

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DEKİ BAL ARILARINDA GÖRÜLEN NOSEMOSİS
ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nihal YOLOĞLU

Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans
derecesi için hazırlanmıştır.

ORDU 2014

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi NİHAL YOLOĞLU tarafından Yrd. Doç. Dr. ÖMER ERTÜRK danışmanlığında hazırlanan Türkiye'deki Bal Arılarında Görülen Nosemosis Üzerine Bir Çalışma adlı bu tez, jürimiz tarafından 28 /02 /2014 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. ÖMER ERTÜRK

Başkan : Yrd. Doç. Dr. ÖMER ERTÜRK

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Recep SIRALI

İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 21.03.2014 tarih ve 2014 \ 165 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

21.03/2014
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

İmza

NIHAL YOLOĞLU



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

ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ BAL ARILARINDA GÖRÜLEN NOSEMOSİS ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nihal YOLOĞLU

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2014
Yüksek Lisans Tezi, 34 s.

Danışman: Yrd. Doc. Dr. Ömer ERTÜRK

Bu araştırmada bal arılarında yüksek oranda koloni kayıplarına neden olarak doğrudan bal üretimini etkileyen nosemosis etkeni olan patojenlerin Türkiye'deki arı kolonilerinde varlığı ve bölgesel dağılımının çalışılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda farklı bölgelerden 12 il seçilmiştir (Ardahan, Hakkâri, Mersin, Muğla, Kırklareli, Yalova, Edirne, Sivas, Artvin, Balıkesir, İzmir, Niğde). Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim ayları arasında toplamda iki kez arazi çalışması yapılmış olup her arazi çalışması için belirlenen illerden 20'şer ölü ve 20'şer canlı olmak üzere 40, toplamda ise 960 işçi ergin bal arısı incelenmiştir. Patojenlerin spor formlarına arıların bağırsak dokusunda ve vücut boşluklarında rastlanmıştır. En ve boy ölçümleri yapılan spor formlarının daha sonra yapılan moleküler karakterizasyonunda bütün örneklerin *Nosema apis* patojenine ait olduğu sonucuna varılırken, *Nosema ceranae* patojenine ise seçilen aylar ve iller içerisinde hiç rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Nosemosis, *Nosema ceranae*, *Nosema apis*, Microsporidia, Türkiye

ABSTRACT

A STUDY ON THE NOSEMOSIS IN TURKISH HONEY BEES

Nihal YOLOGLU

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Biology, 2014
MSc. Thesis, 34 p.

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Omer ERTURK

In this study pathogens presence, which is an agent of the noseamosis that causes high colony losses in honey bees and directly affects honey production in Turkey, and the regional distribution of bee colonies were studied. With this aim, 12 provinces from different regions were selected (Ardahan, Hakkâri, Mersin, Muğla, Kırklareli, Yalova, Edirne, Sivas, Artvin, Balıkesir, Izmir, Nigde). The fieldwork was performed twice in total between July-August and September-October. From each selected province 40 samples (20 dead and 20 alive) were examined and in total, 960 adult bees were studied for each fieldwork. The spore forms of the pathogen were found in the intestinal tissue and body cavity of the bees. The aspect ratio of the spore forms was performed and after the molecular characterization of the forms, it was inferred that all the samples collected from the provinces belonged to the *Nosema apis* pathogen but *Nosema ceranae* pathogens weren't found in selected months and provinces.

Key words: Nosemosis, *Nosema ceranae*, *Nosema apis*, Microsporidia, Turkey

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, alıőmanın yrtlmesi ve yazımı esnasında baőta danışman hocam Sayın Yrd. Do. Dr. ÖMER ERTÜRK'e ve tez yazım aőamasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. MUSTAFA YAMAN'a ve Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: TF-1223) maddi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Arı rneklerinin toplanmasında yardımlarını esirgemeyen Ordu Arıcılık Enstitüsüne ve ayrıca, çalıőmalarım sırasında manevi desteklerini hiçbir zaman eseirgemeyen babam Nurettin GÜLER, annem Emine GÜLER, abim Güner GÜLER, eőim Emin Eser YOLOğLU, çevirilerde yardımcı olan kuzenim Ceren ÇAKMAK BALCI'ya, örneklerin diseksiyonunda yardımcı olan Asiye ŐİŐMAN'a ve yüksek lisans yapmama vesile olan arkadaőım Merve GELDİ'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ BİLDİRİMİ	I
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Nosemosis ve Bulaşma Yolları	2
1.1.1. Microsporidia	4
1.1.2. Nosemosis'in Gelişimi ve Hayat Evreleri.....	5
1.1.2.1.Eşeyli Üreme	6
1.1.2.2.Eşeysiz Üreme.....	7
1.2. Nosemosis'e Yakalanan Arılardaki Fizyolojik Değişiklikler.....	8
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Bal Arılarının Toplanması için Gerçekleştirilen Arazi Çalışmaları	12
3.1.1. Çalışma Alanının Belirlenmesi ve Örneklerin Alınması	12
3.2. Mikroskopik İnceleme	13
3.3. Giemsa Boyası ile Patojenlerin Tespiti.....	14

3.4.	Moleküler Çalışmalar	14
3.4.1.	PZR İçin Örneklerin Hazırlanması	15
3.4.2.	Multiplex PZR.....	15
3.5.	İstatistiksel Analiz	16
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	17
4.1.	Hastalığın Varlığının Tesbiti.....	17
4.2.	Sporlar Formlarının Morfolojik Ölçümleri	19
4.3.	Spor Formlarının Giemsa Boyası ile Tesbiti.....	20
4.4.	Patojenlerin Moleküler Karakterizasyonu.....	21
4.5.	<i>Nosema apis</i> Patojeninin Belirlenen İllerdeki Dağılım Oranları.....	23
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	25
6.	KAYNAKLAR.....	28
	ÖZGEÇMİŞ.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Cizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Genel bir mikrospor yapısı	5
Şekil 1.2. Eşeyli üreme evresi	6
Şekil 1.3. Eşeysiz üreme evresi.....	7
Şekil 1.4. Mikrospor bölünme şekilleri.....	8
Şekil 1.5. Nosemosis'in konak bağırsağındaki makroskopik görünümü.....	9
Şekil 4.1. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların boyasız ışık mikroskobu görüntüleri	17
Şekil 4.2. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların arı bağırsağı içerisindeki boyasız ışık mikroskobu görüntüsü.....	18
Şekil 4.3. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların giemsa boyası ile boyanmış ışık mikroskobu görüntüsü.....	21
Şekil 4.4. <i>Nosema apis</i> primeri ile yapılan agaroz jel elektroforezi.....	21
Şekil 4.5. <i>Nosema ceranae</i> primeri ile yapılan agaroz jel elektroforezi.....	22
Şekil 4.6. Türkiye'deki 12 ilde <i>Nosema apis</i> patojeninin dağılım oranı haritası	24

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	<i>Nosema apis</i> ve <i>Nosema ceranae</i> 'nin sistemateri.....	3
Çizelge 3.1.	Arazi çalışması yapılan yerler ve toplanan örnek sayıları.....	13
Çizelge 3.2.	PZR çalışmalarında kullanılan primerler	16
Çizelge 4.1.	<i>Nosema</i> patojenine ait olduğu düşünülen sporların boy.....	19
Çizelge 4.2.	<i>Nosema</i> patojenine ait olduğu düşünülen sporların en ölçümleri	20
Çizelge 4.3.	<i>Nosema apis</i> patojeni bulaşık arı sayıları	23

SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
H ₂ O ₂	:	Hidrojenperoksit
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
OIE	:	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
PZR	:	Polimerize Zincir Reaksiyonu
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı
UV	:	Ultra Viole
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre

1. GİRİŞ

Arıcılık, çeşitli tarım kolları ile birlikte uyumlu bir şekilde, toprağa bağlı kalınmaksızın yapılabilen bir iş koludur. Arılardan bal, balmumu, arı sütü, çiçek tozu, arı zehri ve propolis gibi birçok ürün elde edilebilir. Arılar tozlaşma ile bitkilerin nesillerinin devamlılığına ve ürün miktarında artışa neden olmalarının yanı sıra insan sağlığına olan katkıları ile de ülkemizde önemli yer tutmaktadır. Ayrıca üretici açısından oldukça önemli bir gelir kaynağı oluşturmaktadır (Anonim 2008a).

Türkiye uygun ekolojisi ile dünyada belirlenmiş ballı bitki türlerinin % 75'ine sahiptir, bu özelliği ile de arıcılıkta söz sahibi ülkeler arasındadır (Sorkun 2008, Sıralı 2009). Bulundurduğu zengin flora ve iklim koşulları nedeniyle de Türkiye'nin hemen her bölgesinde arıcılıkla uğraşılır (Sıralı 2009).

Türkiye arıcılıkta bu kadar elverişli şartlara sahip olmasına rağmen yıllardır uygun verim ve kaliteye ulaşamamıştır. FAO'nun 2008 kayıtlarına baktığımızda 1980-2006 yılları arasında ülkemizde ki toplam koloni sayısı yaklaşık 2 kat artarak 4.590.013'i bulmasına rağmen, yine aynı dönemde bal üretimi de yaklaşık 3 kat artmıştır ve günümüzde de halen atmaya devam etmektedir, fakat koloni başına bal verimi düşünüldüğünde bu oran yetersizdir. Dünyada koloni başına bal verimi ortalaması 24 kg/koloni iken Türkiye'de bu değer 16-17 kg/koloni civarındadır (Kekeçoğlu ve ark. 2007). Bu durumun nedenleri arasında halen geleneksel yöntemle arıcılık yapılması, arı hastalıklarıyla mücadelenin bilinçsiz yapılması sayılabilir. Zira arı hastalıkları bal verimi açısından oldukça önemlidir.

Arı hastalıkları, oluştuğu konağa veya hastalık oluşturan etmene göre iki şekilde sınıflandırılır. Konağa göre ergin ve yavru arı hastalıkları olarak iki gruba ayrılır. Yavru arı hastalıklarına Amerikan yavru çürüklüğü, Avrupa yavru çürüklüğü, kireç, torba ve taş hastalığı, ergin arı hastalıklarına ise dizanteri, nosema ve paraliz örnek verilebilir. Hastalıklar hastalığı oluşturan etmene göre; bakteriyel (Amerikan ve Avrupa yavru çürüklüğü, septisemi), fungal (kireç ve taş hastalığı), viral (arı felci ve tulumsu yavru çürüklüğü), paraziter (*Varroa destructor*, *Acarapis woodi*) ve protozoon (nosema ve amoeba) kaynaklı olabilir (Uygur ve Girişkin 2008, Kayral 2010, Tosun 2012).

Bu araştırmada protozoon kaynaklı ve arılar için oldukça ölümcül olabilen, halk arasında arılarda oluşturduğu davranışlar sebebiyle sürünme veya ishal hastalığı olarak da bilinen noseimosis ve etkenlerinin Türkiye'nin farklı bölgelerindeki dağılıminin saptanması amaçlanmıştır.

1.1. Noseimosis ve Bulaşma Yolları

Protozoon kaynaklı bir hastalıktır ve oldukça yüksek ölüm oranına sahip olduğu bilinmektedir (Cox ve Pye 1975, Sammataro ve Avitabile 1998, Kurt 2007, Hornitzky 2010, Tosun 2012). Dünyada bu hastalığa ait ilk kayıtlar 1882 yılında Güney Afrika ve daha sonraki yıllarda ise Amerika Birleşik Devletleri'nin 27 eyaletine aittir (Gochnauer ve ark. 1975, Zeybek 1991, Topçu 2003), Türkiye'de noseimosis ile ilgili ilk kayıtlar ise 1952 yılına ait olup ilk teşhisi Türkiye Kalkınma Vakfı Arı Hastalıkları Laboratuvarlarında yapılmıştır (Tutkun ve İnci 1992).

Hastalığın iki farklı protozoon türü tarafından oluşturulduğu bilinmektedir. Yapılan ilk çalışmalarda *Nosema apis*'in *Apis mellifera* ve *Nosema ceranae*'nin *Apis ceranae* arı türünde enfeksiyona neden olduğu düşünölmüştür ancak daha sonraki yıllarda bu durumun böyle olmadığı her iki hastalık etkeninin de her iki arı türünde hastalığa neden olabildiği bildirilmiştir (Fries ve ark. 1996, Higes ve ark. 2006, Huang ve ark. 2007, Chen ve ark. 2009a, b, Paxton 2010).

Yapılan çalışmalarda her iki etkeninin de ergin arıların bağırsak dokuları (Tosun 2012) tükürük bezleri ve salgı hücreleri ile malpigi tüplerinde, yağ dokusunda ve kas dokusunda bulunabildiği (Klee ve ark. 2007, Somerville ve Hornitzky 2007, Chen ve ark. 2009a) fakat arı larva ve pupalarının ise hastalığa yakalanmadığı bildirilmiştir (Anonim 2013b). İki hastalık etkeninin de benzer özelliklerinin yanısıra farklı özellikleri çoğunluktadır, örneğin; *Nosema apis* sporları *Nosema ceranae*'nin sporlarına oranla daha büyükken (Anonim 2008a) *Nosema ceranae* zorlu hava şartlarına daha dayanıklıdır (Martin-Hernandez ve ark. 2009).

Hastalık ergin hasta arıların dışkıları, arıların ortak kullandıkları içme suyu kaynakları, enfekte bal, bal mumu, nektar, polen, yabancı arılar, kovan içine girip çıkan karıncalar, böcekler, kovan temizliğinde kullanılan arıcılık malzemeleri,

bulaşık petekler, çerçeveler, hasta arılar ve bunların ölüleriyle temas ile bulaşabilir (Anonim 2013b). Ayrıca Fenoy ve ark. (2009), eritilerek tekrar kullanılmam petek mumlarında var olan sporların ısıtılma işlemine rağmen canlı kalabildiğini bildirmişlerdir.

Patojenler, arı tarafından besin yoluyla alındığında bağırsak hücrelerine geçer ve hızla çoğalarak hücreyi patlatırlar. Bu patojenler soğuğa karşı dirençli, sıcak ve kurağa karşı ise duyarlıdırlar. Sporlar dışkıda 2 yıl, bal ve ölü arılarda 1 yıl, toprakta ise 44 ile 71 gün kadar canlı kalabilirler. Anasız kalma, yetersiz beslenme, polen ve nektar kaynaklarının yetersiz olması, ana arının az yumurtlaması, kalitesiz bal kullanarak besleme, kovanda varroa hastalığının bulunması enfeksiyonun şiddetini artırır. Peteklerde, kovan içinde ve uçuş tahtasında ishalden kaynaklanan kahverengi lekeler görülür bunlar arı dizanterisi ile karıştırılabilir. Bu hastalıkta arıların karnı şişkin olur ve uzağa gidemediklerinden uçuş tahtası üzerinde kanatları iki yana açık şekilde sürünürler. Uçamazlar ve iğneleme reflekslerini yitirmişlerdir, felç olan arılar öldüklerinden kovanda ergin arı sayısı azalır, işçi arı azaldığı için kovanda yiyecek sıkıntısı gözlenir (Anonim 2013b). Hastalığa neden olan patojenlerin her ikisinin de Microsporidia takımına ait olduğu Çizelge 1.1 de verilmiştir (Kassai ve ark. 1988, Tüzer ve Toparlak 1999, Topçu 2003).

Çizelge 1.1. *Nosema apis* ve *Nosema ceranae*' nin sistematikleri

Alem	Protista
Altalem	Protozoa
Şube	Microspora
Sınıf	Microsporea
Takım	Microsporida
Alttakım	Apansporobalstina
Aile	Nosematidae
Cins	Nosema
Tür	<i>Nosema apis</i> ve <i>Nosema ceranae</i>

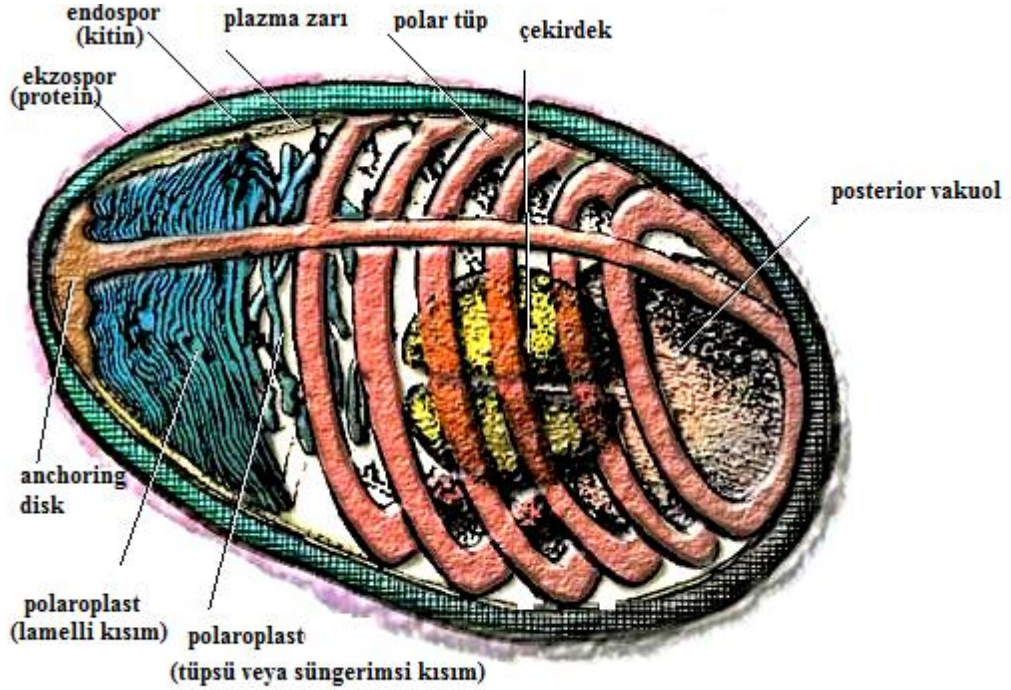
1.1.1. Microsporidia

Microsporidialar ilk olarak 1857'de Nageli tarafından *Nosema bombycis* olarak tanımlanmış, 1882 yılında ise Balbiani microsporidia adı altında ayrı bir grup olduğunu bulmuştur. 1976 yılına gelindiğinde Sprague microspora şubesi altında, 1980'de ise protista alemi ve protozoa altalemi altında sınıflandırılmıştır (Weber ve ark. 1994, Frazen ve Muller 1999).

Sınıflandırma yapılırken; doğal konak ilişkileri, spor veya diğer gelişme dönemlerinin büyüklüğü, tek veya iki nükleusa sahip olmaları, spor içindeki polar filamentin sporun posteriyor kısmından anteriora kadar devam ederken gösterdiği farklılıklar ve organizmanın konak hücre stoplazması ile ilişkisi kriter olarak ele alınmaktadır (Yazar ve ark. 2013).

Microsporidiaların en tipik gelişimsel evresi spor dönemidir (Şekil 1.1). Spor, microsporidiaların enfektif dönemidir ve konak dışında uzun zaman yaşayabilmesi için geliştirilmiş bir evredir (Frazen ve Muller 1999, Didier ve Weiss 2006, Yazar ve ark. 2013). Daha çok başka bir konağın enfeksiyonu için gerekli olan eksternal spor, konak içindeki diğer dokuları enfeksiyonunda görevli olan internal spor olmak üzere iki tip spor oluştururlar. Spor yapısının en dışında spor duvarı bulunur endospor ve ekzospor kısımlarından oluşur, bu kısımların içinde plazma zarı bulunur ve sporun içindeki muhtevayı kapsar. Sporun anterior kısmında spor duvarını zayıfalamsı ile oluşmuş anchoring disk yapısı mevcuttur (Erickson ve Blanquet 1969, Vávra 1976, Tosun 2012). Polar filament ise karakteristik bir yapı olup polaroplastı enine geçip anchoring disk yapısına bağlanır. Bu yapı posteriyordan anteriora kadar eşit kalınlıkta devam ediyor ise izofilar yada bir noktada aniden daralarak proksimal kısım geniş, distal kısım dar olarak görülüyorsa anizofilar olarak adlandırılır, bu özellik taksonomik sınıflandırmada önemlidir (Burges ve ark. 1974, Weiser 1977, Tosun 2012). Spor boyutları 1-20 µm arasında türe göre değişkenlik gösterir, oval, küresel, çubuk veya armut şeklinde olabilirler (Frazen ve Muller 1999, Didier ve Weiss 2006, Yazar ve ark. 2013). Sporun genetik materyali posterior bölgede tek veya çift çekirdek içinde taşınır. Ökaryotik tipte, zarı çift katlı, küresel veya oval nadiren de at nalı şeklinde çekirdek bulundururlar, eğer çekirdekler çift çekirdek halinde ise birbirine temas halindedirler (Larsson 1986). Bu patojenler zorunlu hücre

içi patojen olduklarından tüm gelişimsel evrelerinde mitokondriden yoksundurlar (Vernick ve ark. 1977, Larsson 1986).



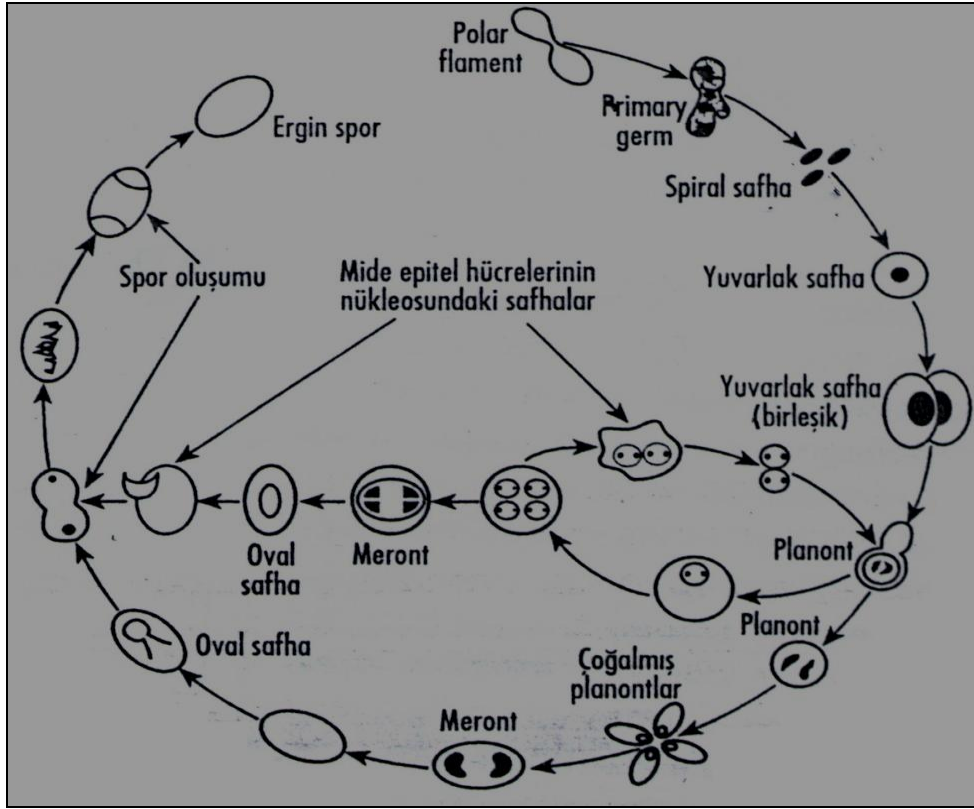
Şekil 1.1. Genel bir mikrospor yapısı *Şekilin orijinali Didier (1998)'den farklılaştırarak alınmıştır.

1.1.2. Nosemosis'in Gelişimi ve Hayat Evreleri

Nosemosis'in gelişimi *Nosema apis* üzerinden Fantham ve Pother (1912), Steche (1965), Gray ve ark. (1969), tarafından açıklanmıştır. Steche, elektron mikroskobu ile yaptığı çalışmalarda *Nosema apis*'in eşeyli ve eşeysiz üreme şeklindeki gelişimini aşağıdaki şekillerdeki gibi açıklamıştır.

1.1.2.1. Eşeyli Üreme

Eşeyli üremede öncelikle sporların içerisindeki polar filamentlerden primer germ hücreleri oluşur, primer germ hücrelerinde iki adet çekirdek bulunur, bunlar da ikiye bölünerek iki adet primer germ hücrelerini oluştururlar. Primer germ hücrelerinden önce spiral hücreler sonra da yuvarlak hücreler oluşurlar. Yuvarlak hücreler birleşerek çoğalırlar ve planontları oluştururlar, planontlar da bölünüp büyüyerek merontları oluştururlar. Daha sonra merontlar oval hücrelere dönüşür, oluşan bu oval hücrelerden ise genç sporlar meydana gelir. Genç sporlar mide epitelinde olgunlaşarak ergin spor haline gelir (Anonim 2013a). Eşeyli üreme evresi Şekil 1.2 de verilmiştir.

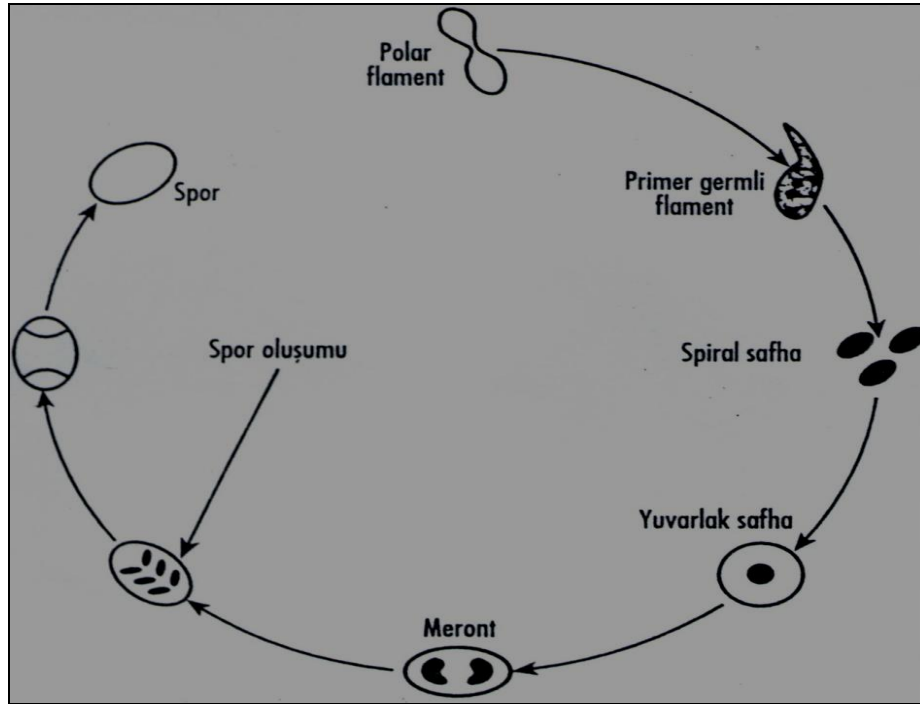


Şekil 1.2. Eşeyli üreme (Sonbahar-İlkbahar) evresi (Steche 1965)

1.1.2.2. Eşeysiz Üreme

Sonbahar ile ilkbahar mevsimleri arasında ise eşeysiz üreme görülür. Bu üremeye hızlı üreme de denilmektedir. Sporlar yutularak mide epiteline yerleşirler ve açılarak 30°C' de 8-10 gün içerisinde yeni sporlar oluştururlar (Tutkun ve İnci 1992, Genç 1997, Kılani 1999, Kutlu 1999, Topçu 2003).

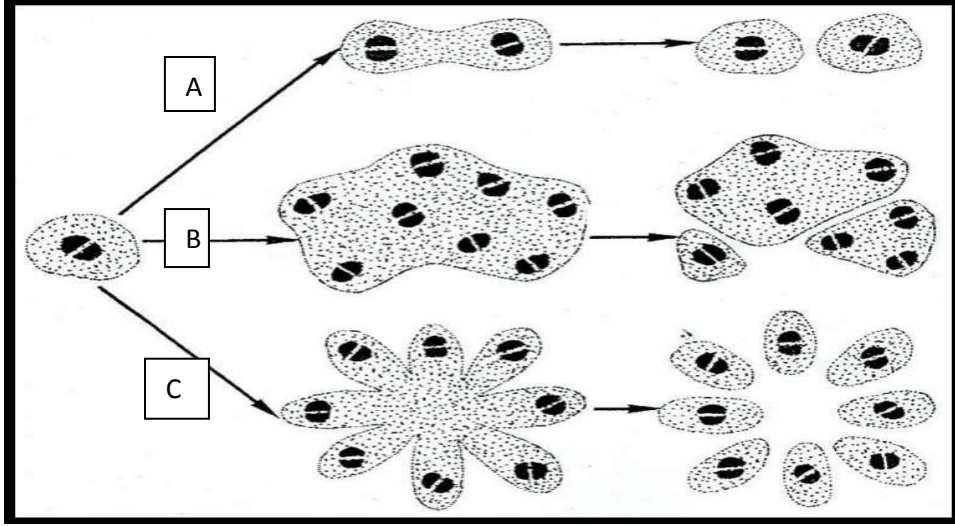
Bu olay da yine eşeyli üremede olduğu gibi polar filamentlerden primer germ hücrelerinin oluşumu ile başlar. Oluşan bu hücrelerden spiral hücreler, spiral hücrelerden de yuvarlak hücreler oluşur. Yuvarlak hücreler, merontları meydana getirir merogoni safhası kısa süreli ve konak içerisinde enfeksiyonun yayılmasını sağlayan çoğalma safhası olup sırası ile meront, sporont ve sporoblast aşamaları vardır (Şekil 1.3). Genç sporlar, mide epitel hücrelerinde ergin hale gelerek ergin sporları oluştururlar (Anonim 2013a).



Şekil 1.3. Eşeysiz üreme (İlbahar-Sonbahar) evresi (Steche 1965)

Spor oluşumunun gerçekleştiği sporogoni safhası genellikle konağın ölümü veya merogoni safhası için uygun ortamın tükenmesi ile sonuçlanır. Merogoni ve

sporogoni şizogonial çoğalma olarak tanımlamış olsa da bu canlılarda merogoni ve sporogoni ikili fizyon (her iki çekirdek oluşumunda stoplasma bölünmesi), plasmotomi (çok çekirdekli bir hücrenin arka arkaya bölünmesi) veya şizogoni (çoklu tomurcuklanma) şeklinde meydana gelebilir (Şekil 1.4) (Levine 1971). Her iki gelişim safhası da konağın aynı dokusunda veya farklı dokularında meydana gelebilir (Tosun 2012).



Şekil 1.4. Mikrospor bölünme şekilleri A-İkili fizyon, B-Plasmotomi, C- Şizogoni (Larsson 1986, Tosun 2012)

1.2. Nosemosis'e Yakalanan Arılardaki Fizyolojik Değişiklikler

Arılarda ventrikulus, iç kısmı kalın ve sellüler bir tabaka olan epitel tabaka ile kaplıdır bu tabaka sindirim salgıları ve enzimler salgılar. Nosemosis arıların ventrikuluslarının epitel hücrelerinde enfeksiyon nedeni ile bozulmalara sebep olur. Mideden salgılanan salgılar ve besin maddeleri emilimindeki bozukluklar, arının vücudundaki enzimatik faaliyetlerin azalması, nitrojen dengesinin bozulması hasta arılarda biyolojik aktivitenin azalmasına ve arı ömrünün kısalmasına neden olur (Zherebkin 1977). Hastalığa yakalanan kolonilerde sindirim sistemi bozukluklarına bağlı ishal, yaşam sürelerinde kısalma, uçamama, Şekil 1.5'deki gibi bağırsakların kirli beyaz ve mat renk alması, kovan girişinde ölü arıların toplanması, koloni popülasyonunda ve bal üretiminde azalma, kolonilerde sönme görülebilir (Bailey ve Ball 1991, Fries 1997, Somerville ve Hornitzky 2007, Higes ve ark. 2008).



Şekil 1.5. Nosemosis'in konak bağırsağındaki makroskobik görünümü A: hastalıklı bağırsak, B: sağlıklı bağırsak (Tosun 2012)

Ayrıca hastalığa yakalanmış arılar normal arılara oranla 1.2 ile 2 kat fazla polen tüketirler. Sağlıklı arıların tükettiği polen ve proteince zengin yemlerin hipefarangial salgı bezleri ve yağ dokularının gelişmesini sağlar fakat hasta arılar daha fazla polen tükettiği halde bu salgı bezleri tam olarak gelişmez (Anonim 2013a).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Nosema apis ilk olarak 1909 yılında keşfedildiğinden beri *Apis mellifera*'da görülen nosemosis'in tek etkeni olarak kabul ediliyordu (Paxton 2010). Fries ve ark. (1996), Asya bal arısı *Apis ceranae*'da farklı bir mikrosporidium patojeni olan *Nosema ceranae*'yi tanımlamıştır. Ardından *Nosema ceranae*'nin Avrupa bal arısı *Apis mellifera*'da da hastalık oluşturabildiği (Higes ve ark. 2006, Huang ve ark. 2007, Chen ve ark. 2009a) ve hatta *Apis mellifera*'da daha patojenik olduğu bulunmuştur (Fries ve ark. 1996). Chen ve ark. (2009b), ise Asya bal arısı *Apis ceranae*'da Avrupa bal arısında hastalığa neden olan *Nosema apis*'in varlığını tespit etmişlerdir (Tosun 2012). Bu çalışmalardan sonra birçok ülkede bal arısı *Apis mellifera*'daki nosemosis etkeni olarak *Nosema apis*'in tespit edildiği örnekler yeniden incelemeye başlanmıştır ve birçok örnekte geçmişte *Nosema apis* olarak bilinen etkenin aslında *Nosema ceranae* olduğu bulunmuştur (Klee ve ark. 2007, Paxton ve ark. 2007, Invernizzi ve ark. 2009). Bu gelişmeler sonucunda *Nosema ceranae* enfeksiyonunun kısa zaman sonra *Nosema apis* enfeksiyonunun yerini alacağı konusunda düşünceler oluşmuştur (Klee ve ark. 2007, Paxton ve ark. 2007, Martin- Hernandez ve ark. 2009, Tapaszti ve ark. 2009), bu düşüncenin aksine *Nosema apis* enfeksiyonunun yerini bu kadar çabuk değiştirmeyeceği üzerine de tartışmalar mevcuttur (Gisder ve ark. 2010, Higes ve ark. 2010a). Chen ve ark. (2009b), Avrupa bal arısında hastalık yapan *Nosema apis*'in Asya bal arısı *Apis ceranae*'da hastalık oluşturduğunu, Asya bal arısı *Apis ceranae*'da Avrupa hastalığı olan *Nosema apis*'in en az 1992 den bu yana hastalık oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalar *Nosema ceranae*'nin hastalık belirtilerinin diğer patojene oranla daha ölümcül olduğunu (Paxton 2010) ve uygun çevre şartlarında *Nosema apis*'ten daha hızlı çoğalabildiğini göstermiştir (Martin-Hernandez ve ark. 2009). Yapılan bir başka çalışmada *Nosema apis*'e oranla arılarda daha fazla beslenme stresi yaptığı ve kovandan polen toplamaya çıkan işçi arılarda daha fazla ölümlere neden olduğu belirlenmiştir (Anonim 2008b, Mayack ve Naug 2009, Naug ve Gibbs 2009). *Nosema ceranae* değişen iklim şartlarına diğer patojene oranla daha toleranslıdır (Martin-Hernandez ve ark. 2009), ayrıca bazı bilim adamları tarafından sıcaklık değişimlerinin *Nosema ceranae*'nin üremesini ve dağılımını etkilediği bu sebeple

Nosema apis 'e göre daha sıcak bölgelerde enfeksiyon oluşturduğu öne sürülmüştür (Fries 2010).

Ülkemizde sınırlı sayıda çalışma yapılmış olup, nosemosis hakkındaki ilk bilgiler 1950'li yıllara aittir fakat ilk olarak 1986 yılında Türkiye Kalkınma Vakfı Arı Hastalıkları Laboratuvarında bu hastalığın teşhisi gerçekleştirilmiştir (Kutlu 1988, Başar 1990, Sammataro ve Avitabile 1998, Kandemir 2007, Kurt 2007, Uygur ve Girişkin 2008, Doğaroğlu 2009, Kayral 2010, Ütük ve ark. 2010, Whitaker ve ark. 2010, Tosun 2012). Moleküler olarak *Nosema ceranae* 'nin ilk teşhisi Ütük ve ark. (2010), tarafından yapılmıştır. Ayrıca daha önceki çalışmalarda *Nosema apis* olarak kaydedilen kayıtların gerçekten *Nosema apis* mi yoksa *Nosema ceranae* mi olduğu da kesin değildir. Asya ve Avrupa'da nosemosis etkenlerinin karşılıklı konak değişiminin gelişen ticaret ve globalleşmeyle ilgili olduğu düşünülmektedir (Chen ve ark. 2009b). Moleküler alanda güncel bir diğer çalışma ise Tosun (2012), tarafından yapılmıştır, fakat bu çalışmada sadece Doğu Karadeniz bölgesini kapsamaktadır ve sonucunda bulunan sporların tamamı *Nosema ceranae* 'ye aittir. Moleküler anlamda ülkemizle ilgili bir diğer çalışma da Whitaker ve ark. (2010), tarafından yapılan 7 il ve bu illere ait 20 bölgeyi kapsayan bir araştırmadır, yapılan araştırmada bazı illerde *Nosema ceranae* 'ye ait sporlar bulunurken bazılarında *Nosema apis* 'e ait sporlara rastlanmıştır fakat bu çalışmada toplam 84 örnek kullanarak tarama için yetersiz kalmıştır. Moleküler çalışmalar dışında bakıldığında ülkemizde nosemosisle ilgili birçok çalışma yapılmıştır, yapılan bu çalışmalarda Trakya bölgesinde % 6.5 (Sıralı ve Doğaroğlu 2005), Elazığ'da % 8.7 (Şimşek ve ark 2001), Kars'da % 15.7 (Topçu ve Arslan 2004), Bursa ve Bingöl'de % 26 (Aydın ve ark. 2001, Gül ve Kutlu 2009) ve Muğla yöresinde % 100 oranında (Şimşek 2007) rastlanmıştır. Topçu (2003), tarafından Kars ili için yapılan bir çalışmada % 15.74 oranında *Nosema apis* sporlarına rastlandığı bildirilmiştir. Hatay yöresinde yapılan bir anket çalışmasında ise nosemosise hiçbir yerde rastlanmadığı bildirilmiştir (Şahinler ve Gül 2005). Muz ve arkadaşları (2012), tarafından yapılan başka bir araştırmada spor yoğunlukları karşılaştırılmış Trakya bölgesi, Elazığ ve Hatay yörelerine göre fazla, Kars, Bursa, Bingöl ve Muğla yörelerine göre daha düşük oranda bulunmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada örneklerin toplanması, makroskobik, mikroskobik ve moleküler karakterizasyon Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü tarafından kabul edilen ve literatürde güncel olarak önerilen yöntem ve prosedürler kullanılmıştır (Garcia 2002, Higes ve ark. 2006, Anonim 2008b, Fries 2010).

3.1. Bal Arılarının Toplanması için Gerçekleştirilen Arazi Çalışmaları

3.1.1. Çalışma Alanının Belirlenmesi ve Örneklerin Alınması

Bu araştırmada çalışma alanı olarak hastalığın ülkeye giriş çıkışlarını tesbit etmek için sınır hatlarına yakın 12 il (Ardahan, Hakkâri, Mersin, Muğla, Kırklareli, Yalova, Edirne, Sivas, Artvin, Balıkesir, İzmir, Niğde) belirlenmiştir. 2012 yılının Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim ayları arasında işçi arı örnekleri toplanmıştır. Nosemosis çoğu zaman belirgin bir dış septom vermeden büyük ölümlere neden olsa bile, örneklerin toplanması esnasında bu hastalığının semptomlarından kabul edilen, özellikle baharın ilk aylarında, kovan ve peteklerin önünde kahverengi dışkuların varlığı, kovan girişinde toplu hastalıklı ya da ölü erginlerin bulunması, kanatların ayrılması, karnın şişmesi, uçamama ve yerde sürünme gibi bulgulara dikkat edilerek bu kovanlara ait örnekler toplanmaya özen gösterilmiştir (Bailey 1967, Anonim 2008b, Uygur ve Girişkin 2008). Belirlenen aylarda 20'şer canlı, 20'şer ölü 40 işçi arı olmak üzere toplamda iki kez arazi çalışması yapılmış olup her ilden 80'er adet arı diseksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca 960 işçi arı incelenmiştir. Belirlenen yerler, örnek toplanan aylar ve çalışma boyunca toplamda incelenen arı sayıları Çizelge 3.1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. Arazi çalışması yapılan yerler ve toplanan örnek sayıları

İl	İlçe	Köy /Mevki	Toplanan örnek sayıları	
			Temmuz-Ağustos	Eylül- Ekim
Mersin	Erdemli	Alata	20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Hakkâri	Şemdinli	Akkakavak Mevki	20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Artvin	Ardanuç		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Balıkesir	Kalaycılar		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Kırklareli	Kofçaz		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Yalova	Merkez	Elmalık Köyü	20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Muğla	Marmaris		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Ardahan	Merkez		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Edirne	Merkez	Budak Doğanca	20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Sivas	Hafik		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
İzmir	Bergama		20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı
Niğde	Bor	Balcı Köyü	20 ölü/20 canlı	20 ölü/20 canlı

3.2. Mikroskopik İnceleme

Arazi çalışmaları ile elde edilen ergin işçi arılar proje süresince bekletilmeden, disekte edilip, ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Araziden elde edilen örnekler dikkatli bir biçimde önceden hazırlanan Ringer solüsyonu içerisinde diseksiyona tabi tutulmuştur. Diseksiyon sırasında patojenin hangi dokularda etkin olduğunun gözlemlenebilmesi için böcek dokuları dikkatli bir biçimde abdomen ve toraks bölgesinden disekte edilmiştir. Bunun için steril bir forseple abdomen segmenti çıkartılarak, malpigi tüplerini, ince bağırsağı ve rektumu içeren karıncık bölgesi ortaya çıkarılmıştır. Daha sonra lam üzerine 2-3 damla Ringer solüsyonu ekleyerek hazırlanan preparatlar ışık ve faz kontrast mikroskobu altında 400x ile 1000x arasındaki büyütmelemlerde incelenerek sporları tespit edilen hastalık etkeninin orijinine bağlı olarak boy, en, spor şekli gibi morfolojik özellikleri belirlenmiştir (Yaman ve Radek 2003, Yaman ve ark. 2005, Yaman ve ark. 2008, Yaman ve ark. 2010).

3.3. Giemsa Boyası ile Patojenlerin Tespiti

Nüklear ve sitoplazmik hücrel ayrıntıları net olarak ayırabilen karakterde bir boya olduğu için hazırlanan preparatlar giemsa boyası ile boyanmıştır. Bu boya aynı zamanda hastalık etkenlerinin spor ve vejetatif safhalarının mantar ve diğer protistlere ait yapılardan ayrılmasında ve teşhisinde yardımcı olarak kullanılmıştır.

Patojenlere ait örnekleri içeren preparatlar önce oda sıcaklığında açık havada kurutularak, %100'lük metil alkolde 3 dakika fikse edildikten sonra tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Önceden tampon solüsyonu ile hazırlanan % 5'lik giemsa boyasında ortalama 10 saat bekletilmiş daha sonra boya sonrası steril su akıtılarak preparatlar boya fazlasından arındırılmış ve tekrar kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra immersiyon yağı kullanılarak mikroskop altında 1000x büyütmede incelenmiştir (Toguebaye ve ark. 1988, Anonim 2008b, Yaman ve ark. 2010).

3.4. Moleküler Çalışmalar

Çoğu hastalıklar oluşan dış belirtiler kullanılarak familya seviyesinde, nadir olarak da cins seviyesinde tespit edilebilmektedir (Kayral 2010). Nosemosisde dış belirti çok azdır (Bailey 1967, Anonim 2008b, Uygur ve Girişkin 2008, Whitaker ve ark. 2010), bilinen tek dış belirti arıların oluşturdukları davranışsal değişikliklerdir. Enfekte genç arıların olgun arılara ait davranışlar sergilemesi bunun örneği olarak gösterilebilir (Campbell ve ark. 2010). Davranışsal değişiklikler kullanılarak tür seviyesinde saptamak mümkün olmadığı için bu çalışmada ayrıca moleküler teknikler de kullanılmıştır.

Işık mikroskobu ile yapılan çalışmalarda muhtemel varlığı belirlenen patojenin moleküler analizleri yapılarak kesin tür teşhisi yapılmıştır. Teşhis için literatürde en güncel olarak önerilen ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından kabul edilen metodoloji (Anonim 2008b) takip edilmiştir. Moleküler çalışmalarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu kullanılarak patojenin kesin tür teşhisleri yapılmıştır.

3.4.1. PZR İçin rneklerin Hazırlanması

Saflaştırılmış microsporidia sporlarından DNA izolasyonu ve PZR metodu kullanılarak rDNA çoğaltılmıştır (Tosun 2012). Spor germinasyonu % 0.3 hidrojen peroksit kullanılarak DNA elde edilmiştir. Saf olarak elde edilen spor örneklerinden 50 µl alınarak bir ependorf tüp içerisine aktarılmıştır, üzerine 50 µl % 0.3'lük H₂O₂ (Hidrojenperoksit) eklenip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir (Higes ve ark. 2006). 1 mm çapında 0.1 gramlık cam bilyeler ependorf tüplerine eklenmiştir ve karıştırıcıda 3000 rpm de 1 dakika bekletildikten sonra (Hylis ve ark. 2005), ticari DNA izolasyon kiti (QIAGEN, No, 69504) kullanılarak DNA izole edilmiştir (Higes ve ark. 2006, Martin-Hernandez ve ark. 2007, Anonim 2008b, Tosun 2012).

3.4.2. Multiplex PZR

Bu teknikte spesifik primerler kullanılarak tek bir PZR ile hem *Nosema apis*'i hemde *Nosema ceranae*'yi birbirinden ayırt etmek mümkündür (Anonim 2008b). PZR reaksiyonları hazır PZR tamponu (Quiagen Multiplex PCR Kit, No: 206143), her bir çift primeri (izelge 3.2), *Nosema apis* ya da *Nosema ceranae*'ye özgü template DNA'ları, Tag DNA polimerazı içerecek şekilde toplam 25 µl'lik hacimde hazırlanmıştır. PZR amplifikasyonundaki döngüler OIE'de (Anonim 2008b), belirtildiği gibi, 94 C'de 15 sn, 61.8 C'de 30 sn, 72 C'de 45 sn 10 döngü ve 94 C'de 15 sn, 6.8 C'de 30 sn, 72 C'de 50 sn 20 döngü olacak şekilde, ayrıca 5 sn elongasyon döngüsü ve son döngüyü takiben 72 C'de 5 dk son uzama işlemi olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR rnleri standart buffer içinde % 1.5'lik agaroz jelde yürütülmüş ve ethidium bromide ile boyanıp, UV transilluminatrde varlığı belirlenmiştir. İşlemler esnasında negatif kontroller kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. PZR çalışmalarında kullanılan primerler

<u>Etken</u>	<u>Primer (Anonim 2008b)</u>	<u>Ağırlık</u>
<i>Nosema ceranae</i>	218MITOC FOR - 5'-CGGCGACGATGTGATATGAAA-ATATTAA-3' 218MITOC REV 5'-CCCGGTCATTCTCAAACAAAA-AACCG-3'	218-219pb
<i>Nosema apis</i>	321APIS FOR 5'-GGGGGCATGTCTTTGACGTA-3' 321APIS REV 5'-GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAACA-3'	321bp

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS for Windows (v.15.0) software paket program kullanılmıştır. Her preperattan rastgele ölçülen 100'er adet sporun boy ve en uzunluklarının ortalamalarını ve standart sapmalarını belirleyebilmek için one-way variance analysis kullanılıp, ardından Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenen illerdeki ortalama uzunluklar karşılaştırılmıştır. Bu ortalamalardan yola çıkılarak farklı gruplar belirlenip, büyük ortalamadan küçüğe doğru harflendirme yapılmıştır. Sonuçlar 0,05 limiti ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, varyasyon katsayısı değeri de hesaplanarak uzunluklarda en fazla değişkenlik gösteren il tespit edilmiştir.

$$\%VK = \frac{S.S}{\bar{X}} 100$$

VK : Varyasyon katsayısını,

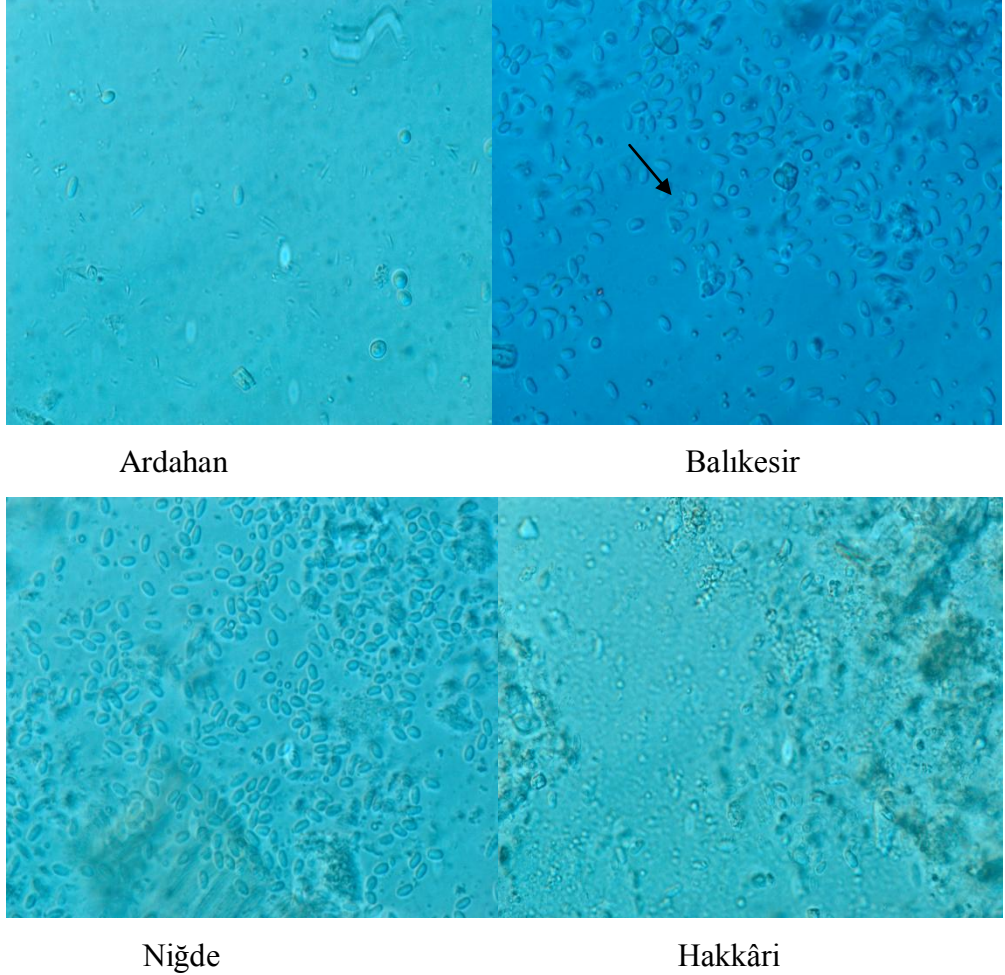
S.S : Standart sapmayı,

\bar{X} : Aritmetik ortalamayı ifade etmektedir.

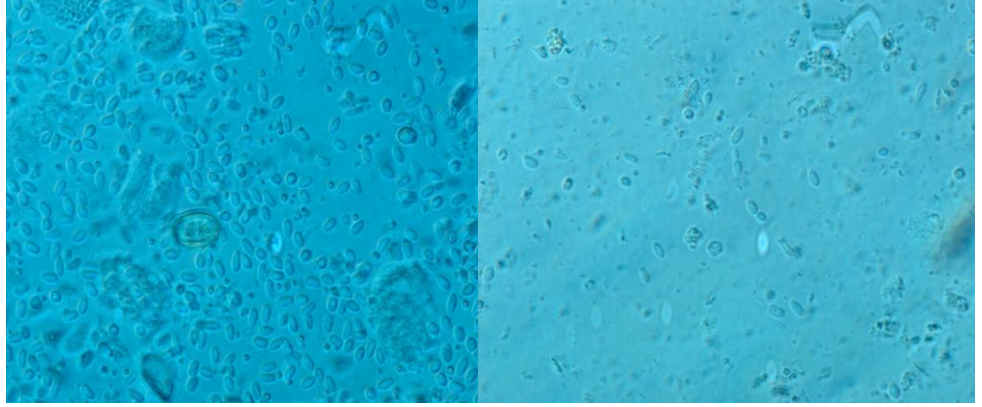
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Hastalığın Varlığının Tesbiti

Bu çalışmada belirlenen 12 ile ait 40'ar ölü, 40'ar canlı arı olmak üzere toplamda 960 arı incelenmiştir. Seçilen 12 il içinden yapılan diseksiyon çalışmalarında sadece 7 sinde spor varlığı tesbit edilmiştir (Ardahan, Balıkesir, Hakkâri, Niğde, Yalova, Muğla, Artvin). Nosemosise neden olan patojene ait olduğu düşünülen sporlara arıların vücut boşluklarında (Şekil 4.1) ve bağırsaklarında (Şekil 4.2) rastlanmıştır.



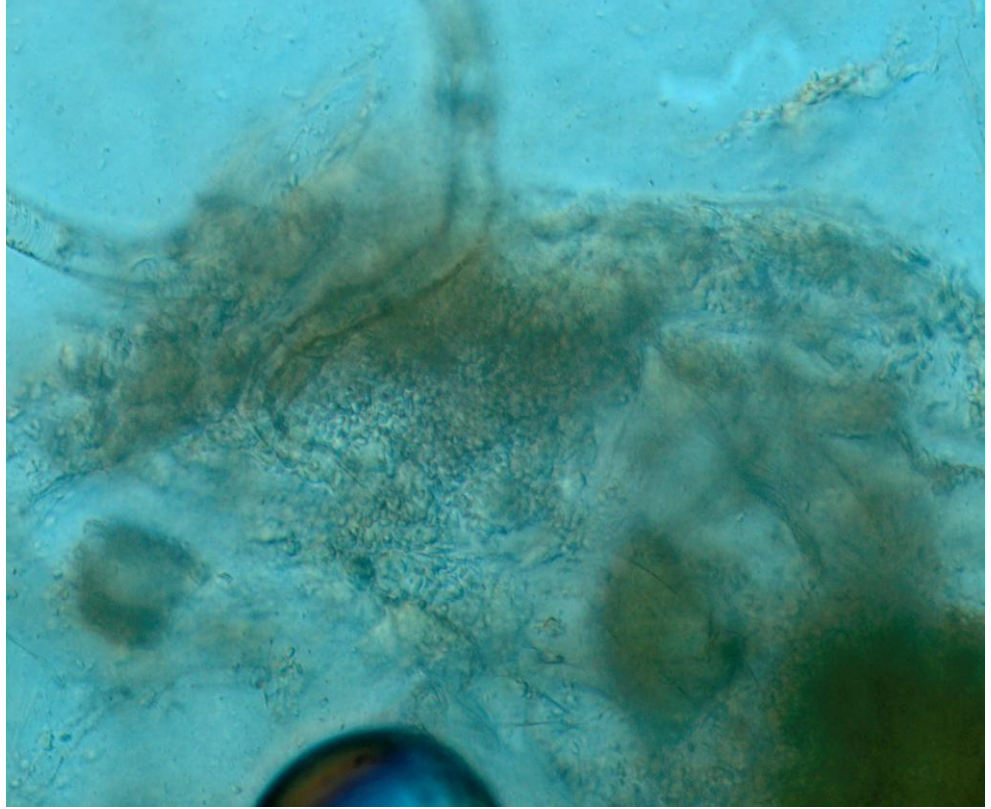
Şekil 4.1. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların boyasız ışık mikroskobu görüntüleri (400x)



Muğla

Yalova

Şekil 4.1. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların boyasız ışık mikroskobu görüntüleri (400x) (devamı)



Şekil 4.2. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların arı bağırsağı içerisindeki boyasız ışık mikroskobu görüntüsü (100x)

4.2. Sporlar Formlarının Morfolojik Ölçümleri

Fotoğrafları çekilen pereperatlardan rastgele seçilen 100'er (n=100) sporun en ve boy ölçümleri yapılarak ortalamaları alınmıştır. Spor formlarının varlığı tesbit edilen iller için sporların genel boy ortalaması $4.65 \pm 0.4 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur. Varyasyon katsayısı değerlerine göre boy ortalamalarında en fazla değişkenlik gösteren il 10.91 ile Hakkâri, en az değişkenlik gösteren il 7.46 ile Muğla olarak tespit edilmiştir. Ayların toplam boy ortalamaları ele alınarak yapılan çoklu karşılaştırma testi ile de Ardahan ve Muğla yüksek boy ortalamaları ile aynı grupta yer alırken, en düşük ortalamaya sahip olan Hakkâri 4.58 ile farklı bir grupta yer almıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların boy ölçümleri

İller	Boy ortalamaları±standart sapma		Ayların toplam boy uzunlukları ortalamaları	İllerin max ve min boy uzunluğu	Varyasyon katsayısı (%)
	Temmuz_ Ağustos (n=100)	Eylül_Ekim (n=100)			
Ardahan	$4.75 \pm 0.5 \mu\text{m}$	$4.70 \pm 0.3 \mu\text{m}$	$4.72^a \mu\text{m}$	$5.62-3.71 \mu\text{m}$	8.47
Balıkesir	$4.70 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.60 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.65^{abc} \mu\text{m}$	$5.42-3.75 \mu\text{m}$	8.60
Hakkâri	$4.58 \pm 0.5 \mu\text{m}$	$4.59 \pm 0.5 \mu\text{m}$	$4.58^c \mu\text{m}$	$6.34-3.52 \mu\text{m}$	10.91
Niğde	$4.61 \pm 0.5 \mu\text{m}$	$4.59 \pm 0.3 \mu\text{m}$	$4.60^{bc} \mu\text{m}$	$6.11-3.60 \mu\text{m}$	8.69
Yalova	$4.60 \pm 0.3 \mu\text{m}$	$4.62 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.61^{bc} \mu\text{m}$	$5.64-3.52 \mu\text{m}$	7.59
Muğla	$4.70 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.69 \pm 0.3 \mu\text{m}$	$4.69^a \mu\text{m}$	$5.51-3.72 \mu\text{m}$	7.46
Artvin	$4.67 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.67 \pm 0.4 \mu\text{m}$	$4.67^{ab} \mu\text{m}$	$5.71-3.80 \mu\text{m}$	8.56
İllerin genel boy ort± standart sapma	$4.65 \pm 0.4 \mu\text{m}$				

*a,b ve c harfleri Duncan testine göre homojen grupları temsil etmektedir ($P < 0.05$).

7 il için genel en ortalaması ise 2.52 ± 0.3 μm olarak bulunmuştur. Varyasyon katsayısı değerlerine göre en ortalamalarında en fazla değişkenlik gösteren il 14.86 ile Ardahan, en az değişkenlik gösteren il 9.88 ile Balıkesir olarak tespit edilmiştir. En uzunluklarının ortalamaları ele alınarak yapılan çoklu karşılaştırma testi ile de Ardahan yine yüksek en ortalaması ile bir grupta yer alırken, Hakkâri 2.45 ortalama ile farklı bir grupta yer almıştır (Çizelge 4.2).

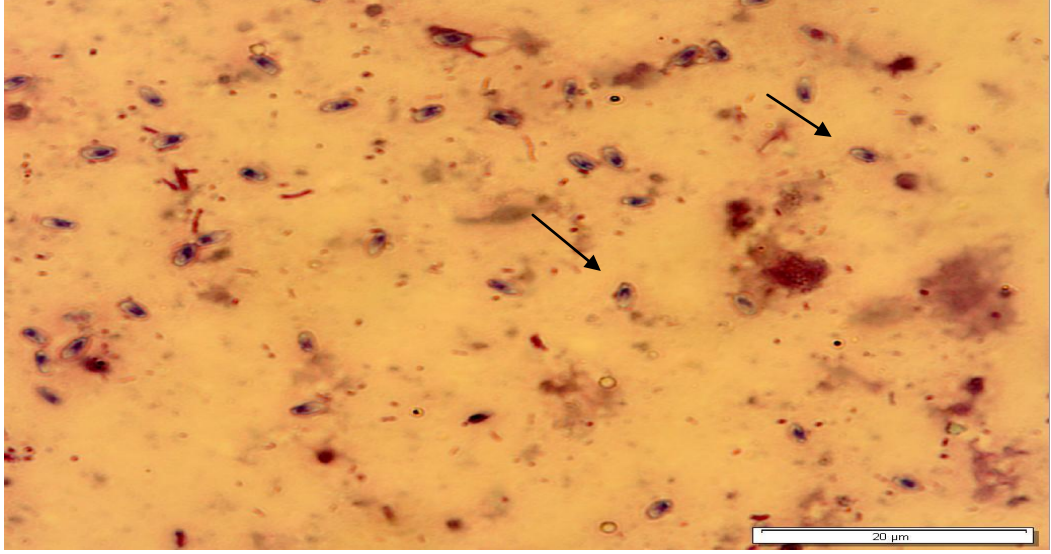
Çizelge 4.2. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların en ölçümleri

İller	En ortalamaları \pm standart sapma		Ayların toplam en uzunlukları ortalamaları	İllerin max ve min en uzunluğu	Varyasyon katsayısı (%)
	Temmuz_ Ağustos (n=100)	Eylül_Ekim (n=100)			
Ardahan	2.69 \pm 0.4 μm	2.70 \pm 0.4 μm	2.69 ^a μm	3.40-1.84 μm	14.86
Balıkesir	2.54 \pm 0.2 μm	2.52 \pm 0.3 μm	2.53 ^b μm	3.30-1.88 μm	9.88
Hakkâri	2.45 \pm 0.3 μm	2.46 \pm 0.4 μm	2.45 ^c μm	3.49-1.95 μm	14.28
Niğde	2.52 \pm 0.3 μm	2.52 \pm 0.4 μm	2.52 ^b μm	3.13-1.74 μm	13.88
Yalova	2.50 \pm 0.3 μm	2.49 \pm 0.4 μm	2.49 ^{cd} μm	3.25-1.78 μm	14.05
Muğla	2.52 \pm 0.3 μm	2.51 \pm 0.2 μm	2.51 ^{bc} μm	3.45-1.84 μm	9.96
Artvin	2.48 \pm 0.2 μm	2.50 \pm 0.3 μm	2.49 ^d μm	3.30-1.92 μm	10.04
İllerin genel en ort \pm standart sapma	2.52 \pm 0.3 μm				

*a,b,c,d ve e harfleri Duncan testine göre homojen grupları temsil etmektedir (P<0.05).

4.3. Spor Formlarının Giemsa Boyası ile Tesbiti

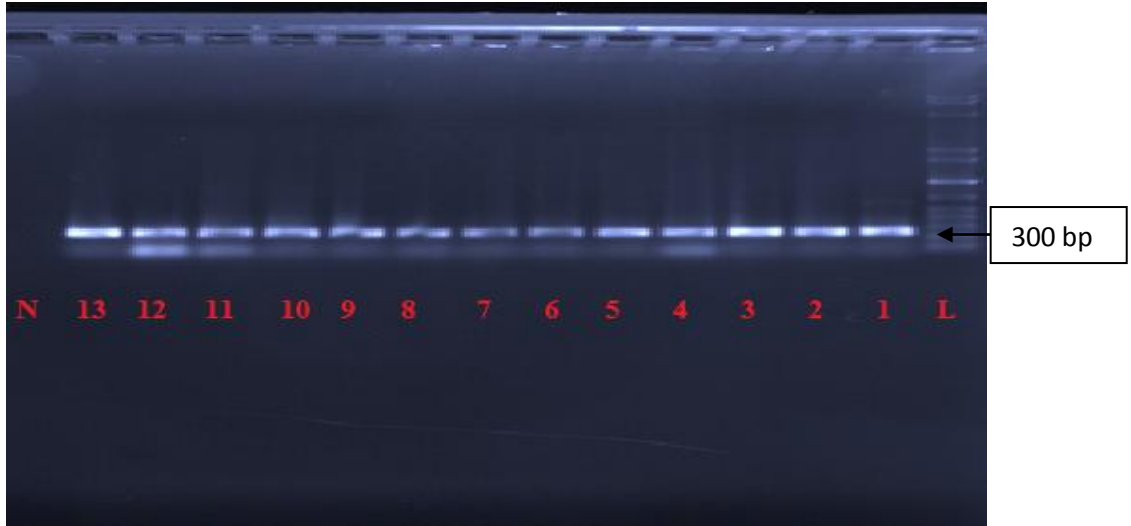
Giemsa boyası nosemosise ait sporları diğer spor formlarından ayırmak için kullanılmıştır. Çekirdekleri mavi boyanmış, duvarları ise boyanmamış olan sporlar belirlenmiştir (Şekil 4.3).



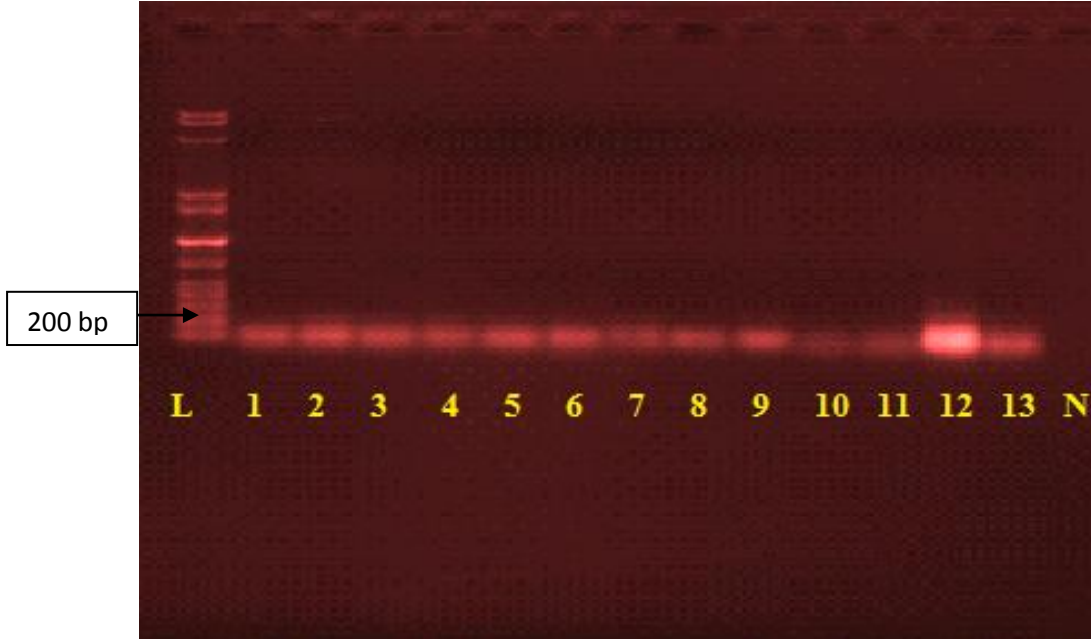
Şekil 4.3. Nosema patojenine ait olduğu düşünülen sporların giemsa boyası ile boyanmış ışık mikroskobu görüntüsü (1000x)

4.4. Patojenlerin Moleküler Karakterizasyonu

Giemsa boyası ile ön değerlendirme yapılan spor formlarına ayrıca multiplex PZR yöntemi uygulanmıştır. Multiplex PZR'ı doğrulama amaçlı olarak *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* için ayrı ayrı satandart PZR uygulanmıştır ve sonuç olarak her iki yöntemde de agoroz jelde tek bantlaşma görülmüştür (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.4. *Nosema apis* primeri ile yapılan agaroz jel elektroforezi: 1- Balıkesir, 2- Hakkari, 3-Hakkari, 4- Hakkari, 5- Muğla, 6- Balıkesir, 7- Niğde, 8- Yalova, 9- Ardahan, 10- Ardahan, 11- Yalova, 12- Artvin, 13- Balıkesir, L- İşaretleyici, N- Negatif kontrol



Şekil 4.5. *Nosema ceranae* primeri ile yapılan agaroz jel elektroforezi: 1- Balıkesir, 2- Hakkari, 3-Hakkari, 4- Hakkari, 5- Muğla, 6- Balıkesir, 7- Niğde, 8- Yalova, 9- Ardahan, 10- Ardahan, 11- Yalova, 12- Artvin, 13- Balıkesir, L- İşaretleyici, N- Negatif kontrol

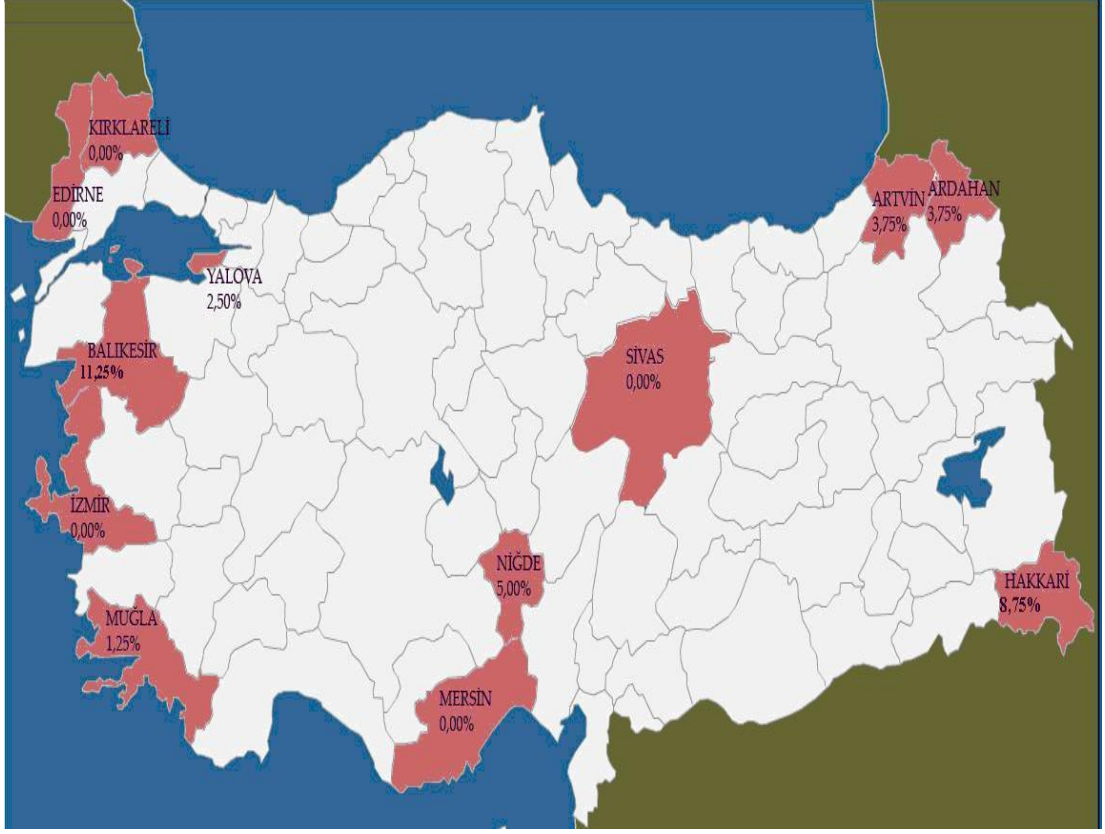
Çizelge 4.3'deki illere göre nosemosis etkeni dağılımına bakıldığında Temmuz- Ağustos ayları içerisinde toplanan örneklerde *Nosema apis*'e canlı arılarda 6, ölü arılarda 13 diseksiyonda rastlanmıştır, Eylül-Ekim aylarına gelindiğinde ise, aynı patojene canlı arılarda 3, ölü arılarda 7 diseksiyonda rastlanmıştır. Çizelgeyi aylar bazında yorumlanacak olursa Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim aylarının her ikisinde de hastalığın ölü arılardaki oranı canlı arılardaki oranından fazladır, ayrıca ilk aylarda toplanan örneklerle göre ikinci arazi çalışmasında yine aynı arılıktan toplanan örneklerde hastalanma oranının hem canlı hemde ölü arılarda azaldığı görülmüştür. En yüksek oranın ise Temmuz-Ağustos aylarında toplanan ölü arılarda olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *Nosema apis* patojeni bulaşık arı sayıları

İLLER	Örnek Toplanan Aylar ve Örnek Sayıları			
	Temmuz-Ağustos (20 şer ölü- 20 şer canlı arı)		Eylül-Ekim (20 şer ölü- 20 şer canlı arı)	
Balıkesir	4 canlı	2 ölü	1 canlı	2 ölü
Ardahan	–	1 ölü	2 canlı	–
Hakkâri	–	4 ölü	–	3 ölü
Muğla	1 canlı	–	–	–
Niğde	–	3 ölü	–	1 ölü
Yalova	1 canlı	1 ölü	–	–
Artvin	–	2 ölü	–	1 ölü
Edirne	–	–	–	–
Kırklareli	–	–	–	–
Mersin	–	–	–	–
Sivas	–	–	–	–
İzmir	–	–	–	–
TOPLAM	6	13	3	7
Hastalıklı Arı Sayısı/ Toplanan Arı Sayısı	%2.5	%5.4	%1.2	%2.9
Genel Ortalama	%3,9		%2,0	

4.5. *Nosema apis* Patojeninin Belirlenen İllerdeki Dağılım Oranları

Nosema apis'in belirlenen illerdeki dağılımına şekil 4.6'daki harita üzerinden bakıldığında en yüksek oranın % 11,25 ile Balıkesir'de olduğu belirlenmiştir, ikinci sırada ise % 8,75 oranıyla Hakkâri gelmektedir. Edirne, Kırklareli, Mersin, Sivas, İzmir'de ise hastalık etkenine rastlanmamıştır.



Şekil 4.6. Türkiye'deki 12 ilde *Nosema apis* patojeninin dağılım oranı haritası

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nosemosisin bulaş noktaları ile ilgili bulgular farklı bilim adamları tarafından araştırılmıştır. Chen ve ark. (2009a) ile Tosun (2012), yaptığı çalışmalarda nosemosisin yoğun olarak bağırsak ve vücut boşluğunda enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise malpigi tüpü ve kas dokusunda her iki hastalık etkeninin enfeksiyon yapmadığı rapor edilmiştir (Martin-Hernandez ve ark. 2009). Farklı çalışmalarda bal arılarının tükürük bezi ve salgı hücreleri ile malpigi tüplerinde, yağ dokusunda ve kas dokusunda sporlara çeşitli yöntemler kullanılarak ulaşılabildiği bildirilmiştir (Klee ve ark. 2007, Somerville ve Hornitzky 2007, Chen ve ark. 2009a). Kullanılan farklı yöntemler araştırmacılara patojenin sporlarına değişik kısımlarda rastlama imkanı vermiştir. Bu çalışmada sadece bağırsak ve vücut boşluklarında sporların varlığına bakılmıştır, diğer yöntemler kullanılmamıştır.

Nosema sporları hakkında literatürde bulunan sonuçlar birbirine yakındır. Huang ve ark. (2007), *Nosema ceranae* sporlarının boyu ve enini 4.5x2.4 µm rapor ederken, Chen ve ark. (2009a), boyunun 3.9–5.3 µm, eninin 2.0–2.5 µm arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. OIE (Anonim 2008b) *Nosema apis* sporlarının boyunu 5-7 µm, enini 3-4 µm, Huang (2011) boyunu ve enini 6x3 µm belirtmişlerdir. Tosun (2012)'da *Nosema ceranae*'ye ait sporların taze preparatlarında boyunu ve enini 4.9x2.83 µm olarak bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *Nosema ceranae*'ye ait sporlara hiç rastlanmamış olup, *Nosema apis* sporlarının boyu 4.65±0.4 (6.34-3.52) µm (n=100), eni ise 2.52±0.3 (3.49-174) µm (n=100) olarak bulunmuştur ve bu oran yukarıdaki literatürlere uygundur.

Nosemosisin ülkemizdeki dağılımı ile ilgili de ışık mikroskobu düzeyinde birçok çalışma yapılmış olup, Karadeniz Bölgesi ile ilgili bir çalışmada kolonilerin % 0.95'nin (Yaşar ve ark. 2002), Bingöl ve civarında yapılan bir çalışmada ise ortalama % 38.5'inin nosemosis ile enfekte olduğu bildirilmiştir (Kutlu ve Ekmen 2003), yine Güney Marmara Bölgesinde yapılan bir anket çalışmasında, bölgede bulunan kolonilerde % 5'inin (Aydın ve ark. 2003), Bingöl ve çevresinde yapılan başka bir çalışmada ise % 26.16 oranında enfeksiyon bildirilmiştir (Gül ve Kutlu 2009). Türkiye'de 20 örneklemden toplam 84 örnek toplanarak yapılan başka bir çalışmada Artvin, Muğla ve Hatay'da *Nosema ceranae*'ye, Sivas, İzmir, Gaziantep ve Bitlis'te

ise *Nosema apis*'e rastlanmıştır (Whitaker ve ark. 2010), fakat bu çalışmada Muğla ve Hatay'da *Nosema apis*'e, Sivas ve İzmir'de ise her iki patojene ait sporlara da rastlanmamıştır. Yine Karadeniz Bölgesinde yapılan daha detaylı bir çalışmada tür seviyesinde tespit yapılmış olup Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu, Gümüşhane ve Bayburt illerinde kolonilerin % 20.2'sinde *Nosema ceranae* enfeksiyonu olduğu rapor edilmiştir (Tosun 2012). Bu çalışmada ise sayılan iller içerisinde sadece Artvin çalışılmış olup alınan örneklerde % 3.75 oranında *Nosema apis* patojenine ait sporlara rastlanırken *Nosema ceranae*'ye ait sporlara rastlanmamıştır. Çalışmada toplamda incelenen 960 arının % 3.02'sinde *Nosema apis* sporları belirlenmiş olup bu oran literatürdeki bazı çalışmalarla uygunluk gösterirken, bazılarında göre oldukça düşük olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlardaki düşük yüzdelik çalışmadaki alanın büyüklüğünden kaynaklanmış olabilir. Ayrıca kullanılan arı toplama teknikleri, toplama zamanları ve örneklerin alındığı kovanlar bu farklılıklara neden olmuş olabilir.

Enfeksiyonun aylara göre dağılımı ile ilgili olarak Brenna ve ark. (2012), *Nosema ceranae* enfeksiyonunun Nisan-Haziran aylarında yüksek, Eylül-Mart ayları arasında ise düşük seviyede görüldüğünü, ayrıca *Nosema apis* enfeksiyonunun bahar aylarında bir yükselme, yazın doğru düşüş, kış öncesi tekrar bir yükselme gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada *Nosema ceranae* sporlarının sıcaklık ve nem toleransı geniş olduğundan tüm sezonlarda yayılma gösterirken, *Nosema apis* sporlarının soğuk kış aylarını ve kovan içi sıcaklığı tercih ettiği bildirilmiştir (Martin-Hernandez ve ark. 2009, Traver ve Fell 2011). Bu bilgilerden yola çıkarak da *Nosema ceranae*'nin *Nosema apis*'e oranla daha iyi bir adaptasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Tosun (2012), tarafından yapılan çalışmada ise Temmuz ayından Eylül ayına doğru gidildikçe enfeksiyonun azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmada ise Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim ayları arasında toplanan örneklerde Temmuz-Ağustos ayları toplam enfeksiyon oranı % 3.9 iken Eylül-Ekim ayları için enfeksiyon oranı % 2.0 olarak bulunmuştur, Eylül-Ekim aylarına gidildikçe enfeksiyon oranındaki bu azalma diğer araştırmalarla benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak belirtilen aylar içerisinde ve yerlerde *Nosema apis* enfeksiyonuna diğer çalışmalara göre daha düşük oranda rastlanırken, *Nosema*

ceranae enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Fakat bu sonuç Türkiye genelinde veya bu illerde hiç olmadığı anlamına gelmemektedir.

Bu çalışmada noseimosis'in arı sağlığı açısından kontrol altına alınması gerektiği saptanmıştır. Hastalığın kontrol çalışmalarının planlanıp uygulamaya geçebilmesi için enfeksiyon etkeninin epidemiyolojisinin belirlenmesi gerekmektedir. Ülkemizde bu patojenin epidemiyolojisinin belirlenmesi için Ziraat fakülteleri, Fen edebiyat fakülteleri ve devlet desteğiyle daha geniş kapsamlı bir araştırmanın yapılması önerisi sunulmuştur. Yapılan bu çalışmanın ileride yapılacak olan araştırmalara ışık tutacağı kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Anonim, 2008a. Arıcılık ve Bal Üretimi. Ordu Ticaret Borsası Yayınları (www.ordutb.org.tr), Ordu-(Erişim tarihi: 10.10.2012).
- Anonim, 2008b. Nosemosis of honey bees, Manual Of Diagnostic Tests And Vaccines For Terrestrial Animals, Chapter 2.2.4., OIE, Volume 1: 410-414 - (Erişim tarihi: 21.04.2013).
- Anonim, 2013a. Bal Arılarında Nosema Hastalığı ve Tanınması. perweb.firat.edu.tr/personel/yayinlar/fua_1433/1433_17615.doc-(Erişim tarihi: 21.04.2013).
- Anonim, 2013b. Arı yetiştiriciliği. Nosema hastalığı. <http://www.veteriner.cc/ari/nosema.asp>- (Erişim tarihi:20 .04.2013).
- Aydın, L., Güleğen, E., Çetinbaş, H., 2001.Bursa yöresi bal arılarında *Nosema apis*'in Zander, (1909) yaygınlığı. Türkiye 3. Arıcılık Kongresi. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Adana.
- Aydın, L., Çakmak, İ., Güleğen, E. ve Korkut, M., 2003. Güney Marmara Bölgesi Arı Hastalıkları ve Zararlıları Anket Sonuçları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 1: 37-40.
- Bailey, L., 1967. *Nosema apis* and dysentery of the honey bee. J. Apic. Res., 6: 121-125.
- Bailey, L., Ball, B.V.,1991. Honey Bee Pathology. 2nd ed. Academic Press, London.
- Başar, E., 1990. Ülkemizdeki bal arılarında (*Apis mellifera*) *Acarapis woodi* ve *Nosema apis* parazitlerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Brenna E., Traver, B., E., Matthew R. Williams, M., R., Richard D. ve Fell, R., D., 2012. Comparison of within hive sampling and seasonal activity of *Nosema ceranae* in honey bee colonies. Journal of Invertebrate Pathology, 109: 187-193.
- Burges, H. D., Canning, E. U. ve Hulls, I. K., 1974. Ultrastructure of *Nosema oryzaephili* and the taxonomic value of the polar filament. Journal Invertebrate Pathology, 23:135-139.
- Campbell, J., Kessler, B., Mayack, C. ve Naug, D., 2010. Behavioural fever in infected honeybees: parasitic manipulation or coincidental benefit?. Parasitology, 137: 1487-1491.
- Chen, Y., P., Evans, J., D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen-Rindal, D. ve Pettis, J., S., 2009a. Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera*. J. Eukaryot. Microbiol., 56(2): 142-147.
- Chen, Y., Evans, J., D., Zhou, L., Boncristiani, H., Kimura, K., Xiao, T., Litkowski, A., M. ve Pettis, J., S., 2009b. Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae*

- and *Nosema apis* in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101: 204-209.
- Cox, J. C. ve Pye, D., 1975. Serodiagnosis of Nosematosis By Immunofluorescence Using Cell-Culture-Grown Organisms. *Laboratory Animals*, 9: 297-304.
- Didier, E.S.,1998. Microsporidiosis. *Clin.Infect. Dis.* 27:1-7.
- Didier, E.S., Weiss, L.M., 2006. Microsporidiosis: current status. *Curr Opin Infect Dis*, 19: 485-92.
- Doğaroğlu, M., 2009. Modern Arıcılık Teknikleri. 4.mBasım, Türkmenler Matbaacılık, Tekirdağ.
- Erickson, B.W. ve Blanquet, R.S., 1969. The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi*. *Journal Invertebrate Pathology*, 14: 358-364.
- Fantham, H. B.,Porter, A. 1912. The morphology and life history of *Nosema apis* and the significance of its various stages in the so-called“Isle of Wight” disease in bees (Microsporidiosis). *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 6: 163-195.
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martin-Hernandez, M. ve 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.
- Franzen, C., Muller, A., 1999. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clin. Mic. Rev.*,12: 243-85.
- Fries, I., Feng, F., Silva, A., D., Slemenda, S., B. ve Pieniazek, N., J., 1996. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis ceranae* (Hymenoptera, Apidae., *European Journal of Protistology*, 32: 356-365.
- Fries, I., 1997. Protozoa. 59-76. In: Morse RA, Flottum K (Ed), *Honey Bee Pests, Predators, Diseases*. A I Root Company, USA.
- Fries, I., 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: 73-79.
- Garcia, L.S., 2002. Laboratory Identification of the Microsporidia. *Journal of Clinical Microbiology*, June, 1892-1901.
- Genç, F., 1997. Arıcılığın Temel Esasları. 3. Baskı. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 166. Erzurum.
- Gisder, S., Hedtke, K., Mockel, N., Frielitz, M.C., Linde, A. ve Genersch, E., 2010. Five- year Cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*?. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76: 3032-3038.
- Gochnauer, T.A., Furgala, B., Shimanuki, H., 1975. Nosema diseases. 635- 643. İn: Dadant and Sons (Eds.). *The Hive and the Honey Bee*. Dadant and Sons, Hamilton, Illinois.

- Gray, F.H., Cali, A., and Briggs, J. D. 1969. Intracellular stages in the life cycle of the microsporidian *Nosema apis*. J.Invertebr. pathol. 14:391-394.
- Gül, A. ve Kutlu, M.A., 2009. Bingöl İli ve İlçelerinde Görülen Bal Arısı Hastalık ve Zararlılarının Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. 3. Bingöl Sempozyumu Kitaplığı, Bingöl.
- Higes, M., Martin, R. ve Meana, A., 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honey bees in Europe. Journal of Invertebrate Pathology, 92: 93-95.
- Higes, M., Martin-Hernandez, R., Botias, C., Garrido-Bailon, E., Gonzalez-Porto, A.V., Barrios, L., Del Nozal, M.J., Bernal, J.L., Jiménez, J.J., Palencia, P.G., Meana, A., 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Env. Microbiol, 10: 2659–2669.
- Higes, M., Martin-Hernandez, R. ve Meana, A., 2010a. *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis: Apidologie, 41: 375-392.
- Hornitzky, M.A., 2010. Honey bee diseases. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure, July, 1-20.
- Huang, W.F., Jiang, J.H., Chen, Y.W. ve Wang, C.H., 2007. A *Nosema ceranae* isolate from the honey bee *Apis mellifera*. Apidologie, 38: 30-37.
- Huang, Z., 2011. Effects of Nosema on Honey Bee Behavior and Physiology. American Bee Journal, 151(9):871-874.
- Hylis, M., Weiser, J., Obornik, M. ve Vávra, J. 2005. DNA isolation from museum and type collection slides of microsporidia. Journal of Invertebrate Pathology, 88: 257260.
- Invernizzi, C., Abud, C., Tomasco, I., Harriet, J., Ramallo, G., Campa, J., Katz, H., Gardiol, G. ve Mendoza, Y., 2009. Presence of *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*) in Uruguay. Journal of Invertebrate Pathology, 101: 150-153.
- Kandemir, İ., 2007. Amerika Birleşik Devletleri'nde Toplu Arı Ölümleri ve Koloni Çökme Bozukluğu Üzerine Bir Derleme. Uludağ Arıcılık Dergisi, Mayıs, 63-69.
- Kassai, T., Cordero del Campillo, M., Euzeby, J., Gaafar, S., Hiepe, Th. and Himonas, C.A., 1988. Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). Vet. Parasitol. 29 : 299-326.
- Kayral, G., 2010. Bal Arısı Hastalıkları ve Zararlıları. Zafer Matbaası, İstanbul.
- Kekeçoğlu, M., Gürcan, E. K., Soysal, M. İ., 2007. Türkiye Arı Yetiştiriciliğinin Bal Üretimi Bakımından Durumu. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(2):227-236.
- Kilani, M., 1999. Nosemosis. 99 - 106. İn: Colin, M. E., Ball, B. V., Kilani, M.(Eds). Bee Disease Diagnosis. Zaragoza : Ciheam.
- Klee, J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D.Q., Chinh, T.X., Puerta, F., Ruz, J. M., Kryger, P., Message, D., Hatjina, F., Korpella, S., Fries, I. ve 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: 1-10.
- Kurt, M., 2007. Nosemosis, Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 1-14.
- Kutlu, M.A., 1988. Ergin bal arısı (*Apis Mellifera* L.) hastalığı *Nosema apis*'in dağılımı ve enfeksiyon oranı üzerine bir araştırma. Master Tezi, Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enst., Adana.
- Kutlu, M. A., 1999. Bal arılarında *Nosema* hastalığı ve tanınması. *Teknik Arıcılık*. 63:12-14.
- Kutlu, M., A. ve Ekmen, F., 2003. Bingöl yöresi bal arılarında (*Apis mellifera* L.) *Nosema* hastalığının varlığı ve enfeksiyon oranı. *Teknik Arıcılık*, 79: 24-26.
- Larsson, J.I.R., 1986. Ultrastructure, Function and Classification of Microsporidia. *Progress in Protistology*, 1: 325-390.
- Levine, N., D., 1971. Uniform terminology for the protozoan subphylum Apicomplexa. *J. Protozoology*, 18: 352-355.
- Martin-Hernandez, R., Meana, A., Prieto, L., Salvador, A., M., Garrido-Bailon, E., Higes, M., 2007. Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20): 6331-6338.
- Martin-Hernandez, R., Meana, A., Gartia-Palencia, P., Marin, P., Botias, C., Garrido-Bailon, E., Barrios, L. ve Higes, M., 2009. Effect of temperature on the biotic potential of honey bee microsporidia. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 2554-2557.
- Mayack, C. ve Naug, D., 2009. Energetic stress in the honey bee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100: 185-188.
- Muz, M.N., Solmaz, H., Yaman, M., Karavuk, M., 2012. Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler. *YYÜ Veteriner Fakültesi dergisi*, 23(3):147-150.
- Naug, D. ve Gibbs, A., 2009. Behavioural changes mediated by hunger in honey bees infected with *Nosema ceranae*. *Apidologie*, 40:595-599.
- Paxton, R., J., Klee, J., Korpella, S. ve Fries, I., 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*, 38: 558-565.
- 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.
- Sammatora, D. ve Avitabile, A., 1998. *The Beekeeper's Handbook*, Third Edition, (Tercüme: Vatansever, H., 2004. *Arı Yetiştiriciliği ve Hastalıkları*). Cornell University Press.
- Sıralı, R., Doğaroğlu M., 2005. Trakya bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları üzerine anket sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5:71-78.

- Sıralı, R., 2009. Türkiye'nin Önemli Bal Üretim Bölgeleri. Arıcılık Araştırma Dergisi, 1: 16-20.
- Somerville, D. ve Hornitzky, M., 2007. Nosema disease. http://www.dpi.nsw.gov.au/dataassets/pdf_file0003177519,nosema_disease.pdf, 24 Şubat 2011.
- Sorkun, K., 2008. Türkiyenin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları. Palme Yayınları, Ankara.
- Steche, W., 1965. Zur ontogonie von *Nosema apis* Zander im Mitteldarm der Arbeitsbiene. Bull. Apic. 8:181-212.
- Şahinler, N., Gül, A., 2005. Hatay yöresinde bulunan arıcılık işletmelerinde arı hastalıklarının araştırılması. Uludağ Arıcılık Derneği Derg., 5: 27-31.
- Şimşek, H., Dilgin, N., Gültekin, İ., 2001. Elazığ ve yöresinde bulunan arı işletmelerinde noseματοςin yaygınlığı. Etlik Vet. Mikrobiol. Derg., 12: 49-52.
- Şimşek, D., 2007. Muğla ili bal arılarının (*Apis mellifera* L.) mikrobiyal ve paraziter hastalıklar yönünden incelenmesi. H.Ü Fen Bilim. Ens. Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Tapaszti, Z., Forgách, P., Kövâgo, C., Bekesi, L., Bakonyi, T. ve Rusvai, M., 2009. First detection and dominance of *Nosema ceranae* in Hungarian honeybee colonies. Acta Veterinaria Hungarica, 57: 383-388.
- Togebaye, B., S. ve Marchand, B., 1988. Microsporidia of Chrysomelidae. In: Petitpierre E, Hsiao TH, Jolivet PH (eds) Biology of Chrysomelidae. Kluwer Academic Publishers, Boston, 399-416.
- Topçu, B., 2003. Kars Yöresindeki Bal Arılarında (*Apis mellifera*) Nosemosis'in Yaygınlığı. Yüksek lisans tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Parazitoloji Ana Bilim Dalı.
- Topçu, B., Arslan, M.Ö., 2004. The Prevalence of Nosemosis in Honey Bee in The Province of Kars. Uludağ Arıcılık Dergisi, 164-170.
- Tosun, O., 2012. Bal Arılarında (*Apis mellifera* L., 1758) Nosemosis (Noseματος) Hastalığının Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Bulunan Arı Kolonilerinde ki Varlığı, Dağılımı ve Hastalık Etkenlerinin karakterizasyonu. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon.
- Traver, B., E. ve Fell, R., D., 2011. Prevalence and infection intensity of *Nosema* in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Virginia. J. Invertebr. Pathol., 107: 43-49.
- Tutkun, E., İnci, A., 1992. Bal Arısı Hastalıkları ve Tedavi Yöntemleri (Teşhisten Tedaviye). Demircioğlu Matbaacılık. Ankara.
- Tüzer, E., Toparlak, M., 1999. Veteriner Protozooloji. İstanbul Üniv. Veteriner Fak. Yay. Ders Notu No. 105. İstanbul.
- Uygur, S., Ö. ve Girişgin, A., O., 2008. Bal Arısı Hastalık Ve Zararlıları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 8(4): 130-142.

- Ütük, A., E., Pişkin, F., Ç. ve Kurt, M., 2010. Türkiye'de *Nosema ceranae*'nin ilk moleküler tanısı. Ankara Üniv. Vet Fak Derg, 57:275-278.
- Vávra, J., 1976. Structure of the microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., Comparative Pathobiology. Plenum Press, New York and London, 1: 1-85.
- Vernick, S., H., Sprague, V. ve Krause, D., 1977. Some ultrastructural and functional aspects of the Golgi apparatus of *Thelohania* sp. (Microsporida) in the shrimp *Pandalus jordani* Rathbun. Journal Protozool, 24:94-99.
- Weber R, Bryan RT, Schwartz DA, Owen RL.,1994. Human Microsporidial infections. Clin. Microbiol. Rev.,7: 426-61.
- Weiser, J., 1977. Contribution to the classification of microsporidia. Vest. Cs. spol. zool., 41: 308-320.
- Whitaker, J., Szalanski, A., L. ve Kence, M., 2010. Molecular detection of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* from Turkish honey bees. Apidologie, Available online at: c inra/dib-agib/edp Sciences.
- Yaman, M. ve Radek R., 2003. *Nosema chaetocnema* sp. n., a microsporidian (Microspora, Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). Acta Protozool., 42: 231-237.
- Yaman, M., Radek, R., Aslan, İ. ve Ertürk, Ö., 2005. Characteristic Features of *Nosema phyllotretae* Weiser 1961, a Microsporidian Parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. Zoological Studies, 44(3): 368-372.
- Yaman, M., Radek, R. ve Toguebaye, B., S., 2008. A New Microsporidian of the Genus *Nosema*, Parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Acta Protozool, 47:279-285.
- Yaman, M., Radek, R., Weiser, J. ve Aydın, Ç., 2010. A microsporidian pathogen of the predatory beetle *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae). Folia Parasitologica, 57: 233-236.
- Yaşar, N. Güler, A., Yeşiltaş, H.B., Bulut, G., Gökçe, M. 2002. Karadeniz Bölgesi Arıcılığının Genel Yapısının Belirlenmesi. Mellifera. 2(3):15-24.
- Yazar, S., Kuru, Ö., Hamamcı, B., Çetinkaya, Ü., Karaman, Ü., Kuk, S., 2013. Mikrosporidialar ve Mikrosporidiyozis. Türkiye parazitoloji dergisi, 37(2): 123-134.
- Zeybek, H., 1991.Arı Hastalıkları ve Zararlıları, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı HayvanHast.Araş.Enst.Müd.Etlik-Ankara.
- Zherebkin, R., 1977. Biological aspect of *Nosema* disease. Apimondia Symposium of Bee biology and pathology. Belgium. July, 608.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : NİHAL YOLOĞLU
Doğum Yeri : ORDU
Doğum Tarihi : 29.09.1986
Yabancı Dili : İNGİLİZCE
E-mail : biokirpi@hotmail.com
İletişim Bilgileri : Pelitköy /SAMSUN
Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji öğretmenliği	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2011
Lisans	İşletme	Anadolu Üniversitesi	2013

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Biyolog	Omü Tıp Fakültesi Kan Merkezi	2012

Yayımlar :

1. Ertürk, Ö., Güler, N., 2012. Halk ilaçlarında Propolisin Tarihi Kullanımı ile Onun Biyolojik Aktivitesi ve Kimyasal Kompozisyonu, Uludağ Arıcılık Dergisi,13(1):33-40.
2. Güler, N.,2011. *Autographa californica* nükleer polihedrozis virüs (AcNPV (Baculovirus))'ün Biyolojisi, *Spodoptera frugiperda* (Sf) Hücre Kültürlerinde Replikasyonu ve Oluşturduğu Sitopatik Etkilerin Belirlenmesi,Yüksek lisans Semineri.