



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAL ARILARINDA DEFORME KANAT VİRUS, SİYAH KRALİÇE HÜCRE
VİRUS VE AKUT ARI FELCİ VİRUS ENFEKSİYONLARININ REVERZ
TRANSKRİPTAZ-POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) TEKNİĞİ
KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Ayşegül USTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

BURDUR-2020

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAL ARILARINDA DEFORME KANAT VİRUS, SİYAH KRALİÇE HÜCRE
VİRUS VE AKUT ARI FELCİ VİRUS ENFEKSİYONLARININ REVERZ
TRANSKRİPTAZ-POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) TEKNİĞİ
KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Ayşegül USTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0586-YL-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2020

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Ayşegül USTA tarafından *Prof. Dr. Yakup YILDIRIM* yönetiminde hazırlanan "*Bal Arılarında Deforme Kanat Virus, Siyah Kraliçe Hücre Virus ve Akut Arı Felci Virus Enfeksiyonlarının Reverz Transkriptaz-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Tekniği Kullanılarak Araştırılması*" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Viroloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi
20/01/2020

Prof. Dr. Yakup YILDIRIM
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Başkan



Doç. Dr. Ender DİNÇER
Dokuz Eylül Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Jüri



Dr. Öğr. Üyesi Kamil ATLI
Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Jüri



ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 28.01.2020 tarih ve 09...sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğa

TEMİZSOYLU

Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım tarihten bugüne kadar geçen zaman içinde benim yetişmemde bilgi, beceri ve uygulama yaptıklarımı öğrenmede katkıda bulunan daha verimli çalışma, iş disiplini, tertip, düzen ve üretkenliği öğreten başta saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Yakup Yıldırım'a, MAKÜ Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet Kale, Dr. Öğr. Üyesi Sibel Hasırcıoğlu, Dr. Öğr. Üyesi Kamil Atlı, Dr. Öğr. Üyesi Hasbi Sait Saltık'a sabrınız ve sevecen tutumunuz için teşekkür ederim. Tezimdeki katkılarından dolayı Dr. A. Anıl Çağırğan ve Doktora öğrencisi Dr. Sevinç Sökel'e çok teşekkür ederim. Benim her zaman en iyi destekçim ve rehberim biricik abim Dr. Öğr. Üyesi Zafer Usta'ya ve beş senedir iyiki hayatımda olan, bana kız kardeşlik duygusunu tattıran arkadaşım, yengem Sevde Usta'ya her zaman yanımda oldukları için teşekkür ediyorum. Son olarak beni dünya ya getiren, benim bu yıllara gelmemde katkısı olan ve ellerini üzerimden hiç eksik etmeyen sevgili anneme ve babama çok teşekkür ediyorum.

ETİK BEYAN

“Bal Arılarında Deforme Kanat Virus, Siyah Kraliçe Hücre Virus ve Akut Arı Felci Virus Enfeksiyonlarının Reverz Transkriptaz–Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Tekniği Kullanılarak Araştırılması”başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Ayşegül USTA

Tarih:20.01.2020

İmza:



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bal Arısı Viruslarının Genel Özellikleri	4
2.2. Bal Arısı Viruslarının Sınıflandırılma Düzeni	5
2.3. Bal Arısı Viruslarının Patogenezi	5
2.3.1. Litik enfeksiyon	6
2.3.2. Persiste enfeksiyon	6
2.3.3. Latent enfeksiyon	6
2.3.4. Transformasyon	6
2.4. Bal Arısı Viruslarının Bulaşma Yolları	8
2.5. İmmunite	10
2.6. Bal Arılarında Görülen Viral Hastalıkların Teşhisi	11
2.6.1. Akut Arı Felç Virus (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV)	12
2.6.1.1. Etiyoloji	12
2.6.1.2. Epidemiyoloji	13
2.6.1.2.1. Bulaşma	13
2.6.1.2.2. Coğrafi Dağılım	13
2.6.1.3. Klinik Bulgular	13
2.6.1.4. Teşhis	14
2.6.1.5. Mücadele	15
2.6.2. Siyah Kraliçe Hücre Virus (Black Queen Cell Virus, BQCV)	15

2.6.2.1. Etiyoloji	15
2.6.2.2. Epidemiyoloji	15
2.6.2.2.1. Bulaşma	15
2.6.2.2.2. Coğrafi Dağılım	16
2.6.2.3. Klinik bulgular	16
2.6.2.4. Teşhis	16
2.6.2.5. Mücadele	17
2.6.3. Deforme Kanat Virüsü (Deformed Wing Virus, DWV)	17
2.6.3.1. Etiyoloji	17
2.6.3.2. Epidemiyoloji	18
2.6.3.2.1. Bulaşma	18
2.6.3.2.2. Coğrafi Dağılım	18
2.6.3.3. Klinik Bulgular	18
2.6.3.4. Teşhis	19
2.6.3.5. Mücadele	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Gereç	21
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Temini	21
3.1.2. Pozitif Kontrol	22
3.1.3. Araştırmada kullanılan Primer Çiftleri ve Malzemeler	22
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Örneklerin Hazırlanması	23
3.2.2. Örneklerden Ekstraksiyon Hazırlanması	24
3.2.3. RT-PCR ile Numunelerin Çalışılması	25
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	53

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Arının yaşam (biyolojik) döngüsü (Anonim, 2019c)	4
Şekil 2.2. Arılarda horizontal ve vertikal bulaşma yolu	8
Şekil 3.1. Arı kovanları yerleşim yerleri(orijinal)	21
Şekil 3.2. Arı kovanından örnek alım yöntemi (orijinal)	24
Şekil 3.3. Örneklerden ekstraksiyon hazırlanması (orijinal)	25
Şekil 3.4. Örneklerin agaroz jele yüklenmesi (orijinal)	26
Şekil 4.1. DWV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker,1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, PK1: Pozitif kontrol] (269 bp)	27
Şekil 4.2. BQCV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker, 1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol] (536 bp)	27
Şekil 4.3. ABPV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker, 1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol; PK1 Pozitif kontrol](460 bp)	28
Şekil 4.4. Örnekleme yapılan kolonilerde çoklu enfeksiyon oranları	31
Şekil 4.5. Varroa parazitli arı örnekleri (orijinal)	31
Şekil 4.6. Örnekleme yapılan bazı işletmelerdeki arılarda görülen deforme kanat değişimi (orijinal)	32

TABLULAR

Tablo 1.1. Yıllara göre Türkiye’de arıcılık yapan köy ve kovan sayısı ile bal ve balmumu üretimi (Anonim, 2019b)	3
Tablo 3.1. Üç virus için kullanılacak primerler ve amplikon uzunlukları	22
Tablo 3.2. RT-PCR metodu için reaksiyon karışımı ve hacimleri	26
Tablo 3.3. RT- PCR test reaksiyonunun evreleri, ısı, zaman ve siklus koşulları	26
Tablo 4.1. Burdur yöresinde toplanan ergin arı ve yavrulu petek örneklerinden tespit edilen etkenler	29
Tablo 4.2. İncelenen üç virusun arı ırklarına göre prevalans dağılımı	30
Tablo 4.3. Örnekleme yapılan kolonilerde çoklu enfeksiyon oranları	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABPV	Akut Arı Felci Virus
ADNS	Animal Disease Notification System
AGID	Agar- Gel İmmunodiffusion Test
BQCV	Siyah Kraliçe Hücre Virus
°C	Derece Santigrat
CBPV	Kronik Arı Felci Virus
cDNA	Komplementer Deoksiribonükleik Asit
DWV	Deforme Kanat Virus
EMEM	Eagle's Minimal Essential Medium
ELISA	Enzime-Linked Immunosorbent Assay
FAO	Food and Agriculture Organization
kb	Kilobaz
KBV	Kaşmir Arı Virus
µl	Mikrolitre
EBV	Mısır Arı Virus
PBS	Phosphate Buffer Saline
OIE	World Organisation for Animal Health
ORF	Open Reading Frame
rpm	Revolutions Per Minute
p/mol	Pikomol
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
Real Time- PCR	Real-Time Polymerase Chain Reaction
SBV	Sacbrood Virus
ssRNA	Tek Zincirli Ribonükleik Asit
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
WB	Western Blotting

ÖZET

Bal Arılarında Deforme Kanat Virus, Siyah Kraliçe Hücre Virus Ve Akut Arı Felci Virus Enfeksiyonlarının Reverz Transkriptaz-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Tekniği Kullanılarak Araştırılması

Bu alışmada, Burdur yöresinde arıcılık işletmelerinden toplanan bal arılarında Akut arı felci virus (ABPV), Siyah kraliçe hücre virus (BQCV) ve Deforme kanat virus (DWV) enfeksiyonlarının varlığı/yaygınlığı RT-PCR metodu ile araştırıldı. Burdur yöresinde örnekleme yapılan işletmelerden toplanan 31 örnekte viral etkenlerin prevalansları DWV %74,19 (23/31), BQCV %25,81 (8/31) ve ABPV %74,19 (23/31) olarak tespit edildi. Toplanan örneklerde morfolojik inceleme sonucunda varroa paraziti de görüldü. Araştırmada, Burdur ilinde viral enfeksiyonların bal arılarını enfekte ettiğini, ABPV ve DWV için yüksek prevalans oranlarının olduğunu göstermiştir. Tez çalışmasında bu 3 virus (BQCV, DWV ve ABPV) Burdur ili için, ilk olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Akut arı felci virus, Bal arısı, Deforme kanat virus, Reverz Transkriptaz-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), Siyah kraliçe hücre virus

ABSTRACT

Investigation of Deformed Wing Virus, Black Queen Cell Virus and Acute Bee Paralysis Virus Infections by Using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Technique in Honey Bees

In this study, the presence/prevalence of acute bee paralysis virus (ABPV), black queen cell virus (BQCV) and deformed wing virus (DWV) infections were investigated by RT-PCR method. The prevalence of viral agents was detected to be DWV %74,19 (23/31), BQCV %25,81 (8/31) and ABPV %74,19 (23/31) in 31 samples collected from the sampling sites in Burdur region. Varroa parasites were also observed in the collected samples. The study showed that viral infections infect honey bees in Burdur province and have high prevalence rates for ABPV and DWV. These three viruses (BQCV, DWV and ABPV) are first seen for Burdur province in the this thesis.

Key words: Acute bee paralysis virus, Black queen cell virus, Deformed wing virus, Honey bee, Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

1. GİRİŞ

Arıcılık, ülkemizde çok eski çağlardan beri faaliyeti sürdürülen tarım kollarından biridir. Toprağa bağlı olmayıp, topraksız veya yeterli toprağı olmayan aileler için alternatif geçim kaynaklarından biri olması bunun en önemli nedenlerindedir (Silici, 2011). Arı sütü, bal ve polen gibi yüksek besin içerikli ürünler beslenme, sağlık ve sanayi açısından da çok kıymetlidir. Tozlaşmaya katkısı, tarımsal üretim ve çiçekli bitkilerin çeşitliliği için kritik öneme sahiptir. Ayrıca bu durumun doğanın korunmasında faydası vardır (Mullapudi ve ark., 2016). Oluşturduğu katma değer ile aile ve ülke ekonomisine katkı sağlar.

Dünyadaki arı kolonisine, bal üretimine ve bal mumuna baktığımızda; 2005 yılında arı kolonisi varlığı 74.276.465 adet olup 2017 yılında %22,5 oranında artmıştır. FAO 2017 yılı verilerine göre dünya koloni varlığının %14,02'sini Hindistan, %9,92'sini Çin, %8,56'sını Türkiye ve %7,99'unu İran'da bulunan koloniler oluşturmaktadır. Bu da arıcılığın seneler itibari ile mühim bir üretim dalı olmaya başladığını göstermektedir. Bal üretimi ise 2005 yılında 1.413.662 ton olup 2017 yılında %31,62 oranında artmıştır. FAO 2017 yılı verilerine göre dünya bal üretiminin %29,18'ini Çin, %6,15'ini Türkiye ve %4,1'ini ise Arjantin oluşturmaktadır. Dünyada koloni bazında ilk sırada yer alan Hindistan bal üretiminde 8. sırada görülür. Dünyadaki balmumu üretimi 2005 yılında 60.676 ton olup 2017 yılında %30,27 oranında azalmıştır. FAO 2017 yılı verilerine göre Dünya balmumu üretiminin %13,29'unu Etiyopya, %11,68'ini Arjantin ve %10,38'ini Türkiye oluşturmaktadır. Dünyadaki bal verimi 2017 yılında koloni başına 20,44 kg, balmumu verimi ise 0,46 kg'dır. İki bin on yedi yılı FAO verilerine göre dünya bal veriminde koloni başına 60,12 kg ile Çin ilk sırada görülürken, Çini 25,43 kg ile Arjantin, 25,09 kg ile peşinden ABD gelmektedir. İki bin on yediyılı FAO verilerine göre Dünya balmumu veriminde koloni başına 1,64 kg ile Arjantin ilk sırada yer alırken, Arjantin'i 0,91 kg ile Etiyopya ve 0,61 kg ile Tanzanya peşin sıra gelmektedir (Anonim, 2019a).

Türkiye zengin bitki florası ve uygun ekolojik şartları ile arıcılık iş kolu için en uygun ülkelerden biri olup, bu potansiyelini kullanarak dünyada bal üretimi ve

arıcılık da başlıca söz sahibi ülkeler arasındadır. Ülkemizde 1999-2012 yılları arasında köy bazında arıcılık oranı %5 azalmasına rağmen, 2012 yılından itibaren işletme bazında yapılan değerlendirmede, 2013 yılında arıcılık işletme sayısı 79.934 iken 2018 yılına gelindiğinde %2,37 oranında artış göstererek 81.830 olmuştur (Tablo 1.1). Yine Tablo 1.1'de görüleceği üzere 1999'dan 2018 yılına kadar ülkemizde düzenli bir şekilde koloni sayısında (arı kovani sayısı) artış şekillenmiştir. Yeni kovan sayısında, balmumu ve bal üretiminde 1999 yılından bu zamana kadar önemli bir artış kaydedilmiştir. Bal üretimindeki bu yükselişte, kovan sayısındaki artışın yanı sıra, eski tip kovanlarla yapılan üretimin yerini gittikçe yeni tip kovanlara bırakması böylelikle kovan başına verimin artması önemli bir rol oynamaktadır. İki bin on sekiz yılında yeni kovan sayısı 1999 yılına göre %91,1 artarken, eski tip kovan sayısı ise sadece %9,13 oranında artış göstermiştir. FAO'ya göre ülkemiz arıcılıkta 2017 yılı itibariyle 7,8 milyon civarında koloni sayısı ile dünyada üçüncü, 4 bin ton balmumu üretimi ile üçüncü, 114 bin ton bal üretimi ile de ikincidir (Anonim, 2019a).

Ülkemizde ve dünyada önemli sayıda bal arısı popülasyonu olmasına rağmen arı viruslarıyla ilgili bir hayli sınırlı veriler bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında mühim koloni kayıplarına sebep olan 3 viral hastalık etkenine karşı Reverz Transkriptaz-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) tekniği ile Burdur yöresinde viral sebepli arı enfeksiyonlarının moleküler olarak çalışılması hedeflenmiştir.

Tablo 1.1. Yıllara göre Türkiye’de arıcılık yapan köy ve kovan sayısı ile bal ve balmumu üretimi (Anonim, 2019b)

Yıllar	Arıcılık yapılan köy sayısı (adet)	Arıcılık yapan işletme sayısı (adet)	Yeni kovan (1000 adet)	Eski kovan (1000 adet)	Toplam kovan (1000 adet)	Bal Ton	Balmumu ton
1999	22.447	-	4.136	186	4.322	67.259	4.073
2000	22.571	-	4.068	200	4.267	61.091	4.527
2001	22.606	-	3.931	184	4.115	60.190	3.174
2002	22.423	-	3.981	180	4.161	74.554	3.448
2003	22.110	-	4.098	191	4.289	69.540	3.130
2004	22.133	-	4.237	163	4.400	73.929	3.471
2005	22.550	-	4.433	157	4.590	82.336	4.178
2006	22.305	-	4.705	147	4.852	83.842	3.484
2007	21.560	-	4.690	135	4.826	73.935	3.837
2008	21.093	-	4.751	138	4.889	81.364	4.539
2009	21.469	-	5.210	129	5.339	82.003	4.385
2010	20.845	-	5.466	137	5.603	81.115	4.148
2011	21.131	-	5.862	149	6.011	94.245	4.235
2012	21.307	-	6.191	156	6.347	89.162	4.222
2013	-	79.934	6.458	183	6.641	94.694	4.241
2014	-	81.108	6.888	193	7.081	103.525	4.053
2015	-	83.467	7.526	223	7.749	108.128	4.756
2016	-	84.047	7.679	221	7.900	105.727	4.440
2017	-	83.210	7.797	194	7.991	114.471	4.488
2018	-	81.830	7.904	203	8.107	107.920	3.987

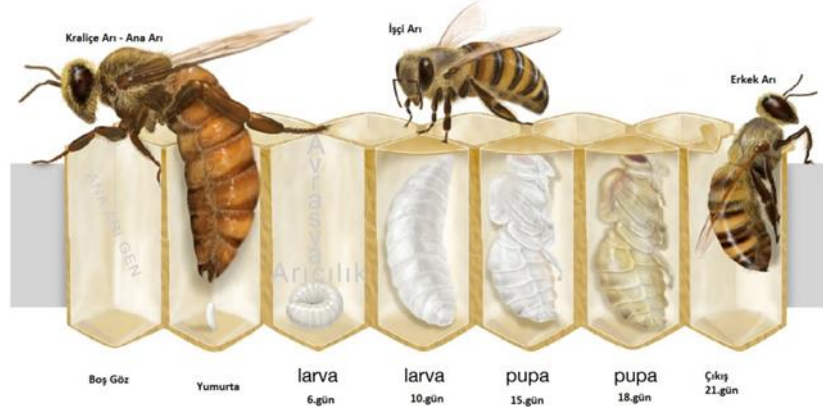
*Arıcılık yapan köy sayısı 2013 yılından beri "Arıcılık yapan işletme sayısı" olarak değiştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bal Arısı Viruslarının Genel Özellikleri

Arılarda hastalık yapan virusların büyük çoğunluğu kübik simetrlili ve pozitif polariteli tek iplikli RNA viruslar olduğu belirlenmiştir (Mc Menamin ve ark.,2018). Ancak çubuk benzeri morfoloji (arılarda filamentöz virusu) ve anizometrik morfoloji (kronik arı felci virusu) de az da olsa bazı arı viruslarında görülmektedir (Doğanay ve Aydın, 2017).

Viruslar yumurta, larva, pupa ve yetişkinler de dahil olmak üzere bal arısının farklı yaşam evrelerini (Şekil 2.1) enfekte eder ve sağlığını önemli ölçüde etkileyerek yaşam sürelerini kısaltabilirler (Chen ve Siede, 2007). Bu sebeple, viral enfeksiyonları tanımlamak, onlarla mücadele etmek ve onlardan korumak önemlidir (Anderson, 1990; Benjeddou ve ark., 2001; Evans, 2001; Hung ve ark., 1996).



Şekil 2.1. Arının yaşam (biyolojik) döngüsü (Anonim, 2019c)

Bal arısı virusları taşıdıkları nükleik asit bakımından incelendiğinde büyük çoğunluğunun RNA taşıdığı görülmüştür (Mc Mahon ve ark., 2015). Sadece iki DNA nükleik asidi taşıyan virus familyasına ait etken arılarda enfeksiyöz olarak tanımlanmıştır (Bailey, 1976; Bailey ve ark., 1981b).

2.2. Bal Arısı Viruslarının Sınıflandırılma Düzeni

Viruslar bal arılarının farklı yaşam evrelerinin sağlığını olumsuz yönde etkileyen potansiyel risk faktörlerinden birisidirler (Chen ve Siede, 2007; Tentcheva ve ark., 2004; Tantillo ve ark., 2015). Bal arısı kolonilerini etkileyen viral hastalıklar arıcılık endüstrisinde önemli ekonomik zayıyata yol açar (Ball ve Bailey, 1997; Berthoud ve ark., 2010; Mc Mahon ve ark., 2016; Natsopoulou ve ark., 2017). Şimdiye kadar literatürlerde 24 adet bal arısı virusu rapor edilmiştir (Shumkova ve ark., 2018). Bunların dışında Garigliany ve ark., 2018 yılında Moku virus'u; 2019 yılında da Levin ve ark., VOV-1 etkenini bal arılarında rapor etmişlerdir.

Bu virusların sadece 2 tanesi DNA virusu (Filamentöz virus, Apis İridescent virus) diğerleri ise RNA virusudur.

Yapılan çalışmalarda özellikle arıcılıkta çok ağır kayıplara neden olan altı adet virus belirlenmiştir (Shumkova ve ark., 2018). Bu viruslar sırasıyla; deforme kanat virusu (DWV), akut arı felci virusu (ABPV), kronik arı felci virusu (CBPV), sacbrood virusu (SBV), kaşmir arı virusu (KBV) ve siyah kraliçe hücre virusu (BQCV) dur.

2.3. Bal Arısı Viruslarının Patogenezi

Viral replikasyonu sağlayan hedef hücrelerin, replikasyona ilişkin niceleyici verilerin ve hastalık sırasında viral genomun durumu, virusun gerçekten litik, persiste veya latent enfeksiyona sebep olup olmadığını bulmak için bilinmesi gerekir. Hastalığı tanımlayan serolojik ve fizyolojik parametrelerin yokluğunda, sadece böceklerde görülen semptomlar belirgin morfolojik veya davranışsal farklılıklara ve sonunda ölüme sebep olur. Arı virusları nadiren görsel olarak kolayca tespit edilebilen semptomlara sebep olur. Bu semptomlar covert (gizli) enfeksiyonlar olarak sınıflandırılabilir. Nadiren, bu viruslar, konakçılarında sıklıkla antikor bazlı tespit yöntemleri ile kolayca saptanabilen yüksek oranda virus titrelerinin eşlik ettiği semptomlara (titreme, sakatlık, uçmama, ölüm) sebebiyet verir (Aubert ve ark., 2008).

Viral enfeksiyonlar oluşun şekillerine göre litik enfeksiyon, persiste enfeksiyon, latent enfeksiyon veya transformasyon ile sonuşlanabilir.

2.3.1. Litik enfeksiyon

Litik enfeksiyonlar, virusla enfekte olan hücrenin parşalanması ve yoğun miktarda virus saşılımlı ile son bulur. Organizmada ise, klinik bulgular oluştuktan sonra hastalık genellikle sonlanır ve virus tamamen eradike edilir. Bu tip enfeksiyonlar bazı olgularda latent hale geşebilir (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.3.2. Persiste enfeksiyon

Persiste enfeksiyon, enfekte hücrelerde uzunca bir süre az miktarda virus mevcudiyetinin devamlılığı sonucunda şekillenir. Enfekte olan hücre yaşamına devam eder veya az sayıda hücre enfekte olur, bu nedenle virusun yayılması sınırlıdır, böylece hücre ölümü, net hücre kaybı olmadan yeni hücrelerin üretimi ile dengelenir. Yani etken konakçı immun sistemini çökerttiği için organizma ile virus arasında bir denge oluşmuştur (Aubert ve ark., 2008).

2.3.3. Latent enfeksiyon

Latent enfeksiyon modelinde viral genom, konak hücre genomuna entegre olur veya bir ekstra kromozomal epizom olarak saklanır. Viral gen transkripsiyonu neredeyse tamamen kapanır ve sadece sınırlı sayıda gecikmeyle alakalı transkript ve protein üretilir, ancak olgun virus partikülleri tespit edilmez (Aubert ve ark., 2008).

2.3.4. Transformasyon

Transformasyonda viral antijenler hücrenin ölümsüz bir karakter almasına yol açarlar. İmmortalizasyon olarak isimlendirilen bu durum tümör hücrelerinin gelişimiyle son bulur (Doğanay ve Aydın, 2017).

Arı viruslarının doku tropizmi konusu virus-reseptör moleküler mekanizmaları henüz bütünüyle açığa çıkarılamamıştır. *İnvitro* ortamlarda

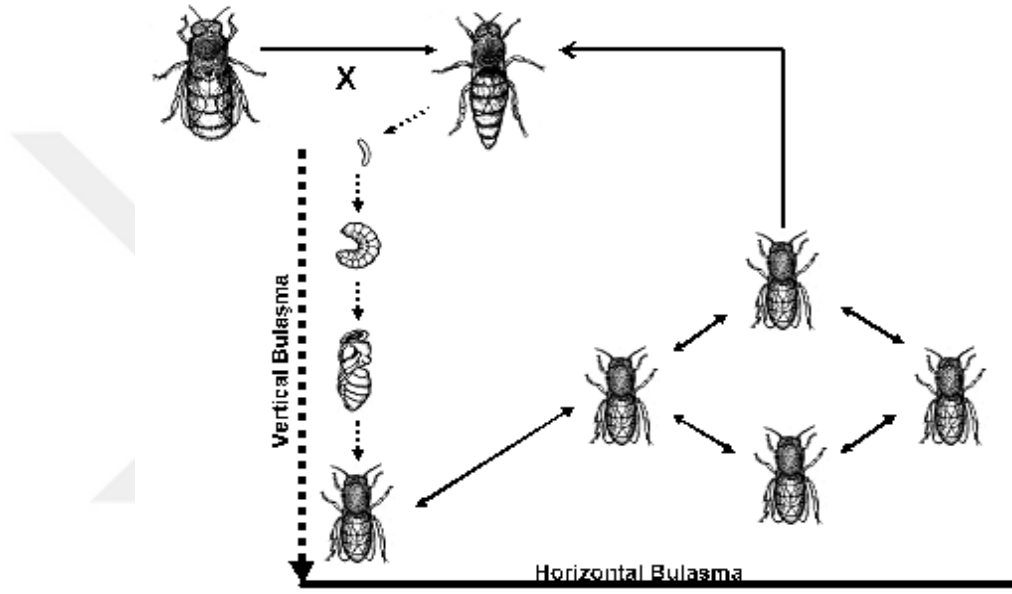
çoğaltılamayan bu virüslara özgü hücre hatları geliştirilme çalışmaları hızla devam etmektedir (Goblirsch ve ark., 2013; Ju ve Ghil, 2015).

Arılarda viral etkenlere bağılı olarak belirgin (overt) ve gizli (covert) enfeksiyonlar gelişir. Overt enfeksiyon, genellikle doğrudan enfekte olmuş ve duyarlı kişiler arasında yatay olarak veya konağın dışına devam edebilen bulaşıcı partiküller yoluyla iletilir. Belirgin enfeksiyonlar, akut ve kronik enfeksiyonlardır. Akut enfeksiyonların, kısa sürede ölümle sonuçlanabilecek klinik belirtileri vardır. Kronik enfeksiyonlarda hastalık semptomları ara sıra veya uzunca bir süre görülür. Kronik enfeksiyonlar, konağın ömrü boyunca virüsleri sürekli üretmesine ve yaşam evresini virüsle birlikte sürmesine sebep olur (Aubert ve ark., 2008).

Covert enfeksiyon (subklinik enfeksiyon) modelinde ise vücutta virüs partikülleri veya viral nükleik asit tespit edilmesine karşın hastalığa ilişkin hiçbir klinik bulgu görülmemektedir. Bu durum genellikle latent ve persiste enfeksiyon şeklinde ortaya çıkar. Vertikal yolla nakledilen bu tür viral enfeksiyonlar nesillere aktarılabilir. Ancak virüsle enfekte olan bu asemptomatik bireylerde değişik dış faktörlerin etkisiyle belirgin enfeksiyon tablosuna geçiş gözlenebilir (Mc Menamin ve ark., 2018). Klinik semptom olmaksızın virüsün taşınması hastalığın yayılmasında mühim bir kaynak oluşturur ve epidemiyolojik olarak büyük önem arz eder (Chen ve Siede, 2007).

2.4. Bal Arısı Viruslarının Bulaşma Yolları

Virusların koloni içinde ve koloniler arasında bulaşma yolları horizontal ve vertikal bulaşma (Şekil 2.2) olarak ikiye ayrılır. Horizontal bulaşma arılar arasında gerçekleşirken, vertikal bulaşma direkt etkenin anneden yumurta yoluyla yavruya iletilmesi şeklinde gerçekleşir. Horizontal yolla bulaşmada, kraliçe arıların dışkıları önemli rol oynar (Chen ve ark., 2006b).



Şekil 2.2. Arılarda horizontal ve vertikal bulaşma yolu (Chen ve ark., 2006a)

Kraliçe arı birey olarak enfeksiyona yakalanması durumunda, yumurtalarıyla virus saçarak yeni gelişecek kuşakların enfekte olarak doğmasına neden olabilir (Chen ve ark., 2006a).

Erkek arılar sperma ile virus yayarak döllenmiş yumurtaların enfekte olmasına ve bu yüzden yeni gelişecek kuşağın enfekte olarak doğmasına neden olabilirler. Diğer taraftan çiftleşme yolu ile de erkek arılar kraliçe arıyı enfekte edebilirler ve yumurtaların enfekte olarak oluşmasına sebep olabilirler (Chen ve ark., 2006a).

Ergin işçi arılar özellikle horizontal yolla bulaşan virusların sürekliliği ve kolonide yayılması açısından önemli rol oynarlar. Ergin arılar arasındaki virus bulaşması direkt temas ile gerçekleşebilir (Chen ve ark., 2006a; Doğanay ve Aydın, 2017).

Arılarda görülen yaşam siklusları hastalık bulaşma döngüsünde pasif konumdadır. Tohumlanan yumurtalar virüsü baba veya anne eşey hücrelerinden alabilirler. Larva aşamasında ise işçi arılardan hastalık bulaşması söz konusu olabilir. Pupa aşamasındaki yavrularda varroa vektör görevi görebilir ve buna bağlı olarak ergin arılardan virüs aktarılabilir. Bu dönemde enfeksiyon bulunan petek gözlerinden temas yolu ile işçi arılara virüs bulaşması gerçekleşir (Chen ve Siede, 2007).

Arı parazitlerinin birçok bal arısı virüsünün bulaştırılmasında vektör olarak rol oynadığı bilinmektedir. Parazitlerin arı hemolenfide tekrarlanan beslenmeleri, arının ömrünü kısaltmakta ve arı kolonilerinin birkaç yıl içinde sönmeye sebep olmaktadır (De Jong ve ark., 1982; Korpela ve ark., 1992; Kovac ve Crailsheim, 1988; Weinberg ve Madel, 1985; Yang ve Cox-Foster, 2005). Bazı durumlarda parazitin virüsü taşıdığı direkt olarak gösterilememiş olsa bile kolonide söz konusu parazitin görülmesi durumunda enfeksiyon bulgularının meydana geldiği veya şiddetlendiği bilinmektedir (Tantillo ve ark., 2015). Bu da parazit enfestasyonları ile viral enfeksiyonları arasında doğru bir orantının olduğunu göstermektedir.

Arı üstünde beslenen parazitler kütikula tabakasına zarar vererek virüslerin organizmaya girişi için bir yol açabilirler (Chen ve ark., 2006a). Parazitler hemolenf ile beslenmelerine bağlı olarak arının immun sisteminin ve direncinin zayıflamasına sebep olurlar. Bu durumda kolonide asemptomatik olarak bulunan virüsler akut hastalık belirtileri oluştururlar (Bowen-Walker ve ark., 1999).

Parazitler beslenmeleri sırasında bal arılarının ergin, pupa ve larva gibi değişik yaşam sikluslarına tutunabilirler. Böylece erişkinlerde enfeksiyon oluşturmayan bir virüsü, ergin arılardan yavrulara aktararak onlarda enfeksiyon bulgularının oluşmasına neden olurlar (Bowen-Walker ve ark., 1999).

Bazı koşullarda arı kolonilerinde virus görülebilmeseine karşın gizli enfeksiyon oluştuğu ve hastalık semptomlarının görülmediği belirlenmiştir. Fakat bu kolonilere parazitlerin girmesini ve yayılmasını takiben hem teşhis edilebilen virus miktarı yükseliş gösterir hem de kolonide virusa dair enfeksiyon bulguları meydana gelmeye başlar. Bu duruma arı-parazit sendromu (bee-parasitic mite syndrome) adı verilir (Sammataro ve ark., 2000).

2.5. İmmunite

Bal arıları, birçok parazit ve patojen etkene karşı mekanik, fizyolojik ve immünolojik savunmalar geliştirmişlerdir. Bu savunma şekilleri patojenlere direnç konusunda klasik yöntemlerdir. Mekanik savunma, birçok durumda mikropların vücut içine girmesini önleyen böcek kütikülünü ve epitel tabakalarını içerirken, mikrobiyal savunma ise fizyolojik inhibitörler, pH'taki ve böcek bağırsağının diğer kimyasal koşullardaki değişiklikleri içerir (Evans ve Spivak, 2010).

Arılar bireysel bağışıklığın yanında koloni bulaş riskini azaltmak için sosyal bağışıklık gösterirler (Cremer ve ark., 2007). Bu durumda kolonideki yüzlerce veya binlerce arı etkileşime girdiğinde koloni seviyesindeki sosyal bağışıklık tepkileri, çok hücreli bir organizma içindeki kompleks humoral ve hücreli bağışıklık sistemlere benzer özellikler gösterir (Evans ve Spivak, 2010).

Arılardaki hijyenik davranışa baktığımızda; ergin arılar petek gözlerinde görülen hastalıklı ve parazitlenmiş yavruları temizler ve yuvadan çıkarırlar. Bu hijyenik davranışı gösteren arılar, hastalıklı yavru kokularına karşı aşırı koku alma hassasiyetine sahiptirler. Bu nöroetolojik çalışmalar, bireysel arıların doğrudan gözlemleri ile birleştiğinde enfeksiyonlu yavruların erken teşhis edilmesinin bağışıklık için önemli olduğunu göstermiştir (Evans ve Spivak, 2010).

Bal arıları çeşitli bitki reçinelerinden elde ettiği propolisin güçlü hepatoprotektif, antitümör, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Bazı arı ırkları propolisi çok az üretirken, bazıları ise reçineleri ve propolisi yoğun olarak üretir ve kullanır. Aynı zamanda propolis kovan

içi tedavide ve kovan dışı hava sirkülasyonun önlenmesinde önemli görev görür (Simone-Finstrom ve Spivak, 2010).

Bal arısı kolonileri, gelişim aşamaları ve yaşamları için polene ve nektara önemli ölçüde bağımlıdır. Polen diyetlerinin kalitesi ve çeşitliliği arı sağlığını büyük ölçüde etkiler. Gerçekten de, hem arı fizyolojisinin hem de bir parazite toleransın, polen diyetinin türüne bağlı olarak değiştiği, bu da sadece mevcudiyetinin değil, aynı zamanda çevresel kaynakların kalitesinin de mühim olduğunu göstermektedir. Polenin protein ve amino asit içeriği bakımından zenginliği, bağışıklık ve yavru yetiştirme açısından da çok önemlidir (Di Pasquale ve ark., 2013).

2.6. Bal Arılarında Görülen Viral Hastalıkların Teşhisi

Genel olarak değerlendirildiğinde arılardaki viral hastalıkların teşhisi diğer canlılarda görülen viral hastalıkların teşhisine göre oldukça komplikedir. Bunun sebebi arı viruslarının patogeneğinde yaygın olarak görülen gizli enfeksiyon modelidir. Arılarda virolojik teşhis yapılırken koloninin durumu (stres faktörleri, yoğunluk, koloninin güçlü veya zayıf olması vb.) göz önüne alınmalı, arıcılıkta gözlenen sıra dışı belirtiler takip edilmeli ve parazit enfestasyonlarının varlığı gibi konulara dikkat edilmelidir.

Arı viruslarının tespitinde enzime-linked immunosorbent assay (ELISA), agar-gel immunodiffusion testi (AGID), western blotting (WB) ve elektron mikroskobu kullanılmaktadır (Aubert ve ark., 2008). Ayrıca günümüzde rutin laboratuvar tanısı için, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) virus nükleik asit tespitini sağlayan en yaygın yöntemdir. Spesifik bal arısı viruslarının bireysel ya da multipleks tespiti için birçok protokol tanımlanmıştır. Canlı ya da ölü arılar laboratuvar araştırmaları için en güvenilir ve uygun örnekler olarak kabul edilmektedirler (Chen ve ark., 2004).

2.6.1. Akut Arı Felç Virus (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV)

Akut arı felci virusu, ilk izole edildiğinde tesadüfen bulunan bir etken olmuştur (Bailey ve ark., 1963). Diğer RNA virusları gibi ABPV'de sürekli olarak yeni konakçı ve vektörlere ihtiyaç duymakta, bunlara adapte olmakta ve yeni hastalıkların oluşumu için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadırlar (Chanpanitkitchote ve ark., 2018). Akut arı felci virusu, hastalık belirtisi görülmeyen enfekte ergin arılardan larval jölede (arı sütü) gelişmekte olan larvalara veya varroa vektörleri tarafından pupalara ve larvalara iletilmektedir (Moore ve ark., 2015). Varroa parazitinin beslenme süresi ne kadar uzun olursa, iletilen virus miktarıda o kadar çok olur (Genersch ve Aubert, 2010). Pupa döneminde ABPV ile enfeksiyon ölümle sonuçlanır. Gelişmekte olan arılardaki etken ise koloninin sönmesine sebep olmakta ve ABPV ile etkilenmiş koloni aynı dönemde ölmektedir (Sumpter ve Martin, 2004).

2.6.1.1. Etiyoloji

Etken *Dicistroviridae* ailesinin (De Miranda ve ark., 2010) *Aparavirus* cinsinde yer alan RNA virusudur. Kübik simetrlili ve zarfsız yapıdaki etken tek iplikçikli viral nükleik asit (ssRNA) taşır (Valles ve ark.,2017b). Virion büyüklüğü 30 nm civarındadır. Yaklaşık 9.5 kb uzunluğundaki viral RNA, dicistrovirusların tipik özelliği olarak 2 tane bilgi kodlayan bölge (ORF-1,ORF-2) içerir. Disistronik yapı olarak adlandırılan bu genom bölgelerinden 2 adet poliprotein sentezlenir. ORF-1 sekansı helikaz, polimeraz ve proteaz kodlaması yaparken ORF-2 35, 33 ve 24 kDa büyüklüğünde kapsid proteinleri kodlar. Akut arı felci virus sekansı ile Plautiastali, *Drosophila C* virus, Himetobi P virus ve Rhopalosiphum padi virus arasında benzerlikler olduğu tespit edilmiş ve bunlar picornavirüslerle benzer şekilde insekt enfeksiyon meydana getiren RNA virusları olarak tanımlanır (Govan ve ark., 2000). ABPV ile İsrail akut felci virusu ve Kaşmir arı virusu arasında çok yakın genetik ve biyolojik benzerlikler bulunduğu belirlenmiştir (Joachim ve ark., 2010).

2.6.1.2. Epidemiyoloji

2.6.1.2.1. Bulaşma

Akut arı felci virusu felçli arıların baş, beyin ve hipofarengeal bezlerinde yoğun olarak bulunabilir. Hastalık belirtileri gösteren arılar dışkılarıyla da virus saçarlar. Doğal koşullarında virus, enfekte ergin arıların ağız salgılarıyla saçılır ve genç arılara beslenme ile bulaşır. Virustan etkilenen arılarda genellikle hastalık belirtileri görülmez. Bunlarda subklinik enfeksiyon şekillenir ve dokularında daimi artan miktarlarda virus tespit edilebilir. Subklinik enfekte arılar tükürük bezi salgılarıyla virus saçarlar. Bal arısı kolonilerinde sıklıkla görülen bu virus kolonilerin ani çökmesine neden olabilir ve parazitik akar olan *V. destructor* tarafından bulaştırılır (Bakonyi ve ark., 2002). Varroa olan kolonilerde hem ergin hem de yavru arılar arasında bu virus çabuk bir şekilde yayılır. Aynı şekilde ölüm olayları da varroa görülmeyen fakat akut arı felci virusu ile enfekte olmuş kolonilere kıyasla daha fazladır. Ayrıca ABPV ile Deforme kanat virusu (DWV)'nin miks enfeksiyonlar oluşturduğu da belirlenmiştir (Shumkova ve ark., 2018).

2.6.1.2.2. Coğrafi Dağılım

Akut arı felci virusunun doğal konakçısı *Apis mellifera*'dır. Fakat virus *Bombus* arılarında enfekte edebilir. Çoğunlukla yaz sonu dönemler de meydana çıkar (Sumpter ve Martin, 2004). Enfeksiyon dünyada yaygın olarak görülmekle beraber özellikle Avrupa kıtasında çok görülür ve önemli kayıplara sebep olur (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.6.1.3. Klinik Bulgular

Bu virus ergin ve yavru arıları enfekte edebilmesine karşın hastalık semptomları genellikle erişkinlerde görülür. Yüksek dozda virus alımı larva döneminde ölümlere yol açar. Ancak düşük dozda virusla enfekte ise larvalar gelişimine devam ederek ergin arı olabilirler. Bu durumda subklinik enfeksiyon devam eder ve ergin haldeyken hastalık semptomları gelişebilir (Bekesi ve ark., 1999). Akut arı felcine bağlı semptomlar ve ölümler daha çok varroa paraziti ile

enfeste olan kolonilerde meydana gelir. Akut arı felci virusu ile enfekte olan erişkin arılarda 5-6 günlük inkübasyondan sonra, felç ve titreme semptomları görülür. Kademeli olarak bazı arılarda renk koyulaşması ve kılların dökülmesi şekillenebilir. Uçmayan bal arıları 1-2 gün içinde ölürler (Maramorosch ve Shatkin, 2007). Bazen enfeksiyon tüm kolonide gözlenmeden, ferdi vakalar halinde görülebilir (De Miranda ve ark., 2010).

2.6.1.4. Teşhis

Ergin arılar, larva veya pupa aşamasında ölen yavru arıları kısa zamanda elime ettiği için bunların dış muayene ile belirlenmesi oldukça güçtür. Enfekte kolonilerin tespitinde ELISA ve AGID gibi testler kullanılarak viral antijen teşhisi yapılabilir. ABPV'li kovanların durumunu tanımlamak için virolojik teknikler kullanılır. ABPV'nin kantitasyonu, hem bireysel hem de kolonide viral enfeksiyonu ortaya koyar (Blanchard ve ark., 2007). Son zamanlarda gerçek zamanlı RT-PCR yöntemleri, arı viruslarının saptanması ve nicelleştirilmesi için geliştirilmiştir. Ancak RT-PCR uygulamalarındaki en önemli kısıtlayıcı faktör bu hastalığın kolonilerde çoğunlukla subklinik görülmesidir (De Miranda ve ark., 2010).

RT-PCR; RNA'nın önce reverz transkripsiyonu (RT), ile cDNA'ya (complementary DNA) dönüştürülmesi ve ardından PCR ile çoğaltmasıdır. RT-PCR'ye özgü reverz transkriptazlar, termostabil DNA polimerazlarına göre daha hassas, değişken ve aynı zamanda daha düşük sıcaklıklarda çalışır. Bu nedenle, primer bağlanmanın özgüllüğü, enzimlerin zaman içindeki ve numuneler arasındaki tutarlılığı vs. gibi virus tespitinde güvenilirliğin birçok önemli parametresi, RT-PCR'nin reverse transkriptaz kısmı ile tanımlanır. Bu durum kısmen ısıya toleranslı reverse transkriptazlar her iki enzim için tek bir tampon sistemi ile çözülür ve tüm RT-PCR reaksiyonu bir yerde gerçekleşebilir (Aubert ve ark., 2008).

2.6.1.5. Mücadele

Akut arı felci hastalığının spesifik bir tedavi yöntemi yoktur. Genellikle subklinik görülmesi nedeniyle virüslü kolonilerin eliminasyonu da pratik bir yöntem değildir (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.6.2. Siyah Kraliçe Hücre Virusü (Black Queen Cell Virus, BQCV)

Siyah kraliçe hücre virusu, deforme kanat ve sacbrood viruslarından sonra en fazla bulunan (yaklaşık %80) bal arısı virusudur (Tapaszti ve ark., 2009). Bu virus bal arısı kraliçesi larvaları ve pupalarının ölümcül bir hastalığının etiyolojik ajanı olup kraliçe pupalarının bulunduğu mühürlenmiş petek gözlerinde koyu renge sahip ve ölmüş pupaların bulunmasıyla kendini gösteren bir enfeksiyondur (Bailey ve Woods, 1977).

2.6.2.1. Etiyoloji

Etken, *Dicistroviridae* ailesinin *Triatovirus* cinsinde yer alan bir RNA virusudur (Spurny ve ark., 2017). Kübik simetrik zarfsız bir yapıya sahip olan virus tek iplikçikli pozitif polariteli nükleik asit (ssRNA) taşır. Genom uzunluğu 8.5 kb virion büyüklüğü ise yaklaşık 30 nm civarındadır. Etkenin, tek parçalı genomunda 2 adet ORF bölgesinin bulunması dicistrovirusların genel özelliklerini yansıtır (Leat ve ark., 2000).

2.6.2.2. Epidemiyoloji

2.6.2.2.1. Bulaşma

Siyah kraliçe hücre virusunun epidemiyolojisinde *Nosema apis* paraziti vektör görevi görür (Allen ve Ball, 1996; Bailey ve ark., 1983; Berényi ve ark., 2006; Tentcheva ve ark., 2004). Ayrıca bulaşma beslenme yoluyla veya kontamine gıdalar (Anderson, 2005) vasıtasıyla de meydana gelebilir. Enfeksiyon zaman zaman işçi arı larvalarında da görülebilir. Ancak işçi arı larvalarının daha az miktarda ve daha kısa süreyle beslenmeleri sebebiyle etkenle karşılaşma olasılıkları zayıf veya öldürücü dozda virüsle karşılaşmamaktadırlar (Benjeddou ve ark., 2001). Bu tür işçi arı

larvalarında asemptomatik enfeksiyon meydana gelir. Kraliçe arılarının, bağırsak ve ovaryumunda virus tespit edilebilir (Aubert ve ark., 2008). Ayrıca enfekte erkek arıların spermalarında virus tespit edilemezken, kraliçe arıların yumurtalarında etken tespiti mümkündür (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.6.2.2.2. Coğrafi Dağılım

Avrupa'da coğrafi yayılmadan dolayı genetik çeşitliliğinin fazla olduğu görüşü hakimdir (Shumkova ve ark.,2018). Türkiye'de siyah kraliçe hücre hastalığı yaygın olarak bulunmaktadır. Bu virusun diğer ülkelerde görülen epidemiyolojisiyle uyumlu olarak, Türkiye'de ki erişkin arılarda larvalara oranla daha yüksek pozitiflik saptanmıştır (Gümüşova ve ark., 2010). Siyah kraliçe hücre virusu, *Nosema apis* parazitinde yaygın olarak görüldüğü haziran aylarında arı kolonilerinde hastalık oluşturabilir (Bailey ve ark., 1981a).

2.6.2.3. Klinik bulgular

En yaygın fakat en az bilinen bal arısı patojenlerinden biri olan siyah kraliçe hücre hastalığı kraliçe larva ve pupaların siyahlaşmasına ve ölmesine neden olan bir enfeksiyondur (Spurny ve ark., 2017). Virustan etkilenen yavrularda öncelikli olarak sarı renkli ve torba benzeri yumuşamış bir deri görünümü meydana gelir. Virus ergin arılarda ishale sebep olur. Pupalarda ise hızla çoğalarak yavrunun ölümüne neden olur. Petek gözlerindeki ölü yavruların koyu renk aldığı ve kahverenginden siyaha doğru giden bir görünüme büründüğü gözlenir. Aynı zamanda larva ve pupaların hücre duvarında siyahlaşma şekillenir. Enfekte ergin işçi arılarda herhangi bir klinik belirtiyeye rastlanmaz (Maramorosch ve Shatkin, 2007).

2.6.2.4. Teşhis

Peteklerde koyu renge dönüşen ve ölü kraliçe arı pupalarının görülmesi bu hastalığın işareti olarak kabul edilir. Larva döneminde, yavrularda sarımsı torba benzeri yapının bulunması tulumlu yavru çürüklüğü enfeksiyonuyla karıştırılabilir. Siyah kraliçe hücre virusu *Nosema apis* ile enfekte ergin arılarda daha çabuk çoğalır (Maramorosch ve Shatkin, 2007). Siyah kraliçe hücre hastalığı ile tulumlu yavru

çürüklüğü miks enfeksiyonlar şeklinde görülebilir (Grabensteiner ve ark., 2007). Deneysel enfeksiyonlarda siyah kraliçe hücre virusunun larvalara verilmesi sonucunda, uygulanan enfektivite testlerinde pozitif sonuçların alındığı bildirilmiştir. Hastalığın kesin teşhisi moleküler yöntemlerle konulabilir (Reddy ve ark., 2013).

2.6.2.5. Mücadele

Siyah kraliçe hücre hastalığının özellikle nosema paraziti ile ilişkili olmasından dolayı parazitle mücadele edilmesi hastalığın kontrolü açısından oldukça önemlidir (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.6.3. Deforme Kanat Virusu (Deformed Wing Virus, DWV)

Deforme kanat virusu, dünya da yaygın olarak görülen bal arısı viruslarından birisidir (Allen ve Ball, 1996). Bu etken ilk olarak 1977 yılında Mısır'da sağlıklı erişkin arılarda görülmüş ve Mısır arı virusu (EBV) adı verilmiştir. 1982 yılında Japonya'da fiziksel deformasyon gösteren başka bir virus tespit edilmiş ve etkenin Mısır arı virusu ile yakın serolojik ilişkisi olduğu belirlenmiştir (Allen ve Ball., 1996). Hastalıkta görülen klinik semptomlardan dolayı bu virusa deforme kanat virusu (DWV) adı verilmiştir (Rortais ve ark., 2006).

2.6.3.1. Etiyoloji

Picornavirusların benzeri morfolojide olan virus 30 nm çapında ve kübik simetrlili bir viriona sahiptir (Lanzi ve ark., 2006). Tek iplikçikli pozitif polariteli RNA(Lanzi ve ark., 2006; Maramorosch ve Shatkin, 2007) yapısındaki viral nükleik asit yaklaşık 10,1 kb uzunluğundadır. Etken *Iflaviridae* ailesinin *Iflavirus* cinsinde sınıflandırılmıştır. Iflaviruslar, genomunda tek bir ORF bölgesi taşımalarıyla dicistroviruslardan ayrılırlar (Valles ve ark., 2017a). Deforme kanat virusu, patojenik açıdan farklılık gösteren birbiriyle yakından ilişkili üç suş içerir (Brettell ve Martin, 2017). DWV'nin kendisini içeren A tipi (Lanzi ve ark., 2006), kakugo olan B tipi (Ongus ve ark., 2004) ve C tipi (DWV quasispecies) vardır (Mordecai ve ark., 2016).

2.6.3.2. Epidemiyoloji

2.6.3.2.1. Bulaşma

Varroa destructor deforme kanat virusunun ana vektörüdür. Avustralya'da yapılan bir çalışmada varroa içermeyen kolonilerde bu virus tespit edilememiştir (Roberts ve ark., 2017). Daha önce yapılan çalışmalarda, DWV'nin yetişkin işçi arıların ömrünü kışlama süresinde kısalttığı ve koloninin parazit akar *Varroa destructor* yıkıcısı tarafından istila edilmesi durumunda bu enfestasyonla birlikte ciddi sorunlara yol açtığı belirtilmiştir (Dainat ve ark., 2012; De Miranda ve Genersch., 2010; Dietemann ve ark., 2012; Highfield ve ark., 2009; Khongphinitbunjong ve ark., 2015; Martin ve ark., 2012). Parazit enfekte arı üzerinden virüsü hemolenften alır ve başka bir arıdan beslenirken de aktarır. DWV arı kolonilerinde hem vertikal hem de horizontal yolla bulaşabilir. Vertikal bulaşma erkek arıların sperması ve kraliçe arı yumurtaları vasıtasıyla gerçekleşir. Horizontal bulaşma ise larva besinleri yoluyla olmaktadır (Chen ve ark., 2006a; Weinberg ve Madel, 1985; Yang ve Cox-Foster, 2005).

2.6.3.2.2. Coğrafi Dağılım

Deforme kanat virüsü yoğun olarak *Varroa destructor* enfestasyonu şekillenen kolonilerde görülmektedir (Yue ve Genersch, 2005). Türkiye'de yapılan çalışmalarda deforme kanat virusunun mevcudiyeti rapor edilmiştir. Ana arı yetiştirme kolonilerinin yaklaşık %50'sinin bu virüsle enfekte olduğu bildirilmiştir (Gülmez ve ark., 2009). DWV'nin Tayland'daki en yaygın bal arısı virüsü olduğu (Sanpa ve Chantawannakul, 2009) ve varroa (Chantawannakul ve ark., 2006) ile tropilaelaps akarlarının (Khongphinitbunjong ve ark., 2015) istilasıyla sıkı bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur.

2.6.3.3. Klinik Bulgular

Enfekte kolonilerde semptomların meydana gelmesinde genellikle varroa enfestasyonunun bulunmasına bağlıdır. Arı deformitesi, kusurlu uzantılar (buruşmuş/körelmiş kanatlar), kısalmış abdomenler, ağırlık azalması (De Jong ve

ark., 1982; Schatton-Gadelmayer ve Engels, 1988) muhtemelen yaşam süresinde bir azalma (Kovac ve Crailsheim, 1988) ve sonuç olarak düzensiz yavru ve azalan arı sayıları gibi koloni etkilerini içerir (Shimanuki ve ark., 1994). Hastalıktan etkilenen arıların yağ hücrelerinde de virus bulunmuştur. Yağ hücreleri kraliçe arılarda yumurtanın gelişiminde rol oynayan 'vitellogenin'(yumurta proteini) meydana getirir. Bu sebeple enfekte kraliçe arıların yumurtalarının gelişimi zayıf ve kontamine olabilir (Fievet ve ark., 2006).

2.6.3.4. Teşhis

Virusun teşhisi için real-time PCR (R-T PCR) ve RT-PCR yöntemleri uygulanabilir. Virusun dünya çapında yoğun bulunması ve kolonilerin büyük bir miktarının subklinik-persiste enfekte olması nedeniyle kolonide *V. Destructor* olmadığında DWV enfeksiyonunda klinik semptom görülmediği veya konakçıda karakteristik bir etki yaratmadığı (De Miranda ve Genersch, 2010) fakat ektoparazitik enfestasyon *Varroa destructor* tarafından iletildiğinde, morfolojik deformasyona bunun sonucu olarak da ölüme sebep olarak arılar üzerinde çok yıkıcı etkilere sebep olduğu bildirilmiştir (Gisder ve ark., 2009). Bu yüzden tanı konulurken parazit muayeneside yapılmalı ve ona göre parazit örnekleride alınmalıdır (Doğanay ve Aydın, 2017).

2.6.3.5. Mücadele

Bu hastalığın arılarda sıkça görülmesi ve virusun hem vertikal hem de horizontal yollarla bulaşabilmesi sebebiyle enfeksiyonla mücadele arı kolonilerinde oldukça zordur. Korumada parazit mücadelesinin yapılması oldukça önemlidir (Doğanay ve Aydın, 2017).

Planlanan bu araştırmada, Burdur yöresinde bulunan 15 işletmeden toplanan 31 örnekte Reverz Transkriptaz-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemi kullanılarak siyah kraliçe hücre virusu (BQCV), deforme kanat virusu (DWV) ve akut arı felci virusu (ABPV) enfeksiyonlarının varlığı, yaygınlığı ve kolonilerdeki dağılım oranları hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Araştırma sonucunda, bal arılarında DWV, BQCV ve ABPV enfeksiyonlarının varlıklarının/yaygınlıklarının

belirlenmesi durumunda bu enfeksiyonlarla m¼cadele konusunda bilimsel yaklaşımda bulunulacaktır. Ayrıca bu hastalıklarla ilgili olarak Türkiye de sınırlı sayıda, araştırmanın planlandığı bölgede ise hiç çalışma yapılmamış olmasından dolayı da literatür bilgilerine de katkı sağlanacağı düşünülmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Temini

Bu araştırmada Burdur yöresi araştırma alanı içinde viral arı hastalıklarından ABPV, BQCV ve DWV'nin tespiti amacıyla Haziran-Eylül 2019 tarihleri arasında örnekleme yapıldı. Burdur ve köylerinde (Karaçal, Kumruca, Akyaka, Yazıköy, Çentik) bulunan 15 işletmeden 31 örnekleme yapılarak ergin arı ve yavrulu petek örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara getirildi (Şekil.3.1).

Burdur ili bal arısı koloni sayısı TÜİK 2019 yılı verilerine göre 39.470'dir (Anonim, 2019b). Araştırmada kullanılacak numune sayısının belirlenmesinde Erganiş'e göre; %99,9 güven seviyesinde, %90-95 güven aralığı, %5-10 hata payı ile örnekleme büyüklüğü 29-59 koloni olarak hesaplanmıştır (Erganiş, 1993).



Şekil 3.1. Arı kovanları yerleşim yerleri

3.1.2. Pozitif Kontrol

Pozitif RNA kontrolleri, PCR'daki optimizasyonu elde etme amacıyla İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsünden temin edildi.

3.1.3. Araştırmada kullanılan Primer Çiftleri ve Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan primer çiftleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo3.1. Üç virus için kullanılacak primerler ve amplicon uzunlukları

Etken	Primer Çiftleri	Amplicon Uzunluğu	Yayın
DWV-F	TGGTCAATTACAAGCTACTTGG	269 bp	Sguazza ve ark., 2013
DWV-R	TAGTTGGACCAGTAGCACTCAT		
BQCV-F	CTTTATCGAGGAGGAGTTCGAGT	536 bp	Sguazza ve ark., 2013
BQCV-R	GCAATAGATAAAGTGAGCCCTCC		
AIV-F	GGTGCCCTATTTAGGGTGAGGA	460 bp	Sguazza ve ark., 2013
ABPV-R	ACTACAGAAGGCAATGTCCAAGA		

Tez çalışmasında kullanılan malzemeler;

Ekstraksiyon Cihazı, Roche, MagnaPure, Germany marka ve içindeki kitler:

Magna Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit REF:03038505001:

Wash Buffer I

Wash Buffer III

Proteinase K

MGP

Lysis/Binding Buffer

Elution Buffer

Wash Buffer II

PCR Isı Döngü Cihazı: Techne TC-412, United Kingdom

Jel Elektroforez Cihazı: Thermo, USA

Jel Görüntüleme Cihazı: Vilber Lourmat, EEC.

Agaroz: Sigma, Kat No: A9539-100G, USA: 1/10 sulandırılmış TAE solüsyonu ile % 1,5'lük hazırlandı.

TAE Buffer(10X) A4227,1000 Lot: 8S012681 1/10 oranında distile suyu ile sulandırıldı.

R0611 Thermo Scientific 6xDNA Loading Dye lot:000531240

Plus Opti DNA Marker

Ethidium bromide: FisherBio Reagents 1%

Primerler: Oligonucleotide Data Sheet, Diagen, 06110 Ankara

One-Step RT-PCR Kiti: Grisp, Xpert One Step RT-PCR Kit GK64.0100 Portugal

PBS: CALBIOCHEM Lot: D00143018

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Örneklerin Hazırlanması

Arı işletmelerinde bal arısı kovanlarından alınan ergin ve yavrulu petek örnekleri (Şekil 3.2) soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Her biri 1 numune olarak kabul edilen 15-20 adet erişkin arı ve yavrulu petek örnekleri gruplandırıldı. Örnekler steril bir havanda 4-5 ml antibiyotikli phosphate buffer saline (PBS) ile ezilerek homojenize edildi. Daha sonra falkon tüplere aktarılarak 4000 rpm'de 30

5 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar nükleik asit ekstraksiyonu için steril ependorflara aktarıldı ve ekstraksiyon işlemine kadar -80°C’de saklandı.



Şekil.3.2. Arı kovanından örnek alım yöntemi

3.2.2. Örneklerden Ekstraksiyon Hazırlanması

Homojenizat numunelerinden alınan süpernatantları otomatik ekstraksiyon cihazı (Roche, Magna Pure, Germany) prosedürene bağlı kalınarak total nükleik asit ekstraksiyonu seçildi ve her bir arı numunesi için 200 µl olacak şekilde 31 süpernatant kullanıldı (Şekil 3.3). Bu numunelerden elde edilen RNA örnekleri tekrar kullanılmaya kadar -80°C’de saklandı.



Şekil 3.3. Örneklerden ekstraksiyon hazırlanması

3.2.3. RT-PCR ile Numunelerin Çalışılması

Öncelikle High Pure Viral Nucleic Acid Kit 11858874001 Elution Buffer ile prosedüre uygun olarak 3 virus için ayrı primer konsantrasyonu (10 p/mol) hazırlandı. One-Step RT-PCR Kit (Grisp, Xpert One Step RT-PCR Kit GK64.0100 Portugal) kullanıldı. Örnek başına steril bir ependorfa; 12,5 µl Fast PCR Master mix, Forward GSP (10 p/mol) ve Reverse GSP (10 p/mol) 1'er µl, 5 µl ekstrakte edilmiş RNA örneği, 1,25 µl RTase Mix, 4,25 µl RNase-free water eklenerek karışım hazırlandı (Tablo 3.2). Techne TC-412 cihazı ile etkenler çoğaltıldı. RT-PCR, reaksiyon evreleri ise Tablo 3.3'de verilmiştir. RT-PCR sonucu elde ettiğimiz ürünler, içinde etidyum bromür bulunan %1,5'lük agaroz jelde 80-100 voltta 80 dakika yürütülerek (Şekil 3.4) spesifik bantlar ultraviyole ışıkta görüntülendi.



Şekil 3.4. Örneklerin agaroz jele yüklenmesi

Tablo 3.2. RT-PCR metodu için reaksiyon karışımı ve hacimleri

Karışım	Hacim (µl)
Fast PCR Mastermix	12,5 µl
Forward GSP (10 p/mol)	1 µl
Reverse GSP (10 p/mol)	1 µl
RNA	5µl
RTase Mix	1,25µl
RNase- free water	4,25µl
Toplam	25µl

Tablo 3.3. RT-PCR test reaksiyonunun evreleri, ısı, zaman ve siklus koşulları

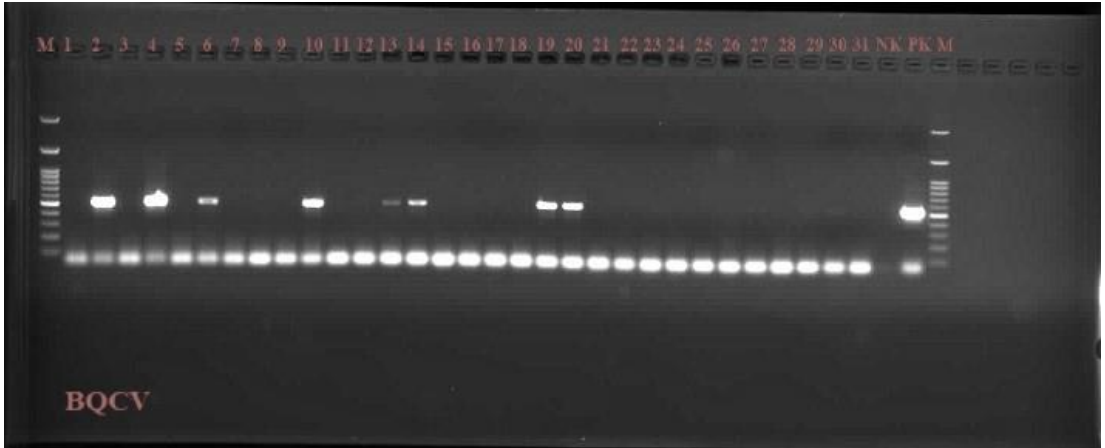
Evre	Isı	Zaman	Siklus
cDNA	45°C	10-15 dak.	1
İlk denaturasyon	95°C	3 dak.	1
Denaturasyon	95 °C	10sn	35
Bağlanma	56°C	10 sn	35
Uzama	72°C	15 sn	35
Son Uzama	72°C	1 dak.	1

4. BULGULAR

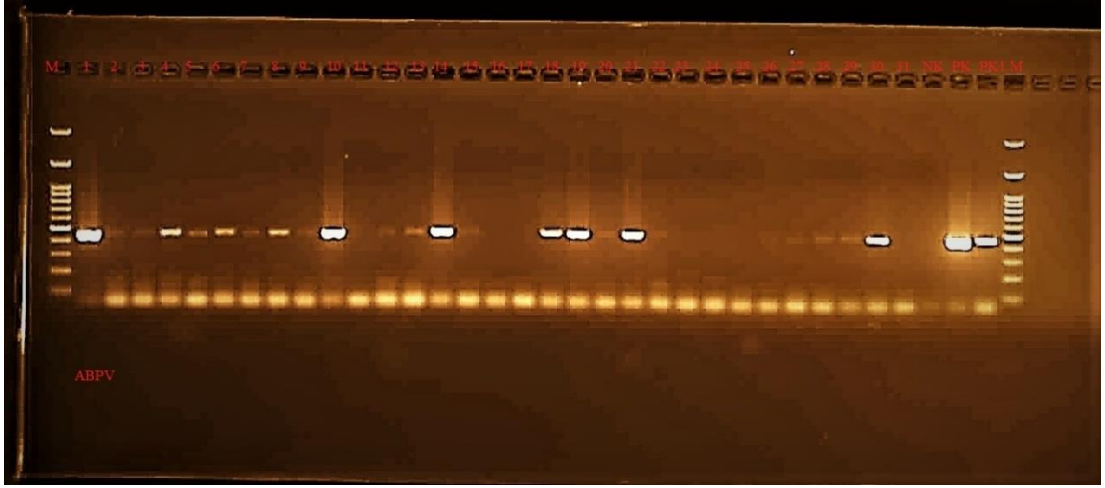
Bu çalışmada toplam 31 ekstraksiyonu yapılan RNA materyali, RT-PCR yöntemi ile DWV, BQCV ve ABPV nükleik asit varlıkları bakımından test edildi. Elde edilen RT-PCR ürünleri %1.5'lük agaroz jelde 80-100 V'de 80 dakika süre ile yürütüldü. RT-PCR'lardan elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3'de sunuldu.



Şekil4.1. DWV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker,1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, PK1: Pozitif kontrol] (269 bp)



Şekil 4.2. BQCV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker, 1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol] (536 bp)



Şekil 4.3. ABPV RT-PCR jel görüntüsü [M: Marker, 1-31: Materyaller, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol; PK1 Pozitif kontrol](460 bp)

Burdur yöresindeki 15 işletmeden toplanan 31 örneğin 23'ü DWV pozitif ve prevalansı %74,19 (23/31), örneklerin 23'ünde ABPV nükleik asidi pozitif ve prevalansı %74,19 (23/31), numunelerin 8'inde de BCQV nükleik asidi pozitif bulundu ve %25,81 (8/31) prevalans oranı tespit edildi (Tablo 4.1). Burdur ilinde varroa parazitinin ve viral enfeksiyonların bal arılarını enfekte ettiği, ABPV ve DWV için yüksek prevalans oranlarının olduğu saptandı.

Tablo 4.1. Burdur yöresinden toplanan erişkin arı ve yavrulu petek numunelerinden teşhis edilen etkenler

İşletme Sıra No/					
Arı Irkı	Numune No	DWV	BQCV	ABPV	
1/ İtalyan Irkı	1.	+	-	+	
İtalyan Irkı	2.	+	+	+	
İtalyan Irkı	3.	-	-	+	
2/ Muğla Irkı	4.	+	+	+	
Muğla Irkı	5.	+	-	+	
3/ İtalyan Irkı	6.	+	+	+	
İtalyan Irkı	7.	-	-	+	
4/ Karniyol ırkı	8.	-	-	+	
Karniyol ırkı	9.	-	-	+	
5/ Ege Irkı	10.	+	+	+	
Ege Irkı	11.	-	-	-	
6/ Karniyol Irkı	12.	-	-	+	
Ege Irkı	13.	+	+	+	
7/ İtalyan Irkı	14.	+	+	+	
Karpat Irkı	15.	+	-	+	
8/ Suriye Irkı	16.	+	-	-	
Suriye Irkı	17.	+	-	-	
9/ Suriye Irkı	18.	+	-	+	
Muğla Irkı	19.	+	+	+	
10/ Muğla Irkı	20.	+	+	+	
Muğla Irkı	21.	+	-	+	
11/ Karniyol Irkı	22.	-	-	+	
Karniyol ırkı	23.	-	-	-	
12/ Ege ırkı	24.	+	-	-	
Ege Irkı	25.	+	-	-	
13/ Karniyol ırkı	26.	+	-	-	
Karniyol ırkı	27.	+	-	+	
14/ İtalyan Irkı	28.	+	-	+	
Karpat Irkı	29.	+	-	+	

Tablo 4.1. (Devamı) Burdur yöresinden toplanan erişkin arı ve yavrulu petek numunelerinden teşhis edilen etkenler

İşletme Sıra No/ Arı Irkı	Numune No	DWV	BQCV	ABPV
15/ Belfast Irkı	30.	+	-	+
Belfast Irkı	31.	+	-	-
Toplam=15 İşletme 31 Numune Oran: %74,19 (23/31)		DWV	%25,81 (8/31)	
		BQCV	%74,19 (23/31)	ABPV

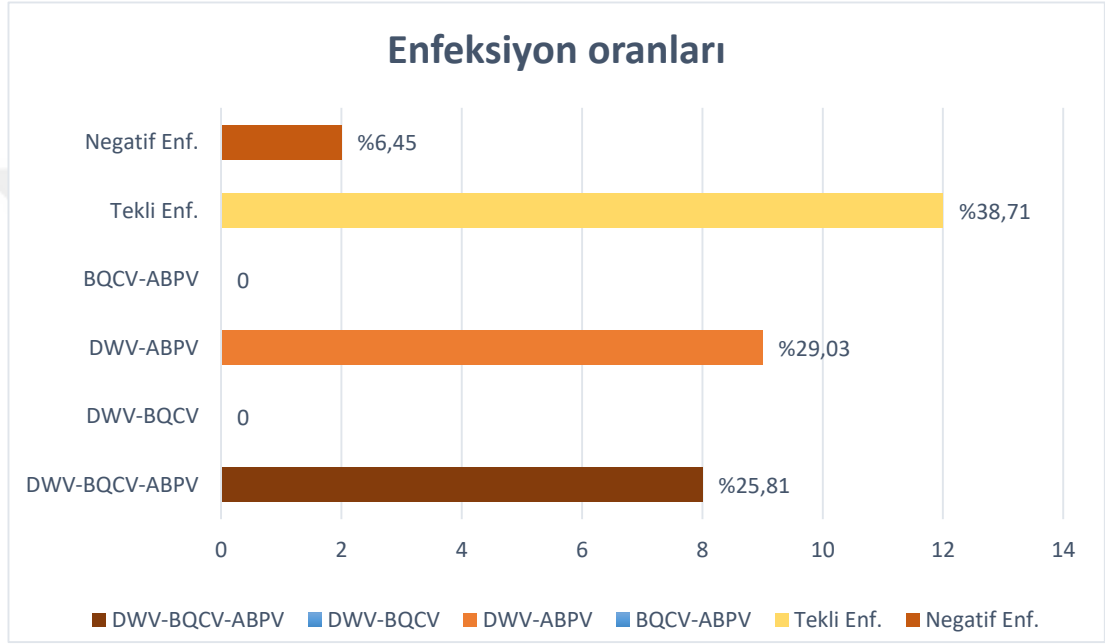
Toplam DWV için 23 adet pozitif örneğin 5'i Muğla, 4'ü Ege ekotipi, 3'ü Suriye, 2'si Belfast, 5'i İtalyan, 2'si Karpat ve 2'si Karniyol arı ırklarında dağılım görülmüştür. BQCV için 8 adet pozitif örneğin 3'ü Muğla, 2'si Ege ekotipi ve 3'ü de İtalyan arı ırklarında dağılım görülmüştür. ABPV için 23 adet pozitif örneğin 5'i Muğla, 2'si Ege ekotipi, 1'er Suriye ve Belfast, 7'si İtalyan, 5'si Karniyol ve 2'si Karpat arı ırklarında dağılım görülmüştür (Tablo 4.2, Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Tablo 4.2. İncelenen üç virusun arı ırklarına göre prevalans dağılımı

Arı ırkı	Örnek sayısı	DWV(+)%	BQCV(+)%	ABPV(+)%
Muğla	5	5/ %100	3/ %60	5/ %100
Suriye	3	3/ %100	-	1/ %33,33
Belfast	2	2/ %100	-	1/ %50
İtalyan	7	5/ %71,43	3/ %42,86	7/ %100
Karpat	2	2/ %100	-	2/ %100
Ege	5	4/ %80	2/ %40	2/ %40
Karniyol	7	2/ %28,57	-	5/ %71,43
Toplam	31 Örnek	23/%74,19	8/ % 25,81	23/ %74,19

Tablo 4.3. Örnekleme yapılan kolonilerde çoklu enfeksiyon oranları

Materyal Sayısı	DWV-BQCV-ABPV	DWV-BQCV	DWV-ABPV	BQCV-ABPV	Tekli Enf.	Negatif Enf.
N=31	8(%25,81)	-(%0)	9(%29,03)	-(%0)	12(%38,71)	2(%6,45)



Şekil 4.4. Kontrol edilen kolonilerde çoklu enfeksiyon oranları



Şekil 4.5. Varroa parazitli arı örnekleri

Araştırmamızda Burdur yöresindeki işletmelerden topladığımız arılar üzerinde varroa parazitinin mevcut olduğunu ve bazı arıların kanatlarında deformasyona uğradığını gözlemledik (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Örneklenen bazı işletmelerdeki arılarda görülen deforme kanat görüntüleri

5. TARTIŞMA

Bir hayvancılık dalı olan arıcılık, insanlık tarihinin en eski mesleklerinden birisidir. Arıcılık tarla, hayvancılık ve bağ-bahçe gibi tarım işletmeleri içinde ikinci üretim dalı olarak yapılabilir. Aynı zamanda arıcılık az bütçe ile çok kar sağlayan bir üretim faaliyetidir.

Arı sütü, bal ve polen gibi yüksek besin içerikli ürünler beslenme, sağlık ve sanayi açısından çok kıymetlidir. Tozlaşmaya katkısı, tarımsal üretim ve çiçekli bitkilerin çeşitliliği için arılar kritik öneme sahiptir. Türkiye zengin bitki florası ve uygun ekolojik şartları ile arıcılık iş kolu için en uygun ülkelerden biri olup, bu potansiyelini kullanarak dünyada bal üretimi ve arıcılıkta başlıca söz sahibi ülkeler arasındadır.

Dünyada 2005 yılında arı kolonisi varlığı 74.276.465 adet olup 2017 yılında %22,5 oranında artmıştır. Bu da arıcılığın seneler itibari ile mühim bir üretim dalı olmaya başladığını göstermektedir. FAO'ya göre ülkemiz arıcılıkta 2017 yılı itibariyle 7,8 milyon civarında koloni sayısı ile dünyada üçüncü, 4 bin ton balmumu üretimi ile üçüncü, 114 bin ton bal üretimi ile de ikincidir (Anonim, 2019a). Bu çalışmanın yapıldığı Burdur ilinde ise 39.470 koloni, 473 işletme ve yıllık 468 ton bal üretimi ile ülke koloni varlığının %0,5'i ve bal üretim miktarınınında %0,4'ünü karşılamaktadır (Anonim, 2019b); fakat ölçümü yapılamayan gezginci arıcılar sayesinde bu miktarın daha da çok olduğu tahmin edilmektedir.

Gezginci arıcılıktaki sorunlara baktığımızda; eğitim yetersizliği, konaklama alanlarının yetersiz ve altyapısının olmayışı, arı hastalıklarının yayılmasını önleyici tedbirlere tam olarak uyulmaması, güvenlik, damızlık ana arı eksikliği ve uyumu, kışlık toplanma alanları ve çiçekli bölgelerin koordinasyonundaki sıkıntılar gibi çeşitli sorunlar bulunmaktadır. Bu problemlerin hemen hemen tamamına yakınından sabit arıcılarda muzdariptir.

Bundan dolayı bal arılarının sağlıklarını korumak ve hastalıkları ile mücadele etmek oldukça önemlidir. Özellikle arı kovanlarında sebebi açıklanamayan koloni

kayıplarının önüne geçilmesi ve bu kayıpların en aza indirilmesi dünyamızın geleceği ve devamı için şarttır.

Arı kolonilerindeki kayıplarda farklı faktörlerle beraber virusların da rol alabileceği düşünülmektedir. Zira koloni kaybı gözlenen popülasyonlarda, parazitler ve viral etkenlerle aynı anda enfekte olma oranlarının diğer patojenlerin beraber bulunma oranlarına göre hayli fazla olduğu görülmektedir.

Yapılan bu araştırma ile ülke arıcılık faaliyetlerinde yer edinen Burdur ilinde bulunan arı kolonilerinde zararlara sebep olan önemli üç arı virusunun moleküler RT-PCR tespiti yapıldı, optimize edildi ve epidemiyolojik durumları ortaya konuldu. Son yıllarda eş zamanlı, hızlı ve ekonomik sonuçlar alabilmek amacıyla başvurulan önemli teşhis yöntemlerinden birisi RT-PCR'dır. Bu teknik diğer tespit yöntemleri ile karşılaştırıldığında yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olması aynı zamanda kolay uygulanması nedeniyle avantajlı bir teşhis yöntemi olarak görülmektedir.

Arılarda hastalık yapan virusların büyük çoğunluğunun pozitif polariteli tek iplikçikli RNA viruslar olduğu belirlenmiştir (Mc Menamin ve ark., 2018). Yapılan çalışmalarda özellikle arıcılıkta çok ağır kayıplara neden olan altı adet virus tespit edilmiştir (Shumkova ve ark., 2018). Bu viruslar sırasıyla; deforme kanat virusu (DWV), akut arı felci virusu (ABPV), kronik arı felci virusu (CBPV), sacbrood virusu (SBV), kaşmir arı virusu (KBV) ve siyah kraliçe hücre virusu (BQCV) dur. Bu tez çalışması insan sağlığı, ekosistem ve dünya/Türkiye ekonomisinde önemli yer tutan arıcılıkta, en önemli viral hastalıklar durumundaki DWV, ABPV ve BQCV enfeksiyonlarının Burdur yöresinde durumlarının ortaya konulması, hastalıklar ile ilgili olarak sahada farkındalığın artırılması ve bu hastalıklar ile alakalı mücadele stratejilerinin geliştirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Burdur yöresinde faaliyet gösteren 15 işletmeden alınan arı örneklerinde DWV, ABPV ve BQCV varlıkları araştırılmıştır.

DWV, ABPV ve BQCV enfeksiyonlarının, ADNS ve OIE gibi hastalıkları bildirim sistemlerinde ihbarı mecburi hastalıklar olmamalarından dolayı ülkelerin epidemiyolojik durumlarının değerlendirilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Ancak

bu viruslar ile alakalı literatür bilgileri incelendiğinde, hastalıkların dünyada yaygın olarak görüldükleri değerlendirilmektedir. Ülkelerin koloni kapasiteleri ve varroa mücadele programlarına göre enfeksiyonların görülme oranları farklılık göstermektedir.

Deforme kanat virus, dünya da yaygın olarak görülen bal arısı viruslarından birisidir (Allen ve Ball, 1996). Daha önce yapılan çalışmalarda, DWV'nin ergin işçi arıların ömrünü kıslama süresinde kısalttığı ve DWV enfeksiyonunun parazit akar *Varroa destructor* yıkıcısı tarafından istila edildiğinde ciddi sorunlara yol açtığı belirtilmiştir (Dainat ve ark., 2012; De Miranda ve Genersch, 2010; Dietemann ve ark., 2012; Highfield ve ark., 2009; Khongphinitbunjong ve ark., 2015; Martin ve ark., 2012). Arı deformitesi, kusurlu uzantılar (buruşmuş/körelmiş kanatlar), kısalmış abdomenler, ağırlık azalması (De Jong ve ark., 1982; Schatton-Gadelmayer ve Engels, 1988) muhtemelen yaşam süresinde bir azalma (Kovac ve Crailsheim, 1988) ve sonuç olarak düzensiz yavru ve azalan arı sayıları gibi koloni etkilerini içerir (Shimanuki ve ark., 1994).

Dünya'da DWV'nin varlığına baktığımızda; Tayland'da en yaygın bal arısı virusu olduğu, (Sanpa ve Chantawannakul, 2009) varroa (Chantawannakul ve ark., 2006) ve tropilaelaps akarlarının (Khongphinitbunjong ve ark., 2015) istilasını ile sıkı bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur. Almanya'da yapılan bir çalışmada, o bölgede endemik olan bir varroa paraziti türü tarafından istila edilen tüm alman arıları ile o ana kadar varroanın henüz bildirilmediği İsveç'ten getirilen isveç arıları karşılaştırılmıştır. Alman arılarında DWV nükleik asit %100 pozitif oran gösterirken, isveç arılarının ise sadece % 40'ına yakınında DWV pozitifliği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada hastalık etkeni arıların sadece toraks ve karın bölgelerinde değil, aynı zamanda baş bölgesinde de görüldüğü rapor edilmiştir (Yue ve Genersch., 2005). Arı kolonilerinde kayıpların yaşandığı Ürdün'ün Aclun bölgesinde RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada, bu kolonilerde DWV'nin yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir (Haddad ve ark., 2008).

Olağan dışı yüksek kış ölümleri ve hastalık belirtilerine sebep olan deforme kanat virus, bir çok ülkede RT-PCR yöntemi kullanılarak ergin ve pupalarda yüksek

oranda tespit edilmiştir (Antunez ve ark., 2006; Baker ve Schroeder, 2008; Gajyer ve ark., 2014; Kubaa ve ark., 2018; Nielsen ve ark., 2008; Tentcheva ve ark., 2004). Fakat Bulgaristan'da Shumkova ve ark., (2018) arı kolonilerinde deforme kanat virus için düşük prevalans oranı rapor etmiştir. Arjantin'in farklı iklim bölgelerinde bal arısı viruslarının varlığını değerlendirmek üzere çalışma yapılmış ve örneklenen kolonilerin %35'inde DWV bildirilmiştir. Bununla birlikte arıların yaklaşık %25'inde ikili ve üçlü viral enfeksiyon görüldüğü belirlenmiştir (Molineri ve ark., 2017).

Türkiye'de ana arı yetiştirme kolonilerinde yapılan bir çalışmada, bu kovanların yaklaşık %50'sinin bu virusla enfekte olduğu bildirilmiştir (Gülmez ve ark., 2009). Karapınar ve ark., (2018) Van ilinde yaptıkları çalışmada arılarda yüksek koloni kaybına sebep olan DWV hastalığını %69,23 oranında, bu kolonilerde varroa parazitinin prevalansında benzer şekilde yüksek oranda tespit etmişlerdir. Ege Bölgesindeki arı işletmelerinde multipleks RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan geniş çaplı bir araştırmada arılardaki DWV hastalığı %25,2 oranında belirlenmiştir ve özellikle bazı işletmelerde DWV hastalık semptomlarını gösteren veya yüksek koloni kaybının görüldüğü popülasyonlarda viral etkenlerin prevalanslarının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Çağırğan, 2018). Rüstemoğlu 2015 yılında Hakkari ilinden topladığı arı numunelerinde RT-PCR yöntemi kullanılarak yaptığı çalışmada toplam 90 işletmede DWV prevalansını %23,3 oranında rapor etmiştir.

Deforme kanat virusunun dünya çapında yoğun bulunması ve kolonilerin büyük bir çoğunluğunun subklinik-persiste enfekte olması nedeniyle kolonide *V. destructor* olmadığında, DWV enfeksiyonunda klinik semptom görülmediği veya konakçıda karakteristik bir etki etmediği (De Miranda ve Genersch, 2010) fakat etkenin ektoparazitik enfestasyon *Varroa destructor* tarafından iletildiğinde, morfolojik deformasyona bunun sonucu olarak da ölüme neden olduğu arılar üzerinde çok yıkıcı etkilere yol açtığı bildirilmiştir (Gisder ve ark., 2009).

Bu tez çalışmasında 15 arıcılık işletmesinden alınan 31 örneğin 23 tanesinde (%74,19) DWV tespit edilmiştir. Belirlenen bu prevalans oranı geçmişte ülkemizde yapılan bazı araştırmalar ile paralellik gösterirken bazılarına göre ise yüksek olduğu görülmüştür. DWV prevalansının yüksek olmasının nedeninin; bu bölgenin gezginci

arıcalar için geçiş bölgesi oluşu, virusun varroa paraziti ile bulaştığı dūřınılduđuėnde örnekleme yapılan birçok işletmedeki arılar üzerinde görülen varroa yıkıcısı ve bununla mücadelenin tam olarak yapılmaması olduğu değerlendirilmiştir.

En yaygın fakat en az bilinen bal arısı patojenlerinden biri olan BQCV yüksek titrelerde kraliçe, larva ve pupaların siyahlaşmasına ve ölmesine neden olan bir hastalıktır (Spurny ve ark., 2017). Deneysel enfeksiyonlarda siyah kraliçe hücre virusunun larvalara verilmesi sonucunda, uygulanan enfektivite testlerinde negatif sonuçların alındığı bildirilmiştir (Reddy ve ark., 2013). Siyah kraliçe hücre virusunun epidemiyolojisinin de *Nosema apis* paraziti vektör görevi görür (Allen ve Ball, 1996; Bailey ve ark., 1983; Bernyi ve ark., 2006).

BQCV'nin dünyadaki bazı yayılım oranlarına baktığımızda, Uruguay'da arı kolonilerinde RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan taramada BQCV'nin prevalansı %91 oranında bulunmuştur aynı zamanda bu araştırma Güney Amerika'nın ilk vakası olarak rapor edilmiştir (Antunez ve ark., 2006). Tentcheva ve ark., (2004) ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde 36 arılıkta, görünüşte sağlıklı kolonilerden toplamış oldukları ergin arı ve pupa rneklarını Reverz Transkriptaz-PCR ile amplifikasyona dayalı tespit çalışması yapmışlardır ve bu kolonilerde BQCV pozitifliğini %86 olarak rapor etmişlerdir. Danimarka'da yapılan bir çalışmada (Nielsen ve ark., 2008) olağan dışı yüksek kış ölümü görülen kolonide BQCV varlığı ortaya konulmuştur. Avustralya'da da arı kolonilerinde BQCV pozitifliği %65 oranında tespit edilmiştir (Roberts ve ark., 2017). Güney Amerika kıtasında yer alan şili'de koloni kayıplarının grldğu ilkbahar mevsiminde hastalık semptomları gösteren arılardan yapılan araştırmada BQCV enfeksiyonunun yüksek oranda bulunduğu rapor edilmiştir (Rodriguez ve ark., 2012). Aynı araştırmacıların (Rodriguez ve ark., 2014) yine şili'de bir sonraki yıllarda yaptıkları araştırmada enfeksiyonun yaygınlığının (%10) azaldığı tespit edilmiştir.

İngiltere, Hırvatistan ve Suriye lkelerinde de RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan araştırmalarda BQCV hastalığının prevalansının düşük oranlarda bulunduğu bildirilmiştir (Baker ve Schroeder., 2008; Gajyer ve ark., 2014; Kubaa ve ark., 2018).

Ülkemizde BQCV enfeksiyonu ile alakalı yapılan çalışmalara baktığımızda, Gümüşova ve ark., 2010 yılında RT-PCR tekniği ile ergin arılarda %21,42 BQCV pozitifliği saptamışlardır. Oğuz ve ark., 2017 yılında Van yöresinde yapmış oldukları çalışmada Nisan ve Mayıs aylarında örnekledikleri arılarda RT-PCR tekniğiyle BQCV nükleik asit varlığını %88,5 oranında rapor etmişlerdir. Aynı ilde yapılan başka bir çalışmada, örneklenen arı kovanlarının %88,46'sında (23/26) BQCV pozitif belirlenmiş ve etkenin sekans, filogenetik analiz sonuçlarına bakıldığında Genbank'tan elde edilen BQCV izolatlarına %94-100 oranında benzerlik gösterdiği ve varroa enfestasyon prevalansının ise %89 oranında olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, viral ve paraziter etkenlerin Van yöresinde bulunan bal arılarını enfekte ettiğini ve BQCV için yüksek prevalans oranlarının bulunduğu bildirilmiştir (Karapınar ve ark., 2018). Ege Bölgesindeki arı işletmelerinde multipleks RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan bir araştırmada ise arılarda BQCV enfeksiyon oranı %25,2 olarak tespit edilmiştir (Çağırgan, 2018). Rüstemoğlu'da 2015 yılında Hakkari ilinden topladığı arı numunelerinde BQCV pozitifliğini %32,2 oranında belirlenmiştir.

Yaptığımız tez çalışmasında Burdur yöresinden toplanan 31 arı numunesinin 8'inde (%25,81) BQCV nükleik asit varlığı tespit edildi. Belirlenen bu BQCV pozitiflik oranı, çalışma sahamıza yakın olan Ege Bölgesinde belirlenen oranla (Çağırgan, 2018) birebir örtüşmektedir. Araştırmamızda belirlediğimiz DWV ve ABPV enfeksiyonlarından daha düşük oranda BQCV pozitifliğinin bulunmasının nedeni olarak bölgedeki arı kolonilerinde nosema enfestasyonunun olmaması veya düşük oranda bulunmasına bağlanmıştır.

Araştırmamızdaki diğer viral ajan bal arısı kolonilerinde sıklıkla görülen ABPV ise ani koloni çökmesine neden olabilir ve parazitik akar olan *V. destructor* tarafından bulaştırılabilir (Bakonyi ve ark., 2002). Akut arı felci virusu, hastalık belirtisi görülmeyen enfekte ergin arılardan arı sütü ile gelişmekte olan larvalara veya varroa vektörleri tarafından pupalara ve larvalara taşınabilmektedir (Moore ve ark., 2015). Varroa parazitinin beslenme süresi ne kadar çok olursa, iletilen virus miktarıda o kadar çok olur (Genersch ve Aubert, 2010) Ayrıca yapılan bir

araştırmada ABPV ile DWV'nin miks enfeksiyonlar oluşturduğu da belirlenmiştir (Shumkova ve ark., 2018).

Dünya da bu konuyla alakalı yapılan çalışmalarda Çin'in Yunnan Eyaletindeki doğu arı kolonilerinde ABPV varlığı bulunamamış olmasına rağmen, şili'de ABPV varlığı %2, Uruguay'da ise %9 oranında rapor edilmiştir (Antunez ve ark., 2006; Rodriguez ve ark., 2014; Wang ve ark., 2016). Avrupa kıtasında yapılan araştırmalarda (Nielsen ve ark., 2008; Tentcheva ve ark., 2004; Baker ve Schroeder, 2008; Gajyer ve ark., 2014) ise daha yüksek oranlarda ABPV pozitifliği belirlenmiş ve arı kayıplarının önemli nedenlerinden birisi olarak kabul edilmiştir.

Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda ABPV enfeksiyonunun varlığı değişik oranlarda rapor edilmiştir. Ülkemizde ilk kez ABPV varlığını, Rüstemoğlu (2015) Hakkari'den topladığı arı örneklerinde RT-PCR tekniği ile ortaya koymuştur (%2,2). Daha sonraki yıllarda ağırgan (2018) Ege Bölgesinde bulunan arı işletmelerinden topladığı numunelerde ABPV prevalansını %3,6 olarak rapor etmiştir. Karapınar ve ark., (2018) ise Van yöresinde bulunan arı kolonilerinde yaptıkları taramada ABPV enfeksiyonunun varlığına rastlamamışlardır.

Araştırmamızda RT-PCR uygulamaları sonucunda, Burdur yöresinden topladığımız 31 örneğin 23'ünde (%74,19) ABPV nükleik asit varlığı tespit edildi. Çalışma sırasında belirlenen bazı zayıf pozitif işimaların sebebi olarak numunedeki virus titresinin düşüklüğünün sonucu oluştuğu kanaatine varılmıştır. Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla kıyaslandığında bizim alışmamızda ABPV oranının yüksek olmasının sebebi olarak kovanlarda yoğun arı barındırılması, varroa enfestasyonunun yaygın oluşu ve Burdur yöresinin gezginci arıcular için bir geçiş bölgesi olmasının enfeksiyöz etkenlerin yayılmasını arttırdığı şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca ABPV hastalığının arı kolonilerinde genellikle yaz sonu dönemlerinde ortaya çıktığı bilinmektedir (Sumpter ve Martin, 2004). Bizde alışmamızda analizleri yapılan arı numunelerini sonbahar döneminde topladığımızdan dolayı yüksek prevalans tespit etmemizde bu durumda etkisinin olduğu düşünüldü.

Sonuç olarak, arılarda bu virusların oldukça yaygın oranda varlığının ortaya konulduğu bu araştırmanın verileri dikkate alındığında, söz konusu hastalıkların Burdur yöresinde arı kovanlarında sebebi açıklanamayan koloni kayıplarının önüne geçilmesi ve bu kayıpların en aza indirilmesi bölge ve ülke ekonomisi açısından oldukça önemli olup, ciddi tedbirlerin alınması gerektiği kanaatine varılmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Arıcılık dünyada ekonomik olarak tarıma ve tozlaşma vasıtasıyla bitkisel üretime ve dolayısıyla ekosisteme yadsınamayacak katkılar sağlar. Arıların olmadığı bir ekosistemde tarımsal üretiminde %47'lik bir düşüşün görüleceği değerlendirilmektedir. Son zamanlarda dünyada gözlenen ve sebebi bilinmeyen koloni kaybı olayları biyolojik dengede sorun yaratacak gibi görülmektedir. Bu durum koloni varlığı ile dünyada üçüncü sırada bulunan ülkemiz için de tehdit oluşturmaktadır. Türkiye zengin bitki florası ve ideal ekolojik şartları ile arıcılık iş kolu için en uygun ülkelerden biri olup, bu potansiyelini kullanarak dünyada bal üretimine arıcılık da başlıca söz sahibi ülkeler arasındadır. Bundan dolayı bal arılarının sağlıklarını korumak ve hastalıkları ile mücadele etmek oldukça önemlidir. Özellikle arı kovanlarında sebebi açıklanamayan koloni kayıplarının önüne geçilmesi ve bu kayıpların en aza indirilmesi dünyamızın geleceği ve devamı için şarttır.

Bu tez çalışmasında bal arılarının sağlığı için önemli tehdit oluşturan üç viral etkenin Burdur yöresindeki arı kolonilerinde varlığı/yaygınlığı RT-PCR yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bölgede bulunan arıcılık işletmelerinde ABPV %74,19 (23/31), DWV %74,19 (23/31) ve BQCV %25,81 (8/31) oranında tespit edilmiştir. Bu veriler Burdur yöresindeki arılarda söz konusu hastalıkların ilk kez ortaya konulması açısından oldukça önemlidir.

Ülkemizde ve dünyada sağlıklı arı ve arı kolonilerinin mevcudiyeti gerek doğal yaşam gerekse insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bunun sağlanmasında önemli kriterlerden bir tanesinde viral ajanlardan arı arılar ve koloniler yetiştirmektir. Bu nedenle bu hastalıklarla mücadele de doğru ve hızlı teşhis ile koruma tedbirlerinin alınması gerekmektedir. Bu sayede bal arılarının sağlıklarının korunması sağlanarak gelecek nesillere ve ekosisteme katkı sağlanmış olacaktır.

Tez araştırması sonucunda oldukça yüksek oranlarda tespit edilen enfeksiyon etkenlerinin ve diğer viral etkenlerin bulaşmasında başlıca rolü bulunan Nosema ve Varroa parazitleriyle mücadele edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Bu maksatla arı sağlığının korunması için viral ve paraziter etkenlerin tarama programları birlikte

yürütülmelidir. Ayrıca hastalık etkenlerine karşı dirençli arı ırklarının kullanılması, beslenme/barındırma koşullarının iyi olması, sanitasyon ve hijyen kurallarına uyulması arı sağlığının korunmasında göz ardı edilmemesi gereken durumlardır. Bunun yanı sıra arıcılıkla uğraşan kişilerin konu hakkında düzenli eğitilmeleri ve bilinçlendirilmeleri için çalışmalar yapılmalıdır.



KAYNAKLAR

- Allen MF, Ball BV (1996).** The incidence and World distribution of honey bee viruses. *Bee World*. 77, 141–162.
- Anderson DL (1990).** Pests and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*L.) in Fiji. *J. Apicult. Res.* 29, 53–59.
- Anderson D (2005).** *Triggering virus replication in honey bees.* Bee Research And Virus in Europe. Proceedings of the meeting in Sophia-Antipolis (France) 24-26 April.
- Anonim (2019a).** Erişim Adresi Honey, beeswax production and beehives statistics database.<http://www.fao.org/faostat/en/#data> Erişim tarihi: 02.10.2019.
- Anonim (2019b).** Erişim Adresi Arıcılık, Turk Stat, Bee Products.http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002 Erişim Tarihi: 02.10.2019.
- Anonim (2019c).** Erişim Adresi <https://www.aricilik.com.tr/bal-arisi-hakkinda-kisa-bilgi?sfns=mo> Erişim tarihi: 11.11.19.
- Antúnez K, D’Alessandro B, Corbella E, RamalloG, Zunino P (2006).** Honeybee viruses in Uruguay. *J Invertebrat Pathol.* 93,67–70.
- Aubert M, Ball B, Fries I, Moritz R, Milani N, Bernardinelli A (2008).** *Virology and the Honey Bee.* Belgium, ISBN 92-79-00586-3.
- Bailey L (1976).** An Iridovirus from Bees. *J. gen. Viral.* 3, 459-461.
- Bailey L, Ball BV, Perry JN (1983).** Association of viruses with two protozoal pathogens of the honey bee. *Ann of Appl Biol.* 103, 13-20.
- Bailey L, Ball BV, Perry JN (1981a).** The prevalence of viruses of honey bees in Britain. *Ann Appl Biol.* 97, 109–118.
- Bailey L, Carpenter JM, Woods RD (1981b).** Properties of a Filamentous Virus of the Honey Bee (*Apis mellifera*). *Virology.* 114, 1-7.
- Bailey L, Gibbs AJ, Woods RD (1963).** Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology.* 21(3), 390-395.
- Bailey L, Woods RD (1977).** Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sacbrood and acute bee-paralysis viruses. *J Gen Virol.* 37, 175–182.

- Baker AC, Schroeder DC (2008).** Occurrence and genetic analysis of picorna-like viruses infecting worker bees of *Apis mellifera* L. populations in Devon, South West England. *J Invertebr Pathol.* 98, 239–242.
- Bakonyi T, Farkas R, Szendrői A, Dobos-Kovács M, Rusvai M (2002).** Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries. *Apidologie.* 33(1), 63–74.
- Ball BV, Bailey L (1997).** *Viruses.* In: Morse RA, Flottum K, eds. Honey bee pests, predators and diseases. Third Edition. Medina: AI Root Company, p: 11–31.
- Békési L, Ball BV, Dobos-Kovács M, Bakonyi T, Rusvai M (1999).** Occurrence Of Acute Paralysis Virus of the Honey Bee (*Apis Mellifera*) in a Hungarian apiary infested with the parasitic mite *Varroa Jacobsoni*. *Acta Vet Hung.* 47 (3), 319–324.
- Benjeddou M, Leat N, Allsopp M, Davison S (2001).** Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honey bees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2384–2387.
- Berényi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Köglberger H, Nowotny N (2006).** Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl Environ Microbiol.* 72(4), 2414–2420.
- Berthoud H, Imdorf A, Haueter M, Radloff S, Neumann P (2010).** Virus infections and winter losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *J Apicul Res.* 49, 60–65.
- Blanchard P, Ribière M, Celle O, Lallemand P, Schurr F, Olivier V, Iscache AL, Faucon JP (2007).** Evaluation of a real-time two-step RT-PCR assay for Quantitation of Chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in lifestages of a symptomatic colony. *J Virol Methods.* 141, 7–13.
- Bowen-Walker PL, Martin SJ, Gunn A (1999).** The Transmission of Deformed Wing Virus Between Honey bees (*Apis Mellifera*) by Ectoparasitic Mite *Varroa Jacobsoni* Oud. *J Invertebr Pathol.* 73, 101–106.
- Brettell LE, Martin SJ (2017).** Oldest *Varroa* tolerant honey bee population provides insight into the origins of the global decline of honey bees. *Sci Rep.* 7.

- Chanpanitkitchote P, Chen Y, Evans J, Li W, Li J, Hamilton M, Chantawannakul P (2018).** Acute bee paralysis virus occurs in the Asian honey bee *Apis cerana* and parasitic mite *Tropilaelaps mercedesae*. *J Invertebr Pathol.* 151, 131–136.
- Chantawannakul P, Ward L, Boonham N, Brown M (2006).** A scientific note on the detection of honey bee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Thai honey bee (*Apis mellifera*) apiary. *J Invertebr. Pathol.* 91 (1),69–73.
- Chen YP, Zhao Y, Hammond J, Hsu HT, Evans J, Feldlaufer M (2004).** Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey beeviruses. *J invertebr pathol.* 87(2), 84-93.
- Chen YP, Evans J, Feldlaufer M (2006a).** Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee (*Apis mellifera*).*J Invertebr Pathol.* 92,152–159.
- Chen YP, Pettis JS, Collins A, Feldlaufer MF (2006b).** Prevalence and Transmission of Honey bee Viruses. *Appl Environ Microbiol.* 72(1), 606-611.
- Chen YP, Siede R (2007).** Honey bee viruses. *Adv. Virus Res.* 70, 33-80.
- Cremer S, Armitage SAO, Schmid-Hempel P (2007).** Social Immunity. *Current Biology.* Vol 17 No 16 R694.
- Çağırğan AA (2018).** Ege Bölgesinde Virus Nedenli Arı Hastalıklarının Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Araştırılması. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Viroloji Anabilim Dalı.
- Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P(2012).** Predictive markers of honey bee colony collapse. *Plos One.* 7, e32151.
- De Jong D,De Jong PH, Gonçalves LS (1982).** Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *J. Apic. Res.*
- De Miranda JR, Cordoni G, Budge G (2010).** The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *J Invertebr Pathol.* 103, 30–47.
- De Miranda JR, Genersch E (2010).** Deformed wing virus. *J Invertebr Pathol.* 103, 48-61.
- Dietemann V, Pflugfelder J, Anderson D, Charrière JD, Chejanovsky N, Dainat B, de Miranda J, Delaplane K, Dillier FX, Fuch S, Gallmann P, Gauthier L,**

- Imdorf A, Koeniger N, Kralj J, Meikle W, Pettis J, Rosenkranz P, Sammataro D, Smith D, Yañez O, Neumann P (2012).** Varroa destructor: research avenues towards sustainable control. *J. Apic. Res.* 51 (1), 125–132.
- Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C (2013).** Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter?. *PLoS ONE*. 8(8): e72016.
- Doğanay A, Aydın L (2017).** *Bal Arısı Yetiştiriciliği Ürünleri Hastalıkları*. 1. Baskı, Bursa: Dora Yayınevi, s: 21-57, 283-343.
- Erganiş O (1993).** *Veteriner Epidemiyoloji (Temel Bilgiler)*. Mimoza Yayınları:16, Sağlık bilimleri dizisi: 2, Konya, ISBN: 975-543-018-0. s:74-79.
- Evans JD (2001).** Genetic Evidence for Coinfection of Honey Bees by Acute Bee Paralysis and Kashmir Bee Viruses. *J Invertebr Pathol.* 78, 189–193.
- Evans JD, Spivak M (2010).** Socialized medicine: Individual and communal disease barriers in honey bees. *J Invertebr Pathol.* 103, 62–72.
- Fievet J, Tentcheva D, Gauthier G, de Miranda JR, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M (2006).** Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. *Virol. J.* 3, p.16.
- Gajger I, Kolodziejek J, Bakonyi T, Nowotny N (2014).** Prevalence and distribution patterns of seven different honeybee viruses in diseased colonies: a case study from Croatia. *Apidologie* .45, 701-706.
- Garigliany M, Agrebi NE, Franssen M, Hautier L, Saegerman C (2018).** Moku virus detection in honey bees Belgium, 2018. *Wiley Transbound Emerg Dis.* 2019 66:43–46.
- Genersch E, Aubert M (2010).** Emerging and re-emerging viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Vet Res.* 41(6), 54.
- Gisder S, Aumeier P, Genersch E (2009).** Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *J Gen Virol.* 90(2), 463-467.
- Goblirsch MJ, Spivak MS, Kurtti TJ (2013).** A Cell Line Resource Derived from Honey Bee (*Apis mellifera*) Embryonic Tissues. *PLoS ONE* 8(7): e69831. doi:10.1371/journal.pone.0069831.

- Govan VA, Leat N, Allsopp M, Davison S (2000).** Analysis of the complete genome sequence of acute bee paralysis virus shows that it belongs to the novel group of insect-infecting RNA viruses. *Virology*. 277(2), 457-463.
- Grabensteiner E, Bakonyi T, Ritter W, Pechhacker H, Nowotny N (2007).** Development of a multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of three viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.): acute bee paralysis virus, black queen cell virus and sacbrood virus. *J Invertebr Pathol*. 94, 222–225.
- Gülmez Y, Bursalı A, Tekin Ş (2009).** First molecular detection and characterization of Deformed wing virus (DWV) in honey bee (*Apis mellifera*) in Turkey. *African J Biotechnol*. 8 (16), 3698-3702.
- Gümüsova SO, Albayrak H, Kurt M, Yazıcı Z(2010).** Prevalence of three honey bee viruses in Turkey. *Veterinarski Arhiv*.80 (6), 779-785.
- Haddad N, Brake M, Migdadi H, R. de Miranda JR (2008).** First detection of honey bee viruses in Jordan by Rt-Pcr. *Jordan J Agricul Sci*. Volume 4, No.3.
- Highfield AC, El Nagar A, Mackinder LC, Laure MLN, Hall MJ, Martin SJ, Schroeder DC (2009).** Deformed wing virus implicated in overwintering honeybee colony losses. *Appl environl microbiol*. 75(22), 7212-7220.
- Hung ACF, Ball BV, Adams JR, Shimanuki H, Knox DA (1996).** A scientific note on the detection of American strain of acute paralysis virus and Kashmir bee virus in dead bees in one US honey bee (*Apis mellifera* L) colony. *Apidologie*. 27, 55–56.
- Joachim R, Miranda D, Cordoni G, Budge G (2010).** The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *J Invertebr Pathol*. 103, 30-47.
- Ju H, Ghil S (2015).** Primary cell culture method for the honeybee *Apis mellifera*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Animal*. 51, 890–893.
- Karapınar Z, Oğuz B, Dinçer E, Öztürk C (2018).** Phylogenetic analysis of black queen cell virus and deformed wing virus in honeybee colonies infected by mites in Van, Eastern Turkey. *Med. Weter*. 74 (7), 460-465.
- Khongphinitbunjong K, De Guzman LI, Tarver MR, Rinderer TE, Chantawannakul P (2015).** Interactions of *Tropilaelaps mercedesae*, honey bee viruses and immune response in *Apis mellifera*. *J. Apic. Res*.54(1), 40–47.

- Korpela S, Aarhus A, Fries I, Hansen H (1992).** *Varroa jacobsoni* Oud. In cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *J. Apicult. Res.* 31, 157–164.
- Kovac H, Crailsheim K (1988).** Life span of *Apis mellifera* Carnica Pollm. infested by *Varroa jacobsoni* in relation to season and extent of infestation. *J. Apic. Res.* 27(4), 230–238.
- Kubaa RA, Molnatto G, Khaled BS, Daher-Hjaij N, Hemoun K, Saponari M (2018).** First detection of black queen cell virus, *Varroa destructor* macula-like virus, *Apis mellifera* filamentous virus and *Nosema ceranae* in Syrian honey bees *Apis mellifera syriaca*. *Bull Insectology.* 71 (2), 217-224.
- Lanzi G, De Miranda JR, Boniotti MB, Cameron CE, Lavazza A, Capucci L, Camazine SM, Rossi C (2006).** Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J Virology.* 80, 4998-5009.
- Leat N, Ball B, Govan V, Davison S (2000).** Analysis of the complete genome sequence of black queen-cell virus, a picorna-like virus of honey bees. *J Gen Virol.* 81, 2111-2119.
- Levin S, Sela N, Erez T, Nestel D, Pettis J, Neumann P, Chejanovsky N (2019).** New Viruses from the Ectoparasite Mite *Varroa destructor* Infesting *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Viruses.* 11, 94.
- Maramorosch K, Shatkin A (2007).** Honey bee viruses. *Advances in Virus Research, Academic Press.* 33-80.
- Martin SJ, Highfield AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Nikaido S, Schroeder DC (2012).** Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science.* 336 (6086), 1304.
- McMahon DP, Fürst MA, Caspar J, Theodorou P, Brown MJF, Paxton RJ (2015).** A sting in the spit: widespread cross-infection of multiple RNA viruses across wild and managed bees. *J Anim Ecol.* 84, 615–624.
- McMahon DP, Natsopoulou ME, Doublet V, Fürst M, Weging S, Brown MJ, Gogol-Döring A, Paxton RJ (2016).** Elevated virulence of an emerging viral genotype as a driver of honeybee loss. *Proceedings of the Royal Society of London B.* 283, 1833.

Mc Menamin AJ, Daughenbaugh KF, Parekh F, Pizzorno MC, Flenniken ML (2018). Honey Bee and Bumble Bee Antiviral Defense. *Viruses*. 10, 395.

Molineri AI, Pacini A, Giacobino A, Bulacio-Cagnolo N, Aignasse A, Zago L, Fondevila N, Ferrufino C, Merke J, Orellano E, Bertozzi E, Pietronave H, Signorini M (2017). Prevalence of honey bee (*Apis mellifera*) viruses in temperate and subtropical regions from Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 49, 166–173.

Moore PA, Wilson ME, Skinner JA (2015). Honey bee viruses, the deadly Varroa Mite Associates. *Bee Health*. 19, 2015.

Mordecai GJ, Wilfert L, Martin SJ, Jones IM, Schroeder DC (2016). Diversity in a honeybee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies. *The ISME Journal*. 10, 1264-1273.

Mullapudi E, Pridal A, Pálková L, De Miranda JR, Plevka P (2016). Virion structure of Israeli acute bee paralysis virus. *J Virol*. 90, 8150–8159.

Natsopoulou ME, McMahon DP, Doublet V, Frey E, Rosenkranz P, Paxton RJ (2017). The virulent, emerging genotype B of Deformed wing virus is closely linked too verwinter honeybee worker loss. *Sci Rep*. 7(1), 5242.

Nielsen SL, Nicolaisen M, Kryger P (2008). Incidence of Acute bee paralysis virus, Black queen cell virus, Chronic bee paralysis virus, Deformed wing virus, Kashmir bee virus and Sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark. *Apidologie*. 39, 310-314.

Oğuz B, Karapınar Z, Dinçer E, Değer MS (2017). Molecular detection of *Nosema* spp. and black queen-cell virus in honeybees in Van Province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*. 41, 221-227.

Ongus JR, Peters D, Bonmatin JM, Bengsch E, Vlak JM, Van Oers MM (2004). Complete sequence of a picorna-like virus of the genus Iflavirus replicating in the mite *Varroa destructor*. *J Genl Virol*. 85(12),3747-3755.

Reddy KE, Noh JH, Choe SE, Kweon CH, Yoo MS, Doan HTT, Ramya M, Yoon BS, Nguyen LTK, Nguyen TTD, Quyen DV, Jung SC, Chang KY, Kang SW (2013). Analysis of the complete genome sequence and capsid region of black queen cell viruses from infected honeybees (*Apis mellifera*) in Korea. *Virus Genes*. 47, 126–132.

- Roberts JMK, Anderson DL, Durr PA (2017).** Absence of deformed wing virus and *Varroa destructor* in Australia provides unique perspectives on honeybee viral landscapes and colony losses. *Sci Rep.* 7, 6925.
- Rodriguez M, Vargas M, Gerding M, Navarro H, Antunez K (2012).** Viral infection and *Nosema ceranae* in honey bees in Chile. *J Apicul Res.*51,285-287.
- Rodríguez M, Vargas M, Antúnez K, Gerding M, Castro FO, Zapata N (2014).** Prevalence and phylogenetic analysis of honey bee viruses in the Biobío Region of Chile and their association with other honey bee pathogens. *Chilean J Agricu.* 74,170-177.
- Rortais A, Tentcheva D, Papachristoforou A, Gauthier L, Arnold G, Colin ME, Bergoin M (2006).** Deformed wing virus is not related to honey bees' aggressiveness. *Virology J.* 3, 61.
- Rüstemoğlu M (2015).** Hakkari İli Bal Arılarında (*Apis Mellifera L.*) Görülen Önemli Arı Viruslarının RT-PCR Yöntemi İle Araştırılması Ve Moleküler Karakterizasyonlarının Yapılması. Doktora Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Sammataro D, Gerson U, Needham G (2000).** Parasitic Mites of Honey Bees: Life History, Implications, and Impact. *Annual Review of Entomology.* 45(1), 519–548.
- Sanpa S, Chantawannakul P (2009).** Survey of six bee viruses using RT-PCR in Northern Thailand. *J. Invertebr pathol.* 100(2), 116-119
- Schatton-Gadelmayer K, Engels W (1988).** Hamolymph proteine und Körpergewicht frischgeschlupfter Bienen-Arbeiterinnen nach unterschiedlich starker Parasitierung durch Brutmilben. *Entomol. Gen.* 14(2), 93–101.
- Sguazza GH, Reynaldi FJ, Galosi CM, Pecoraro MR (2013).** Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR. *J Virol Methods,* 194 (1), 102–106.
- Shimanuki H, Calderone NW, Knox DA (1994).** Parasitic mite syndrome: The symptoms. *Am. Bee J.* 134, 827–828.
- Shumkova R, Neov B, Sirakova D, Georgieva A, Gadjev D, Teofanova D, Radoslavov G, Bouga M, Hristov P(2018).** Molecular detection and phylogenetic assessment of six honeybee viruses in *Apis mellifera L.* colonies in Bulgaria. *Peer J.* 20;6:e5077.
- Silici S (2011).** *Bal Arısı Biyolojisi ve Yetiştiriciliği.* Eflatun 2. Basım, Ankara, s:141.

- Simone-Finstrom M, Spivak M (2010).** Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*. 41, 295–311.
- Spurny R, Pridal A, Pálková L, Kiem HKT, De Miranda JR, Plevka P (2017).** Virion structure of black queen cell virus, a common honeybee pathogen. *J Virol*. 91, e02100-16.
- Sumpter DJ, Martin SJ (2004).** The dynamics of virus epidemics in Varroa infested honey bee colonies. *J Anim Ecol*. 73(1), 51-63.
- Tantillo G, Bottaro M, Di Pinto A, Martella V, Di Pinto P, Terio V (2015).** Virus infections of honeybees *Apis Mellifera*. *Italian journal of food safety*. 4(3), 5364.
- Tapasztai Z, Forgach P, Kovágó C, Topolska G, Nowotny N, Rusvai M, Bakonyi T (2009).** Genetic analysis and phylogenetic comparison of Black queen cell virus genotypes. *Vet Microbiol*. 139, 227-234.
- Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M (2004).** Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France. *Appl Environ Microbiol*. 7185–7191.
- Valles SM, Chen YP, Firth AE, Guerin DMA, Hashimoto Y, Herrero S, de Miranda JR, Ryabov E and ICTV Report Consortium(2017a).** ICTV virus taxonomy profile: iflaviridae. *J Gen Virol*. 98,527–528.
- Valles SM, Chen YP, Firth AE, Guerin DMA, Hashimoto Y, Herrero S, de Miranda JR, Ryabov E and ICTV Report Consortium (2017b).** ICTV virus taxonomy profile: dicistroviridae. *J Gen Virol*. 98, 355–356.
- Wang M, Bi J, Wang L, Zhou D, Ma X, Li W, Zhao W, Yin G, Liu J, He S(2016).** Prevalence of Four Common Bee RNA Viruses in Eastern Bee Populations in Yunnan Province, China. *J Veterinar Sci Technol*. 7,1.
- Weinberg KP, Madel G (1985).** The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. on the protein concentration and hemolymph volume of the blood of the worker bees and drones of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*.16, 421–436.
- Yang X, Cox-Foster DL (2005).** Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci*.102,7470–7475.

Yue C, Genersch E (2005). RT-PCR analysis of *Deformed wing virus* (DWV) in honey bees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J Gen Virol.* 86, 3419-3424.



ÖZGEÇMİŞ



Adı ve Soyadı : Ayşegül USTA

Doğum Yeri ve Yılı : İskenderun/Hatay, 1985

Yabancı Dili : İngilizce

Uyruğu : T.C.

Telefon No :0 507 149 3774

Elektronik Posta : aysglst6@gmail.com

İletişim Adresi : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, Viroloji ABD

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü -2009

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Bandırma Recep Gencer Anadolu Teknik Lisesi, Vekil Biyoloji Öğretmenliği (2009-2010)
2. Bandırma Devlet Hastanesi, Acil Laboratuvarı Biyokimya Sorumlusu (2010-2011)

