

RESEARCH ARTICLE / ARAŞTIRMA MAKALESİ

**Muğla Bal Arısında (*Apis mellifera anatoliaca*) Amerikan Yavru Çürüklüğü Hastalığına Karşı Direnç Geliştirilmesi**

Development of Resistance to American Fool Brood Diseases on Muğla Honey Bee (*Apis mellifera anatoliaca*)

Devrim OSKAY<sup>1</sup>, Mert KÜKRER<sup>2</sup>, Aykut KENCE<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Tekirdağ/Türkiye

<sup>2</sup> Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara/Türkiye

<sup>3</sup> Merhum

MAKALE BİLGİSİ

ÖZET

Geliş : 04.04.2019  
Kabul : 15.05.2019

**Anahtar kelimeler:**  
Bal Arısı, Islah, Hijyenik Davranış, Genetik Tanımlama, Muğla Arısı, *Apis mellifera anatoliaca*

**Sorumlu yazar:**  
Devrim OSKAY  
doskay@yahoo.com

Bal arıları, yabani ve kültüre alınmış bitkilerin tozlaşması için önemlidir. Bal arısı hastalıkları ve zararlıları yaygın kullanılan kimyasallara karşı dirençli hale gelmiştir. Kovadaki hastalıklara karşı sürekli güvenle antibiyotik kullanımı akılcı metot değildir. Farklı çalışmalar, bal arılarının hijyenik davranış gibi genetik olarak belirlenmiş hastalık direnç karakterlerinin olduğunu göstermiştir. Bu çalışmadaki amacımız Muğla bal arısı (*Apis mellifera anatoliaca*) için Amerikan Yavru Çürüklüğü hastalığına genetik olarak direnç geliştirilmesiydi.

Çalışmada, Muğla ilinden 200 Muğla arısı (*A. m. anatoliaca*) kolonisi toplanmıştır. Koloniler genetik metotlar kullanılarak tanımlanmıştır. 30 mikrosatelit belirteç kullanılarak yürütülen genetik tanımlama çalışmalarında Türkiye çapında 18 ilden 250 örnek içinde çalışmada yer alan Muğla arılarının konumu belirlenmiştir. Koloniler standart Langstroth kovanlarda tutulmuşlardır. Dene kolonileri standart arıcılık pratik teknikleri kullanılarak yönetilmiştir. Koloniler her yıl Nisan ayında hijyenik davranış için 2 defa değerlendirilmişlerdir. Hijyenik davranış ölçmek için kuluçkayı iğne ile öldürme tekniği kullanılmıştır. 100 adet kapalı kuluçka gözleri sayılmış (a) bu gözlerdeki arılar iğne kullanılarak öldürülmüştür. Uygulamanın yapıldığı petek koloniye verilmiş ve 24 saat sonra temizlenmeden kalan göz sayısı(b) kayıt edilmiştir. Hijyenik Davranış (HD) balarıları tarafından temizlenmiş ölü kuluçka sayısının öldürülen kuluçka sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır.  $HB = a - b/a \times 100$

En az iki ölçümde %95'in üzerinde hijyenik davranış gösteren koloniler damızlık olarak seçilerek ana arı üretiminde kullanılmıştır. Kız kardeş ana arılar, kolonilerden şansa bağlı olarak toplanmış erkeklerden 10 µl semen ile yapay tohumlanmışlardır. Kapatılmış toplum ıslah programı kullanılmıştır.

Çiftleşmedeki kontrol (yapay tohumlama) ile 3 yıl sonra hijyenik davranış artışı 2012 yılında %43'e, 2013 yılında %63'e ve 2014 yılında %91.7'e yükselmiştir. Hijyenik davranış oranı 2012, 2013 ve 2014 arasında önemli derecede farklı çıkmıştır ( $P \leq 0.001$ ). Sürüde hijyenik davranış karakterinin kalıtım derecesi 1. ve 2. yıllar arasında 0.32, 2.ve 3. yıllar arasında ise 0.77 bulunmuştur.

## ARTICLE INFO

Received : 04.04.2019  
Accepted : 15.05.2019

**Keywords:**

Honey bee, Breeding, Hygienic behavior, Genetic Identification, Mugla bees, Apis mellifera anatoliaca

**Corresponding author:**

Devrim OSKAY  
doskay@yahoo.com

## ABSTRACT

*Honeybees are important for pollinating wild and cultured plants. Honeybee diseases and pests have become resistant to the commonly used and previously effective treatment chemicals. Antibiotic treatment of diseases in beehives means that sustained reliance on chemical control measures is not a reasonable method. Different studies have shown that honeybees have genetically determined mechanisms for disease resistance such as hygienic behavior. In this study, we aim for genetic improvement in Muğla Honeybee (Apis mellifera anatoliaca) resistance to American foulbrood diseases.*

*In our study 200 Mugla bee (A. m. anatoliaca) colonies collected from Mugla province. Colonies were identified with genetic methods. The position of Muğla bees of the study among 250 honeybee colonies from 18 provinces of Turkey was determined by making use of 30 microsatellite markers. The colonies were kept in standard Langstroth hives. The experimental colonies were managed using standard beekeeping practices. Colonies evaluated 2 times for hygienic behavior in April each year.*

*To measure hygienic behavior a pin-killed brood assay was used, where all the 100 capped brood cells were counted (a) and cells were punctured using a pin to kill the brood. The treated comb was placed back into the colony and after 24 hours the number of cells that remained capped (b) were recorded. Hygienic behavior (HB) was the number of cells of dead brood that were removed by the honeybees divided by the total number of cells of brood killed.  $HB = a - b/a \times 100$ .*

*The colonies showing hygienic behavior over %95 in at least two measurements were selected and used as breeder colonies for queen production. Daughter queens were instrumentally inseminated with 10 µl of semen from randomly collected drones from the whole population. All inseminated queens were marked and introduced 3 Langstroth frames nuc boxes with pushing cages. We used the "Closed Population" breeding program.*

*Hygienic behavior increased in the population after 3 years of selection on queens with mating control (instrumental insemination) from 43% in 2012 to 63% in 2013 and further to %91.7 in 2014. Hygienic behavior ratio was significantly different among 2012, 2013 and 2014 ( $P \leq 0.001$ ). Heritability was 0.35 between the 1st and the 2nd years and 0.77 between the 2nd and the 3rd years.*

**1. Giriş**

Biyolojik çeşitlilik, canlıların geçmişinde karşılaştıkları sorunlara bulunan çözümlerin gen denilen mesajlar halinde kodlandığı muazzam bir organik kütüphanedir. Biyolojik çeşitlilik, genetik ve ekolojik çeşitlilik olmak üzere iki ana kategoride ele alınabilir. Genetik çeşitlilik bir canlı türünün gen havuzundaki kalıtsal bilginin çeşitliliği olarak tanımlanır. Özellikle insan tarafından evcilleştirilerek çeşitli biçimlerde yararlanılan, ekonomik açıdan önemli bitki ve hayvan türlerinin yerel ırkları arasındaki genetik farklılıklar, farklı yerel koşullara uyum özelliklerini yansıttığından, bu türlerin uyum potansiyellerinin korunması ve ıslahı önemlidir. Her canlı türünün değişen çevre koşullarına uyum sağlayarak varlığını sürdürebilmesi için genetik çeşitlilik vazgeçilmez bir ön koşuldur. Yeterli genetik çeşitliliğe sahip olmayan canlı türleri, değişen çevre koşullarına ayak uyduramayarak yok olmaya mahkumdur (Kence, 1987).

Bal arısı, ekonomik açıdan bitkisel tarım ürünlerinin dünyadaki en önemli tozlaştırıcısıdır. Doğal floranın

korunmasında da kilit rol oynarlar. İnsan besin tüketiminin yaklaşık 1/3'ü doğrudan ya da dolaylı olarak böcek tozlaştırıcılara bağlıdır. Araştırmalara göre, 2005 yılı için Avrupa'da bal üretiminin ekonomik değeri 140 milyon avro iken, bal arılarının tozlaşma yoluyla bitkisel üretime katkısı bunun yaklaşık 100 katıdır (14.2 milyar avro). Dünya'da ise bal arısı tozlaşmasının ekonomik değeri 153 milyar avro olarak hesaplanmıştır (Moritz ve ark., 2010). Buna göre Türkiye'deki bal arılarının tozlaşma yoluyla tarımsal üretime katkısının milyarlarca avro olduğu düşünülebilir.

Günümüzde uygulanan yanlış politikalar, çevre kirliliği, iklim değişiklikleri, ekolojik problemler ve eğitimsizlik bütün dünyayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bunlara bağlı olarak son yıllarda nedeni tam olarak anlaşılmayan bal arılarında görülen koloni çöküş sendromu (CCD) yüzünden Dünya üzerinde büyük miktarlarda koloni kayıpları yaşanmaktadır. Koloni çökme sendromunun en önemli nedenlerinden biri, sadece birkaç yerde yetiştirilen ana arıların arıcıların büyük çoğunluğuna dağıtılması nedeniyle genetik çeşitliliğin giderek azalmasıdır (Delaney ve ark., 2009). Diğer bir neden ise, ticari amaçlarla bir

ülkeye yabancı ülkelerden bal arısı getirerek genetik kirlenmeye yol açmak ve arıların yaşadıkları bölgeye ve çevreye olan uyumlarının bozulmasına neden olmaktadır (Kence, 2006).

Koloni kayıplarına örnek olarak, ülkemizin çeşitli bölgelerinde üreticiler ile yapılan anket çalışması sonucu, 2004, 2005 ve 2006 yıllarındaki koloni kayıpları %10 civarında olurken, 2007 yılında bu oranın %40'a kadar yükseldiği görülmüştür (Giray ve ark., 2010). ABD'de ise koloni kayıp oranı 2007 yılında %60'a kadar çıkmıştır (Vanengelsdorp ve ark., 2008). Bu durum çeşitli ülkelerde sadece arıcılık sektörünü olumsuz yönde etkilemekle kalmamış, bal arılarının bitkisel üretimde tozlaşma görevinden dolayı bitkisel üretim sektörünün de olumsuz etkilenmesine neden olmuştur. Bu durum karşısında ülkeler yeni arıcılık modelleri ve araştırma stratejileri oluşturmak zorunda kalmışlardır (Moritz ve ark., 2010)

Anadolu'nun bal arıları için bir gen merkezi (Ruttner, 1988) olması dolayısıyla bal arılarının hemen hemen her özelliğinde büyük bir çeşitlilik görülür. Öyle ki Türkiye beş bal arısı ırkı ile Dünya'daki yaklaşık 25 balarısı ırkının %20'sine sahiptir. Bu ırklar yaşadıkları bölgelere ve çevre koşullarına uyum sağlayarak farklı morfolojik, davranış ve verim özellikleri geliştirmişlerdir. Amerika ve Avustralya gibi yeni dünya olarak tanınan kıtalar bal arıları ile 1800'lü yıllarda insanlar yoluyla tanışmıştır. Fakat, Türkiye'nin içinde bulunduğu eski dünya olarak tanınan Avrupa ve Asya kıtaları, binlerce yıldır buldukları ortamlara uyum sağlamış birçok yerli bal arısı ırkı ve ekotiplerini bünyesinde barındırmaktadır. Bu ırklar aralarında varroa bulaşıklık oranı, bal verimi, kuluçka büyüklüğü ve kolonilerdeki arı sayısı bakımından fark göstermektedirler (Kence ve ark., 2009).

Ülkemizin arı koloni sayısı, çeşitli bal arısı ırkları ve ekotiplerini barındırması ile diğer ülkelerin bilim adamlarının ve ıslahçıların dikkatini çekmiştir. Dünyaca ünlü bal arısı ıslahçısı Brother Adams kendi ülkesindeki arıların ıslahında Anadolu arısını (*Apis mellifera anatoliaca*) kullanarak dünya arıcılık sektöründe çok iyi tanınan "Buckfast" arı hattını oluşturmuştur (Adams, 1987). Yine Danimarka'nın ünlü damızlık ana arı yetiştiricisi Sorencen, geliştirdiği damızlık ana arı hattını her yıl Anadolu arısıyla çiftleştirdiğini belirtmiştir (Traynor, 2008).

Ülkemiz Anadolu arısı (*Apis mellifera anatoliaca*), Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*), İran arısı (*Apis mellifera meda*), Suriye arısı (*Apis mellifera syriaca*) ve Karniol arısı (*Apis mellifera carnica*) (Kandemir ve ark., 2000) ırklarına ait pek çok ekotipi barındırmaktadır. Anadolu arısının (*Apis mellifera anatoliaca*) bir ekotipi olan Muğla arısı, çam balı üretimine uyarlanmasından dolayı yaşam öyküsü (kuluçka gelişimi, oğul verme eğilimi, koloni gelişme özelliği, vb.) özellikleri açısından diğer Anadolu ekotiplerinden farklıdır. Muğla ekotipi geleneksel (Çınar, 2006) ve geometrik

morfometri analizlerinde de diğer Anadolu ekotiplerinden istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde farklılık göstermektedir (Tunca ve ark., 2009).

Amerikan yavru çürüklüğü *Paenibacillus larvae* adlı bakteri ile gelişen bir hastalık olup, bal arılarını tehdit eden en ciddi hastalıklardan biridir. Bakterinin sporları larvalar yumurtada çıktıktan yaklaşık 10-11 gün sonra 5. instar kütikülü içinde prepupa evresindeyken oluşmaktadır. Sporulasyon larvanın ölümüyle aynı zamandadır (Hansen ve Broodsgaard, 1999). Genç larvalar (36-48 saatlik) hastalığa en hassas grubu oluşturmaktadırlar ve spor taşıyan bakıcı arılar tarafından beslenme yoluyla enfekte olmaktadır. Larvanın yaşı büyüdükçe enfeksiyona olan direnci de artmaktadır (Broodsgaard ve ark., 1998; Crailsheim ve Reisberger-Galle, 2001). Ergin arılar spor taşıyıcısı olup kendileri hastalanmamaktadırlar (Woodrow, 1942). Amerikan yavru çürüklüğüne karşı yaygın olarak kullanılan oksitetrasiklin (*oxytetracycline*) adlı antibiyotiğe karşı ABD ve Kanada'da direnç gelişimi vakaları rapor edilmiştir (Miyagi ve ark., 2000; Colter, 2000). Amerikan yavru çürüklüğüne karşı uzun vadede daha sürdürülebilir ve etkili olan yaklaşım ise, hastalığa dirençli bal arısı hatlarının geliştirilerek antibiyotik kullanımının azaltılması ya da tamamen ortadan kaldırılmasıdır (Spivak ve Reuter, 2001a).

Amerikan yavru çürüklüğüne karşı koloni düzeyinde direncin en önemli bileşeni erişkin arıların enfekte larvalara karşı gösterdikleri hijyenik davranıştır. Bu davranışı sergileyen işçi arılar, enfekte larva gözlerini hızlı bir şekilde belirleyerek gözleri açmakta ve enfekte larvayı dışarı atmaktadır. Amerikan yavru çürüklüğü direnci ve hijyenik davranış ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı hatlardan gelen koloniler arasında hijyenik davranışı gösterme seviyesinde bir çeşitlilik olduğu bildirilmiştir (Rothenbuhler 1964 a,b; Spivak ve Gilliam 1998 a,b). Rothenbuhler (1964b) yaptığı çalışmada hijyenik davranışın biri gözleri açma, diğeri ise temizleme davranışını kontrol eden iki bağlantısız çekinik gen tarafından oluşturulduğunu belirtmiştir. Ancak daha sonra moleküler düzeyde yapılan çalışmalar, her bir hijyenik davranışın, toplam fenotipik çeşitliliğinin %9-15'ini ifade eden 7 ayrı sayısal gen lokusu (QTL) tarafından kontrol edildiğini belirtmektedir (Lapidge ve ark., 2002). Hijyenik davranışın kalıtsallık düzeyi Harbo ve Harris (1999) tarafından 0,65 olarak bulunurken, Lapidge ve ark. (2002) tarafından ise 0,57 olarak bulunmuştur. Hijyenik davranış 15-20 günlük orta yaşlı arılar tarafından uygulanmaktadır (Arathi ve ark., 2000). Hijyenik davranış gösteren koloniler Amerikan yavru çürüklüğünün yanı sıra, *Ascosphaera apis* adlı fungus tarafından oluşturulan kireç hastalığına karşı da direnç göstermektedirler (Palacio ve ark., 2010). Toufalia ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, hijyenik kolonilerin varroa ile enfekte larvaları kısmen kovandan dışarı atarak varroa akarının ve deforme kanat virüsünün (DWV) yayılmasını sınırlandırdığını bildirmiştir. Bu çalışmada yüksek düzeyde hijyenik davranış gösteren

kolonilerin varroa akarı yükünün, düşük düzeyde hijyenik davranış gösteren kolonilere göre %40 oranında daha düşük olduğu, buna bağlı olarak da yüksek düzeyde hijyenik davranış gösteren kolonilerde 10.000 kat daha az oranda deforme kanat virüsü olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle; yüksek düzeyde hijyenik davranış gösteren kolonilerin varroaya karşı yılda 2 defa yerine sadece 1 defa ilaçla mücadele edilebileceği belirtilmiştir. Bütün bu özellikler hijyenik davranış gösteren kolonileri arıcılık ekonomisi açısından oldukça önemli hale getirmektedir (Mondent ve ark., 2015; Güler ve Toy 2013; Schöning ark., 2012; Invernizzi, 2001; Spivak ve Reuter, 2001a, 2001b, 1998; Spivak 1996; Boecking ve Dreschler, 1992).

Muğla, arıcılık açısından en önemli bölgelerimizden birini temsil eder. Muğla arısında uygulanacak olan genetik ıslah yöntemleri ile Amerikan yavru çürüklüğü, kireç hastalığı ve kısmen de varroaya (*Varroa destructor*) karşı dirençli bir hattın geliştirilmesi ülkemiz arıcılığına önemli bir hizmet olacaktır. Ülkemizde, arıcılığın dünya standartlarına ulaşabilmesi için gereken koşullardan biri de ana arı üreticilerine damızlık ana arı sağlanmasıdır. Şu anda Türkiye’de ıslah yoluyla damızlık ana arı üretimi çok sınırlıdır. Bu nedenle, bu çalışmada uygulanan ıslah programı ülkemizdeki diğer arı ırkları ve farklı özellikler için uygulanabilir bir model de oluşturacaktır.

Projenin temel çıktısını hastalıklara karşı dirençli damızlık ana arılar oluşturmaktadır. Ayrıca, proje sonucunda çam balı üretimine uyum sağlamış yerel bir ekotip geliştirilmiş olduğundan, yerli arı ırk ve ekotiplerinin ıslahı ve kullanımı gerçekleştirilmiş

olmaktadır. Bu şekilde, şu anda sadece birkaç odakta üretilen ana arıların Türkiye’nin her yerine dağıtılması sonucunda genetik çeşitliliğin azalması bir ölçüde engellenebilecektir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Genetik Tanımlama Çalışmaları

Çalışmada, Anadolu arısının bir ekotipi olan Muğla arısı kullanılmıştır. Muğla ilinde bulunan 22 farklı arılıktan 225 koloni seçilerek ortak arılığa getirilmiştir. Islah projesi için seçilen kolonilerin bulunduğu işletmelerin son 20 yıldır dışarıdan ana arı almadıkları, sabit arıcılık yaptıkları tespit edilmiştir.

Genetik tanımlama çalışmalarında Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde yer alan 18 ilden 250 örnek kullanılarak ülke çapında genetik yapı ortaya konmuş, projemize ait örnekler de bu yapı içerisindeki konumlarıyla değerlendirilmiştir. 30 mikrosatelit bölgesinin genetik belirteç olarak kullanılmasıyla örneklerin genetik tanımlamaları yapılmıştır.

Analizler için DNA, arıların baş kısmından QIAGEN DNeasy Blood and Tissue kiti kullanılarak elde edilmiş, PCR için mikrosatelit primerleri dört grup olarak multipleks hale getirilmiştir. 6-FAM, VIC, NED ve PET floresan boya ile işaretlenen primerlerden çoğaltılan ilgili mikrosatelit DNA dizileri ABI 3730XL dizileme cihazıyla tespit edilmiştir. Mikrosatelitler ve primerleri Çizelge 1’de gösterilmektedir.

Çizelge 1. Mikrosatelit lokusları ve primerler

	Lokus	F/R	Dizi	Uzunluk	Boya
GR 1	Ap218	F	AGGGATGGAATTCTTCGATT	20	6-FAM
		R	TTGTCACAATTCCGCTTGA	19	
A113	A113	F	CTCGAATCGTGGCGTCC	17	6-FAM
		R	CCTGTATTTTGCAACCTCGC	20	
A(B)024	A(B)024	F	CACAAGTTCCAACAATGC	18	VIC
		R	CACATTGAGGATGAGCG	17	
Ap249	Ap249	F	CGCGCGACGACGAAATGT	18	VIC
		R	CAGTCCTTTGATTTCGCGCTACC	22	
A088	A088	F	CGAATTAACCGATTTGTCG	19	NED
		R	GATCGCAATTATTGAAGGAG	20	
AP001	AP001	F	ACACGCGAACAATACAACA	19	NED

		R	ACTAATCGGCACGATGAAG	19	
	Ap043	F	GGCGTGCACAGCTTATTCC	19	PET
		R	CGAAGGTGGTTTCAGGCC	18	
<b>GR 2</b>	A079	F	CGAAGGTTGCGGAGTCCTC	19	6-FAM
		R	GTCGTCCGACCGATGCG	17	
	Ac306	F	GAATATGCCGCTGCCACC	18	6-FAM
		R	TTTCGTTGCATCCGAGCG	18	
	Ap226	F	AACGGTGTTCGCGAAACG	18	6-FAM
		R	AGCCAACCTCGTGCGGTCA	18	
	A007	F	CCCTTCTCTTTCATCTTCC	20	VIC
		R	GTTAGTGCCCTCCTCTTGC	19	
	HB-C16-01	F	AAAATGCGATTCTAATCTGG	20	VIC
		R	TTGCCTAAAATGCTTGCTAT	20	
	Ap068	F	TGTCTGCCCTCCTCTCTGTT	20	NED
		R	CACATCGAGCGAGAAGGC	18	
	A014	F	GTGTCGCAATCGACGTAACC	20	NED
		R	GTCGATTACCGATCGTGACG	20	
	Ap223	F	TCGTACAACGTCCGCGCAA	18	PET
		R	GCCGCTCGCCTGTATCTG	18	
<b>GR 3</b>	AP019	F	CTCGTTTCTTCCATTGCG	18	6-FAM
		R	CGGTACGCGGTAGAAAAGA	18	
	A(B)124	F	GCAACAGGTCCGGTTAGAG	19	6-FAM
		R	CAGGATAGGGTAGGTAAGCAG	21	
	A043	F	CACCGAAACAAGATGCAAG	19	VIC
		R	CCGCTCATTAAAGATATCCG	19	
	A076	F	GCCAATACTCTCGAACAATG	20	VIC
		R	GTCCAATTCACATGTCGACATC	22	
	Ap273	F	GATCTTGTGTTAAACAGCCG	20	NED
		R	GATCTCTGGCAGACGAAGAG	20	
	Ap289	F	AGCTAGGTCTTTCTAAGAGTGTTG	24	NED
		R	TTCGACCGCAATAACATTC	19	

	HB-C16-05	F	ATTTTATGCGCGTTTCGTA	19	PET
		R	CATGGCTCCTCCATTAAATC	20	
	A028	F	GAAGAGCGTTGGTTGCAGG	19	PET
		R	GCCGTTTCATGGTTACCACG	19	
<b>GR 4</b>	Ap049	F	CCAATAGCGGCGAGTGTG	18	6-FAM
		R	GGGCTTCGTACGTCCACC	18	
	Ap238	F	GTCTCGTGCGTGCGAATG	18	6-FAM
		R	TTCATCATGTTCTCAAATTTCTTTGT	26	
	AC006	F	GATCGTGGAACCGCGAC	18	VIC
		R	CACGGCCTCGTAACGGTC	18	
	Ap243	F	AATGTCCGCGAGCATCTG	18	VIC
		R	TGTTTACGAGAATTCGACGGG	21	
	Ap288	F	GTTAGTTCGTCGTCGACCG	19	NED
		R	TCTTAGCTTTATAACGAGCACG	22	
	HB-C16-02	F	TAGTATCGTGCTGTTTCATCG	20	NED
		R	ACATACATCTCTTGGCGAGT	20	
	A107	F	CCGTGGGAGGTTTATTGTCTG	20	PET
		R	CCTTCGTAACGGATGACACC	20	

Muğla iline özel alellerin tespiti için Convert, soyağacının oluşturulması için Past 3, genetik yapının tayini için ise Structure programları kullanılmıştır.

## 2.2. Islah Çalışmaları

Kolonilere 4 yıl boyunca hijyenik davranış testi uygulanmıştır. Bu teste, her kolonide bulunan pupalı çerçevelerden birinde bulunan 100 gözün iğne kullanılarak, içerisinde bulunan pupa dönemindeki arıların öldürülmesi, bu çerçevenin kovanına geri verilerek, 24 saat beklemesinden sonra çıkarılarak, çerçevenin üzerinde bulunan petek gözlerinde ölmüş pupaların ne kadarının işçi arılar tarafından temizlendiği belirlenmiştir. Gözlerin %95'i temizlenmiş olan koloniler hijyenik özellik gösteren koloni olarak tanımlanmıştır. Çalışmada, kolonilere 2 farklı zamanda hijyenik davranış testi uygulanarak bunların ortalamaları koloninin hijyenik davranış puanı olarak belirlenmiştir.

Projede, hijyenik davranış testlerinde en yüksek performans gösteren kolonilerden ana arılar larva transfer tekniği kullanılarak yetiştirilmiştir. Bal arılarının kontrollü çiftleştirilmesi yalıtılmış alanlarda ya da yapay tohumlama tekniği uygulanarak gerçekleştirilmektedir. Ana arı havada uçarak her çiftleşme uçuşunda bir erkek arı ile olmak üzere, genellikle birden fazla erkekle doğal çiftleşme gerçekleştirir. Ortalama 7-17 erkek ile, birkaç gün ya da haftada çiftleşme işlemini tamamlar (Winston, 1987). Yalıtılmış alanlarda ıslah edilecek kolonilerin etrafında 10 km yarı çapında bir alanda başka koloniler bulunmadığı takdirde doğal çiftleşme yardımıyla ıslah programları uygulanabilir. Projemizde yetiştirilen ana arılar yapay tohumlama tekniği kullanılarak çiftleştirilmiştir. Yapay tohumlama; erkek arılardan şırınga yardımıyla toplanan spermilerin, çiftleşmemiş ana arıları CO2 gazı ile bayılarak, üreme organlarına mikroskop ve özel aletler yardımıyla enjekte edilmesi olayıdır (Oskay, 2008; Cobey, 2016). Yapay tohumlanmış ve doğal çiftleştirilmiş ana arıların performansları çeşitli araştırmacılar tarafından karşılaştırılmıştır.



Yapılan 14 çalışmanın 6 tanesinde yapay tohumlama ve doğal çiftleştirilmiş ana arıların performansları eşit, 7 çalışmada yapay tohumlanan ana arıların performansı daha yüksek, 1 çalışmada ise yapay tohumlanan ana arıların performansı daha düşük bulunmuştur (Cobey, 2007).

Pupa döneminde bulunan ana arılar gözlerden çıkmadan önce ana arı kafeslerine alınmışlardır. Kafeslerde bulunan ana arılar çiftleşmemiş ana arı bankalarında yapay tohumlanmaya uygun yaşa gelene kadar tutulmuşlardır. Çiftleşmemiş ana arıların yapay tohumlama yaşı önemlidir. Doğada ana arılar gözden çıktıktan 6-13 gün sonra çiftleşirler. Ruttner (1976) bu yaş aralığında çiftleşen ana arıların yaşama gücünün ve sperm kesesinde depolanan sperm sayısının en yüksek olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle yapay döllenecek ana arıların yaşları 8-10 gün olması beklenir. Beş günden daha genç olan ana arılara yapay dölleme yapıldığında büyük oranlarda ölüm ve performans düşüklüğü görülmektedir. Diğer taraftan, 14 günden daha yaşlı ana arılara yapay dölleme yapıldığında sperm keselerinde yeteri kadar sperm depolanmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, yapay tohumlama uygunluğuna ulaşan ana arılar, arı topluluğunu temsil eden erkek arılardan toplanan spermle CO2 uygulaması yardımıyla döllenecek ana arı ruşetlerine kafesleriyle birlikte yerleştirilmiştir. Ana arı ruşetlerinde bulunan ana arıların yumurtladıkları gözlendikten sonra, bu ana arılar damızlık kolonilerin ana arılarıyla değiştirilmiştir.

Çalışmada Robert E. Page ve Harry H. Laidlaw tarafından geliştirilen Kapalı Toplum Islah Programı izlenmiştir (Laidlaw ve Page, 1997). Bu programda bulunan kolonilerin hepsinin hijyenik özellik düzeylerinin belirlenmesi amacıyla İğne Testi (Pin Testi) uygulanmıştır. İğne Testleri süresince, kuluçkalıkta bulunan çerçevelerdeki 100 gözde pupa döneminde olan 11-15 günlük bireyler iğne yardımıyla öldürülmüş ve kovanlarda 24 saat tutulmuşlardır. Bu süre sonunda kolonide bulunan işçi arıların ölü pupaları ne oranda gözlerden temizlediği ve dolayısıyla, hijyen özellik düzeyi belirlenmiştir. Kovanlarındaki gözlerden %95 ve üzeri temizlenen kolonilere hijyenik koloni denilmiştir (Spivak ve Reuter, 2001).

Bu çalışmada, 200 koloni içinde hijyenik özelliğe sahip olanlar seçilmiştir. Daha sonra, hijyenik özellik gösteren kolonilerin erkeklerinden bir sperm havuzu oluşturulmuş ve her ana, 8-10 µl sperm ile yapay tohumlama yöntemi yoluyla döllenmiştir. Bu şekilde her yıl yaklaşık 400 ana arı üretilmiştir. Döllenen genç ana arılar, 3-4 arılı çerçevesi bulunan ana arı ruşetlerine kabul ettirilerek döl kontrolü testine tabi tutulmuşlardır (Doğaroğlu, 2008). Bu test, ana arıların diploit erkek üretilip üretilmediği konusunda gözlem yapılması için

gereklidir. Bu testi geçen sağlıklı analar damızlık kolonilere kabul ettirilmiştir.

Damızlık kolonilere kabul ettirilmiş ana arıların oluşturdukları koloniler, İlkbahar- Nisan ayında hijyenik davranış performansları bakımından gözlenerek, puanlama yapılmıştır. Puanlama sonuçlarına göre ana arılar yetiştirilmiştir. Ayrıca, hijyen davranışının seçim farklılaşması, seçim yanıtı ve kalıtsallık düzeyi hesaplanmıştır (Falconer, 1996). İzleyen 2 yıl boyunca bu işlemler tekrarlanmış ve dolayısıyla, programın devamlılığı 3 yıl boyunca sağlanmıştır. Çalışmada yetiştirilen ana arılar, biyoteknolojik tekniklerden olan yapay tohumlama tekniği ile topluluğu temsil eden kolonilerin erkek arılarıyla spermle tohumlanmıştır. Yapay tohumlanan ana arılar, 3 çerçevelik Langstroth ölçülerindeki çiftleştirme kovanlarında bulunan çekirdek kolonilere kabul ettirilmiştir. Damızlık ana arıların döl kontrolü yapıldıktan sonra, 20 çerçevelik Langstroth ölçülerinde olan kovanlarda bulunan kolonilerin 1 yaşını doldurmuş ana arıları alınarak, yeni yetiştirilmiş damızlık anası olan çekirdek kolonilerle birleştirilmiştir.

Araştırmada, hijyenik davranış yönünden yüksek puan alarak seçilen kolonilerden yapay tohumlama tekniği yoluyla döllenecek ana arılar Doolittle metodu kullanılarak yetiştirilmiştir (Doolittle, 1889). Ana arı yetiştirilmesi için seçilen kolonilerdeki peteklerden 1 günlük işçi arı larvaları aşılama kaşığı yardımıyla plastikten yapılmış ana arı yüksüklerine transfer edilmiştir. Transfer edilen 40-60 arasındaki larvalı gözler, ana arısı olmayan 10 çerçeve genç arılı, gözlerden çıkmak üzere olan pupalı, ballı ve polenli çerçevelerden oluşmuş tek katlı başlatıcı kolonilere verilmiştir. Başlatıcı kovanlar larva transferi yapılmadan bir gün önce oluşturularak 1:1 oranlı şeker şurubu ile devamlı beslenmişlerdir.

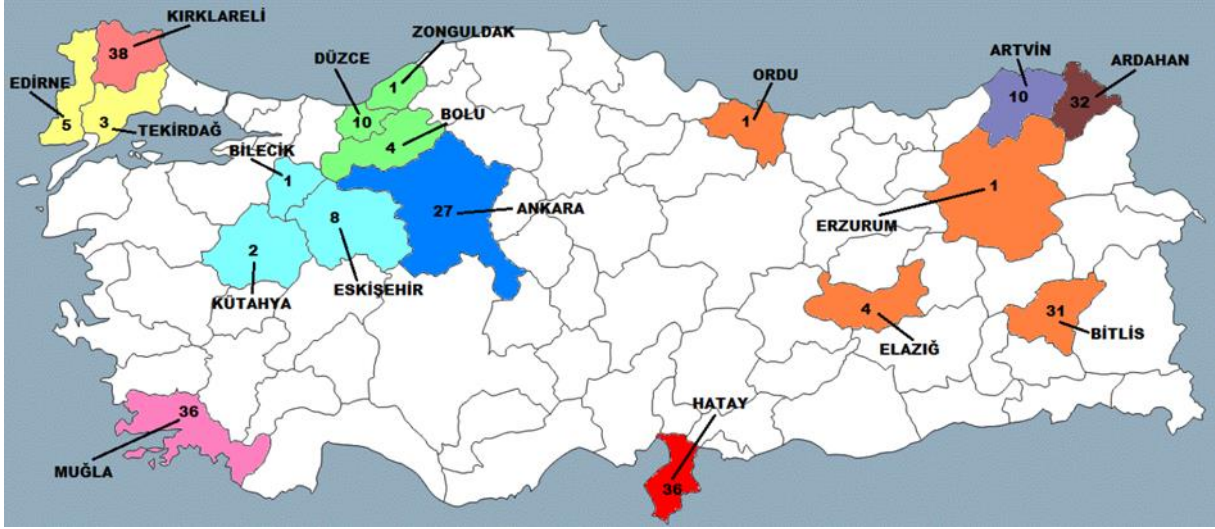
Muğla ilinin Fethiye ilçesinde oluşturulan izole alanda her yıl aynı seçim programı doğal çiftleşme yaptırılarak yetiştirilen ana arılar bölge arıcılarına dağıtılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

#### 3.1. Genetik Tanımlama Çalışmaları

Türkiye çapında 18 ilden 250 örneğe ait genetik yapı içerisindeki konumlarıyla değerlendirilmiştir. 30 mikrosatelit bölgesinin genetik belirteç olarak kullanılmasıyla genetik tanımlaması yapılan örneklerin illere göre dağılımı Şekil 1'de görülmektedir.

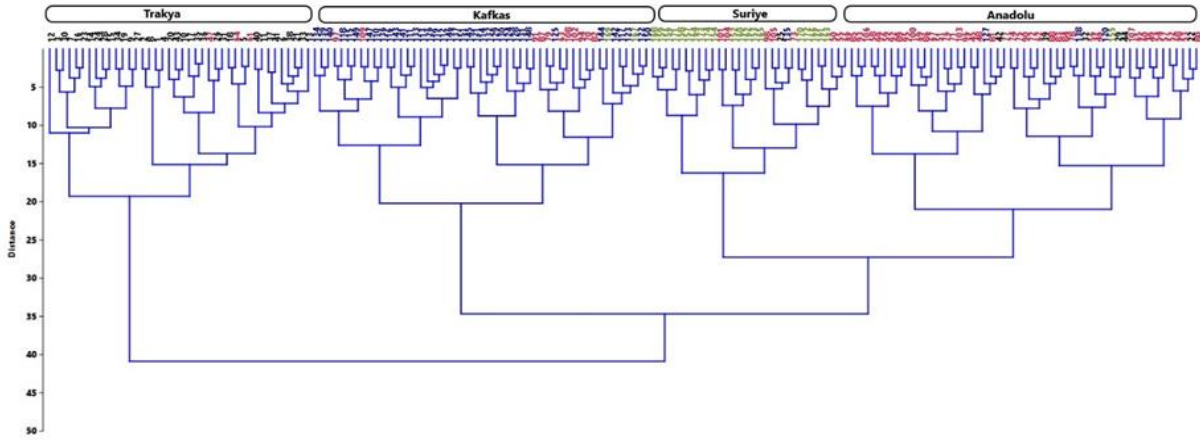
Şekil 1. Örneklerin illere göre dağılımı



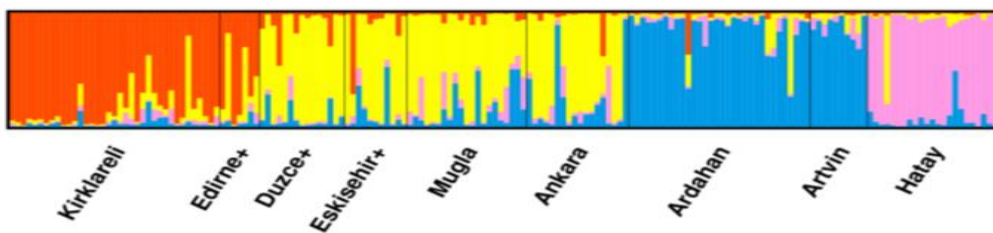
Genetik tanımlama çalışmalarına göre; işçi arıların anayı serbestçe değiştirmesine izin veren sabit arıcılara ait kolonilere bakıldığında daha net olmak kaydıyla, dört ayrı ırka denk düşen dört ayrı grup ortaya çıkmıştır. Çalışmaya ait örneklerin de içinde bulunduğu Muğla iline ait örnekler, Anadolu'nun tamamına yayılan Apis mellifera anatoliaca ırkına ait diğer

örnekler ile birlikte gruplanmışlardır. Bu grubun haricinde Hatay, Trakya ve Ardahan-Artvin bölgelerinde ülkemizde bulunan diğer ırklara ait gruplanmalar ortaya çıkmıştır. Şekil 2'de 174 sabit arılıktan edinilen örneklerle Nei'nin genetik uzaklıklarına göre oluşturulan soyağacı yer almaktadır.

Şekil 2. Nei'nin genetik uzaklıklarına göre oluşturulan soyağacı. Muğla arıları Anadolu grubu içinde yer almaktadır.



Şekil 3. STRUCTURE sonuçlarına göre genetik yapı





Şekil 3'te STRUCTURE programıyla belirlenen genetik yapı analiz sonuçları yer almaktadır. Renkler birer sütun olarak ifade edilen bireylerin değişik gruplara aidiyet oranını belirtmektedir.

Şekil 3'de görüldüğü gibi genel olarak Anadolu'da, bilhassa Muğla'da Kafkas arısının yaygın kullanımı bu ırka ait genetik belirteçlerin yaygınlaşmış olmasından da anlaşılmaktadır. Ancak yine görülmektedir ki mevcut örneklem içinde en ileri derecede melezlenme gösteren Muğla iline ait örneklerde bile arılar, hala baskın biçimde, şekilde sarı renk ile gösterilen Anadolu arısının genetik özelliklerini yansıtmaktadır.

Göçer arıcılara ait örnekler sabit arıcılara ait örneklere göre kötü durumdadır. Türkiye çapında göçer ve sabit arılıklar kıyaslandığında göçer arılıklar çok daha yüksek oranda melezlenmeye maruz kalmışlardır ( $p < 0.001$ ) (Kükrer ve ark. 2017). Aynı sonuçlar Muğla ili sınırları içinde de geçerlidir. Göçer arıcılara ait kolonilerden alınan örnekler çok daha yüksek bir melezlenme oranına sahiptir ( $p < 0.01$ ).

Projede kullanılan damızlık ve yapay tohumlama yapılmış ana arıların bulunduğu koloniler %67.8 oranında kendilerine ait gruba atanmışlardır. Çalışmanın diğer örneklerinden ayrılır biçimde ortalamayı düşüren aykırı değerdeki iki koloni devre dışı bırakıldığında bu oran %75.7'e ulaşmaktadır. Göçer arıcılığın yürütülmediği ve dışarıdan ana arı alımının gerçekleşmediği yalıtılmış olarak kabul edilebilecek bölgelerde kendi grubuna atanma oranı diğer bölgelere göre yüksektir ( $p < 0.001$ ) (Kükrer ve

ark. 2017). İzole bölge olarak kabul edilen Ardahan, Artvin gibi alanlarda dahi toplamda %15 civarında diğer gruplara atanma oranları gözlemlendiği olmuştur ve bu oran ırkların doğal etkileşimleri ya da analiz hata payları içerisinde değerlendirilerek normal kabul edilebilir. Proje örnekleri içerisinde %85-95 aralığında kendi grubuna atanan koloniler mevcuttur ve bunlar il sınırları içerisinde en yüksek oranı tutturmuş kolonilerdir.

Muğla ilinin genelinde kendi grubuna atanma oranı %54.1'dir. Bu oran Muğla'daki sabit arıcılar arasında ise %56.6'dır. Muğla iline ait genel örneklem ile proje örneklemini arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ). Bu da demektir ki projede yer alan damızlık ve suni tohumlama kolonileri tüm il içerisinde Anadolu arısının dolayısıyla bölgenin koşullarına binlerce yıl içinde adapte olmuş Anadolu arılarının bir alt grubunu oluşturan Muğla arısının özelliklerini en saf şekilde gösteren arılardır.

Proje kapsamında üzerinde çalışılan 30 mikrosatelit bölgesine ait aleller içerisinde yalnızca Muğla ilinde gözlemlenen aleller mevcuttur. Geçmiş çalışmalarda Muğla iline ait özel alel (private allele) gözlemlenmemiştir. Bu sebeple sadece Muğla ilinde bulunan kimi özel alellerin gözlenmiş olması genetik tanımlama çalışmamızın bir diğer önemli sonucu olmuştur. Böylece diğer Anadolu arılarından farklı bir yaşam döngüsüne sahip olan Muğla ekotipine özgü genetik izler de tespit edilmiştir. Değişik mikrosatelitlere ilişkin Muğla iline ait özel aleller Çizelge 2'de yer almaktadır.

**Çizelge 2.** Muğla iline özgü aleller

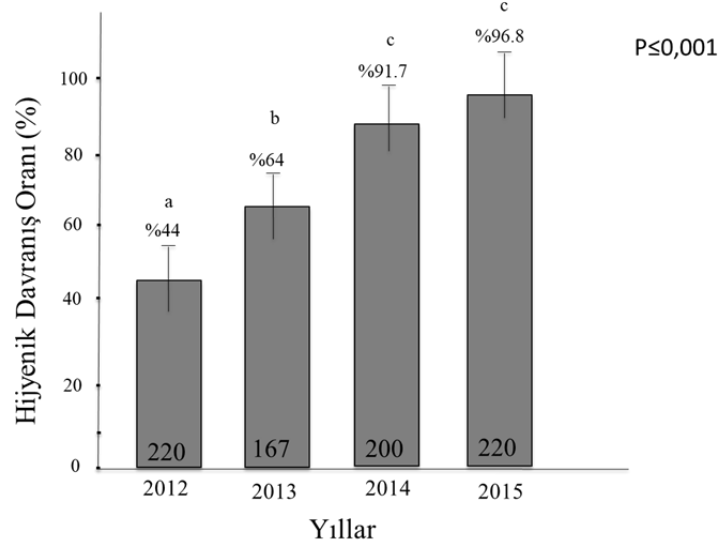
Mikrosatelit	Alel (baz çifti)
A007	170
A007	174
A007	194
A113	246
A113	248
AP001	224
AP001	227
AP001	264
AP001	274
AP243	270
AP289	200
AP289	250
HBC1602	291
HBC1605	73

### 3.2. Islah ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Projede yer alan kolonilerin her birine, her yıl Nisan ayında, birer hafta arayla 2 defa hijyenik davranış testi uygulanmıştır. İki test sonucu elde edilen verilerin

ortalaması o koloninin hijyenik davranış puanı olmuştur. Projede yer alan kolonilerin 1. Yıl sonunda hijyenik davranış oranı %43, 2. yıl %63 ve 3. yıl %91.7 olmuştur. Proje kolonilerinde hijyenik davranış oranı yıllara göre istatistiki olarak artış göstermiştir.

Şekil 4. Proje süresince kolonilere uygulanan hijyenik davranış testi sonuçları



### 3.3. Kalıtım derecesi hesaplamaları

Hijyenik davranış özelliğinin kalıtım derecesi 1.ve 2. yıllar arasında 0.35, 2. ve 3. yıllar arasında 0.77 bulunarak Çizelge 3’de verilmiştir.

Çizelge 3. Yıllar arasında hijyenik davranış karakterinin kalıtım dereceleri.

$$h^2 = R/S$$

S= Seleksiyon üstünlüğü  
Seçilen kovanlar ortalaması – Ebebeyn nesil ortalaması

R=Seleksiyona cevap  
Seçilen kovanlar ortalaması – Döllerin ortalaması

	S	R	h <sup>2</sup>
1.Yıl ile 2.Yıl	100-43=57	63-43=20	0,35
2.Yıl ile 3.Yıl	100-63=37	91,7-43=57	0,77

## 4. Sonuç

### 4.1. Genetik Tanımlama Çalışması

Araştırmada, genetik tanımlama çalışmasının sonucunda elde edilen bulgular:

1. Türkiye’de farklı bölgelerdeki bal arısı ırkları büyük ölçüde genetik özellikleri korumaktadırlar. Aynı bölgedeki farklı ırklar ayırt edici genetik özellikleri

nedeniyle belirlenebilmektedir. Islah çalışmasında kullanılan bal arısı kolonilerinden alınan örnekler A. mellifera anatoliaca ırkına ait arılarla birlikte gruplanmıştır.

2. Araştırma arılığında bulunan ve ıslah çalışması yürütülen bal arısı kolonileri, Muğla ilinde bulunan diğer kolonilere göre genetik olarak daha yüksek bir oranda Anadolu arısına (A. mellifera anatoliaca’ya) benzediği belirlenmiştir.

3. Özellikle Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*) başta olmak üzere olmak üzere, diğer arı ırklarından gelen genetik katkı Muğla ilinde diğer illere göre daha yüksek bulunmuştur.

4. Türkiye çapında olduğu gibi Muğla ilinde de sabit arıcılara ait koloniler göçer arıcılara ait kolonilere göre saflıklarının daha yüksek düzeyde muhafaza etmişlerdir. Başka bölgelerden ana arı satışlarının olmadığı ve göçer arıcılığın kısıtlı olduğu bölgelerde daha yüksek bir saflık oranı mevcuttur.

5. Muğla iline özgü mikrosatelit aleller tespit edilmiştir.

Bu araştırmanın sonuçlarına göre;

- Muğla iline adapte olmuş ve kendine özgü genetik özelliklere sahip Muğla arısı, koruma altına alınarak, bu yöndeki çabaların sürekliliğini sağlamak üzere gerekli kaynak ayrılmalıdır. Ayrıca Anadolu arısının Muğla ekotipinin tescillenme sürecine girilmiş olması olumlu bir gelişmedir.

- Ana arı satışı, koloni ticareti ve göçer arıcılık genetik koruma çalışmalarına tehdit oluşturduğundan bu faaliyetlerin kısıtlandığı izole bölgelerin, mümkün olan en yüksek genetik çeşitliliği içerecek büyüklükte ve biçimde olacak şekilde yasal statüyle oluşturulması önem arz etmekte olup, çevre illeri de kapsayacak şekilde bu statüdeki alanların sayısının artırılması faydalı olacaktır.

- Birkaç kaynaktan üretilerek farklı bölgelere ulaştırılan ve bölgeye adapte olamayan ırkların ana arılarının üretiminin teşvik edilmesi yerine, yerel arı popülasyonlarının ıslah çalışmaları teşvik edilmeli ve desteklenmelidir. Bu kapsamda izole bölgeler etkin biçimde kullanılmalı, mevcut ıslah çalışmalarının izlenmesi ve sürdürülebilirliğini sağlamak üzere insan gücü dahil gerekli yatırımlar yapılmalıdır.

- Genetik kaynakları ortaya çıkaran genetik çeşitlilik çalışmaları ve moleküler yöntemlerin yerel koşullara

uyum sağlamış yerel arıların ıslahına uygulanmasına yoğunlaşan araştırmalar desteklenmelidir.

#### 4.2. Islah Çalışması

Bu çalışmanın sonuçlarına göre;

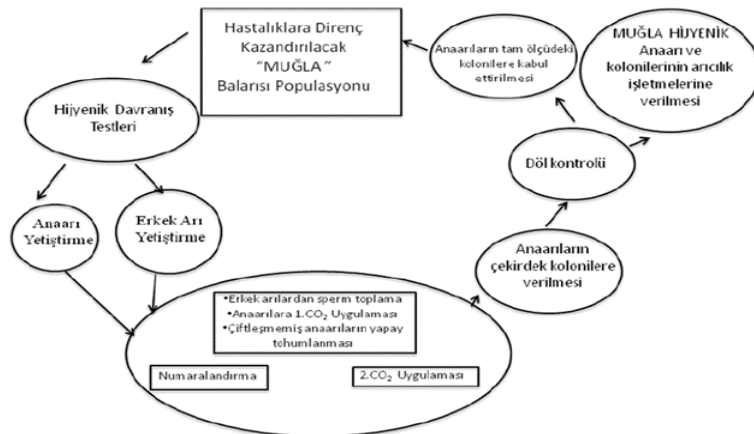
- Araştırma kapsamında oluşturulan kolonilerde ana arı yetiştirme ve yapay tohumlama teknikleri kullanılarak hijyenik davranış özelliğinde genetik ilerleme sağlanmıştır.

- Oluşturulan damızlık kolonilerden yetiştirilen ana arılar bölgede yeni kurulan ana arı yetiştirme işletmelerinde damızlık olarak kullanılacaktır. Böylece; bölgedeki arıcılık işletmelerinde Amerikan yavru çürüklüğü hastalığına, varroa akarına ve deforme kanat virüsüne bağlı koloni kayıpları engellenmiş olacaktır.

- Hijyenik özelliği yüksek kolonileri kullanan işletmelerde Amerikan yavru çürüklüğü hastalığının etkilerinin görülmesi beklenmediğinden, üreticilerin kolonilerine arı sağlığını olumsuz etkileyen antibiyotik uygulamasını yapmayacakları öngörülmektedir. Bu uygulamanın yapılmaması, arı ürünlerinde antibiyotik kalıntısı sorununu engellemiş olacaktır. Ayrıca hijyenik özelliği yüksek olan kolonilerin varroa akarına karşı da direnç gösterdiği yapılan bilimsel çalışmalarda rapor edildiğinden (Toufailia ve ark. 2014; Schöning ark., 2012) arıların bu akarla mücadelede kullandıkları kimyasalların uygulama düzeyleri yılda 2 defadan 1 defaya düşecektir. Bu uygulama varroa mücadelesinde arıcılara ekonomik avantaj sağlayacaktır. Aynı zamanda arı ürünlerinde varroa akarına karşı kullanılan kimyasal kalıntı riski de azalmış olacaktır.

- Bu çalışma, bal arısı ırklarının ve ekotiplerinin yaşadıkları bölgelerde, hastalıklara ve/veya zararlılara dirençli bal arılarının geliştirilmesi amacıyla gelecekte yapılacak diğer ıslah çalışmalarına model oluşturacaktır.

Şekil 5. Muğla arısının hijyenik davranış özelliğinin ıslahı projesinin modeli



## Teşekkür

Bu çalışma T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın Ar-Ge projeleri (TAGEM /11/AR-GE/13) kapsamında desteklenmiştir. Bu projenin gerçekleştirilmesinde değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Meral KENCE, Prof. Dr. Muhsin DOĞAROĞLU ve Muğla İli Arı Yetiştiricileri Birliği'ne teşekkürlerimizi sunarız.

## Literatür

- Adam, B., (1987). Beekeeping at Buckfast Abbey. Northern Bee Books, Hebden Bridge.
- Arathi H.S., Burns I, Spivak M. (2000). Ethology of Hygienic Behavior in The Honey Bee *Apis Mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae): Behavioral Repertoire of Hygienic Bees. *Ethologie* 106:365–379.
- Boecking O, Drescher W., (1992). The Removal Response of *Apis Mellifera* L. Colonies to Brood in Wax and Plastic Cells After Artificial And Natural Infestation with *Varroa Jacobsoni* Oud. And to Freeze-Killed Brood. *Exp. Appl. Acarol.* 16, 321–329.
- Broodsgaard C.J. Ritter W., Hansen H., (1998). Response of In Vitro Reared Honey Bee Larvae to Various Doses of *Paenibacillus* Larvae Spores, *Apidologie* 29, 569–578.
- Colter D., (2000). An Update on Resistant American Foulbrood disease in Alberta, *Alberta Bee News*, Sept.2–4.
- Crailsheim, K. and Riessberger-Gallé U., (2001). Honey Bee Age-Dependent Resistance Against American Foulbrood, *Apidologie* 32, 91–103.
- Cobey, S. W., (2007). Comparison Studies of Instrumentally Inseminated and Naturally Mated Honey Bee Queens and Factors Affecting Their Performance. *Apidologie* 38 P:390-410.
- Cobey, S. W., (2016). An Introduction to Instrumental Insemination of Honey Bee Queens. *Bee World*, 93(2), 33-36.
- Çınar, U., (2000). Muğla Yöresi Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) Populasyonlarında Morfometrik Varyasyonun Belirlenmesi. Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Delaney, D. A., Meixner, M. D., Schiff, N. M., & Sheppard, W. S. (2009). Genetic characterization of commercial honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations in the United States by using mitochondrial and microsatellite markers. *Annals of the Entomological Society of America*, 102(4), 666-673.
- Doğaroğlu, M. (2008) Modern Arıcılık Teknikleri P:1-287 Anadolu Ofset San.Ve Ltd.Şti. Bağcılar–İstanbul,Türkiye.
- Doolittle G.M. (1889) Scientific Queen-Rearing as Practically Applied: Being a Method by which The Best of Queen-Bees are Reared in Perfect Accord with Nature's Ways: For the Amateur and Veteran in Bee-Keeping. Chicago: T. G. Newman.
- Falconer D.S. (1996) Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition, Benjamin Cummings.
- Giray, T., Kence, M., Oskay, D., Doke, M.A., Kence, A., (2010). Sci- entific note: Colony Losses Survey in Turkey and Causes of Bee Deaths. *Apidologie*, 41: 451-453.
- Güler, A., & Toy, H. (2013). Relationship between dead pupa removal and season and productivity of honey bee (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apidae) colonies. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(4), 462-467.
- Hansen, H. and Broodsgaard, C.J., (1999). American foulbrood: A review of Its Biology, Diagnosis and Control. *Bee World*, Vol. 80, 5-23.
- Harbo, J.R. and Harris, J.W., (1999). Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 30, 183-196.
- Invernizzi, C., (2001). Resistencia a la enfermedad de cría yesificada por colonias de *Apis mellifera* con eficiente comportamiento higiénico (Hymenoptera, Apidae). *Iheringia Ser Zool* 91: 109-114.
- Kandemir, İ., Kence, M., Kence, A., (2000) Genetic and Morphometric Variation in Honeybee (*Apis Mellifera*) Populations of Turkey, *Apidologie* 31: 343-356.
- Kence, A., (1987) Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri, 316p, 1987. Epft Publications, Ankara.
- Kence, A. (2006) Türkiye Bal arılarında Genetik Çeşitlilik ve Korunmasının Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 6(1): 25-32.
- Kence, M., Farhoud, H. J., & Tunca, R. I., (2009). Morphometric and genetic variability of honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from northern Iran. *Journal of apicultural research*, 48(4), 247-255.
- Kükreler, M., Kence, M., Kence, A. (2017). Genetic Evidences for The Impact of Anthropogenic Factors on Honey Bee Diversity. *Biorxiv* Doi: 10.1101/154195.
- Laidlaw H.H. & Page, E.R., (1997). Queen Rearing and Bee Breeding. Wicwas Press. Cheshire, Connecticut, Usa.1-224.
- Lapidge K.L., Oldroyd B.P., Spivak M. (2002). Seven Suggestive Quantitative Trait Loci Influence Hygienic Behavior of Honeybees. *Naturwissenschaften* 89, 565–568.
- Miyagi T., Peng C.Y.S., Chuang R.Y., Mussen E.C., Spivak M.S., Doi R.H. (2000) Verification of Oxytetracycline-Resistant American Foulbrood Pathogen *Paenibacillus* Larvae in The United States, *J. Invertebr. Pathol.* 75: 95–96.28

- Mondet, F., Alaux, C., Severac, D., Rohmer, M., Mercer, A. R., & Le Conte, Y. (2015). Antennae hold a key to Varroa-sensitive hygiene behaviour in honey bees. *Scientific reports*, 5, 10454.
- Moritz, R. F.A, Miranda J. D., Fries, I., Conte, Y. L., Neumann, P., Paxton, R. J. (2010) Research Strategies to Improve Honeybee Health in Europe. *Apidologie*. Doi: 10.105/Apido/2010010.
- Oskay, D. (2008). Protecting Diversity of Native Honey Bee Subspecies, Developing A Model on Colony Management and Breeding. *Uludag Bee Journal* 8(2): 63-72.
- Palacio, M. A., Rodriguez, E., Goncalves, L., Bedascarrasbure, E., & Spivak, M. (2010). Hygienic behaviors of honey bees in response to brood experimentally pin-killed or infected with *Ascosphaera apis*. *Apidologie*, 41(6), 602-612.
- Rothenbuhler W.C., (1964a). Behavior Genetics of Nest Cleaning in Honey Bees. I. Responses of Four Inbred Lines to Disease-Killed Brood, *Anim. Behav.* 12, 578-583.
- Rothenbuhler W.C., (1964b). Behavior Genetics of Nest Cleaning in Honey Bees. Iv. Responses of F1 and Backcross Generations to Disease-Killed Brood, *Am. Zool.* 4, 111-123.
- Ruttner, F., (1976). Influence of Body Fluid from Pin-Killed Honey Bee Pupae on Hygienic Behavior. Instrumental Insemination of The Queen Bee. 2nd. International Beekeeping Technology and Economy Institute of Apimondia, Bucharest Romania.
- Ruttner, F., (1988). Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Springer, Berlin.
- Schöning, C., Gisder, S., Geiselhardt, S., Kretschmann, I., Bienefeld, K., Hilker, M., & Genersch, E. (2012). Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards Varroa destructor-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology*, 215(2), 264-271.
- Spivak, M., Reuter, S. (2001a). Resistance to American Foulbrood Disease by Honey Bee Colonies *Apis Mellifera* Bred for Hygienic Behavior. *Apidologie* 32: 555-565.
- Spivak, M., & Reuter, G. S. (2001b). Varroa destructor infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 326-331.
- Spivak, M., & Gilliam, M. (1998a). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and Varroa: Part I. Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. *Bee world*, 79(3), 124-134.
- Spivak, M., & Gilliam, M. (1998b). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and Varroa: Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era. *Bee world*, 79(4), 169-186.
- Toufailya, H. M. A., Amiri, E., Scandian, L., Kryger, P., & Ratnieks, F. L. (2014). Towards integrated control of varroa: effect of variation in hygienic behaviour among honey bee colonies on mite population increase and deformed wing virus incidence. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 555-562.
- Traynor, K. (2008). Bee breeding around the world. *American bee journal*.
- Tunca, R. İ., Yiğiter, S., Kence, M., Giray, T., Kence, A. (2009). Morphometric Discrimination of Honey Bee Races and Ecotypes in Turkey. *Apimondia*. Montpellier.
- Vanengelsdorp D., Hayes J. Jr., Underwood R.M., Pettis J. (2008). A survey of honey bee colony losses in the U.S. Fall 2007 to Spring 2008, *PLoS ONE* 3(12):e4071, doi:10.1371/journal.pone.0004071.
- Winston, L.M. (1987). *The Biology of The Honey Bee*. Harvard University Press P: 1-281.
- Woodrow, A.W., (1942). Susceptibility of honeybee larvae to individual inoculations with spores of *Bacillus* larvae. *Journal of Economic Entomology*, 35(6), 892-895.