

**SPHECIDAE (INSECTA: HYMENOPTERA)  
FAMİLYASININ BAZI TÜRLERİNDE, BÖCEK  
VİRÜSLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Yeliz KELEŞ**

**Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Yrd. Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ  
2013  
Her Hakkı Saklıdır**

T.C.  
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SPHECIDAE (INSECTA: HYMENOPTERA) FAMILYASININ BAZI  
TÜRLERİNDE, BÖCEK VİRÜSLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YELİZ KELEŞ

**TOKAT**

2013

Her Hakkı Saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ danışmanlığında, Yeliz KELEŞ tarafından hazırlanan bu çalışma 22/10/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İsa GÖKÇE

İmza: 

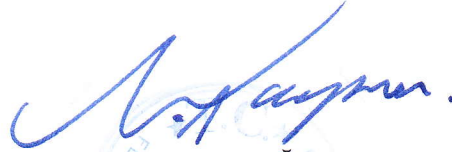
Üye : Prof. Dr. Şaban TEKİN

İmza: 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ

İmza: 

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**



**Doç. Dr. Naim ÇAĞMAN**

**Fen Bilimleri**

**Enstitü Müdürü**

**22.11.2013**

## **TEZ BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Yeliz KELEŞ

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SPHECIDAE (INSECTA: HYMENOPTERA) FAMILYASININ BAZI TÜRLERİNDE, BÖCEK VİRÜSLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yeliz KELEŞ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ

Sphecidae (Insecta: Hymenoptera) familyası, tüm dünyada yayılmış olan soliter yaban arı türlerini içermektedir. Ergin sphecidler çiçekli bitkilerin nektarı ile beslenir ve böylece bitkilerin tozlaşmasına katkıda bulunurlar, ancak larvaları karnivordur. Dişi yabanarıları çeşitli böcekleri ve örümcekleri sokarak felç eder ve bunları larvalarına besin olmak üzere yuvalarına getirirler. Ekosistemde birçok böcek türü ve örümceklerle yakın ilişki içinde bulduklarından ve çiçekli bitkileri ziyaret ettiklerinden böcek virüslerinin yayılmasına katkıda bulunma ihtimalleri yüksektir. Öte yandan diğer böceklerde yaygın olan bazı böcek virüslerinin doğal ortamda bulunan yaban arılarında bulunup bulunmadığı merak konusudur. Bu çalışmada Tokat ilinde doğal habitatlarından toplanan Sphecidae familyasına ait 8 yaban arısı türünde bazı böcek virüsleri (DWV, ABPV, CPV, CrPV, NOV) tek aşamalı reverse transcription-PCR (RT-PCR) yöntemiyle test edilmiştir. Çalışılan örneklerde yukarıdaki virüslerden hiç biri bulunamamıştır.

**2013, 21 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Sphecidae, Moleküler, Deforme kanat virüsü, Sitoplazmik polihedrozis virüsü, Nodamura virüsü, Akut arı paralizi virüsü, Kriket paraliz virüsü

## ABSTRACT

M. Sc. Thesis

### INVESTIGATION OF INSECT VIRUSES ON SOME SPECIES OF THE FAMILY SPHECIDAE (INSECTA:HYMENOPTERA)

Yeliz KELEŞ

Gaziosmanpaşa University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Yaşar GÜLMEZ

Sphecidae family (Insecta: Hymenoptera) includes solitary wasp species which spread all over the world. Adult sphecid wasps feed on nectar of flowering plants, so they contribute to the pollination of plants, however their larvae are carnivorous. Female wasps sting and paralyze different insects and spiders, bring them to the nest to provision for their larvae. Since they are in close relationship with many insect species and spiders in the ecosystem and visit flowers it is most likely that they cause distribution of insect viruses. On the other hand, it is curious if wasps found in the natural environment do have insect viruses which are common in other insects or not. In this study, some insect viruses (DWV, ABPV, CPV, CrPV, NOV) are tested with single stage reverse transcription-PCR (RT-PCR) method in eight wasp species belonging to the Sphecidae family collected from natural habitats in Tokat province. None of the above viruses could be found in the examined specimens.

**2013, 21 pages**

**Key Words:** Sphecidae, Molecular, Deformed wing virus, Cytoplasmic polyhedrosis virus, Cricket paralysis virus, Nodamura virus, Acute bee paralysis virus

## ÖNSÖZ

Çalışmamın yürütülmesinde, bana destek veren, gerekli olanağı sağlayan ve çalışmamın her safhasında beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ (Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi)'e ve her zaman desteğini ve ilgisini eksik etmeyen Sayın Prof. Dr. Şaban Tekin (Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı)'e şükranlarımı arz ederim. Aynı zamanda tez çalışmalarım süresince bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, kardeşim Halenur KELEŞ'e, eşim Mahmut DURGUN'a ve hayattaki en değerli varlığım olan biricik kızım Nehir 'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Daire Başkanlığı tarafından 2011/112 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Yeliz KELEŞ

Ekim, 2013

# İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ .....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viiviii
<b>1. GİRİŞ ve LİTERATÜR ÖZETİ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>9</b>
2.1. Materyal .....	9
2.1.1. Örneklerin Toplanması .....	9
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler .....	10
2.1.3. Cihazlar .....	10
2.1.4. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı.....	11
2.1.5. Çalışmada kullanılan Primerler ve Hazırlanışı .....	11
2.2. Yöntem.....	13
2.2.1. RNA Ekstraksiyonu .....	13
2.2.2. Agaroz Jel Elektroforezi .....	15
<b>3. BULGULAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>16</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>18</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>21</b>

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

♂

Erkek Birey

♀

Dişi Birey

%

Yüzde

<sup>0</sup>C

Celcius

### Kısaltmalar

### Açıklama

ABPV

Akut Arı Felç Virüsü

Ark.

Arkadaşları

Bç

Baz Çifti

BFB

Bromofenol Blue

CPV

Sitoplazmik polihedrosis Virüsü

CrPV

Çekirge Felç Virüsü

dk

Dakika

DNA

Deoksiribonükleik Asit

dNTP

Deoksiribonükleosid Trifosfat

DWV

Deforme kanat virüsü

DMSO

Dimetilsülfoksit

DTT

Ditiotrietol

EDTA

Etilendiamintetraasetik Asit

ELISA

Enzim Bağlı İmmün Assay

EtOAc

Etil Asetat

gr

Gram

HCL

Hidrojen Klorür

Kb

Kilobaz

lt	Litre
mA	Miliamper
mg	Miligram
M	Molar
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MW	Moleküler Ağırlık
nmol	Nanomol
nm	Nanometre
NOV	Nodamura Virüsü
Rcf	Göreceli Yerçekimi Kuvveti
RNA	Ribonükleik Asit
Rpm	Rotation Per Minute
RT-PCR	Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
sn	Saniye
TAE	Tris-Asetat EDTA
UV	Ultraviyole
$\mu$ l	Mikrolitre
$\mu$ M	Mikromolar
pmol	Pikomol
sa	Saat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 <i>Sphex flavipennis</i> .....	2
Şekil 1.2 <i>Ammophila sabulosa</i> .....	2
Şekil 1.3 <i>Ammophila heydeni</i> .....	3
Şekil 1.4 Çekirge Felç Virüsünün cırcır böceği üzerindeki etkileri .....	6
Şekil 1.5 Akut Arı Felci virüsünün etkisi .....	7
Şekil 1.6 DWV virüsünün etkisi sonucu oluşan kanatların görünümü.....	8
Şekil 2.1 Çalışma bölgesinin konumu .....	9

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Çizelge 1.1</b> Böceklerden izole edilen virüslerin familyaları, genom özellikleri ve tespit edildikleri konukçu takımlar .....	4
<b>Çizelge 2.1</b> Tokat ilinde çalışmada toplanan tür örnekleri .....	10
<b>Çizelge 2.2</b> Çalışmada Kullanılan Primerler .....	12
<b>Çizelge 2.3</b> Çalışmada Kullanılan RT-PCR reaksiyon koşulları.....	15

## 1. GİRİŞ ve LİTERATÜR ÖZETİ

Böcekler, dünyada en çok çeşitliliğe sahip olan hayvanlar olup, canlılar âleminin belki de en kalabalık sınıfıdır. Dünyada tanımı yapılan hayvan türlerinin 4/5'ini böcekler oluşturmaktadır (Anonim, 2008b). Böcekler ve insanlar yeryüzünde birlikte yaşamaktadır ve bu nedenle aralarında karmaşık ilişkiler vardır. Doğada yaşayan böceklerin %99'dan fazlasının insanlar için faydalı olduğu bilinmektedir. Bilinen yaklaşık 1 milyon 300 bin böcek türünün, sadece %1'den daha azı doğaya ve insanlığa zarar vermektedir (Anonim, 2008a). Sayısal olarak az olmalarına rağmen bu zararlıların etkileri oldukça büyük olmaktadır.

Böceklerin insan hayatına katkıları ve ekonomik önemi her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Onlar, insanlara doğrudan kullanılacak çok sayıda doğal ürün sağlamanın yanı sıra, toprağın havalandırılması, organik maddelerin geri dönüşümü ve polinasyon gibi ekosistemler açısından çok önemli fonksiyonları da yerine getirmektedirler. Çiçekli bitkilerin yaklaşık % 75'inin bu yolla tozlaşması böceklerin ekonomik önemini ortaya koyan çarpıcı bir örnektir. Aynı zamanda insan beslenmesinde kullanılan kültür bitkilerinin büyük bir çoğunluğunun polinasyonunda, kalite ve kantitesinin artmasında sosyal böceklerden olan arıların rolü büyüktür (Akyol ve Camcı, 1999). Öte yandan zararlı böceklerin insan ve evcil hayvanlarda hastalık yapması, bazı hastalık etkenlerini insan ve hayvanlara bulaştırması ve çeşitli ürünleri tüketmesi onların ekonomik önemini artırmaktadır.

Hymenoptera, böcekler içinde en fazla tür ve birey sayısına sahip takımlardan birisidir. Bu takımın Sphecidae familyası soliter yaşayan predatör yaban arılarını içermektedir. Kum ve toprağa yuva kazın türler “kum arıları” veya “kazıcı arılar”, abdomen kısmı vücuda ince bir şekilde bağlananlar “ince belli arılar”olarak bilinir. Çoğunlukla toprağa yuva kazmakla beraber, diğer bazı böcek türlerinin yuvasını kullanan veya taşlar arasındaki boşluklara yuva yapan türler de vardır (Bohart ve Menke, 1976).

Sphecidae familyası dünyada 735 (Pulawski, 2013), Türkiye’de 67 türle (Beaumont, 1967; Hensen and Van Ooijen, 1987; Tüzün ve ark. 1999; Gülmez ve Tüzün, 2005; Ljubomirov and Yıldırım, 2008) temsil edilmektedir. Bu familya ile ilgili ülkemizde çoğunlukla faunistik çalışmalar yürütülmüştür.



Şekil 1.1. *Spheg flavipennis*

Sphecidae familyasının erginlerinde baş, toraks ve abdomen bölümlerinden oluşan belirgin üç vücut bölgesi bulunur. En göze çarpan vücut yapıları toraks ve abdomen arasında yer alan ve petiol olarak adlandırılan bölümdür. Vücut genellikle siyah olup üzerinde kırmızı veya sarı desenler yer almaktadır. İki çift zar şeklinde kanat içeren bu yaban arıları çoğunlukla çok hızlı uçarlar (Bohart ve Menke, 1976; Goulet ve Huber, 1993).



Şekil 1.2. *Ammophila sabulosa*

Dişi Sphecid'ler sokarak felç ettikleri avlarını yuvalarına taşır, üzerine yumurtalarını bırakarak yuvayı kapatırlar. Hazırlanan besin üzerindeki yumurtadan çıkan larva, avı yiyerek yuva içinde gelişir. Avları Orthoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Homoptera, Diptera, Neuroptera, Ephemenoptera, Odonata, Psocoptera, Thysanoptera, Trichoptera, Mecoptera, Coleoptera, Hymenoptera gibi böcek takımları ve örümceklerdir (Bohart ve Menke, 1976). Bu böcekleri avlayarak ekosistemde popülasyonların aşırı çoğalmasını engellerler. Bazı türler ise yaprak bitleri (Homoptera: Aphididae) üzerinde beslenmektedirler (Bohart ve Menke, 1976).



Şekil 1.3. *Ammophila heydeni*

Son yıllarda ekonomik önemi olan böceklerde ürün kaybı ve verim düşüklüğüne neden olan patojenlerle ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Örneğin Avrupa bal arısında (*Apis mellifera* L.) 18 farklı virüs tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2004; Berenyi ve ark., 2006; Fievet ve ark., 2006; Chen ve Reinhold, 2007; Maramorosch ve Shatkin, 2007). Hatta, bazı bal arısı virüslerinin polen aracılığıyla diğer böceklere de bulaştığı kaydedilmiştir. Ancak şimdiye kadar, polinatör türler arasında virüs yayılması ile ilgili araştırma bulunmamaktadır. Kanada'da yapılan bir araştırmada seralarda kullanılan bombus arılarının, doğadaki bombus arı türlerine patojenleri bulaştırdığı kaydedilmiştir (Singh ve ark., 2010).

Böcek virüsleri şimdiye kadar böceklerden izole edilmiş en küçük formlardır. Bir nükleik asit ve bunu çevreleyen protein bir örtüye (kapsid) sahiptirler. Bazılarında da nükleik asit ve kapsidi çevreleyen lipid bir zarf mevcuttur. Bazı virüsler etraflarını çevreleyen protein örtünün yanı sıra başka bir protein yapı içine de gömülmüş olabilirler. Bu yapı inklüzyon cisimciği olarak adlandırılır. Inklüzyon yapılar içerisine gömülü halde olan virüsler gömülü virüsler olarak adlandırılırlar. Inklüzyon yapılar şimdiye kadar sadece Baculoviridae, Reoviridae ve Poxviridae gibi virüs familyalarında tespit edilmiştir (Hunter-Fujita ve ark. 1998). Böceklerden izole edilen virüslerin, genom özellikleri, kaydedildikleri konukçu takımları ve konukçularının biyolojik dönemleri Çizelge 1.1'de özetlenmiştir.

**Çizelge 1.1.** Böceklerden izole edilen virüslerin familyaları, genom özellikleri ve tespit edildikleri konukçu takımlar (Evans ve Shapiro, 1997).

Virüs Familyaları	Genom	Kaydedildiği konukçu takımlar	Genel konukçu dönemleri
Baculoviridae: NPV ve GV	dsDNA	Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Neuroptera, Siphonaptera, Thysanura, Trchoptera	Larva, bazen pupa veya ergin
Reoviridae: CPV	dsRNA	Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	Larva, pupa, ergin
Entomopoxviridae : EPV	dsDNA	Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Orthoptera	Larva
Iridoviridae: IV	dsDNA	Hemen hemen tüm böcekler ve diğer omurgasız familyaları	Larva
Ascoviridae	dsDNA	Lepidoptera (sadece Noctuidae familyası)	Larva
Polydnviridae	dsDNA	Parazitik Hymenoptera	Ergin
Parvoviridae: DNV	ssDNA	Diptera, Blattoidae, Lepidoptera, Odonata, Orthoptera	Larva, pupa, ergin
Birnaviridae	dsRNA	Diptera (sadece Drosophila cinsinde kaydedilmiş)	Ergin
Caliciviridae	ssRNA	Lepidoptera (sadece Noctuidae familyası)	Larva
Nodaviridae	ssRNA	Diptera, Coleoptera, Lepidoptera	Larva, ergin
Picornaviridae	ssRNA	Diptera, Lepidoptera, Orthoptera ve geniş böcek familyaları	Larva, ergin
Rhabdoviridae	ssRNA	Diptera	Ergin
Tetraviridae	ssRNA	Lepidoptera	Larva

Böcek virüsleri, sadece konakları olan böcekler içinde çoğalan, hastalık yapıcı organizmalardır. Bunlardan çoğu tırtılları enfekte etmekte ve zararlı tırtılların popülasyonlarını kontrol etme potansiyeli taşımaktadır. Bu virüslerin tümü, konak seçiminde seçicidirler ve çoğunlukla da tek bir böcek türüne bağımlıdır. Böcek virüslerinden bazıları, bal arısı, ipek böceği gibi ekonomik önemi olan böceklere zarar verirken, bazıları da fındık kurdu, sivrisinek gibi zararlı böcekleri enfekte ederek insanlığa yarar sağlamaktadır. Bu çalışmada yaban arılarında varlığı araştırılan virüslerin hepsi dsRNA genomuna sahiptir. Ve nodamura virüsü Nodaviridae, çekirge felç virüsü Dicistroviridae, sitoplazmik polihedrosis virüsü Reoviridae, kanat deforme virüsü Iflaviridae, akut arı felci virüsü Dicistroviridae familyalarına aittirler.

Aşağıda bu böcek virüsleri hakkında kısa bilgi verilmiştir.

Nodamura Virüsü (NOV): Nodamura Virüsü, çeşitli hücrelerin sitoplazması içinde gelişen bir böcek virüsüdür. Mum güvesi larvalarının bu virüsle bulaştıktan 7-14 gün sonra öldüğü tespit edilmiştir (Garzon ve ark.,1978). Yine Nodamura virüsü Tokyo yakınlarında tespit edilmiştir. İlk olarak sivrisinekten izole edilmişken bu virüs çok sayıda böcek ve kene türünde de çoğaltılmıştır. Japonya'daki genç domuzların vücudunda nodamura virüsüne karşı antikor bulunmuştur. Bu virüs arbo virüslerden olup etere karşı dirençli olmasından dolayı sıra dışı bir tür olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca, balmumu güvesi *Galleria mellonella* da patojenite test edilmiştir (Anonim, 1973).

Sitoplazmik Polihedrosis Virüs (CPV): Reoviridae familyasına ait sitoplazma içine yerleşen ve çeşitli böceklerin orta bağırsağında bulunan böcek virüslerindedir. Protein kılıf içeren çift zincirli RNA virüslerindedir (Arella ve ark., 1988). Sitoplazmik polihedrosis virüsü (CPV) Avrupa'da çam ağaçlarının zararlı popülasyonlarının larvalarına arız olmaktadır (Grison 1959, Biliotti 1959). Virüsün büyük bir kısmı laboratuvarında virüs bulaşmış olan larvalardan üretilir. Bu virüs doğal parazit ve predatörlerine zarar vermeden *Thaumetopoea* cinsi böcek türleriyle kontrol edebilmektedir (Biliotti,1959).

Çekirge Felç Virüsü (CrPV): Çekirge Felç Virüsü, böcek virüslerinden en geniş doğal konağa sahip olanlarından biridir. Beş böcek takımından 22 türde bulunduğu saptanmıştır. CrPV, ilk kez Avustralya'da tarla cırcır böceklerinde (*Teleogryllus* spp.) tespit edilmiş ve laboratuvarında yetiştirilen popülasyonlarda %95 oranında ölümlere neden olduğu görülmüştür (Anonim, 2011). Çekirge felç virüsü (CrPV) Avustralyadaki cırcır böceklerinde 1970 yılında Carl Reinganum araştırmaları sonucu virüsün çekirgelerin erken evrelerinde arka ayaklarında felce sebep olduğu görülmüştür. Ve daha sonra da çekirgelerde ölümle sonuçlanmıştır. Başlangıçta CrPV cırcır böceklerinden izole edilmesine rağmen, oysa bu virüs Diptera, Lepidoptera, Orthoptera ve Heteroptera türlerine ait böceklerde de enfekte olmaktadır. (Anonim, 2000).



**Şekil 1.4.** Çekirge Felç Virüsünün cırcır böceği üzerindeki etkileri

Akut Arı Felci Virüsü (ABPV): Akut Arı Felci Virüsü (ABPV) ilk kez İngiltere’de belirtisiz seyreden bir bal arısı enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır (Bailey ve ark., 1963). Bu virüs *Bombus* arılarında da bulunmuştur ve tabii olarak alternatif bir konağa sahip, bilinen tek arı virüsüdür. Virüs, ergin arıların tükrük salgıları ile ve bu salgıların temas ettiği besin maddeleri ile yayılmaktadır (Govan ve ark., 2000). Bu virüsün çoğunlukla sağlıklı kolonilerde yaygın bir enfektif ajan olduğu ve *Varroa destructor* tarafından bulaşık arı kolonilerinin aniden yok olmasında önemli rol oynadığı belirtilmiştir. ABPV’nin Almanya, Yugoslavya, Fransa ve Amerika’da çok miktarda arı kolonisinin ölümünde öncelikli etken olduğu öne sürülmüştür (Bakonyi ve ark., 2002). Ergin arılarda hastalığa sebep olan asıl etmen RNA yapısındaki Akut Arı Felci Virüsü’dür. PolyA kuyruğu hariç 9470 nükleotitli bir RNA genomuna sahiptir (Govan ve ark., 2000). Bu virüsün bulaşması halinde arı ölümleri hızlanır. Virüs ile paralizin gelişi ve belirtilerinin ortaya çıkması 4 gün sürer. Sonraki 1-2 gün içerisinde de ölümler görülür (Bakonyi ve ark., 2002).



Şekil 1.5. Akut Arı Felci virüsünün etkisi

Kanat Deforme Virüsü (DWV): RNA virüsüdür. Doğal konakçısı bazı bal arısı türleridir (*Apis mellifera* ve *Apis cerana*). Etken, dünyanın birçok bölgesinde bulunmakta ve pozitif anlamlı tek iplikçikli RNA genomu taşımaktadır (Lanzi ve ark., 2006, Maramorosch ve Shatkin, 2007). Etkenin hastalık oluşturabilmesi için vücutta belli bir titre değerine ulaşması gereklidir (Anonim, 2010). *Apis mellifera*'da çok yaygın virüslerden biridir ve *Varroa destructor* akarı ile bulaşık kolonilerin çoğunda bulunmaktadır. DWV arılarda kanat deformelerine, küçük boylu çıkmalarına ve enfekte olan arıların ölümüne neden olmaktadır. *Varroa* bulaşıklığı ile DWV arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır (Bowen-Walker ve ark., 1999). Akar bulunan kolonilerde ergin arıların kanat deformesi, tipik olarak bu virüsün bulunduğu belirtisidir (Nordström 2003). DWV *Apis mellifera*'da Japonya, Avrupa, Amerika, Suudi Arabistan, İran, Vietnam ve Arjantin'den; *Apis cerana*'da ise Çin'den kaydedilmiştir (Ball and Bailey 1999, Chen ve ark., 2005, Fievet ve ark., 2006). DWV virüsü serolojik olarak cüce arıda da (*A. jlorae*) tespit edilmiştir ve Asya bal arılarında (*A. cerana*) ve RT-PCR yöntemiyle yaban arılarında da tespit edilmiştir (Genersch ve ark., 2006). Bu ilk olarak 1977'de Mısır' dan enfekte olmuş yetişkin bireylerden elde edilen arı virüsü ile serolojik olarak ilişkilidir (Bailey ve Ball, 1991; Bailey ve Ball, 1994; Bailey ve Ball, 1997; Bailey ve Woods, 1979).

DWV enfeksiyonu olan kolonilerde virüs yumurtalarda, larvalarda, pupalarda, erkeklerde, kanatları deforme olmuş ve sağlıklı görünen ergin işçilerde ve aynı zamanda kolonilerden alınan varroa akarlarında belirlenmiştir. Enfeksiyonun yumurta ve larvalarda bulunması, virüsün larvaların beslenmesi esnasında besin yoluyla ya da trans ovaryal yolla yayılabileceği tahmin edilmektedir (Chen ve ark., 2005).



**Şekil 1.6.** DWV virüsünün etkisi sonucu oluşan kanatların görünümü

Son zamanlarda yapılan çalışmalar böcek virüslerinin çiçekli bitkiler ve polen aracılığıyla farklı böcek türleri arasında yayıldığını göstermiştir. (Singh ve ark., 2010) yaptıkları çalışmada, DWV'nin de içinde bulunduğu beş böcek virüsünün bal arısı dışında 11 polinatör hymenopter türünde bulunduğunu göstermişlerdir, bu böcek yaban arısı familyalarının türlerinden biri olan *Bembix* türüdür (Singh ve ark., 2010).

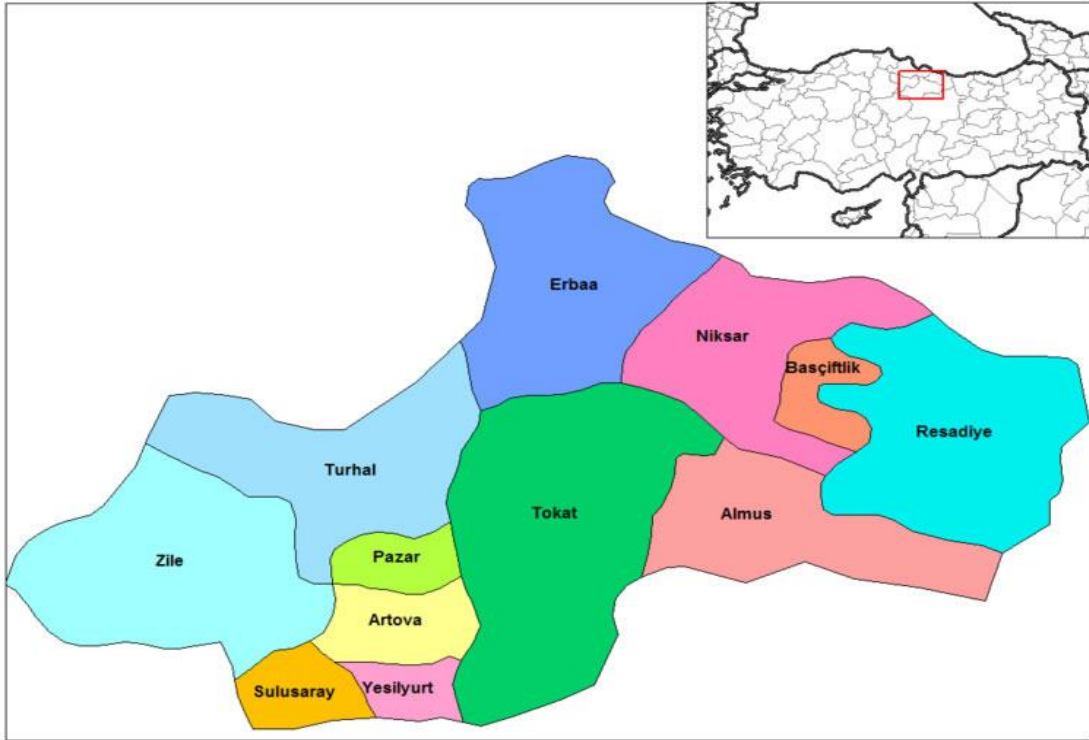
Yukarıda bahsedildiği gibi Sphecidae familyasına ait türler çiçekli bitkileri sıkça ziyaret etmekte ve birçok böcek türünü avlamaktadırlar. Ekosistemde çeşitli canlılarla ilişki içinde olduklarından, bu yaban arılarının canlı organizmalar arasında böcek virüsleri gibi patojenlerin yayılmasına dolaylı olarak katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Özellikle bal arılarını avlayan *Philanthus* türlerinin bal arısı virüslerini taşıma ihtimali yüksektir. Bu çalışmada, Tokat ilinde araziden toplanan Sphecidae familyasına ait bazı türlerin ergin bireylerinde, bazı böcek virüslerinin (DWV, ABPV, CPV, CrPV, NOV) varlığının moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak tespiti amaçlanmıştır. Aynı zamanda söz konusu virüslerin yaban arıları gibi diğer polinatör böceklerde bulunup bulunmadığının belirlenmesi de çalışmanın hedefleri arasındadır.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Örneklerin Toplanması

Tokat ili ve ilçelerinde 2010-2012 yılları arasında yapılan arazi çalışmalarında Sphecidae familyasına ait 185 ergin yaban arısı örneği toplanmıştır. Araziden toplanan örneklerin tür düzeyinde teşhisleri tez danışmanı tarafından Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Entomoloji Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Teşhisler, Leika S6E marka stereomikroskop yardımı ile gerçekleştirilmiş ve laboratuvarda bulunan karşılaştırma materyali ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır. Tür teşhisi yapılan örnekler, moleküler çalışmalarda kullanılana kadar -80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. Çalışma bölgesinin konumu

**Çizelge 2.1.** Tokat ilinde çalışmada toplanan tür örnekleri

<b>Türler</b>	<b>Toplam</b>	<b>Erkek</b>	<b>Dişi</b>
<i>Ammophila heydeni</i>	25	10 ♂	15 ♀
<i>Ammophila sabulosa</i>	29	13 ♂	16 ♀
<i>Sphex flavipennis</i>	48	43 ♂	5 ♀
<i>Prionyx nudatus</i>	18	9 ♂	9 ♀
<i>Prionyx kirbyi</i>	19	14 ♂	5 ♀
<i>Isodonta splendidula</i>	4	4 ♂	-
<i>Haplammophila clypeata</i>	27	18 ♂	9 ♀
<i>Palmodes occitanicus</i>	15	11 ♂	4 ♀
<i>Toplam</i>	185	122	63

### **2.1.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler**

Agaroz, Etidium bromür, Bromophenol blue (Sigma), Etanol, Glasiyal asetik asit (Merck), Sodyum asetat, HCl (Carlo Erba), Tris, EDTA, Gliserol, Xylene cyanol, îsopropanol (Amresco), Sıvı azot, Moleküler ağırlık standartı (Vivantis), ccss-F2, ccss-R2 (İontek), chvgs 1667-F, chv CL2-R (IDT) primer seti, Viral RNA izolasyon kiti (Qiagen), RT-PCR kiti (Roche), Jel Ekstraksiyon kiti (Qiagen), Erlen, Beher, Cam Şişeler (100 ml, 500 ml, 1000 ml' lik), Mezür, Bistüri, Forcep, Enjektör, Petri kaplan (Isolab), Pipet uçları (Corning, Neptune, Eppendorf), Mikrosantrifüj ve PCR tüpleri (Axygen) ile diğer laboratuvar malzemeleri kullanıldı.

### **2.1.3. Cihazlar**

Thermal cycler (Peqlab), Santrifüjler (Eppendorf, Hettich), UV transillüminatör (Syngene), Yatay elektroforez (Scie-plas), Güç kaynağı (Consort), Hassas terazi (Acculab), pH metre (Hanna), Otomatik pipetler (Eppendorf, Brand), Manyetik karıştırıcılar, Vorteks (İka), Buz makinesi (Scotsman), Otoklav (Hiclave), Etüv (Memmert), Mikrodalga fırın (Arçelik), 4, -20 ve -80 °C'deki buzdolapları (Uğur, Arçelik, U410 premium), Fotoğraf makinesi (Sony) ve Saf su cihazları (Mes mp minipure ve Millipore) kullanıldı.

## **2.1.4. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı**

### **0.5 M EDTA Solüsyonu**

16.81 g EDTA 90 ml H<sub>2</sub>O içerisinde manyetik karıştırıcı yardımı ile partiküller tamamen çözününceye kadar karıştırıldı. pH:8.0'e ayarlandıktan sonra hacim 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121 °C'de 20 dk steril edildikten sonra, +4°C'deki buzdolaplarında muhafaza edildi.

### **50X Tris Acetate EDTA (TAE)**

242 g Tris, 57.1 ml Glasiyal asetik asit ve 100 ml 0.5 M EDTA (pH:8) manyetik karıştırıcı yardımı ile partüküller çözününceye kadar karıştırıldı. Hazırlanan çözeltinin pH'ı Glasiyal asetik asitle 8.5'e ayarlandı ve toplam hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Steril edildikten sonra +4 °C'deki buzdolaplarında muhafaza edildi.

### **1 X TE Tamponu**

1.2 g 10 mM Tris HCl ile 0.37 g 1 mM EDTA, 900 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı yardımı ile çözüldü. pH:8'e ayarlandıktan sonra hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan tampon steril edildikten sonra +4 °C'deki buzdolaplarında muhafaza edildi.

### **3M Sodyum Asetat Solüsyonu**

41 g Sodyum asetat, 90 ml distile su içerisinde çözüldü. pH:5.0'a ayarlandıktan sonra hacim 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilerek +4 °C'de muhafaza edildi.

### **Etidium Bromür**

10 mg Etidium bromür, 10 ml distile su içerisinde hazırlandı ve 4 °C'de muhafaza edildi.

### **6X Bromophenol Blue / Xylene cyanol**

15 ml Gliserol, 0.25 g Bromophenol blue ile 0.25 g Xylene cyanol; 100 ml distile su içerisinde çözününceye kadar karıştırılarak hazırlandı.

## **2.1.5. Çalışmada kullanılan Primerler ve Hazırlanışı**

DWV-F2 (5'-TTT GCA AGA TGC TGT ATG TGG-3'), DWV-R2 (5'-GTC GTG CAG CTC GAT AGG AT-3'), VNNV1 (5'-ACA CTG GAG TTT GAA ATTCA-3'), VNNV2(5'-GTCTTGTTGAAGTTGTCCCA-3'), ABPVF (5'-TGA GAA CAC CTG TAATGTGG-3'), ABPVR (5'-ACCAGAGGGTTGACTGTGTG-3'), 8F (5'-

CCAGTAAAGTCCAGTACTAGTTAAAG-3'),8R(5'-CCG GCT AAC GGT AGT CCGCCGCTG-3'),ABPV1(5'-CATATTGGCGAGCCACTATG-3'),ABPV2( 5'-CCA CTCCACACA ACTATCG-3')

**Çizelge 2.2.** Çalışmada Kullanılan Primerler

Primerler (5'-3')	Sekanslar	Ürün boyutu (bp)	Literatür
Deformed wing virus DWV- F2 DWV- R2	(5'-TTTGCAAGATGCTGTATGTGG-3') (5'-GTCGTGCAGCTCGAAGGAT-3')	194	Chen et. al., 2004
Nodamura virüs VNN-V1 VNN-V2	(5'-ACACTGGAGTTTGAAATTCA-3') (5'-GTCTTGTTGAAGTTGTCCCA-3')	605	L. Dalla Valle et al. 2000
Cytoplasmic Polyhedrosis Virus 8F 8R	(5'-CCAGTAAAGTCCAGTAACTAGTTAAAG-3') (5'-CCGGCTAACGGTAGTCCGCCGCTG-3')	1328	Kyoji Hagiwara, et. al., 1998
Acute bee paralysis virus ABPV1 ABPV2	(5'-CATATTGGCGAGCCACTATG-3') ( 5'-CCA CTCCACACA ACTATCG-3')	900	Benjeddou et al., 2001
Criket paralysis Virüs ABPV-F ABPV-R	(5'-TGAGAACACCTGTAATGTGG-3') (5'-ACCAGAGGGTTGACTGTGTG-3')	900	Benjeddou et al., 2001

primerleri (fontek) (konsantrasyon ve miktarlarına göre) TE tamponu veya RNase free ddH<sub>2</sub>O kullanılarak hazırlandı. Şöyle ki;

- DWV-F2: 48,91 nmol ile DWV-R2: 60,58 nmol miktarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonun da hazırlandı.
- ABPV-F: 48.91 nmol ile ABPV-R: 50.55 nmol miktarlarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonun da hazırlandı.
- VNN-V1: 48.74 nmol ile VNN-V2: 54.70 nmol miktarlarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonunda hazırlandı.
- 8-F: 37.03 nmol ile 8-R: 46.43 nmol miktarlarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonunda hazırlandı.

- ABPV-1: 51.74 nmol ile ABPV-2: 54.52 nmol miktarlarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonunda hazırlandı.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. RNA Ekstraksiyonu

Yaban arılarının total RNA ekstrasyonu için Qiagen kiti kullanılmıştır. Viral RNA ekstrasyonu kit üreticilerinin prosedürüne göre yapılmıştır.

#### Qiagen kitine göre total RNA ekstrasyonu:

-80 0C'den çıkarılan yaban arıları kuru buz içerisine alınır. Steril bir bistüri yardımı ile ortadan ikiye kesilen yaban arılarının bütün dokuları forcep yardımıyla mikrosantrifüj tüplerine alınır. Dokular, 500 µl RNase free ddH<sub>2</sub>O ile sulandırıldıktan sonra 20'lik iğneden geçirilerek homojenize edilir. Oluşan homojenat 14 000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilerek, süpernatant kısmı alınır ve Qiagen kiti kullanılarak aşağıdaki şekilde total RNA izole edilir:

- 1.Carrier RNA içerisine 310 µl AWE Tampon (%0.04 sodyum azid) eklenerek solüsyon hazır hale getirildi.
- 2.56 µl carrier RNA, 5600 µl AWL Tampon (guanidin tiosiyanat) içerisine karıştırıldı (10 numune için).
- 3.560 µl hazırlanan karışımdan, 560 µl de etanolden alınarak her biri eppendorf tüplerine eklendi.
- 4.Hazırlanan karışımın üzerine ise dokunun süpernatant kısmından 280µl ilave edilerek vortekslendi.
- 5.Filtreli kolonlara, 630 µl hazırlanan karışımdan ilave edildi.
- 6.8000 rpm'de 1 dk santifüj edilip, toplanan kısımları atıldı ve yerine yenisi yerleştirildi. Karışım bitene kadar bu işleme devam edildi.
- 7.Sonrasında her bir tüpe, 500 µl AW1 Tampon'ı (guanidin hidroklorid) eklendi.
- 8.14 000 rpm'de 3 dk. santrifüj edilip, toplanan tüpleri atılarak yeni tüpler yerleştirildi.
- 9.Daha sonra 500 µl AW2 Tampon'ı (sodyum azid) eklendi.
- 10.14 000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilip, toplama tüpleri atılarak yeni tüpler yerleştirildi.
- 11.Sonrasında 1 dk. kadar tekrar santrifüj yapıldıktan sonra toplama tüpleri atıldı ve yerine eppendorf tüpleri yerleştirildi.
- 12.Filtreli kısma 60 µl Elüsyon Tampon ilave edilip 14 000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi.

13.Son basamakta ise, filtreli kolonlar atılarak eppendorf tüplerinde kalan ekstraksiyon ürünleri etiketlenerek -20 0C'ye kaldırıldı.

Bu yöntem sonucunda Tokat ilinde araziden toplanan 185 kadar ergin yaban arısı dokularından RNA izole edilerek DWV, ABPV, NOV, CPV ve CrPV varlığı RT-PCR yöntemiyle test edilmiştir.

### **Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)**

Bu çalışmada arı örneklerinden izole edilen total RNA örnekleri *C. therm.* Polymerase RT-PCR ve Transcriptör One step RT-PCR kitleri kullanılarak RT-PCR yöntemiyle virüs varlığı için test edilmiştir. Reaksiyon koşulları aşağıda verilmiştir.

Transcriptör One-Step RT-PCR kitine göre RT-PCR;

#### **1. Basamak**

dNTP mix	2 µl
DMSO	2,5 µl
DTT	2,5 µl
RNase Inhibitor	0,5 µl
Upstream primer	1 µl
Downstream primer	1 µl
Template RNA	1-5 µl
RNase free su	25µl'ye tamamlandı.

#### **2. Basamak:**

RNase free su	13 µl
5X RT-PCR buffer	10 µl
<i>C.therm.</i> polymerase mixture	2 µl

İki basamak sonucunda numunelerin toplam hacmi 50 µl'ye tamamlanacak şekilde hazırlandı.

Transcriptör One-Step kitine göre RT-PCR;

Water, PCR Grade (vial 3)	27 µl
5xReaction Buffer (vial2)	10 µl
Upstream primer	4µ l
Downstream primer	4 µl
Transcriptör Enzym mix. (vial 1)	1 µ l
Template RNA	4 µ l

Bu işlemler sonucunda numunelerin toplam hacmi 50 µ l olacak şekilde hazırlanmıştır. RT-PCR işleminde, DWV-F2, DWV-R2, VNNV1, VNNV2 ABPVF, ABPVR, 8F, 8R, ABPV1, ABPV2 primerleri kullanıldı.

### RT-PCR için Thermal cycler'in Program Ayarı

Çizelge 2.3. Çalışmada kullanılan RT-PCR reaksiyon koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
RT Reaksiyon	50	20 dk	-
Ön Denatürasyon	94	7 dk	1
Denatürasyon	94	10 sn	35
Bağlanma	55	30 sn	
Uzatma	68	10 sn	
Son uzatma	68	7 dk	1

#### 2.2.2. Agaroz Jel Elektroforezi

RT-PCR işlemi sonucunda oluşan PCR ürünleri aşağıda açıklandığı şekilde %1'lik Agaroz jel elektroferezde koşturulmuş ve görüntülenmiştir. Kısaca, 0.30 mg. agaroz ve 30 ml 1x TAE (pH'ı 7.5-8.5 olan yaklaşık 50 mM) tamponu içinde bir mikrodalga fırın kullanılarak tamamen çözdürülür ve tanka dökmeden önce bu eritilmiş agarozu 0.70 µl etidium bromür katılarak karışım tanka dökülür. Tanka jel döküldükten sonra taraklar yerleştirilir. Jel katılaştıktan sonra tank 350 ml TAE tamponu ile doldurulur. 2 µl Bromfenol blue (BFB) ve 3 µl örnek karışımı jeldeki kuyucuklara yüklenir. Jelin ilk kuyucuğa ise 2 µl Vivantis (100 bp) standardı eklenir. Örnekler 100 mA'de yaklaşık 16 dakika koşturulur. Koşturma işleminden sonra agaroz jel bir UV transillüminatör kullanılarak görüntülenir ve fotoğraflarır.

### 3. BULGULAR ve TARTIŞMA

Ülkemizde böcek virüsleriyle ve bu virüslerin böcek ölümleriyle ilişkisi hakkında yeterince araştırma bulunmamaktadır. Gelişmiş ülkelerin aksine, ülkemizde tanımlanan viral enfeksiyonlara uyan pek çok sayıda hastalık vakası görülmesine rağmen, henüz böceklerde bulunan virüslerin tespitine ve bunların özellikleri, verdikleri zararlar hakkında yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bal arıları çevrelerinden izole bir şekilde yaşayamazlar. Çiçekli bitkiler vasıtasıyla diğer türlerle de karışmaktadırlar. Bal arıları; yaban arıları, eşek arıları, sinekler, karıncalar, kelebekler, akarlar ve örümceklerle oldukça sık bir şekilde etkileşim içerisinde bulunmaktadırlar.

Bu çalışmada Sphecidae familyasına ait 8 türün doğal habitatlarından toplanan 185 örneğinde ABPV, NOV, CrPV, CPV ve DWV adlı böcek virüsleri araştırılmıştır. Ancak yapılan testler sonrasında, incelenen örneklerde bu virüslere rastlanamamıştır. Çalışmamızda yaban arılarında bu beş virüsün ABPV, NOV, CrPV, CPV ve DWV varlığının belirlenmesi için RT-PCR yöntemiyle testler yapılmıştır. Çalışmada annealing sıcaklığı 55°C, 58°C ve 60°C değer aralıklarına çıkarılarak kontroller yapılmıştır. RT-PCR testlerinin sonucuna göre test edilen arı örneklerinde söz konusu virüsler tespit edilememiştir.

Test edilen örneklerde ABPV, NOV, CrPV, CPV ve DWV virüslerine rastlanmamasının muhtemel nedenleri şu şekilde özetlenebilir: 1) seçilen yaban arısı türlerinde bu virüslerle ilgili herhangi bir çalışma bulunmadığından, bu türlerde virüs varlığı ile ilgili kesin bilgi yoktur, 2) çalışmada kullanılan örnekler, doğal habitatlarından toplandığından ve herhangi bir hastalık belirtisi taşımadıklarından virüsle bulaşık olmayabilirler, 3) arazide rastgele toplama yapıldığından popülasyon içinde virüsle bulaşık örnekler bulunsan bile bunlar toplanmamış olabilir, 4) bu çalışmada kullanılan primerlerle ilgili pozitif kontrolle RT-PCR reaksiyonu yapılmadığından örneklerde gerçekten virüs bulunup bulunmadığı tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak elimizde pozitif kontrol için bir örnek bulunmadığı için deneme imkanı olmamıştır.

Bu çalışma, ileride yaban arılarında virüslerin varlığını ortaya koymak için yapılması muhtemel çalışmalara ışık tutacak olması açısından önemlidir. İleriki çalışmalarda hastalık belirtisi taşıyan veya laboratuvar koşullarında kültürü yapılan

örnekler üzerinde yapılabilecek kontrollü deneylerle yaban arılarının böcek virüslerini taşıma/yayma potansiyelleri ile ilgili daha tatmin edici sonuçlar elde edilebilir

## KAYNAKLAR

- Akyol, E., Camcı Ö., 1999. Arıcılığın Bitkisel Üretimdeki Yeri ve Önemi. GAP 1. Tarım Kongresi. 26-28 Mayıs 1999. Şanlıurfa
- Anonim, 1973. The Pathogenicity of Nodamura Virus for Insects.  
<http://www.nature.com/nature/journal/v241/n5391/abs/241545a0.html>
- Anonim , 2008a . The Canadian encyclopedia,  
[http://www.thecanadianencyclopedia.com/index.cfm?PgNm=TCE&Params=A1  
ARTA](http://www.thecanadianencyclopedia.com/index.cfm?PgNm=TCE&Params=A1ARTA)
- Anonim, 2008b. Böcek, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Böcek>
- Anonim, 2010. Viruses as biological control agents of insect. USA, pests  
[http://www.extension.org/pages/18927/viruses-as-biological-control-agents-of  
insect-pests.](http://www.extension.org/pages/18927/viruses-as-biological-control-agents-of-insect-pests)
- Anonim, 2011. Catalog of Sphecidae. USA, [http://research.calacademy.org  
/ent/catalog\\_sphecidae/madagascar.](http://research.calacademy.org/ent/catalog_sphecidae/madagascar)
- Arella, m., Lavallec, c., Belloncık, s. & Furuichı, y. (1988). Molecular cloning and characterization of CPV polyhedrin and its viable deletion mutant genes. Journal of Virology 62, 211-217
- Bailey, L., Gibbs, A.J., and, Woods, R.D., 1963. Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* L.), Virology 21, 390–395.
- Bakonyi, T., Grabensteiner, E., Kolodziejek, J., Rusvai M., Topolska, G., Ritter, W., and Nowotny, N., 2002. Phylogenetic Analysis of Acute Bee Paralysis Virus Strains. Applied and Environmental Microbiology. 68 (12) : 6446–6450
- Benjeddou M, Leat N, Allsopp M and Davison S 2001. Detection of Acute Bee Paralysis Virus and Black Queen Cell Virus from Honeybees by Reverse Transcriptase PCR, Applied And Environmental Microbiology Vol. 67, No. 5 p. 2384–2387.
- Biliotti, E., 1959. Revue Path, veg Ent. agric. 38, s. 11,9-155.
- dé Beamaut, J., 1967. Hymenoptera from Turkey. Sphecidae, I. Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Entomol., 19: 253- 382.
- dé Beamaut, J., 1969. Sphecidae de Turquie (Hym.). Mitt. Schweiz Entomol Ges. 42: 79- 95
- Berényi, O., Bakonyi T., Derakhshifar I., Köglberger H. and, Nowotny N., 2006. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries., Appl. Environ. Microbiol., 72 : 2414–2420.
- Bohart, R.M., and Menke, A.S., 1976. Sphecid Wasp of the World. A generic revision. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London. 1 color plate, IX+695 pp.
- Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., and, Gunn, A., 1999. The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud. Journal of Invertebrate Pathology 73, 101–106.
- Chen, YP., Zhao, Y., Hammond J., Hsueh H., Evans, J. and, Feldlaufer, M., 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. J. Invertebrate Pathol., 87: 84-93.
- Chen, YP., Higgins, JA. and, Feldlaufer, MF., 2005. Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.).Appl. Environ. Microbiol. 71: 436-441.
- Chen, Y. and, Reinhold, S., 2007. Honey Bee Viruses. Adv. Virus Res. 70: 33-80.
- Demir , I., Nalçacıoğlu, R., Demirbağ, Z.,2008. Böcek Virüslerinin

- Biyoteknolojik Önemi, Tarım Bilimleri dergisi ,14 (2) 193-201.
- Evans, H. ve M. Shapiro. 1997. Viruses. s: 19-53. Editör:  
L.A. Lacey. Manual of Techniques in Insect Pathology.  
Academic Press, 408 sayfa, San Diago.
- Fievet, J., Tentcheva, D., Gauthier, L., De Miranda, J., Cousserans, F., Colin, M. E.,  
Bergoin, M. 2006. Localization of deformed wing virus infection in queen and  
drone *Apis mellifera* L. *Virology Journal*, 3:16.
- Garzon, S., Charpentier, G., and Kurstak, E., 1978. Morphogenesis of the nodamura virüs  
in the larva of the Lepidopteran *Galleria mellonella* (L.), *Arch. Virol.* 56:61
- Goulet, H. and, Huber, J.T., 1993. Hymenoptera of the World: An Identification Guide  
to Families. Centre for Land and Biological Resources Research, vii+668 pp,  
Ottawa, Ontario.
- Govan V. A., Leat N., Allsop M., Davison S. (2000) Analysis of the complete genome  
sequence of acute bee paralysis virus shows that it belongs to the novel group of  
insect-infecting RNA viruses. *Virology* 277:457–463.
- Grison, P., Maury R and Vago C. (1959) *Revue de France*, 5, s:353-370.
- Gülmez, Y. and, Tüzün, A., 2005. Spheciformes (Hymenoptera : Apoidea) from Ankara  
Province. Subfamilies: Sphecinae, Pemphredoninae and Astatinae. *J.  
Ent. Res. Soc.*, 7 (1): 41-7.
- Gülmez Y, Bursali, A., Tekin, S., 2009. First molecular detection and characterization of  
deformed wing virus (DWV) in honeybees (*Apis mellifera* L.) and mite (*Varroa  
 destructor*) in Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 8(16):3698-3702.
- Hagiwara, K., Tomita, M., Nakai, K., Kobayashi, J., Miyajima, S. & Yoshimura, T.  
(1998). Determination of the nucleotide sequence of *Bombyx mori* cytoplasmic  
polyhedrosis virus segment 9 and its expression in BmN4 cells. *J Virol* 72,  
5762–5768.
- Hensen, R. V., and van Ooijen P. D. J., 1987. Notes on Turkish *Tackysphex* Kohl  
(Hymenoptera: Sphecidae). *Entomol. Ber.*, 47: 12-16.
- Hunter-Fujita, F. R., Entwistle, P. F., Evans, H. F., Crook, N. E., 1998. *Insect  
Viruses and Pest Management*, Ed: Wiley, J. & Chichester, S.
- Korotneff, A., 1844. Zur Histologie der Siphonophoren. *Mitt. Zool. Sta. Neapel*. 5: 229  
288.
- Lanzi, G., De Miranda, J. R., Boniotti, M. B., Cameron, C. E., Lavazza, A., Capucci, L.,  
Camazine, S. M., Rossi, C. 2006. Molecular and biological haracterization of  
deformed wing virus of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Virology*,  
80:4998–5009.
- Ljubomirov, T. and, Yildirim, E., 2008. Annotated Catalogue of the Ampulicidae,  
Sphecidae, and Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) of Turkey. 315 pp. Pensoft  
Inc., Sofia Bulgaria
- Maramorosch, K., and Shatkin, A., 2007. Honey Bee Viruses. *Advances in Virus  
Research*. Academic Press. 33-80.
- Nordström S 2003. Distribution of deformed wing virus within honey bee (*Apis  
 mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa  
 destructor* *Experimental and Applied Acarology* 29: 293–302.
- Pulawski, W. J., 2013. Catalog of Sphecidae sensulato,  
[http://research.calacademy.org/ent/catalog\\_sphecidae](http://research.calacademy.org/ent/catalog_sphecidae) (06.01.2013).
- Singh, R., Levitt, A. L., Rajotte, E. G., Holmes, E. C., Ostiguy, N., van Engelsdorp, D.,  
Lipkin, W. I., de Pamphilis, C. W., Toth, A. L. and, Cox-Foster, D. L., 2010. RNA  
Viruses in Hymenopteran Pollinators: Evidence of Inter-Taxa Virus

- Transmission via Pollen and Potential Impact on Non-Apis Hymenopteran Species. [www.plosone.org](http://www.plosone.org).
- Sumpter, DJT., and Martin, S.J., 2004. The dynamics of virus epidemics in Varroa infested honey bee colonies. *J. Animal Ecology* 73: 51-63
- Tüzün, A., Gülmez, Y., Bağrıaçık, N., 1999. Studies on Sphecidae of Aegean Region (Insecta:Hymenoptera). *Entomofauna*, 20(23); 381-388.
- Valle,L.D, Negrisolo, E., Patarnello, P.,Zanella, L.,Maltese.C.,Bovo, G., and Colombo,L.,2000. Sequence comparison and phylogenetic analysis of fish nodaviruses based on the coat protein gene. *Archives of Virology* 146:1125-1137

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı - Soyadı** : Yeliz KELEŞ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 06.11.1984  
**Medeni Hali** : Evli  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**Telefon** : 0546 432 88 08  
**e-mail** : yelizkls60@gmail.com

### Eğitim Durumu

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2013
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2010
Lise	Cumhuriyet(YDA) Lisesi	2002