

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAFKAS VE ANADOLU BALARISI KORUMA ARILIKLARINDA NOSEMA
ENFEKSİYONU**

Selin ÇORBA UYURCA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KAFKAS VE ANADOLU BALARISI KORUMA ARILIKLARINDA NOSEMA ENFEKSİYONU

Selin ÇORBA UYURCA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Balarısı popülasyonları, hem biyotik hem de abiyotik faktörler nedeniyle son yıllarda ciddi tehlikelerle karşı karşıyadır. Bu sebeplerden bir tanesinde Nosema enfeksiyonudur. Nosema hastalığı yetişkin bal arılarının bağırsak yollarını enfekte eden en önemli mantar hastalıklarından birisidir. Bu hastalığa yaygın olarak *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* türleri neden olmaktadır. Nosema sporları gözle görülememektedir. Ancak ışık mikroskobu kullanılarak mikroskopik olarak sporların gözlenmesi mümkündür. Hastalık kaynağının belirlenebilmesi için mikroskopik incelemeler yeterli değildir, doğru bir teşhis için ileri moleküler analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışma kapsamında Kafkas ve Anadolu balarısı koruma arılıklarında belirlenen kovanlar üzerinde enfeksiyonun durumu belirlenerek takibi yapılmış ve hastalık etmeni yapılan PCR analizi sonucunda tüm arılıklarda *Nosema ceranae* olarak bulunmuştur. Ayrıca Nosema enfeksiyonu, Ankara, Artvin, Ardahan illerinde bulunan koruma arılıklarında iklim ve coğrafik özellikler bakımından da kıyaslanarak incelenmiştir.

Hastalığın asemptomatik olması ve kolonilerde bir dizi sorunla birlikte koloni kaybına kadar giden durumlara yol açması nedeniyle takibinin iyi yapılması gerektiği yapılan bilimsel çalışmalarda vurgulanmaktadır. Son yıllarda hastalığın tedavisi için toksisitesi az ve doğal içerikli ürünlere yönelim artmıştır. Bunlardan biri de organik bir asit olan okzalik asittir. Bu çalışma kapsamında okzalik asitin hastalık üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla doğal olarak hastalıkla enfekte olan kovanlardan bir kısmına okzalik asit muamele edilmiştir, muamele sonrası Nosema sporlarının sayısında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Bu sonuçlar hep birlikte ele alındığında hastalığın doğru yönetimi, profilaksisi ve kontrolünün doğru yapılmasının arıcılık sektöründeki ekonomik kayıpları büyük ölçüde azaltabileceği düşünülmektedir. Ayrıca elde ettiğimiz verilerle ileride yapılacak çalışmalara ışık tutarak hastalığın kontrol edilmesi ve takibinin yapılmasında yeni stratejilerin geliştirilebilmesine imkân sağlanması amaçlanmıştır.

Temmuz 2022, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: Artvin, Ankara, Nosema, Okzalik Asit, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera anatoliaca*, *Nosema ceranae*

ABSTRACT

MSc Thesis

NOSEMA INFECTION IN CONSERVATION APIARIES OF CAUCASUS AND ANATOLIAN HONEY BEES

Selin ÇORBA UYURCA

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

Supervisor: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Honey bee populations have faced serious dangers in recent years due to both biotic and abiotic factors. One of these reasons is Nosema infection. Nosema disease is one of the most important fungal diseases that infect the intestinal tract of adult honey bees. This disease is commonly caused by *Nosema apis* and *Nosema ceranae* species. Nosema spores cannot be seen with the naked eye, but it is possible to observe the spores using a light microscope. However, microscopic examinations are not sufficient to determine the source of the disease, advanced molecular analyzes are needed for an accurate diagnosis.

Within the scope of this study, the infection status was determined and followed up on the hives determined in Anatolian and Caucasian honey bee protection apiaries, and the disease agent was found to be *Nosema ceranae* in all apiaries as a result of PCR analysis. In addition, Nosema infection has been compared in terms of climate and geographical characteristics in Ankara, Artvin, Ardahan provinces. Since the disease is asymptomatic and causes a series of problems in the colonies, leading to colony loss, it is emphasized in scientific studies that good follow-up should be done. In recent years, the tendency towards products with low toxicity and natural ingredients has increased for the treatment of the disease. One of them is oxalic acid, which is an organic acid. In this study, in order to determine the effectiveness of oxalic acid on the disease, some of the naturally infected hives were treated with oxalic acid, a significant decrease in Nosema spores was reported after the treatment ($p<0,05$).

When these results are taken together, it is thought that the correct management, prophylaxis and control of the disease can greatly reduce the economic losses in the beekeeping sector. In addition, it is aimed to enable the development of new strategies in the control and follow-up of the disease by shedding light on the future studies with the data we have obtained.

July 2022, 64 pages

Key Words: Artvin, Ankara, Nosema, Oxalic Acid, *Apis mellifera caucasia*, *Apis mellifera anatoliaca*, *Nosema ceranae*

TEŞEKKÜR

Dünya görüşü ve akademik başarıları ile lisans hayatımdan bu yana bana hep örnek olarak ileriye götüren ve üstün bilgi ve becerilerini her daim benimle paylaşan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. İrfan KANDEMİR'e, laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayça ÖZKAN KOCA'ya (Maltepe Üniversitesi), yüksek lisans eğitimimle birlikte hayatıma giren ve bir çok çalışmada bana yol arkadaşlığı yapan, pek çok zorluğun üstesinden birlikte geldiğimiz sevgili çalışma arkadaşım Fatma Ecem ARSLAN'a ve manevi desteğini ve yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen arkadaşım Derya KOÇ'a teşekkür ederim.

Danışman hocamın yönlendirmesiyle, beni projesine bursiyer olarak kabul eden ve iki yıldır bilgi tecrübesini benimle her an paylaşan desteklerini bir an olsun esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Yasemin GÜLER'e (Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü) ayrıca teşekkür ederim.

Beni ben yapan aldığım her kararda yanımda olan ve hayallerimin peşinden gitmem için maddi manevi destekleri hiç bir koşulda esirgemeyen kıymetli annem Mine ÇORBA ve kıymetli babam Yavuz ÇORBA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eşsiz bir yol arkadaşı olan, beni her daim cesaretlendiren, hayatta karşıma çıkan her durum ve koşulda desteğini bir an olsun esirgemeyen sevgisiyle her daim beni saran birlikte büyüdüğümüz kıymetli eşim, sevgilim Ömer UYURCA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamı destekleyen ve burs sağlayan ANG Vakfı'na ve Macahel Arıcılık A.Ş. bünyesinde çalışanlara, arı örneklerimin toplanmasında yardımcı olan tüm arıcılara sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selin ÇORBA UYURCA
Ankara, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1 Arıcılık ve Önemi	1
1.2 Türkiye'de Arıcılık.....	1
1.3 Arıcılığın Tarımsal ve Ekonomik Önemi	4
1.4 Tezin Amacı	4
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1 Balarısı Sistematigi	6
2.2 Kafkas ve Anadolu Balarısı Irkları	6
2.2.1 Anadolu Balarısı (<i>Apis mellifera anatoliaca</i>)	7
2.2.2 Kafkas Balarısı (<i>Apis mellifera caucasica</i>)	8
2.3 Arı Hastalıkları	9
2.3.1 Yavru hastalıkları	9
2.3.2 Ergin hastalıkları	10
2.3.3 Balarısı zararlıları.....	11
2.4 Nosema Hastalığı ve Türleri.....	11
2.4.1 Nosema sporlarının yaşam döngüsü.....	13
2.5 Nosema Hastalığının Tedavi Yöntemleri	15
2.5.1 Okzalik asit	16
2.6 Nosema Hastalığının Dünya'da ve Türkiye'de Varlığı	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Örneklerin Toplanması	17
3.2 Laboratuvar Çalışması	21
3.3 Mikroskopik İnceleme	21
3.3.1 Mikroskopik sayım işlemi.....	21
3.3.2 Nosema spor sayısının hesaplanması.....	22
3.4 Moleküler Analiz.....	22
3.4.1 DNA izolasyonu	22
3.4.2 CTAB ile DNA izolasyonu	23
3.4.3 DNA izolasyonunda kullanılmakta olan tampon çözeltiler.....	24
3.4.4 DNA miktar tayini	24
3.4.5 Polimeraz zincir reaksiyonu.....	24
3.4.6 Agaroz jel elektroforezi	26

3.5 Okzalik Asit Uygulaması	26
3.6 SPSS Programı ile Bağımlı T Testi Yapılması	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	28
4.1 Artvin ve Ardahan İlleri Koruma Arılıklarında Nosema Enfeksiyon Durumları-2019.....	28
4.2 Ankara İli Koruma Arılıkları Enfeksiyon Durumları-2019	31
4.3 Ankara Koruma Arılıklarında Kovan İçi/Kovan Dışı Toplanan Örneklerin Nosema Spor Sayısı Açısından Karşılaştırılması.....	34
4.4 Ankara, Artvin ve Ardahan İllerinde 2019 yılı Nosema Spor Sayılarının Coğrafi ve Mevsimsel Şartlara göre Karşılaştırılması	36
4.4.1 Sıcaklık ve nem koşullarına göre karşılaştırma	37
4.5 Okzalik Asit Muamelesi Yapılan Kovanların Nosema Enfeksiyon Durumları.....	38
4.5.1 Ardahan ili Posof bölgesi ve Artvin ili Camili, Hatila bölgeleri okzalik asit muamelesi sonrası spor sayıları.....	39
4.6 Artvin İli Camili Bölgesi Koruma Arılıkları Enfeksiyon Durumları-2020	42
4.7 Artvin İli Camili Bölgesi 2019 ve 2020 Yılı Ortalama Nosema Spor Sayılarının Karşılaştırılması.....	43
4.8 Ankara İli 2019 ve 2020 Yılı Ortalama Nosema Spor Sayılarının Karşılaştırılması.....	44
4.9 SPSS Programı ile Yapılan Bağımlı T Testi Sonuçları.....	45
4.9.1 Ankara koruma arılıklarında kovan içi/kovan dışı toplanan örneklerin nosema spor sayısı açısından karşılaştırılması.....	45
4.9.2 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	45
4.9.3 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	46
4.9.4 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	48
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ.....	64

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
mm	Milimetre
DWV	Deforme Kanat Virüsü
BQCV	Siyah Kraliçe Hücre Virüsü
<i>N.apis</i>	<i>Nosema apis</i>
<i>N. ceranae</i>	<i>Nosema ceranae</i>
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunlukları Polimorfizmi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
OA	Okzalik asit
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
dk	Dakika
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
°C	Santigrat derece
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
UV	Ultraviyole
NC	Negatif kontrol
TE	Tris-EDTA
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
C	Kloroform
IAA	İzoamil Alkol
M	Molar
nm	Nanometre
gr	Gram
bp	Baz çifti
TAE	Tris asetik asit EDTA

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Yıllara göre kovan sayısındaki değişim grafiği 1991-2021 (TUİK, 2022).....	2
Şekil 1.2 Yıllara göre bal miktarındaki değişim grafiği 1991-2021 (TUİK, 2022)	3
Şekil 1.3 Yıllara göre işletme ve köy sayısındaki değişim grafiği 1991-2021 (TUİK, 2022).....	3
Şekil 2.1 <i>Nosema apis</i> ve <i>Nosema ceranae</i> 'nin mikroskopik görüntüleri (http://www.kanawhavalleybeekeepers.co/kvbawp/wp-content/uploads/2017/06/NosemaapisNosemaceranaespores.png)	12
Şekil 2.2 <i>Nosema</i> sporlarının yaşam döngüsü (https://scientificbeekeeping.com/the-nosema-twins-part-1/).....	14
Şekil 3.1 Ankara ili koruma arılıklarının bulunduğu alan	17
Şekil 3.2 Ankara ili koruma arılığının kovanları	18
Şekil 3.3 Artvin Camili Okulönü Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı.....	18
Şekil 3.4 Artvin Tevriyet Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı	19
Şekil 3.5 Artvin İremet Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı.....	19
Şekil 3.6 Ankara koruma arılıklarından örneklerin toplanması	20
Şekil 3.7 Ankara koruma arılıklarından ana arı görüntüsü	20
Şekil 3.8 Toma lamında sayım yapılan alanlar (Hornitzky 2008)	22
Şekil 4.1 Seyitler, Hatila, Camili ve Posof bölgelerindeki enfekte kovanların karşılaştırması	29
Şekil 4.2 Artvin ili Seyitler ve Ardahan ili Posof bölgesinde <i>Nosema ceranae</i> 'nin türüne özgü DNA bantları	29
Şekil 4.3 Artvin ili Hatila bölgesindeki <i>Nosema ceranae</i> 'nin türüne özgü DNA bantları	30
Şekil 4.4 Artvin ili Camili bölgesinde <i>Nosema ceranae</i> 'nin türüne özgü DNA bantları	30
Şekil 4.5 Seyitler, Hatila, Camilli ve Posof bölgeleri ortalama <i>Nosema</i> sporu sayılarının karşılaştırılması.....	31
Şekil 4.6 Ankara ili Kırkca bölgesi <i>Nosema ceranae</i> 'nin türüne özgü DNA bantları....	32
Şekil 4.7 Ankara Başağaç ve Akçakese bölgelerinde <i>Nosema ceranae</i> 'nin türüne özgü DNA bantları	32
Şekil 4.8 Ankara ili Kırkırca, Akçakese ve Başağaç bölgeleri ortalama <i>Nosema</i> sporu sayılarının karşılaştırılması	33

Şekil 4.9 Kovan içi ve kovan dışından toplanan örneklerin ortalama Nosema sporu sayılarının karşılaştırılması	35
Şekil 4.10 Ankara, Artvin ve Ardahan illerindeki ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırılması	36
Şekil 4.11 Ankara ve Artvin ilinde sıcak, nem ve ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırılması	38
Şekil 4.12 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	39
Şekil 4.13 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	40
Şekil 4.14 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	41
Şekil 4.15 Artvin ili Camili bölgesi (Okulönü, İremi ve Tevriyet) ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırılması	42
Şekil 4.16 Artvin ili Camili bölgesi 2019 ve 2020 yılları ortalama Nosema sporu sayısı	43
Şekil 4.17 Ankara ili 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Balarılarının sınıflandırılması (Tosun, 2012)	6
Çizelge 2.2 Nosema hastalıklarına neden olan <i>Nosema</i> türlerinin sınıflandırılması (Büyük, 2016).....	12
Çizelge 3.1 DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltiler	24
Çizelge 3.2 Nosema sporlarının tür tayinini belirlemek için uygulanan PCR koşulları.....	25
Çizelge 3.3 Nosema teşhisi için PCR’da çalışılan primerler.	25
Çizelge 3.4 PCR karışımında kullanılan kimyasallar ve hacimleri.....	26
Çizelge 4.1 2019 yılı Artvin ili Seyitler, Hatila ve Camili bölgeleri ve Ardahan ili Posof bölgesi enfekte kovan sayısı	28
Çizelge 4.2 Seyitler, Hatila, Camilli ve Posof bölgeleri ortalama Nosema sporu sayısı.....	30
Çizelge 4.3 Ankara ili Kırkırca, Akçakese ve Başağaç bölgeleri ortalama Nosema sporu sayısı.....	33
Çizelge 4.4 Kovan içi ve kovan dışından toplanan örneklerin ortalama Nosema sporu sayısı.....	34
Çizelge 4.5 Ankara, Artvin ve Ardahan illerinin coğrafi ve mevsimsel şartlara göre ortalama Nosema sporu sayısı.....	36
Çizelge 4.6 Artvin ili örneklerini toplamadan önceki 5 günlük sıcaklık ve nem oranları	37
Çizelge 4.7 Ankara ili örneklerini toplamadan önceki 5 günlük sıcaklık ve nem oranları	37
Çizelge 4.8 Artvin ili Camili bölgesi (Okulönü, İremi ve Tevriyet) ortalama Nosema sporu sayısı.....	42
Çizelge 4.9 Artvin ili Camili Bölgesi 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı	43
Çizelge 4.10 Ankara ili 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı	44
Çizelge 4.11 Kovan içi ve kovan dışı verilerinin karşılaştırılması	45
Çizelge 4.12 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	46
Çizelge 4.13 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	46
Çizelge 4.14 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması	47

1. GİRİŞ

1.1 Arıcılık ve Önemi

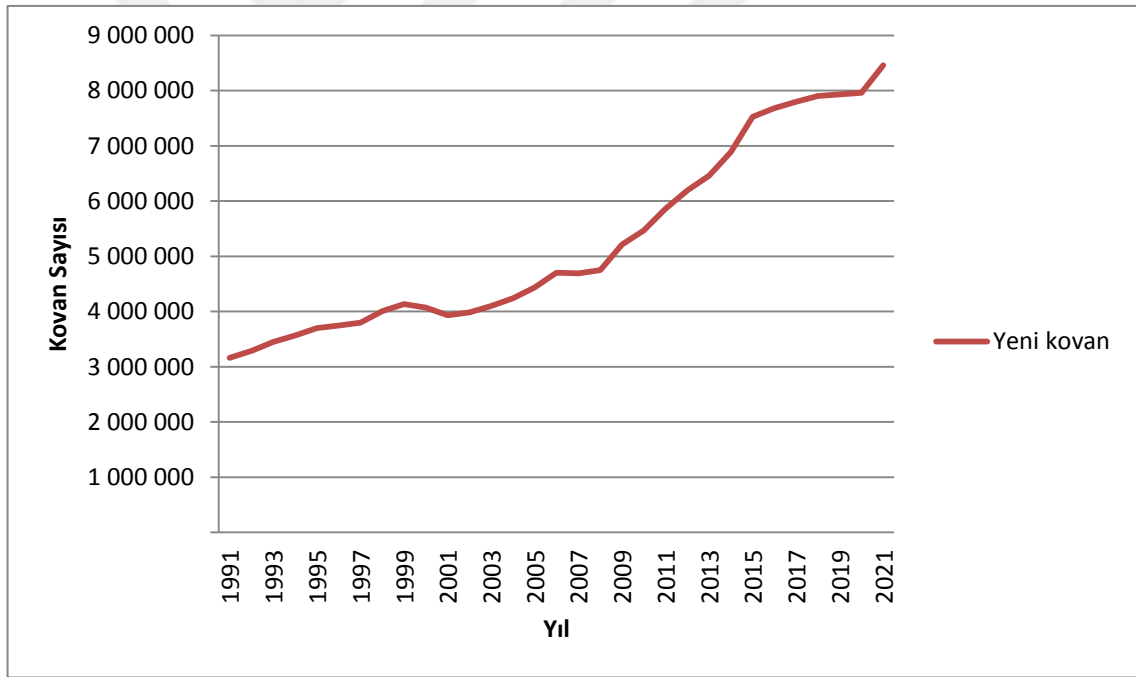
Arıcılık bitkisel kaynaklarla birlikte elde edilen arı ürünlerinin (bal, propolis, arı zehri, arı sütü vb. gibi) insan gücüyle birlikte belirli standartlara göre işlendiği, kovanların uygun yerlere yerleştirildiği, yıl boyunca bilimsel olarak optimum sayıda koloninin yönetildiği bir tarımsal üretim faaliyetidir. Bununla birlikte, tarımsal faaliyete olan getirileri, gelir kazancı sağlaması, çok sermaye gerektirmemesi, işletmelerin gider kalemlerinin az olması bu tarımsal üretim faaliyetini avantajlı hale getirmektedir. Diğer tarımsal faaliyetlere kıyasla sayıca düşük insan potansiyeli ile yapılabilmesi, ürünlerin saklanma kolaylığı, değerini kaybetmeden satılabilmesi ile arazi varlığına büyük ölçüde gerek duyulmaması gibi olumlu özellikleriyle tarımsal faaliyetler içerisinde öne çıkmaktadır (Uzundumlu vd. 2011, Kekeçoğlu ve Rastgele 2013, Sain ve Nain 2017).

Arıcılığın devamlılığı ve üretim faaliyetlerinin gerçekleştirilmesi floraya bağlıdır. Ancak ülkemizde tüm dünya ile birlikte iklim değişikliğine bağlı olarak her geçen gün polen ve nektar kaynakları yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır. Oysa arıcılık faaliyetleri ile bu önemli kaynaklar değerli ürünlere çevrilebilmektedir. Arıların polinasyon için önemli avantajları göz önünde bulundurulduğunda, arıcılık ürünlerinin tarım sektörü içindeki yeri her geçen gün kayda değer bir şekilde artmaktadır. Ülkemizde ve dünyadaki birçok ülkede yaygın olarak gerçekleştirilen tarımsal bir üretim faaliyeti olmakla birlikte pek çok ailenin de geçim kaynağıdır (Erkan ve Aşkın 2001, Kekeçoğlu ve Rastgele 2013, Şahin vd. 2015).

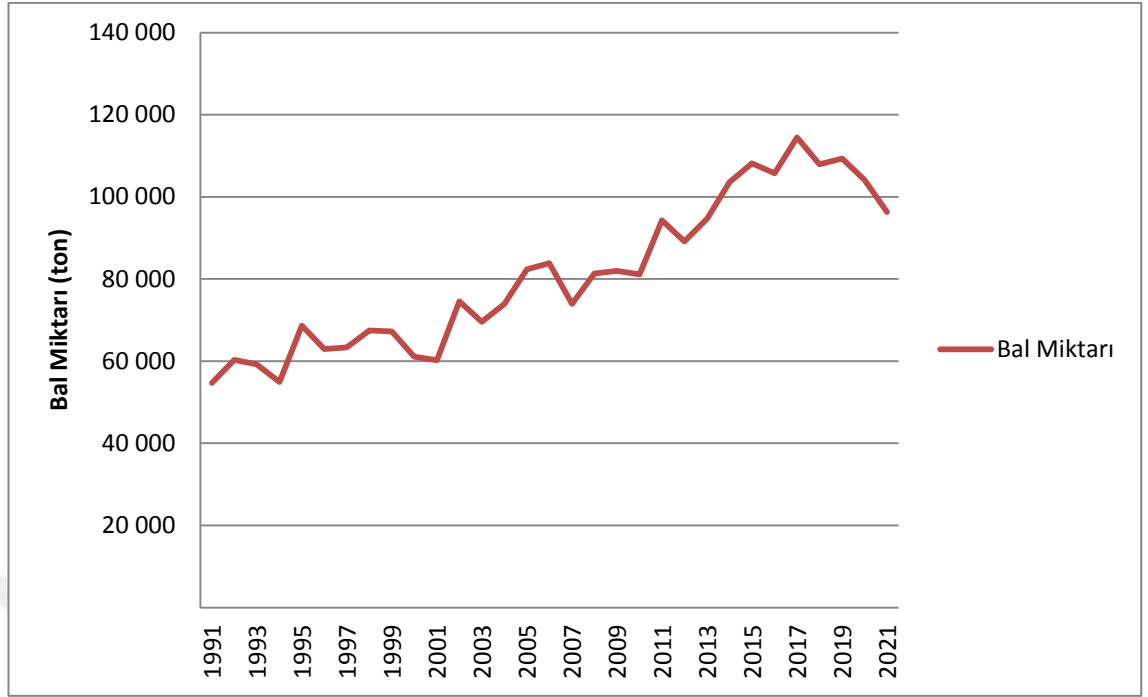
1.2 Türkiye'de Arıcılık

Anadolu'da görülen ilk arıcılık faaliyeti M.Ö. 1300'lere dayanmaktadır. Dolayısıyla yaklaşık olarak 9000 yıl öncesinden bu yana arıcılık ülkemiz topraklarında gerçekleştirilen bir tarımsal üretim faaliyetidir (İlgar 2018). Türkiye coğrafi konumu gereği zengin iklim ve çevre şartları, sahip olduğu kovan sayısı, koloni varlığı, bitki örtüsü çeşitliliği, balırsı çeşitliliği ve önemli ölçüde arıcılık potansiyeli ile diğer ülkelere kıyasla dikkat çekmektedir. Ayrıca yüksek yaylalar ve dağlarla çevrili olması

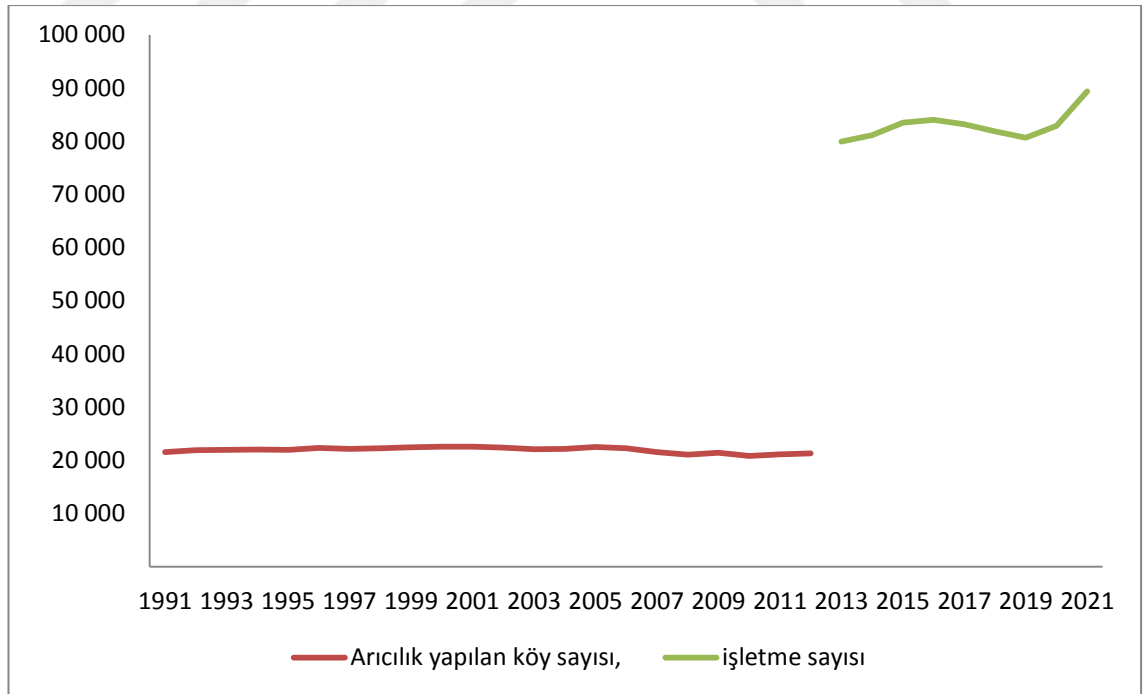
arıcılık faaliyetleri açısından büyük avantaj sağlamaktadır (Erkan ve Aşkın 2001, Sarı vd. 2020). TÜİK verilerine göre 1991 yılında 3.161.583 adet olan modern kovan sayısı 2021 yılında 8.456.305 modern kovan sayısına ulaşmıştır. Bu artışa paralel olarak 2017 yılı verilerinde 114.471 ton ile en yüksek seviyesine ulaşmış ve 2017 yılından bu yana bal miktarında ciddi bir azalma görülmüştür. 2021 yılı verilerine göre bu miktar 96.344 tona gerilemiştir (TÜİK 2022). Türk arıcılık sektörünün zengin doğal kaynakları yeterince ve doğru kullanmamasının yanı sıra arıcılık faaliyetlerinin doğru yürütülememesi bu duruma sebep olan etkenler arasındadır. Avrupa ülkelerinde geleneksel bir meslek kolu olan arıcılık, Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelere genellikle ek bir kazanç kaynağı olarak görülmektedir. Ancak, arıcılık dünyanın tümünde hızlı gelişmekte olan ekolojik denge ve tarımsal üretimin sürdürülebilirliği açısından bir kilit taşıdır (Çakmak ve Seven Çakmak 2016, Ilgar 2018, Sarı vd. 2020).



Şekil 1.1 Yıllara göre kovan sayısındaki değişim grafiği 1991-2021 (TÜİK, 2022)



Şekil 1.2 Yıllara göre bal miktarındaki değişim grafiği 1991-2021 (TUİK, 2022)



Şekil 1.3 Yıllara göre işletme ve köy sayısındaki değişim grafiği 1991-2021 (TUİK, 2022)

1.3 Arıcılığın Tarımsal ve Ekonomik Önemi

Arılar, özellikle balarılar başta olmak üzere beslenmek amacıyla çeşitli meyveler, ve kokulu aromatik bitkilerden polen ve nektar toplama davranışları sırasında bitki tozlaşmasına büyük ölçüde katkı sağlamaktadırlar. Dünya üzerindeki bitkilerin en az %70'i tozlaşmak için böceklerle ihtiyaç duyar, bu böceklerin %80'ni de balarılar oluşturmaktadır (McGregor 1976, Özbilgin 1999). İnsan besin ihtiyacının %90'ı doğrudan 82 bitki türünden elde edildiği ve bunların %77'sini tozlaştırıcı olarak arıların oluşturduğu bilinmektedir (Delaplane ve Mayer 2000). Tüketilebilir insan besin maddelerinin yaklaşık olarak %33'ü direkt ya da indirekt şekilde arıların tozlaşmasına bağlı olan bitkisel kaynaklardır. Dolayısıyla tozlaşmanın tarımsal üretimdeki rolü dikkat çekici ve azımsanamayacak boyuttadır (Karadeniz 2012). Arıcılık bitkisel üretimdeki rolüyle birlikte tarımsal üretim faaliyetleri içinde öne çıkmaktadır. Balarılar yetiştirilme avantajları, lojistik kolaylıkları ve en önemlisi doğadaki tozlaştırıcı rolüyle ekonomi ve tarımsal üretim açısından çok değerlidir (Sıralı ve Cımbırtılıoğlu 2018). Tarımsal üretimde arılar, ürün kalitesini ve verimini arttırmanın yanı sıra birçok bitki popülasyonunun devamlılığını sağlayarak ekolojik dengede bir kilit taşı olurlar (Çankaya ve Korkmaz 2008).

1.4 Tezin Amacı

Bu tez kapsamında;

1. Ardahan, Artvin ve Ankara illerinden alınan örneklerin enfeksiyon durumu tespit edilmesi,
2. Nosema Enfeksiyon durumu tespit edilen örneklerle moleküler analiz yapılarak tür teşhisi yapılması,
3. Kovan içi ve kovan dışından alınan örneklerle, koloni ortalama Nosema spor sayısının daha doğru tespit edilmesi ve kovanın iç tarafından ve dışından alınmasının anlamlı bir fark olup olmadığını tespit edilmesi,

4. Ankara ve Artvin illerinden elde edilen örneklerin toplanma dönemine ait sıcaklık ve nem verileri elde edilerek, sıcaklık ve nem durumundaki değişikliklerin enfeksiyon durumuna etkilerinin tespit edilmesi,
5. Nosema sporları ile doğal enfekte olan kovanlara Okzalik asit ile muamele edilerek, oksalik asit muamesesi öncesi ve sonrası durumlarının tespiti ve enfeksiyon durumunda değişikliğin takip edilmesi,
6. Aynı bölgelerden elde edilen kovanların yıllara göre takip edilerek 2019 yılı ve 2020 yılı kovanlardaki enfeksiyon durumunda değişikliğin tespit edilmesi amaçlanmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Balarısı Sistematığı

1758’de ilk defa Linnaeus tarafından *Apis mellifera* L. olarak adlandırılmıştır. Bu adlandırma bal taşıyan arı anlamı taşımaktadır. Balarısı sistematığı çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 Balarılarının sınıflandırılması (Tosun, 2012)

Balarılarının Sınıflandırılması	
Alem	Animalia (Hayvanlar Alemi)
Şube	Artropoda (Eklembacaklılar)
Sınıf	Insecta (Böcekler)
Takım	Hymenoptera (Zar kanatlılar)
Aile	Apidae (Arılar)
Cins	Apis (Balarıları)
Tür	<i>Apis mellifera</i> (Balarısı)

2.2 Kafkas ve Anadolu Balarısı Irkları

Hititlerden günümüze kadar Anadolu arıcılığın merkezi olmuştur. Dolayısıyla bölgeye özgü arılar birçok araştırmacının ve araştırmının konusu haline gelmiştir. Anadolu coğrafyasının arılarını çalışan ilk araştırmacı Bodenheimer, F. S. 'dir ve 1942 yılında Anadolu'yu morfolojik özelliklerini dikkate alarak 7 farklı bölgeye ayırmıştır. Bunlardan başlıca dördü ırk, kalan üçünün ise bu ırkların ara formları olduğunu belirtmiştir. Bu dört ırk, Kuzeydogu Anadolu’da (Kars) Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*), Elazığ’da Sarı-Trans Kafkas arısı (*Apis mellifera remipes*), Orta Anadolu’da (Ankara) Sarı-Trans Kafkas arısına çok benzeyen Orta Anadolu arısı ve Mersin’de Suriye arısıdır.

2.2.1 Anadolu Balarısı (*Apis mellifera anatoliaca*)

Anadolu balarısı ile ilgili kapsamlı ilk Türkiye verileri 1933 ile 1937 yıllarında F. S. Bodenheimer tarafından kayıtlara geçmiştir (Koca ve Kandemir 2015).

Anadolu balarısı yükseltinin fazla olduğu bozkırların aşırı sert iklim koşullarına uyum sağlayarak, besin kaynağı ve enerji tasarrufu açısından yetiştirilme faaliyetlerini en aza indirerek kıtlık dönemlerine hızla uyum gösterebilen bir ırktır. Bu sayede Kuzey Avrupa'nın arı ırklarına kıyasla kış aylarına dayanıklılıkları çok fazladır (Adam 1983).

Orta Anadolu'daki arıların kış geçirme ile adaptasyon becerilerinin gelişmiş olduğu ve aynı zaman da işçi arılarla ana arının hayat kapasiteleri ile uyum gücünün fazla olduğu belirtilmektedir. Anadolu arılarının agresif ve döl verme potansiyeli fazla olması bir avantaj sağlarken, çok fazla propolis toplayarak, kovan içerisinde ilave petekler oluşturabilmesi istenmeyen bir ırk özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır (Adam 1977).

Besin bulma potansiyelleri ile iyi larva besleme yönelimlerinin olması arı yetiştiriciliğinde bu ırka avantaj sağlamaktadır (Koca ve Kandemir 2015). Çoğu zaman çerçeve üzerinde dingin ve uyumlu davranışlarına karşı soğuk hava koşullarında ve gün batımına doğru hırçınlaşma eğilimi sergilerler. Bu yüzden sokma davranışları diğer ırklara göre oldukça fazladır. Ayrıca arı felci hastalığına karşı duyarlı oldukları belirtilmiştir (Öder 1987, Korkmaz 2013).

Adam (1987), Anadolu balarısı ırkını kendi içerisinde;

- Kuzeydoğu,
- Güneydoğu,
- Orta Anadolu,
- Batı Anadolu,

olarak dört kola ayırmıştır ve bunlarda da ara formların görüldüğü bildirmiştir.

Orta Anadolu arılarında adaptasyon ve kışı geçirme kabiliyetlerinin iyi olduğu ve aynı zamanda işçi arıların ve ana arının yaşam ömrü ile dirençlerinin de yüksek olduğu bildirilmiştir. Doğu Karadeniz Bölgesi balarılarının ise hem davranışları hem de gelir

getirme potansiyeli açısından Kafkas ırklarından farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Adam 1987).

2.2.2 Kafkas Balarısı (*Apis mellifera caucasica*)

Kafkas balarısı ırkı dış görünüşü bakımından fazla miktarda gri tüylere sahiptir. Ayrıca 6.8-7.2 mm arasında değişen uzun dili ile tanınmaktadır. Diğer ırklardan ayıran en önemli özelliklerinden biri uzun bir dile sahip olmasıdır. Uzun dili sayesinde arı, derin tüplü çiçeklerden bile nektar toplayabilmektedir. Kafkas arılarında diğer gruplara kıyasla propolis tüketimi yoğundur. Ayrıca balmumu kullanarak köprüler yapabildikleri belirtilmektedir. Dikkat çeken özelliklerinden biri yavru üretimine kıyasla bal biriktirme eğilimlerinin yüksek olmasıdır. Yapılan çalışmalar Akar'ı ve Nosema hastalığına karşı oldukça duyarlı olduklarını göstermektedir (Adam 1987, Ruttner 1988).

Kafkas balarıları, oldukça çalışkan ve sakin huylu olma özellikleri ile öne çıkmaktadırlar. Ayrıca soğuk ve sert iklim koşullarına sahip yüksek yaylalarda bal verimi yüksek olması sebebiyle tercih edilirler. Soğuk iklime adaptasyon sağlamaları düşük birey sayılı popülasyonlarının bile iyi bir kışlama dönemi geçirmesine imkân sağlamaktadır. Ancak kolonilerin uzun bir kışlama dönemi ardından ilkbaharda aktiviteye geç başlaması özellikle ılıman bölgelerde kış geçiren Kafkas balarıları için ilkbaharın erken döneminde açan çiçekli bitkilerden nektar toplayamamalarına neden olmaktadır. Buda bazı arı ırklarına göre geç gelişim ile birlikte daha düşük bal verimiyle sonuçlanmaktadır (Ruttner 1978, Doğaroğlu 1981).

Kafkas balarısı ırkını ekonomik değere sahip arı ırkları içerisinde en avantaj sağlayan özelliği Kafkas balarılarının yaklaşık olarak %12 şeker içeren çiçek özleri ile bal üretebilme yeteneğidir. Başka ırkların bal üretimi amacıyla nektarda %17 oranında şekere gereksinim duyması düşük oranda şeker içeren bitkileri kullanmasında avantaj sağlamaktadır. Bu verimlilik özelliği ile ekonomik değeri ön plana çıkmaktadır (Anonim 2012, Nergiz 2016).

2.3 Arı Hastalıkları

Tüm dünyada ve ülkemizde arıcılık üretim faaliyetlerine engel olması nedeniyle arı hastalık ve zararlıları ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Arılarda, arı ürünleri ve arıcılık faaliyetlerinde kullanılan çeşitli ürünler sebebiyle istenmeyen pek çok hastalık ve zararlı oldukça kısa sürede yayılabilmektedir (Öztürk 2001, Gülpınar 2005). Yayılmakla kalmayan pek çok hastalık kolonilerde ciddi birey sayısı kaybına, yavru ve ergin arılarda çeşitli sorunlara neden olmakla birlikte bal verimini de önemli ölçüde düşürerek, arıcılara ekonomik yönden ciddi kayıplar yaşatabilmektedir (Aydın 2001, Çakmak vd. 2002).

Arı hastalıklarını konukçu durumuna göre temel olarak 2 gruba ayırabiliriz. Bunlar; Yavru hastalıkları ve Ergin hastalıklarıdır (Uygur ve Girişkin 2008, Yoloğlu 2014).

2.3.1 Yavru hastalıkları

Balarısı yavrularında en sık görülen hastalıkların başında Amerikan ile Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalığı gelmektedir. Ayrıca Tulumsu Yavru Çürüklüğü'nde yavrularda görülebilmektedir.

Amerikan yavru çürüklüğüne *Paenibacillus larvae* isimli sporlu bakteriler neden olmaktadır. Kovanda uzun yıllar canlılığını korumakla beraber, keskin kokusu ve larvada renk değişimiyle kendini belli eden bir hastalık türüdür (Uygur ve Girişkin 2008, Genç ve Dodoloğlu 2017).

Avrupa Yavru Çürüklüğü *Melissococcus pluton* isimli gram pozitif (+) bakterilerden kaynaklanmaktadır. Amerikan yavru çürüklüğüne göre sporların canlı kalma süresi daha azdır (Uygur ve Girişkin 2008, Genç ve Dodoloğlu 2017). Bu hastalıktada yine benzer şekilde yoğun çürümüş bir koku ile birlikte yavru larvalarda renk değişimi gözlenir (Uygur ve Girişkin 2008, Genç ve Dodoloğlu 2017).

Tulumsu yavru çürüklüğüne ise, *Morator aitatus* isimli virüsler sebep olmaktadır. Diğer iki yavru çürüklüğü hastalığına göre bu viral kaynaklı bir hastalıktır. Hastalığın

belirgin özelliklerinden biri ölü larvaların siyah renk almasıdır. Hastalık deri değiştirme düzenini bozduğu için eski ve yeni deri arasında biriken sıvı baş kısmın şişerek torbayı andıran bir şekil almasına sebep olmaktadır (Tutkun ve Boşgelmez 2003, Uygur ve Girişgin 2008).

Bunlara ek olarak yavruları etkileyen hastalıklardan biri Kireç hastalığı olarak bilinen *Ascosphaera apis*'in neden olduğu mantar hastalığıdır. Bir diğer mantar hastalığı ise *Aspergillus flavus* kaynaklı Taş Hastalığıdır (Uygur ve Girişkin, 2008).

2.3.2 Ergin hastalıkları

Arılarda septisemi olarak bilinen hastalığa *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif (-)) türü bakteriler sebep olmaktadır (Shimanuki ve Knox 2000, Uygur ve Girişgin 2008).

Ergin balarılarında virüslere bağlı olarak görülen çeşitli hastalıklar mevcuttur. Bunlardan bazıları:

- Arı Felci,
- Deforme Kanat Virüsü (DWV),
- Kaşmir Virüsü,
- Siyah Kraliçe Hücre Virüsü (BQCV)'dür (Shimanuki ve Knox 2000, Uygur ve Girişgin 2008).

Erişkin arılarda görülen diğer hastalıklar ise;

Amobea hastalığı, *Malpighamoeba mellificae*'nin neden olduğu protoozoon entomopatojen bir hastalıktır (Uygur ve Girişgin 2008).

Nosema hastalığı, ergin balarılarında sıkça görülen bu hastalığa *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* isimli mikrosporidiaların türler neden olmaktadır. Koloni yaşamını ciddi şekilde etkileyen ve bulaşıcı olmakta beraber kolonide ciddi kayıplara sebep olabilen bir hastalıktır (Fries vd. 1996, Whitaker vd. 2011).

2.3.3 Balarısı zararlıları

Trake akarı olarak bilinen hastalığa ise *Acarapis woodi* isimli solunum yollarını etkileyen bir parazit türü neden olmaktadır (Uygur ve Girişgin 2008).

Ektoparazit hastalıklarına ise genellikle *Varroa destructor* ile *Tropilaelaps clareae* türleri neden olmaktadır. Ergin ve yavru dönemlerinde kolonileri enfekte ederek koloni yaşamını ciddi şekilde tehdit etmektedir (Uygur ve Girişgin 2008).

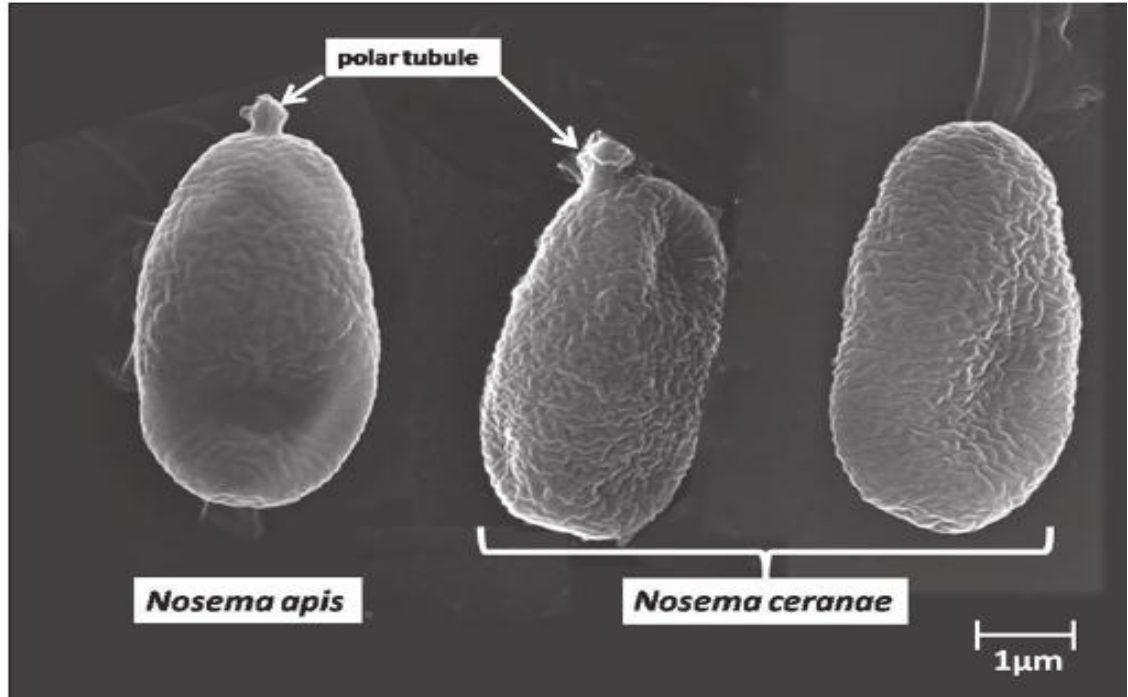
2.4 Nosema Hastalığı ve Türleri

Nosema, balarılarının bağırsak mukoza hücrelerinde gelişen ve dışkı ve oral yolla bulaşan hücre içi parazitlerden olan ve mikrosporidia mantarları olarak sınıflandırılan *Nosema* cinsinin parazitlerinin neden olduğu önemli bir arı hastalığıdır (Adl vd. 2005, Lage vd. 2022). Arıların sindirim sistemine yerleşerek gelişen sporlar Nosema hastalığının meydana gelmesine neden olur. Özellikle kışlama dönemlerinde arıları daha fazla etkileyen bu hastalık arı aktivitesinde azalmalara neden olarak koloni yaşamını tehlikeye atmaktadır.

Hastalığın etyopatogenezinde yer alan tanımlanmış iki tür vardır, *N. apis* ile *N. ceranae*, her iki tür de *A. mellifera*'yı tek tek veya ortak enfeksiyon olarak enfekte edebilmektedirler (Zander 1909, Fries vd. 1996, Milbrath vd. 2015). Çizelge 2.2 'de balarılarını enfekte eden *Nosema* türlerinin sınıflandırılması verilmiştir (Weber vd. 1994, Fries vd. 2006)

Çizelge 2.2 Nosema hastalıklarına neden olan *Nosema* türlerinin sınıflandırılması
(Büyük, 2016)

<i>Nosema apis</i> ve <i>Nosema ceranae</i> Sınıflandırılması	
Alem	Protista
Şube	Microspora
Sınıf	Microsporea
Takım	Microsporidia
Aile	Nosematidae
Cins	Nosema
Tür	<i>Nosema apis</i> , <i>Nosema ceranae</i>



Şekil 2.1 *Nosema apis* ve *Nosema ceranae*'nin mikroskopik görüntüleri
(<http://www.kanawhavalleybeekeepers.co/kvbawp/wp-content/uploads/2017/06/NosemaapisNosemaceranaespores.png>)

Taramalı elektron mikroskobu altında (Şekil 2.1) her iki türe ait sporların üst yapıları incelendiğinde büyüklük farkına bakılarak ayırt edilebilmesi mümkündür. *N. apis*'te 26-32 adet polar filament bulunurken, *N. ceranae*'de 20-23 arasında ince filamentler bulunmaktadır. Bu durum elektron mikroskop altında *N. apis* sporlarının daha büyük

görünmesine sebep olarak morfolojik olarak bir ayırım sağlayabilmektedir (Fries vd. 1996, Fries vd. 2006, Chen vd. 2009)

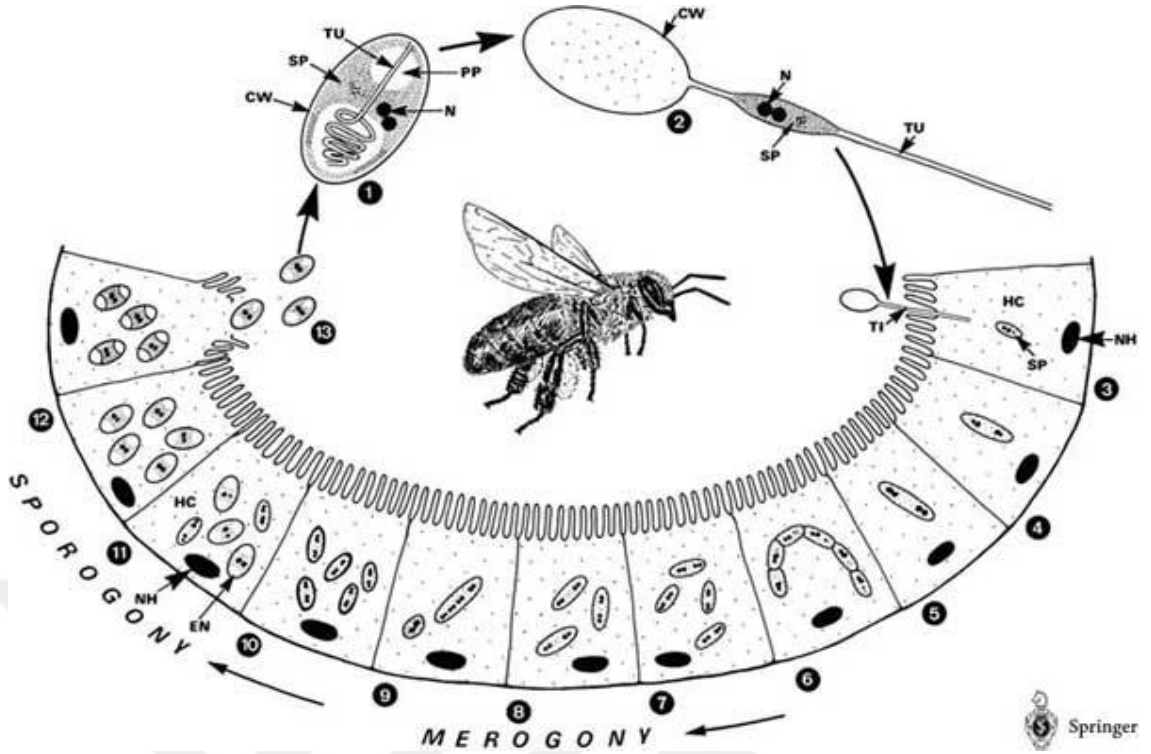
Yoğun şekilde enfekte olmuş arıların ventrikülü koyu beyaz ve şişmiş görünebilse de, *N. apis* ile enfekte olmuş arılarında belirli bir hastalık belirtisi yoktur (Fries, 1997). Aynı şekilde *N. ceranae* için bildirilen herhangi bir dış semptom mevcut değildir. Bu nedenle doğru tanı için, ışık mikroskopunun yanı sıra daha ileri moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Fries 2010)

N. apis ve *N. ceranae*'nin teşhisi ve tanımlanması için bazı PCR tabanlı moleküler yöntemler önerilmektedir;

- PCR–RFLP yöntemi için çeşitli metodjiler (Higes vd. 2006, Klee vd 2007),
- Türe özgü primerler kullanan bir uniplex PCR metodu (Chen vd. 2008),
- İki türden DNA'nın amplifikasyonu için bir multipleks PCR metodları (Martín-Hernández vd. 2007) kullanılmaktadır.

2.4.1 Nosema sporlarının yaşam döngüsü

Nosema sporları mitokondri içermedikleri için, aerobik solunum açısından mutlak konağa bağımlıdırlar. Ancak çekirdek içerisinde solunum fonksiyonlarından uzak ve sadece bazı şartlarda enzimler içeren çift membranlı veziküler mitodondriyal kalıntılar tespit edilmiştir (Fries vd. 1996, Aydın vd. 2017). Bir epitel hücresi içerisinde yaklaşık olarak 200 adet spor taşıyabilmektedir. Sporlar genellikle soğuk ortama dirençliyken, sıcak ve nemsiz koşullara karşı dirençleri zayıflamaktadır. *Nosema* sporları ekstrem koşullara dayanıklı olup balda ve toprakta ortalama 3 ay kadar canlılığını korurken; ölü arılar ve arı dışkılarıyla birlikte kalıntılarda yaklaşık olarak bir yıl canlılığını korumaktadırlar (Girişgin vd. 2017).



Şekil 2.2 *Nosema* sporlarının yaşam döngüsü (<https://scientificbeekeeping.com/the-nosema-twins-part-1/>)

Nosema sporları zorunlu hücre içi patojenlerdendir. Hücre dışında inaktif sporlar olarak bulunurlar. Balarısına çeşitli (fekal & oral) yollarla ulaşan spor ön mideden geçtikten sonra orta mideye ulaşır. Mide içeriğindeki hücresel yapılarla karşılaşan sporlar tübüller yapıların dışarı çıkmasıyla gelişerek epitel hücrelerine yapışırlar. Hücreye ulaşan polar filamentlerle *Nosema* sporlarına ait protoplazma içeriği böylece arının epitel hücre sitoplazmasına geçer. Sporogoni adı verilen bu eşeysiz üreme arının epitel hücrelerinde ki sitoplazmada başlamış olur. Epitel hücreye giren sporlar hacimsel bir artış gösterir ve merontu oluştururlar. Merongoni yoluyla oluşan merozoitler 24 saat sonunda çekirdek sayısını ikiye katlayıp tekrar bölünürler ve tek çekirdekli merontlar oluşur. Ardından merozoitler sporantlara dönüşür sporantlar da çoğalarak sporoblastlara dönüşmektedir (Şekil 2.2). Bu döngünün sonunda diplokaryonlar meydana gelerek kalın hücre duvarına sahip olgun *Nosema* sporlarını oluşturur (Fries vd. 1992, De Graaf vd. 1994, Gisder vd. 2010).

2.5 Nosema Hastalığının Tedavi Yöntemleri

Nosema enfeksiyonu ciddi koloni kayıplarına neden olması sebebiyle arıcılar için büyük bir sorun oluşturmaktadır. Hastalığın tedavisi içinse yaygın olarak kullanılan çeşitli ilaçlar ve yöntemler mevcuttur. Bunların başında uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan fumagillin isimli antibiyotik gelmektedir. Bu antibiyotiğin spor sayısını azaltarak arı yaşam ömrünün uzattığını gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Mladan vd. 2000).

Fumidil-B ticari olarak toz halinde satılan bir antibiyotiktir. Ayrıca bir diğer alternatif olan Timol'e kıyasla düşük dozlarla kullanımı ile balda tat değişikliğine sebep olmayışıyla kullanımı yaygındır (Zeybek 1991, Girişgin vd. 2017). Bunlara alternatif olarak çeşitli asit türevlerinden olan sodyum ortohidroksi-karbonik asit, 2 (acetyloxy) benzoik asit, 2-Hidroksi-benzoik asit içeren kimyasal preparatlar da mevcuttur. Bunlar antibiyotik içermeyen tedavi yöntemleri olarak bilinmektedir (Bogdanov vd. 1999). Yapılan bazı çalışmalarda *N. ceranae* sporları üzerinde Fumagillin'in etkinliğinin yaklaşık olarak %70 oranında olduğu gösterilmiştir (Williams vd. 2011, Huang vd. 2013).

Artemisia absinthium (Pohorecka 2004) ve Thymol ($C_{10}H_{14}O$, doğal bileşik ve kekik yağında bulunur) (Costa vd. 2009) ile Nosemanın tedavisi için laboratuvar koşullarında çeşitli deneysel çalışmalar yapılmıştır. Ozon güçlü antibakteriyel etkisiyle dezenfektan olarak yaygın kullanılan bir diğer maddedir ve bu özelliği sayesinde diğer arı hastalıklarının tedavisi içinde kullanılmaktadır (Baysan vd. 2000, James 2011). Bu sebeple ozonun Nosema hastalığı üzerinde etkinliğini değerlendirmek için, sıvı ozon petek üzerinde bulunan sporlarına karşı fumigant olarak kullanılmıştır (Zanet vd. 2018).

Ancak toksisitesi ve arı ürünlerinde kalıntı oluşturması sebebiyle Fumagillinin kullanımı bazı Avrupa ülkelerinde yasaklanmıştır. Dolayısıyla bu durum hastalığa karşı çeşitli alternatifleri de beraberinde getirmiştir. Bu alternatiflerin başında bitkisel ve/veya doğal kaynaklı tedavi yöntemlerinden olan probiyotikler, çeşitli bitki öz ve ekstratları ile organik asit türevlerinin kullanımı gelmektedir (Marín-García vd. 2022, Lorizzo vd. 2022).

2.5.1 Okzalik asit

Okzalik asit (OA), en güçlü organik asitlerden biridir. Serbest asit ve okzalıklar olarak bal dahil, canlı organizmaların ve gıda maddelerinin doğal bir bileşenidir. Okzalik asidin *Varroa*'ya karşı toksisitesi kontrollü laboratuvar deneylerinde gösterilmiştir (Milani 2001) ve şekerli su şurupları şeklinde yıllardır hastalığın kontrolü için kullanılmaktadır (Nanetti vd. 2003). Ayrıca, etkinliği, düşük maliyeti ve kovan ortamında kolay uygulanması *Varroa* mücadelesinde arıcıların ilk tercihleri arasındadır. Aynı bağlamda, kanıtlanmış etkinliği sayesinde araştırmacıları *N. ceranae* gibi diğer arı sağlığını tehlikeye sokan hastalıklarla mücadele etmek için uygulamaların geliştirilmesine teşvik etmiştir. Son yıllarda hastalığın tedavisi için alternatif yolların geliştirilmesinde OA uygulamaları ve çeşitli bileşenlerine olan ilginin giderek arttığı görülmektedir (Nanetti vd. 2015, Kasiotis vd. 2019).

2.6 Nosema Hastalığının Dünya'da ve Türkiye'de Varlığı

Balarılarında ve ticari olarak üretimi gerçekleştirilen kolonilerde ciddi bir hastalık etmeni olan Nosema 1909 yılında ilk defa Zander tarafından adlandırılmıştır. *N. apis*, keşfedildikten sonra bir süre boyunca Nosema hastalığının tek etkeni olarak kabul edilmiştir (Paxton 2010). Fries vd. (1994) *Apis cerana* üzerinde yaptığı bir araştırmada *N. ceranae*'yi ilk kez Nosema hastalık etkeni olan farklı bir tür olarak tanımlamışlardır. İlk çalışmalarda *N. ceranae*'nin sadece *Apis cerana*'yı enfekte ettiği kayıtlara geçmiş olsada zamanla yapılan çalışmalar *N. ceranae*'nin *A. mellifera*'yı da enfekte ederek geniş bir yayılıma sahip olduğunu göstermiştir (Fries vd. 1996, Higes vd. 2006, Fries 2010, Higes 2010). Dolayısıyla yapılan çalışmalar sonucunda Doğu (*A. ceranae*) ve Batı (*A. mellifera*) balarısı ırklarının her ikisinin de *Nosema* türleriyle enfekte olduğu görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda hastalığın *A. mellifera*'yı enfekte ederek, Kuzey Amerika, Tayvan, Avrupa ve Avusturalya'ya kadar geniş bir yayılımı olduğu göstermiştir (Higes vd. 2006, Huang vd. 2007, Whitaker vd. 2011).

Türkiye'de Nosema hastalığı hakkında ilk bilgiler 1952 yılında *N. apis* türüne ait verilerle kayıt altına geçmiştir, ancak ilk teşhis 1986 yılında yapılmıştır (Uygur ve Girişgin 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Toplanması

Tez kapsamında kullanılan balarısı örnekleri Artvin, Ardahan ve Ankara illerinde bulunan Macahel A. Ş. ait koruma aralıklarından bahar/güz dönemi ve okzalik asit uygulaması sonrasında olmak üzere 2019 ve 2020 yıllarında toplanmıştır. Balarısı örnekleri ilkbaharda ve sonbahar aylarında koruma aralıklarından 2 farklı mevsimsel dönemde elde edilmiştir.

Bahar ve güz dönemi ayrı olmak üzere Artvin, Ardahan ve Ankara'daki belirlenen aralıklardan örnek alınmıştır. Artvin'in 3 farklı bölgesinden Seyitler 20 kovan, Camili 25 kovan, Hatila 24 kovan olacak şekilde 69 kovandan örnek alınmıştır. Ardahan ili Posof bölgesinden 20 kovandan, Ankara'da ise Kırkırca 50 kovan, Akçakese 25 kovan, Başağaç 25 kovan olmak üzere 3 farklı bölgeden toplamda 100 farklı kovandan örnek toplanmıştır. 3 ilden toplamda 189 kovanın belirtilen dönemlerde Nosema enfeksiyonu açısından değerlendirilmesi yapılmıştır. Aralıklardan, Macahel A.Ş. bünyesinde görevli arıcılar tarafından 50 ml falkon tüpler içerisine %96'lık alkol eklenerek ortalama her bir kovan için 50 arı olacak şekilde örnekler toplanmıştır.



Şekil 3.1 Ankara ili koruma aralıklarının bulunduğu alan



Şekil 3.2 Ankara ili koruma arılığının kovanları



Şekil 3.3 Artvin Camili Okulönu Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı



Şekil 3.4 Artvin Tevtiyet Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı



Şekil 3.5 Artvin İremi Bölgesi Kafkas Arısı koruma arılığı



Şekil 3.6 Ankara koruma arılıklarından örneklerin toplanması



Şekil 3.7 Ankara koruma arılıklarından ana arı görüntüsü

3.2 Laboratuvar Çalışması

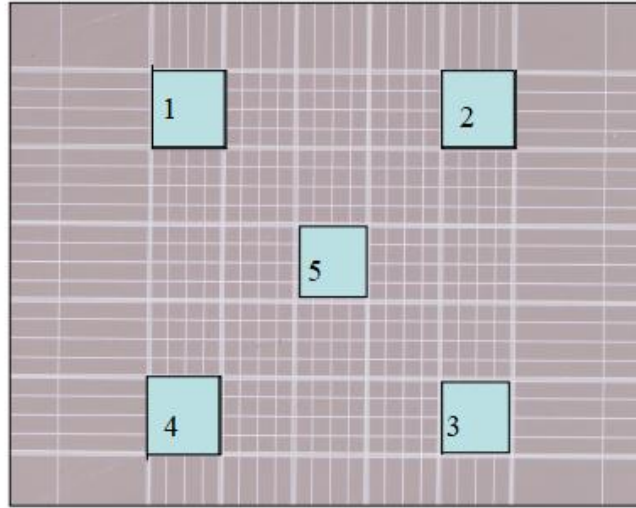
Koruma aralıklarından uygun şekilde laboratuvara getirilen örnekler kovan numaraları ve alkol solüsyonları kontrol edildikten sonra laboratuvarında uygun koşullarda çalışma boyunca ve çalışma bitiminde saklanmıştır. İlk olarak getirilen tüm örnekler kayıt altına alınmış ve mikroskopik çalışma için uygun hale getirilmiştir. Ardından mikroskopik sayım sonucu *Nosema* enfeksiyonu açısından pozitif bulunan örnekler için DNA izolasyonu ve multiplex PCR yöntemi kullanılarak tür tayini gerçekleştirilmiştir.

3.3 Mikroskopik İnceleme

Laboratuvara gelen örnekler steril şartlar altında her bir kovandan en az 30 arı olacak şekilde abdomenlerinden (mide-barsak sisteminin tamamını içermektedir) ayrılarak, abdomenler havan içerisine alınmıştır. Arı başına 1 ml distile su eklenerek havan içerisinde ezilerek homojen bir süspansiyon elde edilmiştir. Sayım için toma lamı üzerine bir lamel konulup ardından bir mikropipet yardımıyla 10 µl elde edilen süspansiyondan damlatılmış ve bir süre sıvının akışkanlığının geçmesi bekletilmiştir. Solüsyon akışkanlığını kaybedince mikroskopik sayım işlemine geçilmiştir. Sayım toma lamının iki tarafına da 10 µl süspansiyondan eklenerek güvenilirlik açısından 2 defa olacak şekilde yapılmıştır. Mikroskopik sayım işlemi ışık mikroskobunda ilk önce 4x sonra 10x ve daha sonra 40x büyütmede gözlenmiştir ve 40x'lik büyütmede sayımlar gerçekleştirilmiştir (Hornitzky 2008, Fries vd. 2013). Sayım sonrası havanda kalan süspansiyonlar etiketlenmiş ve +4 °C'de Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Böcek Morfolojisi Laboratuvarı'nda saklanmaktadır.

3.3.1 Mikroskopik sayım işlemi

Toma lamı 5x5 kareden oluşan bir alan içermektedir (Şekil 3.8). Her bir kare içerisinde 16 adet küçük kare vardır. Toplamda 25 kareden en köşedekiler ve ortadaki kare olmak üzere toplam numaralı olarak gösterilen 5 kare sayılmıştır. Sonuç olarak 5 ana karenin her birinde 16 kare olduğundan toplamda 80 adet küçük karede bulunan *Nosema* sporları değerlendirmeye alınarak sayılmıştır (Hornitzky 2008, Fries vd. 2013).



Şekil 3.8 Tوما lamında sayım yapılan alanlar (Hornitzky 2008)

3.3.2 Nosema spor sayısının hesaplanması

İlk sayım (1. kısım 5 kare toplam nosema sayısı) + İkinci sayım (2. kısım 5 kare toplam nosema sayısı)/2

Elde edilen ortalama 50.000 sabit sayısı ile çarpılmış ve spor sayısı hesaplanmıştır.

3.4 Moleküler Analiz

3.4.1 DNA izolasyonu

Işık mikroskopunda yapılan incelemenin ardından *Nosema* spor varlığı açısından pozitif sonuç veren ve yüksek spor sayısına sahip kovan örneklerine ait süspansiyon örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu Doyle and Doyle (1991) CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromide) metodu revize edilerek gerçekleştirilmiştir.

3.4.2 CTAB ile DNA izolasyonu

Nosema sporlarından CTAB ile DNA İzolasyonu Aşamaları

Yüksek spor sayısına sahip kovanlar belirlenip numaralandırma işlemi yapılmıştır. Ardından sporları karıştırmak için sporların bulunduğu sulu çözelti iyice çalkalanmıştır. 1.5 ml'lik olacak şekilde Eppendorf tüpüne sulu çözelti aktarılmıştır (her örnek için yeni uç kullanılarak). Sporların kompakt hale gelmesi için 10.000 RPM'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen karışımda süpernatant atılmıştır. DNA izolasyonu başlayana kadar en az 30 dk -80 °C'de örnekler bekletilmiştir.

Örnekler yeteri kadar soğutulduktan sonra her bir örnek için 300 µl CTAB eklenmiştir. Temiz ve ayrı bir havaneli kullanılarak iyice ezilmiştir. Ardından 300 µl CTAB eklenerek solüsyonlar iyice homojen hale getirilmiştir (Toplamda 600 µl CTAB). Bu işlemin ardından her bir örneğe 50 µl B-merkaptotanol eklenmiştir ve 65 °C'de 1 saat boyunca sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyonun sonunda her bir örneğe 500 µl kloroform/izoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek iyice karıştırılmıştır. Solüsyonlar bu aşamada süt rengine dönüşene kadar iyice karıştırılmıştır. 13.000 RPM'de 15 dk boyunca tüm tüpler soğutmalı santrifüje bırakılmıştır.

Temiz tüpler hazırlanarak numaralandırılmış ve santrifüj edilen tüm örneklerden sulu faz (içerisinde DNA bulunan) her biri dikkatlice ve farklı pipetle alınarak yeni tüplere aktarılmıştır. Bu aşamada oluşan iki fazın birbirine karıştılmamasına özen gösterilmiştir. Her bir örnek dolu tüpe 500 µl izopropanol eklenmiştir ve ortada DNA tabakası formu gözlenmiştir. Tüpler yavaş hareketlerle çalkalanarak -80 °C'de 30 dk boyunca bekletilmiştir. Sürenin sonunda tüm tüpler 13.000 RPM'de 10 dk boyunca soğutmalı santrifüje bırakılmıştır. Son olarak süpernatant kısım dökülerek tüplerin dibinde içinde DNA olan pelletler gözlenmiştir. Pelletler 2 defa 300 µl %95'lik soğuk etanol ile yıkanmıştır ve 1 gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Her bir kuru numuneye 50 µl TE (pH:8) tamponu eklenmiş ve pipetaj yapılarak çözünmesi sağlanmıştır. Uzun dönemde kullanılacak numunelerin hepsi -20°C'de saklanma altına alınmıştır.

3.4.3 DNA izolasyonunda kullanılmakta olan tampon çözeltiler

Çizelge 3.1 DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltiler

Tampon	Kullanma Şekli
C:IAA	24/1 oranında hazır hale getirilir. (24 birim kloroform (C), 1 birim İzamilalkol (IAA))
β- Mercaptoethanol	Hazır halde temin edilir
İzopropanol	Hazır olarak temin edilir ve -20 °C’de saklanır
CTAB	Hazırlanışı (100 ml için); - 2 g CTAB - 10 ml 1M Tris-HCl pH: 8.0 - 4 ml 0,5M EDTA pH: 8.0 - 28 ml 5M NaCl - 58 ml dH ₂ O
TE pH: 8.0	Hazırlanışı (100 ml için) - 1 ml 1M Tris-HCl pH: 8.0 - 2 ml 0,5M EDTA pH: 8.0 - 97 ml dH ₂ O

3.4.4 DNA miktar tayini

Elde edilen DNA'ların konsantrasyonu bir çeşit spektrofotometre cihazı olan nanodrop ile tespit edilmiştir. Nanodrop cihazına DNA çözeltisi karışımından 1 µl bırakılmış ve içerisindeki DNA miktarı 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorbansı ölçülerek tespit edilmiştir. Bu iki ölçüm arasındaki oran aynı zamanda bize DNA ne kadar temiz olduğunu göstermektedir. Elde edilecek değerin 1,8–2,0 arasında olması beklenmektedir. Bu değer aralığında alkol vb. kalıntıların en az olduğu görülmektedir (Kyle vd. 2003, Bozkaya 2012).

3.4.5 Polimeraz zincir reaksiyonu

DNA izolasyonları yapılan *Nosema* sporlarını moleküler olarak tespit etmek için Martin-Hernández vd. (2007) ile belirlenen primerler kullanılarak Multiplex PCR yöntemi uygulanmıştır.

Nosema sporlarının tür tayinini yapabilmek için uygulanan PCR koşulları çizelge 3.2' de belirtilmiştir (Koca vd. 2016):

Çizelge 3.2 Nosema sporlarının tür tayinini belirlemek için uygulanan PCR koşulları

İşlem Basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95°C	2 Dakika	1 Döngü
Denatürasyon	95°C	1 Dakika	35 Döngü
Bağlanma	50°C	1 Dakika	
Uzama	72°C	1 Dakika	
Son Uzama	72°C	5 Dakika	1 Döngü

Çalışmada kullanılan primerlerin özellikleri çizelge 3.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Nosema teşhisi için PCR'da çalışılan primerler.

Primer	Primerin DNA Dizisi (5'-3')	Tür	Ürün büyüklük-bç
218mitoc-For	CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA	<i>Nosema ceranae</i>	218
218mitoc-Rev	CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG		
321Apis-For	GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA	<i>Nosema apis</i>	321
321-Apis-Rev	GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAACAACATATG		

PCR karışımında kullanılan kimyasallar ve hacimleri çizelge 3.4'te gösterilmiştir (Zerek vd. 2021).

Çizelge 3.4 PCR karışımında kullanılan kimyasallar ve hacimleri

PCR KARIŞIMI	
	Her Bir Örnek için Kullanılan Miktar (µl)
Dream Taq Green Master Mix	12,5
dH₂O Distile Su	7,5
Primerler	
218F	1
218R	1
321F	1
321R	1
Çalışılacak DNA Örneği	1
TOPLAM	25 µl

3.4.6 Agaroz jel elektroforezi

PCR sonucunda elde edilen DNA fragmentleri %1'lik agaroz jel de yürütülmüştür ve UV altında görüntülenmiştir. Bu yöntemle jel üzerindeki DNA bantlarının profillerine bakarak Nosemaların hangi türe ait olduğu belirlenmiştir.

Agaroz jel hazırlanması:

%1 lik agaroz jel için, 1 gr agaroz hassas terazide tartılmış, üzerine 1X hazır TAE tamponu eklenmiş ve mikrodalga fırında içerisinde agaroz parçaları kalmayıp berrak bir görüntü oluşana kadar eritilmiştir. Uygun sıcaklığa gelen agaroz jel karışımı jel tabağına dökülmüş ve oda sıcaklığında jelin yoğunlaşması beklenmiştir. Jel gereken katılığa ulaştıncaya her bir örnekten 10 µl olacak şekilde mikropipet yardımıyla kuyulara yüklenip 70 volt elektrik akımı ile DNA fragmentleri yürütülmeye bırakılmıştır. DNA bant profillerine bakılarak ayırım yapılacağı için belirteç olarak 100 bp büyüklüğünde DNA Plus Ladder yüklenmiştir.

3.5 Okzalik Asit Uygulaması

Doğal olarak enfekte olduğu mikroskobik sayım sonucu teşhis edilen kovanlardan seçilen kovanlara tedavi etkinliğini belirlemek amacıyla okzalik asit uygulaması

yapılmıştır. Çalışma kapsamında Merck firmasına ait okzalik asit hazır olarak temin edilmiş ve kullanılmıştır. 1 litre ılık su içerisine 35 gr okzalik asit ile birlikte 200 gr toz şeker eklendikten sonra homojen bir karışım olana kadar iyice karıştırılmıştır. Her bir çerçeve arasına 0.5 ml olacak şekilde damlalık yardımıyla ölçülerek damlatılmıştır. Her bir kovan toplamda 10 çerçeveden oluşmaktadır. Dolayısıyla toplamda bir kovan başına 50 ml okzalik asit uygulanmıştır.

3.6 SPSS Programı ile Bağımlı T Testi Yapılması

İlişkili iki örneklemden elde edilen 2 ortalama arasındaki farkın anlamlılığını test etmek üzere kullanılan parametrik bir teknik olan bağımlı (ilişkili) t testi uygulanmıştır. SPSS Programı ile ‘‘Paired Samples T-Test’’ analiz seçeneği kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.

Bağımlı T testi için öncelikle anlamlı bir değişiklik olup oluşmadığını belirlemek için ilk test ve son test sonuçlarının ortaamalarının karşılaştırılması gerekmektedir. Hipotezler aşağıdaki şekilde kurulmuştur:

H_0 : Okzalik asit muamelesi sonrası ortalama Nosema sporu sayısında düşme yaşanmamıştır.

H_1 : Okzalik asit muamelesi sonrası ortalama Nosema sporu sayısında anlamlı biçimde düşük bulunmuştur.

Formül:
$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{[n(\sum D^2) - (\sum D)^2] \left(\frac{1}{n-1}\right)}}$$

Bu durumda test sonucunda elde edilen p değeri (Sig.) belirlenen α yanılma payından küçük ise H_1 , büyük ise H_0 hipotezi kabul edilir. α yanılma payı 0.05 olarak belirlenir. Bu değere önemlilik düzeyi de denilmektedir (Çolak, 2014).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

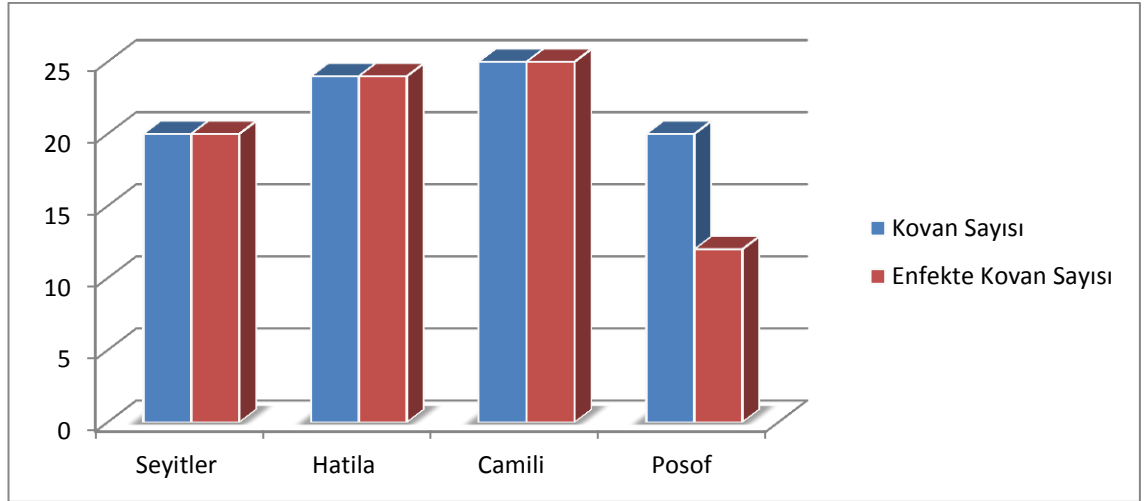
Bu tez çalışmasında 2019 ve 2020 yıllarında Ankara Artvin ve Ardahan'da belirlenen koruma aralıklarından alınan arı örneklerinin *Nosema* enfeksiyon durumları tespit edilerek takip edilmiştir. Moleküler analiz yöntemleri kullanılarak enfekte kovanların hangi *Nosema* türüyle enfekte olduğu belirlenmiştir. Enfekte kovanlara ait ortalama *Nosema* spor sayısı tespit edilerek illere ve bölgelere göre karşılaştırmalar yapılmıştır. Seçilen belirli aralıklardan arı örnekleri kovan içi ve kovan dışı örnek toplaması yapılarak *Nosema* spor sayıları hesaplanmıştır. Bu sayede ilk defa aynı kovandaki farklı şekillerde toplanan kovan dışı tarlacılık faaliyeti yapan arılarla kovan içi arıların enfeksiyon yükü değerlendirilmiştir. İllerin sahip olduğu coğrafi ve iklimsel koşulların *Nosema* spor sayısı açısından karşılaştırılması yapılmıştır. Ayrıca organik bir asit olan Okzalik asitin, enfekte olduğu bilinen kovanlara uygulaması yapılarak uygulama sonrası *Nosema* spor sayısı belirlenmiş ve okzalik asitin etkinliği değerlendirilerek, alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

4.1 Artvin ve Ardahan İlleri Koruma Aralıklarında *Nosema* Enfeksiyon Durumları-2019

Çizelge 4.1 2019 yılı Artvin ili Seyitler, Hatilla ve Camili bölgeleri ve Ardahan ili Posof bölgesi enfekte kovan sayısı

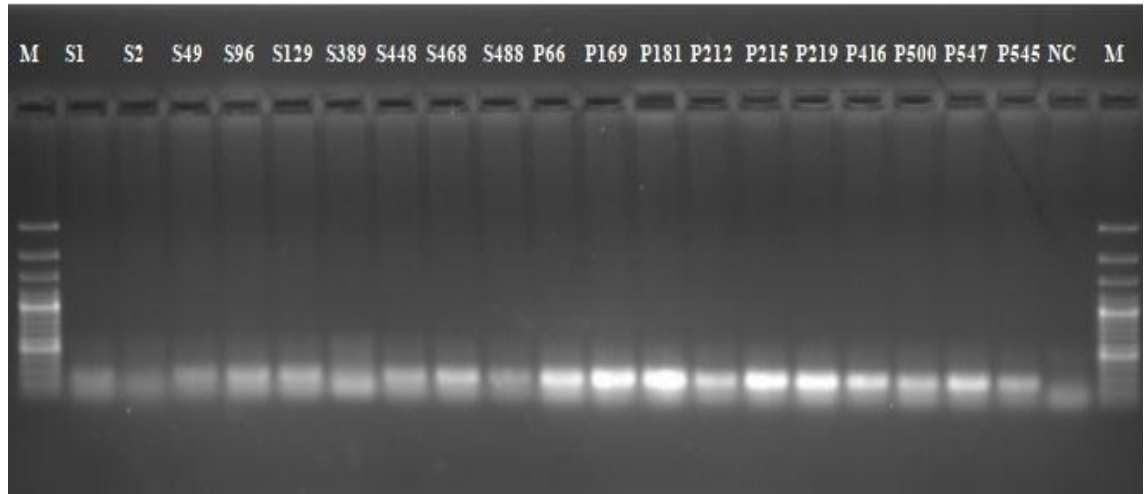
Aralık	Kovan Sayısı	Enfekte Kovan Sayısı
Seyitler	20	20
Hatilla	24	24
Camili	25	25
Posof	20	12

Bu çalışma kapsamında ilk olarak 2019 yılı Nisan ayında Artvin ilinin 3 farklı bölgesi ile Ardahan ilinin Posof bölgesinden balarısı örneği alınan toplam 84 kovanın enfeksiyon durumu değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Seyitler, Hatilla ve Camili bölgesindeki kovanların tamamında *Nosema* tespit edilmiştir. Posof 'ta ise 20 kovanın sadece 12 tanesi *Nosema* açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1).

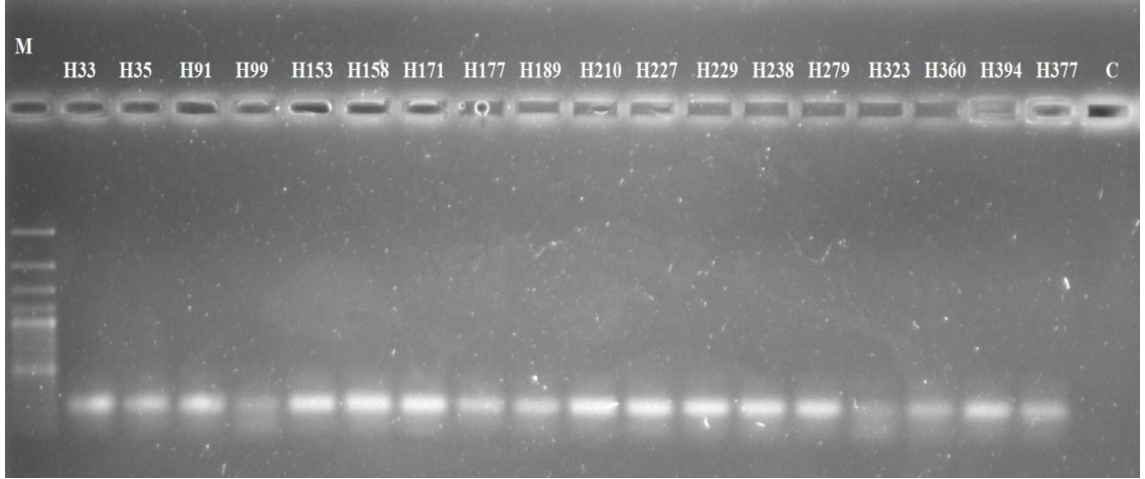


Şekil 4.1 Seyitler, Hatila, Camili ve Posof bölgelerindeki enfekte kovanların karşılaştırması

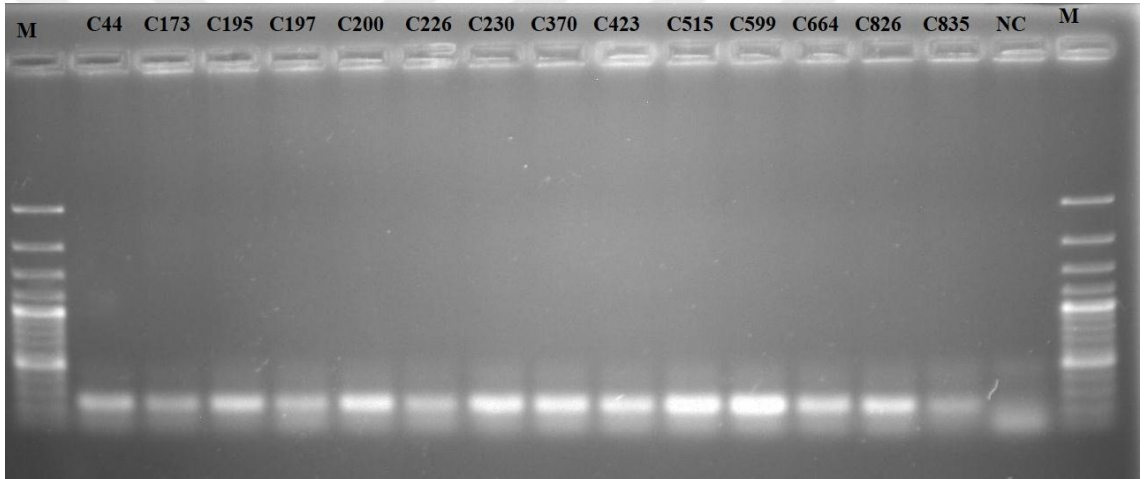
Bu çalışma kapsamında önce ışık mikroskopunda analizler yapılmıştır. Spor sayısı açısından pozitif ve yüksek spor sayısına sahip kovanlar seçilerek DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonrası moleküler tür teşhisi amacıyla multipleks PCR sonucu agaroz jel ile bant profilleri incelenmiştir. Artvin ve Ardahan illerinden örnek alınan tüm kovanlarda *Nosema ceranae*'ye özgü DNA bantı görülmüştür (Şekil 4.2-4.3-4.4). Moleküler analizler sonucu incelenen kovanların hiç birinde *N. apis* karakterize eden DNA bant profillerine rastlanmamıştır.



Şekil 4.2 Artvin ili Seyitler ve Ardahan ili Posof bölgesinde *Nosema ceranae*'nin türüne özgü DNA bantları



Şekil 4.3 Artvin ili Hatila bölgesindeki *Nosema ceranae*'nın türüne özgü DNA bantları

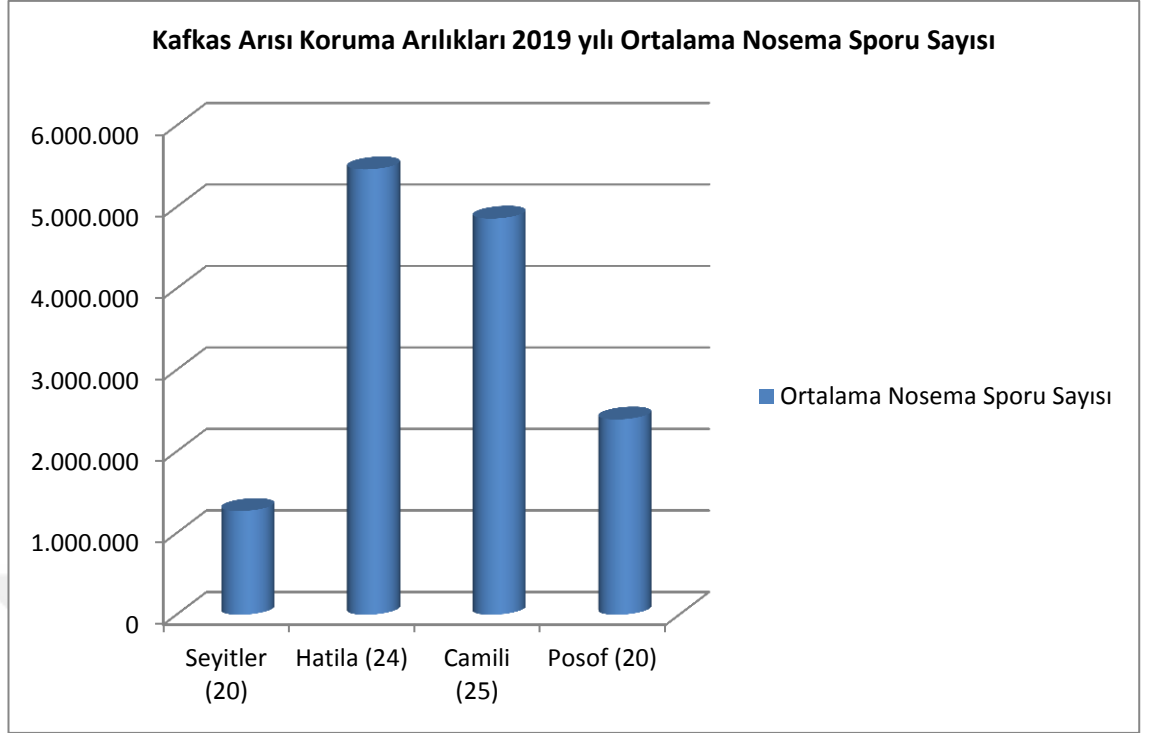


Şekil 4.4 Artvin ili Camili bölgesinde *Nosema ceranae*'nın türüne özgü DNA bantları

4 ayrı bölgeden alınan örneklerden hesaplanan ortalama *Nosema* spor sayısı aşağıdaki çizelge 4.2 ve şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Seyitler, Hatila, Camilli ve Posof bölgeleri ortalama *Nosema* sporu sayısı

Arılık/Kovan Sayısı	Ortalama <i>Nosema</i> Sporu Sayısı
Seyitler (20)	1.272.500
Hatila (24)	5.464.583
Camilli (25)	4.860.000
Posof (20)	2.395.000

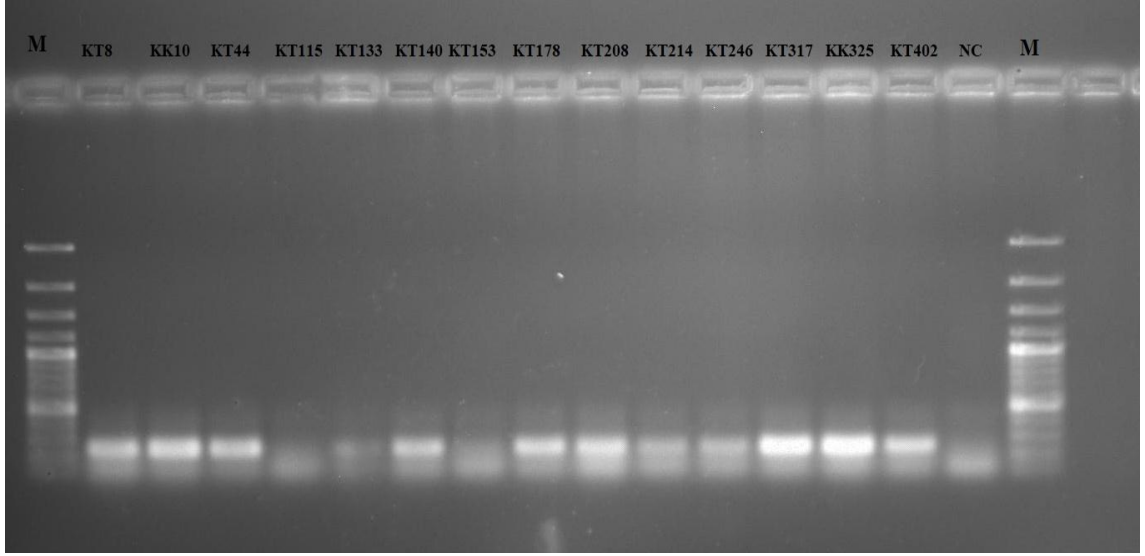


Şekil 4.5 Seyitler, Hatila, Camilli ve Posof bölgeleri ortalama Nosema sporu sayılarının karşılaştırılması

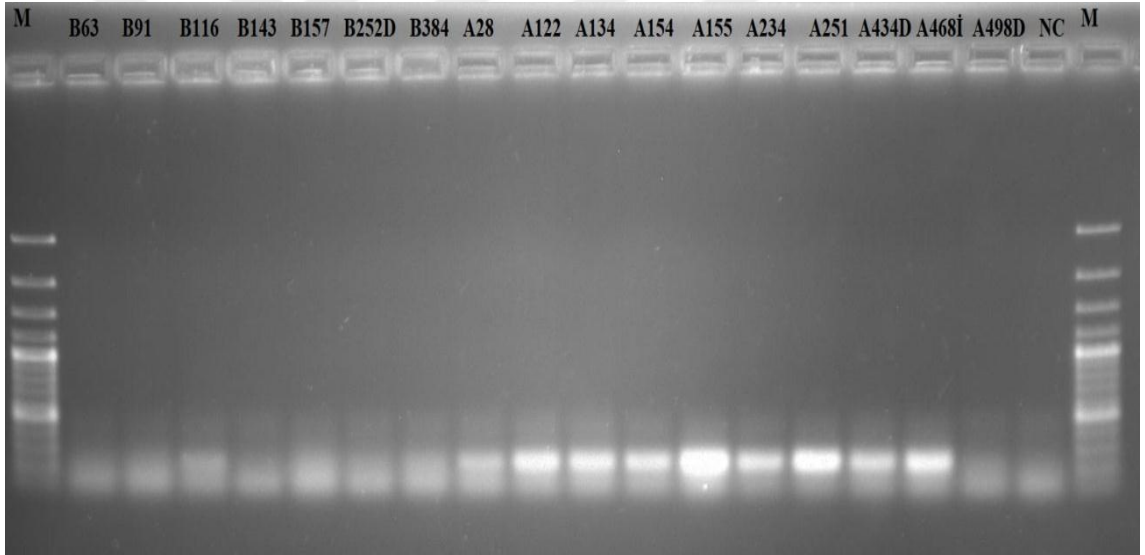
Çizelge 4.2 ve şekil 4.5 incelendiğinde Hatila enfeksiyonun en yoğun olarak görüldüğü bölgedir. Seyitler ise örnek alınan tüm kovanların enfekte olmasına rağmen ortalama Nosema spor sayısının en düşük olduğu bölge olarak belirlenmiştir.

4.2 Ankara İli Koruma Arılıkları Enfeksiyon Durumları-2019

Ankara ili Kırkırca 50 kovan, Akçakese 25 kovan ve Başağaç 25 kovan olmak üzere 100 kovandan alınan örneklerde tüm kovanların enfekte olduğu tespit edilmiştir. Öncelikle ışık mikroskobunda analizler yapılmıştır. Spor sayısı açısından pozitif ve yüksek spor sayısına sahip kovanlar seçilerek DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonrası moleküler tür teşhisi amacıyla multipleks PCR sonucu agaroz jel ile bant profilleri incelenmiştir. Ankara ilinden örnek alınan tüm kovanlarda *Nosema ceranae*'ye özgü DNA bantı görülmüştür (Şekil 4.6-4.7). Moleküler analizler sonucu incelenen kovanların hiç birinde *N. apis* karakterize eden DNA bant profillerine rastlanmamıştır.



Şekil 4.6 Ankara ili Kırkica bölgesi *Nosema ceranae*'nin türüne özgü DNA bantları

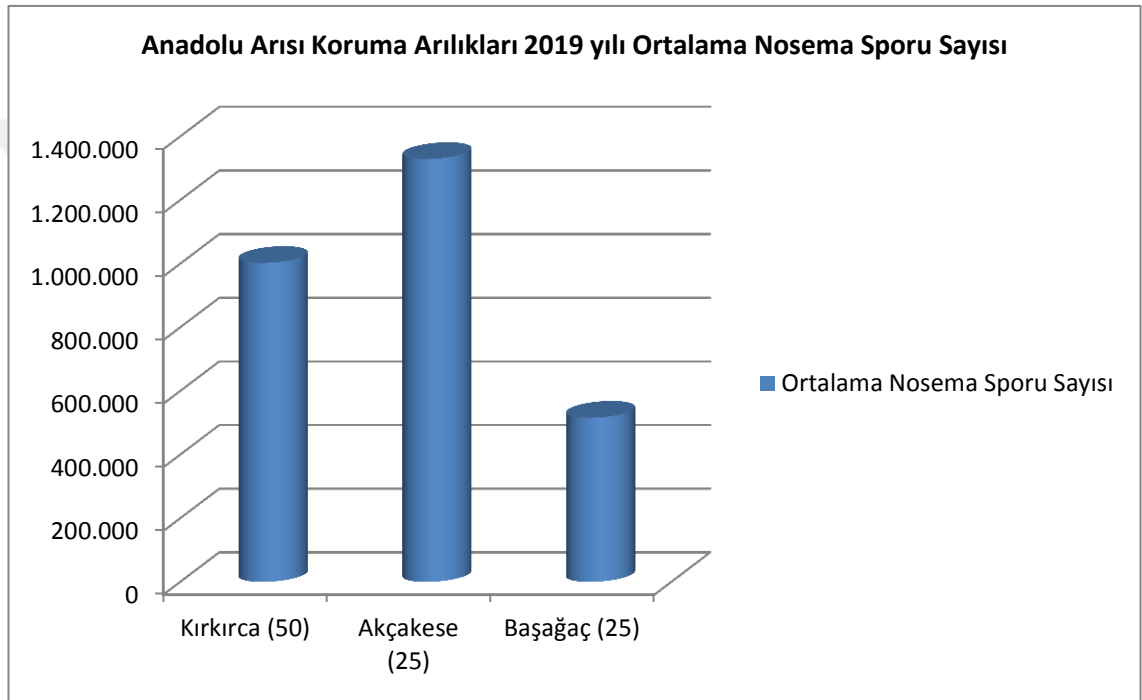


Şekil 4.7 Ankara Başağaç ve Akçakese bölgelerinde *Nosema ceranae*'nin türüne özgü DNA bantları

3 ayrı bölgeden alınan örneklerden hesaplanan ortalama *Nosema* spor sayısı aşağıdaki çizelge 4.3 ve şekil 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 Ankara ili Kırkırca, Akçakese ve Başağaç bölgeleri ortalama Nosema sporu sayısı

Arılık/Kovan Sayısı	Ortalama Nosema Sporu Sayısı
Kırkırca (50)	1.002.500
Akçakese (25)	1.329.000
Başağaç (25)	516.000



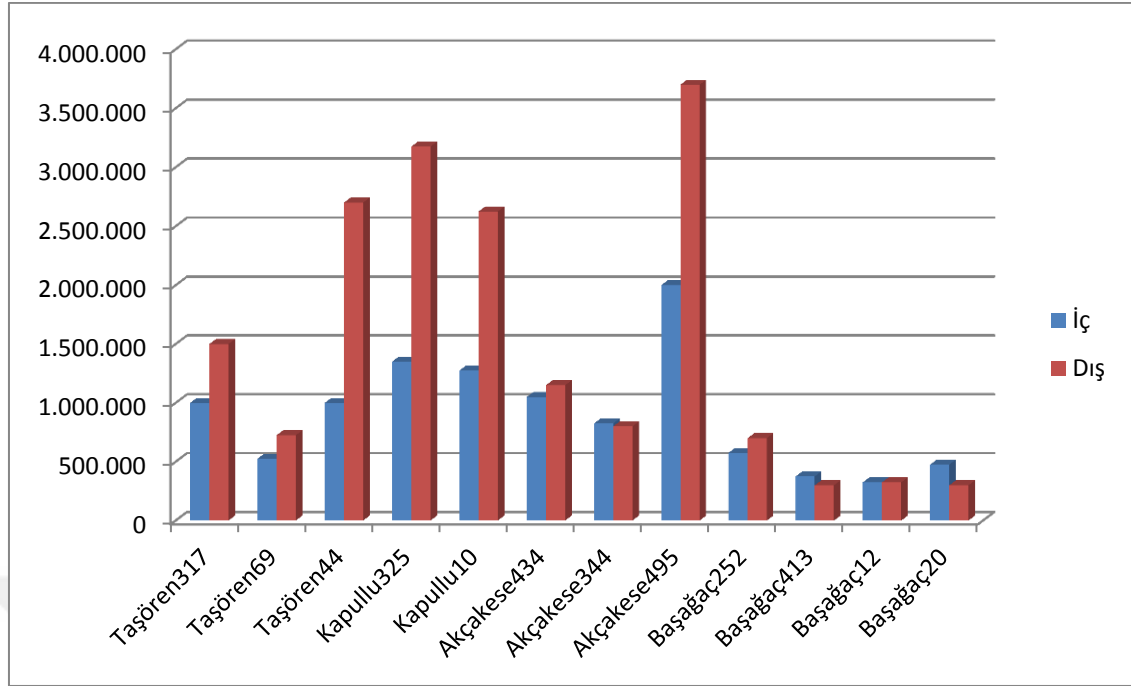
Şekil 4.8 Ankara ili Kırkırca, Akçakese ve Başağaç bölgeleri ortalama Nosema sporu sayılarının karşılaştırılması

2019 yılında Ankara Koruma arılıklarından toplamda 100 adet kovan incelenmiştir. Her bir kovandan 30 balarısı örneği değerlendirmeye alınmıştır. Kırkırca bölgesinden 50 adet kovan, Akçakese ve Başağaç bölgelerinden 25'er kovan incelenmiştir. En yüksek spor sayısı Akçakese'den örnek alınan kovanlardan elde edilirken, en düşük spor sayısı Başağaç'ta tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.8).

4.3 Ankara Koruma Aralıklarında Kovan İçi/Kovan Dışı Toplanan Örneklerin Nosema Spor Sayısı Açısından Karşılaştırılması

Çizelge 4.4 Kovan içi ve kovan dışından toplanan örneklerin ortalama Nosema sporu sayısı

Lokasyon/Kovan Numarası	Ortalama Nosema Spor Sayısı	
	İç	Dış
Taşören317	1.000.000	1.500.000
Taşören69	525.000	725.000
Taşören44	1.000.000	2.700.000
Kapullu325	1.350.000	3.175.000
Kapullu10	1.275.000	2.625.000
Akçakese434	1.050.000	1.150.000
Akçakese344	825.000	800.000
Akçakese495	2.000.000	3.700.000
Baş ağaç252	575.000	700.000
Baş ağaç413	375.000	300.000
Baş ağaç12	325.000	325.000
Baş ağaç20	475.000	300.000



Şekil 4.9 Kovan içi ve kovan dışından toplanan örneklerin ortalama Nosema sporu sayılarının karşılaştırılması

Balarısı örneklerinin nereden toplanması gerektiğini belirlemek amacıyla Ankara ilinde koruma aralıklarından yukarıda belirtilen bölgelerdeki bazı kovanlardan numuneler, kovan içi ve kovan dışı olmak üzere 2 farklı şekilde toplanmıştır. Elde edilen spor sayıları ve arasında ki farklar şekil 4.9'da gösterilmektedir.

Yapılan ikili istatistiksel karşılaştırmada her iki farklı yerden toplanan (Kovan içi/Kovan dışı) arılar arasındaki Nosema spor sayısı anlamlı bir şekilde farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

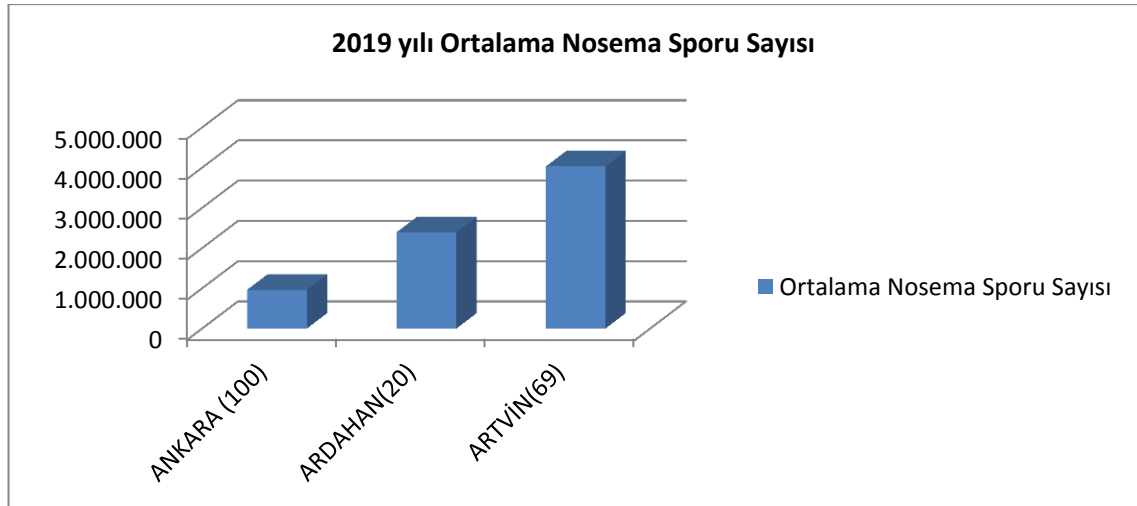
8 kolonide (Taşören 317-69-44, Kapullu 325-10, Akçakese 434-495, Başağaç 252) dışarıdan örneklemelerde Nosema sayısı daha yüksek, 3 kolonide (Akçakese 344, Başağaç 413-20) daha düşükken 1 kolonide (Başağaç 212) spor sayısı açısından bir fark bulunmamıştır. Özellikle 8 koloninin 5 tanesinde dış taraftan toplanan balarısı örneklerindeki Nosema sayısı iç taraftan toplanan örneklere göre çok daha fazla spor sayısına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.9).

4.4 Ankara, Artvin ve Ardahan İllerinde 2019 yılı Nosema Spor Sayılarının Coğrafi ve Mevsimsel Şartlara göre Karşılaştırılması

Ankara, Artvin ve Ardahan illerinden elde edilen ortalama Nosema spor sayıları çizelge 4.5 ve şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.5 Ankara, Artvin ve Ardahan illerinin coğrafi ve mevsimsel şartlara göre ortalama Nosema sporu sayısı

Arılık	Ortalama Nosema Spor Sayısı
Kırkırca (50)	1.002.500
Akçakese (25)	1.329.000
Başagaç (25)	516.000
ANKARA	962.500
Seyitler (20)	1.272.500
Hatila (24)	5.464.583
Camili (25)	4.860.000
ARTVİN	4.030.435
Posof (20)	2.395.000
ARDAHAN	2.395.000



Şekil 4.10 Ankara, Artvin ve Ardahan illerindeki ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırılması

Çizelge 4.5 ile şekil 4.10 incelendiğinde yılın aynı dönemlerinde örnek alınan 3 farklı ilin (Ankara, Artvin ve Ardahan) spor sayıları açısından önemli bir fark sergilediği gözükmemektedir. Artvin'den elde edilen spor sayıları Ankara iline göre 4,18 kat, Ardahan iline göre 1,68 kat daha fazladır.

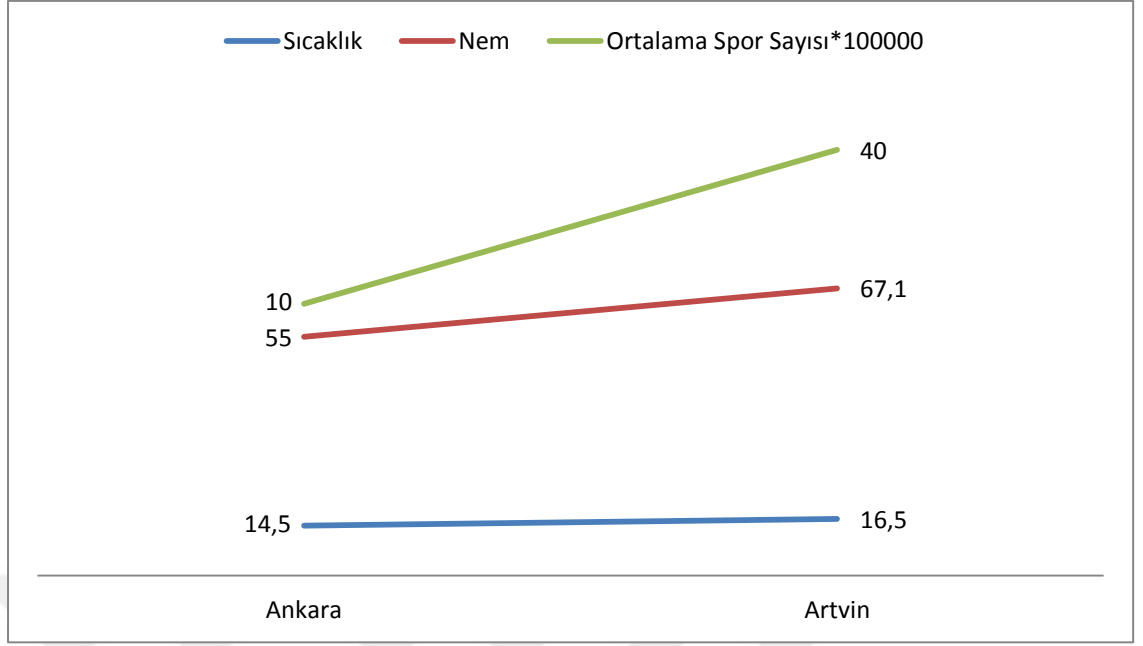
4.4.1 Sıcaklık ve nem koşullarına göre karşılaştırma

Çizelge 4.6 Artvin ili örneklerini toplamadan önceki 5 günlük sıcaklık ve nem oranları

ARTVİN						
Tarih	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	En Düşük	En Yüksek	Ort	En Düşük	En Yüksek	Ort
10.04.2019	12	20	16	46	88	67
11.04.2019	11	22	16,5	41	88	64,5
12.04.2019	12	19	15,5	52	88	70
13.04.2019	11	22	16,5	38	94	66
14.04.2019	11	25	18	42	94	68
10.04.2019-14.04.2019	-		16,5	-		67,1

Çizelge 4.7 Ankara ili örneklerini toplamadan önceki 5 günlük sıcaklık ve nem oranları

ANKARA						
Tarih	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	En Düşük	En Yüksek	Ort	En Düşük	En Yüksek	Ort
29.04.2019	6	24	15	27	87	57
30.04.2019	10	25	17,5	19	76	47,5
01.05.2019	9	23	16	17	67	42
02.05.2019	9	16	12,5	94	39	66,5
03.05.2019	6	17	11,5	87	37	62
29.04.2019-03.05.2019	-		14,5	-		55



Şekil 4.11 Ankara ve Artvin ilinde sıcak, nem ve ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırması

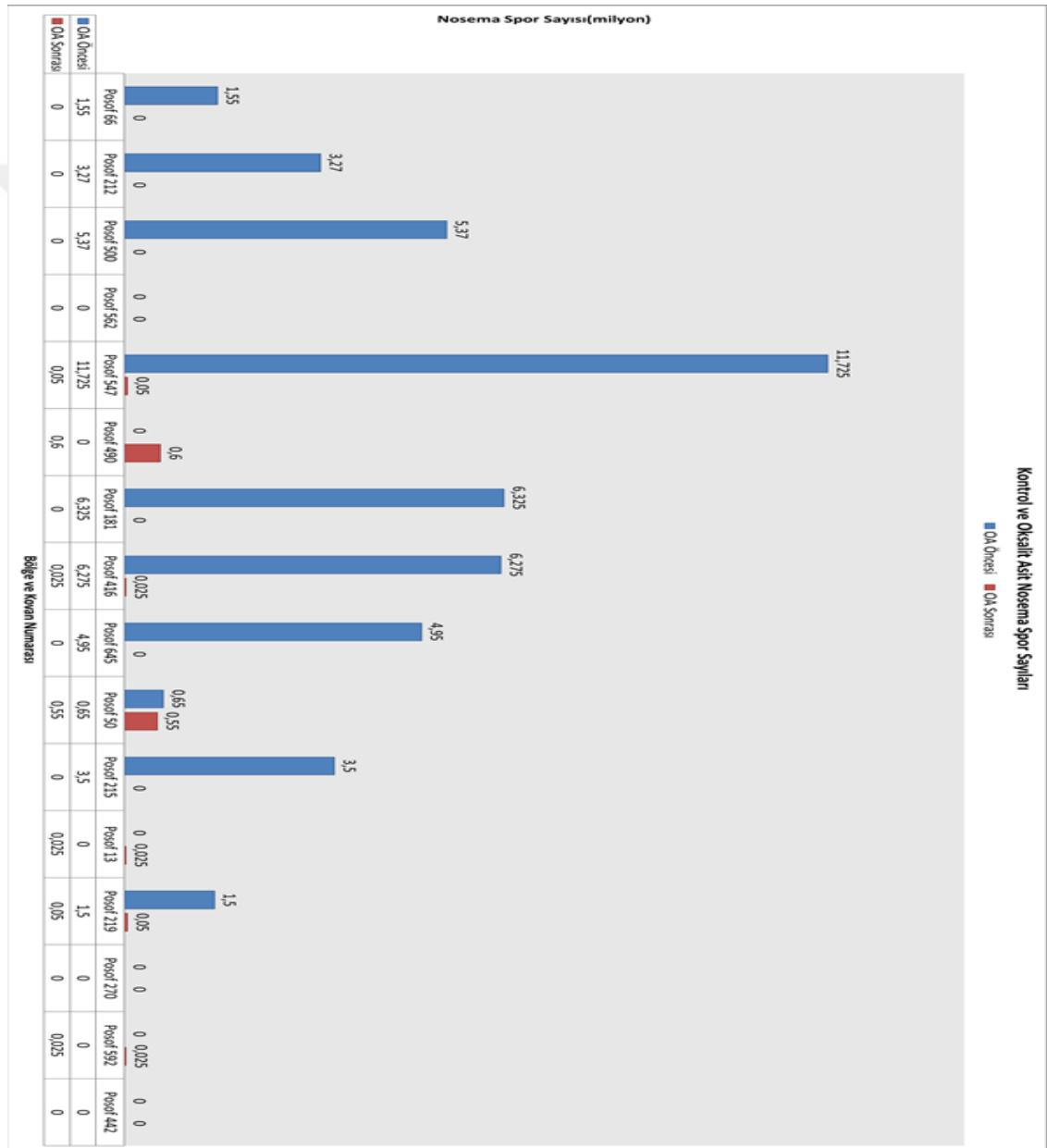
Ankara ve Artvin illeri için örneklerin toplandığı günden 5 gün öncesine ait sıcaklık ve nem verileri elde edilmiştir (Çizelge 4.6-4.7). İki il arasındaki sıcaklık ve nem oranında ki değişim ile Nosema spor sayısındaki değişim Şekil 4.11' de aynı grafik üzerinde gösterilmiştir. Şekil 4.11 incelendiğinde Ankara ve Artvin illerindeki sıcaklık ve nem oranındaki artış ile Nosema spor sayılarında doğrusal oranda bir artış gözlemlenmiştir. Bu nedenle artış çizgilerini aynı grafikte ifade etmek amacıyla spor sayıları 100000 ile bölünerek oranları ile ifade edilmiştir. Sıcaklık santigrat, nem ise yüzde olarak ifade edilmektedir (Şekil 4.11).

4.5 Okzalik Asit Muamelesi Yapılan Kovanların Nosema Enfeksiyon Durumları

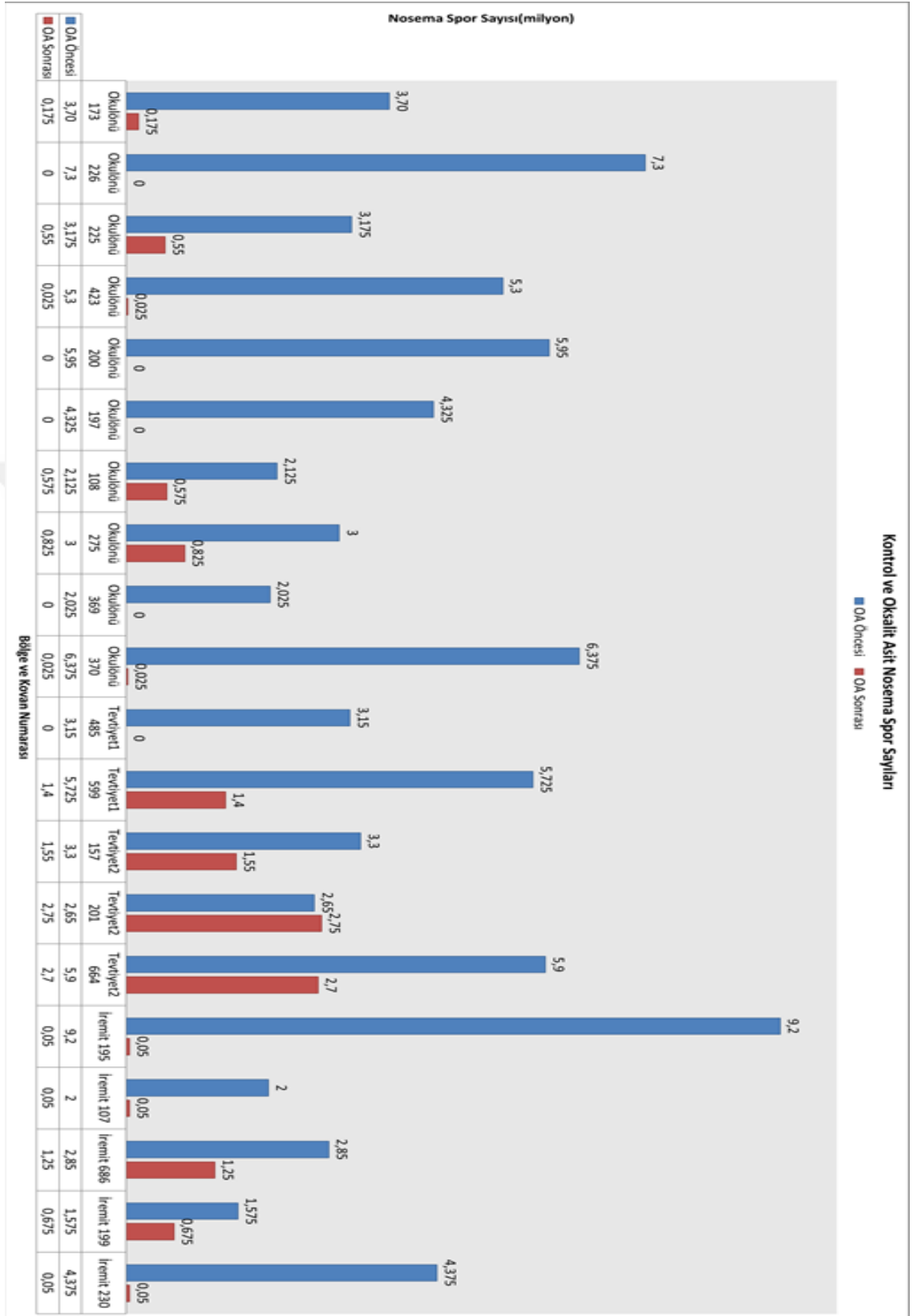
Artvin ve Ardahan illerinden seçilen 3 farklı bölgede koruma aralıklarında ilk olarak Nisan ayında herhangi bir muamele yapılmamış kovanlardan gelen örnekler Nosema spor sayısı açısından çizelge 4.2'de belirlenmiştir. Ardından aynı yılın Eylül ayında belirlenen bazı kovanlara Okzalik asit muamelesi yapılmış ve kovanlar tekrar spor sayısı açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı 3 bölgenin tamamında Okzalik asit muamelesi sonrası ortalama Nosema sporu sayısı anlamlı biçimde düşük bulunmuştur. (Şekil 4.12-4.13-4.14).

4.5.1 Ardahan ili Posof bölgesi ve Artvin ili Camili, Hatıla bölgeleri okzalik asit muamelesi sonrası spor sayıları

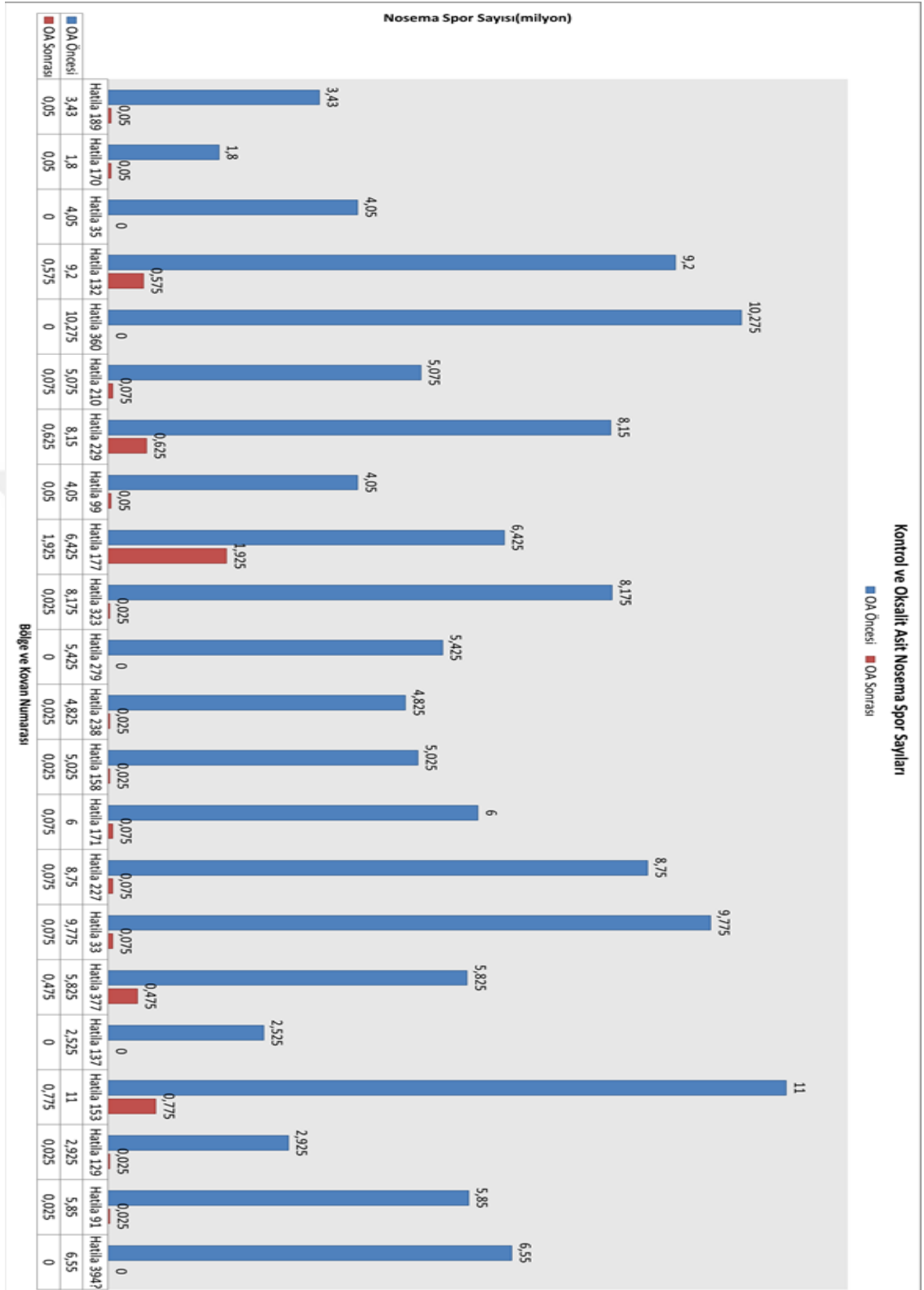
Okzalik asit uygulama öncesi ve sonrası yapılan örneklemeler üzerinde nosema spor sayıları araştırılmış ve okzalik asit uygulama sonrasında nosema sayıları düşme eğilimi göstermiştir. Ankara, Artvin ve Posofta elde edilen sonuçlar aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.



Şekil 4.12 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması



Şekil 4.13 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması



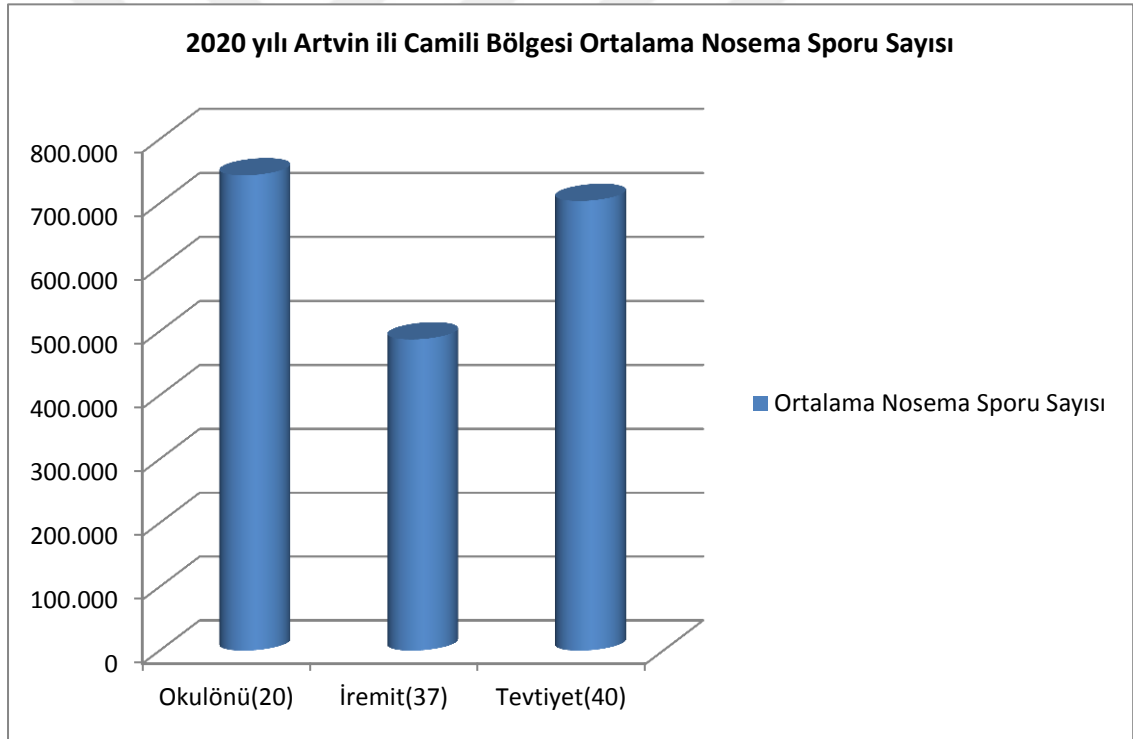
Şekil 4.14 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

4.6 Artvin İli Camili Bölgesi Koruma Aralıkları Enfeksiyon Durumları-2020

Camili’de 3 ayrı bölgeden alınan örneklerde ortalama spor sayısı çizelge 4.8 ve şekil 4.15’te verilmiştir.

Çizelge 4.8 Artvin ili Camili bölgesi (Okulönü, İremit ve Tevtiyet) ortalama Nosema sporu sayısı

Aralık	Ortalama Nosema Spor Sayısı
Okulönü (20)	743.750
İremit (37)	487.500
Tevtiyet (40)	703.750



Şekil 4.15 Artvin ili Camili bölgesi (Okulönü, İremit ve Tevtiyet) ortalama Nosema sporu sayısı karşılaştırılması

Çizelge 4.8 ile Şekil 4.15 incelendiğinde 2020 yılında, Okulönünde 20 kovanda 743.750, İremit 37 kovanda 487.500, Tevtiyet bölgesinde 40 kovanda 703.750 ortalama Nosema sporu sayısı bulunmuştur.

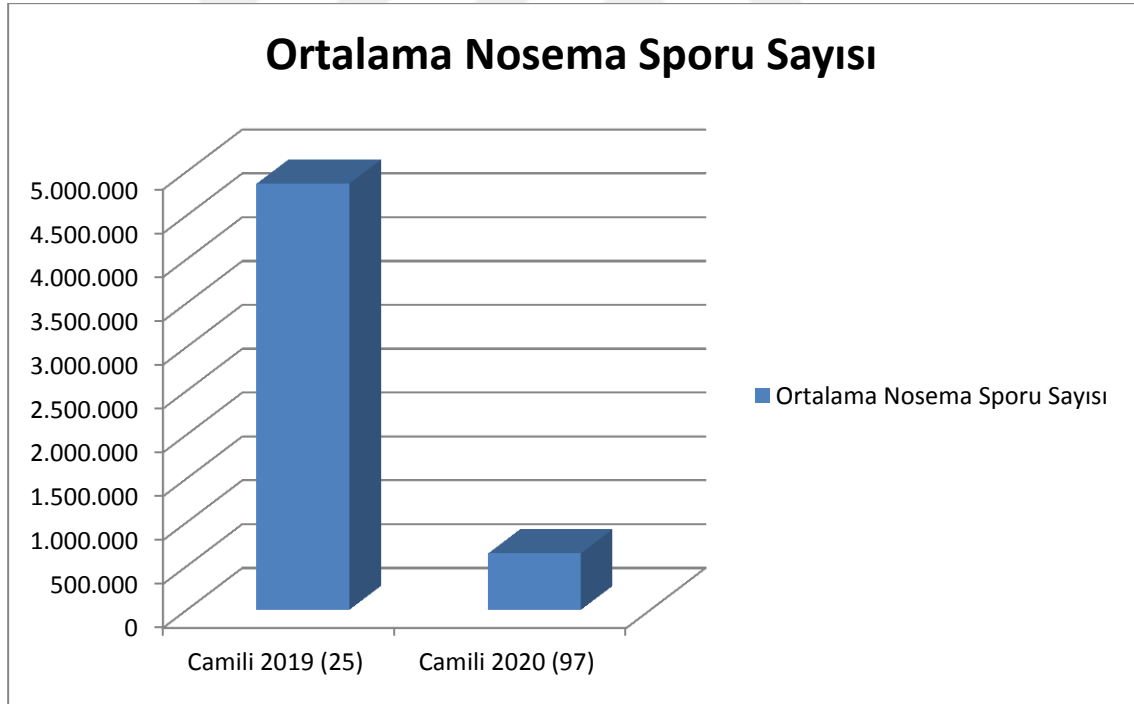
En az spor sayısına İremit bölgesi sahipken, en yüksek spor sayısı Tevtiyet bölgesinde olduğu tespit edilmiştir.

4.7 Artvin İli Camili Bölgesi 2019 ve 2020 Yılı Ortalama Nosema Spor Sayılarının Karşılaştırılması

Artvin ili Camili bölgesi 2019 ve 2020 yılına ait Nosema spor sayıları çizelge 4.9 ve şekil 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Artvin ili Camili Bölgesi 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı

Arılık	Ortalama Nosema Spor Sayısı
Camili 2019 (25)	4.860.000
Camili 2020 (97)	645.000



Şekil 4.16 Artvin ili Camili bölgesi 2019 ve 2020 yılları ortalama Nosema sporu sayısı

Camili bölgesinde 2019 yılında toplamda 25 kovandaki ortalama Nosema spor sayısı 4.860.000 olarak tespit edilmiştir. 2020 yılında ise Camili bölgesinde 97 kovanda

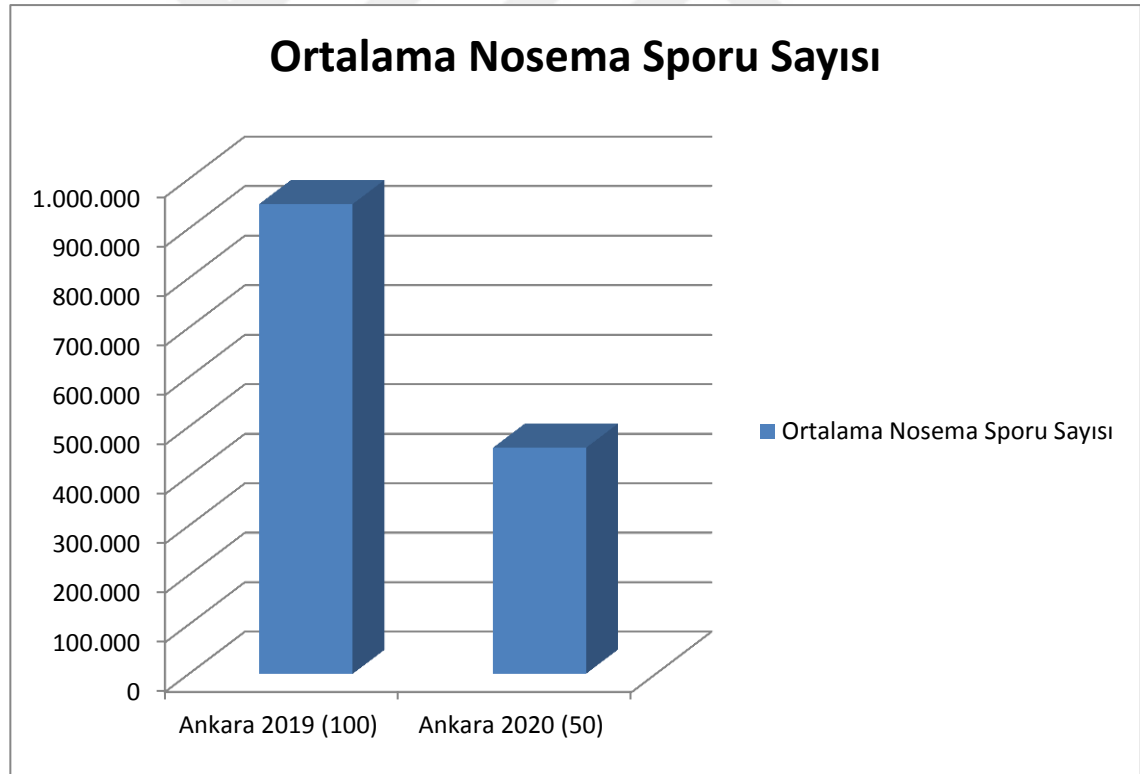
ortalama Nosema spor sayısı 645.000 olarak bulunmuştur. Aynı bölgedeki aralıklar arasında belirgin olarak % 87’lik azalış görülmüştür (Çizelge 4.9, Şekil 4.16).

4.8 Ankara İli 2019 ve 2020 Yılı Ortalama Nosema Spor Sayılarının Karşılaştırılması

Ankara ili 2019 ve 2020 yılına ait Nosema spor sayıları çizelge 4.10 ve şekil 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Ankara ili 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı

Aralık	Ortalama Nosema Spor Sayısı
Ankara 2019 (100)	949.167
Ankara 2020 (50)	457.000



Şekil 4.17 Ankara ili 2019 ve 2020 yılı ortalama Nosema sporu sayısı

2019 yılında Ankara’da toplam 100 kovanda ortalama spor sayısı 949.167 hesaplanmıştır. 2020 yılında ise toplamda 50 kovanda ortalama spor sayısı 457.000

hesaplanmıştır. 2019 yılından 2020 yılına % 52 oranında belirgin bir azalış kayıt edilmiştir.

4.9 SPSS Programı ile Yapılan Bağımlı T Testi Sonuçları

4.9.1 Ankara koruma aralıklarında kovan içi/kovan dışı toplanan örneklerin nosema spor sayısı açısından karşılaştırılması

2019 yılı Ankara ili koruma aralıklarından seçilen kovanlardan balarısı örnekleri, kovan içi ve kovan dışı olarak toplanmıştır. Yapılan “Paired Sample T-Test” ile ikili istatistiksel karşılaştırmada çizelge 4.11’de belirtilen test sonucunda Nosema spor sayıları arasında anlamlı bir şekilde fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.11 Kovan içi ve kovan dışı verilerinin karşılaştırılması

	Ortalama	Std. Sapma	Ortalamanın standart hatası	95% Güven Aralığı		t	Serbestlik derecesi (df)	Anlamlılık düzeyi (p) iki yönlü
				En Düşük	En Yüksek			
Kovan İçi - Kovan Dışı	-602083,333000	794044,475000	229220,896000	-1106595,123000	-97571,543000	-2,627	11	0,024

4.9.2 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

2019 yılında Nisan ayında ve okzalik asit muamelesi sonrası Eylül ayında Ardahan ili Posof bölgesi koruma aralıklarından seçilen kovanlardan numuneler toplanmıştır. Yapılan “Paired Sample T-Test” ile ikili istatistiksel karşılaştırmada çizelge 4.12’de belirtilen test sonucunda Nosema spor sayıları arasında anlamlı bir şekilde fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.12 Ardahan ili Posof bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

	Ortalama	Std. Sapma	Ortalamanın standart hatası	95% Güven Aralığı		t	Serbestlik derecesi (df)	Anlamlılık düzeyi (p) iki yönlü
				En Düşük	En Yüksek			
OA Öncesi - OA Sonrası	2,736875	3,432050	0,858013	0,908064	4,565686	3,190	15	0,006

4.9.3 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

2019 yılında Nisan ayında ve okzalik asit muamelesi sonrası Eylül ayında Artvin ili Hatila bölgesi koruma aralıklarından seçilen kovalardan numuneler toplanmıştır. Yapılan “Paired Sample T-Test” ile ikili istatistiksel karşılaştırmada çizelge 4.13’te belirtilen test sonucunda Nosema spor sayıları arasında anlamlı bir şekilde fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.13 Artvin ili Hatila bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

	Ortalama	Std. Sapma	Ortalamanın standart hatası	95% Güven Aralığı		t	Serbestlik derecesi (df)	Anlamlılık düzeyi (p) iki yönlü
				En Düşük	En Yüksek			
OA Öncesi - OA Sonrası	5,916136	2,505734	0,534224	4,805156	7,027117	11,074	21	0,000

4.9.4 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

2019 yılında Nisan ayında ve okzalik asit muamelesi sonrası Eylül ayında Artvin ili Camili bölgesi koruma aralıklarından seçilen kovalardan numuneler toplanmıştır. Yapılan “Paired Sample T-Test” ile ikili istatistiksel karşılaştırmada çizelge 4.14’te belirtilen test sonucunda Nosema spor sayıları arasında anlamlı bir şekilde fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.14 Artvin ili Camili bölgesinde okzalik asit muamelesi öncesi ve sonrasında kovanların spor sayısı bakımından karşılaştırılması

	Ortalama	Std. Sapma	Ortalamanın standart hatası	95% Güven Aralığı		t	Serbestlik derecesi (df)	Anlamlılık düzeyi (p) iki yönlü
				En Düşük	En Yüksek			
OA Öncesi - OA Sonrası	3,518750	2,324128	0,519691	2,431025	4,606475	6,771	19	0,000

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya literatüründeki çalışmalar incelendiğinde iklimsel faktörlerin (sıcaklık ve nem gibi) Nosema enfeksiyonlarında etkili olduğu belirtilmiştir (Aydın vd. 2005, Martín-Hernández vd. 2009, Fries 2010). *N. ceranae* enfeksiyonu ilkbahar döneminde yüksek, sonbahar ve kış döneminde ise düşük düzeyde seyrettiği belirtilmiştir (Brenna vd. 2012). Almanyada (2010) yapılan bir araştırmada *N. ceranae* enfeksiyonunun mevsimsel farklılıkları araştırılmış ve bahar ve yaz ayları dikkate alındığında en fazla oranda seyreden enfeksiyonun, kış aylarında düşük seviyelerde olduğu bildirilmiştir. Virjinya'da 2011 yılında yapılan başka bir çalışmadan elde edilen sonuçlarda buna paralel şekilde mevsime bağlı olarak spor sayısındaki düşüşü destekler bulgular sunmaktadır (Gisder vd. 2010, Traver ve Fell 2011). *N. ceranae*'nin *N. apis*'e göre sıcaklık artışına uyum gösterdiği belirtilen çalışmada *N. ceranae*'nin endojen döngüsünü farklı sıcaklıklarda tamamlamaya daha iyi adapte olduğu belirtilerek tüm sezonlarda yayılım gösterebileceği belirtilmiştir (Martin-Hernández vd. 2009). Ayrıca bu durum iklim değişikliğiyle birlikte *N. apis* yerine *N. ceranae* yaygınlaşmasını destekler niteliktedir (Hernández vd. 2009, Brenna vd. 2012).

İklim değişikliğinin balarısı popülasyonları ve hastalıkları üzerine olan etkisinin araştırıldığı kapsamlı bir çalışmada *N. apis* ve *N. ceranae*'nin değişen virülansa sahip haplotipler oldukları ve iklim değişikliğiyle birlikte sıcaklık artışının bu sporların arılara transferini teşvik ederek arttırdığını açıkça belirtmiştir (Le Conte ve Navajas 2008).

Fries (2010) mevsimsel etkilerin bölgesel olarak uzun süreli ve takibi yapılarak çalışması gerektiğini vurgulasa da Brenna vd. (2012) bir sezon boyunca yapılan mevsimsel ölçekli çalışmaların yeterli olabileceğini ileri sürmektedir. Ancak özellikle arıcılık faaliyetleri yürüten işletmeler açısından enfeksiyon durumlarının kontrolü ve takibinin yapılması gerektiğini 2019 ve 2020 yılı verileri karşılaştırmamız Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 incelendiğinde açıkça ortaya çıkmaktadır (Fries 2010, Brenna 2012). Brezilya'nın Piauí eyaletinin Picos mikro bölgesinde yapılan bir çalışmada araştırmacılar hastalığın takibinin enfeksiyon seviyeleri düşük bile olsa yapılmasının önemini aynı şekilde vurgulamışlardır (do Nascimento vd. 2022).

Higes vd. (2007) ve Fenoy vd. (2009) yapmış oldukları iki farklı çalışmada *N. ceranae*'nin *N. apis*'e kıyasla sıcaklık toleransının çok fazla olduğu dolayısıyla *Nosema* sporlarının da diğer türe oranla daha dayanıklı olduğunu rapor etmişlerdir. Literatürde sıcaklık ve *Nosema* ilişkisinin ortaya konduğu birçok çalışma incelendiğinde sıcaklık artışı ile birlikte nem ve iklim koşullarının sinerjik bir etki yaratarak özellikle *N. ceranae* sporlarının artışına sebebiyet verdiği açıkça görülmektedir (Aydın vd. 2005, Huang vd. 2007, Martin-Hernandez vd. 2009, Campbell vd. 2010, Huang 2011, Tosun 2012, Büyük 2016, Ilgın 2020). Yağış ile nem faktörleri, *Nosema* enfeksiyonunda sıcaklığa göre daha etken sebeplerdir. Artan yağışlar ile birlikte nemin etkinliği artmaktadır. Bu iki faktör etkileşim halindedir (Aydın vd. 2005).

Tosun (2012) yapmış olduğu çalışmada düşük sıcaklıkta fakat yüksek nem oranına sahip veriler kaydedilmiştir ve Doğu Karadeniz bölgesinde *Nosema* enfeksiyonun yüksek oranlarda tespit edildiği gösterilmiştir. Nem %72, Sıcaklık 15,4°C olarak ölçülen koşullarda enfeksiyon oranı % 80 seviyelerindeyken, nem %13, sıcaklık 36°C oranında olduğu koşullardaysa bu oran %2 olarak kayıt altına alınmıştır. Bu durum *Nosema* spor sayısında nemin sıcaklıktan daha etkili olabileceğini düşündürmektedir (Tosun 2012).

İklim koşullarının özellikle sıcaklık ve nem bakımından *Nosema* spor sayısında artışa sebebiyet verdiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur. Tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz verilere göre Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere her iki ilin aynı dönemlerinde aynı steril şartlar altında bakımı yapılan koruma arılıklarında bu denli spor sayısı farkı, sıcaklık ve nemin sinerjik bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir. Ancak sonuçlar her ne kadar literatürdeki verilerle paralellik gösterse de spor sayısının bu denli etkilenmesinde sadece sıcaklık ve nem koşullarının etkin olduğunu söylemek yetersiz olacaktır. Spor sayısının artış azalış dinamiklerinin daha detaylı incelenerek her sezon kayıt altına alınarak değerlendirilmesinin hem işletmeleri ekonomik kayıplardan kurtarabileceği hem de ani koloni kayıplarının önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Bu tez kapsamında yaptığımız bir diğer çalışma ise doğru *Nosema* spor sayısının tespiti için arı örneklerinin nereden toplanması (kovan dışı ve kovan içi) gerektiğidir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde genellikle ısı, sıcaklık vb. ile kovanların genel

durumu gibi özellikler dikkate alınırken, örneklerin nasıl toplandığı ve bunun spor sayısı üzerinde bir fark yaratıp yaratmadığı yönünde çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çerçevede Ankara’da yapılan örnekleme çalışmasında belli kovanlarda hem kovan içinden hem de kovan önünden arı örnekleri toplanmıştır. Elde edilen *Nosema* spor sayıları Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Yapılan ikili istatistiksel karşılaştırmada her iki farklı yerden toplanan arılar arasındaki *Nosema* spor sayısı anlamlı bir şekilde farklı bulunmuştur ($P<0,05$). 8 kolonide dışarıdan alınan örneklemelerde *Nosema* sayısı daha yüksek, 3 kolonide daha düşük ve 1 kolonide ise fark gözlenmemiştir (Şekil 4.9).

Özellikle 8 koloninin 5 tanesinde, kovanın dış tarafından toplanan balarısı örneklerindeki *Nosema* spor sayısının kovan içinden toplanan örneklerle oranla çok daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonuç bize tarlacılık faaliyeti yapan arılarda *Nosema* yükünün neredeyse 2 katı kadar yüksek olduğunu göstermektedir. Genellikle örneklemenin kolaylığı açısından kovanın içinden örnek toplanması çok daha kolaydır. Ancak aradaki bu anlamlı farkın bilinmesi kolonilerdeki *Nosema* sporlarının daha doğru tespitine imkân sağlayacaktır. Bu araştırma kovanın içinden örnekleme yapılsa bile gerçek *Nosema* yoğunluğunu tespit edilmesinde kovan önünden örnek alınmasının göz ardı edilmemesi gereken bir durum olduğu göstermiştir.

Long vd. (2022) yaptığı bir çalışmada, *A. ceranae* işçi arıları, *N. ceranae* sporları ile yapay olarak aşılانmış ve laboratuvar koşullarında yetiştirilmiştir. Ardından mantar spor yükünün yanı sıra konakçı sakkaroz çözeltisi tüketimi, orta bağırsak epitel hücre yapısı incelenmiştir. *Nosema* sporlarının çoğalması ile sürekli olarak yükselen mantar sporlarının miktarının, işçiler için enerji stresine ve konakçı hücre yapısında hasara neden olduğunu ve bunun da konakçı ömrünü olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir. Araştırmacılar bulgularının, yalnızca *N. ceranae* enfeksiyonunun altında yatan moleküler mekanizmayı araştırmak için değil, aynı zamanda *N. ceranae* ve *A. ceranae* arasındaki etkileşimi araştırmak içinde sağlam bir temel sunmayı amaçlamışlardır (Long vd. 2022).

Moeini vd. (2022) tarafından İran'ın kuzeybatısındaki Urmie arılıklarında *Nosema* türlerini mikroskopik ve moleküler yöntemle teşhis ederek balarısı koloni kayıpları (Koloni Çöküş Bozukluğu) ile ilişkisini belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Urmie'nin beş farklı lokasyonunda 120 arılıkta bulunan 840 koloniden balarısı örnekleri toplanmıştır. Örnekler *Nosema* sporlarının varlığı açısından incelenip, DNA izolasyonundan sonra 16S rRNA geni multipleks PCR kullanılarak değerlendirilmiştir. Mikroskopik değerlendirmede toplam enfeksiyon prevalansı %32 iken PCR testinde ise %58,2 olarak belirlenmiştir. *Nosema* pozitif numuneler, PCR testi sonuçlarına göre tüm vakaların *N. ceranae* olduğunu doğrulamıştır. Bu çalışmada araştırmacılar incelenen balarısı kolonilerinde Koloni Çöküş Bozukluğu benzeri semptomların yaygınlığının %13,33 olduğunu göstermişlerdir. *N. ceranae*, Koloni Çöküş Bozukluğu benzeri belirtiler gösteren balarısı kolonilerinin %20,28'inde PCR ile tespit edilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçların Koloni Çöküş Bozukluğu ile *N. ceranae* varlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Moleküler verilere dayanarak, Urmie balarısı örneklerinden izole edilen sporların *N. ceranae* olduğunu doğrulanmıştır. Ayrıca *N. ceranae*'nin bu bölgede balarılarını etkileyen tek tür olduğu ve bu alanda Koloni Çöküş Bozukluğu'na sebep olarak kovanların azalmasında önemli rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır.

N. apis uzun süredir epizootiyolojisi iyi bilinen bir *Nosema* hastalık ajanıdır. Buna karşılık, *N. ceranae*, son yıllarda küresel anlamda yaygın ve baskın olarak balarılarının enfeksiyonuna sebep olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna rağmen *N. ceranae* hastalık etkileri ve süreçleri hala araştırılması gereken boşluklar içermektedir. Özellikle, *N. ceranae*'nin arılar arasındaki tüm bulaşma yolları veya bu parazitin balarısı kolonilerinde ne kadar süre hayatta kaldığı hala birçok araştırmacının konusudur. MacInnis vd. (2022) yaptıkları çalışmada 33°C, 20°C, -12°C ve -20°C olmak üzere 4 farklı sıcaklık koşulunda saklanan sporların canlılığını ve enfektivitesini karşılaştırmıştır. 6 haftalık deney boyunca -20°C'de yüksek canlılığını korudukları sonucuna varmışlardır. Dört farklı sıcaklık derecesinde bekletilen arılar incelendikten sonra sporlar için enfektivitenin değişken olduğunu, ancak hepsinin son aşamada enfektif olduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar elde ettiği sonuçlarla, sporun soğuğa tolerans gösterdiğini doğrulamışlardır. Ayrıca araştırmacılar arıların kışlama dönemleri

dikkate alındığında sporların beslenme sürecinde veya nektar toplama davranışı sırasında kovan yemlerine bulaşabileceğini ve böylece kış aylarında bile kolonilerde enfeksiyonların sürdürmesinin mümkün olduğunu vurgulamışlardır.

Sıcaklık, arıların vücudunda Nosemaya neden olan ajanların gelişimini etkileyen ana abiyotik faktörlerden biridir. Bu sebeple Odnosum ve Yefimenko (2022) tarafından yapılan çalışmada doğal enfeksiyonlu ve doğal koşullarda kışlayan *Nosema* ile enfekte olan arıların kışlık ve yazlık arı yuvası sıcaklıklarına bakılarak (sıcaklığının sırasıyla 20–22 °C ve 35–36 °C), *Nosema* türlerinin gelişme süresine etkisini belirlemek ve yaşam süresini izlemek amaçlanmıştır. Bunun için Kasım ayında arı kolonisinden seçilen 200 arı (*Apis mellifera sossimai*), *Nosema* türleri (arı başına 5×10⁴ spor) içeren şurupla beslenerek enfekte edilmiştir. Arıların yarısı 35-36 °C'de ve diğer yarısı 20-22 °C'de tutulmuştur. *Nosema* türlerinin gelişim aşamaları, Romanovsky-Giemsa'ya (büyütme 900x) göre boyanmış orta bağırsak yaymalarında 13 gün boyunca günlük olarak izlenmiştir. Ayrıca, 15 gün sıklıkta, Kasım ayından Şubat ortasına kadar, doğal koşullarda kışlayan 20 arı kolonisinden 30 arı seçilmiş ve doğal enfeksiyonda *Nosema* türlerinin gelişim aşamaları izlenmiştir. Sonuç olarak *Nosema* türlerinin yaşam döngüsü geliştirme süresinin sıcaklığa çok az bağlı olduğu, ancak yaz ve kış arı neslinin yaşam süresi ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir. Elde edilen verilere dayanarak araştırmacılar, arılar için *Nosema* enfeksiyonu için iyileşme yaklaşımları önermenin mümkün olduğunu vurgulamışlardır.

Nosemanın teşhis ve tedavisine yönelik çalışmalar her geçen gün artmakla beraber önem de kazanmaktadır. Nosema hastalığı karakteristik hastalık belirtilerine sahip olmadığı için teşhisi nispeten diğer arı hastalıklarına göre daha zordur. Belirtiler diğer hastalık belirtileri ile karıştırılmakta hatta ayırt edilmekte zorlanılmaktadır. Bu sebeplerden dolayı Kim ve Lee (2022) Nosemanın hızlı ve doğru teşhisi için yeni bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemle üç farklı monoklondan, üç monoklonal antikor (mAb) geliştirilmişlerdir. Çalışmada bu yöntemle, Nosemanın erken teşhisine ve tedavisine yardımcı olabileceği, arıların maddi kayıplarını azaltabileceği, insanlar için toksik ilaçların kullanımını ve kovan çökmesini önleyebileceği vurgulanmıştır.

Şimşek ve Ayan (2022) Bingöl ili kapsamındaki arı işletmelerinden örnekler toplanarak, il genelinde Nosema enfeksiyon durumu belirlenmeye çalışmıştır. Araştırmacılar merkez ve çevre olmak üzere toplan 123 arı işletmesini incelenmiş ve toplamda 1245 arı örneği değerlendirmiştir. Ancak çalışma sadece labaratuvar incelemesi yapılarak gerçekleştirilmiş ve çalışmada ileri moleküler analizler uygulanmamıştır. Toplamda 26 işletmede Nosema yönünden pozitiflik belirlenmiş olup, örneklerin 98'inde Nosema hastalığı tespit edilmiştir. Hastalık oranı en yüksek merkez ilçedeki işletmelerde %24,52 olarak görülürken en düşük ise Karlıova ilçesindeki işletmelerde %13,33 olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsam olarak son derece önemli ve il bazında Nosema durumunu göstermektedir. Ancak ileri moleküler analizler yapılarak hastalık etmeni tespit edildikten sonra ileriye dönük alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine imkân verilebilecektir.

Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada okzalik asitin *Varroa* üzerindeki etkisi karşılaştırmalı olarak değerlendirilirken, Nosema açısından kovanların durumları da incelenmiştir. Okzalik asitle muamele edilen grupta ölü arı sayısında önemli bir artış gözlenmemekle birlikte koloninin sağlığı açısından okzalik asitin hiçbir olumsuz etkisi gözlenmemiştir. Dolayısıyla *Nosema* ile enfekte olduğu bilinen kovanlarda tedavi etmek ve enfeksiyon düzeyini azaltmak için okzalik asitin güvenli bir şekilde uygulanabileceği fikrini destekler nitetikle veriler sunulmuştur (Papežíková vd. 2016).

Bir grup araştırmacı *N. ceranae* hastalığını tedavi etmek amacıyla arılara şeker şurubu şeklinde okzalik asit solüsyonu vermişler ve etkisini hem saha hem de laboratuvar çalışmaları ile incelemişlerdir. Okzalik asit uygulamasının spor sayılarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlenmiştir (Tedavi edilen: $11.86 \pm 0.94 \text{ s.e.} \times 10^6$; Tedavi edilmeyen: $30.64 \pm 0.31 \text{ s.e.} \times 10^6$). Gezici arı kolonilere sonbaharda 3 hafta arayla iki kez okzalik asit uygulamasının enfeksiyon prevalansını genç ve yaşlı arılarda azalttığı görülmüştür. Okzalik asit uygulanan arı kolonilerinin kışı, uygulanmayan kolonilere kıyasla daha kolay geçirdiği, ve uygulama yapılmayan kolonilerde 3/5 oranında arı ölümü bildirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda Nosema enfeksiyonunu kontrol etmek için çeşitli ülkelerde onaylanmış ticari ürünlerin bulunamaması durumunda ve diğer kimyasallara kıyasla maliyet düşüklüğü ve güvenilirlik açısından okzalik asit

solüsyonunun, alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde umut sağlayacağı düşünülmektedir (Nanetti vd. 2015).

Nosema hastalığının tedavi edilmesi için uygulanan çeşitli antibiyotikler mevcuttur. Ancak antibiyotiklerin enfeksiyonu azaltmak, hastalıktan etkilenen arı sağ kalımlarını arttırmak gibi avantajları olsa da okzalik asite kıyasla yüksek maliyetli olmaları, *Nosema* spor sayılarındaki azalma gösterdiğine dair yeterli çalışmaların olmaması, bir arı ürünü olan balda kimyasal kalıntılar oluşturma riski ve antibiyotiklerin uzun süre kullanımlarının arı kolonisi ve gelecek nesiller üzerindeki etkilerinin bilinmemesi büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bu sebeple Chitosan ve Peptidoglycan gibi doğal bileşikler kullanılarak tedavi etkinliği araştırılmıştır. Ancak Chitosan bileşiğinin arıların hafıza problemi yaşamasına sebep olduğu rapor edilmiştir. Dolayısıyla okzalik asitin diğer kimyasallara karşı Nosemanın tedavisinde daha güvenli bir şekilde kullanılabileceği düşünülmekte ve ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir (Kasiotis vd. 2019, Valizadeh vd. 2020).

Wu vd. (2022) *A. cerana* ve *A. mellifera* arasındaki parazit yük farkını doğal koşullarda ilk kez incelemişlerdir ve yerli konakta (Asya balarısı) spor sayısının yeni konakçıya (Avrupa balarısı) kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğunu gösteren bir rapor sunmuşlardır. Ayrıca geliştirdikleri yeni bir tedavi yöntemi ile, yerli konakçının mikroplarının, yeni konakçıdaki paraziti tedavi etmek için alternatif bir yaklaşım geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Fumagillin, Nosema enfeksiyonunu kontrol etmek için etkili bir antibiyotik tedavisidir, ancak toksisitesi nedeniyle şu anda birçok ülkede yasaklanmıştır. Buna bağlı olarak arıcılık sektöründe balarısı kolonilerinde Nosemanın önlenmesi ve tedavi amaçlı kullanılabilecek alternatif ekolojik yöntemlere yönelik güçlü bir talep bulunmaktadır. Çok sayıda çalışma, bitki özlerinin, RNA interferansının (RNAi) ve probiyotiklerin antibiyotik olmayan uygun alternatifler sağlayabileceğini göstermiştir. Lorizzo vd. (2022) çeşitli bitkiler kullanılarak birçok ekstrakt elde edilmiştir. Fenolik, aqlatik, organik ve metonik olan çeşitli ekstratların, Nosemayı azaltarak ya da gelişimini engelleyerek enfeksiyon oluşumuna engel olduğu gösterilmiştir. Bu bağlamda Şekil

4.12-4.13-4.14 incelendiğinde, organik bir asit olan okzalik asitin enfeksiyonu azaltmada etkili olması yeni tedavi stratejilerinde uygulanabileceğini düşündürmektedir. Ancak sistematik uygulama için bu tekniklerin güvenilir ve etkili araçlar haline gelmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Arı hastalıklarında yaygın olarak kullanılan bazı antibiyotikler fumagillin vb. kullanımı bazı ülkelerde yasaklanmıştır. Bu sebeple birçok farklı bitki özü, antinosemosis özellikler sergilemesiyle kullanım avantajı sağlasada etkinliklerinin düşük olması alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini gözler önüne sermektedir. Ancak, mümkün olan en yüksek etkinliğe ulaşmak için hangi yöntemlerin birleştirilmesi gerektiğini ve bunların nasıl ve ne zaman benimseneceğini belirlemek için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır (Formato vd. 2022, Marín-García 2022).

Nosema hastalığı sadece koloni kayıplarına sebebiyet vermemekte ve beraberinde hem ekonomik hem de tarımsal üretim faaliyetlerinde ciddi olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu tez çalışması ile hastalığın bulaşıcı olması belirgin ve makro ölçekte gözlenebilir semptomlar vermemesi sebebiyle özellikle arıcılık işletmeleri yapan kurum ve kuruluşlarda her sezon takibinin doğru bir şekilde yapılması gerekliliği belirlenmiştir. Ayrıca kovandan örneklemelerin nasıl toplanması gerektiğine dair veriler elde edilmiştir. Tüm dünya literatüründe ve ülkemizde de görüldüğü gibi son yıllarda neredeyse hastalığın tek etmeni *N. ceranae* olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla *N. apis* yerini her geçen gün daha fazla alanda *N. ceranae* sporlarının yaygınlığının bu kadar artması daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini gözler önüne sermiştir. Ayrıca her geçen gün önemi artan doğal tedavi yöntemleri, Nosema hastalık tedavilerine de yön vermiştir. Son yıllarda birçok ülkede kullanımı yasaklanan çeşitli antibiyotikler yerine birçok arıcı doğal ve degrede edilebilir yeni stratejilere uygulamada fırsat vermektedir. Bu bağlamda Okzalit asit muamelesinden elde ettiğimiz anlamlı sonuçlarla ileride geliştirilecek tedavi stratejilerine bir temel oluşturabilecektir.

KAYNAKLAR

- Adam, B. 1977. In search of the best strains of bees: supplementary journey to asia minor. *Bee World*. 58: 57-66.
- Adam, B. 1983. In Search of The Best Strains of Bees. Northern Bee Books. West Yorkshire, U.K.
- Adam, B. 1987. Breeding the honeybee: a contribution to the science of bee breeding. Northern Bee Books, 180s., West Yorkshire, U.K.
- Adl, S. M., Simpson, A. G., Farmer, M. A., Andersen, R. A., Anderson, O. R., Barta, J. R., & Taylor, M. F. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(5); 399-451.
- Anonim. 2012. Ardahan Kafkas Arı Irkı ve Arıcılık Çalıştay ve Sektör Raporu. T.C. Serhat Kalkınma Ajansı, Ardahan Yatırım Destek Ofisi, Ardahan.
- Anonim. 2017. Web Sitesi: <http://www.kanawhavalleybeekeepers.co>. Erişim tarihi:05.06.2022
- Anonim. 2019. Web Sitesi: <https://tr.freemeteo.com> . Erişim tarihi:05.06.2022
- Anonim. 2022. Web Sitesi: <https://data.tuik.gov.tr>. Erişim tarihi:05.06.2022
- Aydın, L. 2001. Arıcılıkta ilaç kullanımı. *Uludag Bee Journal*, 2(1); 3-34.
- Aydın, L., Cakmak, I., Gulegen, E., & Wells, H. 2005. Honey bee nosema disease in the Republic of Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 44(4); 196-197.
- Aydın, L., Doğanay, A., Oruç, H. H., Yeşilbağ, K., Bakırcı, S., & Girişkin, O. 2017. Bal Arısı Yetiştiriciliği Ürünleri Hastalıkları. Dora Yayın Evi, 150s., Bursa.
- Baysan, A., Whiley, R. A., & Lynch, E. 2000. Antimicrobial effect of a novel ozonegenerating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Research*, 34; 498–501.
- Bodenheimer, F. S. 1942. Türkiye’de Bal Arısı ve Arıcılık Hakkında Etüdler. Numune Matbaası, İstanbul.
- Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Fluri, P., Bühler, U. & Lavanchy, P. 1999. Influence of organic acids and components of essential oils on honey taste. *American Bee Journal*, 139; 61-63.
- Bozkaya, F. 2012. DNA izolasyonunda fenol-kloroform yerine potasyum asetat kullanımının Dna miktarı ve kalitesi üzerine etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2); 92-96.

- Büyük, M. 2016. Kırşehir ilindeki arılıklarda nosema hastalık düzeyinin tespiti. Yüksek Lisans Tezi. Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Ana Bilim Dalı.
- Campbell, J., Kessler, B., Mayack, C., & Naug, D. 2010. Behavioural fever in infected honeybees: parasitic manipulation or coincidental benefit. *Parasitology*, 137(10); 1487-1491.
- Chen, Y., Evans, J. D., Smith, I. B., & Pettis, J. S. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *Journal Of Invertebrate Pathology*, 97(2); 186-188.
- Chen, Y. P., Evans, J. D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen- Rindal, D. A. W. N., & Pettis, J. S. 2009. Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera* 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(2); 142-147.
- Costa, C., Lodesani, M. & Maistrello, L. 2009. Effect of thymol and resveratrol administered with candy or syrup on the development of *Nosema ceranae* and the longevity of honeybees (*Apis mellifera* L.) in laboratory conditions. *Apidologie*, 41; 141–150.
- Çakmak İ., Aydın L., Camazine S., & Wells, H. 2002. Pollen traps and walnut-leaf smoke for *Varroa* control. *American Bee Journal*, 142(5): 367-370.
- Çakmak, İ., & Seven Çakmak, S. 2016. Beekeeping and recent colony losses in Turkey. *Uludag Bee Journal*, 16(1).
- Çankaya, N. ve Korkmaz, A. 2008. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayın Şubesi Yayını, Samsun.
- Çolak, E. 2014. Web sitesi:
https://eczacilik.anadolu.edu.tr/bolumsayfaları/belgeler/ecz2014%209_20140512122216.pdf. Erişim tarihi: 05.06.2022
- Doğaroğlu, M. 1981. Türkiye’de yetiştirilen önemli arı ırk ve tiplerini çukurova bölgesi koşullarında performanslarının karşılaştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi ,Zootekni Ana Bilim Dalı.
- Delaplane, K. S., Mayer, D. F., 2000. Crop pollination by bees. CABI Publishing, University Press, 344S., Cambridge.
- De Graaf, D. C., Raes, H., Sabbe, G., De Rycke, P. H., & Jacobs, F. J. 1994. Early development of *Nosema apis* (Microspora: Nosematidae) in the midgut epithelium of the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 63(1); 74-81.

- do Nascimento, J. D. J. S., Ferreira, M. B. S., Melquíades, C. D. C. V., & do Nascimento Bendini, J. 2022. Infestation levels of *Varroa destructor* and *Nosema* spp. in africanized bee (*Apis mellifera*) colonies during the dry season in the semiarid region of Piauí state. *Acta Veterinaria Brasilica*, 16(1); 78-83.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(13); 39-40.
- Erkan, C., & Aşkın, Y. 2001. Van ili Bahçesaray ilçesinde arıcılığın yapısı ve arıcılık faaliyetleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 11(1); 19-28.
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., & Del Aguila, C. 2009. High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(21); 6886-6889.
- Fries I, Granados, R. R., & Morse R. A. 1992. Intracellular germination of spores of: *Nosema apis* Z, *Apidologie*, 23; 61-70.
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S. B., Pieniazek, J. 1996. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *Eur. J. Protistol.* 32; 356–365.
- Fries, I., Morse, R., & Flottum, K. 1997. Honeybee pests, predators, and diseases. Protozoa. AI Root Company, s59., Medina, Ohio, USA.
- Fries, I., Martin, R., Meana, A., García-Palencia, P., & Higes, M. 2006. Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 45(4); 230-233.
- Fries, I. 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 103; S73-S79.
- Fries, I., Chauzat, M. P., Chen, Y. P., Doublet, V., Genersch, E., Gisder, S., ... & Paxton, R. J. 2013. Standard methods for *Nosema* research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-28.
- Formato, G., Rivera-Gomis, J., Bubnic, J., Martín-Hernández, R., Milito, M., Croppi, S., & Higes, M. 2022. Nosemosis prevention and control. *Applied Sciences*, 12(2); 783.
- Genç, F., & Dodoloğlu, A. 2017. Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yayın (341), 467s., Erzurum.
- Girişgin, A. O. Mantar Hastalıkları. Nosemosis. In: Doğanay, A., & Aydın, L. 2017. Bal Arısı Yetiştiriciliği Ürünleri Hastalıkları. Dora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti., 381-389s., Bursa.
- Gisder, S., Möckel, N., Linde, A., & Genersch, E. 2010. A cell culture model for *Nosema ceranae* and *Nosema apis* allows new insights into the life cycle of

- these important honeybee-pathogenic microsporidia. *Environ Microbiol*, 13(2); 404-413.
- Gülpınar, V. 2005. Bal arısı hastalık ve zararlıları. *Teknik Arıcılık*, 87; 2- 7.
- Higes, M., Martín, R., & Meana, A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(2); 93-95.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., & Meana, A. 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 94(3); 211-217.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., & Meana, A. 2010. *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie*, 41(3); 375-392.
- Hornitzky, M. 2008. *Nosema* disease. RIRDC Publication, 8s., Avustralya.
- Huang, W. F., Jiang, J. H., Chen, Y. W., & Wang, C. H. 2007. A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38(1); 30-37.
- Huang, Z. 2011. Effects of *Nosema* on honey bee behavior and physiology. *American Bee Journal*, 151(9); 871-874.
- Huang, W. F., Solter, L. F., Yau, P. M., & Imai, B. S. 2013. *Nosema ceranae* escapes fumagillin control in honey bees. *PLOS Pathogens*, 9(3); 1-9.
- İlgar, R. 2018. Çanakkale ilinde arıcılık faaliyetleri. *Electronic Turkish Studies*, 13(26); 713-724.
- İlgin, M. 2020. Elazığ ilinde balarılarında görülen *nosema* türlerinin moleküler ayrımı ve subklinik vakaların araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Veterinerlik) Ana Bilim Dalı.
- Lorizzo, M., Letizia, F., Ganassi, S., Testa, B., Petrarca, S., Albanese, G., ... & De Cristofaro, A. 2022. Recent advances in the biocontrol of nosemosis in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Fungi*, 8(5); 424.
- James, R. R. 2011. Potential of ozone as a fumigant to control pests in honey bee (Hymenoptera: Apidae) hives. *Journal of Economic Entomology*, 104(2); 353-359
- Karadeniz, T. 2012. Meyve yetiştiriciliğinde polinasyonun önemi, verim ve kaliteye etkisi. 3. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi, Bildiriler Kitabı, 275-282s., Muğla.
- Kasiotis, K. M., Manea-Karga, E., & Machera, K. 2019. A zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatographic photo diode array method as a tool to investigate oxalic acid in bees: comparison with mass spectrometric methods. *Separations*, 6(4); 48.

- Kekeçoğlu, M., & Rasgele, P. G. 2013. Düzce ili Yığılca ilçesindeki arıcılık faaliyetleri üzerine bir çalışma. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 13(1); 23-32.
- Kim, D. Y., & Lee, J. K. 2022. Development of monoclonal antibodies against spores of *Nosema ceranae* for the diagnosis of nosemosis. *Journal of Apicultural Research*, 1-8.
- Klee, J., Besana, A. M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D. Q., ... & Paxton, R. J. 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 96(1), 1-10.
- Koca, A. Ö., & Kandemir, İ. 2015. Türkiye balarısı biyoçeşitliliği. *Marka Bal Olma Yolunda Samsun Sempozyumu*, 1-15s., Samsun.
- Koca, A. Ö., Zanjani, P. A., Çakmak, İ., Çakmak, S. S., & Kandemir, İ. 2016. Ülkemizde Güney Marmara Bölgesi'ndeki bal arılarında *Nosema ceranae*'nin mikroskopik ve moleküler olarak belirlenmesi. *Uludag Bee Journal*, 16(1); 20-26.
- Korkmaz, A., 2013. Anlaşılabilir Arıcılık. Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü Yayını, 330s., Samsun.
- Kyle, M., Watts, T., Schade, J., & Elser, J. J. 2003. A microfluorometric method for quantifying RNA and DNA in terrestrial insects. *Journal of Insect Science*, 3(1); 1-7.
- Lage, V. M. G. B., Santana, C. D., Patrocínio, E., Noronha, R. P., Melo, R. L. D., Barbosa, C. D. J., & Lima, S. T. D. C. 2022. Prevalence of *Nosema ceranae* in apiculture regions of Bahia State, Brazil. *Ciência Rural*, 52(9); 1-7.
- Le Conte, Y., & Navajas, M. 2008. Climate change: impact on honey bee populations and diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 27(2); 499-510.
- Long, Q., Sun, M., Fan, X., Zhang, W., Zhou, D., Hu, Y., ... & Chen, D. 2022. Impact of *Nosema ceranae* invasion on sucrose solution consumption, midgut epithelial cell structure, and lifespan of *Apis cerana cerana* workers. *bioRxiv*, 1-15.
- MacInnis, C. I., Keddie, B. A., & Pernal, S. F. 2022. Honey bees with a drinking problem: potential routes of *Nosema ceranae* spore transmission. *Parasitology*, 149(5); 573-580.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Salvador, A. M., Garrido-Bailón, E., & Higes, M. 2007. Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20); 6331-6338.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., García-Palencia, P., Marín, P., Botías, C., Garrido-Bailón, E., ... & Higes, M. 2009. Effect of temperature on the biotic potential of

- honeybee microsporidia. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(8), 2554-2557.
- Marín-García, P. J., Peyre, Y., Ahuir-Baraja, A. E., Garijo, M. M., & Llobat, L. 2022. The role of *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) in honey bee colony losses and current insights on treatment. *Veterinary Sciences*, 9(3), 130.
- McGregor, S. E., 1976. Insect Pollination of Cultivated Crop Plants. *Agriculture Handbook 496*, 411s., WashingtonDc., USA.
- Milbrath, M. O., van Tran, T., Huang, W. F., Solter, L. F., Tarpy, D. R., Lawrence, F., & Huang, Z. Y. 2015. Comparative virulence and competition between *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 125; 9-15.
- Milani, N. 2001. Activity of oxalic acid and citric acids on the mite *Varroa destructor* in laboratory assays. *Apidologie* 32; 127–128.
- Mladan, V., Todorovic, D., & Miroslava, L. 2000. Therapeutic effects of fumagillin and first appearance of *Nosema apis* spores following infection. *Acta Veterinaria Beograd*, 50(4); 253-262.
- Moeini, S., Malekifard, F., & Tavassoli, M. 2022. Identification of the *Nosema spp.*, a microsporidian parasite isolated from the honey bees (*Apis mellifera*) and its association with honey bee colony losses in apiaries of Iran. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(1); 3667-3672.
- Nanetti, A., Bartolomei, P., Bellato, S., De Salvio, M., Gattavecchia, E., & Ghini, S. 2003. Pharmacodynamics of oxalic acid in the honey bee colony. Presented at the 38th Apimondia International Congress, Apimondia, Ljubljana, Slovenia.
- Nanetti, A., Rodríguez-García, C., Meana, A., Martín-Hernández, R., & Higes, M. 2015. Effect of oxalic acid on *Nosema ceranae* infection. *Research in Veterinary Science*, 102; 167-172.
- Nergiz, R. 2016. Kafkas arısı gen merkezinin bozulmasına neden olan etmenler ve çözüm önerilerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Ana Bilim Dalı.
- Odnosum, H., & Yefimenko, T. 2022. Features of microsporidia *Nosema apis* and *Nosema ceranae* (*Nosema* species) development of winter bee (*Apis mellifera* L.) generation. *ScienceRise: Biological Science*, 1(30); 53-56.
- Öder, E., 1987. İç Anadolu Arılarının Islahının Olanak ve Koşulları. Türkiye 1. Arıcılık Kongresi. Tar. Orm. ve Köyişleri Bak. Gen. Yay., 30- 36s., Ankara
- Özbilgin, N., 1999. Bitkisel Üretimde Tozlaşma ve Tozlaşmada Arıların Rolü ve Önemi. ETAE Polinasyon Projesi, Menemen, İzmir.
- Öztürk, A. İ. 2001. Balarısı hastalıkları. *Muğla'da Tarım*. 1(5); 57-59.

- Papežíková, I., Palíková, M., Navrátil, S., Heumannová, R., & Fronc, M. 2016. The effect of oxalic acid applied by sublimation on honey bee colony fitness: a comparison with amitraz. *Acta Veterinaria Brno*, 85(3); 255-260.
- Paxton, R. J. 2010. Does infection by *Nosema ceranae* cause “Colony Collapse Disorder” in honey bees (*Apis mellifera*)?. *Journal of Apicultural Research*, 49(1); 80-84.
- Pohorecka, K. 2004. Laboratory studies on the effect of standardized *Artemisia absinthium* L. extract on *Nosema apis* infection in the worker *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Science*, 48; 2.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. 1978. Biometrical-Statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L., *Apidologie*, 9; 363-381.
- Ruttner, F. 1988. *Biogeography and Taxonomy of Honey Bees*. 293s., Springer, Verlag, Berlin.
- Sain, V., & Nain, J. 2017. Economics and importance of beekeeping. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1(7); 1833-1834.
- Sarı, F., Ceylan, D. A., Özcan, M. M., & Özcan, M. M. 2020. A comparison of multicriteria decision analysis techniques for determining beekeeping suitability. *Apidologie*, 1-18.
- Shimanuki, H., Knox, D. A. 2000. *Diagnosis of Honey Bee Viruses*. USDA, Handbook No: 690, Academic Press. USA.
- Sıralı, R., & Cınbıroğlu, Ş. 2018. Bal arılarının tozlaşmadaki ve bitkisel üretimdeki önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 10(1); 28-33.
- Şahin, M., Topal, E., Özsoy, N., & Altunoğlu, E. 2015. İklim değişikliğinin meyvecilik ve arıcılık üzerine etkileri. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(2); 147-154.
- Şimşek, H., & Z, Ayan , 2022. Bingöl yöresi arıcılık işletmelerinde (*Apis Mellifera* L.) nosema hastalığının araştırılması. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 11(1); 90-94.
- Tosun, O. 2012. Bal arılarında (*Apis Mellifera* L., 1758) Nosemosis (nosematosis) hastalığının doğu karadeniz bölgesinde bulunan arı kolonilerindeki varlığı, dağılımı ve hastalık etkenlerinin karakterizasyonu. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Traver, B. E., & Fell, R. D. 2011. Prevalence and infection intensity of *Nosema* in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Virginia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107(1); 43-49.
- Traver, B.E., Williams, M.R., Fell, R.D. (2012). Comparison of within hive sampling and seasonal activity of *Nosema ceranae* in honey bee colonies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(2); 187–193.

- Tutkun, E. & Basgelmez, A. 2003. Bal Arısı Zararlıları ve Hastalıkları Teşhis ve Tedavi Yöntemleri. Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Uygur, Ş.Ö., & Girişgin, A. O. 2008. Bal arısı hastalık ve zararlıları. Uludağ Arıcılık Dergisi 8(4);130-142.
- Uzundumlu, A., Aksoy, A., & Işık, H. B. 2011. Arıcılık işletmelerinde mevcut yapı ve temel sorunlar; Bingöl ili örneği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 42(1); 49-55.
- Valizadeh, P.,Guzman-Novoa, E., & Goodwin, P. H. 2020. Effect of immune inducers on *Nosema ceranae* multiplication and their impact on honey bee (*Apis Mellifera* L.) survivor ship and behaviors. Insects, 11(9); 572.
- Weber, R., Bryan, R. T., Schwartz, D. A., & Owen, R. L. 1994. Human microsporidial infections. Clinical Microbiology Reviews, 7(4); 426-461.
- Whitaker, J., Szalanski, A. L., & Kence, M. 2011. Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees. Apidologie, 42(2); 174-180.
- Williams, G. R., Shutler, D., Little, C.M., Burgher-Maclellan, K., & Rogers, R. 2011. The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagilin-B, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. Apidologie, 42(1); 15-22.
- Wu, Z., Wei, X., Zhang, L., Zeng, Z., Yan, W., & Huang, Q. 2022. Impacts of *Apis cerana* gut microbes on *Nosema ceranae* proliferation in *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 1-7.
- Yoloğlu, N.2014. Türkiye'deki bal arılarında görülen nosemosis üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Zander, E. N. O. C. H. 1909. Tierische parasiten als krankheitserreger bei der biene. Münchener Bienenzeitung, 31; 196-204.
- Zanet, S., Elena, B., Roberto, A., Trisciuglio, A., Cauda, C. & Ferroglio, C. 2018. *Nosema ceranae* contamination in beekeeping material: the use of ozone as a disinfection method. Journal of Apicultural Research, 58; 62-66.
- Zerek, A., Yaman, M., & Dik, B. 2021. Prevalence of nosemosis in honey bees (*Apis mellifera* L., 1758) of the Hatay province in Turkey. Journal of Apicultural Research, 1-7.
- Zeybek, H. 1991. Arı hastalıkları ve zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 96s., Ogun Kardeşler Yayınevi, Ankara.