiplemeye yetecek kadar yüksektir (Rafalski ve ark. 1996). Bununla beraber PCR yoluyla mikrosatellit incelemesi teknik olarak güç ve nispeten pahalıdır. Bu zorluklara alternatif olacak yaklaşım birbirine yakın ve ters olarak yerleşen iki mikrosatellit lokusu arasındaki genomik segmentin PCR yoluyla çoğaltılmasıdır. Burada kullanılan primerler mikrosatellitlerin 5' ya da 3' ucuna bağlanacak ana ünite dizilimi ile rastgele seçilmiş 1-3 nükleotitten oluşmaktadırlar. Inter-SSR adıyla anılan bu yöntem mikrosatellit analizine göre daha kolay ve ucuzdur. Kullanılan primerler daha büyük ve PCR koşulları daha az hassastır. Tekrar edilebilirliği yüksektir ve DNA işaretleyicisi olarak oldukça polimorfiktir (Rafalski ve ark. 1996, Bornet ve Branchard, 2001). Projede hem SSR, hem ISSR analizleri gerçekleştirilmiştir Bal arısı çeşitliliği üzerine I-SSR çalışmaları çok azdır (Paplauskiene 2006, Silvester H. A. 2003). Türkiye bal arısı genetik çeşitliliği üzerine Inter-SSR yöntemi kullanılarak yapılmış çalışma ise bu projeye kadar bulunmamaktaydı..

ISSR çalışmasında Artvin, Muğla, Kırklareli, Yığılca ve Hatay yörelerinden, sabit arıcılardan elde edilmiş örnekler kullanılmıştır. Aynı kovandan toplanmış diğer örneklerin kanat morfolojileri geometrik morfometri yöntemiyle incelenerek örneklerin özgünlüğü teyit edilmiştir. DNA izolasyonu arıların baş ve toraks kısımlarından Fermentas DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. Örneklerdeki DNA'ların kalitesi Nano drop spektrofotometresinde incelenmiştir. Reaksiyon karışımı 15 ul olup 1X PCR tamponu (10 mM Tris-HCL ph 8.8, 50mM KCL ve % 0.1 Triton X-100) 2mM MgCl<sub>2</sub> her bir dNTP'den 200 uM, 0.25 uM primer,



0.5 U *Taq* DNA polimeraz (Fermentas) ve 25 ng genomik DNA içermektedir. PCR koşulları şöyledir: 94°C'de ilk denatürasyon ardından herbiri 92°C'de 30 sn denatürasyon, 50 °C'de 30 sn annealing ve 72 °C'de 5 dak extension olmak üzere 35 çevrim ve 72 °C'de 5 dak. final extension. PCR ürünleri % 1,5 agaroz jelde 70 voltta 1,5 saat boyunca yürütülmüş ve etidyum bromid (4 ug/ml) ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir.

Yukarıda sözü edilen yörelere ait arı örneklerinin belirlenen 10 primer ile taranmıştır. Jel üzerinde görülen her bant pozisyonu bir gen lokusu olarak kabul edilecek ve incelenen her örnek bu bant pozisyonların varlığı ya da yokluğu açısından 0 ya da 1 olarak skorlandırılmış ve bu skorlardan bir veri matrisi oluşturulmuştur. Bu veri matrisinden örneklerin birbirleriyle olan genetik benzerliklerini içeren bir benzerlik matrisi elde edilmiş ve UPGMA prosedürü yoluyla örneklerin birbirlerine yakınlık derecelerini yansıtan bir ağaç oluşturulmuştur. Ayrıca, bu skorlar kullanılarak bir PCoA (*Principle Coordinates Analysis*) analizi yapılmış ve incelenen arı populasyonlarının birbirlerine göre konumları iki boyutlu bir çizimde gösterilmiştir.

SSR (mikrosatelit) analizleri kapsamında otuz döngüden meydana gelen Polimeraz Zincir Tepkimesi ise QIAGEN Type-it Mikrosatelit Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çoğaltılan DNA önce agaroz jel elektroforezi ile teyit edilmiş daha sonra kapiler elektroforez için primer, enzim ve tuzlardan arındırılmıştır. Arındırma için QIAGEN MinElute Kiti kullanılmıştır. Daha sonra ABD'de yerleşik GENEWIZ firması tarafından kapiler elektroforez yöntemi ile allel büyüklükleri belirlenmiştir. Polimeraz Zincir Tepkimesi için seçilen mikrosatelit bölgeleri ikisi yedişer, ikisi sekizer bölgeden oluşan dört grupta toplanmıştır. Kullanılan mikrosatelit bölgeleri ve gruplar, primer dizileri ve uzunlukları ile kapiler elektroforez için kullanılan floresan boya işaretlemeleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Mikrosatelit bölgeleri ve primer grupları

	<b>Mikrosatelit bölgesi</b>	<b>Primer dizisi</b>	<b>Uzunluk</b>	<b>Floresan boya</b>
<b>GR 1</b>	Ap218	AGGGATGGAATTCTTCGATT	20	6-FAM
		TTGTCACAATTCCGCTTGA	19	
	A113	CTCGAATCGTGGCGTCC	17	6-FAM

		CCTGTATTTTGCAACCTCGC	20	
	A(B)024	CACAAGTTCCAACAATGC	18	VIC
		CACATTGAGGATGAGCG	17	
	Ap249	CGCGCGACGACGAAATGT	18	VIC
		CAGTCCTTTGATTCGCGCTACC	22	
	A088	CGAATTAACCGATTTGTGCG	19	NED
		GATCGCAATTATTGAAGGAG	20	
	AP001	ACACGCGAACAATACAACA	19	NED
		ACTAATCGGCACGATGAAG	19	
	Ap043	GGCGTGACAGCTTATTCC	19	PET
		CGAAGGTGGTTTCAGGCC	18	
<b>GR 2</b>	A079	CGAAGGTTGCGGAGTCCTC	19	6-FAM
		GTCGTGCGACCGATGCG	17	
	Ac306	GAATATGCCGCTGCCACC	18	6-FAM
		TTTCGTTGCATCCGAGCG	18	
	Ap226	AACGGTGTTGCGGAAACG	18	6-FAM
		AGCCAACTCGTGCGGTCA	18	
	A007	CCCTTCCTCTTTCATCTTCC	20	VIC
		GTTAGTGCCCTCCTCTTGC	19	
	HB-C16-01	AAAATGCGATTCTAATCTGG	20	VIC
		TTGCCTAAAATGCTTGCTAT	20	
	Ap068	TGTCTGCCCTCCTCTCTGTT	20	NED
		CACATCGAGCGAGAAGGC	18	
	A014	GTGTCGCAATCGACGTAACC	20	NED
		GTCGATTACCGATCGTGACG	20	
Ap223	TCGTACAACGTCGCGCAA	18	PET	

		GCCGCTCGCCTGTATCTG	18	
<b>GR 3</b>	AP019	CTCGTTTCTTCCATTGCG	18	6-FAM
		CGGTACGCGGTAGAAAGA	18	
	A(B)124	GCAACAGGTCTGGGTTAGAG	19	6-FAM
		CAGGATAGGGTAGGTAAGCAG	21	
	A043	CACCGAAACAAGATGCAAG	19	VIC
		CCGCTCATTAAGATATCCG	19	
	A076	GCCAATACTCTCGAACAATG	20	VIC
		GTCCAATTCACATGTCGACATC	22	
	Ap273	GATCTTGTGTTAAACAGCCG	20	NED
		GATCTCTGGCAGACGAAGAG	20	
	Ap289	AGCTAGGTCTTTCTAAGAGTGTTG	24	NED
		TTCGACCGCAATAACATTC	19	
	HB-C16-05	ATTTTATGCGCGTTTCGTA	19	PET
		CATGGCTCCTCCATTAAATC	20	
A028	GAAGAGCGTTGGTTGCAGG	19	PET	
	GCCGTTTCATGGTTACCACG	19		
<b>GR 4</b>	Ap049	CCAATAGCGGCGAGTGTG	18	6-FAM
		GGGCTTCGTACGTCCACC	18	
	Ap238	GTCTCGTGCGTGCGAATG	18	6-FAM
		TTCATCATGTTCTCAAATTTCTTTGT	26	
	AC006	GATCGTGGAACCGCGAC	18	VIC
		CACGGCCTCGTAACGGTC	18	
	Ap243	AATGTCCGCGAGCATCTG	18	VIC
		TGTTTACGAGAATTCGACGGG	21	
Ap288	GTTAGTTCGTGTCGACCG	19	NED	

		TCTTAGCTTTATAACGAGCACG	22	
	HB-C16-02	TAGTATCGTGCTGTTTCATCG	20	NED
		ACATACATCTCTTGCGAGT	20	
	A107	CCGTGGGAGGTTTATTGTCG	20	PET
		CCTTCGTAACGGATGACACC	20	

Genotiplerin belirlenmesi esnasında yapılan seyreltmeler nedeniyle yeterince çoğaltılamamış A076 mikrosatelit bölgesine ait sinyal kaybedilmiştir. Bu sebeple bu mikrosatelit bölgesine ait veriler analizlerden dışlanmış ve 29 mikrosatelit bölgesinin sonuçları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar STRUCTURE ve diğer çok değişkenli yöntemlerle analiz edilmiştir.

### 3.3 SNP Analizi

Türkiye dünyadaki toplam 25 bal arısı altüründen 5'ine sahiptir ve dolayısıyla dünyadaki bal arısı genetik çeşitliliğin %20'sini sahiptir. Yapılan çalışmada Türkiye'den toplanan bal arısı örnekleri üzerinde toplam 994 moleküler işaretleyici test edilmiştir. Çalışmanın amacı genetik iyileştirmede, moleküler seçimde, bal arısı populasyon genetiğinde ve bal arılarının korunmasında kullanılabilecek nötr genomik işaretleyiciler saptamaktır.

Çalışmada Türkiye genelinden 2009 yılında toplanan bal arısı örnekleri üzerinde TNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi – *SNP, Single Nucleotide Polymorphism*) analizi yapılmıştır. Örneklerden DNA özütlemesi ve TNP analizi Porto Riko Üniversitesi'nden Dr. Tuğrul Giray'ın laboratuvarında yapılmıştır.

### 3.4 Enfeksiyon Deneyleri

Genç ve sağlıklı arılar enfeksiyondan bir gün önce aç bırakılmışlardır. Arılar karbondioksitle bayıltılıp, daha sonra  $10^7$  adetspor içeren şekerli solusyonudan 10 µl hacminde bir damlası, arılar uyanmak üzereyken mikropipetle tüm damlayı tüketecekleri şekilde verilmiştir. Damlanın tamamının tüketmeyen arılar deneylere dahil edilmemişlerdir. Arılar plastik peynir kaplarında muhafaza edilmişlerdir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Arıların muhafaza edildiği plastik peynir kapları

### 3.5 Yetiştirme ve Gözlem Deneyleri

Deneyde kullanılan tüm canlı arılar 25 °C ve % 80 oranında nemin klima sistemi ile sağlandığı iklim odasında muhafaza edilmişlerdir. Arılar 25 cc hacme sahip plastik peynir kapları içerisinde karanlıkta saklanmışlardır (Şekil 2). Her bir kaptaki 30 arı bulunmaktadır. Kaplar üst kısımlarından hava geçişinin sağlanması için delinmişlerdir. Kontrol arıların, hasta arılardan gelebilecek *N. apis* sporları ile kontamine olmalarını önlemek için hava delikleri bulunan üst kapak hepafiltre ile kaplanmıştır. Tüm arılar 15 ml hacminde falkon tüplerde bulunan % 50 şeker solusyonu ile beslenmişlerdir. Uç kısımları delinmiş falkon tüplerin peynir kaplarının üst kısmına monte edilmesi suretiyle besleme gerçekleştirilmiştir. Yaz döneminde arılar 12 günlük deney periyodu boyunca her gün sayılmış ve kayıtları alınmıştır. Sonbahar döneminde 19 gün boyunca veri kaydı alınmıştır. Ölü arılar naylon poşetlerde -20 °C de spor izolasyonu için muhafaza edilmişlerdir.

### 3.6 Aktivite Deneyleri (Perizin)

Deneylerde piyasada Bayer tarafından satılan Perizin (% 3.2) isimli ilaç kullanılmıştır. Bu ilaç bal arılarındaki Varroasis için ektoparaziter (akarisit) olarak arıcılar tarafından kullanılmaktadır. Bileşiminde 1 ml'si 32 mg Kaumafos (Coumaphos=Asuntol) etken maddesi içermektedir.

Perizin deneylerinde kontrol grubu ve 3 farklı deney grubu test edilmiştir. Belirli bir miktar perizin içeren 10 µl. % 30 süzkroz solüsyonu her bir arıya elle beslemek suretiyle bir defada akut olarak verilmiştir. Deney gruplarından herbirine farklı miktarda kaumafos etken maddesi içecek oranda perizin+süzkroz karışımı verilmiştir. Kontrol grubuna ise sadece 10 µl. % 30 süzkroz solüsyonu verilmiştir. Uygulanan dozlar ve hazırlanış yöntemleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Deneylerde kontrol grubu dışında kullanılan dozlar

Dozlar	Coumaphos Miktarı	Perizin	%30 Süzkroz
Doz-3	5 µgr	0.03125 µl	9.96875 µl
Doz-2	2 µgr	0.0625 µl	9.9375 µl
Doz-1	1 µgr	1.5625 µl	9.8475 µl

Akut besleme periyodu sonunda arılar monitörlere konularak izlenmiştir ve lokomotor aktivite ölçülmüştür.

Hem perizin uygulanan arıların hem de kontrol arıların lokomotor aktivitesi besleme periyodundan sonra yüksek çözünürlüğe sahip aktivite izleme sistemi (*Activity Monitoring System*) ile sayısallaştırılmıştır. Aktivite izleme sistemi TriKinetics Inc.<sup>1</sup> firmasından temin edilmiştir (Şekil 3). Deneylerde 4 monitor kullanılmıştır ve her monitörde 30 tane işçi arının aktivitesi ölçülmüştür. Dolayısıyla bir deneyde 120 tane arının, yani her arı grubu için (Muğla arısı, Yığılca arısı, Kırklareli arısı, Suriye arısı ve Kafkas arısı) 24 arının aktivitesi ölçülmüştür.

<sup>1</sup> TriKinetics Inc. Waltham, MA USA 781-891-6110 [www.trikinetics.com](http://www.trikinetics.com)



**Şekil 3.** Aktivite izleme monitörü (TriKinetics Inc.). Aktivite monitörü 32 tane 15 mm çapında tüp alabilmektedir. Aktivite monitörü tek bir arı için 24 saat içinde maksimum 86,400 veri sağlayabilmektedir.

Aktivite monitörünün çalışma mekanizması basit ama deneysel açıdan etkin ve yüksek çözünürlüktedir. Her arı bir tüp içerisinde aktivite monitörüne yerleştirilir ve tüpün orta kısmının çevresinde bulunan kızılötesi ışık kaynağı vasıtasıyla tüpün ortasından geçen arının hareket ettiği algılanır ve bu hareket bilgisayara kaydedilir. Aktivite monitörü 1 sn'lik aralıktan 60 dk'lık aralıklara kadar ölçüm yapabilmektedir. Deneyslerde 1 dk aralıklarla ölçümler yapılmıştır, yani bir arının tüpün ortasından her dakikada kaç kere geçtiği kayıt altına alınmıştır. İzleme periyodu 24 saat (1440 dk) sürmüştür ve dolayısıyla her arıdan 1440 tane veri alınmıştır. Veriler monitörlerin bağlı olduğu bilgisayar tarafından TriKinetics Inc. firmasının DAMSystem v3.03 yazılımı ile otomatik olarak kayıt altına alınmıştır.

Deneyslerde 120 işçi arının aktivitesinin ölçüldüğü 4 monitör dışında bir de çevre monitörü (*Environment Monitor*) bilgisayara bağlanmış ve izleme periyodu süresince ortamdaki sıcaklık, nispi nem ve ışık miktarı da her dakika için kayıt altına alınmıştır. Deneysler arı kovanın doğal şartlarına uygun olarak 25 °C sıcaklık ve % 80 (±5) nem ortamında karanlıkta

yapılmıştır. Çevre monitörü sayesinde deney şartlarındaki herhangi bir istenmeyen değişme tespit edilebilmiştir.

İzleme periyodu (24 saat karanlıkta) sonunda alınan aktivite verileri ırk ve perizin uygulaması bazında incelenmiş ve tek yönlü varyans analizine (*one way anova*) tabi tutulmuştur. Bu sayede *i*) ırklar arasındaki doğal aktivite farklılığı (kontrol gruplarını kullanarak)*ii*) ırkların perizine karşı verdikleri tepki farklılığı, ve *iii*) farklı perizin konsantrasyonlarının arı aktivitesini ne yönde ve ne derecede etkilediği ortaya konmuştur. Varyans analizi için SPSS ver.20 kullanılmıştır.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3.7 Aktivite Deneyleri (İmidaklopid)

Deneyler için ODTÜ aralığındaki kolonilerden işçi arılar örneklenmiştir. Örnekleme kovan önünde yapılmıştır ve kovan kapakları açılmamıştır. Laboratuvara getirilen işçi arılar monitöre konulmadan önce 24 saat boyunca karanlıkta beslenmiştir. Deneylerde gereken imidaklopid İstanbul Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden Dr. Hüseyin Ünal tarafından temin edilmiştir. Temin edilen etken madde ile 200,000 ppb (2 mg imidaklopid 10 ml saf suda çözülmüş) stok solüsyonu hazırlanmıştır. 500, 1000 ve 2500 ppb imidaklopid içeren % 50'lik sükröz çözeltileri hakkında bilgi Tablo 3'de verilmiştir. 5, 10, 50 ve 100 ppb çözeltileri ise 500 ppb çözeltiden sıralı seyreltme yöntemi ile hazırlanmıştır (Tablo 4)

**Tablo 3.**Besleme çözeltilerinin hazırlanış yöntemi. 2500 ppb çözelti için 200,000 ppb stok imidaklopid solusyonundan 50 µl alınmış ve % 50'lik sükröz ile 4 ml'ye (4000 µl) tamamlanmıştır.

Çözelti Konst.	200,000ppb İmidaklopid	% 50 Sükröz
2500 ppb	50 µl	3950 µl
1000 ppb	20 µl	3980 µl
500 ppb	12.5 µl	4987.5 µl



**Tablo 4.**100 ppb ve daha düşük imidakloprid konsantrasyonuna sahip besleme çözeltilerinin hazırlanış yöntemi. 100 ppb çözelti için 500 ppb çözeltiden 800 µl alınmış ve % 50'lik sükröz ile 4 ml'ye (4000 µl) tamamlanmıştır.

<b>Çözelti Konst.</b>	<b>500 ppb çözelti</b>	<b>%50 Sükröz</b>
100 ppb	800 µl	3200 µl
50 ppb	400 µl	3600 µl
10 ppb	80 µl	3920 µl
5 ppb	40 µl	3960 µl

Besleme periyodu (24 saat karanlıkta) sonunda arılar monitörlere konularak izlenmiştir ve lokomotor aktivite ölçülmüştür.

Hem imidakloprid (sadece 5 ppb, 10 ppb ve 50 ppb dozları için) uygulanan arıların hem de kontrol arıların lokomotor aktivitesi besleme periyodundan sonra yüksek çözünürlüğe sahip aktivite izleme sistemi (*Activity Monitoring System*) ile sayısallaştırılmıştır. Aktivite izleme sistemi TriKinetics Inc.<sup>2</sup> firmasından temin edilmiştir.

Deneylerde 4 monitor kullanılmıştır ve her monitörde 30 tane işçi arının aktivitesi ölçülmüştür. Dolayısıyla bir deneyde 120 tane arının, yani her arı grubu için (Muğla arısı, Yığılca arısı, Kırklareli arısı, Suriye arısı ve Kafkas arısı) 24 arının aktivitesi ölçülmüştür. Amacımız imidaklopridin düşük dozlardaki etkisini araştırmak olduğu için 100, 500, 1000 ve 2500 ppb imidakloprid ile beslenen arılar izlemeye alınmamıştır.

Aktivite monitörünün çalışma mekanizması basit ama deneysel açıdan etkin ve yüksek çözünürlüktedir. Her arı bir tüp içerisinde aktivite monitörüne yerleştirilir ve tüpün orta kısmının çevresinde bulunan kızılötesi ışık kaynağı vasıtasıyla tüpün ortasından geçen arının hareket ettiği algılanır ve bu hareket bilgisayara kaydedilir. Aktivite monitörü 1sn'lik aralıktan 60 dk'lık aralıklara kadar ölçüm yapabilmektedir. Deneylerde 1dk aralıklarla ölçümler

<sup>2</sup> TriKinetics Inc. Waltham, MA USA 781-891-6110 www.trikinetics.com

yapılmıştır, yani bir arının tütün ortasından her dakikada kaç kere geçtiği kayıt altına alınmıştır. İzleme periyodu 24 saat (1440 dk) sürmüştür ve dolayısıyla her arıdan 1440 tane veri alınmıştır. Veriler monitörlerin bağlı olduğu bilgisayar tarafından TriKinetics Inc. firmasının DAMSystem v3.03 yazılımı ile otomatik olarak kayıt altına alınmıştır.

Deneylerde 120 işçi arının aktivitesinin ölçüldüğü 4 monitör dışında bir de çevre monitörü (*Environment Monitor*) bilgisayara bağlanmış ve izleme periyodu süresince ortamdaki sıcaklık, nispi nem ve ışık miktarı da her dakika için kayıt altına alınmıştır.

İzleme periyodu (24 saat karanlıkta) sonunda alınan aktivite verileri ırk ve imidaklopid uygulaması bazında incelenmiş ve iki-yönlü varyans analizi (*two-way anova*) yapılmıştır. Bu sayede *i*) ırklar arasındaki doğal aktivite farklılığı (kontrol gruplarını kullanarak), *ii*) ırkların imidaklopride karşı verdikleri tepki farklılığı ve *iii*) farklı imidaklopid konsantrasyonlarının arı aktivitesini ne yönde ve ne derecede etkilediği ortaya konmuştur. İlk 1, 3, 6, 12 ve 24 saatlik aktivite verileri için ayrı varyans analizleri yapılmıştır. Varyans analizi için SPSS ver.20 kullanılmıştır.

### **3.8 Nosema ile Enfekte Arılarda Gen Ekspresyonu Deneyleri**

*Nosema cerenae* ile enfeksiyon deneyinde her ırktan 2 farklı koloniden örnek alınmıştır. Her bir koloniden 30 adet arı olmak üzere toplamda 300 arı *N. cerenae* ile enfekte edilmiştir. 300 adet kontrol grubu arı da sadece % 50 şekerli su verilerek deneyde kullanılmıştır.

Her bir arı, 6000 adet *N. cerenae* sporu içeren şekerli suyun ağız yoluyla içirilmesi ile enfekte edilmiştir. Kontrol grubuna ise sadece şekerli su verilmiştir. Peynir kaplarında her gün % 50 şekerli su ile beslenen arılar 6 gün boyunca 31° C sıcaklık ve % 55 nem içeren iklim odasında muhafaza edilmişlerdir. 6. günün sonunda canlı arılar -80 derecelik derin dondurucuya koyularak *N. cerenae* gen ekspresyon deneylerinde kullanılmak üzere saklanmışlardır. *Nosema cerenae* gen ekspresyon deneyleri USDA- ARS Bee Research laboratuvarında yapılmıştır.

*Nosema cerenae* gen ekspresyon analizlerinde kullanılmak üzere her bir ırka ait ikişer koloninin her birinden 12 adet arının sadece abdomenleri kullanılarak TRIZOL yöntemiyle RNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen RNA'ların DNA degradesyonu yapıldıktan sonra c-DNA sentezlenmiştir.

RNA özütlerinden tek ve çift iplik cDNA'ları sentezlemek için rastgele heksamer primerler ve ters transkriptaz Superscript II® (Invitrogen™) kullanılmıştır (VanEngelsdorp ve ark. 2009). Patojen yükleri qPCR ve Bio-Rad CFX-96 PCR kullanılarak belirlenmiştir. 1 µg RNA örneğinden oluşturulan tamamlayıcı DNA (cDNA), her primer çifti için 20 µl final reaksiyon hacminde Sso-Fast™ SYBR® Green reaksiyon karışımı (Bio-Rad™) kullanılarak çoğaltılmıştır. Bu çalışmalarda cDNA içeriği Actin kontrol geni kullanılarak normalize edilmiştir. *N. ceranae*' ya spesifik, önceden yayınlanmış apidaecin, abaecin, defensin, hymenoptaecin ve eater primerleri kullanılmıştır (Tablo 5). Normalize edilmiş ΔCt değerlerine göre JMP istatistiksel analiz programı kullanılarak, ırklar ve koloniler arasında karşılaştırma yapılmıştır.

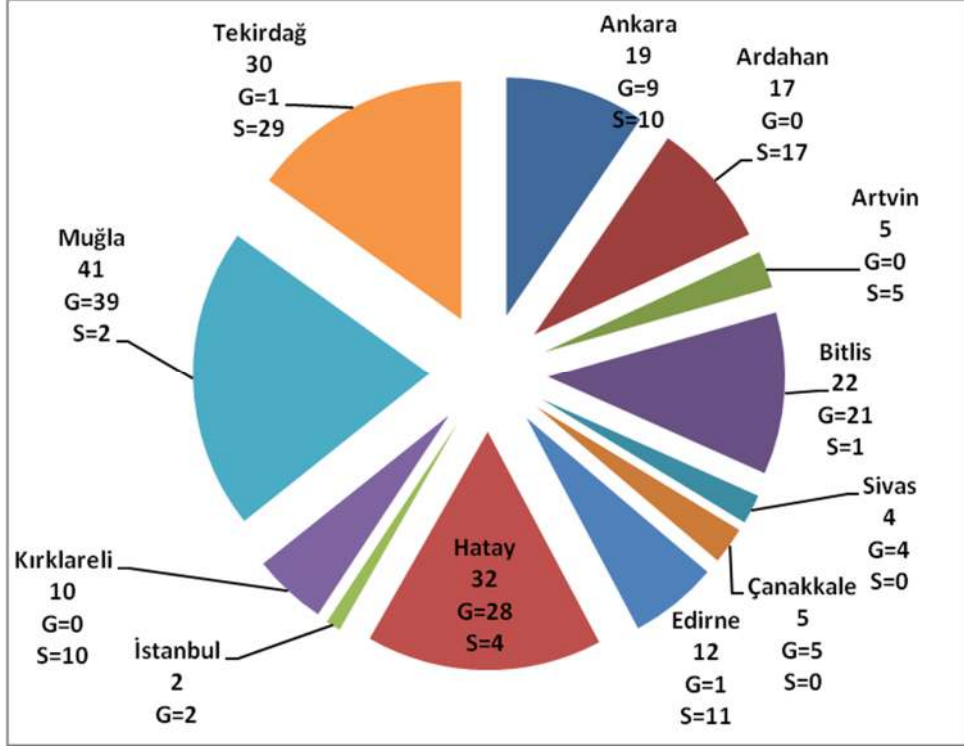
**Tablo 5.** RT-PCR için oligonukleotit primerleri ve sekans tanımları

Lokus	F-Primer (5'-3')	R- Primer (5'-3')
β-actin	TTGTATGCCAACACTGTCCTTT	TGGCGCGATGATCTTAATTT
<i>N. ceranae</i>	GTCGCTATGATCGCTTGC	TATTGTAGAGAGGTGGGAGATT
Abaecin	CAGCATTTCGCATACGTACCA	GACCAGGAAACGTTGGAAAC
Apidaecin	TAGTCGCGGTATTTGGGAAT	TTTCACGTGCTTCATATTCTTCA
Hymenoptaecin	CTCTTCTGTGCCGTTGCATA	GCGTCTCCTGTCATTCCATT
Defensin-1	TGCGCTGCTAACTGTCTCAG	AATGGCACTTAACCGAAACG
Eater	CATTTGCCAACCTGTTTGT	ATCCATTGGTGCAATTTGG

## 4. BULGULAR

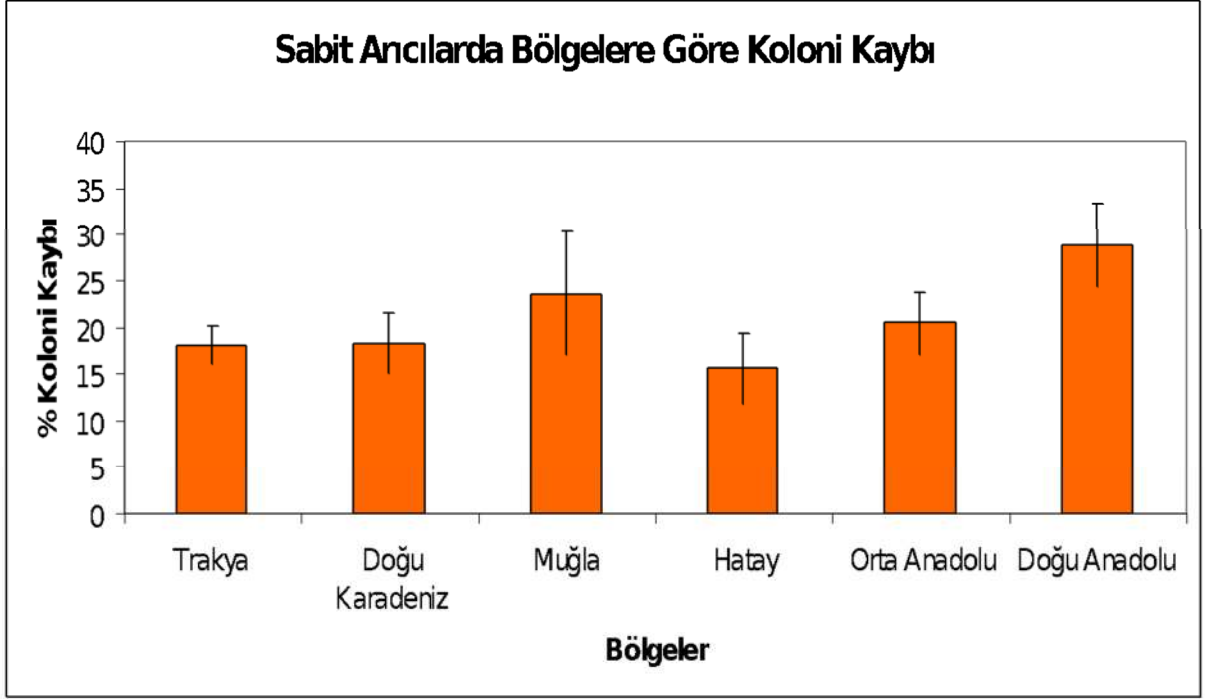
### 4.1 Arazi ve Anket Çalışması Bulguları

Proje kapsamında 2010, 2011 ve 2012 yıllarında Anadolu arıcılığı için önemli kabul edilen altı bölgede bulunan gezgin ve sabit arıcılar üzerinde toplam 520 anket yapılmıştır. Anket yapılan bölgeler Trakya (Tekirdağ, Edirne, Kırklareli), Doğu Karadeniz (Artvin ve Ardahan) Orta Anadolu (Ankara, Eskişehir, Kırşehir Bilecik ve Düzce) Muğla ve Hatay bölgeleri olarak ayrılmıştır. Anketlerin illere göre dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.



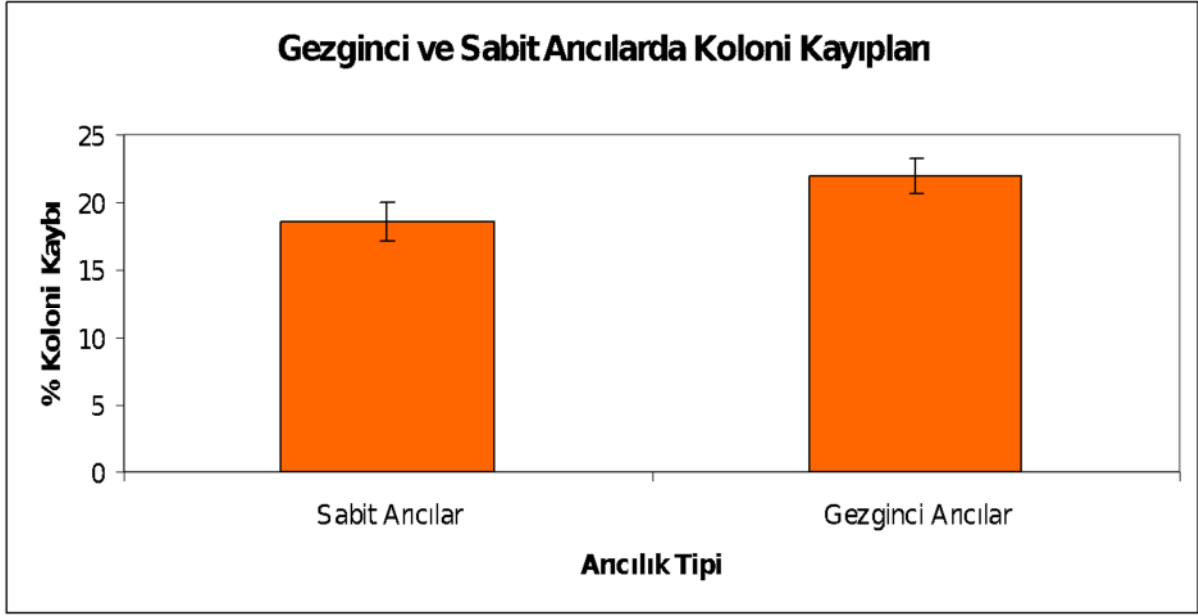
**Şekil 4.** Anket çalışmalarının kaçının gezginci (G), kaçının sabit (S) arıcı üzerinde yapıldığı bilgisi (2010-2011)

Yapılan anketler sonucu bölgelerde bulunan sabit arıcılarda tespit edilen 2010-2012 dönemi ortalama koloni kayıpları Şekil 2'de verilmiştir. Belirli bir bölgeye bağlı olmadıkları için gezginci arılar bu analize dâhil edilmemiş, ancak yapılan anketlerdeki tüm sabit arıcılar ile gezginci arıcıların ortalama koloni kayıpları Şekil 3'de karşılaştırılmıştır. Bulgulara göre en yüksek koloni kaybı Doğu Anadolu ve Muğla bölgelerinde, en düşük koloni kaybı ise Hatay bölgesinde gerçekleşmiştir. İstatiksel açıdan anlamlı ( $p < 0.05$ ) farklar Doğu Anadolu ile (Muğla hariç) diğer bölgeler arasındadır.



**Şekil 5.**Bölgelere göre sabit arıcılarda görülen yüzde koloni kaybı (ortalama  $\pm$  standart hata)

Gezginci arıcılarda koloni kaybı ortalaması sabit arıcılara göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksektir ( $P < 0.05$ ).



**Şekil 6.** Tüm bölgelere ait sabit ve gezginci arıların ortalama yüzde koloni kayıplarının (ortalama ± standart hata) karşılaştırılması

Anket çalışmalarında görülen koloni kayıpları “Recursive Partitoning” de denilen bir karar ağacı (decision making tree) analizi yöntemi ile analiz edilmiştir (Şekil 7). Bir regresyon analizi yöntemi olan bu istatistik analizde anket sonuçlarına göre koloni kayıplarında önemli etkenler ortaya çıkarılmaktadır. Analiz sonuçlarına göre koloni kayıplarındaki önemli etkenler şunlardır:

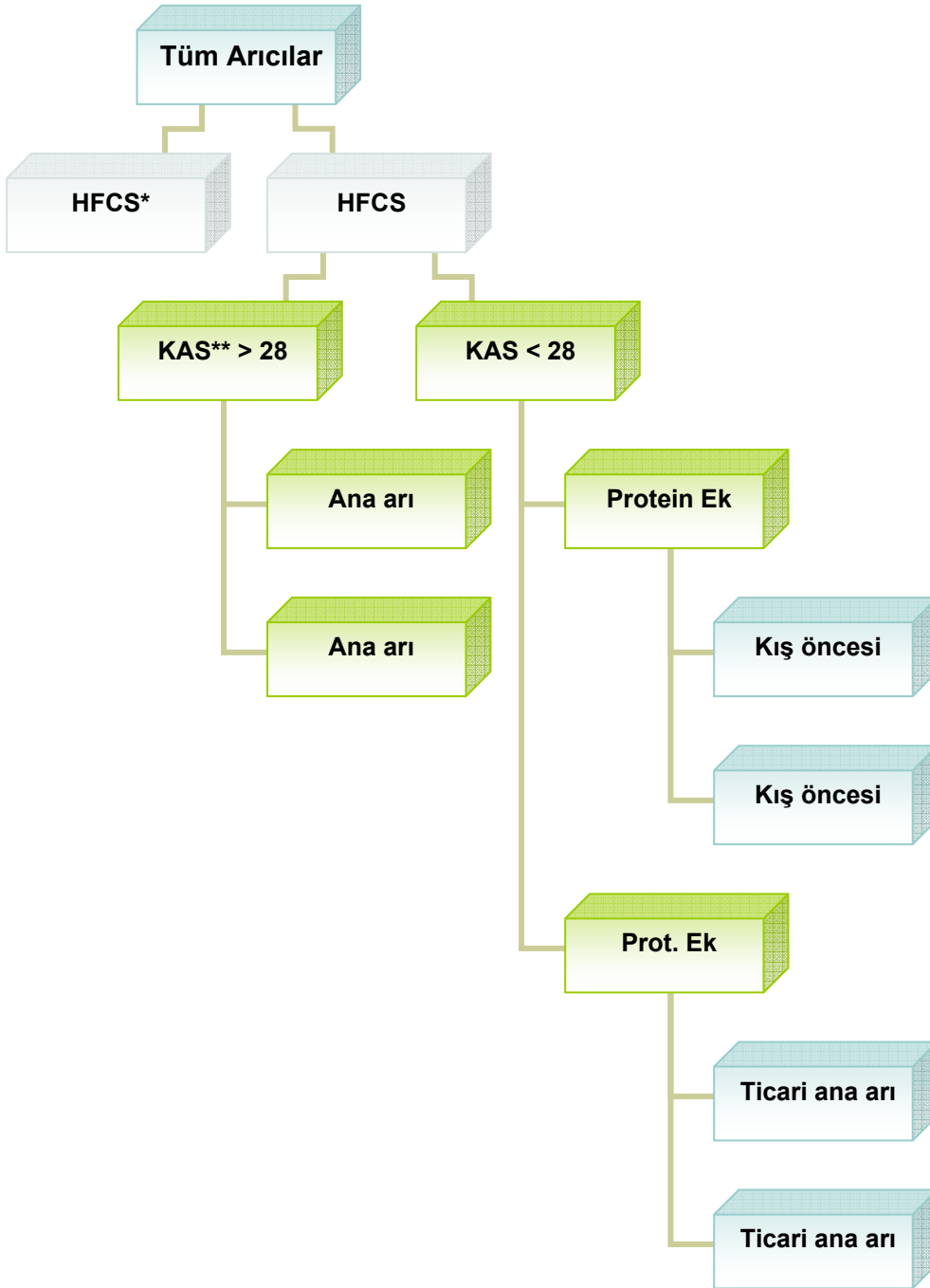
- 1) **Beslenme:** Glikoz-fruktoz şurubu ile besleme ile yüksek koloni kaybı ilişkisi gözlenmiştir.
- 2) **Koloni Azalma Sendromu:** Yüksek koloni kaybı ile ilişkili bulunmuştur. 2011 yılında koloni azalma sendromu ve yüksek koloni kaybı arasında istatistiksel olarak belirgin bir ilişki vardır ( $p < 0.03$ )
- 3) **Ana arı:** Ana arı yetiştiricilerinden alınan ana arılar özellikler Bitlis'te yüksek koloni kaybı ile ilişkili bulunmuştur. Bunun sebebi değiştirilen ana arıların taşıdığı viral enfeksiyonlar olabilir.
- 4) **Koloni Durumu:** Kışın bölme yapılacak kadar büyük olmayan kolonilerin kayıp oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

- 5) **Arıcılar:** Yüksek arılı kovan sayısına sahip arıcılarda koloni kaybınının daha düşük olduğu gözlenmiştir.
- 6) **Gezgincilik:** İkiyüzden az koloniye (kovana) sahip arıcılar içinde sabit olanların gezginci arıcılara göre daha az koloni kaybı yaşadıkları belirlenmiştir.
- 7) **Bölgeler:** Ayçiçeği tarımının yoğun olduğu Kırklareli ve pamuk tarımının yoğun olduğu Hatay'da görülen koloni kayıplarında bu bitkiler üzerinde kullanılan pestisitlerin arılar üzerindeki toksik etkilerinin önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Bunun yanında bal üretimi ve bilinen arı hastalıkları faktörlerinin koloni kaybında belirgin bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Bu bulgular şöyle özetlenebilir:

- a) Bazı arıcıların koloni kayıplarının Avrupa'da görülen Koloni Azalma Sendromu (*Colony Depopulation Syndrome*) ile istatistiksel olarak belirgin şekilde örtüştüğü görülmüştür. Bu konu daha ileri düzeyde araştırılmalıdır.
- b) Gezgincilik yüksek sayıda koloni ile yapılan arıcılık önemli faktörler olarak gözükmedirler. Dış kaynakların (glikoz-fruktoz şurubu, protein desteği, yetiştiricilerden satın alınan ana arılar) yüksek koloni kaybı ile ilişkili olduğu görülmüştür.
- c) Artarda yüksek koloni kaybı gösteren iki bölge bulunmaktadır, Trakya (2009,2010,2011) ve Doğu Akdeniz (2009,2010,2011). 2011'de özellikle Bitlis'teki yüksek koloni kaybı göze çarpmaktadır.. Kolonilerde yıldan yıla giderek artan kayıplar 2006 yılında büyük kayıplara dönüşmüştür (Giray ve ark. 2007). Aynı durum 2009-2011 arı kayıplarında da görülmektedir. Bu durum belirli bölgelerde giderek artan bir koloni kaybı oranı görüntüsü sunmakta ve 2012 yılı için kaygı verici bir tablo ortaya koymaktadır



**Şekil 7.** 2011 Anketleri için Yinelemeli Bölünme Regresyonu sonucu elde edilen karar ağacı. \* Fruktoz ile besleme. \*\* Koloni azalma sendromu (*Colony Depopulation Syndrome, CDS*)

#### 4.2 Genetik Yapı Analizi Bulguları

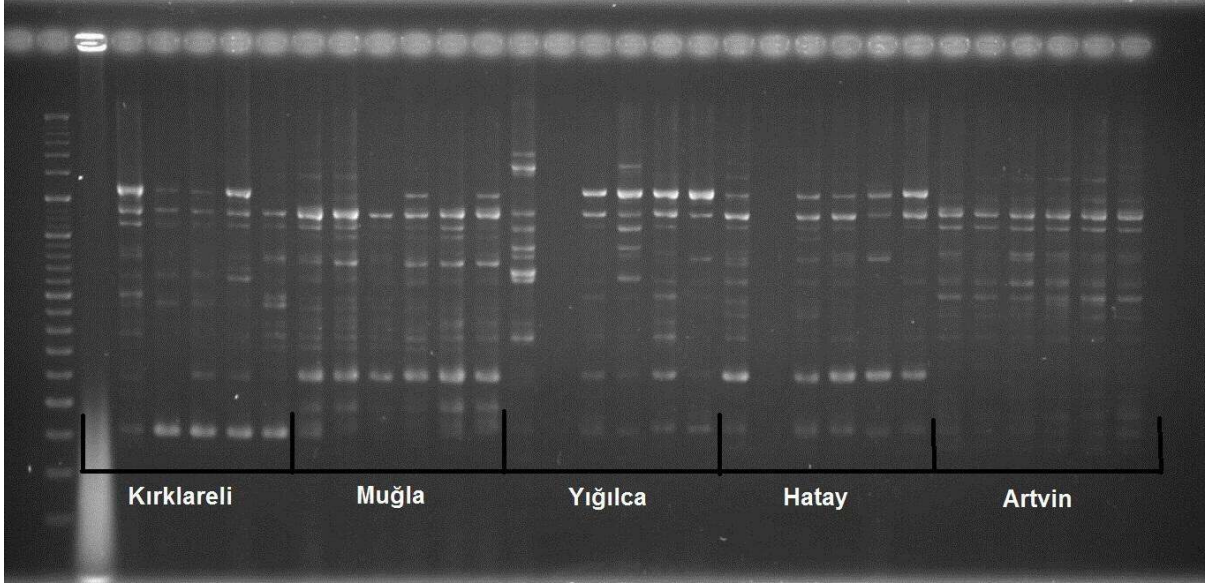
Arazi çalışmaları esnasında toplanan ve 174 sabit, 76 göçer arılığı temsil eden 250 arı bireyi coğrafi yakınlık, örneklerin toplandığı bölgelerin benzer iklim, flora ve topografya verilerine sahip olması ile geçmiş çalışmalarda genetik yakınlık tespit edilmiş olması kıstaslarından



yola çıkararak 10 bölge altında gruplanmıştır. Bunlar Kırklareli, Edirne+ (Edirne ve Tekirdağ), Düzce+ (Düzce, Bolu, Zonguldak), Eskişehir+ (Eskişehir, Kütahya, Bilecik), Muğla, Ankara, Ardahan, Artvin, Bitlis+ (Bitlis, Elazığ, Erzurum) ve Hatay gruplarıdır (Tablo 6). Mantel testi sonuçlarına göre popülasyonlar arasındaki mesafe arttıkça genetik uzaklığın da arttığı tespit edilmiştir.

**Tablo 6.**Sabit ve göçer aralıklardan örneklerin toplandığı kaynaklar ve örnek sayıları. İllere ait örnek sayıları: Edirne 5, Tekirdağ 3, Düzce 10, Bolu 4, Zonguldak 1, Eskişehir 8, Kütahya 2, Bilecik 1, Bitlis 31, Elazığ 4, Erzurum 1.

<b>Bölge</b>	<b>Sabit</b>	<b>Göçer</b>	<b>Toplam</b>
Kırklareli	37	1	38
Edirne+	7	1	8
Düzce+	15	0	15
Eskişehir+	11	0	11
Muğla	21	15	36
Ankara	18	9	27
Ardahan	32	0	32
Artvin	10	0	10
Bitlis+	0	37	37
Hatay	23	13	36



**Şekil 8.** Beş bölgeye ait bal arısı bireylerinin PCR profillerine bir örnek

Mikrosatelit ve RAPD işaretleyiciler, mitokondri DNA'sı, allozim ve geometrik morfometri yöntemleri kullanılarak yürütülen geçmiş çalışmalar Türkiye'de balarısının beş alttürü (*meda*, *syriaca*, *caucasica*, *anatoliaca* alttürleri ile Karniyol alttür grubundan bir ekotip) bulunduğunu gözler önüne serdi. Göçer arıcılık ve ana arı ve kovan satışlarının ise bölgeler arası gen akışını arttırdığı ve böylece aşamalı olarak genetik yapının kaybına yol açtığı öngörülmektedir.

Altı bölgeden 2010-2012 yılları arasında toplanan 250 arı örneği üzerinde yapılan ve dört multipleks tepkimede toplam 29 mikrosatelit işaretleyici (örn. Şekil 8) kullanılan bu çalışmanın bulgularına göre Türkiye arılarının coğrafi genetik yapısı, kümeler arasında gen akışının arttığına dair veriler olsa da, hala büyük oranda korunmaktadır.

Sabit kovanlar arasında  $F_{ST}$  değeri 0,067 olarak hesaplanmıştır. Bu değer göçer arıcılara ait kovanlar arasında 0,015 ve tüm örneklerde 0,047 olarak bulunmuştur. Popülasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri Tablo 7, 8 ve 9'da yer almaktadır. Genetik yapı analizinde dört alttürün coğrafi dağılım alanlarına denk düşen dört ayrı küme ortaya çıkmıştır. Kümeler arasındaki farklılaşma PCA ve FCA'nın yanı sıra genetik uzaklıklar temel alınarak oluşturulan filogenetik ağaçlarda da gözlemlenmiştir.

**Tablo 7.** Popülasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri (üst çapraz) ve popülasyonlar arasında göç eden birey sayıları (alt çapraz) - sabit koloniler (beyaz renkli kareler istatistiksel olarak anlamlı farkları, gri renkli kareler anlamlı olmayan farkları belirtir)

	KIRKLARELİ	EDİRNE+	DÜZCE+	ESKİŞEHİR+	MUĞLA	ANKARA	ARDAHAN	ARTVİN	HATAY
KIRKLARELİ		0,01	0,07	0,05	0,08	0,09	0,11	0,10	0,12
EDİRNE+	22,81		0,04	0,04	0,04	0,06	0,08	0,08	0,09
DÜZCE+	3,37	5,52		0,01	0,02	0,03	0,07	0,07	0,07
ESKİŞEHİR+	4,63	6,84	28,75		0,02	0,02	0,05	0,04	0,07
MUĞLA	2,78	5,42	10,34	15,87		0,02	0,04	0,04	0,05
ANKARA	2,59	3,84	7,30	11,31	16,08		0,03	0,03	0,05
ARDAHAN	2,04	3,01	3,50	5,14	5,91	7,11		0,00	0,09
ARTVİN	2,16	2,72	3,32	5,65	5,52	9,18	137,11		0,08
HATAY	1,83	2,41	3,34	3,13	4,51	4,43	2,53	3,06	

**Tablo 8.** Popülasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri - göçer koloniler (beyaz renkli kareler istatistiksel olarak anlamlı farkları, gri renkli kareler anlamlı olmayan farkları belirtir)

	KIRKLARELİ	EDİRNE+	MUĞLA	ANKARA	BİTLİS+	HATAY
KIRKLARELİ		0,00				
EDİRNE+	0,00					
MUĞLA	0,07	0,03				
ANKARA	0,07	0,02	0,02			
BİTLİS+	0,08	0,01	0,01	0,01		
HATAY	0,09	0,03	0,01	0,02	0,01	

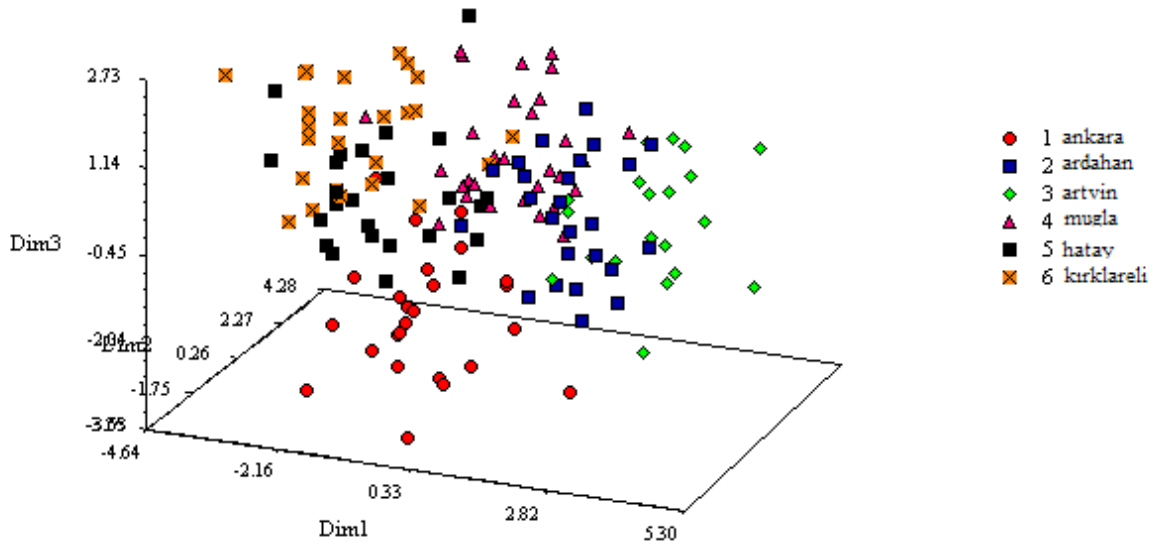
**Tablo 9.** Popülasyonlar arasındaki karşılıklı  $F_{ST}$  değerleri - tüm koloniler (beyaz renkli kareler istatistiksel olarak anlamlı farkları, gri renkli kareler anlamlı olmayan farkları belirtir)

	KIRKLARELİ	EDİRNE+	DÜZCE+	ESKİŞEHİR+	MUĞLA	ANKARA	ARDAHAN	ARTVİN	BİTLİS+	HATAY
KIRKLARELİ	0,00									
EDİRNE+	0,01	0,00								
DÜZCE+	0,07	0,04	0,00							
ESKİŞEHİR+	0,05	0,03	0,01	0,00						
MUĞLA	0,08	0,03	0,02	0,01	0,00					
ANKARA	0,08	0,04	0,02	0,01	0,01	0,00				
ARDAHAN	0,11	0,07	0,07	0,05	0,04	0,04	0,00			
ARTVİN	0,10	0,08	0,07	0,04	0,04	0,03	0,00	0,00		
BİTLİS+	0,08	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01	0,04	0,03	0,00	
HATAY	0,10	0,06	0,05	0,05	0,03	0,03	0,07	0,06	0,01	0,00

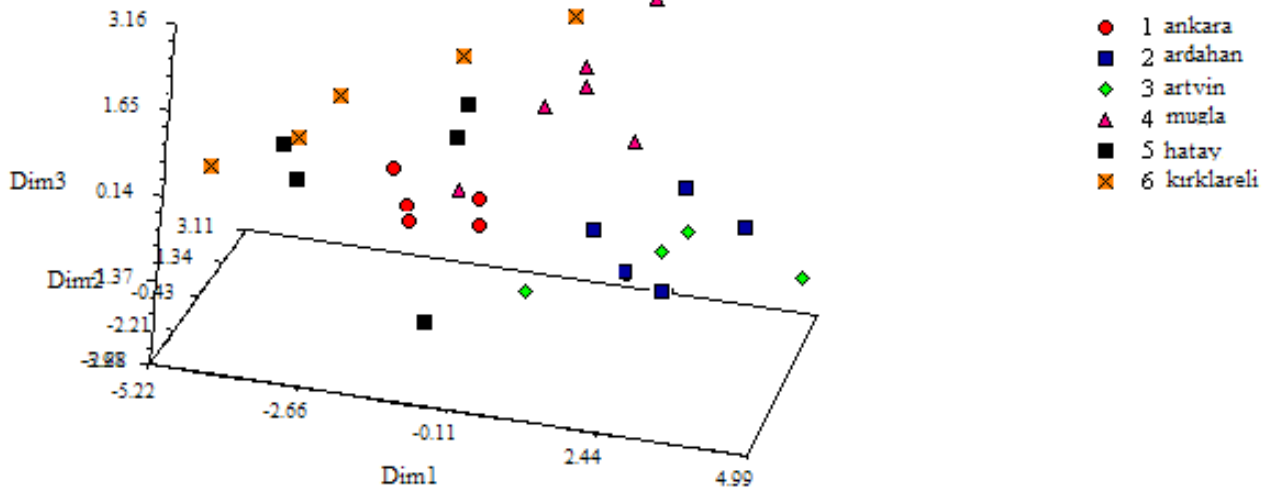
#### 4.2.1 Geometrik morfometri analizi bulguları

2010 ilkbaharında ülke çapında arıcılık etkinlikleri ve arı popülasyonlarına göre belirlenen 6 bölge (Ankara, Ardahan, Artvin, Muğla, Hatay, Kırklareli) ve 30 farklı lokasyondan toplanan 150 adet arı örneği geometrik morfometri esaslarına göre ordinasyon (kanonik değişken) ve kümeleme (UPGMA) yöntemleriyle analiz edilmiştir (Şekil 9-12).

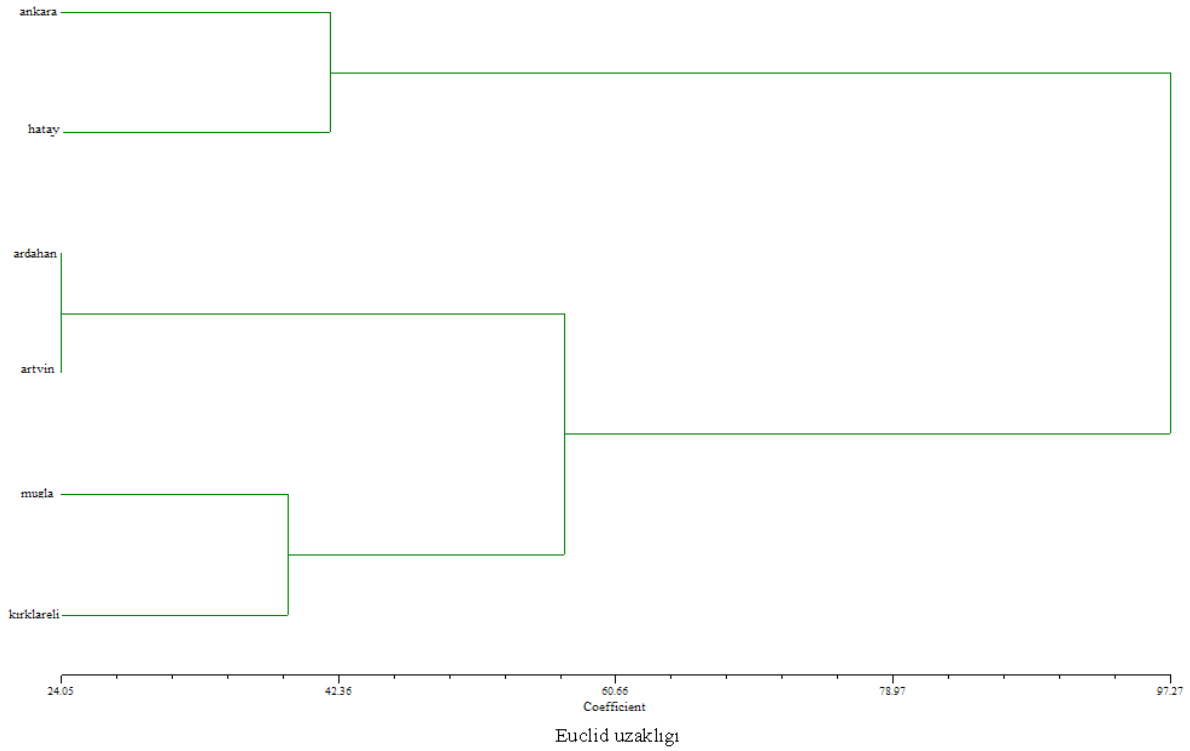
Her bölgeden 5'er arıcıdan rastgele seçilen 5 kovanının herbirinden alınan birer kanat örneği üzerinde yapılan analizler ırklar arasında farkları ortaya koymaktadır.



**Şekil 9.** Kanonik değişken analizine göre 6 bölgeye ait toplam 150 adet kovan örneğinin 3 boyutlu grafikte ayrışması



**Şekil 10.** Kanonik değişken analizine göre 6 bölgeye ait 30 arıcıdan alınan örneklerin 3 boyutlu grafikte ayrışması (her arıcıdan birden fazla kovan örneğlenmiştir)

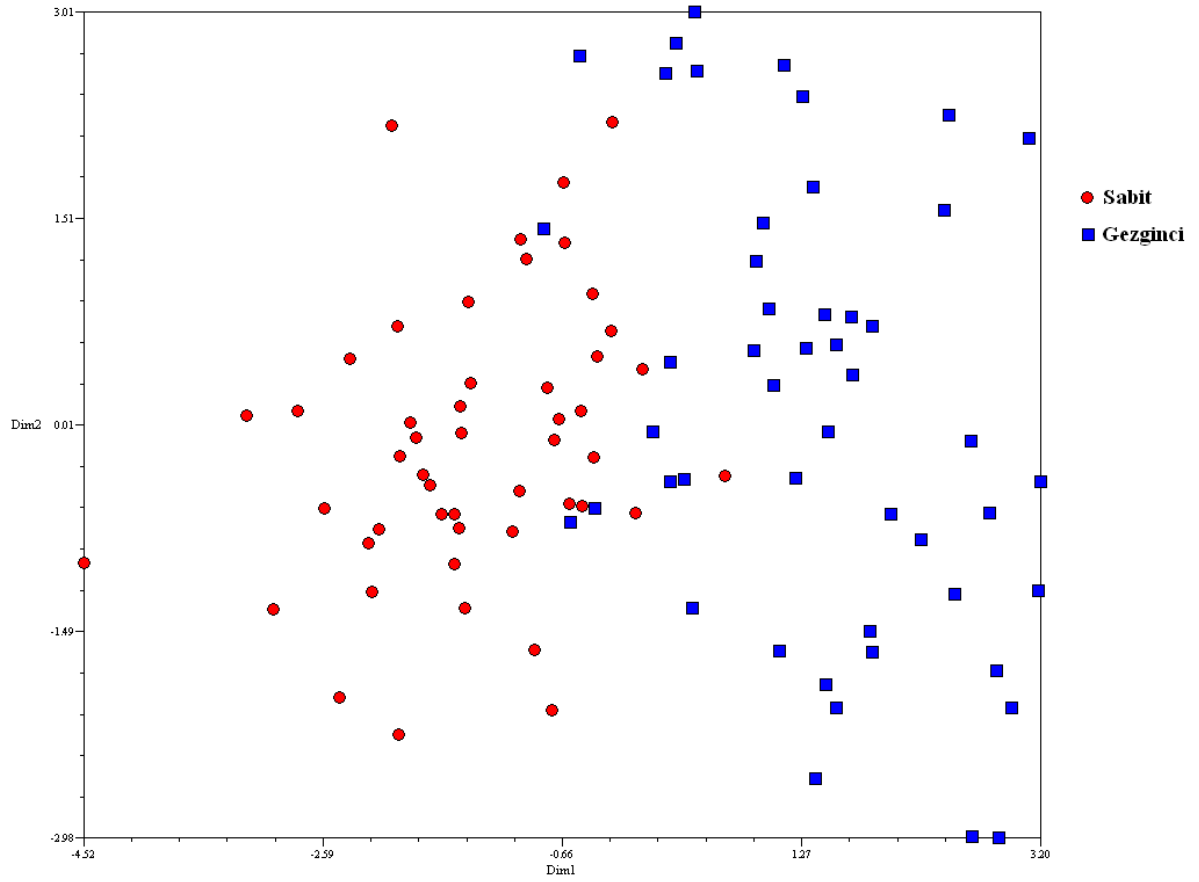


**Şekil 11.** 6 bölgeyi temsil eden popülasyonların Euclid uzaklıklarına göre UPGMA dendrogramı

Kafkas arılarının bulunduğu Ardahan ve Artvin'den alınan örnekler birbirlerine çok yakın olarak kümelenmiştir. Kırklareli arıları ile Artvin-Ardahan arıları birbirlerine en uzak konumlanmış iken Muğla, Ankara ve Hatay arıları ise iki grup arasında yer almaktadır (Şekil 9 ve 10).

Bölgeleri kümeleme çabası sonucunda elde edilen dendrograma göre Artvin ve Ardahan popülasyonları birbirine çok yakındır ve Batı bölgeleri ile gevşek bir küme oluşturmaktadır (Şekil 11). Ankara ve Hatay bölgeleri ise ikinci bir gevşek küme oluşturmuştur.

Muğla arılarından alınan örneklerde sabit ve gezginci arıların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Her iki grup da kendi içinde oldukça yüksek bir varyasyon göstermektedir (Şekil 12).

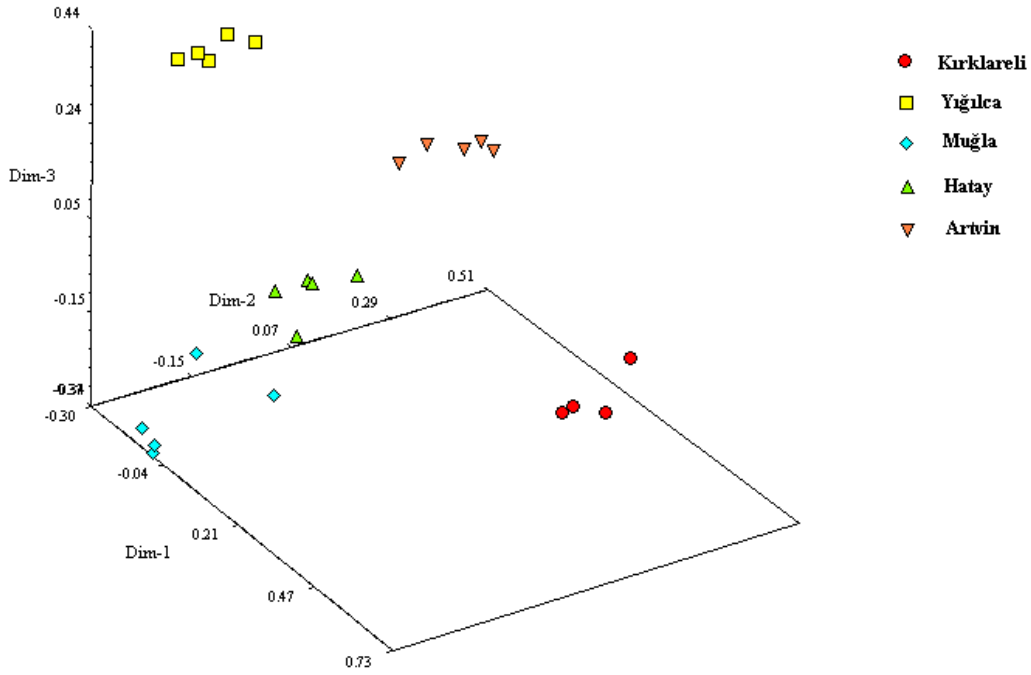


**Şekil 12.** Muğla'dan örneklenen sabit ve gezginci arıların arıları arasındaki farkın iki boyutlu PCA analizi ile gösterimi

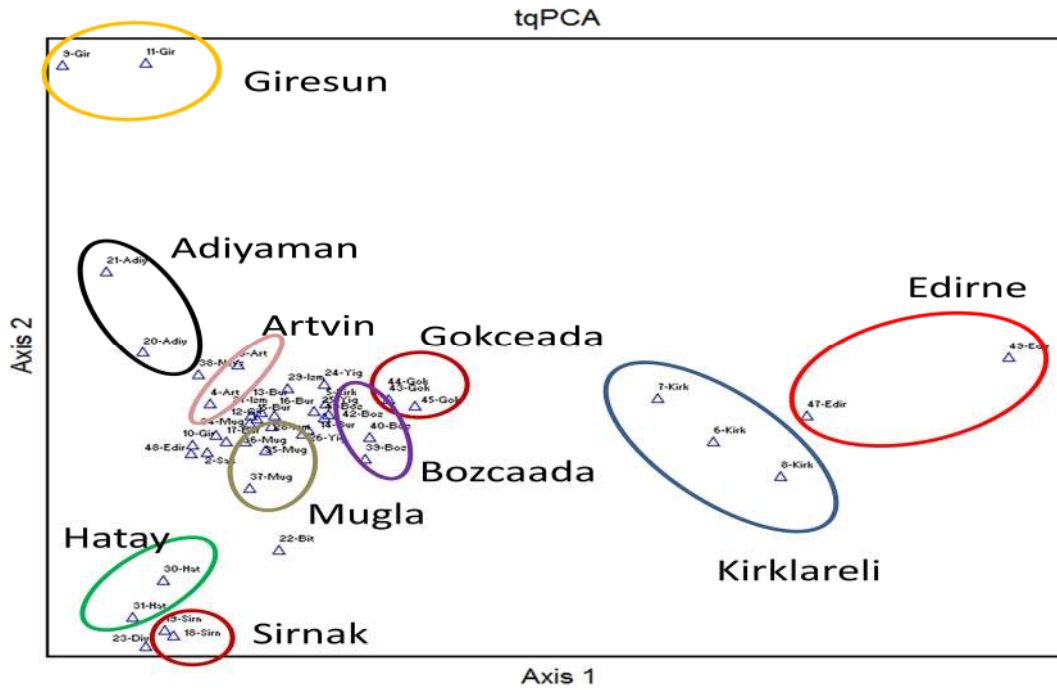
#### 4.2.2 ISSR ve SSR bulguları

Bal arısı bireylerinin genetik yakınlıklarına ait temel koordinat analizi grafiği Şekil 13'de verilmiştir. Buna göre Kırklareli yöresine ait örnekler diğer yörelere ait örneklerden belirgin bir şekilde ayrı olarak gruplanmışlardır.

Bu çalışmada Trakya'ya ait Kırklareli arıları Anadolu'ya ait populasyonlardan oldukça farklı bir kümede konumlanmışlardır. Bu sonuçlar SNP analizi sonuçları ile de uyum içerisindedir (Şekil 14).



Şekil 13.PCoA analizi sonuçları



Şekil 14 Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen 50 bal arısı kolonisinin 994 SNP bazına dayalı PCA analizi



Çalışılan mikrosatelit lokusları için allel çeşitliliği ve popülasyonlara göre genetik çeşitlilik verileri Tablo 10-12 arasında sunulmuştur. Kıyaslama kolaylığı açısından bir sütün içinde en küçük veriler beyaz en büyük veriler kırmızı olacak şekilde renk skalası uygulanmıştır.

**Tablo 10.** Lokus temelli allel çeşitliliği

Lokus	Allel sayısı	Efektif allel sayısı	Özel allel sayısı	Allel zenginliği	Bilgilendirme endeksi	Gözlenen homozigotluk
A007	46	19,0	11	11,6	3,3	0,05
A014	9	2,2	3	3,2	1,0	0,45
A028	8	1,3	4	2,3	0,5	0,75
A043	13	2,0	5	3,8	1,1	0,50
A079	12	3,9	4	4,9	1,6	0,26
A088	13	2,8	4	3,9	1,3	0,36
A107	25	13,6	2	10,5	2,9	<b>0,07</b>
A113	23	9,3	7	8,3	2,4	0,11
A(B)024	8	2,5	2	3,5	1,1	0,39
A(B)124	16	4,8	4	6,4	2,0	0,21
AC006	8	1,2	2	2,2	0,5	0,80
AC306	11	3,5	3	4,3	1,4	0,29
AP001	33	4,7	7	7,1	2,2	0,21
AP019	8	1,6	2	2,9	0,8	0,64
AP043	33	7,6	6	8,5	2,5	0,13
AP049	13	1,9	4	3,9	1,1	0,52
AP068	9	2,8	2	4,5	1,4	0,35
AP218	6	1,1	3	1,8	0,3	0,87
AP223	6	3,1	1	3,9	1,3	0,33
AP226	7	1,3	3	2,4	0,5	0,79

AP238	6	1,8	3	2,3	0,7	0,57
AP243	11	1,2	6	2,4	0,5	0,81
AP249	11	3,6	1	5,2	1,6	0,28
AP273	4	1,8	1	2,1	0,7	0,56
AP288	7	1,7	2	3,2	0,8	0,59
AP289	40	10,7	5	9,9	2,9	0,09
HB-C16-01	40	16,8	2	11,5	3,2	0,06
HB-C16-02	35	3,7	10	7,2	2,2	0,27
HB-C16-05	5	2,8	1	3,1	1,1	0,36
<b>Ortalama</b>	<b>16,1</b>	<b>4,6</b>	<b>3,8</b>	<b>5,1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,40</b>

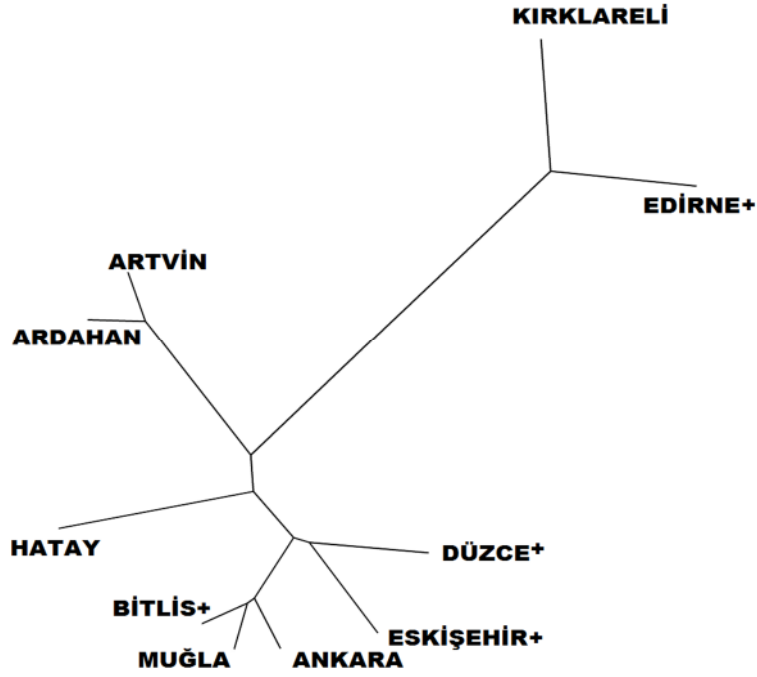
**Tablo 11.** Popülasyonlara göre allel varlığı

	Allel sayısı	Sık görülen allel sayısı	Efektif allel sayısı	Özel allel sayısı	Yerel olarak sık rastlanan allel sayısı
<b>KIRKLARELİ</b>	255	115	113	19	31
<b>EDİRNE+</b>	135	135	96	5	16
<b>DÜZCE+</b>	163	103	92	6	17
<b>ESKİŞEHİR+</b>	140	89	85	5	10
<b>ANKARA</b>	236	102	117	11	24
<b>MUĞLA</b>	245	102	123	14	27
<b>ARDAHAN</b>	209	89	101	13	19
<b>ARTVİN</b>	138	138	87	4	15
<b>BİTLİS+</b>	270	103	126	7	35
<b>HATAY</b>	287	101	130	26	32
<b>Ortalama</b>	<b>207,8</b>	<b>107,7</b>	<b>106,9</b>	<b>11,0</b>	<b>22,6</b>

**Tablo 12.** Popülasyonlara göre allel zenginliği

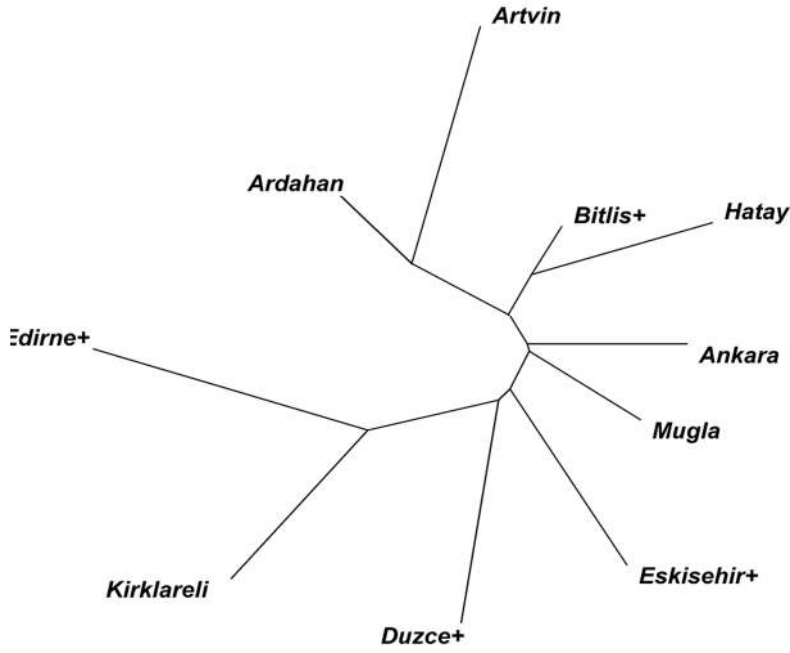
	Bilgilendirme endeksi	Gen çeşitliliği	Allel zenginliği
<b>KIRKLARELİ</b>	1,4	0,62	4,9
<b>EDİRNE+</b>	1,2	0,62	4,7
<b>DÜZCE+</b>	1,2	0,58	4,4
<b>ESKİŞEHİR+</b>	1,1	0,55	4,3
<b>MUĞLA</b>	1,3	0,55	4,6
<b>ANKARA</b>	1,3	0,58	4,8
<b>ARDAHAN</b>	1,1	0,50	4,2
<b>ARTVİN</b>	1,0	0,51	4,3
<b>BİTLİS+</b>	1,4	0,59	4,9
<b>HATAY</b>	1,4	0,60	5,1
<b>Ortalama</b>	1,2	0,57	4,6

Genetik uzaklıklar kullanılarak elde edilen filogenetik ağaçlar popülasyonlar arasındaki ilişkileri görselleştirmek için kullanılmıştır. Şekil 15 ve 16'da UPGMA ve Komşu Birleştirme yöntemleri kullanılarak hazırlanan köksüz filogenetik ağaçlar yer almaktadır. Trakya arıları Anadolu'daki tüm diğer arılardan belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Bunun yanı sıra Ardahan ve Artvin arılarının ayrı bir grup oluşturdukları, Hatay arılarının ayrı kümелendikleri ve Anadolu'nun geri kalan yörelerindeki arıların da kendi içlerinde bir grup oluşturdukları bu filogenetik ağaçlardan izlenebilir.



**Şekil 15.** Nei'nin genetik uzaklıkları kullanılarak oluşturulan köksüz UPGMA soyağacı

Bireylere ait genotipler kullanılarak yürütülen PCA ve FCA yöntemleri ile populasyonlar koordinat sisteminde iki boyutlu ve üç boyutlu biçimde gösterilmiştir. Şekil 17-20'de sabit kolonilere ait veriler ve tüm kolonilere ait veriler kullanılarak elde edilen şekiller yer almaktadır. Değişik bölgelerden arıların bu analizlerde de dört grup altında kategorileşebileceği görülmektedir. İlk grup Trakya arılarından, ikinci grup Anadolu arılarından, üçüncü grup Kafkas arılarından ve dördüncü grup Hatay arılarından oluşmaktadır.

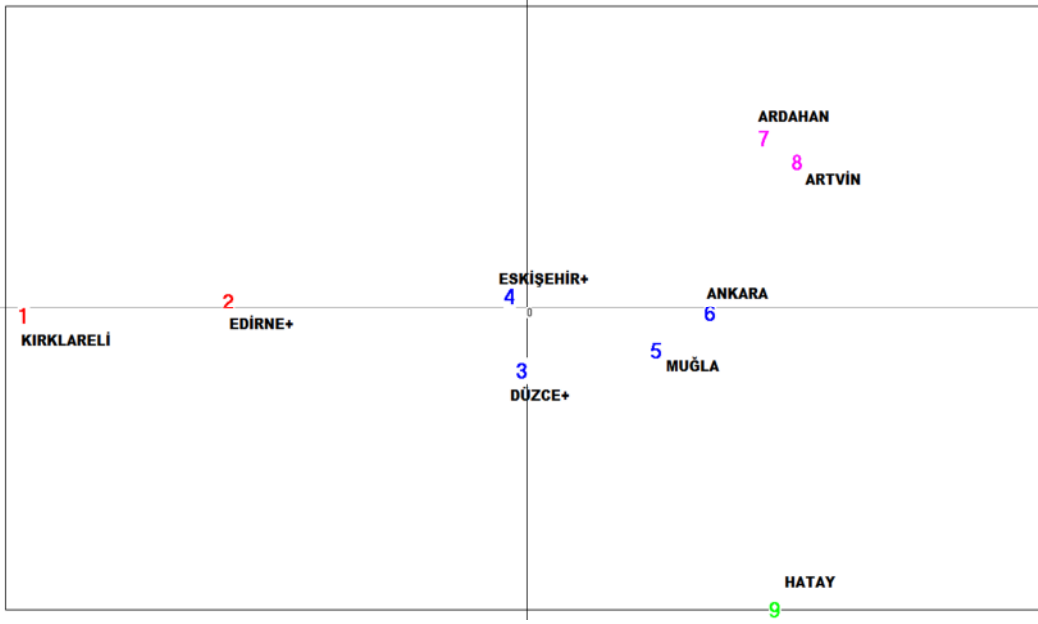


**Şekil 16.** Nei'nin genetik uzaklıkları kullanılarak oluşturulan köksüz Komşu Birleştirme ağacı

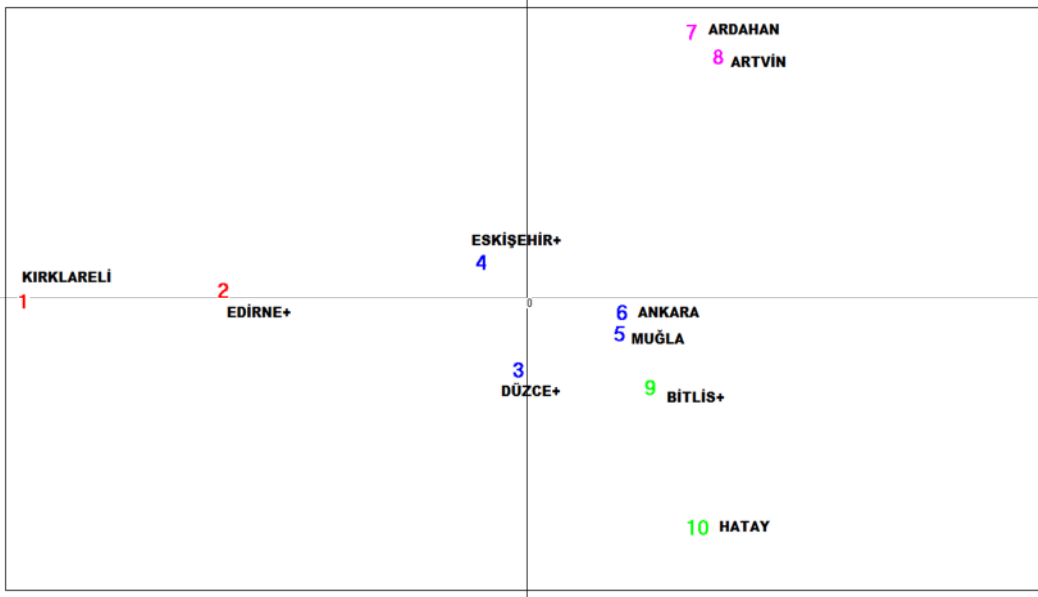
AMOVA sonuçlarına göre (Tablo 13) dört alttürün yayılım alanlarına denk düşen ve UPGMA soyağacında da takip edilebilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Trakya örnekleri ile Anadolu'nun kalanı kıyaslandığında da anlamlı fark görülmektedir. Bu sonuç daha sonra STRUCTURE programı aracılığıyla elde edilen bulgularla da desteklenmiş, öncelikli ayrımın Anadolu ve Trakya arı popülasyonları arasında olduğu görülmüştür.

**Tablo 13.** AMOVA sonuçları. İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlar \* ile işaretlenmiştir. \* sayısı anlamlılık seviyesine denk düşmektedir.

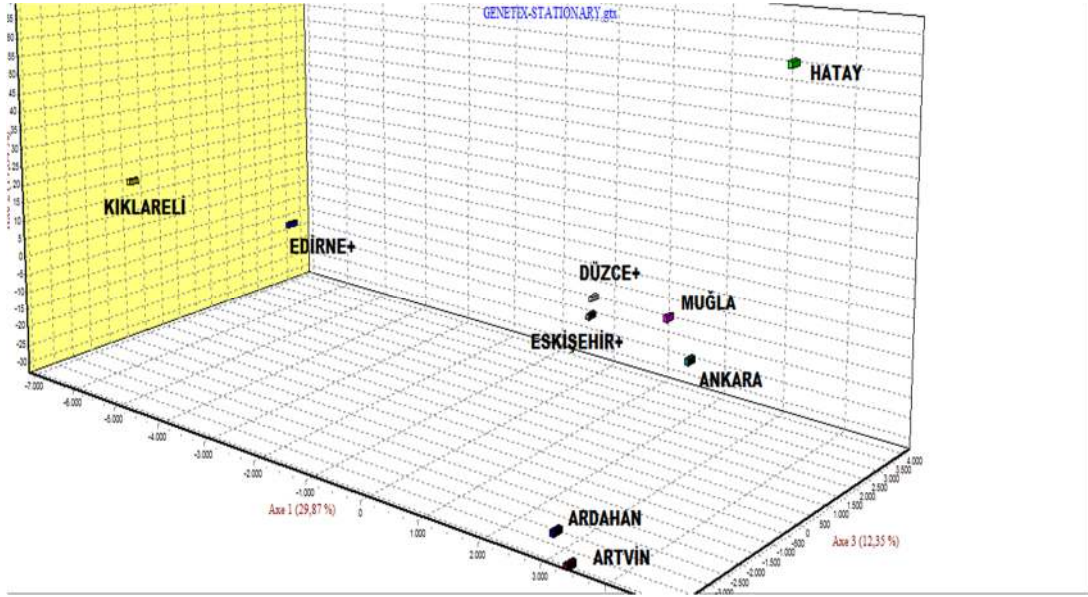
Grup	Gruplar arası varyasyon	Gruplar içindeki popülasyonlar arası varyasyon
4 AYRI GRUP	6,26***	1,23***
ANADOLU VS. TRAKYA	5,68*	3,83***



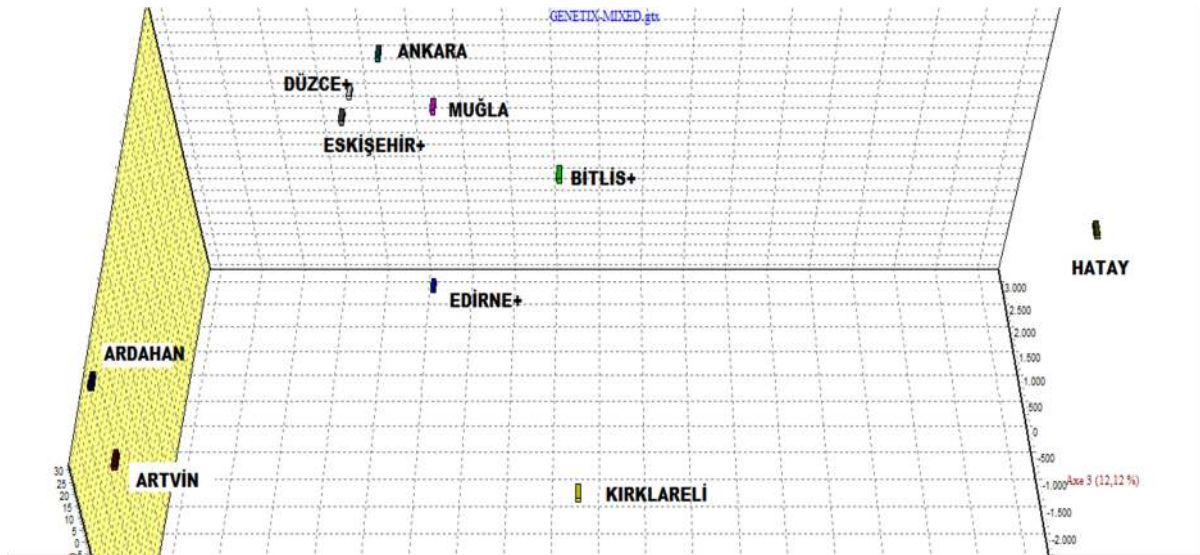
Şekil 17 Sabit kolonilerde PCA sonucu



Şekil 18. Tüm kolonilerde PCA sonucu



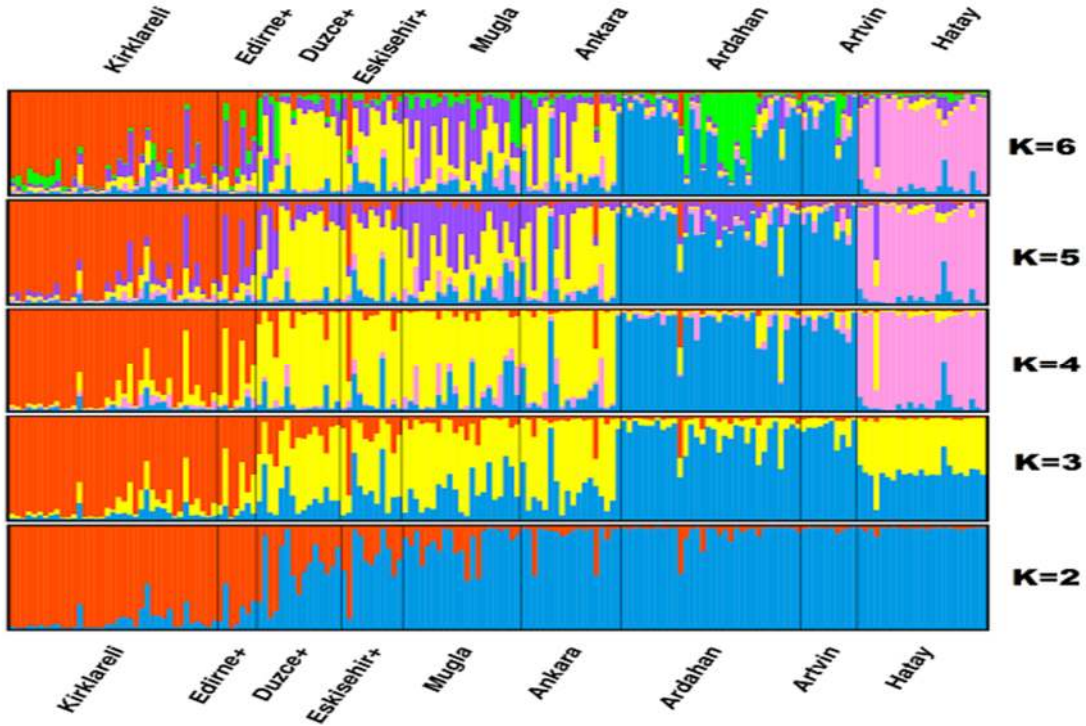
Şekil 19.Sabit kolonilerde FCA sonucu



Şekil 20.Tüm kolonilerde FCA sonucu

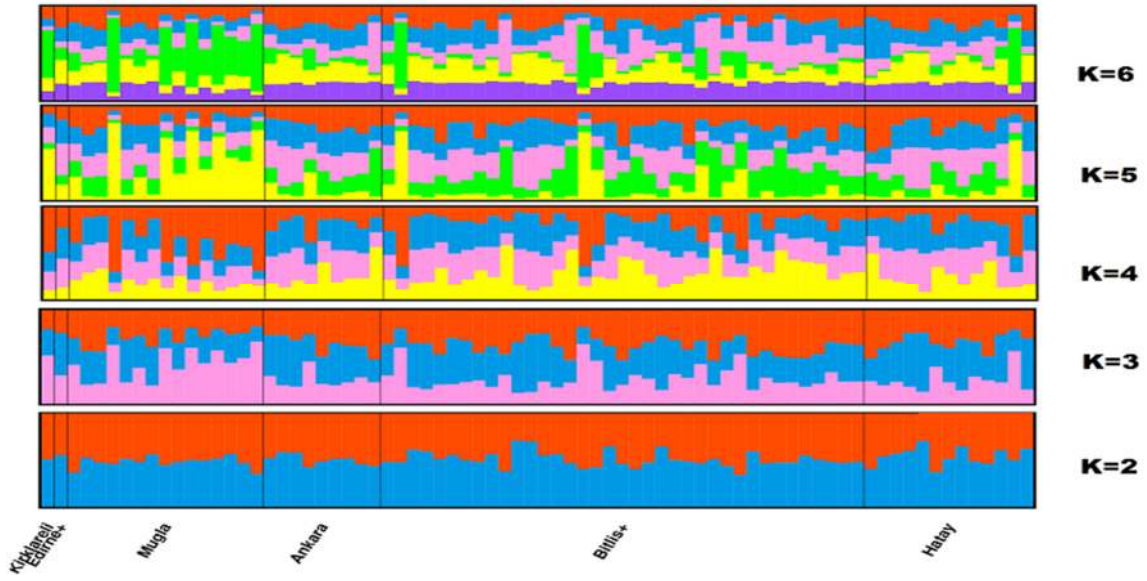
Genetik yapının ortaya konmasında STRUCTURE programından da yararlanılmıştır. Öncelikle değişik küme sayılarına denk düşen değişik K değerleri için program çalıştırılmış ve en olası K değerleri belirlenmiştir. Daha sonra en iyi K değeri için program tekrar çalıştırılmış ve bireylerin genotiplerinin hangi oranda hangi kümeye dâhil olduğu belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda K = 2 ve K = 4 değerlerinin en olası değerler olduğu belirlenmiş ve ikinci analiz K = 4 üzerinden yürütülmüştür. İstatistiki K = 2 değeri biyolojik olarak bal arılarının Balkanlar'da yayılmış bulunan C ve Yakınoğu'da yayılmış bulunan O kolları arasındaki bir ayrıma karşılık gelirken K = 4 değeri ise Türkiye'de görülen ve bu çalışmada da kullanılan dört farklı alttür (*Apis mellifera caucasica*, *A. m. anatoliaca*, *A. m. syriaca* ve Karniyol alttür grubundan bir ekotip) denk düşmektedir.

Şekil 21, 22 ve 23 sırasıyla sabit, göçer ve tüm arıcılara ait veriler kullanılarak yürütülen genetik yapı analizi sonuçlarını göstermektedir. Her ne kadar şekillerde K = 2'den K = 6'ya kadar olan kümeler verilmiş olsa da şekilleri incelerken bunların içinden K = 2 ve K = 4 değerlerinin en açıklayıcı parametreler olduğu akıldan çıkarılmamalıdır. Bunun yanı sıra genetik yapıyı anlamaya ilişkin daha açıklayıcı olan veriler sabit kolonilere ait verilerdir. Göçer arıcılara ve tüm arıcılara ait verileri içeren şekillere, takip eden istatistiksel karşılaştırmaları daha anlaşılır kılmak için yer verilmiştir.

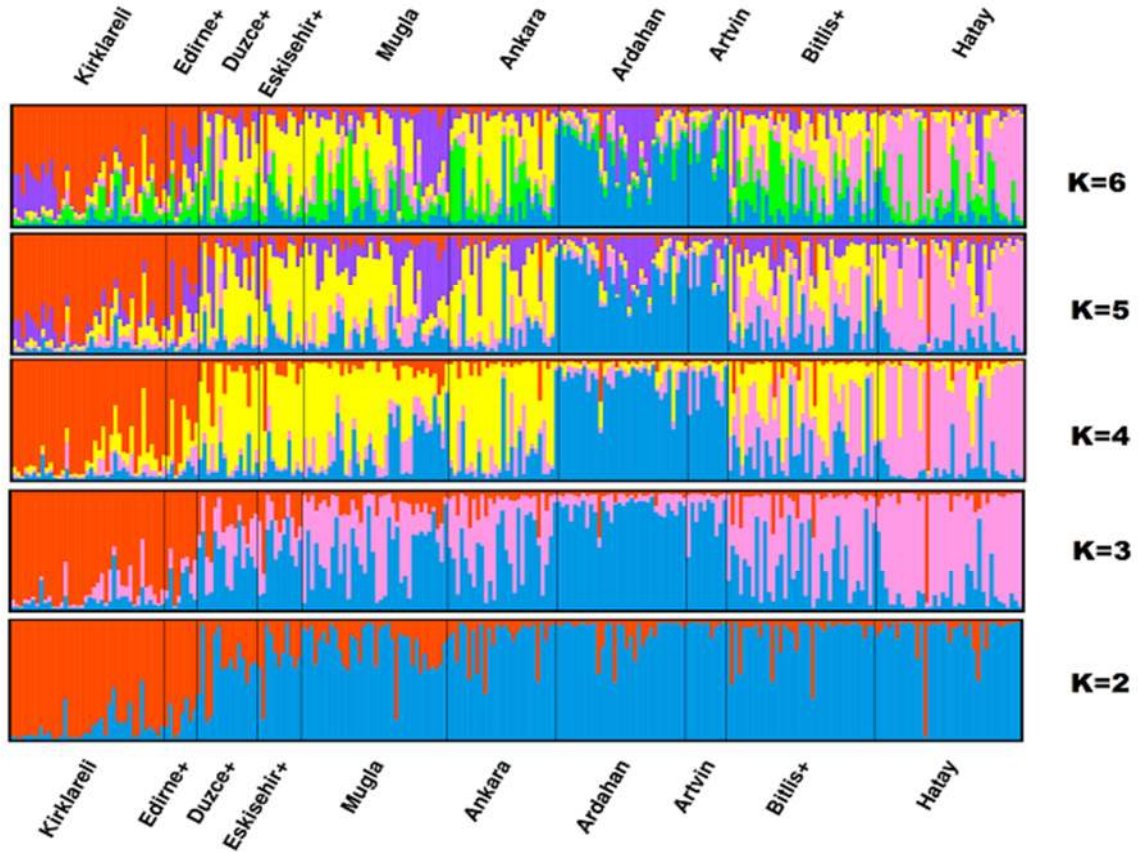


Şekil 21. Sabit kolonilerde bireylerin kümelere tayini





Şekil 22. Göçer arıcılara ait kolonilerde bireylerin kümelere tayini



Şekil 23. Tüm kolonilerde bireylerin kümelere tayini

Şekillerden de görüleceği üzere STRUCTURE programı bireylerde gözlenen genotipleri değişik kümelere tayin etmektedir. Bunun sonucu olarak tek bir birey genetik karışma ve gen akışı nedeniyle birden çok kümeye değişik oranlarda tayin edilebilmektedir. Bu oranlara üyelik katsayıları denmekte ve her bireyin hangi kümeden ne ölçüde etkilendiğini ortaya koymaktadır. Kırklareli ve Edirne+ bölgelerindeki bireyler ağırlıklı olarak turuncu kümeye; Düzce+, Eskişehir+, Muğla ve Ankara bölgelerindeki bireyler ağırlıklı olarak sarı kümeye; Ardahan ve Artvin bölgelerindeki bireyler ağırlıklı olarak mavi kümeye; Hatay bölgesindeki bireyler ağırlıklı olarak pembe kümeye atanmıştır. Ancak hemen her bireyde o ya da bu kümeden de belli ölçüde katkı gözlenmektedir.

Üyelik katsayıları kullanılarak yapılan bir dizi istatistiksel analiz aracılığıyla göçer arıcılığın, ana arı ve koloni satışlarının ve izole bölgelerin etkileri genetik olarak anlaşılma ve gösterilmeye çalışılmıştır. Üyelik katsayıları nihayetinde olasılıklara denk düştüğünden istatistiksel olarak daha sağlıklı karşılaştırmalar yapabilmek adına bu olasılıklar ark sinüs dönüşümüne tabi tutulmuştur. Karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi ve t testi kullanılmıştır.

Muğla, Ankara ve Hatay bölgelerindeki sabit ve göçer arıcılara ait kovanlardan örneklenen bireyler hem tek tek bu bölgeler için, hem bu üç bölgenin örnekleri bir araya getirilerek hem de tüm bölgeler için kıyaslanmıştır. Yapılan kıyaslamalar sonucunda sabit arıcıların kendi popülasyonlarına atanma olasılıkları ile göçer arıcıların kendi popülasyonlarına atanma olasılıkları arasında belirgin bir farklılık gözlenmiştir. Sabit arıcılar bariz bir biçimde kendi kümelerine daha yüksek oranda tayin edilmişleridir. Bunun tek istisnası göçer arıcılara ait kovanlardan alınan örneklerin sabit arıcılara ait kovanlardan alınan örneklere oranla kendi popülasyonlarına atanma oranının daha yüksek çıktığı Ankara bölgesidir. Tablo 14 yapılan bu karşılaştırmaları özetlemektedir.

**Tablo 14.**Göçer ve sabit arıcılarda yerel kümelere üyelik katsayıları arasında kıyaslamalar. Göçer ve Sabit kolonları göçer ve sabit arılıkları temsil eden örnek sayısını göstermektedir. (\*\*: P<0,1 ve \*\*\*: P<0,001)

	<b>Göçer</b>	<b>Sabit</b>	<b>Göçerlerde ortalama üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)</b>	<b>Sabitlerde ortalama üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)</b>	<b>İstatistiksel anlamlılık</b>
<b>Muğla</b>	15	21	0,46	0,71	**
<b>Ankara</b>	9	18	0,95	0,61	**
<b>Hatay</b>	13	23	0,45	1,06	***
<b>Üçü bir arada</b>	37	62	0,58	0,81	**
<b>Tüm örnekler</b>	76	174	0,62	0,88	***

Ardahan, Artvin ve Kırklareli illeri yasal kısıtlamalar ve yasaklar nedeniyle göçer arıcılığın geniş kapsamlı olarak yürütülmediği yerlerdir. Dolayısıyla bu bölgeler görece yalıtılmış bölgeler olarak kabul edildiğinde bölgeler arasında bir kıyaslama yapmak da mümkün olmaktadır.

Ardahan, Artvin ve Kırklareli bölgelerinden oluşan yalıtılmış bölgeler ile Edirne+, Düzce+, Eskişehir+, Muğla, Ankara ve Hatay bölgelerinden oluşan göçer arıcılığa açık bölgeler arasındaki kıyaslama yalıtılmış bölgelerde kendi kümesine atanma oranlarının çok daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Bu kıyaslamalardaki esas hedef göçer arıcılığın sabit koloniler üzerindeki etkisini ortaya koymak olduğundan yalnızca sabit koloniler analize dâhil edilmiştir. Dolayısıyla Bitlis+ bölgesinin örnekleri tamamen göçer arıcılardan oluştuğu için bu bölge analizin dışında bırakılmıştır. Tablo 15 bölgeler arasında yapılan karşılaştırmaları özetlemektedir.

**Tablo 15.**Yalıtılmış ve göçer arıcılığa açık bölgelerde yerel kümelere üyelik katsayıları arasında kıyaslamalar. Parantez içindeki rakam örnek sayısını göstermektedir. (\*\*\*: P<0,001)

Ortalama üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü) yalıtılmış bölgeler	Ortalama üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü) göçer arıcılığa açık bölgeler	İstatistiksel anlamlılık
0,99 (N=79)	0,79 (N=95)	***

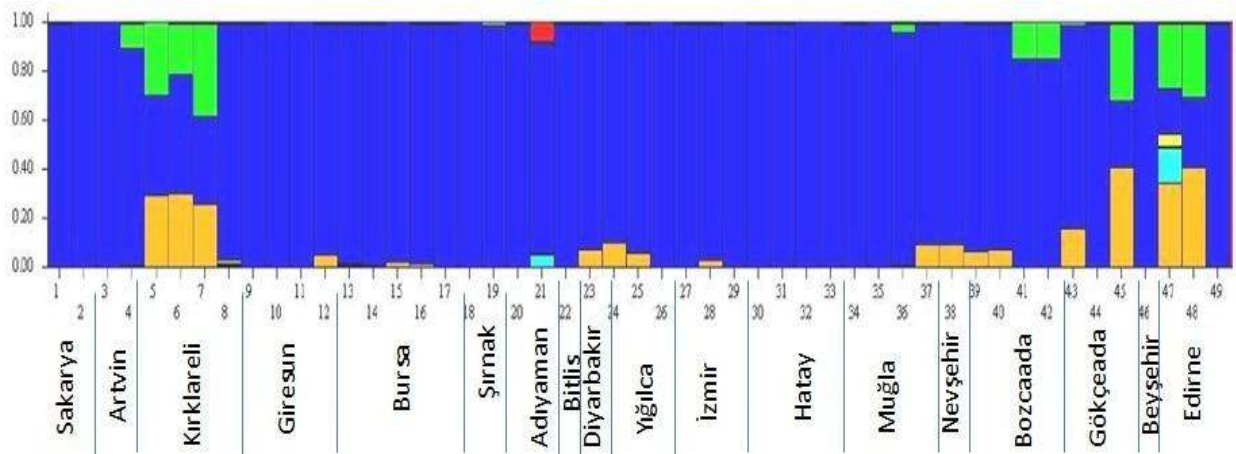
**Tablo 16.**Kendi popülasyonu dışında kalan kümelere üyelik katsayıları

Bölge	<i>anatoliaca</i> kümesine üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)	Karniyol kümesine üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)	<i>caucasica</i> kümesine üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)	<i>syriaca</i> kümesine üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)	Diğer kümelere toplam üyelik katsayısı (ark sinüs dönüşümü)
Kırklareli	0,097		0,032	0,029	0,158
Edirne+	0,302		0,044	0,035	0,381
Düzce+		0,098	0,077	0,034	0,209
Eskişehir+		0,119	0,122	0,041	0,282
Muğla		0,034	0,155	0,102	0,291
Ankara		0,038	0,227	0,083	0,348
Ardahan	0,079	0,026		0,041	0,146
Artvin	0,062	0,011		0,068	0,141
Hatay	0,072	0,012	0,068		0,152
<b>Ortalama</b>	<b>0,096</b>	<b>0,042</b>	<b>0,098</b>	<b>0,053</b>	

Koloni ve ana arı satışlarının etkisini göstermek için ise sabit arıcılara ait kovanlardan alınan bireylerin kendi popülasyonlarının dışındaki kümelere atanma oranları kıyaslanmıştır. Bu şekilde bir bireyin kendi kümesinin dışında hangi kümelere ne oranda etkilendiği belirlenmiş ve farklı kümelerin doğal olarak bulunmadıkları popülasyonları etkileme oranları ile ilgili sonuçlara ulaşılmıştır. Bulgular Tablo 16'da gösterilmiştir

### 4.2.3 SNP analizi

Türkiye dünyadaki toplam 25 bal arısı alttüründen 5'ine sahiptir ve dolayısıyla dünyadaki bal arısı genetik çeşitliliğin %20'sini sahiptir. Yapılan çalışmada Türkiye'den toplanan bal arısı örnekleri üzerinde toplam 994 moleküler işaretleyici test edilmiştir. Çalışmada Türkiye genelinden 2009 yılında toplanan bal arısı örnekleri üzerinde TNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi – SNP) analizi yapılmıştır. Örneklerden DNA özütlemesi ve TNP analizi Porto Riko Üniversitesi'nden Dr. Tuğrul Giray'ın laboratuvarında yapılmıştır.

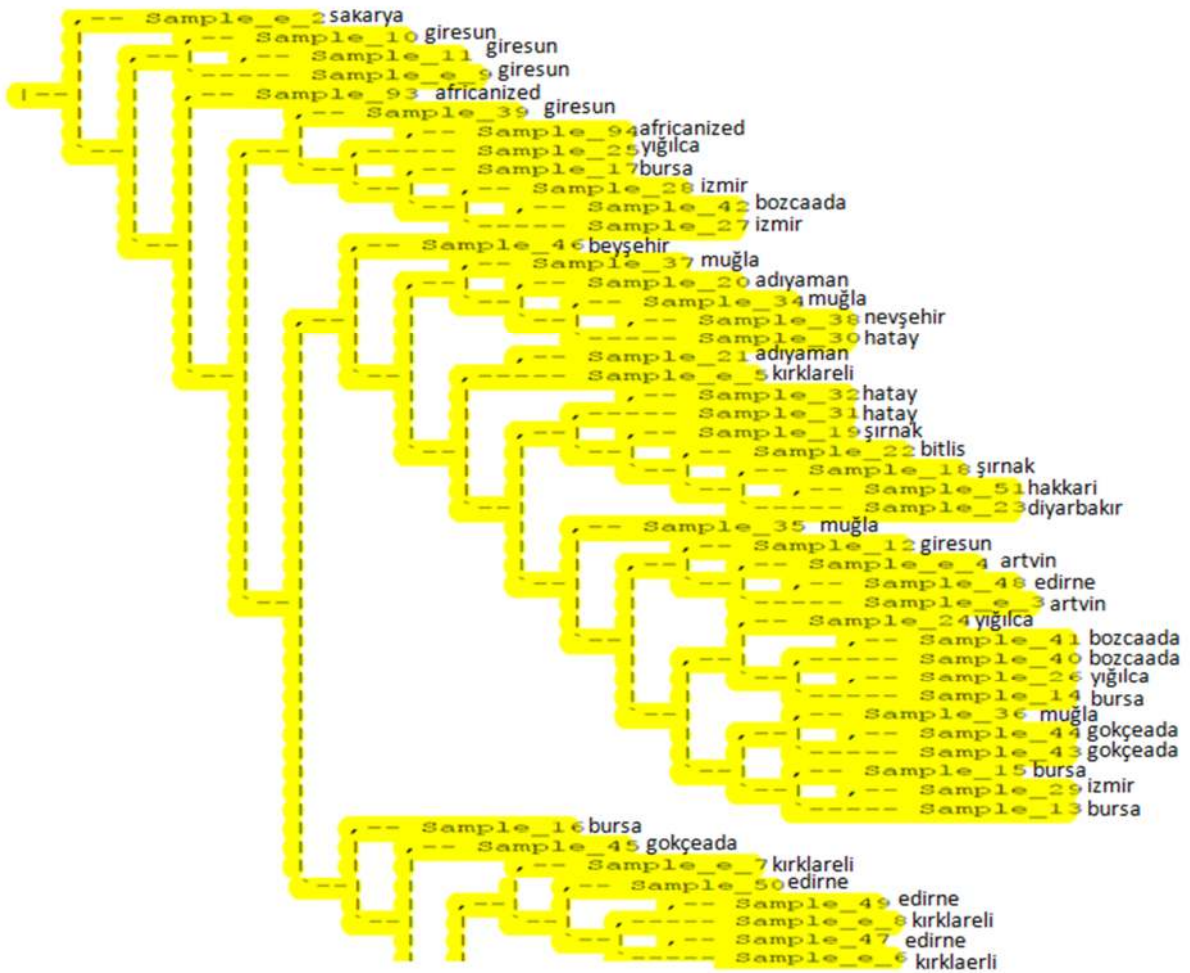


**Şekil 24.** Farklı populasyonlardan toplanan 50 Türkiye bal arısı ile bir Afrika-Avrupa melez arısının karşılaştırılmasının 994 TNP bazında yapısal analizi. Aynı renkler ortak alelleri göstermektedir. Kırmızı renk Afrika-Avrupa benzer alellerin işaret etmektedir.

Karşılaştırmalı analiz sonuçlarına göre Türkiye bal arıları diğer populasyonların kontrol arılarından farklıdır. Bu farklılık Şekil 24'de koyu mavi renkle gösterilen ortak alel olasılığı ile belirtilmiştir. Afrika-Avrupa alelleri 2'den 51'e kadar numaralandırılmış 50 Türkiye bal arısında bulunmamaktadır. Sadece bir arı, 22 numara, az miktarda Afrika-Avrupa benzeri alellere sahiptir. Türkiye bal arılarının tam olarak güney ve batıdaki gruplardan ayrıştığı söylenebilir. Bu durumun temel sebebi analizlerde kullanılan SNP çiplerinin daha çok Amerika'da varlığını sürdüren bal arısı kolonilerinin genetik yapısındaki Afrikanizasyon etkisini ölçmek için tasarlanmış çipler olmasıdır. Bu nedenle, kullanılan SNP çipleri Türkiye bal arılarındaki genetik varyasyonu istenilen düzeyde tespit edememiştir. Bunun yanı sıra, şekilde kahverengi, koyu mavi ve yeşil ile gösterilen alellerin kombinasyonu ile tanımlanan farklı bal

arıları saptanmıştır. Bu kombinasyon Kırklareli arılarının imzasını tanımlamaktadır. 5, 6, 7 ve 8. numaralar Kırklareli örnekleridir. Bu kolonilerden üçü Kırklareli arısının imzasını taşımaktadır. Aynı imza Edirne'deki melez bölgeden örneklenen 5 koloninin (46, 47, 48, 49, 50) sadece ikisinde bulunmaktadır. Dolayısıyla bulgu Kırklareli bölgesindeki *Apis mellifera carnica* altürü için öngörülen tanıma uymaktadır.

Melezleşmeden şüphelenilen bölgelerde Anadolu bal arısı alelleri daha yüksek miktarlarda saptanmıştır. Saf Anadolu alelleri Sakarya gibi bölgelerden ve ayrıca bilinen *Apis mellifera caucasica* bölgelerinden toplanan arılarda tespit edilmiştir. Bunun nedeni, *A.m. caucasica* ile *A.m. anatoliaca*'nın birbirlerine *A.m. carnica*'ya olduğundan daha yakın olmalarıdır. Farklı popülasyonların daha detaylı ilişkisi Şekil 25'deki filogeni analizi ile netleştirilmiştir.

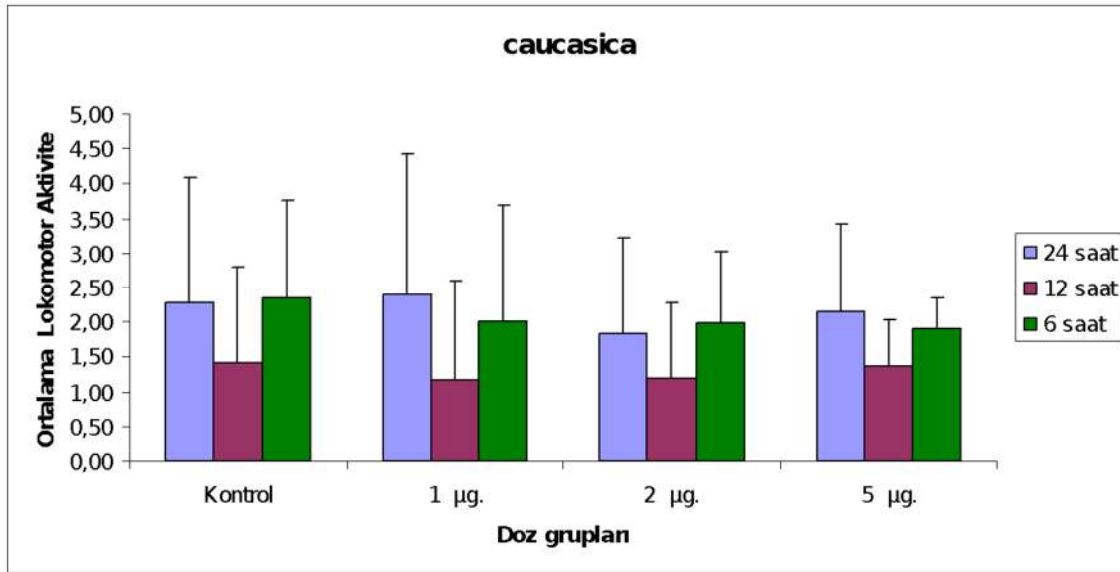


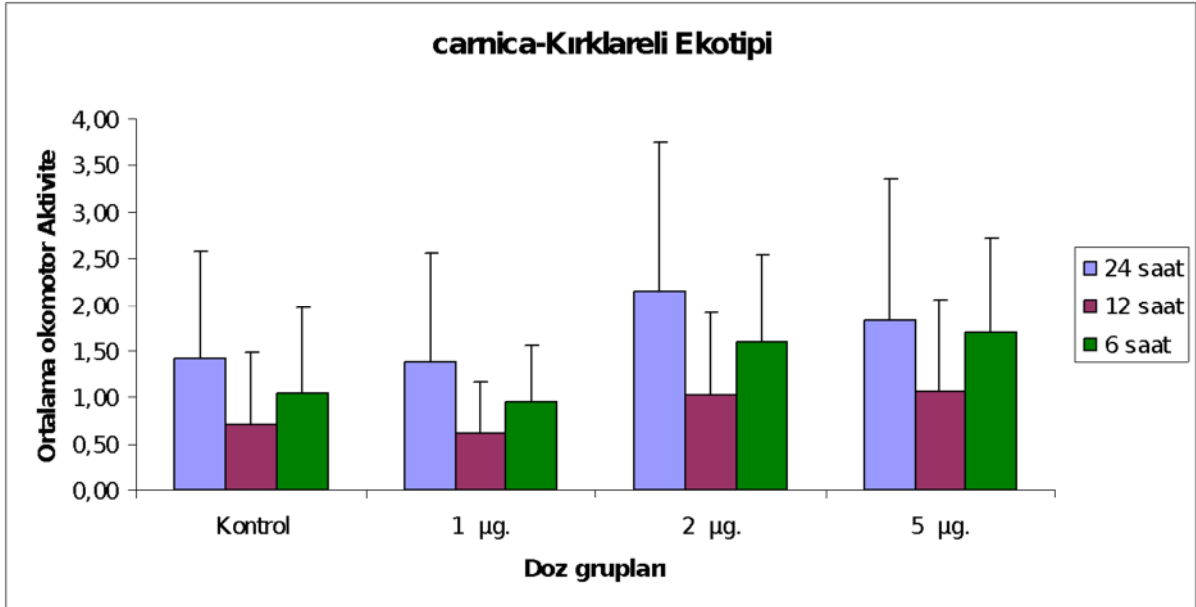
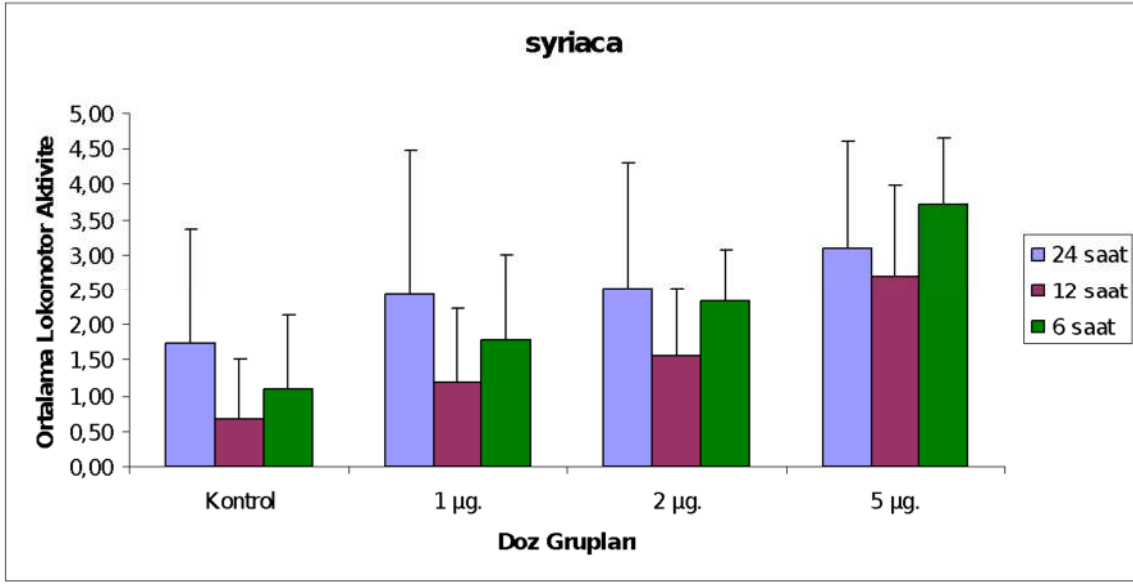
**Şekil 25.** SNP sonuçlarına göre elde edilen uzaklık matrisi kullanılarak çizilen bir filogenetik ağaç. Anadolu arılarının hepsi üst kümelenmede yer aldığı halde Edirne ve Kırklareli arıları altta ayrı bir küme oluşturmaktadır.



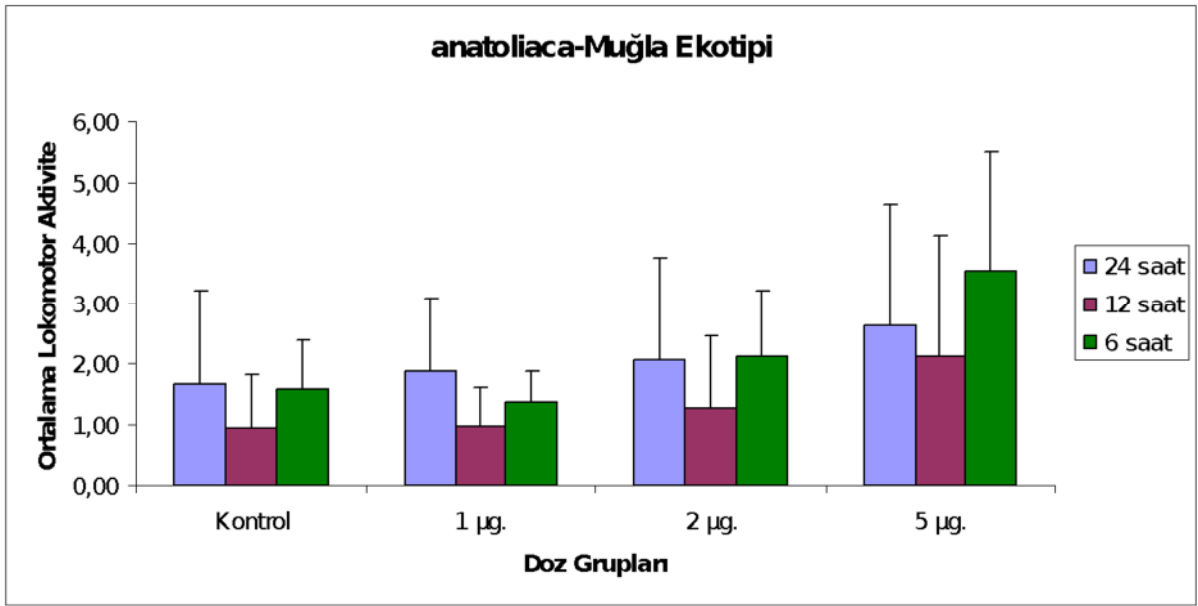
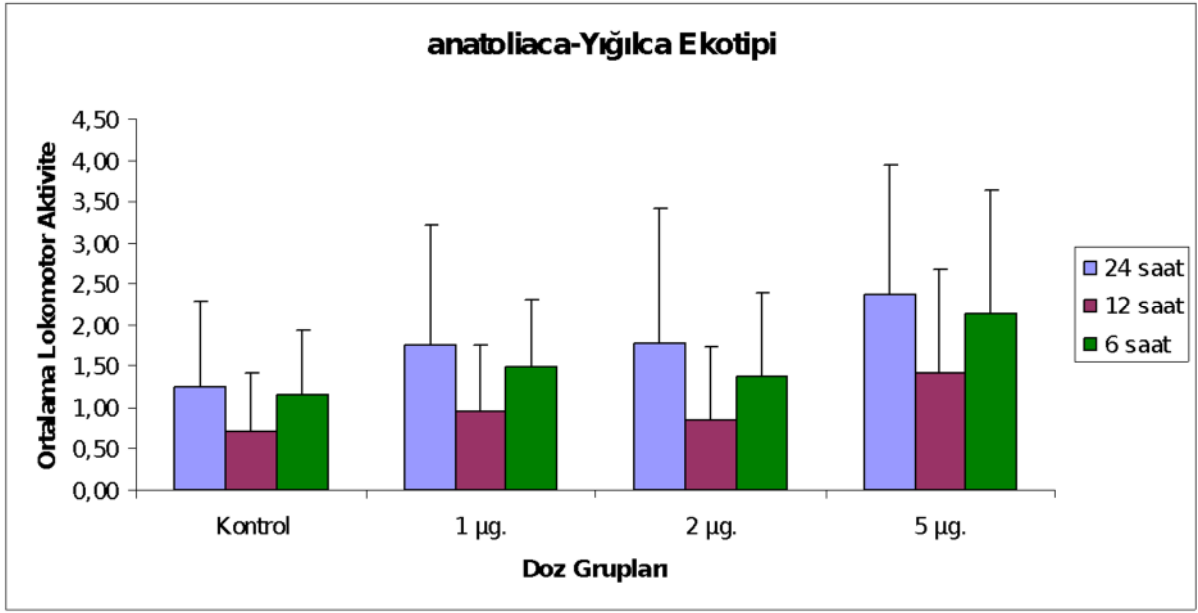
### 4.3 Perizin Etkisi Bulguları

Şimdiye kadar ırk ve ekotiplerle yapılan lokomotor aktivite deneylerinin 6, 12 ve 24 saatlik ortalama verileri Şekil 26'da gösterilmiştir. Bütün alttür ve ekotiplerde her bir doz grubunda 12 saatlik ortalama lokomotor aktivite verilerinin ortalamasının 6 ve 24 saatlik ortalamalara göre düşük olduğu görülmüştür. Ancak yüksek standart sapmalar dolayısıyla bu fark hiçbir doz grubunda anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Bunun yanısıra kontrol grupları karşılaştırıldığında da ırk ve ekotipler arası doğal aktivitede anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Alttür ve ekotiplerin her birinin perizin gruplarının 6, 12 ve 24 saatlik lokomotor aktivite ortalama verilerinin kontrol grupları karşılaştırılması sonucu *syriaca* alttüründe 2 µgr. perizin grubunun 12 saatlik aktivite verisi ile 5 µgr grubunun 12 ve 24 saatlik aktivite verileri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.005$ ; Tablo 17). Bunun yanısıra *anatoliaca* alttürünün Muğla ekotipinin 6 saatlik ortalama lokomotor aktivitesi de kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.005$ ; Tablo 17).









**Şekil 26.5** arı altürü ve üç ekotipe ait işçi arı bireylerinin 6,12 ve 24 saatlik ortalama  $\pm$  Standart sapma lokomotor aktivite(sensörden geçiş sayısı/dak.) verileri

**Tablo 17.**Alttür ve ekotiplere ait perizin doz gruplarının 6,12, 24 saatlik ortalama lokomotor aktivite verilerinin kontrol grupları ile karşılaştırılmasının tek yönlü ANOVA p değerleri \*  $P < 0.05$

Alttür	Dozlar			
	Süre	Control x 1µgr.	Control x 2µgr	Control x 5µgr
<i>Caucasica</i>	6 saat	0,716	0,614	0,495
	12 saat	0,667	0,636	0,888
	24 saat	0,807	0,302	0,741
<i>Syriaca</i>	6 saat	0,306	0,036	0,009
	12 saat	0,197	0,02*	0,001*
	24 saat	0,116	0,060	0,004*
<i>carnica- Kırklareli ekotipi</i>	6 saat	0,827	0,343	0,277
	12 saat	0,711	0,366	0,330
	24 saat	1,000	0,055	0,240
<i>anatoliaca- Yığılca ekotipi</i>	6 saat	0,475	0,672	0,197
	12 saat	0,432	0,711	0,107
	24 saat	0,092	0,206	0,057
<i>anatoliaca- muğla ekotipi</i>	6 saat	0,614	0,334	0,046*
	12 saat	0,921	0,446	0,078
	24 saat	0,366	0,319	0,069

#### 4.4 İmidaklopid Etkisi Bulguları

Dozlar ve ırkların faktörleri olduğu iki-yönlü varyans analizlerinden elde edilen  $p$ -değerlerinin özeti Tablo 4’de gösterilmiştir. Varyans analizleri 1, 3, 6, 12 ve 24 saatlik lokomotor aktivite verileri üzerinde yapılmıştır (Tablo 18).

**Tablo 18.** İki-yönlü varyans analizinde elde edilen  $p$ -değerleri. Kontrol grubu ve 5, 10, 50 ppb imidaklopid ile beslenen işçi arılar arasındaki aktivite farkları ilk 3, 6 ve 12 saatlik veriler için anlamlı sonuçlar vermemiştir. Farklı ırklar ise ilk 3 saatlik periyot hariç bütün periyotlar için anlamlı bir biçimde farklı aktivite göstermiştir. İlk 1 ve 3 saatlik periyotlar dışında hiçbir periyot için doz ve ırk arasında bir etkileşim tespit edilmemiştir. \*  $p < 0.05$

	Dozlar	İrklar	Dxl
1 Saat	0.078*	0.008*	0.018*
3 Saat	0.551	0.197	0.014*
6 Saat	0.912	0.030*	0.105
12 Saat	0.842	0.009*	0.454
24 Saat	0.013*	0.001*	0.105

24 saatlik lokomotor aktivite verilerine göre hem ırklar hem de dozlar arasında lokomotor aktivite yüksek düzeyde anlamlı bir biçimde farklı bulunmuştur. 24 saatlik verilere göre, doz ve ırk etkileşimi (Dxl) anlamlı bulunmamıştır. Buna göre ırkların farklı imidaklopid dozlarına tepkileri değişmemiştir.

İrkların kontrol grubu arıları ile 5, 10 ve 50 ppb doz uygulanan arılar bazında 24 saatlik izleme periyodu içinde ilk 1, 3, 6, 12 ve 24 saatte gösterdikleri *dakikalık ortalama aktivite* Tablo 19’ da verilmiştir. Sonuçlara göre imidaklopid uygulamasından sonraki ilk 24 saatte Suriye arıları hariç diğer bütün ırklar 50 ppb altındaki dozlardan olumsuz yönde

etkilenmektedir. Suriye arılarında ise 50 ppb ve altındaki imidaklopid dozları tüm izleme periyodu boyunca lokomotor aktiviteyi artırıcı etki yapmaktadır.

**Tablo 19.** Irkların kontrol grubu ve imidaklopid (5, 10 ve 50 ppb) uygulanan arılar bazında izleme periyodu içinde ilk 1, 3, 6, 12 ve 24 saatte gösterdikleri *dakikalık ortalama aktivite* verileri. Her kolon farklı bir ırkı temsil etmektedir. Her satır ise farklı bir izleme periyodunu temsil etmektedir. Satırlar yukarıdan aşağıya sırasıyla 1, 3, 6, 12 ve 24 saatlik izleme periyodunu temsil etmektedir.

Karniyol

Kafkas

Suriye

Muğla

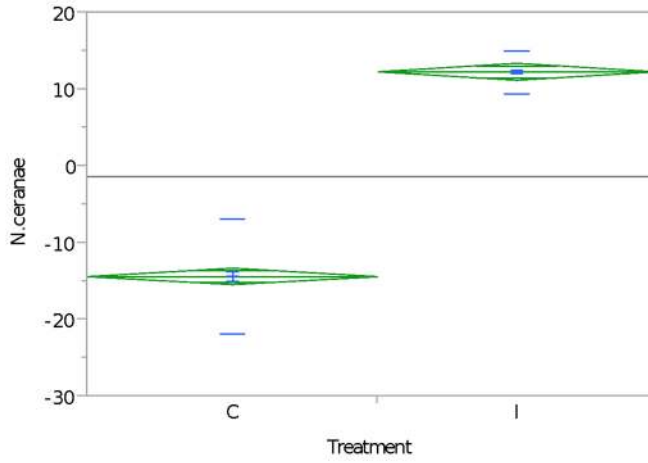
Yığılca



#### 4.5 Nosema Ceranae ile Enfekte arılarda Gen Ekspresyonu Bulguları

Tek yönlü ANOVA analizine göre *N. ceranae* ile yapılan enfeksiyonun etkili olduğu görülmüştür ( $p \leq 0.0001$ ) (Şekil 27) (Tablo 20 ve 21). Kontrol ve enfekte arılar

karşılaştırıldığında, çalışmaya dahil olan tüm alt türlerde *N. ceranae* mRNA ekspresyonu anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (Şekil 28) (Tablo 22 ve 23). Alt türler arasında en fazla *N. ceranae* ekspresyonu Suriye arısında, en düşük ekspresyon seviyesi ise Yığılca arısında gözlenmiştir ( $t$ - test,  $p = 0.0239$ ). Suriye arısından sonra sırasıyla Muğla, Kafkas ve Karniyol alt türleri yüksek *N. ceranae* ekspresyon değerlerine sahiptir. Irk ve enfeksiyon uygulaması faktörleri arasındaki ilişkinin *N. ceranae* gen ekspresyonu üzerindeki etkisi ayrıca iki yönlü varyans analizine göre de değerlendirilmiştir ve anlamlı bir sonuç elde edilmiştir (SS = 2012.09,  $F$  oranı = 28.9,  $p < .0001$ ). *N. ceranae* transkriptdeğerleri ırk ve enfeksiyon uygulama etkisinin her biri ile anlamlı düzeyde bir korelasyon göstermiştir ( $p < .0001$ ).



**Şekil 27.** Normalize edilmiş *N. ceranae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

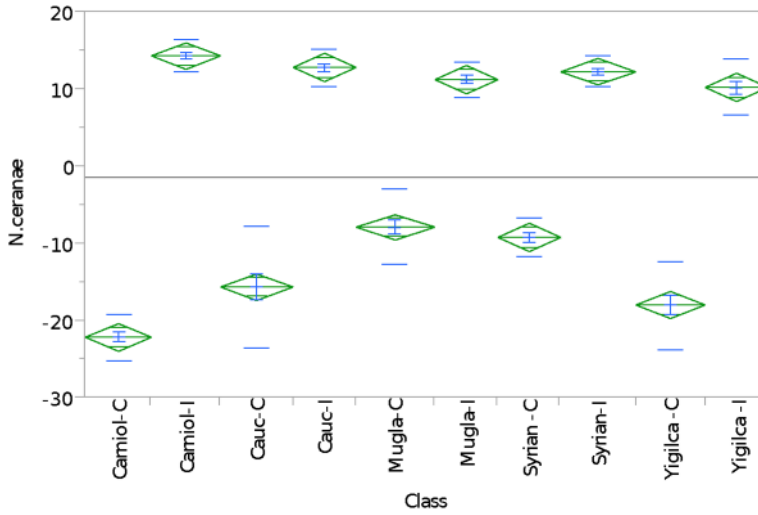
**Tablo 20.** *N. ceranae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F

Enfeksiyon uygulaması	1	38513.232	38513.2	1186.159	<.0001*
Hata	215	6980.804	32.5		
C.Total	216	45494.036			

**Tablo 21.** *N.cerenae* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzyey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı% 95
Kontrol	-14.382	0.54084	-15.45	-13.32
Enfekte	12.270	0.55345	11.18	13.36



**Şekil 28.** Normalize edilmiş *N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 22.** *N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler	Kareler	F oranı	Olasılık>F
--------	----	---------	---------	---------	------------

		toplamı	ortalaması		
Irklar	9	41898.486	4655.39	268.0161	<.0001*
Hata	207	3595.550	17.37		
C.Total	216	45494.036			

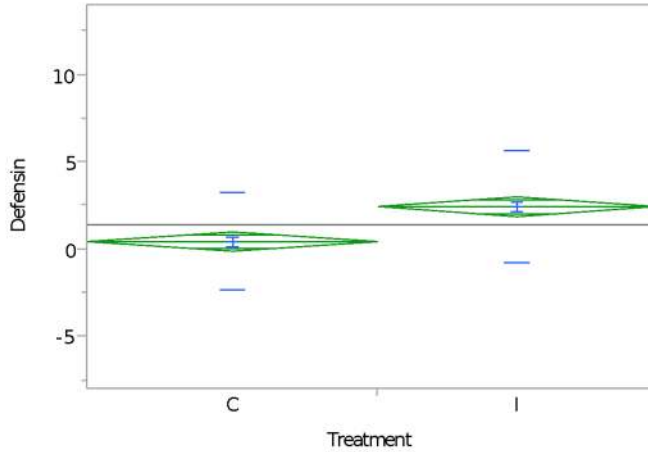
**Tablo 23.***N.cerenae* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzyey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol-C	-22.113	0.90947	-23.91	-20.32
Karniyol-I	14.350	0.88856	12.60	16.10
Kafkas-C	-15.583	0.86903	-17.30	-13.87
Kafkas-I	12.878	0.93193	11.04	14.72
Muğla-C	-7.835	0.83354	-9.48	-6.19
Muğla-I	11.303	0.93193	9.47	13.14
Suriye -C	-9.158	0.93193	-11.00	-7.32
Suriye-I	12.333	0.85073	10.66	14.01
Yığılca -C	-17.934	0.88856	-19.69	-16.18
Yığılca -I	10.263	0.93193	8.43	12.10



#### 4.5.1 Defensin Geni Ekspresyon Sonuçları

Defensin ekspresyonu *N. ceranae* enfeksiyonundan sonra anlamlı bir şekilde artış sergilemiştir (ANOVA,  $p < .0001$ ) (Şekil 29) (Tablo 24 ve 25). Kafkas ( $t$ -test,  $p = 0.0042$ ), Karniyol ( $t$ -test,  $p = 0.0053$ ), Suriye ( $t$ -test,  $p = 0.0048$ ) ve Yığılca ( $t$ -test,  $p = 0.0102$ ) alttürlerinde *N. ceranae* enfeksiyonundan 6 gün sonra defensin transkript düzeylerinde hızlı bir yükseliş kaydedilmiştir. Muğla ekotipine ait kontrol ve enfekte arılar arasında defensin ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Defensin mRNA düzeylerinde en fazla artış Kafkas ırkında gözlenmiştir ( $p = 0.0004$ ) (Şekil 30) (Tablo 26 ve 27). Bu artış Kafkas ırkından sonra sırasıyla Yığılca, Suriye, Karniyol ırklarında görülmüştür. Irklar arasındaki ikili farklılıklar  $t$ -testine göre değerlendirilmiştir. İki yönlü varyans analizine göre defensin transkript düzeyleri ırk (SS = 211.2,  $F$  oranı = 6.5,  $p < .0001$ ) ve enfeksiyon uygulaması (SS = 223.9,  $F$  oranı = 27.4,  $p < .0001$ ) gibi faktörlerin her biri ile güçlü bir korelasyon göstermiştir. Karniyol (0.3939,  $p = 0.0068$ ), Suriye (0.4451,  $p = 0.0019$ ) ve Yığılca (0.3895,  $p = 0.0082$ ) alttürlerinde *N. ceranae* ve defensin transkript değerleri arasında korelasyon saptanmıştır. Defensin düzeyleri apidaecin geni ifade düzeyleri ile Karniyol (0.7411,  $p < .0001$ ) Kafkas (0.7299,  $p < .0001$ ), Suriye (0.6798,  $p < .0001$ ), Muğla (0.3970,  $p = 0.0052$ ) ve Yığılca (0.7411,  $p < .0001$ ) alttürlerinde korelasyon göstermiştir.



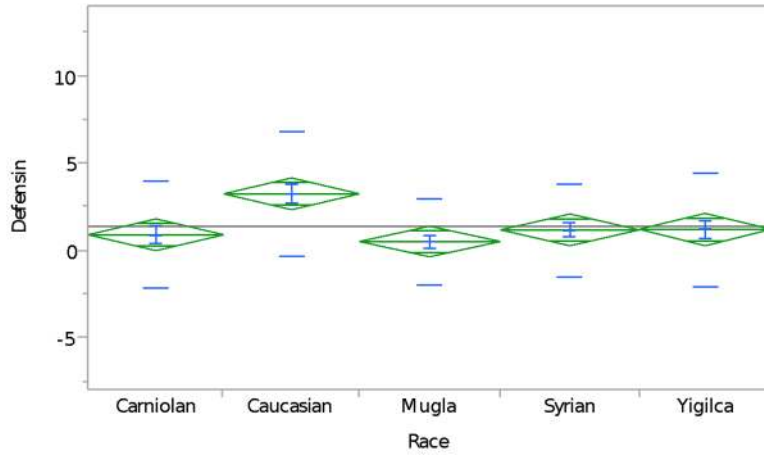
**Şekil 29.** Normalize edilmiş *defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

**Tablo 24.** *Defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	1	216.2335	216.233	24.1035	<.0001*
Hata	215	1928.7698	8.971		
C.Total	216	2145.0033			

**Tablo 25.** *Defensin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Kontrol	0.44829	0.28429	-0.112	1.0086
Enfekte	2.44528	0.29092	1.872	3.0187



**Şekil 30.** Normalize edilmiş *defensin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 26.** *Defensin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Irklar	4	196.8768	49.2192	5.3562	0.0004*
Hata	212	1948.1265	9.1893		
C.Total	216	2145.0033			

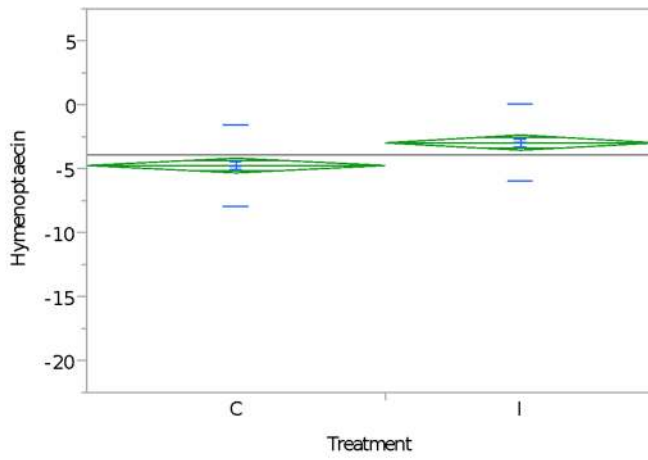
**Tablo 27.**Defensin gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzye	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol	0.93279	0.46228	0.022	1.8440
Kafkas	3.27349	0.46228	2.362	4.1847
Muğla	0.53689	0.45189	-0.354	1.4277
Suriye	1.19932	0.45700	0.298	2.1002
Yığılca	1.21810	0.46775	0.296	2.1401

#### 4.5.2 Hymenoptaecin Geni Ekspresyon Sonuçları

Tüm arı ırklarında *N.ceranae* enfeksiyonu ile birlikte hymenoptaecin gen ekspresyon düzeylerinde kontrol ve enfekte arılar kıyaslandığında anlamlı düzeyde bir artış görülmüştür (ANOVA,  $p < .0001$ ) (Şekil 31 ve 32) (Tablo 28-31). Hymenoptaecin düzeylerindeki artış Yığılca ( $t$ - test,  $p < .0001$ ) ve Karniyol ( $t$ - test,  $p = 0.0013$ ) alttürlerinde anlamlıdır. Irklar arasındaki farklılıklar kıyaslandığında, Muğla, Karniyol ve Kafkas alttürleri Yığılca ve Suriye arılarına göre daha fazla yükseliş göstermişlerdir, fakat bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. İki yönlü varyans analizine göre hymenoptaecin ekspresyon değerleri üzerinde ırk ve enfeksiyon faktörlerinin korelasyon halindeki bir etkisi söz konusudur (SS = 96.1,  $F$  oranı = 2.7,  $p = 0.0338$ ). Diğer yandan hymenoptaecin transkript

değerleri *N. ceranae* enfeksiyon uygulaması faktörü ile ırk etkisine nazaran daha fazla korelasyon göstermiştir (SS = 168.3,  $F$  ratio = 18.6,  $p < .0001$ ). Hymenoptaecin ve abaecin Karniyol (0.3222,  $p = 0.0290$ ), Kafkas (0.3786,  $p = 0.0095$ ), Suriye (0.3210,  $p = 0.0296$ ), Yığılca (0.3848,  $p = 0.0091$ ) ırklarında korelasyon sergilemiştir. Aynı zamanda, Karniyol (0.8429,  $p < .0001$ ), Kafkas (0.3562,  $p = 0.0151$ ), Suriye (0.8310,  $p < .0001$ ), Yığılca (0.7411,  $p < .0001$ ) ve Muğla (0.5234,  $p = 0.0001$ ) ırklarında hymenoptaecin ve defensin düzeyleri arasında korelasyon saptanmıştır.



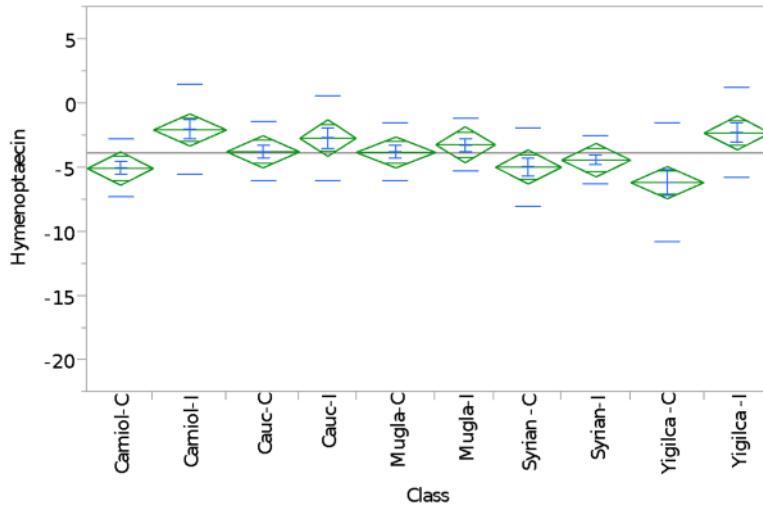
**Şekil 31.** Normalize edilmiş *hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

**Tablo 28.** *Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	1	164.6783	164.678	17.3964	<.0001*
Hata	204	1931.1132	9.466		
C.Total	205	2095.7915			

**Tablo 29.** *Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Kontrol	-4.6910	0.29606	-5.275	-4.107
Enfekte	-2.9007	0.31080	-3.513	-2.288



**Şekil 32.** Normalize edilmiş *hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 30.** *Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	9	327.7065	36.4118	4.0364	<.0001*
Hata	196	1768.0850	9.0208		
C.Total	205	2095.7915			

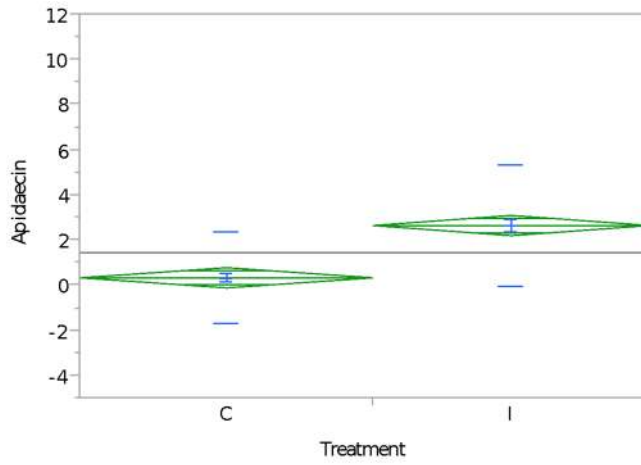
**Tablo 31.** *Hymenoptaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol-C	-5.0320	0.67160	-6.356	-3.708
Karniyol-I	-2.0141	0.64034	-3.277	-0.751
Kafkas-C	-3.7368	0.64034	-5.000	-2.474
Kafkas-I	-2.6571	0.72845	-4.094	-1.220
Muğla-C	-3.7642	0.61308	-4.973	-2.555
Muğla-I	-3.1922	0.70793	-4.588	-1.796
Suriye -C	-4.9320	0.67160	-6.256	-3.608
Suriye-I	-4.3767	0.65541	-5.669	-3.084
Yığılca -C	-6.1273	0.64034	-7.390	-4.864
Yığılca -I	-2.2710	0.67160	-3.595	-0.947

#### 4.5.3 Apidaecin geni ekspresyon sonuçları

Kontrol ve *N. ceranae* ile enfekte edilmiş arılar arasında apidaecin mRNA düzeylerinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur (ANOVA,  $p < .0001$ ) (şekil 33 ve 34) (Tablo 32-35). Karniyol ( $p < .0001$ ), Kafkas ( $p = 0.0002$ ) Suriye ( $p = 0.0299$ ), Yığılca ( $p = 0.0104$ ) ve Muğla ırkları için kontrol ve enfekte arıların apidaecin ekspresyon düzeylerinde farklılıklar vardır. Apidaecin ekspresyonu ırklar arasında da varyasyon göstermiştir. (ANOVA,  $p = 0.0445$ ) (şekil 35) (Tablo 36 ve 37). Kafkas ırkında en fazla apidaecin düzeyi gözlenirken, en düşük ekspresyon seviyesi Yığılca ırkında kaydedilmiştir. İki yönlü varyans analizi ile Apidaecin ekspresyon

düzeylerinde ırk etkisi (SS = 57.0,  $F$  oranı = 2.7,  $p < 0.0302$ ) enfeksiyon etkisi (SS = 279.0,  $F$  oranı = 53.4,  $p < .0001$ ) ve bu iki etki arasında anlamlı bir etkileşim saptanmıştır (SS = 76.5,  $F$  oranı = 3.6,  $p = 0.0066$ ). *N. ceranae* ve *apidaecin* ekspresyon değerleri arasında Karniyol (0.5674,  $p < .0001$ ), Kafkas (=0.3732,  $p = 0.0106$ ), Suriye (0.3790,  $p = 0.0094$ ) ve Yığılca (0.3158,  $p = 0.0346$ ) alttürlerinde korelasyon görülürken; Karniyol (0.7897,  $p < .0001$ ), Kafkas (0.3412,  $p = 0.0203$ ), Suriye (0.7118,  $p < .0001$ ), Yığılca (0.6507,  $p < .0001$ ) ve Muğla (0.5636,  $p < .0001$ ) alttürleri için hymenoptaecin ve *apidaecin* değerleri arasında korelasyon bulunmuştur.



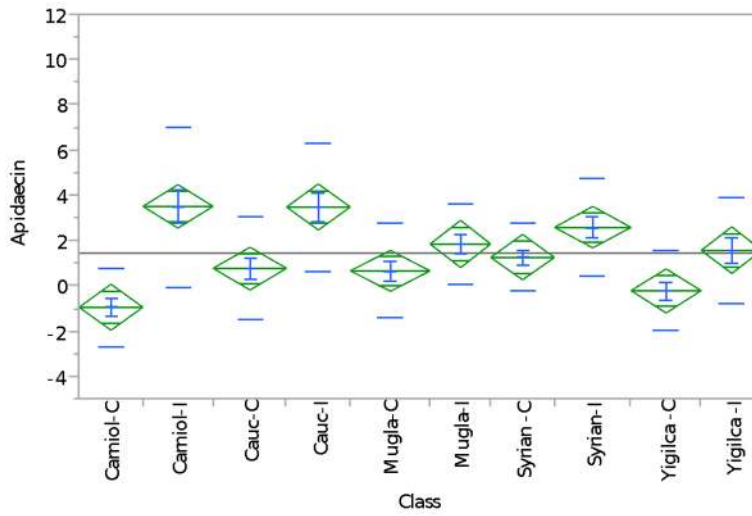
**Şekil 33.** Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) tek yönlü varyans analizi

**Tablo 32.** *Apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	1	284.8478	284.848	50.6118	<.0001*
Hata	212	1193.1550	5.628		
C.Total	213	1478.0027			

**Tablo 33.** *Apidaecin* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına göre (treatment) tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzye	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Kontrol	0.34627	0.22620	-0.100	0.7922
Enfekte	2.65462	0.23263	2.196	3.1132



**Şekil 34.** Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 34.** *Apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

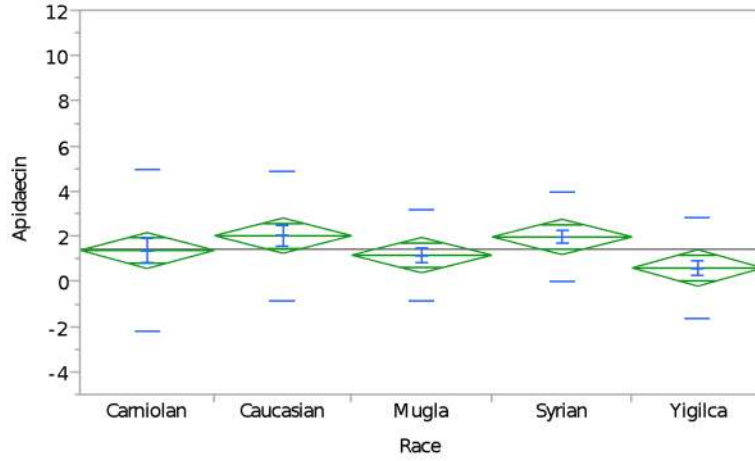
Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	9	413.2368	45.9152	8.7970	<.0001*
Hata	204	1064.7659	5.2194		



C.Total	213	1478.0027			
---------	-----	-----------	--	--	--

**Tablo 35.** *Apidaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzey	Ortalama	Standart hata	Aşağı% 95	Yukarı %95
Karniyol-C	-0.9210	0.51085	-1.928	0.0862
Karniyol-I	3.5264	0.48708	2.566	4.4867
Kafkas-C	0.7909	0.47637	-0.148	1.7301
Kafkas-I	3.5090	0.51085	2.502	4.5162
Muğla-C	0.6828	0.45692	-0.218	1.5837
Muğla-I	1.8705	0.52413	0.837	2.9039
Suriye -C	1.2860	0.51085	0.279	2.2932
Suriye-I	2.6071	0.46634	1.688	3.5266
Yığılca -C	-0.2032	0.48708	-1.164	0.7572
Yığılca -I	1.5900	0.52413	0.557	2.6234



**Şekil 35.**Normalize edilmiş *apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 36.***Apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	4	60.2742	15.0685	2.4886	0.0445*
Hata	206	1247.3153	6.0549		
C.Total	210	1307.5895			

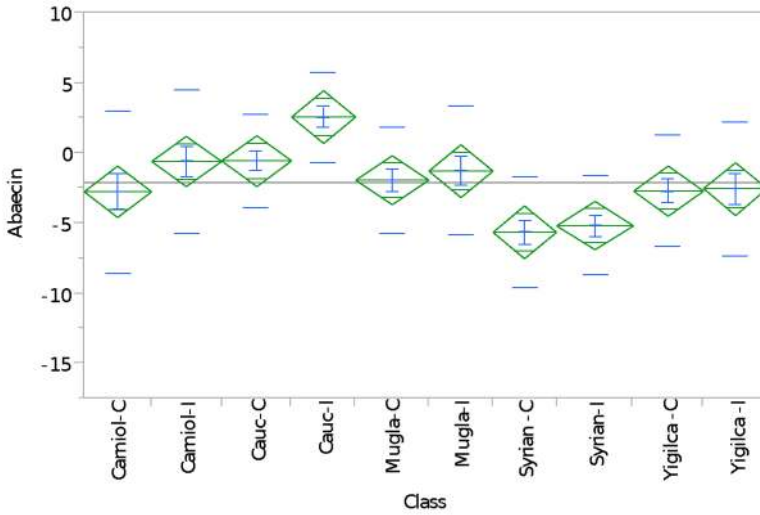
**Tablo 37.***Apidaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzye	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol	1.37854	0.38429	0.6209	2.1362
Kafkas	2.43548	0.37969	1.6869	3.1841
Muğla	1.26841	0.37096	0.5370	1.9998
Suriye	1.97884	0.37525	1.2390	2.7187

Yığılca	0.93854	0.38429	0.1809	1.6962
---------	---------	---------	--------	--------

#### 4.5.4 Abaecin Geni Ekspresyon Sonuçları

*N. ceranae* enfeksiyonuna bir cevap olarak *Abaecin* ekspresyonu her bir alttürde yükseliş göstermiştir (Şekil 36) (Tablo 38 ve 39). Bu yükseliş Karniyol, Kafkas ve Muğla arı ırklarında da belirgin olmakla birlikte, ANOVA analizi Kafkas ırkı için anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir ( $p = 0.0185$ ). Irklar arasında da *abaecin* ekspresyon düzeylerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır (ANOVA,  $p < .0001$ ) (Şekil 37) (Tablo 40 ve 41). Kafkas ırkı en fazla *abaecin* ekspresyon düzeyine sahipken, Suriye ırkı en düşük değere sahiptir. Irklar arasındaki farklılıklar *t*-testi ile analiz edilmiştir. Irk (SS = 909.6, *F* oranı = 12.5,  $p < .0001$ ) ve enfeksiyon (SS = 92.1, *F* oranı = 5.0,  $p = 0.0255$ ) faktörlerinin *abaecin* ekspresyon değerleri üzerinde birbirinden bağımsız olarak önemli etkilerinin olduğu iki yönlü varyans analizi ile saptanmıştır. *Abaecin* ve *defensin* transkriptleri arasında Karniyol (0.3658,  $p = 0.0124$ ), Kafkas (0.4984,  $p = 0.0004$ ), Muğla (0.2923,  $p = 0.0438$ ) ve Yığılca (0.5014,  $p = 0.0005$ ) ırklarında ve *abaecin*-*apidaecin* transkriptleri arasında ise Karniyol (0.4042,  $p = 0.0053$ ), Kafkas (0.6396,  $p < .0001$ ), Yığılca (0.4368,  $p = 0.0027$ ) ve Muğla (0.3255,  $p = 0.0240$ ) ırklarında korelasyon bulunmuştur.



**Şekil 36.** Normalize edilmiş *abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

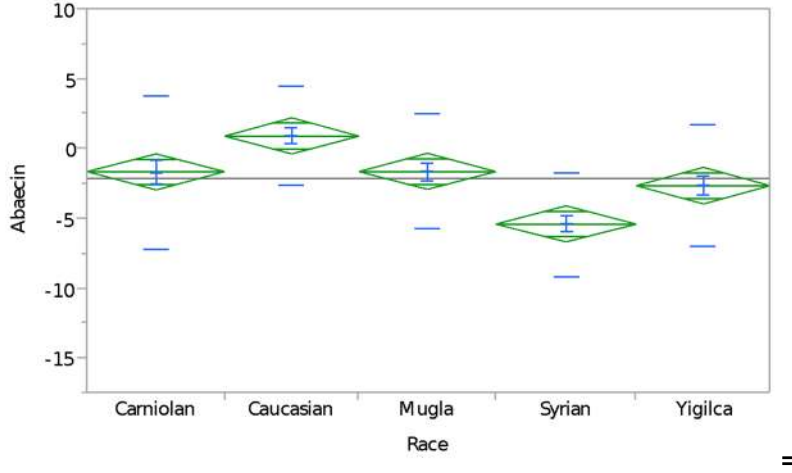
**Tablo 38.***Abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	9	1048.9458	116.550	6.4076	<.0001*
Hata	204	3710.5918	18.189		
C.Total	213	4759.5376			

**Tablo 39.***Abaecin* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol-C	-2.7376	0.93067	-4.573	-0.903
Karniyol-I	-0.5864	0.90927	-2.379	1.206
Kafkas-C	-0.5468	0.90927	-2.340	1.246
Kafkas-I	2.5815	0.95366	0.701	4.462
Muğla-C	-1.9091	0.88929	-3.663	-0.156
Muğla-I	-1.2545	0.95366	-3.135	0.626
Suriye -C	-5.6265	0.95366	-7.507	-3.746
Suriye-I	-5.1521	0.87056	-6.869	-3.436

Yığılca -C	-2.6900	0.90927	-4.483	-0.897
Yığılca -I	-2.5235	0.95366	-4.404	-0.643



**Şekil 37.**Normalize edilmiş *abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 40.***Abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

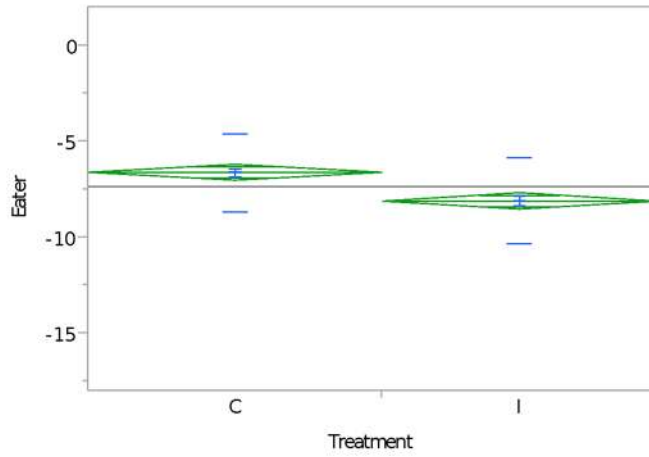
Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	4	889.3687	222.342	12.0071	<.0001*
Hata	209	3870.1689	18.518		
C.Total	213	4759.5376			

**Tablo 41.***Abaecin* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analiz ortalamaları

Düzyey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol	-1.6370	0.65623	-2.931	-0.343
Kafkas	0.9429	0.66400	-0.366	2.252
Muğla	-1.6047	0.65623	-2.898	-0.311
Suriye	-5.3677	0.64873	-6.647	-4.089
Yığılca	-2.6107	0.66400	-3.920	-1.302

#### 4.5.5 Eater Geni Ekspresyon Sonuçları

Eater gen düzeylerinde ise *N. ceranae* enfeksiyonundan sonra anlamlı bir düşüş görülmüştür (ANOVA,  $p < .0001$ ) (Şekil 38 ve 39) (Tablo 42-45). *N. ceranae* ile enfekte edilmiş arıların eater gen ekspresyon düzeyleri Kafkas ( $\leq .0001$ ), Muğla ( $p = 0.0021$ ) Yığılca (0.0117) ve Suriye ırklarında kontrol arılardan daha düşüktür. Karniyol alttüründe Eater gen ekspresyonu *N. ceranae* enfeksiyonundan etkilenmemiştir. Irklar arasında da azalan Eater gen ekspresyon değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir ( $p = 0.0404$ ) (Şekil 40) (Tablo 46 ve 47). İkili gruplar arasındaki ortalama farkları karşılaştırıldığında, en fazla fark Kafkas ırkına ait kontrol ve enfekte arılar arasında görülmüştür. Her bir ırkın kontrol ve enfekte arılarının ortalama değerlerine göre, ırklar arasında en düşük düzeyde eater gen ekspresyonuna Muğla ekotipinde rastlanırken bu ırkı Yığılca, Suriye ve Kafkas ırkları takip etmektedir. Irk (SS = 50.1,  $F$  oranı = 2.9,  $p = 0.0212$ ) ve enfeksiyon uygulamasının (SS = 114.7,  $F$  oranı = 27.0,  $p < .0001$ ) eater gen transkriptleri üzerindeki etkileri ve bu iki faktör arasındaki etkileşim (SS = 67.6,  $F$  ratio = 3.9,  $p = 0.0040$ ) iki yönlü varyans analizi ile belirlenmiştir. Yığılca ekotipinde eater transkriptleri apidaecin (0.3904,  $p = 0.0080$ ), defensin (0.3525,  $p = 0.0176$ ) ve hymenoptaecin (0.3318,  $p = 0.0260$ ) transkriptleriyle; Kafkas ırkında ise *N. ceranae* (0.4970,  $p = 0$ ).



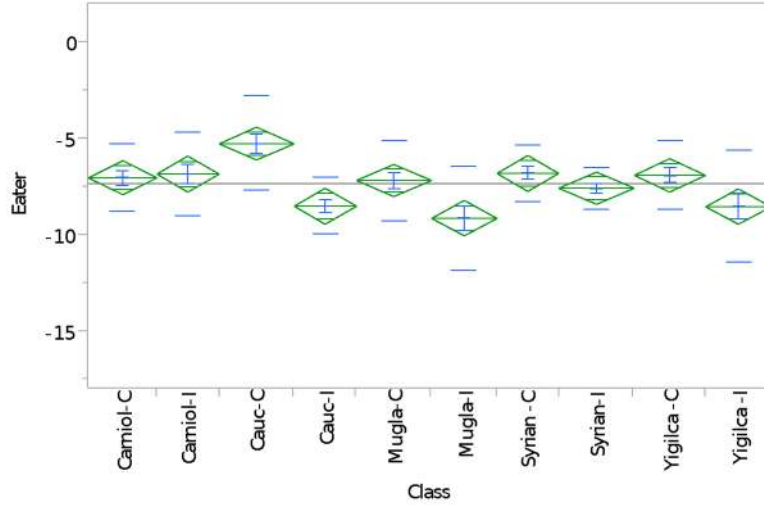
**Şekil 38.**Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte)

**Tablo 42.***Eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	1	116.7037	116.704	25.0422	<.0001*
Hata	207	964.6771	4.660		
C.Total	208	1081.3809			

**Tablo 43.***Eater* gen ifade değerlerinin enfeksiyon uygulamasına (treatment) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzye	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Kontrol	-6.6015	0.20773	-7.011	-6.192
Enfekte	-8.0968	0.21481	-8.520	-7.673



**Şekil 39.** Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü varyans analizi (C= kontrol, I= enfekte, Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 44.** *Eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre varyans analizi

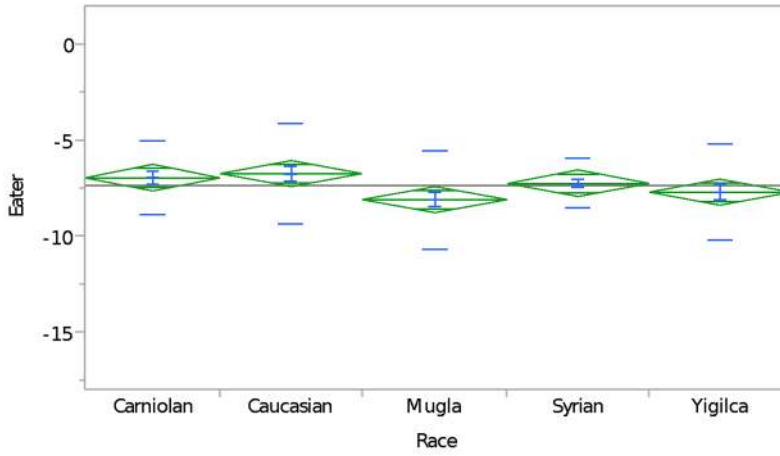
Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F
Enfeksiyon uygulaması	9	236.4855	26.2762	6.1889	<.0001*
Hata	199	844.8954	4.2457		
C.Total	208	1081.3809			

**Tablo 45.** *Eater* gen ifade değerlerinin kontrol ve enfekte arı ırklarına göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzye	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol-C	-7.0090	0.44964	-7.90	-6.122



Karniyol-I	-6.8353	0.47271	-7.77	-5.903
Kafkas-C	-5.2400	0.42965	-6.09	-4.393
Kafkas-I	-8.4879	0.47271	-9.42	-7.556
Muğla-C	-7.1552	0.42965	-8.00	-6.308
Muğla-I	-9.1170	0.46074	-10.03	-8.208
Suriye -C	-6.7863	0.47271	-7.72	-5.854
Suriye-I	-7.5635	0.42965	-8.41	-6.716
Yığılca -C	-6.8973	0.43930	-7.76	-6.031
Yığılca -I	-8.5170	0.46074	-9.43	-7.608



**Şekil 40.** Normalize edilmiş *eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü varyans analizi (Carniol= Karniyol, Cauc= Kafkas, Syrian= Suriye)

**Tablo 46.** *Eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre varyans analizi

Kaynak	DF	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F oranı	Olasılık>F

Enfeksiyon uygulaması	4	51.4865	12.8716	2.5496	0.0404*
Hata	204	1029.8943	5.0485		
C.Total	208	1081.3809			

**Tablo 47.** *Eater* gen ifade değerlerinin ırklara (race) göre tek yönlü ANOVA ortalamaları

Düzyey	Ortalama	Standart hata	Aşağı %95	Yukarı %95
Karniyol	-6.9265	0.35526	-7.627	-6.226
Kafkas	-6.7093	0.34670	-7.393	-6.026
Muğla	-8.0677	0.34265	-8.743	-7.392
Suriye	-7.2119	0.34670	-7.895	-6.528
Yığılca	-7.6686	0.34670	-8.352	-6.985

## 5. TARTIŞMA

Bu projenin temel amacı Türkiye bal arısı ırklarının parazit, hastalık, kimyasal etkenlere yanıtlarının karşılaştırılması ile kolonilerin dayanıklılığında populasyon genetik farklarının etkilerini belirlemektir. Bu amaca ulaşmak için farklı bir dizi yaklaşım uygulanarak sonuç almaya çalışılmıştır.

Gerek ülkemizde, gerek dünyanın çeşitli bal üreticisi ülkelerinde giderek yaygınlık kazanan koloni kayıplarının çeşitli nedenleri olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde bu kayıplarla ilgili güvenilir ve kapsayıcı bir çalışma bu projeye kadar henüz gerçekleşmemiştir. Proje kapsamında 2010, 2011 ve 2012 yıllarında Anadolu arıcılığı için önemli kabul edilen altı bölgede bulunan göçer ve sabit arıcılar üzerinde yapılan anketler, anket yapılan yıllarda tüm ülkede yaklaşık % 15 ila % 30 oranında koloni kaybı yaşandığını, en yüksek koloni kaybının Doğu Anadolu ve Muğla bölgelerinde, en düşük koloni kaybının ise Hatay bölgesinde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Göçer (gezginci) arıcılar ve sabit arıcıların koloni kayıpları karşılaştırıldığında gezginci arıcıların kayıplarının istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür.

Göçer arıcılık yükselti ve coğrafi lokaliteye bağlı olarak iklim farklarının mevsimsel bir takvime bağlı olarak en fazla yararlanmayı hedefleyen bir uygulamadır. Bu uygulamanın arıcılar için yıl boyu farklı besin kaynaklarına erişim ve olumsuz iklim koşullarından kaçınma esasına dayalı belli ekonomik avantajları vardır. Öte yandan yıl içinde farklı coğrafyalarda gezmeleri kovanlar ve bölgeler arasında genetik karışma ve hastalık bulaşması için fırsatların artmasını beraberinde getirmektedir. Ayrıca kısa dönemlerde farklı çevre koşullarına maruz kalma ve taşıma sürecinin getirdiği stresin koloni sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu varsayılabilir. Anketler sonucunda elde edilen durum, göçer arıcılığın yoğun yapıldığı Doğu Anadolu ve Muğla bölgelerinde, ayrıca sabit arıcılara oranla göçer arıcılarda daha yüksek koloni kayıpları görüldüğüdür. Genel olarak göçer arıcılarda hastalık yükü daha yüksek bulunmuştur (Tozkar ve ark. 2015).

Perizin ve imidaklopridin arıların lokomotor aktivitesine etkileri ırklar/ekotipoler arasında genelde anlamlı farklar göstermemiştir. Tek dikkat çekici fark syriaca alttürüne ait bireylerin

aktivitelerinde diğer soyların aksine bariz bir artış görülmüş olmasıdır. Bu farkın adaptif bir anlamı olup olmadığı bilinmemektedir. *Nosema ceranae* enfeksiyon uygulamasında çalışmaya dahil olan tüm ırkların humoral bağışıklık mekanizmaları enfeksiyondan altı gün sonra aktive olmuş ve antimikrobiyal peptitleri kodlayan genlerin ekspresyonunda anlamlı düzeyde artış kaydedilmiştir. Enfekte arılarda kontrole göre Defensin, Hymenoptaecin, Apidaecin, Abaecin ekspresyonu genelde artış göstermiştir. Irklar/ekotipler arasında – özellikle *carnica*, *syriaca*, *caucasica* gruplarında ve Yığılca ekotipinde - bazı farklar görülmekle beraber bu farkların coğrafya veya genetik açıdan tutarlı bir ilişkilendirmesini yapmak mümkün olmamıştır. Eater gen düzeylerinde ise *N. ceranae* enfeksiyonundan sonra anlamlı bir düşüş görülmüştür. Sadece *carnica* alttüründe Eater gen ekspresyonu *N. ceranae* enfeksiyonundan etkilenmemiştir. Bu çalışmada ayrıca abaecin, defensin, apidaecin ve hymenoptaecin gen ifadeleri tüm ırklarda birbiriyle korelasyon halindedirler. Bağışıklık genlerinin konak organizmada yüksek seviyedeki ifadesi patojen gelişimini engelleyen yollardan biridir

Gerek geometrik morfometri analizinde, gerek genetik yapı (STRUCTURE), gerek SNP ve ISSR analizlerinde dört alttürün coğrafi dağılım alanlarına denk düşen dört ayrı küme ortaya çıkmıştır. Genetik yapı analizinde arı bireylerinin kendi bölgelerinin yerel arı kümesine atanma olasılıklarını karşılaştırmak suretiyle göçer ve sabit arıcılara ait kovanların karşılaştırılmıştır. Geometrik morfometri analizine göre Kafkas arılarının bulunduğu Ardahan ve Artvin'den alınan örnekler birbirlerine çok yakın olarak kümelenebilir. Kırklareli arıları ile Artvin-Ardahan arıları birbirlerine en uzak konumlanmış iken Muğla, Ankara ve Hatay arıları ise iki grup arasında yer almaktadır

Göçer arıcılığın genetik karışmaya yol açan etkisini sabit ve göçer arıcılara ait kovanlar arasındaki genetik mesafe karşılaştırması ortaya koymuştur. Sabit kovanlar arasında  $F_{ST}$  değeri 0,067 iken bu değer göçer arıcılara ait kovanlar arasında 0,015 olarak bulunmuştur. Göçer arıcılığın genetik etkileri bu çalışma ile ilk defa gösterilmiştir. Muğla arılarından alınan örneklerde sabit ve gezginci arıların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Bu da gösteriyor ki, arılar gittikleri bölgelerde gen alışverişinde bulunuyorlar. Gezginci arıların gösterdiği büyük grup içi morfometrik varyasyon da buna kanıt olabilir.

Bunun yanı sıra göçer arıcılığa açık ve kapalı bölgeler arasında bir diğer karşılaştırma yapılmış bölgeler oluşturmanın önemine işaret etmektedir. Ayrıca ana arı ve kovan satışlarının etkisi ticari amaçlarla sıkça kullanılan Kafkas arısına ait genlerin yayılması üzerinden gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar Türkiye balarılarında daha evvel gözlenen

yüksek düzeydeki coğrafi genetik yapı ve çeşitliliği teyit etmiş ve bu çeşitliliğin korunması için politikalar geliştirme ihtiyacının altını çizmiştir.

Ardahan, Artvin ve Kırklareli illeri yasal kısıtlamalar ve yasaklar nedeniyle göçer arıcılığın geniş kapsamlı olarak yürütülmediği yerlerdir. Bu illerde oluşan yalıtılmış bölgeler ile Edirne+, Düzce+, Eskişehir+, Muğla, Ankara ve Hatay bölgelerinden oluşan göçer arıcılığa açık bölgeler arasındaki kıyaslama yalıtılmış bölgelerde kendi kümesine atanma oranlarının çok daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Yapılan kıyaslamalar sonucunda Kafkas ve Anadolu arılarının genetik olarak diğer bölgeleri daha çok etkileyen kümeler oldukları görülmüştür. Anadolu arıları için bu durum coğrafi yakınlık ve göçer arıcılık ile ilişkilendirilebilirken, Kafkas arıları için ticari ana arı ve koloni satışları ile ilişkilendirilebilir. Kafkas arısının doğal olarak yayıldığı kuzeydoğu bölgelerde göçer arıcılığın kısıtlı olması ya da hiç bulunmaması bu gen akışının birincil kaynağının ancak ticari faaliyetlere bağlı olacağına işaret etmektedir. Ana arı satışları ile diğer bölgelere taşınan genler, daha sonra göçer arıcılık ile daha da yaygınlaşmaktadır. Örneğin Kafkas arısı genlerinin yoğun bir biçimde gözlendiği Muğla arılarının bu yoğunlukta doğal gen akışına yol açamayacak kadar uzak bir coğrafyada yer alması bu sonucun ticari faaliyetler ile ilişkisine dair yorumu destekleyen bir durumdur.

Bu çalışmada gerek  $F_{ST}$  değerleri, gerek genetik yapı analizi gerekse istatistiksel karşılaştırmalar göçer arıcılara ait kovanlardan örneklenen bireylerin sabit arıcılara ait kovanlardan örneklenen bireylere oranla daha yüksek bir gen akışına maruz kaldıklarını ortaya koymuştur. Aynı zamanda yalıtılmış bölgelerde genetik yapının daha iyi korunduğu, ancak göçer arıcılığa açık bölgelerde gen akışının hızlandığı gösterilmiştir. Buradan çıkan sonuç göçer arıcılara ait kolonilerin yerel gen kombinasyonlarının vektörleri haline geldikleri ve uzayda ve zamanda hareket halinde “melezlenme bölgeleri” (*hybrid zone*) oluşturduklarıdır.

Burada da gösterildiği üzere, hem yerel arılardan göçer arılara hem de göçer arılardan yerel arılara doğru bir gen akışının varlığı, koloni ve ana arı satışlarıyla bir arada düşünüldüğünde, genetik yapının zamanla kaybolmasına ve tüm popülasyonların kaynaşmasına neden olabilir. Şu an için durum kesinlikle bu noktaya ulaşmamıştır. Bir miktar gen akışı ve bunun sonucu olarak farklı popülasyon ve alttürler arasında karışma olsa da genetik yapının yüksek bir oranda korunmuş olduğu gerçeği bu çalışmanın önemli bulgularından biridir. Son derecede değerli bir miras olarak genetik çeşitliliğin de bu yapı ile birlikte korunmuş olduğu, ancak

gerek göçer arıcılığın gerek denetimsiz arı ticaretinin olumsuz etkileri nedeniyle ihtiyaç duyulan tedbirler alınmadığı takdirde er ya da geç bu mirasın kaybedilebileceği gözden kaçırılmamalıdır.

## 6. SONUÇ

Bu projenin amacı Türkiye bal arısı ırklarının parazit, hastalık, kimyasal etkenlere yanıtlarının karşılaştırılması ile kolonilerin dayanıklılığında populasyon genetik farklarının etkilerini belirlemektir. Türkiye'nin farklı bölgelerinden ve farklı (sabit/göçer) yetiştirilen arılardan alınan örnekler morfometrik, genetik ve transkriptomik yöntemlerle bu açıdan değerlendirilmiştir. Genetik yaklaşımda ISSR ve SNP gibi farklı belirteçler kullanılmış, elde edilen bulgular çok değişkenli kümeleme, ordinasyon ve yapı analizlerine tabi tutulmuştur.

Morfometrik ve genetik analizler daha önceki çalışmalarda elde edilmiş coğrafi farklılıkları teyit etmiştir. Bu bağlamda Trakya bölgesinde yaygın *carnica* tipi arıların varlığı ve Anadolu arılarının hepsinden belirgin farklılıkları dikkat çekicidir. Kafkas, Hatay ve Anadolu arılarının oluşturdukları öbekler diğer genetik kümelerdir.

Bu çalışmada arıların *Nosema ceranae* ile enfeksiyonlarından altı gün sonra verdikleri bağışıklık tepkileri analiz edilmiş ve görülmüştür ki çalışmaya dahil olan tüm ırkların savunma mekanizmaları aktive olmuş ve antimikrobiyal peptitleri kodlayan genlerin ekspresyonunda artış gözlenmiştir. İleride yapılacak araştırmalarda değişik arı soylarının dış etkenlere, hastalık ve parazitlere karşı farklı yanıtları dikkate alınmalıdır.

Göçer arıcılığın genetik etkileri ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. Sabit kovanlar arasında genetik mesafe göçer arıcılara ait kovanlar arasındakinin dört katıdır. Ana arı ve kovan satışlarının etkisi ticari amaçlarla sıkça kullanılan Kafkas arısına ait genlerin yayıldığı, Kafkas ve Anadolu arılarının genetik olarak diğer bölgeleri en çok etkileyen gruplar oldukları görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar Türkiye balarılarında daha evvel gözlenen yüksek düzeydeki coğrafi genetik yapı ve çeşitliliği teyit etmiş ve bu çeşitliliğin korunması için politikalar geliştirme ihtiyacının altını çizmiştir. Son derecede değerli bir miras olarak genetik çeşitliliğin de bu yapı ile birlikte korunmuş olduğu, ancak gerek göçer arıcılığın gerek denetimsiz arı ticaretinin olumsuz etkileri nedeniyle ihtiyaç duyulan tedbirler alınmadığı takdirde er ya da geç bu mirasın kaybedilebileceği gözden kaçırılmamalıdır.





## KAYNAKLAR

- Al Ghzawi, A. M., Zaitoun, S. T., Shannag, H. K. 2001. "Seasonal cycles of *Apis mellifera syriaca* under Jordanian desert conditions", Journal of Apicultural Research, 40, 45–51.
- Arias, M. C., Sheppard, W. S. 1996. "Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence", Molecular Phylogenetics and Evolution, 5, 557–566
- Babendreier, D., Joller, D., Romeis, J., Bigler, F., Widmer, F. 2007. "Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins", FEMS Microbiology Ecology, 59, 600-610.
- Bienefeld, K., Pirchner, F. 1992. "Phenotypic Correlation between Efficiency and Behavior of Honeybee Colonies (*Apis mellifera carnica*)", Lev. Brasip.Genet., 15 (2), 351-358.
- Bodur, C., Kence, M., Kence, A. 2007. "Genetic structure of honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) populations of Turkey inferred from microsatellite analysis", Journal of Apicultural Research, 46, 50-6.
- Bouga, M., Alaux, C., Bienkowska, M., Büchler, R., Carreck, N. L., Cauia, E., Wilde, J. 2011. "A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping", Journal of Apicultural Research, 50 (1), 51-84.
- Bourne, D., Lida, Y., Uthicke, S., Smith-Keune, C. 2007. "Changes in coral-associated microbial communities during a bleaching event", The ISME Journal, 2, 350-363.
- Chen, Y., Evans, J. 2007. "Historical presence of Israeli acute paralysis virus in honey bees from the United States", American Bee Journal, 147, 1027-1028.
- Chen, Y., Evans, J., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundersen-Rindal, D., Pettis, J. 2008. "Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee *Apis mellifera*", Journal of Eukaryotic Microbiology, 56 (2), 142-147.
- Cole, J., Chai, B., Farris, R., Wang, Q., Kulam-Syed-Mohideen, A., McGarrell, D., Bandela, A., Cardenas, E., Garrity, G., Tiedje, J. 2007. "The ribosomal database project (RDP-II):

introducing myRDP space and quality controlled public data”, *Nucleic Acids Research* 35 (Database issue): D169-D172.

Cox-Foster, D., Conlan, S., Holmes, E., Palacios, G., Evans, J., Moran, N., Quan, P. L., Briese, T., Hornig, M., Geiser, D., Martinson, V., vanEngelsdorp, D., Kalkstein, A., Drysdale, A., Hui J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison, S., Simons, J., Egholm, M., Pettis, J., Lipkin, W. 2007. ” A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder”, *Science*, 318, 283-287.

Decourtye, A., Lacassie, E., Pham-Deleague, M. H. 2003. “Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season”, *Pest Management Science*, 59, 269-278.

Dethlefsen, L., McFall-Ngai, M., Relman, D. 2007. “An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease”, *Nature*, 449, 811-818.

Doğaroğlu, M. 2009. *Modern Beekeeping Techniques*. Tekirdağ: Türkmenler Matbaacılık.

Evans, J. 2006. “Beepath: An ordered quantitative-PCR array for exploring honey bee immunity and disease”, *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 135-139.

Evans, J., Aronstein, K., Chen, Y., Hetru, C., Imler, J.L., Jiang, H., Kanost, M., Thompson, G., Zou, Z., Hultmark, D. 2006. “Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*”, *Insect Molecular Biology*, 15, 645-656.

Franck, P., Garnery, L., Solignac, M., Cornuet, J. M. 2000. “Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East”, *Apidologie* 31, 167-180.

Giray, T., Cakmak, I., Aydin, L., Kandemir, I., Inci, A., Oskay, D., Doke, M.A., Kence, M., Kence, A. 2007. “Preliminary survey results on 2006-2007 colony losses in Turkey”, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 7, 101-107.

Gregory, P., Evans, J., Rinderer, T., de Guzman, L. 2005. “Conditional immune-gene suppression of honeybees parasitized by *Varroa* mites”, *Journal of Insect Science*, 5 (7), 1-5.

Han, F., Wallberg, A., Webster, M. T. 2012. "From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?", *Ecology and Evolution* 2 (8), 1949–57.

Honey Bee Genome Sequencing Consortium. 2006. "Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*", *Nature*, 443, 931-949.

Jeyaprakash, A., Hoy, M., Allsopp, M. 2003. "Bacterial diversity in worker adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) assessed using 16S rRNA sequences", *Journal of Invertebrate Pathology*, 84, 96-103.

Kandemir, I., Kence, A. 1995. " Allozyme variability in a central Anatolian honey bee (*Apis mellifera* L.) population", *Apidologie*, 26, 503-10.

Kandemir, İ., Kence, M., Kence, A. 2000. "Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera*) populations of Turkey", *Apidologie*, 31, 343-356.

Kandemir, I., Kence, M., A. 2005. "Morphometric and electrophoretic variation in different honey bee (*Apis mellifera* L.) populations", *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 885-890.

Kandemir, İ., Kence, M., Sheppard, W.S., Kence, A. 2006. "Mitochondrial DNA variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from Turkey", *Journal of Apicultural Research*, 45(1), 33-38.

Kence, A. 2006. "Genetic Diversity of Honey bees in Turkey and The importance of its Conservation", *Uludag Bee Journal*, 6, 25-32

Ley. R., Turnbaugh, P., Klein, S., Gordon, J. 2006. "Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity", *Nature*, 444, 1022-3.

Martel, A., Zeggane, S., Drajnudel, P., Faucon, J., Aubert, M. 2006. "Tetracycline residues in honey after hive treatment", *Food Additives and Contaminants*, 23, 265-273.

Martel, J., Coudert, M. 1993. "Bacterial resistance monitoring in animals: the French national experiences of surveillance schemes", *Veterinary Microbiology*, 35, 321-338.

Melitabees, [www.melitabees.com](http://www.melitabees.com), son erişim tarihi Eylül 2015.

Mohr, K., Tebbe, C. 2006. "Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field", *Environmental Microbiology*, 8, 258-272.

Naiem, E., Hrasnigg N., Crailsheim, K. 1999. "Nurse bees support the physiological development of young bees (*Apis mellifera* L.)", *Journal of Comparative Physiology - B*, 169, 271-279.

Oldroyd, P.B. 2007. "Unsolved mystery: what's killing American honey bees?", *PLOS Biology*, doi:10.1371/journal.pbio.0050168.g001.

Palmer, M. R., Smith, D. R, Kaftanoglu, O. 2000. "Turkish honeybees: genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA", *Journal of Heredity*, 91, 42-46.

Pettis, J., Collins, A., Wilbanks, F., Feldlaufer, M. 2004. "Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera*", *Apidologie* 35, 605-610.

Qin, X., Evans, J., Aronstein, K., Murray, K., Weinstock, G. 2006. "Genome sequences of the honey bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*", *Insect Molecular Biology*, 15, 715-718.

Rivera-Marchand, B., Guzman-Novoa, E., Giray, T. 2008. The cost of defense in social insects: insights from the honey bee", *Entomologia Experimentalis et Applicata*, DOI: 10.1111/j.1570-7458.2008.00747.x

Ruttner, F. 1988. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Berlin:Springer.

Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 9, 363–381.

Tahmasbi, G. H., Kamali, M. A., Ebadi, R., Nejati Javaremi, A., Javaheri, D., Bahreini, R., Jamshidi, M., Akef, M., Yarahmadi, S., Tajabadi, N. and Babaei, M. 2007. A Study on the Improvement Trends of Swarming Behavior of Honeybee Colonies in Central Part of Iran. *Proceedings of the Sixth Iranian Honeybee Seminar, Karaj-Iran*. PP. 1-2.

Van Engelsdorp, D., Underwood, R., Caron, D., Hayes J. 2007. “ An estimate of managed losses in the winter of 2007: a report commissioned by the Apiary inspectors of America”, *American Bee Journal*, 147, 599-609.

Van Engelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B.K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D. R., Pettis, J. S. 2009. “Colony collapse disorder: a descriptive study”, *PLoS One* 3 (8), e6481. doi: 10.1371/journal.pone.0006481.

Warnecke, F., Luginbühl, P., Ivanova, N., Ghassemian, M., Richardson, T., Stege, J., Cayouette, M., et al. 2007. “Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite”, *Nature*, 450, 560-565.

Whitfield, C., Band, M., Bonaldo, M., Kumar, C., Liu, L., Pardinias, J., Robertson, H., Soares, M., Robinson, G. 2002. “Annotated Expressed Sequence Tags and cDNA Microarrays for studies of brain and behavior in the honey bee”, *Genome Research*, 12, 555-566.

Whitfield, C.W., Behura,S.K., Berlocher,S.H., Clark,A.G., Johnston,J.S., Sheppard, W.S.,Smith,D.R., Suarez,A.V., Weaver,D., Tsutsui, N.D. 2006. “Thrice Out of Africa: Ancient and Recent Expansions of the Honey Bee, *Apis mellifera*”, *Science* 314, 642 –645.

Whitfield, C., Ben-Shahar, Y., Brillet, C., Leoncini, I., Crauser, D., Leconte, Y., Rodriguez-Zas, S., Robinson, G. 2006. “Genomic dissection of behavioral maturation in the honey bee, *Apis mellifera*”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S. A.*, 103, 16068-75.

Whitfield, C., Cziko, A., Robinson, G. 2003. “Gene expression profiles in the brain predict behavior in individual honey bees”, *Science*, 302, 296-9.

# **EKLER**

## EK 1

### PROJE KAPSAMINDA YAPILAN YAYINLAR VE TOPLANTILARDA SUNULAN BİLDİRİLER

*Mevcut proje yürütücüsü çıktılara bilimsel katkıda bulunmadığı için ARBİS üzerinden giriş yapılmamıştır*

#### **Uluslararası dergilerde yayınlar**

1. Bouga, M. Alaux, C., Bienkowska, M., Büchler, R., Carreck, N.L., Cauia, E., Chlebo, R., Dahle, B., Dall'Olio, R., De la Rúa, P., Gregorc, A., Ivanova, E., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kozmus, P., Kryger, P., Le Conte, Y., Lodesani, M., Murilhas, A. M., Siceanu, A., Soland, G., Uzunov A., Wild, J.. 2011. "A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping", Journal of Apicultural Research 50 (1), 51-84.
2. Kence, M., Oskay, D., Giray, T. and Kence, A. 2013. "Honey bee colonies from different races show variation in defenses against the varroa mite in a 'common garden", Entomologia Experimentalis et Applicata, 149, 36–43.
3. van der Zee, R., Pisa, L., Andonov, S., Brodschneider, R., Charrière, J.D., Chlebo, R., Coffey, M. F., Crailsheim, K., Dahle, B., Gajda, A., Gray, A., Drazic, M. M., Higes, M., Kauko, L., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kralj, J., Kristiansen, P., Hernandez, M.R., Mutinelli, F., Nguyen, K. B., Otten, C., Özkırım, A., Pernal, S. F., Peterson, M., Ramsay, G., Santrac, V., Soroker, V., Topolska, G., Uzunov, A., Vejsnæs, F., Wei, S., Wilkins, S. 2012. "Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008–9 and 2009–10", Journal of Apicultural Research 51 (1), 100-114.

4. Giannoni-Guzmán, M.A., Avalos, A., Perez, J. M., Loperena, E. J. O., Kayım, M., Medina, J. A., Massey, S. E., Kence, A., Kence, M., Giray, T., José L. Agosto-River, J. L. 2014. "Measuring individual locomotor rhythms in honey bees, paper wasps and other similar-sized insects", *Journal of Experimental Biology* 217, 1307-1315.
5. Tozkar, C.Ö., Kence, M., Kence A., Huang, Q, Evans J.D. 2015. "Metatranscriptomic analyses of honey bee colonies", *Frontiers in Genetics*, 6, 100 ,doi:10.3389/fgene.2015.00100

### **Bilimsel toplantı sunumları**

1. Van der Zee R, Bach K.N., Brodschneider R., Charriere J.D., Chlebo R., Coffey M.F., Dahle B., Drazic M.M., Formato G., Gray A., Higes M., Kauko L., Kence A., Kence M., Kezic N., Kralj J., Kristiansen P., Hernandez R., Mutinelli, F., Otten C. Peterson., Ozkırım A., Pernal S.F., Pirk C., Pisa L., Ramsay G., Santrac V., Soroker V., Topolska G., Uzunov A., Vejsnaes F., Wilkins S., Yalcinkaya A. Honeybee colony losses 2009-10 in 23 countries using mainly the COLOSS 2009-10 questionnaire, 4th European Conference of Apidology, 7-9.September.2010, Metu-Ankara, Turkey.
2. Kence A., Aslan O.C., Kayım M., Tozkar O., Kukrer M., Yucel B., Dogaroglu M., Muz M.,Giray T. & Kence M. The survey combining the COLOSS questionnaire and the questionnaire prepared for colony losses in Turkey,; COLOSS Workshop of Standardized Protocols For Honey bee Vitality and Diversity 16TH TO 18TH June 2010, Aarhus University-Denmark.
3. Kence M., Kence A. Genotype-Environment interaction experiment and evaluation of its part in Turkey. COLOSS Workshop of Standardized Protocols For Honey bee Vitality and Diversity. 16'th to 18'th June 2010, Aarhus University-Denmark.
4. Kence A., Kence M., Giray T., Testing the effect of imidacloprid on honey bee mobility. COLOSS Work Shop of Standardized methods for honey bee rearing in hoarding cages.; Agricultural Research Council Research Unit for Apiculture and Sericulture, Bologna-Italy



5. Kence A. Gezginici Arıcılık ve Bal Arısı Irklarımız; Kırklareli Arıcılık Eğitim Semineri, Kırklareli-5 Mart 2011
6. Kence, A. Bal Arısı Genetiği; Kırklareli Arıcılık Eğitim Semineri, Kırklareli-5 Mart 2011
7. Kence A., Arslan O.C., Kayim M., Kukrer M., Tozkar O., Doke M. A., Yucel B., Muz M., Unal H., Dogaroglu M., Giray T., Kence M<sup>1</sup>. 2009-2010: Honey Bee Health in Turkey. Apimondia Uluslararası Arıbilimi Kongresi 21-25 Eylül 2011, Buenos Aires, Arjantin
8. Özge Tozkar, Meral Kence, Jay Evans, Aykut Kence. Parasites and Pathogens in Honey Bees of Turkey. Symposium of Diagnosis and Control of Bee Diseases 19-20 2011, Buenos Aires, Argentina organized by OIE and Apimondia
9. Aykut Kence Neden yerli arılar? Rize Arı Çalıştayı

## EK 2

### ANKET VE ÖRNEKLEME VERİLERİ

**Tablo 1:** 2010 İlkbahar arazi çalışmasının özeti

İl	Tarih	Süre (gün)	Katılımcı sayısı	Örneklemenin yapıldığı lokasyonlar	Örneklemenin yapıldığı aralık sayısı	Yapılan anket sayısı (sörvey)	Toplam Harcama (TL)
Muğla	11-14 Mart 2010	3	7†	Köyceğiz-Döğüşbelen	2	24 (Coloss)* 23 (P.A.)**	2.396,00
				Milas- Dağpınarı	2		
				Ula -Karabörtlen	1		
				Milas- Çömlekçiler	3		
				Milas- Ören	2		
				Ula-Kayrı	2		
<b>Ara toplam</b>	-	3	-	6 lokasyon	12 aracı	47 anket	2.396,00
Hatay	17-20 Mart 2010	4	4	Samandağ- merkez	4	???	1.212,00
				Dört Yol merkez	2		
				Antakya-Şenköy	2		
				Yayladağ-Ayışığı	1		
<b>Ara toplam</b>	-	4	-	5 lokasyon	9 aracı		1.212,00
Tekirdağ	2 Nisan 2010	1	4	Yeniköy	1	30 (Coloss) 40 (P.A.)	615,00
				Uçmakdere	1		
				Mürefte	1		
Edirne	3 Nisan 2010	1	4	Keşan	1	10 (Coloss) 16 (P.A.)	615,00
				Keşan- Çeltik köyü	1		
				Keşan-Mecidiye	1		
				İpsala	1		
Kırklareli	4 Nisan 2010	1	4	Merkez	4	3 (Coloss) 14 (P.A.)	615,00
				Koçay/Elmacık köyü	1		
				Babaeski / Ertuğrul köyü	2		
<b>Ara toplam</b>	-	3	-	10 lokasyon	14 aracı	113 anket	615,00
<b>Toplam</b>	-	10	-	20 lokasyon	35 aracı		4.223,00

İl	Tarih	Süre (gün)	Katılımcı sayısı	Örneklemenin yapıldığı Lokasyonlar	Örneklemenin yapıldığı Aralık sayısı	Yapılan Anket Sayısı*
Ankara	2-4 Haziran 2010	2	4	Kızılcahamam-merkez	3	19
				Kazan-Merkez	4	
				Haymana-Merkez	1	
				Haymana-Yeşilyurt	1	
				Haymana-Ahırlıkuyu	2	
				Haymana-Yonak	1	
				Nallıhan-Merkez	5	
				Beypazarı-Merkez	5	
<b>Ara toplam</b>		<b>2 -</b>	<b>8 Lokasyon</b>	<b>19 Arıcı</b>	<b>19</b>	
Ardahan	13-14 Ağustos 2010	2	2	Merkez	1	17
				Merkez-Sugöze	1	
				Merkez-Balıkçılar	1	
				Merkez-Tepeler	1	
				Posof-Yeniköy	1	
				Posof-Süngülü	1	
				Posof-Yurtbekler	1	
				Hanak-Merkez	2	
				Hanak-Güneşören	1	
				Hanak-İncedere	1	
				Hanak-Koyunpınar	1	
				Çıldır-Yeni beyrehatun	1	
				Çıldır-Doğankaya	1	
<b>Ara toplam</b>		<b>2 -</b>	<b>13 Lokasyon</b>	<b>14 Arıcı</b>	<b>17</b>	
Artvin	15-16 Ağustos 2010	2	2	Borçka-Camili	5	5
<b>Ara toplam</b>		<b>2 -</b>	<b>1 Lokasyon</b>	<b>5 Arıcı</b>	<b>5</b>	
<b>Toplam</b>		<b>6 Gün</b>	<b>-</b>	<b>22 Lokasyon</b>	<b>38 Arıcı</b>	<b>41 Anket</b>

**Tablo 2:** 2010 sonbahar dönemi arazi çalışmalarının özeti

İl	Tarih	Süre (gün)	Katılımcı sayısı	Örneklemenin yapıldığı Lokasyonlar	Örneklemenin yapıldığı Aralık sayısı	Yapılan Anket Sayısı
Kırklareli	7-8 Aralık 2010	2	2	Merkez	1	12
				Merkez-Demircihalil	1	
				Merkez-Yenibağlık	1	
				Merkez-Sakızlı	1	
				Merkez-Balabankaya	1	
				Merkez kavaklı	1	
				Koçcaz	1	
				Babaeski-Merkez	2	
				Babaeski-Yenimahalle	1	
Babaeski-Karamesutlu	1					
<b>Ara toplam</b>		<b>2</b>	<b>-</b>	<b>10 Lokasyon</b>	<b>11 Arıcı</b>	<b>12</b>
Ardahan	9 Aralık 2010	1	1	Posof-Merkez Posof-Türkgözü	2 2	6
Artvin	10 Aralık 2010	1	1	Şavşat-Merkez Şavşat-Soğuksu	1 1	
<b>Ara toplam</b>		<b>2</b>	<b>-</b>	<b>4 Lokasyon</b>	<b>6 Arıcı</b>	<b>6</b>
Ankara	23-24 Aralık 2010	2	2	Beypazarı-Merkez	2	2
				Beypazarı-Dikmen	1	
				Kazan-Merkez	1	
<b>Ara toplam</b>		<b>2</b>	<b>-</b>	<b>3 Lokasyon</b>	<b>4 Arıcı</b>	<b>2</b>
Hatay	23-24 Aralık 2010	2	1	Yayladağ-Ayışığı	1	4
				Dörtyol-Merkez	5	
				Samandağ-Merkez	2	
				Antakya-Şenköy	2	
<b>Ara toplam</b>		<b>2</b>	<b>-</b>	<b>4 Lokasyon</b>	<b>10 Arıcı</b>	<b>4</b>
Muğla	24-25 Aralık 2010	2	1	Marmaris-Çetibeli	8	11
				Dalaman-Kapukargın	3	
				Dalaman-Çeştepe	1	
<b>Ara toplam</b>		<b>2</b>	<b>-</b>	<b>3 Lokasyon</b>	<b>12 Arıcı</b>	<b>11</b>
<b>Genel Toplam</b>		<b>10</b>	<b>-</b>	<b>24 Lokasyon</b>	<b>43 Arıcı</b>	<b>35 Anket</b>

**Tablo 3** 2011 ilkbahar-yaz arazi çalışmalarının özeti

İl	Tarih	Üre (gün)	Katılımcı sayısı	Örneklemenin yapıldığı Lokasyonlar	Örneklemenin yapıldığı Aralık sayısı
Hatay	14-17 Nisan 2011	4	2	Yayladağ-Ayışığı	7
				Dört Yol-Merkez	5
				Samandağ-Merkez	3
				Antakya-Şenköy	4
<b>Ara toplam</b>		<b>4</b>		<b>4 Lokasyon</b>	<b>19 Aralık</b>
Kırklareli	27-29 Nisan 2011	3	1	Merkez	3
				Merkez-Demircihalil	2
				Merkez-Yenibağlık	4
				Merkez-Sakızlı	1
				Merkez-Balabankaya	3
				Merkez kavaklı	2
				Kofçaz	3

				Babaeski-Merkez	2
				Babaeski-Yenimahalle	1
<b>Ara toplam</b>		<b>3</b>		<b>9 Lokasyon</b>	<b>21 Arıcı</b>
Muğla	4-8 Mayıs 2011	5	2	Merkez-Dağpınar	5
				Fethiye-Dereköy	1
				Fethiye-Esenköy	1
				Milas Öre	2
				BodrumMumcular	3
<b>Ara toplam</b>		<b>5</b>		<b>5 Lokasyon</b>	<b>12 Arıcı</b>
Ankara	27-29 Mayıs 2011	3	2	Kızılcahamam-merkez	3
				Kazan-Merkez	2
				Hayman -Merkez	2
				Haymana-Yeşilyurt	2
				Haymana- Ahırlıkuyu	2
				Nallıhan-Sarıyar	2
				Beypazarı-Mer e	3
				Beypazarı-Kırbaşı	2
<b>Ara toplam</b>		<b>3</b>		<b>8 Lokasyon</b>	<b>18 Arıcı</b>

Ardahan	14-16 Haziran 2011	3	2	Merkez	4
				Posof-Yeniköy	2
				Posof-Süng lü	2
				Posof-Yurtbekler	1
				Hanak-Merkez	2
				Hanak-Güneşgören	1
				Hanak-İncedere	1
				Hanak-Koyunpına	2
				Çıldır-Yenibeyrehatun	2
				Çıldır-Doğankaya	1
<b>Ara toplam</b>		<b>3</b>		<b>10 Lokasyon</b>	<b>18 Arıcı</b>
Artvin	17-19 Haziran 2011	3	2	Borçka-Camili	4
<b>Ara toplam</b>		<b>3</b>		<b>1 Lokasyon</b>	<b>4 Arıcı</b>
Hatay	7-10 Ağustos 2011	4	2	Antakya-Şenköy Yayladağ-Ayışığı	Ana arı alındı
<b>Toplam</b>		<b>25 Gün</b>	<b>-</b>	<b>38 Lokasyon</b>	<b>92 Arıcı</b>





Örneklerinden RNA izolasyonu yapılan arıcılar ve elde edilen RNA'nın kalitesi ile ilgili bilgiler aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

**Tablo 1** : RNA izolasyonunda kullanılan 2010 ilkbahar arazi örnekleri

Koloni Kodu	Arıcı	Lokasyon	Arıcı Tipi
1 (H6)	C.Yemişel	Hatay Samandağ	Gezici
2 (H6)	Mustafa Yücel	Hatay Şenköy	Sabit
3 (H6)	Arif Er	Hatay Ayışığı	Sabit
4 (H6)	Hayrettin Karaca	Hatay Dört Yol	Gezici
5 (S6)	Samir Berrak	Hatay Samandağ	Sabit
6 (S6)	Galip Eğilmez	Hatay Şenköy	Sabit
7 (S7)	Hüseyin Selvi	Edirne Keşan	Sabit
8 (S7)	Hasan Uçar	Edirne İpsala	Sabit
9 (S7)	S.Özçalışkan	Edirne Mecidiye	Sabit
10 (S7)	H.Badem	Edirne Çeltik	Sabit
11(S7)	C.Saygılı	Kırklareli Kadıköy	Sabit
12 (H7)	A. Küçük	Kırklareli Kadıköy	Sabit
13 (H7)	M. Balkan	Kırklareli Kofçaz	Sabit
15 (S8)	Melahat Gülbin	Artvin Borçka	Sabit
16 (S8)	Selim yıldırım	Artvin Borçka	Sabit
17(S8)	M.kurban	Artvin Borçka	Sabit

18 (S8)	Kazım Arıcı	Ardahan Sugöze	Sabit
19 (S8)	Cengiz Yazıcı	Ardahan Posof	Sabit
20 (H8)	Evren Çelik	Ardahan Posof	Sabit
21 (H8)	Kemal Bozkurt	Ardahan Hanak	Gezici
22 (H8)	A.Necmi Yazıcı	Ardahan Hanak	Gezici
23 (H8)	Aydın Demirci	Ardahan Çıldır	Gezici
24 (H8)	Binali Şimşek	Ardahan Çıldır	Gezici
25 (S9)	Veysel Gül	Ankara Kızılcahamam	Sabit
26 (S9)	Ziya Yiğiter	Ankara Haymana	Sabit
27 (S9)	Fahrettin Ar	Ankara Nallıhan	Sabit
28 (S9)	Galip Demirel	Ankara Nallıhan	Sabit
29 (S9)	Fatih Armutçu	Ankara Beypazarı	Sabit
30 (H9)	Selahattin Kilis	Ankara Kazan	Gezici
31 (H9)	Fatih Atalay	Ankara Kazan	Gezici
32 (H9)	Veli Okur	Ankara Kazan	Gezici
33 (H9)	Hüseyin Demir	Ankara Haymana	Gezici
34 (H9)	M.Ali Serim	Ankara Haymana	Gezici
35 (H10)	Bülent Kaya	Elazığ	Gezici
36 (H10)	Turan Demir	Elazığ	Gezici

37 (H10)	Bayram Demir	Elazığ	Gezici
38 (H10)	Muhammet Atilla	Elazığ	Gezici
39 (S11)		Muğla Dağpınarı	Sabit
40 (S11)		Muğla Dağpınarı	Sabit
41 (S11)		Muğla Çömlekçiler	Sabit
42 (S11)		Muğla Çömlekçiler	Sabit
43 (S11)		Ören	Gezici
44 (S11)		Döğüşbelen	Gezici
45 (S11)		Döğüşbelen	Gezici
46 (S11)		Ula Kayra	Gezici
47 (S11)		Ula Karabörtlen	Gezici

**Tablo 2** : RNA izolasyonunda kullanılan 2010 sonbahar arazi örnekleri

Koloni Kodu	Arıcı	Lokasyon	Arıcı Tipi
1 (H1)	B. Çakıcı	Ardahan-Posof	Sabit
2 (H1)	Z. Çakıcı	Ardahan-Posof	Sabit
3 (H1)	T. Alüzüm	Ardahan-Posof- Türkgözü	Sabit
4 (S1)	Kafkas Arısı Gen Merk.	Ardahan-Posof- Türkgözü	Sabit
5 (S1)	İ. Evliyaoğlu	Artvin-Şavşat-	Sabit

		Soğuksu	
6 (H2)	Kazım Saraçoğlu	Hatay-Dörtyol	Gezici
7 (H2)	Selahattin Saraçoğlu	Hatay-Dörtyol	Gezici
8 (H2)	Mihail Kiremistin	Hatay-Samandağ	Gezici
9 (S2)	Arif Er	Hatay-Ay ışığı	Sabit
10 (S2)	Galip Eğilmez	Hatay- Şenköy	Sabit
11(S2)	Mustafa Yücel	Hatay- Şenköy	Sabit
12 (H3)	Kerim Meydan	Muğla-Marmaris- Çetibeli	Gezici
13 (H3)	Nurettin Akyol	Muğla-Marmaris- Çetibeli	Gezici
15 (H3)	İlyas İlhan	Muğla-Dalaman- KapuKargın	Sabit
16 (H3)	Eray İlhan	Muğla-Dalaman- KapuKargın	Gezici
17(H3)	Ali İlhan	Muğla-Dalaman- Çeştepe	Gezici
18 (S3)	Ali Kayır	Muğla-Marmaris- Çetibeli	Gezici
19 (S3)	Hasan Şahin	Muğla-Marmaris- Çetibeli	Gezici
20 (S3)	Kadir Şahin	Muğla-Marmaris-	Sabit

		Çetibeli	
21 (H4)	Hasan Balı	Kırklareli-Demirci Halil	Sabit
22 (H4)	Rıdvan Ulus	Kırklareli-Demirci Halil	Sabit
23 (H4)	Cemalettin Saygılı	Kırklareli-Kadıköy- Sakızlı	Sabit
24 (H4)	Mustafa Balkan	Kırklareli Kovçaz	Sabit
25 (H4)	İsmail Işık	Kırklareli-Babaeski	Sabit
26 (S4)	Eyüp Hazar	Kırklareli-Babaeski	Sabit
27 (S4)	Hasan Atörez	Kırklareli-Babaeski	Sabit
28 (S4)	Saim Kulanoğlu	Kırklareli-Babaeski	Sabit
29 (H5)	İbrahim Şenol	Bitlis-Merkez	Gezici
30 (H5)	Muhittin Koçan	Bitlis-Merkez	Gezici
31 (H5)	Abdullah Aktaş	Bitlis-Merkez	Gezici
32 (H5)	Fatih Özdemir	Bitlis-Merkez- Değirmenaltı	Gezici
33 (H5)	İsmail Bağatür	Bitlis-Merkez – İçmeli Köyü	Gezici
34 (S5)	Ünal Avcıl	Bitlis-Merkez- Ağaçköprü	Gezici
35 (S5)	Ayla Avcıl	Bitlis-Merkez-	Gezici

		Ağaçköprü	
36 (S5)	Caner GünGördü	Bitlis-Karçınbaşı	Gezici

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. CEMAL CAN BİLGİN
Proje No:	109T547
Proje Başlığı:	Türkiye Bal Arıları Genetik Farklarının Koloni Dayanıklılığına (Vitality) Etkileri
Proje Türü:	Uluslararası
Proje Süresi:	36
Araştırmacılar:	HASAN HÜSEYİN ÜNAL, BANU YÜCEL, MERAL KENCE
Danışmanlar:	MUHSİN DOĞAROĞLU
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. FEN EDEBİYAT F. BİYOLOJİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/11/2009 - 01/11/2014
Onaylanan Bütçe:	270223.0
Harcanan Bütçe:	212107.41
Öz:	<p>Türkiye zengin bir bal arısı genetik çeşitliliğini barındırması yanında kovan sayısı ve bal üretiminde dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Son yıllarda giderek olumsuz etkileri artan parazit, hastalık, kimyasal etkenlere dayalı veya nedeni açıklanamayan koloni ölümleri gerek ekolojik, gerek ekonomik açıdan ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu proje ile Türkiye'nin farklı bölgelerinden ve farklı (sabit/göçer) yetiştirilen arılardan alınan çok sayıda örnek morfolometrik, genetik ve transkriptomik yaklaşımlarla değerlendirilmiştir. Yöntem olarak yetiştiricilerle anket, geometrik morfolometri, ISSR ve SNP belirteçleri ile genetik yapı analizleri, Nosema ceranae ile enfekte olmuş bireylerde gen ekspresyonu gibi geniş bir yelpazeden yöntemler kullanılmış, elde edilen bulgular istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.</p> <p>Morfolometrik ve genetik analizler daha önceki çalışmalarda elde edilmiş ülkemizdeki coğrafi farklılıkları teyit etmiştir. Bu bağlamda Trakya bölgesinde yaygın carnica tipi arıların varlığı ve Anadolu arılarından belirgin farklılıkları saptanmıştır. Bunun yanı sıra Kafkas, Hatay ve Anadolu arıları genetik açıdan farklı kümeler oluşturmuşlardır. Perizin ve imidaklopridin arıların lokomotor aktivitesine etkileri ırklar/ekotipler arasında genelde anlamlı farklar göstermemiştir. N. ceranae ile enfekte arılarda kontrole göre defensin, hymenoptaecin, apidacaein ve abaeicin ekspresyonu genelde artış göstermiştir.</p> <p>Göçer arıcılığın genetik etkileri ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. Sabit kovanlar arasında genetik mesafe göçer arıcılara ait kovanlar arasındakinin dört katıdır. Ana arı ve kovan satışlarının etkisiyle ticari amaçlarla sıkça kullanılan Kafkas arısına ait genlerin yayıldığı, Kafkas ve Anadolu arılarının genetik olarak diğer bölgeleri en çok etkileyen gruplar oldukları görülmüştür.</p> <p>Elde edilen sonuçlar Türkiye balarılarında daha evvel gözlenen yüksek düzeydeki coğrafi genetik yapı ve çeşitliliği teyit etmiş ve bu çeşitliliğin korunması için politikalar geliştirme ihtiyacının altını çizmiştir. Son derecede değerli bir miras olarak genetik çeşitliliğin mevcut arıcılık yapısı ile hala korunmuş olduğu, ancak gerek göçer arıcılığın, gerek denetimsiz arı ticaretinin olumsuz etkileri nedeniyle tedbir alınmadığı takdirde bu mirasın kaybedilebileceği gerçeği açıktır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Apis mellifera, Nosema ceranae, genetik, lokomotor aktivite, gen ekspresyonu, göçer arıcılık
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- Genotype-Environment interaction experiment and evaluation of its part in Turkey (Bildiri), 2- The survey combining the COLOSS questionnaire and the questionnaire prepared for colony losses in Turkey (Bildiri), 3- Studies on the Characterization and Conservation of Kirklareli Honeybees (Bildiri), 1- A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping (Makale/Kitap/Kitapta Bölüm), 2- Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10 (Makale/Kitap/Kitapta Bölüm)