

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MUĞLA YÖRESİNDE BULUNAN BAL ARILARINDA
(*Apis mellifera* L.) NOSEMA HASTALIĞININ
MOLEKÜLER VE MİKROSKOPİK YÖNDEN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERENGÜL KARTAL

HAZİRAN 2019

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MUĞLA YÖRESİNDE BULUNAN BAL ARILARINDA
(*Apis mellifera* L.) NOSEMA HASTALIĞININ
MOLEKÜLER VE MİKROSKOPİK YÖNDEN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERENGÜL KARTAL

HAZİRAN 2019

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

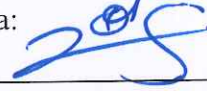
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

SERENGÜL KARTAL tarafından **Muğla Yöresinde Bulunan Bal Arılarında (*Apis Mellifera L.*) Nosema Hastalığının Moleküler Ve Mikroskopik Yönden İncelenmesi** başlıklı tezinin, 17/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Kemal KARABAĞ (Jüri Başkanı)

İmza: 

Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı,

Antalya Akdeniz Üniversitesi, Antalya

Prof. Dr. Hasan KOÇ (Danışman)

İmza: 

Biyoloji Anabilim Dalı,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

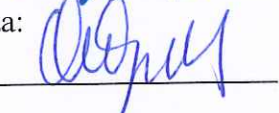
Doç. Dr. Rahşan İVGİN TUNCA (2. Danışman)

İmza: 

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

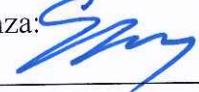
Doç. Dr. Okan ÖZGÜL (Üye)

İmza: 

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Dr. Öğ. Üyesi Gonca ÖZMEN ÖZBAKIR (Üye)

İmza: 

Zootekni Ana Bilim Dalı,

Harran Üniversitesi, Şanlıurfa

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK

İmza: 

Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Prof. Dr. Hasan KOÇ

İmza: 

Danışman, Biyoloji Anabilim Dalı,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Savunma Tarihi: 17/06/2019

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Serengül KARTAL

17/06/2019



ÖZET

MUĞLA YÖRESİNDE BULUNAN BAL ARILARINDA (*Apis mellifera* L.) NOSEMA HASTALIĞININ MOLEKÜLER VE MİKROSKOBİK YÖNDEN İNCELENMESİ

Serengül KARTAL

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hasan Koç

2. Danışman: Doç. Dr. Rahşan İvgin Tunca

Haziran 2019, 76 sayfa

Dünya'nın pek çok yerinde hayvansal üretim faaliyeti olarak yapılan arıcılık bal üretiminin yanı sıra bal mumu, arı zehri, propolis, arı sütü gibi arı ürünleri ile de dünya ticaret pazarında oldukça geniş bir yere sahiptir. Bununla birlikte arıcılıktan elde edilecek verimi kısıtlayan bal arısı hastalıkları oldukça yaygınlaşmış durumdadır.

Nosema, balarının bağırsak epitelyum hücrelerinde mikrosporodia sporunun neden olduğu hastalıktır. Ülkemizde bulunan bu hastalığın etmeni *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* adında iki türdür. Bu iki türün mikroskopik olarak ayırt edilmesi zor olduğu için moleküler tanı yöntemiyle birbirinden ayırt edilebilmektedir. *Nosema apis* arının bağırsak epitelyumuna enfekte ederken *Nosema ceranae* diğer dokuları da enfekte etmektedir.

Bu tez çalışmasında, Muğla ilinin 12 ilçesi ve Menteşe yöresinde bulunan 10 arılıktan ve bu arılıklara yakın su kaynaklarından alınan örneklerden Nosema hastalığının mikroskopik ve moleküler tanısı, aynı zamanda Muğla ilindeki Nosema hastalığının düzeyinin belirlenmesi ve DNA izolasyonu sonucu sekans dizisi elde edilen örneklerin haplotip analizi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucu Muğla yöresinde %72.37 oranında nosema hastalığı yaygınlığı tespit edilmiştir ve yapılan moleküler analizler sonucu hastalık etmeni *Nosema ceranae* belirlenmiştir. *Nosema apis* sporlarına rastlanılmamıştır. DNA izolasyonu sonucu *Nosema ceranae* çıkan türün haplotip analizleri yapılmış ve 3 haplotip elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Apis mellifera*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, Nosema Hastalığı

ABSTRACT

MOLECULAR AND MICROSCOPIC INVESTIGATION OF NOSEMA DISEASE IN HONEY BEES (*Apis mellifera* L.) IN MUĞLA REGION

Serengül KARTAL

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hasan Koç

2. supervisor :Asst. Prof. Dr. Rahşan İvgin Tunca

June 2019, 76 pages

In addition to honey production, bee venom, propolis and royal jelly, bee production as an animal activity in the world has an important place in the world trade market. However, honey bee diseases limiting beekeeping activities are becoming widespread.

Nosema is a disease caused by microsporidia spore in intestinal epithelial cells of honey bee. The causative agent of this disease is *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. Since these two species are difficult to distinguish microscopically, they can be distinguished by molecular diagnosis. *Nosema apis* infects the intestinal epithelium of the bee while *Nosema ceranae* also infects other tissues.

In this thesis, it was aimed to investigate the microscopic and molecular diagnosis of Nosema disease from 12 districts of Muğla provinces and Menteşe region and water samples from water sources near the apiaries. In addition, haplotype analysis was performed from the samples obtained from the base sequence as a result of DNA isolation. As a result of the analysis, the prevalence of nosema disease was found as 72.37 in the Muğla region and *Nosema ceranae* spores were found in all positive samples as a result of molecular analyzes. Haplotype analyzes of *Nosema ceranae* species were done and 3 haplotypes were obtained.

Keywords: *Apis mellifera*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, Nosema disease

Sevgili ailem'e,



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, ilgi ve desteğini gördüğüm, çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve sonuçlandırılmasında emeği geçen, kendimi geliştirmem için beni teşvik edip destekleyen danışman hocamlarım Sayın Prof. Dr. Hasan KOÇ'a ve Doç. Dr. Rahşan İVGİN TUNCA'ya teşekkür ederim. Verdiği manevi destek ve gösterdiği hoşgörü için hocam Doç. Dr. Okan ÖZGÜL'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince destek, hoşgörü ve yardımlarını esirgemeyen laboratuvar arkadaşım Mehmet Kaymakçı'ya ve Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu Arıcılık Bölümü öğrencilerine, Muğla Tarım İl Müdürlüğü veteriner hekimlerine, Muğla İli Arı Yetiştiricileri Birliği'ne teşekkür ederim. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden Prof. Dr. Kemal KARABAĞ'a desteklerinden dolayı ve Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden Araştırma Görevlisi Emel Tüten SEVİM'e istatistiksel analizlerdeki desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Her konuda desteklerini aldığım sevgili aileme ve kuzenlerime teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 17/010 proje numarası ile desteklenmiştir. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Bal Arısı Yetiştiriciliğinin Tarihçesi ve Önemi	1
1.2. Bal Arılarının Sistematigi Ve Biyolojisi	2
1.3. Apis Türleri Hakkında Genel Bilgi	3
1.3.1. <i>Apis dorsata</i>	3
1.3.2. <i>Apis florea</i>	4
1.3.3. <i>Apis cerena</i>	4
1.3.4. <i>Apis mellifera</i>	4
1.3.4.1. <i>Afrika Bal Arısı Irkları</i>	5
1.3.4.2. <i>Doğu Bal Arısı Irkları</i>	5
1.3.4.3. <i>Batı Bal Arısı Irkları</i>	5
1.4. Bal Arılarında Üreme.....	5
1.5. Bal Arısının Koloni Yapısı ve Sosyal Yaşantısı	7
1.6. Dünya’da Arıcılık.....	8
1.7. Türkiye’de Arıcılık.....	10
1.8. Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları	14
1.8.1. Nosema	15
1.9. Nosema Hastalığının Keşfi, Dünya’da ve Ülkemizde Gelişimi.....	18
2. MATERYAL VE METOD	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1. Arazi Çalışmaları ve Örneklerin Toplanması	24
2.2. Laboratuvar İşlemleri	25
2.2.1. Arı numunelerinin hazırlanması ve mikroskopik teşhis	25
2.2.1.1. <i>Thoma lamının kullanım şekli ve sayım işlemleri</i>	28
2.2.2. Su numunelerinin hazırlanması ve mikroskopik tanı	28

2.2.3. DNA izolasyonu ve PCR	29
3. SONUÇLAR	31
3.1. Mikroskopik Analiz Sonuçları	31
3.1.1. Arı ve su numuneleri mikroskopik analiz sonuçları	31
3.2. Moleküler Analiz Sonuçları	54
4. TARTIŞMA	59
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ.....	76



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de 1991-2018 yılları arası arıcılık verileri (TÜİK, 2019)	13
Çizelge 2.1. İşçi arı örneklerinin toplandığı Arılık ve su numunelesi sayısı	25
Çizelge 3.1. Mikroskopik sayım sonucu örnek toplanılan arılıklardan pozitif çıkan arılık sayısı ve lokasyonlara göre hastalığın görülme oranı	32
Çizelge 3.2. Çalışmalar sonucu su örneği toplanılan arılıklardan pozitif çıkan arılık sayısı ve lokasyonlara göre hastalığın görülme oranı	33
Çizelge 3.3. Dalaman ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	35
Çizelge 3.4. Fethiye ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	36
Çizelge 3.5. Yatağan ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	38
Çizelge 3.6. Menteşe ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	39
Çizelge 3.7. Kavaklıdere ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	40
Çizelge 3.8. Datça ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	41
Çizelge 3.9. Ula ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	42
Çizelge 3.10. Seydikemer ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	43
Çizelge 3.11. Marmaris ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	44
Çizelge 3.12. Köyceğiz ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	45
Çizelge 3.13. Ortaca ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	46
Çizelge 3.14. Bodrum ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	47
Çizelge 3.15. Milas ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları	48
Çizelge 3.16. Tüm veriler için normal dağılım testi sonucu	52
Çizelge 3.17. Örnek toplanan ilçeler bazında yapılan ölçümlere göre normal dağılım testleri sonuçları	52

Çizelge 3.18. BLAST database sonucu sekanstan gelen örneklerin benzerlik analiz sonuçları	55
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bal arısının morfolojisi	3
Şekil 1.2. Bal arılarının tam başklaşımında gösterdiği gelişme dönemleri.....	5
Şekil 1.3. Bal arılarının üreme şeması (Lan Alexander, 2017).....	6
Şekil 1.4. Bir kovanda bulunan işçi arı erkek arı ve kraliçe arının genel görüntüsü (Anonim 2018).....	7
Şekil 1.5. 1994-2017 yılları arası dünya genelinde koloni sayısı grafiği (FAO, 2019)9	
Şekil 1.6. 2017 yılı kıtalara göre koloni sayısındaki oransal payı (FAO, 2019).....	9
Şekil 1.7. Dünya genelinde en fazla bal üretimi yapan ilk 10 ülke (FAO, 2019).....	10
Şekil 1.8. Kıtaların bal üretimi bakımından oransal payları (FAO, 2019).....	10
Şekil 1.9. Muğla ili Basralı alan haritası (Anonim 2017)	11
Şekil 1.10. Muğla Ana Arısı'nın genel görünüşü	12
Şekil 1.11. Türkiye'nin 1994-2017 yılları arası kovan sayısı grafiği (FAO, 2019)...	14
Şekil 1.12. <i>Nosema apis</i> ve <i>Nosema ceranae</i> 'nin elektron mikroskobu altındaki görüntüleri (Ptaszyńska ve ark., 2012).....	15
Şekil 1.13. <i>Nosema</i> sporlarının yaşam döngüsü	17
Şekil 2.1. Örneklemenin yapıldığı Muğla ili ve ilçeleri.....	24
Şekil 2.2. Arı numunelerinden homojenatların hazırlanmasında kullanılan malzemeler	26
Şekil 2.3. Arı numunelerinden alkolün uzaklaştırılması ve kesilen abdomenlerin havan içerisindeki görüntüsü	27
Şekil 2.4: Thoma laminanın ışık mikroskobu altındaki genel görüntüsü (Anonim, 2019)	28
Şekil 2.5. Su örneklerinden nosema sporlarının tespit çalışmasına ait görüntü.....	29
Şekil 2.6. DNA İzolasyonu yapılırkenki çalışmalardan bir görüntü.....	29
Şekil 3.1. Arı örneklerinden tespit edilen nosema sporlarının 400X büyütmede mikroskop görüntüsü.....	31
Şekil 3.2: İlçelere göre örnek alınan arılık sayısı ve pozitif çıkan arılık dağılımı	32
Şekil 3.3. Bir su numunesi örneğinin 400x büyütmede mikroskop görüntüsü	34
Şekil 3.4.Lokasyonlar için yapılan Kruskal-Wallis testi.....	53
Şekil 3.5. One-Way ANOM analiz testi (1: Dalaman, 2: Fethiye, 3: Yatağan, 4: Menteşe, 5: Kavaklıdere, 6: Datça, 7: Ula,) 8: Seydikemer, 9: Marmaris, 10: Köyceğiz, 11: Ortaca, 12: Bodrum, 13: Milas).....	54

Şekil 3.6. <i>N.ceranae</i> türüne ait genin nükleotid hit sekanslarının mega 6 ile hizalanması.....	56
Şekil 3.7. <i>N.ceranae</i> türüne ait genlerin Network analizi sonucunda elde edilen haplotipler	57
Şekil 3.8. <i>N.ceranae</i> türünün Splits Tree programında yapılan analiz sonucu elde edilen genetik ağaç görüntüsü	58



SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Vg	Vitellogenin
FAO	Food and Agriculture Organization
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit



1. GİRİŞ

1.1.Bal Arısı Yetiştiriciliğinin Tarihçesi ve Önemi

Bal arıları ekonomikve biyolojik yönden oldukça önemlidir. Bal arıları (*Apis mellifera*L.) bal ve balmumu üretimi yapmalarının yanındaendüstriyel bitkilerin ve yabani floradaki çiçekli bitkilerin tozlaşmasına yardımcı olarak ekosisteme büyük bir katkıda bulunurlar (Van Engelsdorp ve Meixner,2010). Bal arıları bal, propolis, arı sütü, polen, bal mumu, arı zehri gibi arı ürünlerinin üretilmesini sağlayarak dünya ticaret pazarında yer almaktadır (Özbek,2002).

Bal arılarının tarihi oldukça eskiye dayandığı bilinmektedir(Ruttner, 1988).Yapılan araştırmalar Mısır halkının 5000 yıl önce çamurdan arı kovanı yaparak, bal elde etmeye çalıştıkları bilinmektedir (Anonim, 2012). İspanya'nın Bicorp Valencia kasabasında bulunan M.Ö. 7000 yıllarında yapıldığı tahmin edilen mağara resimlerinde arılarla çevrili bir insan figürününbal alırken görülmektedir (Anonim 2017). Mısır'da Firavun mezarlarında 3.200 adet kurumuş bal örnekleri bulunmuştur (Anonim, 2012). Sümerliler 3.000 yıl önce balı ilaç olarak kullanmış olmaları arıcılığın çok eski yıllardan beri yapıldığını göstermektedir (Anonim, 2012).

Bal arılarının tarihçeleri yaklaşık olarak tahmin edilmesine rağmen balın insanların tüketimine sunulduğu tarih kesin olarak bilinmemektedir.

Bilinen ilk gezgin arıcılığın M.Ö. 3000’li yıllarda Mısırlılar tarafından yapıldığı bilinmektedir (Güler, 2017). Bal arılarının genetik merkezleri Asya, Afrika ve Avrupa kıtaları olmalarına rağmen günümüzde dünyanın hemen hemen her noktasına yayılış göstermiştir (Güler, 2017).

Türk kültüründe de bal arıları ve özellikle de bal tüketimi Orta Asya’da önemli bir yere sahiptir. Kaşgarlı Mahmud’a göre; Türkler, önceleri bala, arı yağı olarak adlandırmışlardır, sonraları özellikle Batı Türkleri (Oğuzlar, Kıpçaklar, Suvarlar) tarafından bal olarak ifade edilmiştir. Uygurlar; bala, “mır veya mir” adını vermişlerdir. Anadolu topraklarında da bal önemli bir besin maddesi olarak rol oynamıştır. Çatalhöyük duvar süslemelerinde, çiçekler üzerinde böcekler resmedilmiştir. Günümüzden 8–9 bin yıl önce Anadolu’da arının ve balın bilindiğini göstermektedir. Osmanlı döneminde de arıcılık faaliyetlerinin yapıldığı bilinmektedir (Anonim 2012).

1.2. Bal Arılarının Sistematığı Ve Biyolojisi

Alem (Kingdom) : Hayvanlar (Animalia)

Şube (Phylum) : Eklembacaklılar (Arthropoda)

Alt şube (Subphylum) : Antenliler (Antennata)

Sınıf (Class) : Böcekler (Insecta)

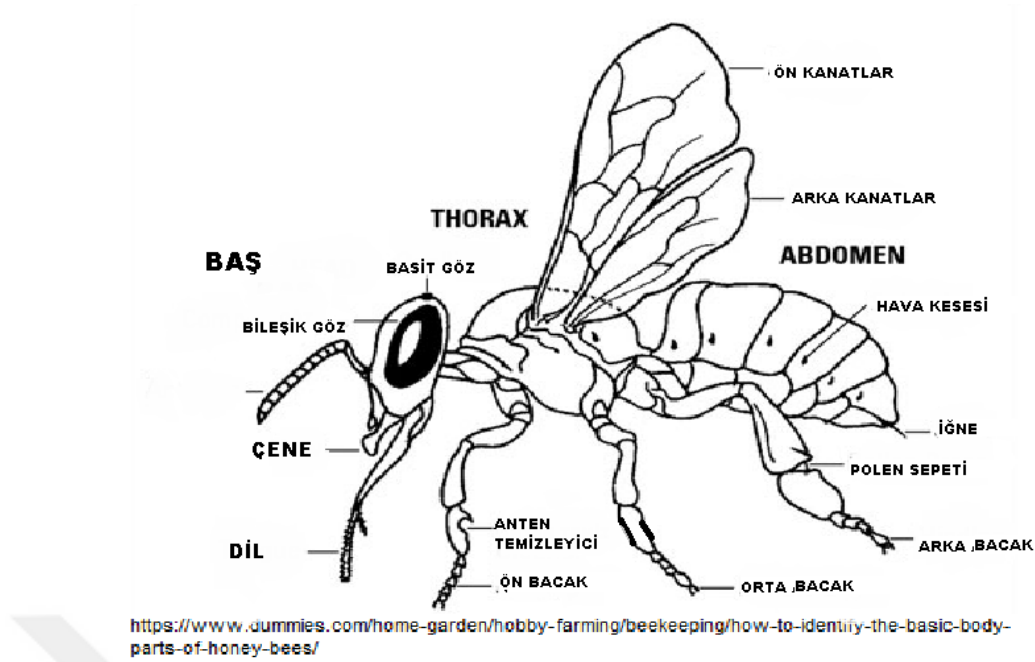
Takım (Order) : Zar kanatlılar (Hymenoptera)

Familiya (Family) : Arılar (Apidae)

Cins (Genus) : Bal arıları (Apis)

Tür (Species) : Bal arısı (*Apis mellifera*)

Bir bal arısının vücut yapısı; Baş (Cephalo), göğüs (Thorax) ve karın (Abdomen) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Şekil 1.1.). Başta gözler, antenler ve ağız parçaları bulunmaktadır. Baş, vücudun ikinci kısmı olan göğüse ince bir boyunla bağlıdır ve göğüsle karın segmentli yapıdadır (Doğaroğlu, 1999; Güler, 2017; Silici, 2009).



Şekil 1.1. Bal arısının morfolojisi

1.3. Apis Türleri Hakkında Genel Bilgi

Insecta sınıfının yaklaşık 100.000 üzerinde tür barındıran Hymenoptera takımının Apidae familyasının *Apis* cinsine ait olan bal arıları dünyada 4 tür altında incelenmektedir. Bu türler *Apis dorsata*, *Apis florea*, *Apis cerana* ve *Apis mellifera*'dır.

1.3.1. *Apis dorsata*

Tamamen ilkel yapılı olan bu tür çok iri cüsseli dev arı olarak bilinmektedir. Ağaç dalları ve açıkta olan tek bir petek üzerinde yaşamını sürdürmekte olan bu türün son derece vahşi olduğu için kovanda tutulmaları ve yönetilmeleri oldukça zordur. Kromozom sayıları ise *Apis mellifera*'nın yarısı kadardır (Doğaroğlu, 1999; Güler, 2017; Silici, 2009).

1.3.2. *Apis florea*

Nadir olarak insan sokmalarıyla bilinen bu sakin ve iyi huylu arılar ‘cüce arı’ olarak bilinmektedir. Boyları yaklaşık 7 mm’dir ve kolonilerinde yaklaşık 5.000 bireyden fazla arı bulundurmaktadır (Doğaroğlu, 2009; Güler, 2017; Silici, 1999).

1.3.3. *Apis cerena*

Morfolojik bakımdan *Apis mellifera*’ya en çok benzeyen türdür. Yuvalarına çok sayıda petek örерler. Oğul eğilimi fazla olan sakin ve iyi huylu bu türün kolonilerinde yaklaşık 7.000 işçi arı bulunmaktadır (Doğaroğlu, 1999; Güler, 2017; Silici, 2009).

1.3.4. *Apis mellifera*

1758 yılında Linnaeus tarafından ‘bal taşıyan arı’ olarak isimlendirilen bu tür arka tibiasının dış yüzeyinde bulunan polen sepeti ile karakterize olmuştur. Bilinen Hymenoptera’ ya ait ilk fosiller Eosen döneminde Baltık Amber’de bulunmuştur (Doğaroğlu, 1999; Güler, 2017; Silici, 2009). *Apis mellifera* türünün *Apis ceranae* türünden Tertiary Çağı’nın son döneminde morfolojik olarak tamamen ayrıldığı belirtilmektedir (Milner, 1996).

Türkiye, Avrupa, Asya ve Orta Doğu’nun ortasında yer almaktadır. Ülkemiz sınırları içerisinde çok çeşitli iklim kuşakları ve habitataları bulunur. Bu nedenle, bu bölgede çok sayıda bal arısı alt türü ve ekotipinin varlığı tanımlanmıştır. Ülkemize ait bal arısı alttür ve ekotiplerine yönelik yapılan çalışmalarda *Apis mellifera anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. meda*, *A. m. syriaca* ve *A. m. carniaca* alttürlerinin varlığı bildirilmiştir (Ruttner; 1988; Kandemir ve Kence, 1995; Smith et al., 1997; Kandemir ve ark., 2000; Palmer et al., 2000; Kandemir ve ark., 2006; Bodur ve ark., 2007; Tunca ve Kence, 2011)

Apis mellifera’ya ait 25’in üzerinde alttür bulunmaktadır (Ruttner, 1888; Sheppard ve ark., 2003). Bu alttürler, farklı ekolojik bölgelere ve yörelere adapte olmuşlardır (Ruttner, 1988; Giurfave ark., 1995; Frank ve ark., 2001; Çakmak ve Wells, 2001; Bodur ve ark., 2007; Alburaki ve ark., 2011; Tunca ve Kence, 2011). Bu morfolojik ve moleküler olarak tanımlanmış soy grupları yaşadıkları ekolojik bölgelere göre 3 ana başlık altında incelenmektedir.

1.3.4.1. Afrika Bal Arısı Irkları

Afrika’da ikisi Sahra Çölü’nün kuzeyinde ikisi güneyinde olmak üzere 4 ırkı iyi bilinmekle birlikte toplam 11 ırk tanımlanmıştır(Ruttner, 1988).

1.3.4.2. Doğu Bal Arısı Irkları

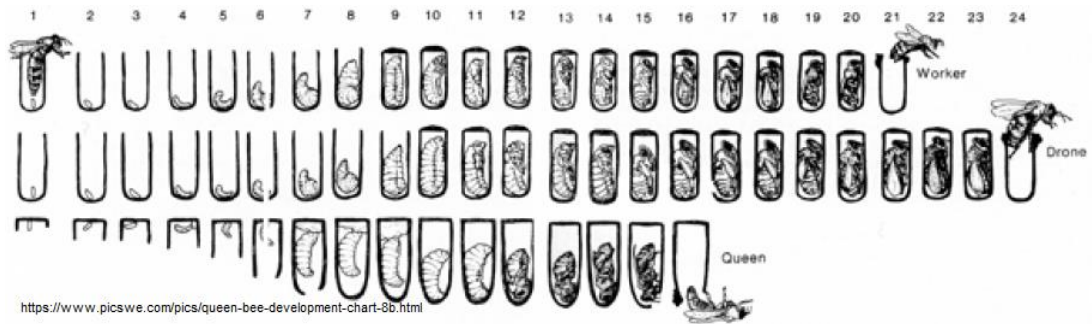
Türkiye’nin batısından İran’a kadar yapılan bu sınıflandırmada toplam 6 ırk tanımlanmıştır. Bunlardan en önemlisi *Apis mellifera anatoliaca* ‘dır (Ruttner, 1988).

1.3.4.3. Batı Bal Arısı Irkları

Apis mellifera amellifera(esmer bal arısı), *Apis mellifera ligustica*(İtalyan bal arısı), *Apis mellifera carnica*(karniyol arısı), *Apis mellifera caucasica* (Kafkas arısı) gibi dünyadaki ekonomik değeri yüksek olan bu ırklarda dahil olmak üzere toplam 11 ırk tanımlanmıştır (Ruttner, 1988).

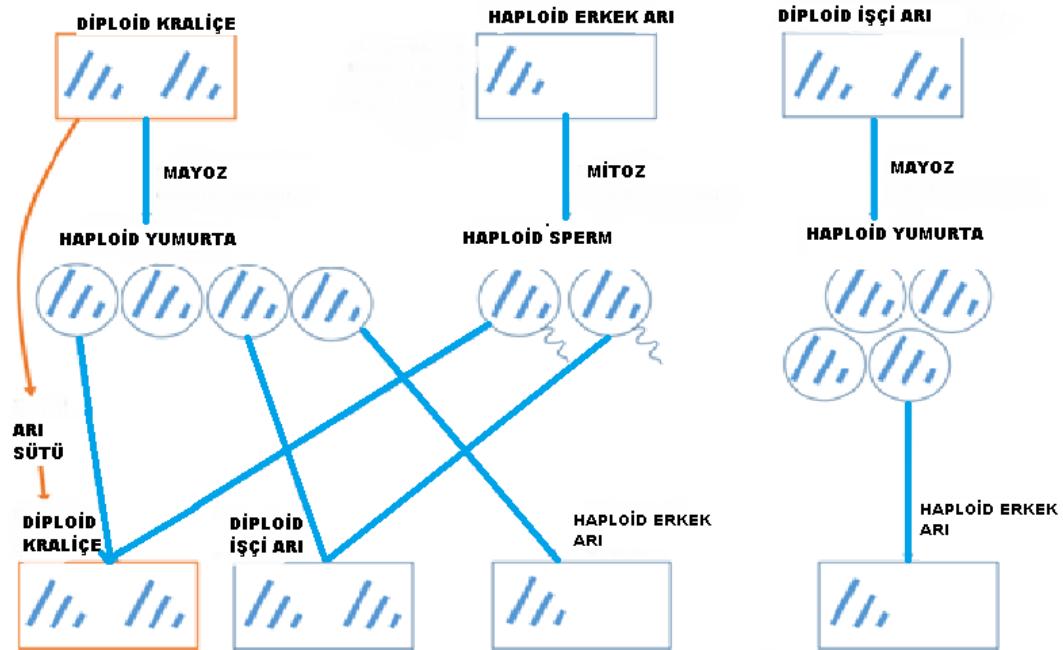
1.4. Bal Arılarında Üreme

Bal arıları tam başkalaşım yani holometabol bir gelişim göstermektedirler. Kısaca yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere 4 farklı gelişme dönemi geçirmektedirler. Yumurtanın petek gözüne bırakıldığı andan itibaren ergin arı oluncaya kadar geçen süre ana arı için 16, işçi arı için 21 ve erkek arı için 24 gündür (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Bal arılarının tam başkalaşımında gösterdiği gelişme dönemleri

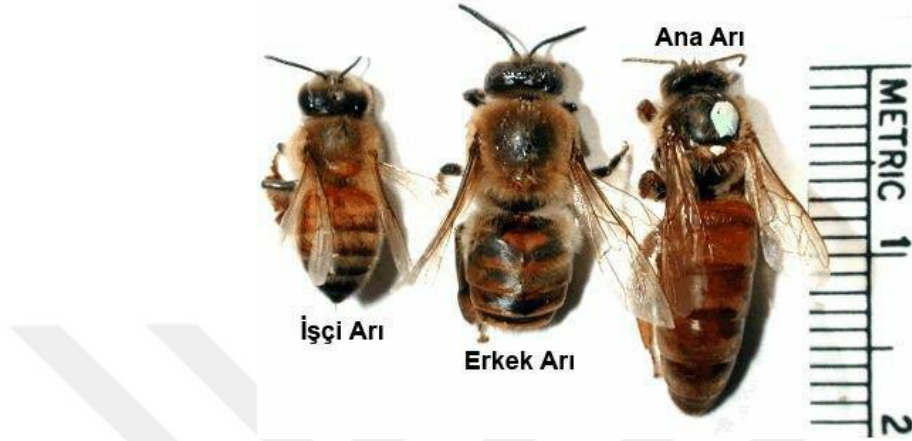
Döllenmemişyumurtanın gelişerek yeni bir bireyi meydana getirmesine partenogenez denir. Partenogenez, karıncalarda, yaprak bitlerinde, su pirelerinde, bazı çekirgelerde, bazı kelebeklerde ve bazı kertenkele türlerinde görülür (Michael, 1986). Bal arılarında dabu özel üreme şekli mevcuttur. Döllenmiş yumurtalardan 2n kromozoma sahip Kraliçe arı ve işçi arıarmeydana gelir iken döllenmemiş yumurtalardan ise haploid (n) kromozomlu erkek arılar oluşmaktadır. Haploid (n) kromozomlu erkekler haploid (n) kromozomlu spermler üretilir. Ana arının ve erkek arının çiftleşmesi sonucu oluşan diploid (2n) kromozomlu yumurtalar ana arı tarafından petek gözlerine bırakılır. Petek gözlerine bırakılan bu yumurtalar larval dönemde 6-12 yaştaki bakıcı arıların mandibular bezlerinden üretilen arı sütü ile beslenirse kraliçe arılar oluşur, fakat mandibular bezlerden salgılanan arı sütü ile, hipofarengial bezlerden salgılanan salgı yanında bal ve polen ile beslenirse 2n kromozomlu işçi arılar meydana gelir (Şekil 1.3). Beslemede ki bu farklılık diploid (2n) kromozom setine sahip dişi bireylerin tam üreme yeteneğine sahip ana arı veya işçi olarak gelişmelerine devam etmesini sağlar (Winston 1987).



Şekil 1.3. Bal arılarının üreme şeması (Lan Alexander, 2017)

1.5. Bal Arısının Koloni Yapısı ve Sosyal Yaşantısı

Bal arıları topluluk halinde yaşayan sosyal böceklerdir. Bir arıkolonisinde ana arı (kraliçe arı), işçi arı ve erkek arı olmak üzere üç farklı fenotip bulunmaktadır (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Bir kovanda bulunan işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının genel görüntüsü (Anonim 2018)

Arılar morfolojik olarak boyutlarına bakıldığında en büyük kraliçe arı daha sonra erkek arı ve işçi arı olarak sıralanmaktadır. Ana arının vücut yapısı ince ve uzun, rengi diğer bireylere göre daha açık, canlı ve parlaktır. Normal koşullar altında her arı kolonisinde bir tane ana arı vardır. Ana arının genel olarak görevi, yumurtlayarak yeni kuşakları oluşturmak, salgıladığı hormon ve feromonlarla kolonideki bireylerin sevk ve idaresini gerçekleştirmek, işçi arıların kovan içi ve kovan dışı faaliyetlerini sürdürebilirliğini sağlamaktır. Ana arı, ana arı memesi veya ana arı yüksüğü denilen özel bir göz içerisinde gelişir ve kuluçka süresi 16 gündür. Ana arının yaydığı feromonu alan işçi arılar kolonideki işleri düzenli bir şekilde yürütürler.

İşçi arılar döllenmiş yumurtalardan meydana gelmektedir ve bu yüzden diploid ($2n$) kromozom setine sahiptirler. Gelişimlerini 21 günde tamamlayarak ergin birey haline gelirler. Koloninin gücüne ve mevsime bağlı olarak kolonide işçi arı sayısı değişir. Normal koşullar altında yumurtlama hariç kolonideki bütün işler olağanüstü bir düzen içinde işçi arılar tarafından gerçekleştirilmektedir. İşçi arıların fizyolojik yaşlarına göre görevleri belirlenmektedir. Bu görevlere bakıldığında;

- 0-3 günlük yaştaki işçi arılar kendisini temizler, besleyici arılardan yiyecek alarak beslenir, yavru gözlerini temizler ve yavru gözleri üzerinde dolaşarak kuluçka sahasında gerekli sıcaklığın oluşmasını sağlamaktadırlar.

- 3-6 günlük yaştaki işçi arılar, petek gözlerinden aldıkları polen ve bal ile hazırladıkları karışımla yaşlı larvaları beslemektedirler.
- 6-12 günlük yaştaki işçi arılar, arı sütü salgılamaya başlayarak ve genç larvaları beslemektedirler. Çevreyi tanıma uçuşlarına çıkarlar. Uçuş eğitimi ve kovan çevresinde uyum uçuşları yapmaktadırlar.
- 12-18 günlük yaştaki işçi arılar, balmumu üretir ve petek örерler. Ayrıca kovan temizliğiyle de uğraşmaktadırlar.
- 18-20 günlük yaştaki işçi arılar, kovan uçuş deliğinde ve uçuş tahtası üzerinde nöbet tutarak kovan bekçiliği yaparlar, koloniyi yabancı arılara ve yaklaşan her türlü tehlikeye karşı korumaktadırlar.
- 21 günlük olan işçi arılar artık bütün deneyimlerini kazanmış ve kovanına gıda taşıma yeteneğine ulaşmışlardır. Açıklanan bu üç haftalık kovan içi görevlerinden sonra ömürlerinin geri kalan kısmında kovan dışında ve arazide çalışarak kovana nektar, polen, propolis ve su taşımaktadırlar.

Erkek arılardöllenmemiş yumurtalardan gelişen bireylerdir. Haploid (n) kromozoma sahiptirler. Çevre koşullarına ve koloninin gücüne bağlı olarak kolonilerde bahar aylarından itibaren erkek arıları görmek mümkündür. En çok oğul mevsiminde görülen ve iriyapılı olan erkek arıların boyu ana arının boyu kadar uzun değildir, fakat işçi arılardan ve ana arıdan daha geniş ve iridir. İğneleri olmadığı için sokma yeteneği yoktur.

Bal arısı kolonisinin bir yıllık yaşam ritimleri dört döneme ayrılmaktadır. Ağustos ayından ocak ayına kadar hazırlanma ve dinlenme dönemi, şubat ayından mayıs ayına kadar işçi arıların çoğaltılması, haziran ayında ana arının yenilenmesi ve temmuz ile ağustos aylarında erkek arıların yok edilme dönemleri bulunmaktadır (Doğaroğlu, 1999; Güler, 2017; Silici, 2009).

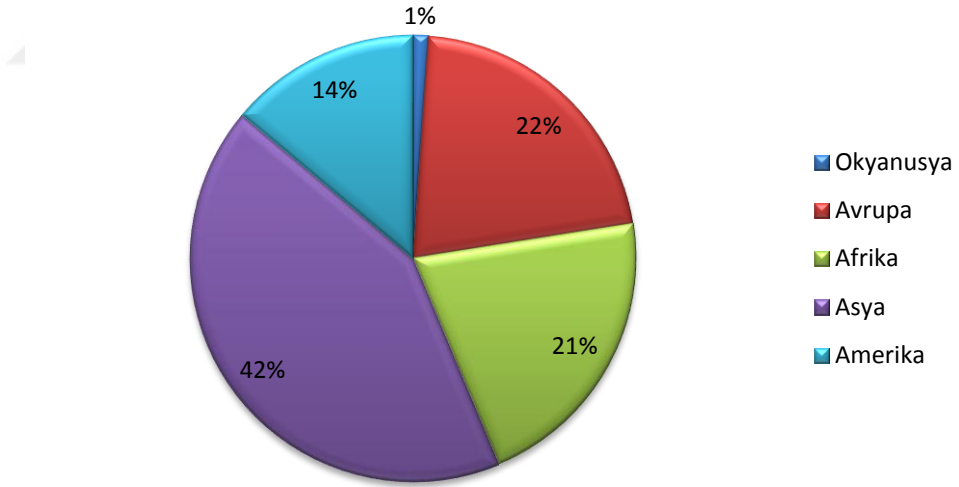
1.6. Dünya’da Arıcılık

Günümüzde arıcılık Dünya’da ve ülkemizde hızla gelişen önemli ekonomik bir sektördür. FAO (2019) kayıtlarına göre 1994 Dünya genelinde 66.102.588 olan koloni sayısı 2017 yılında 90.999.730’a ulaşmıştır. Şekil 1.5.’de koloni sayısının 1994’ten 2017 yılına kadar artışı verilmiştir.



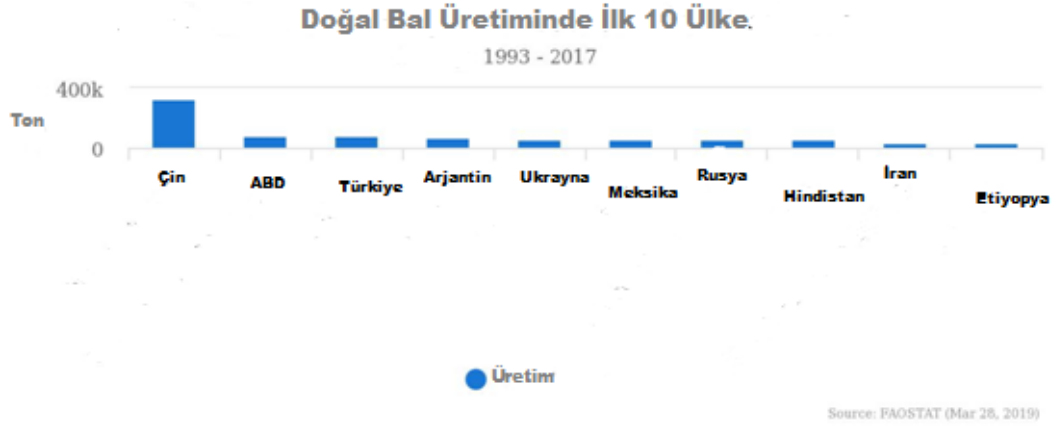
Şekil 1.5. 1994-2017 yılları arası dünya genelinde koloni sayısı grafiği (FAO, 2019)

Dünyada koloni sayısı bakımından kıtaların oransal payı Şekil 1.6.'da verilmiştir. Asya kıtası Dünya genelinde koloni sayısının hemen hemen yarısına sahiptir ve ardından sırasıyla Avrupa, Afrika, Amerika ve Okyanusya kıtaları yer almaktadır. Dünya genelinde koloni sayısı bakımından ilk sırada Çin yer alırken Türkiye ikinci sıradadır.



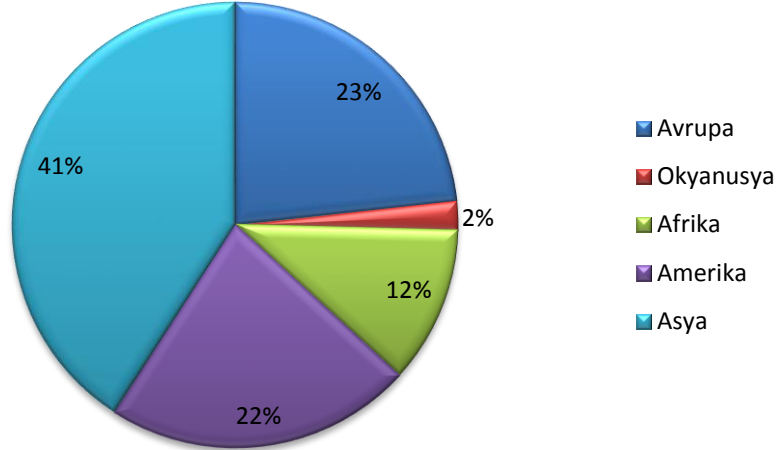
Şekil 1.6. 2017 yılı kıtalara göre koloni sayısındaki oransal payı (FAO, 2019)

Şekil 1.7.'de bal üretimi bakımından en fazla üretime sahip ilk 10 ülkenin sırasıyla Çin, ABD, Türkiye, Arjantin, Ukrayna, Meksika, Rusya, Hindistan, İran ve Etiyopya'nın olduğu görülmektedir.



Şekil 1.7. Dünya genelinde en fazla bal üretimi yapan ilk 10 ülke (FAO, 2019)

Şekil 1.8.'de bal üretimi bakımından Dünya genelinde kıtaların oransal payları verilmiştir. Bal üretimi bakımından en fazla üretimi yapan Asya kıtasıdır. Onu sırasıyla Avrupa, Amerika, Afrika ve Okyanusya takip etmektedir. Şekil 1.8.'de görüldüğü gibi Amerika kıtası koloni sayısı bakımından Afrika kıtasından az olmasına rağmen bal üretimi bakımından Afrika kıtasından fazladır.



Şekil 1.8. Kıtaların bal üretimi bakımından oransal payları (FAO, 2019)

1.7. Türkiye'de Arıcılık

Türkiye bölgeden bölgeye büyük farklılık gösteren jeolojik yapısı ve iklim koşulları nedeniyle ve ayrıca Afrika, Avrupa ve Asya arasında doğal bir köprü oluşturması

Muğla bal arısı, Ege Bölgesi'nde kuzeyde Çanakkale'den güneyde Kaş'a kadar olan bütün sahil kısmını içine alan bir bölgede yer alan Anadolu arısından farklı morfolojik yapıya sahip olan bir ırktır (Güler,2017). Hızlı gelişme gösteren Muğla bal arısı, yumurta bırakma kapasiteleri yüksekolan ana arıları sayesinde güçlü koloniler oluştururlar ve sokma davranışları diğer ırklara oranla daha fazladır.Bal yapma kapasitesi orta düzeyde olmasına rağmen “Basra Böceğinin (*Marchalina hellenica*)” salgı zamanı verimli performans sergilerler. Muğla yöresi Basralı çam ormanları bakımından oldukça zengin bir ildir (Şekil 1.9.).



11

İşçi arıların ve erkek arıların kıl renkleri ise siyahtır dil uzunlukları 6.48 mm ile 6.65 mm aralığında değişmektedir (Şekil 1.10) (Güler, 2017).



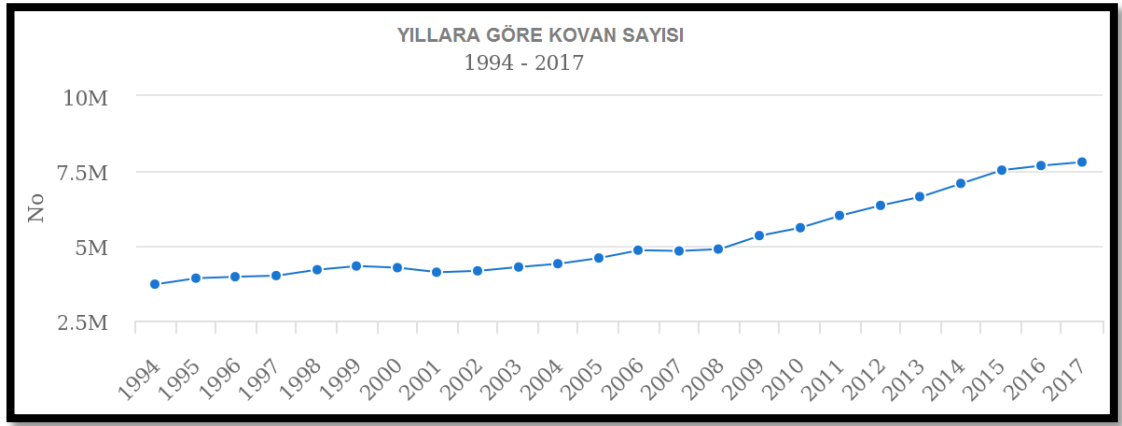
Şekil 1.10. Muğla Ana Arısı'nın genel görünüşü

Türkiye için arıcılık önemli bir iş alanı ve gelir kaynağıdır. Çizelge 1.1.'de 1991-2018 yılları arasında TÜİK 2019 verilerine göre arıcılık yapan köy (1991-2012) ve işletme (2013-2018) sayısı, kovan sayısı (eski ve yeni kovan), bal ve balmumu üretim miktarı verilmiştir. TÜİK verilerine göre yıllar içerisinde kovan sayısı ve bal üretiminde artış gözlenmektedir.

Çizelge 1.1. Türkiye’de 1991-2018 yılları arası arıcılık verileri (TÜİK, 2019)

	Arıcılık yapılan köy sayısı	Arıcılık yapan işletme sayısı	Yeni kovan	Eski kovan	Bal	Bal mumu
	(adet)	(adet)	(adet)	(adet)	(ton)	(ton)
1991	21 540	-	3 161 583	266 859	54 655	2 863
1992	21 931	-	3 289 672	250 656	60 318	2 916
1993	21 975	-	3 450 755	234 692	59 207	3 110
1994	22 050	-	3 567 352	219 236	54 908	3 353
1995	21 987	-	3 701 444	214 594	68 620	3 735
1996	22 329	-	3 747 578	217 140	62 950	3 235
1997	22 145	-	3 798 200	204 102	63 319	3 751
1998	22 302	-	4 005 369	193 982	67 490	3 324
1999	22 447	-	4 135 781	185 915	67 259	4 073
2000	22 571	-	4 067 514	199 609	61 091	4 527
2001	22 606	-	3 931 301	184 052	60 190	3 174
2002	22 423	-	3 980 660	180 232	74 554	3 448
2003	22 110	-	4 098 315	190 538	69 540	3 130
2004	22 133	-	4 237 065	162 660	73 929	3 471
2005	22 550	-	4 432 954	157 059	82 336	4 178
2006	22 305	-	4 704 733	146 950	83 842	3 484
2007	21 560	-	4 690 278	135 318	73 935	3 837
2008	21 093	-	4 750 998	137 963	81 364	4 539
2009	21 469	-	5 210 481	128 743	82 003	4 385
2010	20 845	-	5 465 669	137 000	81 115	4 148
2011	21 131	-	5 862 312	149 020	94 245	4 235
2012	21 307	-	6 191 232	156 777	89 162	4 222
2013	-	79 934	6 458 083	183 265	94 694	4 241
2014	-	81 108	6 888 907	193 825	103 525	4 053
2015	-	83 475	7 525 652	222 635	108 128	4 756
2016	-	84 047	7 679 482	220 882	105 727	4 440
2017	-	83 210	7 796 666	194 406	114 471	4 488
2018	-	81 830	7 904 502	203 922	107 920	3 987

Şekil 1.11.’de FAO (2019) verilerine göre Türkiye’nin 1994-2017 yılları arasındaki kovan sayısı verilmiştir. Verilere göre Türkiye’de kovan sayısının her geçen yıl arttığı belirgin bir şekilde görülmektedir.



Şekil 1.11. Türkiye'nin 1994-2017 yılları arası kovan sayısı grafiği (FAO, 2019)

1.8. Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları

Arıcılık, Dünya'nın hemen hemen her yerinde yapılan tarımsal bir faaliyettir. Bal arıları, besin gereksinimlerini karşılamak için çeşitli bitkisel kaynaklardan polen ve nektar toplarken, bitkileri tozlaştırarak ürün ve ürün kalitesini artırıp endüstriyel tarıma katkı sağlamaktadır. İyi bir tozlaştırıcı olan arılar doğada yabani floranın devamlılığınadakatki sağlamaktadırlar (Kence, 2006). Arıcılık faaliyetlerini engelleyen en önemli nedenlerden biri de arı zararlı ve hastalıklarıdır. Ülkeler arasındagerçekleşen arı,arı ürünleri ve arıcılık malzemelerinin ticaretisebebiylearıhastalık ve zararlılarının kısa sürede tüm dünya geneline yayılmasına neden olmuştur (Öztürk, 2001). Aynışekilde, gezginci arıcılıkfaaliyetleride bal arısı hastalık ve zararlılarınülke içinde hızlı şekilde yayılışında önemli bir unsurdur (Gülpınar, 2005). Bal arısı hastalık ve zararlıları, ülkemizde arıcılığınilerlemesini yavaşlatan veüretim etkinliğini düşüren en önemlifaktörlerden biridir (Doğaroğlu,1999). Ülkemizde bal arısı hastalık ve zararlıları arıcılıkta önemli kayıplara neden olup, hastalıkla ile mücadelede de bilinçli tedavi yöntemlerinin uygulamasının yapıldığını söylemek oldukça zordur (Aydın ve ark., 2003).

Hastalığın oluştuğu konağa göre;

Ergin Arı Hastalıkları (Nosema, Septisemi, Kronik Arı Felci, Akut Arı Felci, Amoeba)

Yavru Arı Hastalıkları (Amerikan Yavru Çürüklüğü, Avrupa Yavru Çürüklüğü, Tulumsu Yavru Çürüklüğü, Kireç Hatalığı, Taş Hastalığı)
Arı Zararlıları (Varroa, Trake Akarı) olarak sınıflandırılabilir.

1.8.1. Nosema

Sınıf: Dihaplophasea

Takım: Dissociodihaplophasida

Alttakım: Nosematiodea

Aile: Nosimatidae

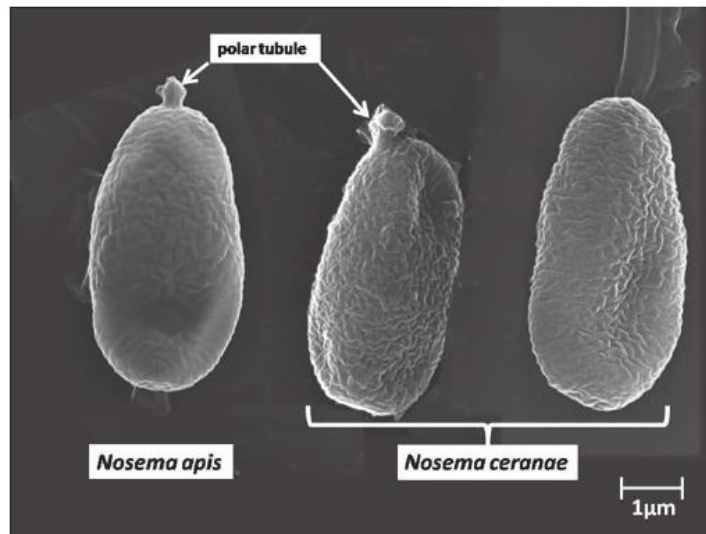
Cins: *Nosema*

Nosema ceranae

Türler:

Nosema apis

Nosemosis, ergin balarılarında oldukça yaygın görülen *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* adlı mikrosporidiaların neden olduğu bir hastalıktır (Ütük ve ark., 2010; Whitaker ve ark., 2010). *N. ceranae* sporları 3.3 – 5.5 µm uzunluğunda ve 2.3 – 3 µm genişliğinde iken *Nosema apis* sporları genellikle oval biçimde 4-6 µm uzunluğunda ve 2-4 µm genişliğindedir (Forsgren ve Fries, 2010) (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. *Nosema apis* ve *Nosema ceranae*'nin elektron mikroskobu altındaki görüntüleri (Ptaszyńska ve ark., 2012)

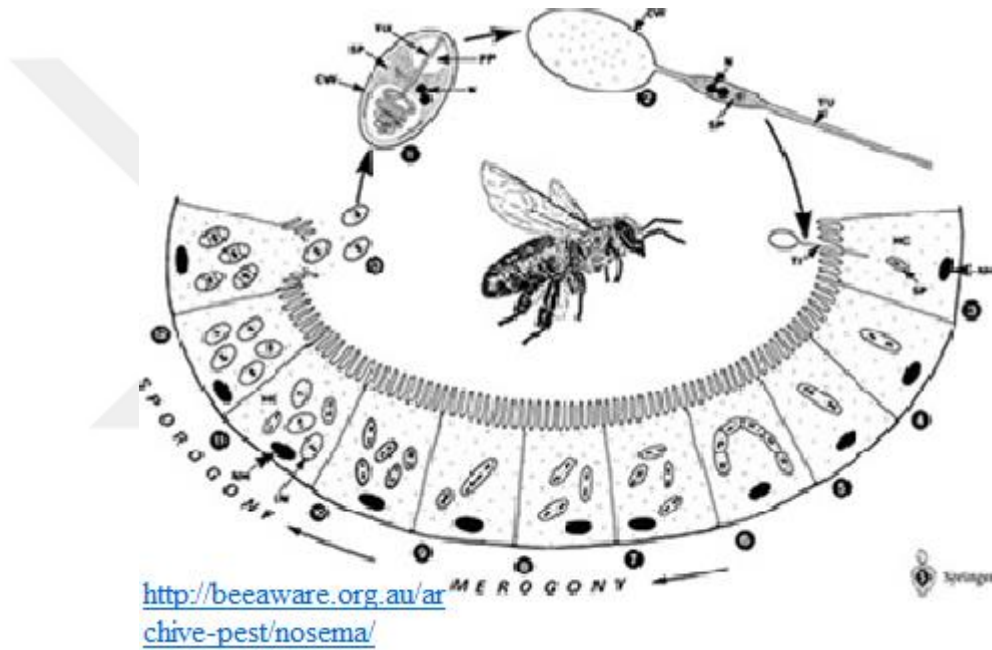
Ergin arıların midesinde epitelyum hücrelerinde gelişir (Shimanuki ve Knox, 2000). Sporların bulaşık arı dışkılarında en az 1 yıl, balıçerisinde 11 ay, laboratuarda 4 °C’ de 7 yıl yasayabildiği, soğuğa, donmaya ve mikrodalgaya karşı dayanıklı olduğu saptanmıştır (Öncüler ve Benlioğlu, 1998; Kutlu ve Ekmen, 2003). Microsporidia, omurgasız hayvanlardan omurgalılara, böcekler, balıklar ve memelilerden oluşan geniş bir aralıktaki konakçıların zorunlu hücre içi parazitleridir (Larsson, 1986; Wasson ve Peper, 2000; Tsai ve ark., 2003). Nosema , Lepidoptera'yı (Tsai ve ark., 2003) ve Hymenoptera'yı (Fries ve diğerleri, 1996; Higes ve ark., 2006) yaygın olarak enfekte eden bir parazit olmasına rağmen aynı zamanda Orthoptera'da (Henry, 1971) ve Amphipoda'da (Terry ve ark., 1999) bulunmuştur. Nosema sporları, bal arılarında bireyleri etkileyen ve arı bağırsak epitel hücrelerinde gelişen ve ciddi düzeyde bal arısı ölümlerine neden olmaktadır (Webster, 1993; Higes ve ark., 2007). Sporun ilk bulaşmasından birkaç gün sonra bağırsak içinde milyonlarca spor bulunabilir (Bailey ve Ball, 1991). Hastalık bal arısı kolonilerinde kovan içerisinde kovan temizliği sırasında kontamine dışkı uzaklaştırılırken ya da sporların bulaştığı su ve gıdalar yoluyla yayılmaktadır. Nosema sporları bal arısının vücuduna bulaştıktan sonra orta bağırsakta çimlenerek, birkaç hafta sonra da sayıları milyonlara ulaşır (Fries, 1997; Somerville ve Hornitzky, 2007). Hastalık kolonilerde genel olarak arıların hareket yeteneklerinin kaybına, kovadaki bal verimi ve populasyon sayısının düşmesine neden olarak koloninin yok olmasına sebebiyet vermektedir (Mussen, 2011; Fries ve ark., 2013). Genel olarak, *Nosema apis*’in bal arıları üzerinde başlıca belirtileri kanatların ayrılması, karnın şişmesi, sokma reflekslerinin kaybolması, uçamama ve yerde sürünme olarak görülmektedir. Sağlıklı bal arısı midesinin görünümü saman rengi iken hasta arıda katı, kirli beyaz renktedir. Hastalık bulunan bal arılarının dışkısı sarı-kirli beyaz, sulu ve yapışkandır (Zeybek, 1991; Sanford, 2003; Gülpınar, 2005). Farklı türdeki Nosema sporlarının yaşam döngüleri benzer olması sebebiyle tür bazında birbirlerinden moleküler tanı yöntemleri kullanılarak ayırt edilmektedir. Spor üretmesi konak vücuduna girdikten sonra iki evrede gerçekleşmektedir (Şekil 1.13).

Sizogoni Fazı: Sporoplazmanın uygun bir konağa girer ve sporoblastlar, merontlara dönüşür. Meront olarak adlandırılan çoğalma gösteren hücreler konak hücrenin sitoplazmasında, PV içinde ya da parazitin salgıladığı şekilsiz bir kabuk içinde gelişir

veya konağın endoplazmik retikulumuyla çevrilir (Franzen ve Muller, 1999; Bigliardi ve Sacchi, 2001).

Sporogonik Faz:Sporogoni, merontların sporontlara dönüşümüne verilen addır. Sporontlar, ikiye bölünme veya çoklu füzyon ile çoğalıp, sporoblastları oluşturan hücrelerdir. Daha sonra oval şekilli sporoblastlar olgunlaşarak sporlar meydana gelir. Hücre membranının parçalanmasıyla olgun sporlar serbest kalmaktadır (Bigliardi ve Sacchi, 2001).

Hastalık bu şekildeki döngüyle yayılış alanı bulmaktadır.



Şekil 1.13. *Nosema* sporlarının yaşam döngüsü

Bal arılarında gözlemlenen *N. ceranae* enfeksiyonlarında dört safha belirlenmiştir (Higes ve ark., 2008; Özüoğlu ve Aydın., 2018). İlk safha asemptomatik dönem olup ilkbahardan erken sonbahara kadar devam eder. İkinci safha geç sonbahardan ilkbahara kadar sürer. Bal arıları sıcaklığın düşmesine bağlı olarak enerji stresine girerek ölmeye başlar ve ana arı kolonideki bu kaybı giderebilmek için daha fazla yumurta bırakmaktadır. Arı popülasyonu değişmez fakat kuluçka miktarı artar. Bu durumda koloni sağlığının iyiye gittiği gibi bir yanlış yorumlamaya neden olur. Üçüncü safhada ise kovan popülasyonu yüksektir fakat koloni popülasyonu yüksek olmasına rağmen arılar salkım oluşturmaz. Son safha ise ani olarak tüm kovanın

çöküşdürve genelde sonbaharda yada erken kış periyodunda gözlemlenir (Higes ve ark., 2007;Özüçli ve Aydın., 2018).

1.9. Nosema Hastalığının Keşfi, Dünya’da ve Ülkemizde Gelişimi

Nosema apis ilk olarak Zander (1909) tarafından tanımlanmış ve dünya çapında bir dağılıma sahiptir (Matheson,1996).*Nosema ceranae*, 1996 yılında Asya bal arısı *Apis cerana*'da hastalık yaptığı bildirilmiştir (Fries ve ark., 1996).Higes ve ark.(2006) *N. ceranae*'nin Avrupa'da *A. mellifera*'da enfekte olduğu tespit edildiğini bildirmiştir. Kısa bir süre sonra, *N. ceranae*'nin varlığı Amerika ve Asya'da doğrulanmıştır (Chauzat ve ark., 2007; Cox-Foster ve ark., 2007; Klee ve ark., 2007; Huang ve ark., 2007; Paxton ve ark., 2007; Chen ve ark., 2008; Sarlo ve ark., 2008; Williams ve ark., 2008). Başlangıçta, nosema hastalığına sebep olan etmenin *N. apis* olduğu ve tüm Dünya’da yayılım gösterdiği düşünülürken, *N. ceranae*'nin ise sadece Asya bal arısı ırkı olan *Apis ceranae*'yi etkilediği ifade ediliyordu. (Somerville ve Hornitzky, 2007; Higes ve ark., 2010). Fakat son son dönemdeki çalışmalar, *N. ceranae*'nin *Apis mellifera*’ ya da bulaştığı aynı zamanda tüm Avrupa’dan,, Kuzey Amerika, Avusturalya veTayvan’a kadar yayıldığı belirlenmiştir (Higes ve ark., 2006; Huang ve ark., 2007, Whithaker ve ark., 2010).Aynı zamanda *N. ceranae*'nin bal arısı popülasyonlarında *N. apis*'in yerini alabileceği de öne sürülmüştür(Klee ve ark. 2007; Martin-Hernandez ve ark. 2007; Paxton ve ark. 2007; Higes ve ark. 2009; Yoshiyama ve Kimura 2011).Bununla birlikte kısa bir süre sonra*N. ceranae*’nın, dünya genelinde birçok ülkede *A. mellifera*'da varlığı bildirilmiştir (Fries, 2010; Higes ve ark., 2010; Klee ve ark., 2007; Paxton, 2010; İvgin Tunca ve ark., 2016).

N. apis yetişkin arıların orta bağırsak epitelinde enfeksiyona sebep olurken (Fries ve ark., 2006; Huang ve ark., 2007), *N. ceranae*’nin diğer dokuları da enfekte ettiği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2009 ; Gisder ve ark., 2010). *N. ceranae* üremeyapabilmesiiçin daha elverişli bir ortam sağlamak adına bal arılarında bazı fizyolojik ve davranışsal değişikliklere neden olabilir. Bazı çalışmalar,*N. ceranae* enfeksiyonunun bağırsak doku bütünlüğünü bozduğunu göstermiştir (Dussaubat ve ark., 2012).Nosema sporları, ATP ihtiyacını karşılamak için konukçularına bağlıdır

ve konukçu hücreden enerji çekmek için nükleotit taşıyıcıları kullanır (Paldi ve ark., 2010). *A. mellifera*'da, vitellogenin (Vg), yağ gövdesinde üretilen ve depolanan bir glikolipoproteindir ve birincil enerji kaynağıdır (Seehuus ve ark., 2006). Vitellogenin genellikle hemolenflere salgılanır, antioksidan ve besin depolama proteini görevi görür ve bal arısı sosyal organizasyonunda önemli bir rol oynar. Vitellogenin kodlayan genin ekspresyonunun *Nosema ceranae* ile enfekte olmuş arılarda önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Antune ve ark., 2009; Badaoui ve ark., 2017; Goblirsch ve ark., 2013; Garrido ve ark., 2016). Ayrıca *N. ceranae* ile enfekte olan kolonilerde homeostazisi sürdürenlerin baskılanması nedeniyle bağırsaklarda rutin rejenerasyon gerçekleşmemektedir ve bu durumlarabağlı olarak erken ölümlerin ortaya çıktığı gösterilmiştir (Dussaubat ve ark., 2012).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar gösterilen *N. ceranae* C tipi Nosemosis'in en yaygın arı patojeni olduğu ve küresel koloni kayıpları üzerinde büyük etkisi belirlenilmeye çalışılmıştır(Higes ve ark., 2010, 2013; Fries , 2010). *N. ceranae*'nin çökmekte olan kolonilerle ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (Cox-Foster ve ark., 2007). *N. ceranae*, İspanya'da koloni kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Martin-Hernandez ve ark.,2007; Higes ve ark., 2008, 2009) ve laboratuvar çalışmaları *N. ceranae*'nin patojenitesinin *N. apis*'den daha yüksek olabileceğini göstermiştir. (Higes ve arkadaşları, 2007; Paxton ve arkadaşları, 2007). *N. ceranae* enfeksiyonları bal arısı immün yanıtını baskılayabilir (Antúnez ve ark., 2009) ve diğer patojenlere karşı duyarlılığı artırabilir. Ayrıca, *N. ceranae*'nin işçi bal arılarından ana arıya yatay geçişi, özellikle kış aylarında kraliçe kaybı ve koloni kaybının olasılığını artırabilir(Higes ve ark., 2009). *Nosema ceranae* değişen iklim şartlarına *Nosema apis*'e oranla daha dayanıklıdır (Matin-Hernandez ve ark., 2009).

Dünya'da birçok farklı ülkede bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Invernizzi ve arkadaşlarının (2009) Uruguay'da yaptıkları çalışmada koloni çöküşünün *N. ceranae* ile tam olarak bir bağlantısını bulamamışlardır fakat bölgedeki *Nosema* hastalığının 1990 yılından öncesine dayandığını 1964'den beri arıcılar tarafından gönderilen arı numunelerinin pozitif olduğunu bildirmişlerdir. 2007 yılına kadar toplam 61.916 numuneanaliz edilmiş ve 1964-1967 yılları arasında hastalık seviyesi %40'ın üzerinde, 1978-1983 yılları arasında %10'un altına düşecek kadar azaldığını daha sonra 1998-2002 yılları arasında hastalığın tekrar artarak %35'in üzerinde olduğu ve 2002'de beri %30 larda seyrettiği gözlemlenmiştir. Traver ve Fell (2011)

Virjinya’da yaptıkları çalışmada Nosema hastalığının yayılışı ve yoğunluğu araştırılmışlardır. Araştırma sonucu *N. ceranae*’nin kolonilerin %70 ini enfekte ettiğini ve koloniler üzerinde etkilere sahip baskın bir tür olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer bir araştırma olan Chauzat ve ark. (2009) Fransa’da yaptıkları çalışmada bu etkinin % 65.6 oranında olduğunu açıklamışlardır. Papini ve arkadaşları (2017) Orta İtalya’da *N. ceranae*’nin yaygınlığını araştırmış ve %63 oranında bir bulaşma olduğunu rapor etmişlerdir. Daha önce 1993 yılında *N. ceranae* varlığı Kuzey İtalya’da tespit edildiği için yeni bir patojen olarak kayıtlara geçmemiştir. Suudi Arabistan’da Ansari ve arkadaşlarının (2017) yaptığı çalışmada toplanan örneklerin %20.59 unun nosema hastalığı açısından pozitif olduğu ve pozitif olan örneklerin %58’inin *N.ceranae* olduğu rapor edilmiştir. İsveç’te kolonilerin %83’ü sadece *N.apis* %17’si ise hem *N.apis* hemde *N.ceranae* ile enfekte olduğu (Fries,2010), İskoçya’da ise kolonilerin %70.4’ünün her ikisi ile enfekte olduğu rapor edilmiştir (Bollan ve ark., 2013). Giersch ve arkadaşları (2009) Avusturalya’da yaptıkları araştırmada 6 farklı eyaletten 307 erişkin arı ve 37 bal örneği toplanmış ve örneklerin Queensland’da toplamda 83 örneğin 32’si pozitif çıkmış bunlardan 28’i *N.ceranae* ile 4’ünün *N.apis*’le, Yeni Güney Galler totalde 95 örneğin 61’i pozitif 13’ü *N.ceranae* 46’sı *N.apis* ile 2 örnek ise her ikisiyle Güney Avusturalya’da totalde 25 örneğin 8’i pozitif 4’ü *N.ceranae*, 4’ü *N.apis* ile, Victoria’da toplam 44 örneğin 42’si pozitif 2’si *N.ceranae*, 40 tanesi *N.apis* ile enfekte olurken Batı Avusturalya ve Tazmanya’da sırasıyla toplamda 24 ve 36 örnekten her ikisinde de 23 örneğin enfekte olduğunu fakat hiçbir *N.ceranae* örneğine rastlanmadığını hepsinin *N.apis* olduğunu rapor etmişlerdir. Emsen ve arkadaşları (2016) Kanada’da yaptıkları bir çalışmada 2008, 2010 ve 2012 yıllarında toplanan arı örneklerinden Nosema sporları teşhis etmişlerdir. 2008 yılında toplanan örneklerden %39, 2010 yılında toplanan örneklerden %60 ve 2012 yılında toplanan örneklerden %45 oranında *Nosema apis* ve *N.ceranae* sporlarını karışık olarak tespit etmiştir. Kuzey Tayland’da Chaimanee ve ark (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise farklı *Apis* türlerinden *N.ceranae* teşhisi ederek ve filogenetik analiz yapmışlardır. *Apis mellifera*, *Apis ceranea*, *Apis dorsata* ve *Apis florea* türleri üzerinde yapılan bu çalışmada *A. mellifera* ve *A.ceranea*’dan izole edilen *N.ceranea* sporları aynı grup içerisinde yer alırken *A.dorsata* ve *A. florea* farklı gruplar oluşturmuştur. Bulgaristan’da 94 adet arılıktan, 396 adet kovan örneklenmiş, bu arılıklardan 42’sinde mikroskopik pozitiflik, 47’sinde ise PCR metodu ile *N. ceranae*, 2 ornekte

ise *N. apis* pozitifliği tespit edilmiştir (Gurgulova ve ark., 2010). Yunanistan'da koloni kaybına uğrayan on farklı arılığın dokuzunda *N. ceranae* tek başına, ikisinde *N. apis* ile karışık enfeksiyon şeklinde PCR metodu ile tespit edilmiştir (Hatjina ve ark., 2011). Yunanistan'da yapılan bir başka araştırmada 37 arılıktan 27'sinde *N. ceranae* pozitif bulunmuştur (Bacandritsos ve ark., 2010). İran'ın kuzeybatısındaki 294 arılıktan 72'sinde Nosemosis tespit edilmiştir (Lotfi ve ark., 2009). Hollanda'da, Nosema ile enfekte kolonilerin %10'unun *N. apis*, %87'sinin ise *N. ceranae* olduğu bildirilmiştir (Van der Steen ve ark., 2010). Avusturya'da 126 arılıktan 59'u Nosema pozitif bulunmuş, bunlardan % 30'u *N. ceranae*, %10'u *N. apis*, %60'ı ise karışım enfeksiyon olarak kayıt edilmiştir (Derakhshifar ve ark., 2010). İtalya'da 234 arılıktan 136'sı *N. ceranae* pozitif bulunurken, bir adet *N. apis* pozitifliği tespit edilmiştir (Granato ve ark., 2010).

Ülkemizde nosema hastalığının varlığı ve etkileri Kutlu (1988) tarafından Adana ve Muğla ilinde belirlenmiştir. İlerleyen yıllarda Başar (1990) tarafından Muğla, İstanbul ve Trakya Bölgesi'nde bal arılarında *A. woodi* ve *N. apis* varlığına dair araştırma yapmıştır. Aydın ve ark. 2001 yılında bildirdikleri araştırmada Çanakkale, Balıkesir ve Bursa illerinde nosema hastalığı varlığı araştırılmış ve en yoğun nosema sporları sırasıyla Balıkesir (%30), Bursa (%25.8) ve Çanakkale (%25) illerinde belirtilmiştir. Çakmak ve ark., (2003), Bursa ili içerisinde 22 farklı bölgeden örnekleme yapılmış ve 217 kovanda nosema hastalığı sporlarının yaygınlığı oranını %24 olarak bildirilmiştir (Çakmak ve ark., 2003). Kars ili sınırları içerisinde belirlenen 8 lokasyondan yerel ve gezgin arıcılık yapan toplam 50 arılıkta Topçu ve Arslan (2004), ergin bal arısı örnekleriyle belirlenen lokasyonlardaki nosema hastalığı yaygınlığını ve hastalık düzeyini belirlemişlerdir. Örnekleme yapılan sekiz yerleşim yerinin 7'sinde %87.50 oranında, örnek alınan 50 arılığın 20'sinde %40 oranında *N. apis* sporlarına rastlandığını belirtmiştir (Topçu ve Arslan, 2004). Elazığ ilinde 2002-2004 yılları arasında Şimşek (2005) tarafından bal arılarında bazı mantar ve parazitleri (varroosis, nosemosis, kireç hastalığı, taş çürüklüğü ve *Acarapis woodi*) tespiti yapılmıştır. Doğaroğlu ve Sıralı (2005), Trakya bölgesinde % 6,5 oranında nosema yaygınlığı belirlemişlerdir. Şahinler ve Gül (2005), Hatay ilinin 11 ilçe ve 51 köyünde farklı arı hastalık ve zararlılarını araştırmışlar ve 89 arılıktan toplanan 5730 kolonide nosema hastalığına rastlanmadığı belirtilmiştir (Şahinler ve Gül, 2005). Özkırım ve ark. (2006) tarafından yapılan bir araştırmada Türkiye'nin farklı bölge ve yörelerinden, çeşitli zamanlarda toplanan bal örneklerinde *N. apis*

sporlarının varlığı araştırılmış ve toplanan bal örneklerinin %96'sında *N. Apis* sporlarına rastlanmıştır.

Ülkemizde aynı yıl içerisinde 3 farklı araştırmacı tarafından *N. apis* ve *N. ceranae* varlığına dair moleküler düzeyde çalışmalar yürütülmüştür (Ütük ve ark., 2010; Muz ve ark., 2010; Whitaker ve ark., 2010). Karadeniz Bölgesi'nde Samsun ve Giresun illerinde iki koloniden alınan arı örnekleri Ütük ve ark., (2010) tarafından incelenmiş ve nosema sporu pozitif örneklerde multipleks PCR tekniğiyle *N. ceranae* ve *N. apis* tür tayini yapılmıştır. Aynı yıllarda Whitaker ve ark (2010). Tarafından ülkemizden 20 farklı ilden alınan bal arısı örneklerinden *N. Apis* ve *N. ceranae*'nin varlığına dair moleküler düzeyde araştırma yapılmıştır. Aynı araştırma çalışmasında; Avrupa, Avusturalya ve ABD'de bulunan *N. ceranae* sporları arasında genotip bir farklılık olmadığını, genetik kökenlerinin ortak olduğu bildirilmiştir. Çalışma aynı zamanda tür içi farklılıkların tespiti üzerine ülkemizde yapılan önemli ve ilk çalışma olma niteliğindedir (Whitaker ve ark., 2010). Aynı yıl içinde Muz ve ark. (2010), Hatay ilinde ve Güney Marmara bölgesinde Nosema hastalığının etmenlerini moleküler düzeyde belirlenmesine dair çalışma yapılmıştır. Ütük ve ark. (2011) tarafından 2006-2010 yıllarında Türkiye'nin 36 ilinden Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Arı hastalıkları Laboratuvarına gelen toplam 140 adet başvuru örneğinin incelemeye alındığı çalışma kapsamında 140 başvurudan %4.28'inde nosema hastalığı, %2.85'inde hem varroa hem nosema hastalığı, %56.42'sinde yalnız varroa zararlısı tespit edilmiştir. Tosun(2012), Doğu Karadeniz Bölgesi, Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu, Gümüşhane ve Bayburt illerinde Nosema hastalığının varlığı, yayılışı, hastalık etmenlerinin, coğrafi dağılışının belirlenmesi ve bu hastalığa etki eden iklim koşullarını araştıran çalışmasında işçi bal arılarında hastalık enfeksiyon oranını 2009 yılında % 4.72; 2010 yılında % 15.28; 2011 yılında % 21.23 olarak tespit etmiştir. Aynı çalışma kapsamında moleküler düzeydeki tanılamada ise tüm illerdeki hastalık etkeninin *N. ceranae* olduğu ve artan sıcaklık-nem ile hastalığın doğru bir orantı gösterdiğini gözlemlenmiş fakat nem şartlarının sıcaklığa oranla daha etkili olduğu ileri sürmüştür. Hastalığın rakımın düşük olduğu bölgelerde yüksek rakımlı bölgelere oranla yoğun bir şekilde görüldüğünü ve *N. ceranae*'nin haziran ve temmuz aylarında hastalık enfeksiyon en yüksek seviyeye ulaştığı aylar olarak belirtilmiştir (Tosun, 2012). Hatay yöresinde Muz ve ark. (2012) tarafından kış salkımının erken bozulan kolonilerde parazit ve

patojen araştırmasına göre Hatay yöresindeki arılıkların %10'un da nosema sporuna rastlandığı bildirilmiştir (Muz ve ark., 2012). İstanbul'un çeşitli yörelerinden toplanan 500 adet bal örneği üzerinde yapılan bir çalışmada çeşitli parazitlerin varlığı Dümen ve ark. (2013) tarafından araştırılmıştır. Yoloğlu (2014) Ardahan, Hakkari, Mersin, Muğla, Kırklareli, Yalova, Edirne, Sivas, Artvin, Balıkesir, İzmir, Niğde illerinde Nosema hastalığının koloniler üzerindeki varlığını ve bölgesel dağılımı belirlemiştir. 12 ilin 7'sinde yani Ardahan, Balıkesir, Hakkari, Niğde, Yalova, Muğla, Artvin illerinde nosema sporları bulunduğu gözlemlenmiştir ve bu nosema sporları üzerinde yapılan en boy ölçümleri ve moleküler düzeyde karakter belirleme çalışmaları sonucu hastalığın bulaştığı örneklerde *N. apis* sporlarının bulunduğu ve *N. ceranae* sporlarına rastlanmadığı belirtmiştir (Yoloğlu, 2014). Yaman ve ark. (2015) yürüttükleri bir çalışmada ise Ordu ilinde Nosema hastalığının varlığı, yayılışı ve hastalık etkeni *N. apis* ve *N. ceranae* olan iki türü morfolojik bakımdan incelemişlerdir. Ordu ilinin merkezi ve 9 ilçesinden toplanan ergin bal arısı örnekleri üzerinde inceleme yapılmış ve örnekleme yapılan lokasyonların hepsinde nosema hastalığı etmenini tespit etmişlerdir. Büyük ve ark. (2017) ise Kırşehir ilinin Merkez, Mucur, Akpınar, Boztepe ve Kaman olarak belirlenen 5 lokasyonunda yaptıkları çalışmada toplam 5100 adet bal arısı örneği üzerinde çalışma yapmışlardır. Yaptıkları bu çalışma sonucunda hastalığın oranını Boztepe ilçesinde %60, Merkez bölgesinde %25, Mucur ilçesinde %23.07, Akpınar ilçesinde %12.5, tespit etmiş fakat Kaman ilçesindeki arılıklardan toplanan bal arısı örneklerinde hastalık sporlarına rastlamamışlar. Nosema spor sayıları ve nisbi nem değerleri arasında pozitif bir orantı olduğunu ($r= 0.708$) tespit etmişlerdir. Spor tespit edilmiş pozitif örnekler üzerinde moleküler yöntemlerle yapılan tür teşhis çalışması sonucunda ise hastalığa sebep olan etmenin *N. ceranae* olduğu bildirilmiştir (Büyük ve ark., 2017).

Bu tez çalışmasında Muğla ili genelinden toplanan bal arısı örnekleri ve kovanlara yakın su kaynaklarından alınan su numunelerinde Nosema hastalığının mikroskopik ve moleküler teşhisi yapılarak Dünya genelinde ciddi koloni kayıplarına neden olan bu hastalığın bölgemizdeki varlığı ve yaygınlığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Arazi Çalışmaları ve Örneklerin Toplanması

Bal arısı örnekleri, Muğla ilini temsilen her ilçeden ve Muğla Merkezden (Şekil 2.1) bahar ve güz dönemi ayrı olmak üzere 10 adet yerel ve gezgin arıcılık yapan arıcılardan 50 ml falkon tüpler içerisine alkol eklenerek ortalama 100 adet işçi arı örneği olacak şekilde toplanmıştır ve arıların kullandıkları su kaynaklarından en az 50 ml su örneği alınmıştır. Arazi çalışmaları ilkbahar nisan-mayıs ve sonbahar ekim-kasım aylarında 2017 yılı içerisinde Muğla ilinde tamamlanmıştır.



Şekil 2.1.Örnekleme yapıldığı Muğla ili ve ilçeleri

Yapılan arazi çalışmaları örnek alınan her arıktan rastgele seçilen kovanların uçuş tahtası üzerinden tarlacı işçi arılar alınarak %70'lik etil alkol bulunan 50 ml'lik falkon tüplerin içerisine toplam 100 adet arı olacak şekilde toplanmıştır. Arılıkta kullanılan veya kovanlara yakın su kaynaklarından 50 ml'lik falkon tüplerin içerisine su örneği alınarak analizler için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu Genetik Laboratuvarına getirilmiştir.

Arazi alışmaları sonucu toplanılan arı ve su örneklerinden laboratuvar ortamında *Nosema* bulaşıklık düzeyleri ışık mikroskobu altında thoma lamı kullanılarak spor sayımları yapılması ve *Nosema* türlerinin (*N. apis* ve *N. ceranae*) moleküler yöntemlerle özel primer setlerinin kullanarak belirmesi için geçen süre içinde numuneler laboratuvarda +4 C ‘de muhafaza edilmiştir.

alışmalar sonucunda örnek toplanılan arılık ve örnek alınan arılık yakınlarındaki su kaynaklarının lokasyonlara göre toplam sayısı izelge 2.1.’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. İşçi arı örneklerinin toplandığı Arılık ve su numunelesi sayısı

Lokasyon Adı	rnek Alınan Arılık Sayısı	Toplanan Su rneėi
Menteşe	13	3
Marmaris	10	4
Fethiye	22	3
Dalaman	13	5
Datça	12	7
Ortaca	6	6
Köyceğiz	4	2
Seydikemer	13	9
Kavaklıdere	7	3
Bodrum	10	8
Milas	10	7
Yatağan	13	5
Ula	19	0

2.2. Laboratuvar İşlemleri

Yapılan arazi çalışmaları sonucu labortuvara getirilen arı ve su örneklerinden *Nosema* sporları tanımlamak ve pozitif çıkan örneklerden spor sayımı ve *Nosema* tür tayini yapmak için moleküler yöntemler(DNA izolasyonu ve PCR) kullanılmıştır.

2.2.1. Arı numunelerinin hazırlanması ve mikroskobik teşhis

Arı numunelerini hazırlamak için kullanılan malzemeler:

- 15 ml falkon tüp
- Bistri

- Havan ve tokmak
- Gazlı bez
- Peçete
- %70'lik alkol
- Distile su
- Makro santrifüj
- Pipet
- Lateks eldiven
- Pens
- 5 ml'lik mezür (2 adet) (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Arı numunelerinden homojenatların hazırlanmasında kullanılan malzemeler

Öncelikli olarak steril bir ortamda çalışmak için kullanılan malzemeler ve ortam %70'lik alkolle temizlenmiştir. Temizlenen zemin üzerine 50 ml falkon tüp içerisinde bulunan arı numuneleri, peçete üzerine konarak alkol uzaklaştırılmıştır. Tek bir koloniden alınan 25 adet ergin işçi arı abdomenleri bir bistüri yardımıyla kesilerek bir havan içerisine alındı (Şekil 2.3) ve mezür yardımıyla ölçülen 10 ml distile su eklenerek ezme işlemi yapıldı, hazırlanan homojenatlar gazlı bezden geçirilerek 15 ml falkon tüpler içerisine alındı ve 800rpm'de 2dakika süresince santrifüj edildi. Bu işlem sonucunda homojenat sıvının dibe çöken pellet kısmı üstte biriken süpernatant kısım alınarak ayrıldı ve elde edilen pellet kısmın üzerine 10 ml distile su eklenerek karıştırıcı (vorteks) yardımıyla tekrar homojen hale gelene kadar çalkalandı(OIE terrestrialmanual, 2008).



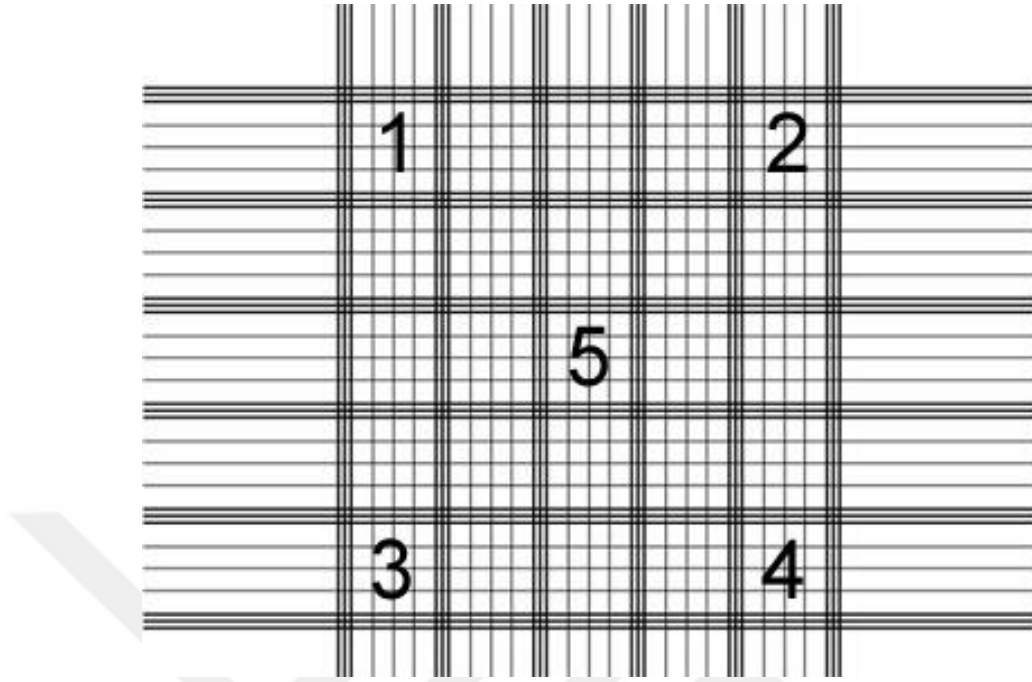
Şekil 2.3. Arı numulerinden alkolün uzaklaştırılması ve kesilen abdomenlerin havan içerisindeki görüntüsü

Mikroskopik teşhis ve sayım için kullanılan malzemeler:

- Işık mikroskobu
- Thoma lamı
- Lamel
- Mikro pipet

İşçi arı numunelerinden nosema spor sayımı için hazırlanan homojen karışımlar sırayla 400 X büyütme ile ışık mikroskobu altından nosema sporlarının varlığı tanımlanmıştır ve thoma lamı yardımıyla nosema spor sayımı yapılmıştır. (OIE terrestrial manual, 2008). Spor sayımı yapılan her bir homojenat DNA izolasyonu yapılana kadar 4 °C’de saklanmıştır.

2.2.1.1. Thoma lamının kullanım şekli ve sayım işlemleri



Şekil 2.4: Thoma lamının ışık mikroskobu altındaki genel görüntüsü (Anonim, 2019)

Thoma lamındaki büyük karelerin sınırları ara çizgi ile belirtilmiştir. Çoğu kere karıştırıldığı gibi, ara çizgi büyük karelerin sınırı değil, büyük karenin sınırlarını belirleyen yardımcı çizgidir. Şekil 2.4’de Thoma lamının sayım yapılan kareleri verilmiştir. Sayım 5 büyük kare içerisindeki sol taraftaki ve üst taraftaki 4 küçük kare içerisinde yapılmaktadır. Sayım esnasında yapılan her sayım sonucu 5’e bölündü ve hazırlanan her homojenattan doğru sonuç elde etmek için 3 kez sayım yapılmıştır. Çıkan sayım sonuçları kaydedilmiştir.

2.2.2. Su numunelerinin hazırlanması ve mikroskopik tanı

50 ml falcon tüplerde gelen su numuleri 15 ml falcon tüplere aktarılıp makro santrifüj cihazında 800rpm’de 2dakika süresince santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen suların pellet kısmı süpernatant kısımdan ayrılmış ve pellet kısmın üstüne 10 ml distile su eklenerek vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Elde edilen homojen sıvılardan ışık mikroskobunda 400X büyütme ile spor teşhisi ve sayımı yapılmıştır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Su örneklerinden nosema sporlarının tespit çalışmasına ait görüntü

2.2.3. DNA izolasyonu ve PCR

Mikroskobik tanı ve sayım işlemleri sonucu 13 lokasyonda nosema sporlarının en yoğun olduğu 35 aralık belirlenerek, bu aralıklardaki işçi arı örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır (Şekil 2.6.). Yapılan izolasyon çalışması için (PureLink Genomic DNA Mini Kit) ticari izolasyon kiti kullanılmıştır.



Şekil 2.6. DNA İzolasyonu yapılırkenki çalışmalardan bir görüntü

DNA izolasyonu yapılan örneklerde PCR işlemi yapıldı.

PCR koşulları:

Toplam reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde (her bir örnek için) 10 ng DNA, 0.5 U Taq DNA polimeraz, 10XPCR buffer, 2.5M MgCl₂, 0.4 µM primerler ve H₂O kullanıldı. PCR koşulları başlangıç denatürasyonu 95 °C’de 2 dk. , 35 döngü 45 saniye 95 °C, 45 saniye 59.3 °C, ve 1 dakika 72 ° C ve son olarak 72 °C’de 7 dakika olarak gerçekleştirildi. PCR ürünleri %2 agaroz jelde görüntüleme yapıldı (Fries et

al., 2013). Nosemabulaşıklığı olan örnekleri temsilen 35 pozitif örnek sekansa gönderilmiştir ve gelen sekans verileri BLAST veritabanı üzerinden sekans benzerlik analizi yapılmıştır.

İzole edilmiş DNA örneklerinden tür tespiti *N. apis*, ve *N. ceranae* için belirlenmiş olan primerler kullanılmıştır (Fries ve ark.,2013; Martín-Hernández et al. 2007)

İlgili primerler

218MITOC forward 5'CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA 3'

218MITOC reverse 5'CCCGGTCATTCTCAAACAAAAAACCG 3'

321APIS forward 5'GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA3'

321APIS reverse 5'GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAACAACCTATG3'

Mikroskobik sonuçlar elde edildikten sonra istatistiksel analizler için SPSS 24 (IBM Corp. Released 2016. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programında Kruskal-Wallis testi ve MINITAB 18 programında ANOVA analiz testi uygulanmıştır.

Yapılan DNA izolasyonu ve PCR işlemlerinden sonra sekansa gönderilen ve değerlendirilebilir sekans sonucu gelen örneklerde MEGA 6.0 (Tamura ve ark., 2013) programında sekans dizileri, Splits Tree (Huson ve Bryant, 2006) programında filogenetik ağaç görüntüsü elde edilmiş ve Network (Badeit ve ark., 1999) programı kullanılarak haplotip belirlemesi yapılmıştır.

3. SONUÇLAR

3.1. Mikroskopik Analiz Sonuçları

3.1.1. Arı ve su numuneleri mikroskopik analiz sonuçları

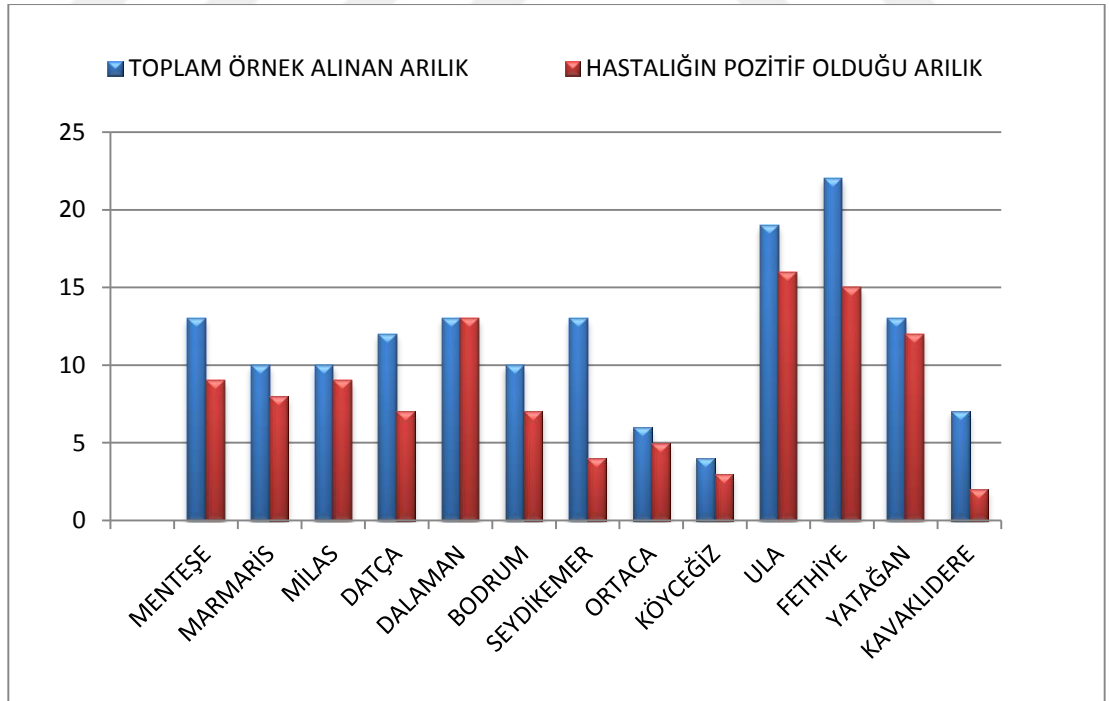
Arı numunelerinde yapılan mikroskopik teşhis ve spor sayımları sonucunda ilçelerden örnek alınan arılıkların hemen hemen hepsinde farklı yoğunluklarda nosema hastalığına rastlanmıştır (Şekil 3.1). İlçelerin genel durumuna bakıldığı zaman Dalaman'dan gelen bütün örneklerde (%100 oranında) nosema sporlarına rastlanılmıştır. Sırasıyla % 92 ile Yatağan, % 90 ile Milas, %84 ile Ula, % 83 ile Ortaca, %80 ile Marmaris %75 ile Köyceğiz, %70 ile Bodrum, % 69 ile Menteşe, % 54 ile Fethiye, %30 ile Seydikemer ve % 29 ile Kavaklıdere takip etmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu örnek alınan toplam arılık sayısı ve bu arılıklardan pozitif çıkanlar Çizelge 3.1.'deve Şekil 3.2.'de verilmiştir. Sonuç olarak, Muğla genelinde örnek alınan toplam 152 arılıktan 110'undan gelen örnekler pozitif çıkmış %72.37 oranında Nosema hastalığı belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Arı örneklerinden tespit edilen nosema sporlarının 400X büyütmede mikroskop görüntüsü

Çizelge 3.1. Mikroskopik sayım sonucu örnek toplanılan arılıklardan pozitif çıkan arılık sayısı ve lokasyonlara göre hastalığın görülme oranı

LOKASYON	TOPLAM ÖRNEK ALINAN ARILIK	HASTALIĞIN POZİTİF OLDUĞU ARILIK	Oran (%)
MENTEŞE	13	9	%69
MARMARİS	10	8	%80
MİLAS	10	9	%90
DATÇA	12	7	%58
DALAMAN	13	13	%100
BODRUM	10	7	%70
SEYDİKEMER	13	4	%30
ORTACA	6	5	%83
KÖYCEĞİZ	4	3	%75
ULA	19	16	%84
FETHİYE	22	15	%54
YATAĞAN	13	12	%92
KAVAKLIDERE	7	2	%29



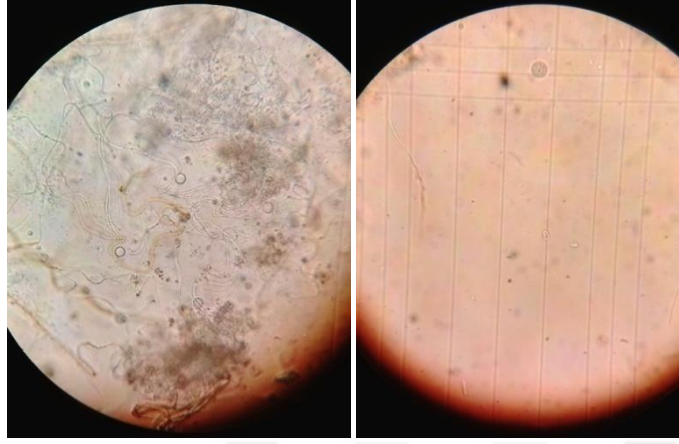
Şekil 3.2: İlçelere göre örnek alınan arılık sayısı ve pozitif çıkan arılık dağılımı

Su numunelerinden yapılan mikroskopik analiz sonuçları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Çizelge 3.2.’de de görüldüğü gibi Menteşe, Marmaris, Datça, Bodrum, Seydikemer, Ortaca, Köyceğiz ve Fethiye’den alınan su örneklerinin hiçbirinde nosema sporuna rastlanmamıştır. Diğer ilçelerden alınan su numunelerinde ise Kavaklıdere’den alınan 3 örneğin 1’inde, Dalaman ve Yatağan’dan alınan 5’er örneğin 1’inde, Milas’tan alınan 7 örneğin 2’sinde nosema sporları belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmalar sonucu su örneği toplanılan arılıklardan pozitif çıkan arılık sayısı ve lokasyonlara göre hastalığın görülme oranı

LOKASYON	SU ÖRNEĞİ	HASTALIĞIN	Oran (%)
	ALINAN ARILIK SAYISI	POZİTİF OLDUĞU ARILIK	
MENTEŞE	3	0	%0
MARMARİS	4	0	%0
MİLAS	7	2	%29
DATÇA	7	0	%0
DALAMAN	5	1	%20
BODRUM	8	0	%0
SEYDİKEMER	9	0	%0
ORTACA	6	0	%0
KÖYCEĞİZ	2	0	%0
ULA	0	0	%0
FETHİYE	3	0	%0
YATAĞAN	5	1	%20
KAVAKLIDERE	3	1	%33

Yapılan sayım sonucu su numunelerinde ciddi bir nosema bulaşıklığına rastlanmamıştır. Fakat farklı türde omurgasız hayvana rastlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Bir su numunesi örneğinin 400x büyütmede mikroskop görüntüsü

13 lokasyondan toplanan arı ve su numunelerinde nosema sporlarının varlığını Çizelge 3.3., Çizelge 3.4., Çizelge 3.5., Çizelge 3.7., Çizelge 3.8., Çizelge 3.9., Çizelge 3.10., Çizelge 3.11., Çizelge 3.12., Çizelge 3.13., Çizelge 3.14., Çizelge 3.15., Çizelge 3.16.'de detaylı olarak verilmiştir.

Dalaman ilçesinin genel durumuna bakıldığında nosema hastalığı bütün arılıklarda görülmektedir (Çizelge 3.3). En yoğun DL10 numaralı örneğin alındığı arılıkta görülürken DL7 numaralı örneğin alındığı arılıkta hastalık sporu daha az olduğu gözlenmiştir. Nisan ve kasım ayını mevsimsel olarak değerlendirdiğimizde örneklerde spor yoğunluğunun genel olarak aynı düzeyde olduğu görülmektedir. Su örneği alınan lokasyonlarda ise sadece bir tanesinde nosema sporlarına rastlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Dalaman ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N.	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Dalaman	36°46'18.72''K	28°38'37.34''D	1	Pozitif	1.106	-	NİSAN
Dalaman	36°46'14.96''K	28°49'40.16''D	2	Pozitif	2,6. 10 ⁵	-	NİSAN
Dalaman	36°46'14.96''K	28°49'40.16''D	3	Pozitif	0,9. 10 ⁶	-	NİSAN
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL1	Pozitif	1,4. 10 ⁵	-	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL2	Pozitif	2,4. 10 ⁵	-	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL3	Pozitif	0,6. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL4	Pozitif	0,9. 10 ⁶	POZİTİF	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL5	Pozitif	0,6. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL6	Pozitif	3,1. 10 ⁵	-	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL7	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL8	Pozitif	0,8. 10 ⁶	-	KASIM

Çizelge3.3. Dalaman ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları^(devamı)

Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL9	Pozitif	2,4. 10 ⁵	NEGATİF	KASIM
Dalaman	36°45'3.33''K	28°51'2.12''D	DL10	Pozitif	4,9. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Fethiye ilçesinin genel durumuna bakıldığı zaman nisan ayında toplanan örnekler kasım ayında toplanan örneklere oranla nispeten daha az spor yüküne sahiptir. Sporlar en yoğun FT3 numaralı örneğin alındığı aralıkta görülmektedir. Fethiye lokasyonundan alınan su numunelerinde ise spora rastlanmamıştır (Çizelge 3.4)

Çizelge 3.4. Fethiye ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	1. SAYIM	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Fethiye	36°38'55.44''K	29°10'13.23''D	24	Negatif	0	-	NİSAN
Fethiye	36°36'30.82''K	29°14'6.03''D	25	Pozitif	1,1.10 ⁵	-	NİSAN
Fethiye	36°36'30.82''K	29°14'6.03''D	26	Pozitif	0,9. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°46'18.27''K	29°12'50.12''D	4	Negatif	0	-	NİSAN
Fethiye	36°38'14.47''K	29° 8'46.00''D	5	Pozitif	0,2. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°38'14.47''K	29° 8'46.00''D	6	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°42'1.36''K	29°11'8.18''D	F1	Negatif	0	-	NİSAN
Fethiye	36°42'1.36''K	29°11'8.18''D	F2	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°38'55.44''K	29°10'13.23''D	F3	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°28'52.40''K	29° 6'57.73''D	F4	Pozitif	0,2. 10 ⁶	-	NİSAN

Çizelge 3.4. Fethiye ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları^(devamı)

Fethiye	36°38'55.44"K	29°10'13.23"D	F5	Pozitif	0,2. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°28'52.40"K	29° 6'57.73"D	F6	Pozitif	0,2. 10 ⁶	-	NİSAN
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT1	Negatif	0	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT2	Pozitif	1,4. 10 ⁵	NEGATİF	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT3	Pozitif	2.5. 10 ⁵	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT4	Pozitif	0,6. 10 ⁶	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT5	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT6	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT7	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT8	Negatif	0	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT9	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	KASIM
Fethiye	36°40'49.91"K	29°10'32.91"D	FT10	Negatif	0	-	KASIM

Yatağan ilçesinin genel durumuna bakıldığı zaman tek bir aralık hariç diğer aralıklarda hastalık sporuna rastlanmıştır. Sayım sonuçlarına göre Nisan ayında alınan numune sayısı az olmasına rağmen örnek alınan aralıklarda hastalık çok yoğun bir şekilde kendini göstermektedir. Kasım ayında örnek alınan aralıklarda nisan ayına göre spor sayısı daha azdır. Bu lokasyondan alınan su örneklerinin sadece bir tanesinde nosema sporları gözlemlenmiştir (Çizelge 3.5.) .

Çizelge 3.5. Yatağan ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Yatağan	37°18'1.27"K	28° 0'27.41"D	8	Pozitif	11. 10 ⁶	-	NİSAN
Yatağan	37°13'33.24"K	28° 0'27.31"D	9	Pozitif	32.10 ⁶	-	NİSAN
Yatağan	37°19'25.31"K	28°13'8.83"D	10	Pozitif	55.10 ⁶	-	NİSAN
Yatağan	37°19'25.21"K	28°13'12.82"D	Y1	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°16'37.19"K	28°10'52.38"D	Y2	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°23'16.98"K	28°12'40.62"D	Y3	Pozitif	4.10 ⁶	-	KASIM
Yatağan	37°16'37.19"K	28°10'52.38"D	Y4	Pozitif	3.10 ⁶	-	KASIM
Yatağan	37°21'19.91"K	28°14'33.64"D	Y5	Pozitif	0,7. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°22'4.00"K	28°16'7.90"D	Y6	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°22'20.85"K	27°57'57.50"D	Y7	Pozitif	0,8.10 ⁶	-	KASIM
Yatağan	37°13'33.25"K	28° 0'27.31"D	Y8	Pozitif	0,6.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°15'38.72"K	28° 6'28.12"D	Y9	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Yatağan	37°23'24.17"K	28° 7'31.84"D	Y10	Pozitif	0,4.10 ⁶	POZİTİF	KASIM

Muğla Merkez Menteşe yöresi Çizelge 3.1.'de de belirtildiği gibi hastalığın görülme oranı %69'dur. En yoğun spor MT2 numaralı örnekte gözlemlenmiştir. Kasım ve nisan ayları karşılaştırıldığında kasım ayında daha yoğun nosema sporu gözlenmiştir. Menteşe yöresinden toplanan su örneklerine bakıldığında e nosema sporuna rastlanmamıştır (Çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. Menteşe ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Menteşe	37° 5'35.27"K	28° 3'32.49"D	11	Negatif	0	-	NİSAN
Menteşe	37° 5'35.27"K	28° 3'32.49"D	14	Pozitif	3.10 ⁶	-	NİSAN
Menteşe	37° 6'14.46"K	28° 11'29.71"D	15	Pozitif	0,8.10 ⁶	-	NİSAN
Menteşe	37° 3'1.29"K	28° 7'26.30"D	16	Pozitif	3.10 ⁶	-	NİSAN
Menteşe	37° 3'1.29"K	28° 7'26.30"D	17	Pozitif	0,3.10 ⁶	-	NİSAN
Menteşe	37° 5'13.98"K	28° 17'15.87"D	MT1	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Menteşe	37° 3'1.29"K	28° 7'26.31"D	MT2	Pozitif	7.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Menteşe	37° 3'1.29"K	28° 7'26.31"D	MT3	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Menteşe	37° 3'1.29"K	28° 7'26.31"D	MT4	Pozitif	0,4.10 ⁶	-	KASIM
Menteşe	37° 16'2.90"K	28° 29'9.02"D	MT5	Pozitif	0,8.10 ⁶	-	KASIM
Menteşe	37° 16'2.90"K	28° 29'9.02"D	MT6	Negatif	0	-	KASIM
Menteşe	37° 16'2.90"K	28° 29'9.02"D	MT7	Negatif	0	-	KASIM
Menteşe	37° 16'2.90"K	28° 29'9.02"D	MT8	Negatif	0	-	KASIM

Kavaklıdere ilçesi Çizelge 3.1.'de olduğu gibi hastalığın görülme oranı tüm ilçeler arasında en düşük olan ilçedir (%29).İlçenin durumuna bakıldığında iki arılıktan alınan örnek pozitif iken diğerleri negatiftir. Pozitif çıkan ve spor sayısı yoğun olan örnek kasım ayında alınmışken spor sayısı az olan örnek nisan ayında alınmıştır. Alınan su örneklerinin durumuna bakıldığında sadece bir örnekte nosema sporlarına rastlanmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Kavaklıdere ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Kavaklıdere	37°28'54.39"K	28°20'41.16"D	12	Pozitif	0,2.10 ⁶	-	NİSAN
Kavaklıdere	37°28'54.39"K	28°20'41.16"D	13	Negatif	0	-	NİSAN
Kavaklıdere	37°26'40.07"K	28°22'11.85"D	KV1	Negatif	0	-	KASIM
Kavaklıdere	37°26'40.07"K	28°22'11.85"D	KV2	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Kavaklıdere	37°26'40.07"K	28°22'11.85"D	KV3	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Kavaklıdere	37°26'40.07"K	28°22'11.85"D	KV4	Pozitif	5.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Kavaklıdere	37°26'40.07"K	28°22'11.85"D	KV5	Negatif	0	POZİTİF	KASIM

Datça ilçesine bakıldığı zaman Çizelge 3.1.'de hastalığın görülme oranına bakıldığında, hastalığın görülme oranı % 58'dir. Pozitif örneklerde spor sayısı bakımında en yüksek DA2 nolu numunede tespit edilmiştir. Datça ilçesinden alınan su örneklerinde hiç birinde nosema sporuna rastlanılmamıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Datça ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Datça	36°41'21.92"K	27°33'14.86"D	18	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Datça	36°41'18.35"K	27°33'33.37"D	19	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Datça	36°46'26.99"K	27°41'32.47"D	D1	Negatif	0	-	NİSAN
Datça	36°46'26.99"K	27°41'32.47"D	D2	Negatif	0	-	NİSAN
Datça	36°42'39.47"K	27°30'44.20"D	D3	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Datça	36°43'56.47"K	27°41'3.87"D	DA7	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Datça	36°43'56.47"K	27°41'3.87"D	DA1	Pozitif	0,2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Datça	36°43'56.47"K	27°41'3.87"D	DA2	Pozitif	4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Datça	36°43'56.47"K	27°41'3.87"D	DA3	Pozitif	1. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Datça	36°43'56.47"K	27°41'3.87"D	DA4	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Datça	36°44'23.89"K	27°24'35.10"D	DA5	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Datça	36°35'42.14"K	29°26'52.24"D	DA6	Negatif	0	NEGATİF	KASIM

Ula ilçesine bakıldığı zaman çizelge 3.1.'de hastalığın görülme oranı % 84'tür ki bu sonuçlara göre örnek alınan arılıkların çoğunda hastalık sporu bulunmaktadır . (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. Ula ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Ula	37° 6'23.33"K	28°25'7.39"D	21	Negatif	0	-	NİSAN
Ula	37° 6'23.33"K	28°25'7.39"D	22	Pozitif	1.106	-	NİSAN
Ula	37° 6'23.33"K	28°25'7.39"D	23	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 3'14.43"K	28°27'31.85"D	U1	Pozitif	0,5.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 1'22.68"K	28°28'59.81"D	U2	Pozitif	0,2.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 4'5.85"K	28°25'26.64"D	U3	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 3'14.43"K	28°27'31.85"D	U4	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 2'41.47"K	28°28'46.21"D	U5	Pozitif	0,4.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 3'14.43"K	28°27'31.85"D	U6	Pozitif	0,8.10 ⁶	-	NİSAN
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL1	Negatif	0	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL2	Pozitif	0.1.10 ⁶	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL3	Pozitif	4.106	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL4	Pozitif	0,8.10 ⁶	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL5	Pozitif	3.106	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL6	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL7	Pozitif	2.106	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07"K	28°25'14.95"D	UL8	Pozitif	2.106	-	KASIM

Çizelge 3.9. Ula ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları(devamı)

Ula	37° 6'20.07''K	28°25'14.95''D	UL9	Negatif	0	-	KASIM
Ula	37° 6'20.07''K	28°25'14.95''D	UL10	Pozitif	2.106	-	KASIM

Seydikemer ilçesinin Çizelge 3.1.'de hastalığın görülme durumuna baktığımızda % 30'luk gibi düşük bir oranla hastalığın olduğunu bize göstermektedir. Toplanan su numunelerinde ise nosema sporuna rastlanmamıştır (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10. Seydikemer ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Seydikemer	36°39'37.39''K	29°24'26.43''D	27	Pozitif	0,4.10 ⁶	-	NİSAN
Seydikemer	36°44'52.14''K	29°22'53.75''D	28	Negatif	0	-	NİSAN
Seydikemer	36°38'14.50''K	29°19'47.71''D	29	Negatif	0	-	NİSAN
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S3	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S4	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S5	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S6	Negatif	0	-	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S7	Pozitif	0,7.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63''K	29°27'11.42''D	S8	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Çizelge 3.10. Seydikemer ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları^(devamı)

Seydikemer	36°37'13.63"K	29°27'11.42"D	S9	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63"K	29°27'11.42"D	S10	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63"K	29°27'11.42"D	S11	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Seydikemer	36°37'13.63"K	29°27'11.42"D	S12	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Marmaris ilçesinin çizelge 3.1.'de hastalığın görülme durumuna baktığımızda % 80'lik bir oranla hastalığın olduğu arılık sayısının fazla olduğunu bize göstermektedir. Toplanan su numunelerinde ise nosema sporuna rastlanmamıştır (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.11. Marmaris ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Marmaris	36°54'42.09"K	28° 7'26.30"D	M1	Pozitif	2.10 ⁶	-	NİSAN
Marmaris	36°44'38.12"K	28°13'13.92"D	M2	Negatif	0	-	NİSAN
Marmaris	36°46'33.09"K	28°14'40.59"D	M3	Pozitif	0,1.10 ⁶	-	NİSAN
Marmaris	36°51'37.97"K	28°14'30.46"D	MR1	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Marmaris	36°51'37.97"K	28°14'30.46"D	MR2	Pozitif	0,4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Marmaris	36°51'37.97"K	28°14'30.46"D	MR3	Pozitif	0,8. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Marmaris	36°52'17.29"K	28°15'34.86"D	MR4	Pozitif	0,5. 10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Marmaris	36°51'41.52"K	28°16'39.66"D	MR5	Pozitif	1.10 ⁶	-	KASIM
Marmaris	36°51'41.52"K	28°16'39.66"D	MR6	Pozitif	0,1. 10 ⁶	-	KASIM
Marmaris	36°51'41.52"K	28°16'39.66"D	MR7	Pozitif	1. 10 ⁶	-	KASIM

Köyceğiz ilçesinden örnek alınan arılık sayısına göre hastalığa neden olan spor sayısının gözlemlendiği numunelerin oranı %75 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.12).Nisan ayında örnek alınamadığı için güz ve bahar ayı karşılaştırması yapılamamaktadır. Alınan su numunelerinde ise nosema sporuna rastlanmamıştır.

Çizelge 3.12. Köyceğiz ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Köyceğiz	36°42'23.66"K	28°49'25.78"D	KÖ1	Negatif	0	-	KASIM
Köyceğiz	36°57'39.35"K	28°42'10.90"D	KÖ2	Pozitif	2.10 ⁶	-	KASIM
Köyceğiz	36°57'39.35"K	28°42'10.90"D	KÖ3	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Köyceğiz	36°57'39.35"K	28°42'10.90"D	KÖ4	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Ortaca ilçesinde Çizelge 3.1.'de hastalığın %83 oranında bir yoğunluğa sahip olduğu görülmektedir. Ortaca ilçesinde Köyceğiz ilçesi gibi örnek alınan sayısı az ve bahar ayında örnek alınamamıştır. Alınan su numunelerin de ise nosema sporuna rastlanmamıştır (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13. Ortaca ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Ortaca	36°46'56.24"K	28°40'8.60"D	OR1	Pozitif	6.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Ortaca	36°46'56.24"K	28°40'8.60"D	OR2	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Ortaca	36°42'30.25"K	28°42'2.94"D	OR3	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Ortaca	36°42'30.25"K	28°42'2.94"D	OR4	Pozitif	2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Ortaca	36°50'9.88"K	28°41'23.07"D	OR5	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Ortaca	36°42'30.25"K	28°42'2.94"D	OR6	Pozitif	0,6.10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Bodrum ilçesinin genel hastalık yayılış durumu %70'tir. Bodrum ilçesine bakıldığı zaman Ortaca ve Köyceğiz'de olduğu gibi bahar ayında örnek alınamadığı için mevsimsel bir yorum yapılamamaktadır. Fakat pozitif çıkan örneklerle bakıldığı zaman B9 numaralı örneğinin alındığı aralıklarda spor sayısı diğer pozitif örneklerle oranla fazladır. Alınan su numunelerinde ise nosema sporuna rastlanmamıştır (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14. Bodrum ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B1	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B2	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B3	Negatif	0	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B4	Pozitif	0,4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B5	Pozitif	0,4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B6	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B7	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B8	Pozitif	0,7.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B9	Pozitif	5.10 ⁶	-	KASIM
Bodrum	37° 2'33.63"K	27°25'18.56"D	B10	Pozitif	0,3.10 ⁶	-	KASIM

Milas ilçesinin genelinde hastalık yayılış yüzdesi %90'dır. Milas ilçesine bakıldığı zaman Ortaca, Köyceğiz ve Bodrum gibi bahar ayında örnek alınamadığı için mevsimsel yorum yapılamamaktadır. Aralıklardan alınan pozitif çıkan örneklerin spor yoğunluğuna bakıldığı zaman ML9 numaralı örneğin alındığı aralıktaki spor sayısı diğer aralıklara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Su numunesi alınan aralıklardan 2 tanesinde nosema sporuna rastlanılmıştır (Çizelge 3.15).

Çizelge 3.15. Milas ilçesinden toplanan su ve arı örneklerinin hastalık durumu ve arı numuneleri spor sayım sonuçları

İLÇE	ENLEM	BOYLAM	T.N	NOSEMA DURUMU	Spor Sayısı	SU DURUMU	TOPLANMA DÖNEMİ
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML1	Pozitif	0,1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML2	Pozitif	1.10 ⁶	-	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML3	Pozitif	0,1.10 ⁶	POZİTİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML4	Negatif	0	POZİTİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML5	Pozitif	0,3.10 ⁶	-	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML6	Pozitif	0,4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML7	Pozitif	0,2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML8	Pozitif	0,2.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML9	Pozitif	4.10 ⁶	NEGATİF	KASIM
Milas	37°18'11.58''K	27°47'31.17''D	ML10	Pozitif	1.10 ⁶	NEGATİF	KASIM

Spor sayılarından elde edilen verilerin istatistiksel analizlerine başlamadan önce hangi testlerin yapılabileceğine karar vermek için normal dağılım testleri (Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk) uygulanmıştır. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde Çizelge 3.16.'de görüldüğü gibi verilerin normal dağılım göstermediği belirlenmiştir ($P < 0.05$; 0.01).

Çizelge 3.16. Tüm veriler için normal dağılım testi sonucu

Normal Dağılım Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Spor_Sayısı	,392	152	,000	,245	152	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Örnek toplanan ilçeler bazında yapılan ölçümler için normal dağılım testleri yapıldığında da aynı sonuçlar saptanmıştır (Çizelge 3.17).

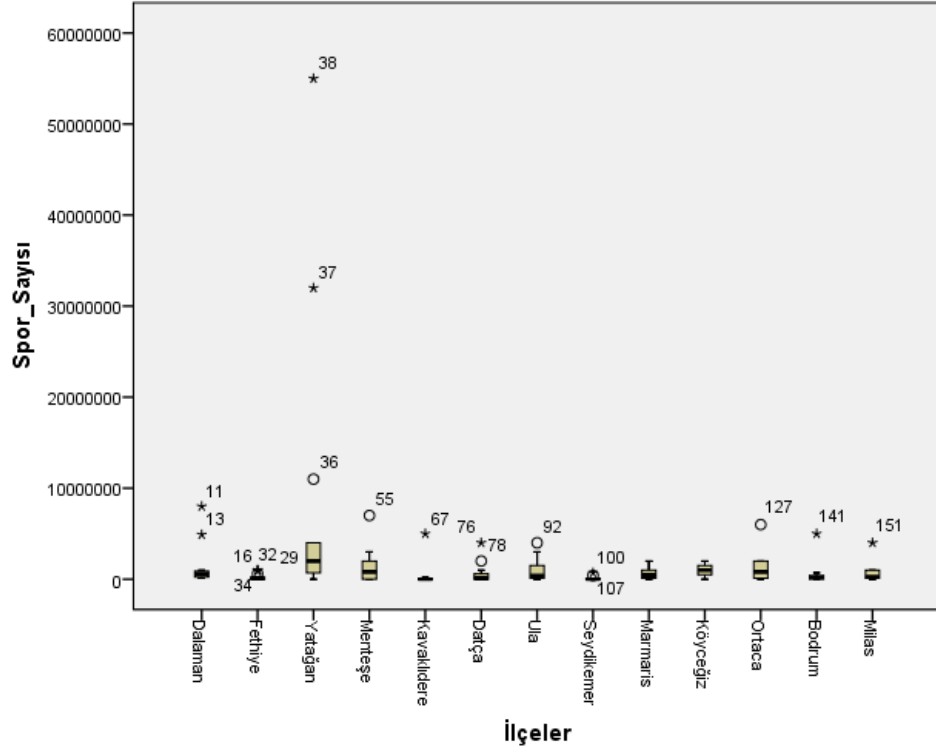
Çizelge 3.17. Örnek toplanan ilçeler bazında yapılan ölçümlere göre normal dağılım testleri sonuçları

Normal Dağılım Testi							
	İlçeler	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Spor_Sayısı	Dalaman	,414	13	,000	,580	13	,000
	Fethiye	,317	22	,000	,695	22	,000
	Yatağan	,381	13	,000	,581	13	,000
	Menteşe	,249	13	,026	,757	13	,002
	Kavaklıdere	,471	7	,000	,476	7	,000
	Datça	,386	12	,000	,598	12	,000
	Ula	,220	19	,016	,778	19	,001
	Seydikemer	,374	13	,000	,559	13	,000
	Marmaris	,181	10	,200*	,862	10	,081
	Köyceğiz	,250	4		,945	4	,683
	Ortaca	,274	6	,180	,763	6	,026
	Bodrum	,400	10	,000	,496	10	,000
	Milas	,311	10	,007	,607	10	,000

*. This is a lower bound of the true significance.

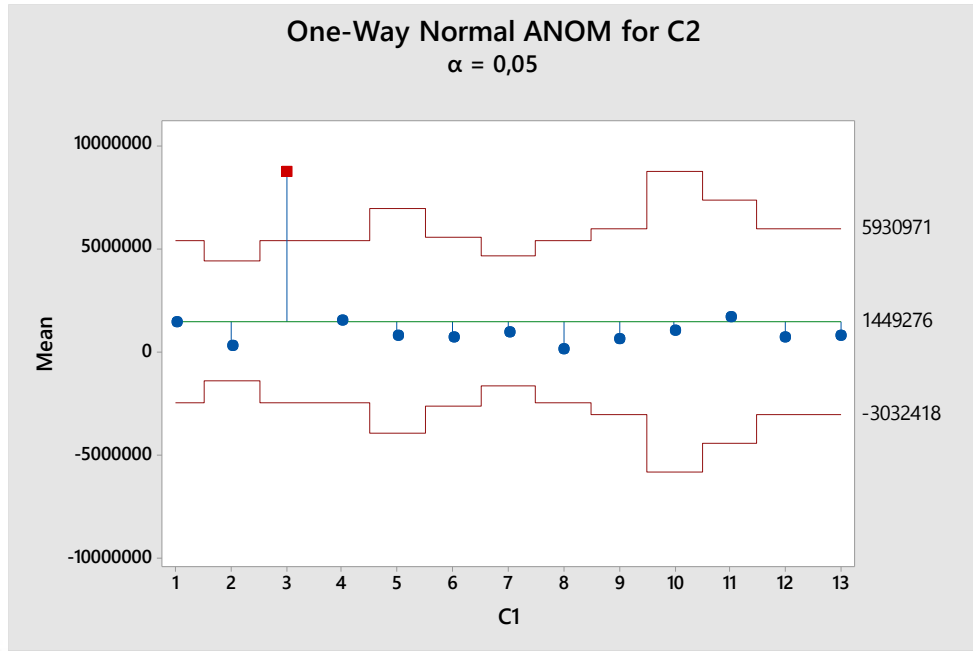
a. Lilliefors Significance Correction

Bir bağımsız (ilçeler: örnek alınan lokasyonlar) bir bağımlı (spor sayısı) için en uygun test ANOVA'dır. Ancak veri setleri normal dağılım göstermediği için ANOVA'nın nonparametrik alternatifi olan Kruskal-Wallis testi (SPSS 24) uygulanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4.Lokasyonlar için yapılan Kruskal-Wallis testi

Yapılan Kruskal-Wallis analizi sonucuna göre ilçeler arasında spor sayısı bakımından istatistiksel farklılıklar bulunmaktadır ($P < 0.01$). Farklılık hangi ilçeler arasında belirlemek için MINITAB18 programında One-Way ANOM analizi yapılmıştır (Şekil 3.5). Grafikte de görüldüğü gibi Yatağan ilçesinden elde edilen sonuçlar diğer ilçelerden daha yüksek olup istatistiksel farklılık meydana getirmiştir.



Şekil 3.5. One-Way ANOM analiz testi (1: Dalaman, 2: Fethiye, 3: Yatağan, 4: Menteşe, 5: Kavaklıdere, 6: Datça, 7: Ula,) 8: Seydikemer, 9: Marmaris, 10: Köyceğiz, 11: Ortaca, 12: Bodrum, 13: Milas)

Kırmızı hatlar üst ve alt sınırları göstermektedir. Mavi noktalar farklılık olmayan ilçeleri ve kırmızı kutu spor sayısı bakımından genel ortalamadan farklılık gösteren ilçeyi göstermektedir.

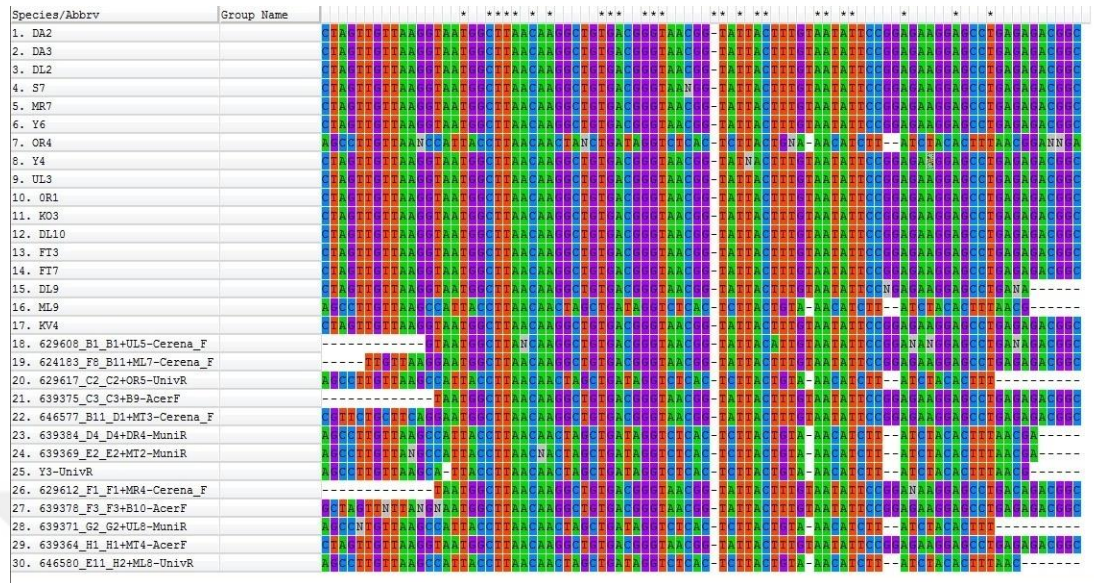
3.2. Moleküler Analiz Sonuçları

Yapılan moleküler işlemler (izolasyon, PCR, agaroz jel yürütmeleri ve dizileme analizi) sonucu sporların *N. ceranae* ait olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *N. apis* sporlarına rastlanılmamıştır. DNA dizilemesine gönderilen 35 örneğin sadece 30 tanesinin sekans sonucu gelmiş ve yapılan BLAST çalışmaları sonucu elde ettiğimiz *N. ceranae* örneklerinin daha önce Lübnan, Fransa, Tayland ve Fas ülkelerinde belirlenen *N. ceranae* sekanslarıyla benzerlik oranı aşağıdaki Çizelge 3.18.'da verilmiştir.

Çizelge 3.18. BLAST database sonucu sekanstan gelen örneklerin benzerlik analiz sonuçları

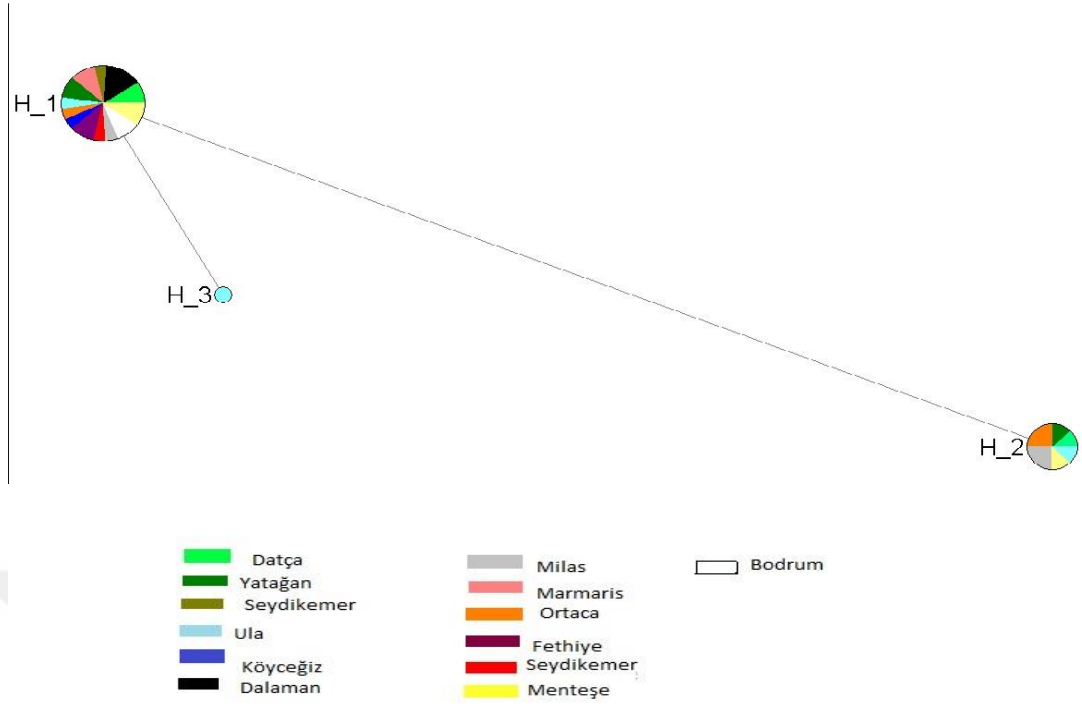
LOKASYON	ÖRNEK KODU	BLAST SONUCU
MİLAS	ML8	97%
MİLAS	ML7	95%
MİLAS	ML9	100%
MENTEŞE	MT4	100%
MENTEŞE	MT2	98%
MENTEŞE	MT3	100%
DATÇA	DA4	97%
DATÇA	DA2	100%
DATÇA	DA3	100%
ULA	UL8	99%
ULA	UL5	94%
ULA	UL3	%%99
DALAMAN	DL2	100%
DALAMAN	DL9	99%
DALAMAN	DL10	100%
SEYDİKEMER	S7	98%
BODRUM	B10	96%
BODRUM	B9	100%
MARMARİS	MR4	95%
MARMARİS	MR7	100%
ORTACA	OR5	100%
ORTACA	OR1	100%
ORTACA	OR4	96%
YATAĞAN	Y3	94%
YATAĞAN	Y6	100%
YATAĞAN	Y4	99%
KÖYCEĞİZ	KÖ3	100%
FETHİYE	FT3	100%
FETHİYE	FT7	100%
KAVAKLIDERE	KV4	100%

N.ceranae türüne ait genin hit sekans dizeleri MEGA 6 (Tamura ve ark., 2013) programında hizalanmıştır ve Şekil 3.6’de verilmiştir.



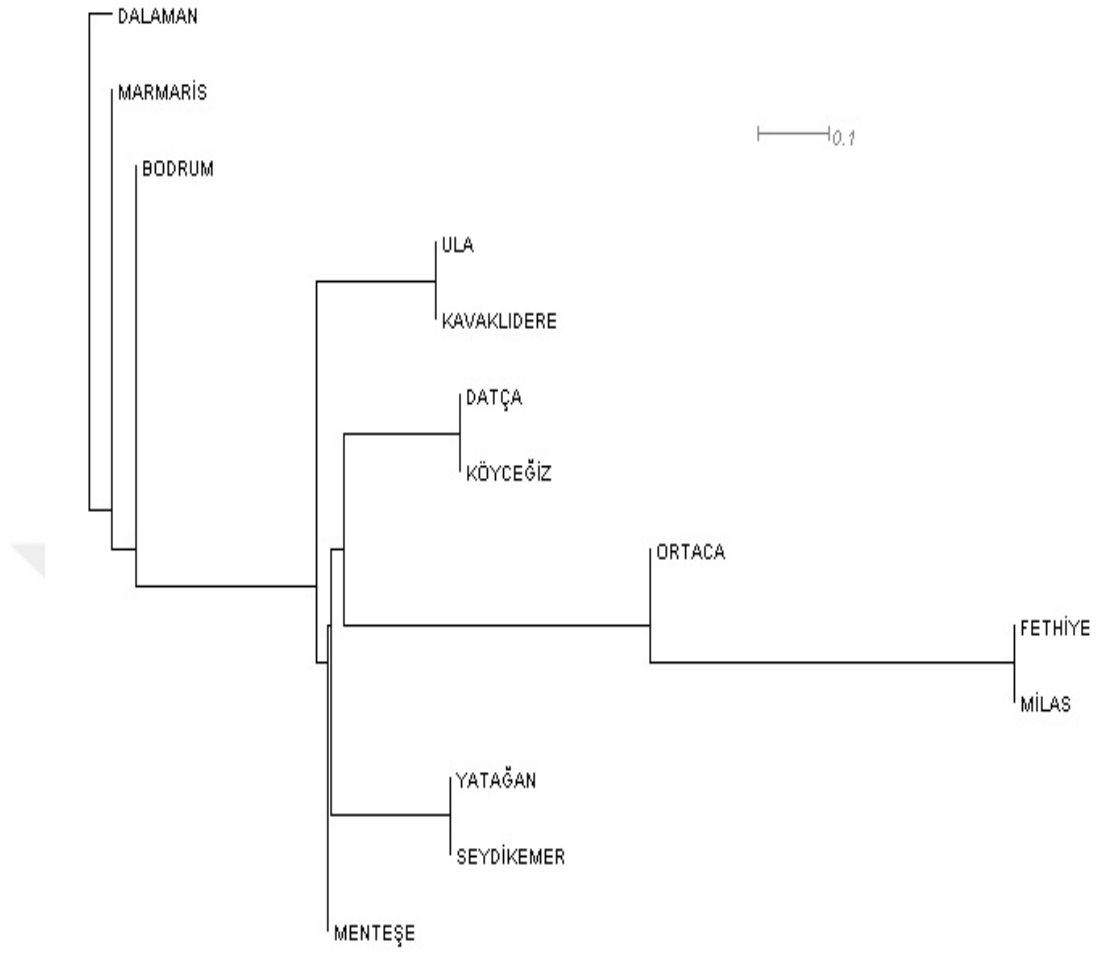
Şekil 3.6. *N.ceranae* türüne ait genin nükleotid hit sekanslarının mega 6 ile hizalanması

Yapılan network (Garcia ve ark., 2014) analizi sonucu 3 haplotip oluşmuştur. En geniş frekans haplotip 1’de elde edilmiştir. Sekans sonucu gelen 30 örneğin 21 tanesi haplotid 1’de, 8 tanesi haplotip 2’de ve 1 tanesi de haplotip 3’te görülmüştür. Haplotip 1 de 13 lokasyona da ait numuneler bulunmaktadır. Haplotip 2’de ise sadece Datça, Yatağan, Ula, Ortaca, Milas ve Menteşe lokasyonlarına ait numuneler, Haplotip 3’te ise sadece Ula lokasyonuna ait 1 adet numune bulunmaktadır (Şekil.3.7).



Şekil 3.7. *N.ceranae* türüne ait genlerin Network analizi sonucunda elde edilen haplotipler

N.ceranae türünün Splits Tree (Huson ve Bryant, 2006) programında yapılan analiz sonucu elde edilen genetik ağaç görüntüsü şekilde verilmiştir. Dendrograma göre Dalaman, Bodrum ve Marmaris ayrı kollarda yer alırken diğer populasyonlar tek bir dallanma üzerinden ayrımlanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. *N.ceranae* türünün Splits Tree programında yapılan analiz sonucu elde edilen genetik ağaç görüntüsü

4. TARTIŞMA

Hayvan ve insan patojenlerinin, özellikle mikrosporodinin moleküler tespit ve teşhislerinin klasik mikroskopik analizden daha duyarlı olduğu bilinmektedir (Fayer ve ark. 2003; Giersch ve ark. 2009; Kahler ve Thurston-Enriquez 2007; Valencakova ve ark. 2011). Arılarda nosema hastalığına neden olan iki türün birbirinden ayrılması ve teşhisinde en güvenilir yol moleküler yöntemlerle mümkündür. Nosema türlerinin, küçük ve korunmuş genomlarında, türlere spesifik primerler tasarlamak için kullanılabilen çeşitli değişken bölgelere sahiptir (Gatehouse ve Malone 1998; Sagastume ve ark., 2010; Tay ve ark. 2005). Nosema hastalığı bütün dünyada etkili olduğu gibi ülkemizde de geniş yayılma alanına sahiptir ve zaman zaman önemli koloni kayıplarına neden olmaktadır. Ülkemizde, Nosema hastalığına ait ilk bulgular 1952 yılında bildirilmiştir ve 1986 yılında ilk tanısı yapılmıştır (Uygur ve Girişgin, 2008; Büyük ve ark., 2014).

Bu çalışmada sadece işçi bal arılarından ve örnek toplanılan arılıklarda yada yakınlarında bulunan su kaynaklarında nosema sporu teşhisi yapılmıştır. Mikroskopik analiz sonuçlarına bağlı olarak yapılan sayımlardan elde edilen veriler doğrultusunda Muğla yöresinde örnek toplanan lokasyonlar arasında istatistiksel olarak nosema sporlarının yaygınlığı arasında farklılıklar önemli bulunmuştur. Brenna ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada *N.ceranae* sporlarının bahar aylarında yüksek, güz ve kış aylarında ise düşük seviyelerde görüldüğünü bildirmiştir. Bu çalışmada ise sporların ilkbaharda birkaç bölgede düşük düzeylerde kendini göstermiş, sonbahar aylarında ise yoğun yağış ve nemden dolayı bulaşıklık olan arılarda spor sayısının artmasına ve kovan içerisinde nosema sporlarının artmasına sebep olmuş olabileceği düşünülmektedir. Daha önce yapılmış çalışmalarda Nosema spor yoğunluğu ile nem arasındaki doğrusal ilişki istatistiksel olarak önemli olduğuda bildirilmiştir (Büyük., 2016; Tosun, 2012; Gisder ve ark., 2010; Martin-Hernandez ve ark., 2009). Yapılan su analizleri sonuçlarına göre toplanan su numunelerinin çok az bir kısmında bulaşıklık olduğu gözlemlenmiştir. Su örneği alınmak istenen arılıkların yakınlarındaki suların büyük bir kısmının akar-gider su (Dere, su kanalı, çeşme vb.) olmasından dolayı örneklerin çoğunda nosema sporuna rastlanmamıştır. Alınan su numunelerinin çoğunda nosema sporlarından

ziyade birçok farklı çeşit nematod ve protozoa türü gözlemlenmiştir. Ayrıca arıların içine arıların su ihtiyacını karşılaması amacıyla yerleştirilmiş olan su kaplarında ve suyun yeterince sık şekilde değiştirilmediği ve temizlenmediği için kirlilik de gözlemlenmiştir. Bu noktada bu tip su kaynaklarından (Kapların içindeki) faydalanan arıların başka hastalıklara maruz kalma olasılıklarını artırmaktadır.

Bu tez çalışmasında, numune olarak alınmış işçi arılarda ve su örneklerinde moleküler tanı sonucu Muğla yöresinde hastalığa sebep olan türün *N. ceranae* olduğu tespit edilmiş ve *N. apis*'e rastlanmamıştır. Nosema hastalığının varlığı, dağılımı ve etkileri Kutlu (1988) tarafından arıcılık faaliyetlerinin yoğun olduğu Adana ve Muğla illerinde yapılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda, 9 farklı bölgede, toplam 312 arıktan toplanan 15600 işçi bal arı örneği toplanmıştır yapılan mikroskopik analizler sonucu hastalık düzeyi sırasıyla Muğla'da %31.3, Adana'da 29.8, Dalaman'da %29.6, Aydın'da %28.6, Datça'da %25.7, Milas'ta %25.0, Fethiye'de %23.8, Köyceğiz'de %23.3 ve Marmaris'te %20.5 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada hastalığa sebep olan nosema sporlarının biyolojisine dair bilgilerin artması ve tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için tür çalışmaların belirli periyotlarla yapılması gerektiğini önemle vurgulanmıştır (Kutlu, 1988). Kutlu'nun (1988) önceki yıllarda Muğla yöresinin farklı lokasyonlarında yaptığı bu çalışmada hastalık lokasyonlarda %30'un altında gözlemlenmiştir. Genel itibariyle tüm Muğla yöresinde hastalık yüzdesi %72.37'dir. Kutlu'nun 1988'de yaptığı çalışmadan bizim çalışmamız gerçekleştirildiği yıl olan 2017 yılına kadar hastalık yüzdesinde 2.5 katlık bir artış gözlemlenmektedir. *N. ceranae*, *N. apis*'e oranla daha şiddetli ve öldürücü etkiye sahiptir. 1988 yılında yapılan bu çalışma *N. apis* bazında yapılmıştır, bugün ise *N. ceranae* bütün yörede etki göstermektedir budurum Muğla yöresindeki Nosema hastalığının etkilerinin daha ciddi boyutlarda olduğunu göstermektedir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasından elde edilen veriler ışığında Muğla'nın ilçelerinin durumudeğerlendirildiğinde hastalık etmeninin görülme oranı Dalaman'da %100, % 92 ile Yatağan, % 90 ile Milas, %84 ile Ula, % 83 ile Ortaca, %80 ile Marmaris %75 ile Köyceğiz, %70 ile Bodrum, % 69 ile Menteşe, % 54 ile Fethiye, %30 ile Seydikemer ve % 29 ile Kavaklıdere takip etmiştir. Nosema bulaşıklık düzeyinin 1988 yılından bu güne kadar daha da arttığı ve yaygınlaştığını bir kez daha vurgulamak gerekmektedir.

Daha sonraki yıllarda Başar (1990) tarafından Trakya Bölgesi’de, Muğla ve İstanbul illerinde bal arılarında *A. woodi* ve *N. apis* sporlarının varlığı araştırılmıştır. Bu araştırma çalışması sonucunda Nosema hastalığının kış ve bahar aylarında etkili olduğu ve ayrıca hastalığın en yoğun Trakya bölgesinde ve Muğla ilinde olduğunu belirlemiştir. Keskin ve ark. (1996), Tekirdağ, Muğla ve İstanbul yörelerinde 1988 Ağustos- 1989 Haziran ayları arasında 7820 bal arısı üzerinde *N. apis*’in yoğunluğunun araştırılması amacıyla yapmış oldukları çalışmada Nosema enfeksiyon yoğunluğunun en yüksek Nisan-Kasım aylarında olduğunu tespit etmişlerdir. Şimşek (2007) “Muğla İli Bal Arılarının (*Apis mellifera* L.) Mikrobiyal ve Parazit Hastalıklar Yönünden İncelenmesi” adlı yüksek lisans tez çalışmasında toplanılan arı örneklerinin hemen hemen hepsinde *N. apis* gözlemlendiğini bildirmiş ve çalışmasında sadece mikroskopik tanılama yapılmıştır. Şimşek ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada ise Muğla yöresinde Nosema hastalığının varlığını %100 olarak belirlemiştir. 2010 yılında Whitaker ve ark. 20 bölgeden toplam 84 örnekle toplayarak yaptıkları çalışmada ise Muğla yöresi ve farklı 6 ilde çalışılmıştır. Bu çalışma sonucu Muğla yöresinde *N. ceranae*’ye rastlandığını belirtmişlerdir. Ütük ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, Muğla’da sadece *N. ceranae* sporunu tespit etmiştir. Tunca ve ark. (2016) Türkiye’de 11 ilde yaptıkları taramada Muğla ilinden toplanan arıların hepsinde *N. ceranae* bulunduğu bildirilmişlerdir. Sarıbiyık ve Özkırım (2018) Muğla ilinde ilkbahar, Ağustos ayı olmak üzere 2 dönemde Muğla ilinden 51’er adet örnek toplamışlardır. Toplanan 102 örneğin 20’sinde *Nosema ceranae*’a, 13’ünde *Nosema apis*’e ve 69 örnekte ise her iki spor türüne rastlamışlardır.

Moleküler tekniklerle tür belirlenmesi çalışmalarının günümüze oranla zayıf olduğu yıllarda yapılan çalışmalarda nosema hastalığının belirlendiği bölgelerde hastalığın etmeni olarak *N. apis* gösterilmiştir. Bu tekniklerin zayıf olmasından dolayı sadece moleküler tekniklerle birbirinden ayrılan iki türün mikroskop altında hastalığın etmeni olarak *N. apis* belirlenmesi ve adlandırmasından sonra ilerleyen teknoloji sayesinde bu iki türün birbirinden ayırt edilmesini sağlaması önemli bir gelişmedir. Diğer yandan yirmi yıl öncesine kadar batı avrupa bal arılarında sadece *N. apis*’in bulunduğu *N. ceranae* ‘nin sadece *Apis ceranae* da olduğu düşünülüyordu bu düşünce daha sonra ilerleyen yıllarda *Apis mellifera* da da *N. ceranae* sporlarına rastlanmasıyla son bulmuştur. Yapılan su analizleri sonucunda akar gider olan su kaynaklarında nosema sporuna rastlanmaması olmadığı anlamına gelmemektedir.

Suyun akar gider olmasından dolayı nosema sporları hareket halinde olabilirler. Yapılan bu çalışma ile *N. cerenae*'nin ilimizde oldukça yaygın olduğunu göstermektedir.

Aynı zamanda Türkiye’de ilk kez bu tez çalışmasında nosema hastalığına ait moleküler olarak haplotip belirlemesi yapılmıştır. Bu veriler ışığında belirlenen haplotiplerin arıların kışlama yeteneği ve üretimsel performansları üzerinde hangi düzeyde belirleyici rol oynadıkları incelenebilecektir.

Sonuç olarak; arıcılık ülkelerin ekonomilerine dolaylı ve doğrudan katkı sağlayan tarımsal bir faaliyettir. Üretilen arı ürünlerinin kalitesini ve kolonilerin sürdürülebilirliğinde arı hastalıkları etkili rol almaktadır. Dolayısıyla arı hastalıklarının dönemsel olarak takiplerinin yapılıp ve etkilerinin incelenmesi sürdürülebilirlik açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Akbay, R., 1995. Arı ve İpekböceği Yetistirme. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay. No: 1428, Ders Kitabı: 415. A. Üniv. Basımevi, Ankara
- Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan SS, et al. (2010), ‘Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*)’, Environmental Microbiology 12, 774–782.
- Alburaki, M.,Moulin, S., Legout, H., Alburaki, A., Garnery, L.,(2011), ‘Mitochondrial structure of Eastern honey bee populations from Syria, Lebanon and Iraq’, *Apidologie*, 42, 628–641.10.1007/s13592-011-0062-4
- Anonim 2012 <http://kackarbali.blogcu.com/aricilik-tarihi/13229006>
- Anonim 2017 <https://www.maybir.org.tr/ariciligin-tarihcesi>
- Ansari, MJ., Al-Ghamdi, A., Adgaba, N., Ali Khan, K., Alattal Y., (2017), ‘Geographical distribution and molecular detection of *Nosema ceranae* from indigenous honey bees of Saudi Arabia’, Bee Research Chair, Department of Plant Protection, College of Food and Agriculture Sciences, King Saud University, Riyadh 11451, PO Box 2460, Saudi Arabia.
- Antúnez, K., Martin-Hernandez, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., Higes, M., (2009), ‘Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia)’, Environ. Microbiol.. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01953x.
- Aydın, L., Güleğen, E., Çetinbaş H. (2001), ‘Prevalence of *Nosema apis* in Southern Marmara Region in Turkey’, Apimondia, ISBN: 0-620-27768-8.
- Aydın L., Çakmak İ., Güleğen E., Korkut M., (2003), ‘ Güney marmara bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları anket sonuçları’, Uludağ Arıcılık Dergisi, 3, 37-40.
- Bailey, L., Ball, B.V. (1991), ‘ Honey Bee Pathology’, second ed. Academic Press, London.

- Bacandritsos, N., Budge, G.E., Granato, A., Papanastasiou, L., (2010), 'Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies', [Journal of Invertebrate Pathology](#) 105(3):335-40
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A., (1999), 'Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies', *Molecular Biology and Evolution*, 16:37-48
- Başar, E.(1990), 'Ülkemizdeki Bal Arılarında (*Apis mellifera*) *Acarapis woodi* ve *Nosema apis* Parazitlerinin Araştırılması', Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Betts, A.D. (1932), 'Fungus diseases of bees', *Bee World* 40:156.
- Bıghardı, E., Sacchi, L., (2001), 'Cell biology and invasion of the Microsporidia', *Microbes and Infection* 3, 373–379.
- Bodur Ç., Kence M., Kence A. (2007) Genetic structure of honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) populations of Turkey inferred from microsatellite analysis, *J. Apicult. Res.* 46, 60–67.
- Büyük, M., Tunca, R. İ., Taşkın, A. (2014), 'Türkiye’de *Nosema* spp. Varlığına Yönelik Yapılmış Çalışmalar', *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2), 234–238.
- Büyük Mithat, İvgin Tunca Rahşan, Taşkın Atilla, (2017), 'Kırşehir İlindeki Arılıklarda *Nosema* Hastalığının Belirlenmesi'. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(1): 1-5
- Büyük, M., (2016), 'Kırşehir İlindeki Arılarda *Nosema* Hastalığının Belirlenmesi', Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Zootečni Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi
- Chaimanee, V., Chen, Y., Pettis, J.S., Cornman, R.S., Chantawannakul P., (2011), 'Phylogenetic analysis of *Nosema ceranae* isolated from European and Asian honeybees in Northern Thailand', *Journal of Invertebrate Pathology* 107 229–233
- Chauzat, M.P., Higes, M., Martín-Hernández, R., Meana, A., Cougoule, N., Faucon, J.P.(2007), 'Presence of *Nosema ceranae* in French honey bee colonies', *J. Apic. Res.* 46, 127–128.
- Chauzat MP, Carpentier P, Martel AC, Bougeard S, Cougoule N, Porta P, Lachaize J, Madec F, Aubert M, Faucon JP (2009), 'Influence of pesticide residues on honeybee

- (Hymenoptera: Apidae) colony health in France', *Environmental Entomology* 38, 514–523.
- Chen, Y., Evans, J.D., Smith, I.B., Pettis, J.S. (2008), 'Nosema ceranae is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States', *J. Invertebr. Pathol.* 97, 186–188.
- Chen YP, Evans JD, Murphy C, Gutell R, Zuker M, Gundersen- Rindal D, Pettis JS (2009), ' Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*', *J Eukaryot Microbiol* 56:142–147
- Civan, M. (2006), *Nosema ceranae* hastalığı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*.6(3): 91-92.
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., Lipkin, W.I. (2007), ' A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder', *Science*, 318, 283–287.
- Çakmak, İ., Fıratlı, Ç., Wells, H., (1998), 'The response of *Apis mellifera syriaca* and *A.m. armeniacata* nectar differences', *Tr. J. Of Agriculture and Forestry*, 22:561-571.
- Çakmak, İ., Wells, H., (2001), 'Reward frequency effects on flower choice of honey bee races in Turkey', *Tr. J. of Zoology* 25:169-176.
- Çakmak, İ., Aydın, L., Güleğen, A. E. (2003), ' Güney Marmara Bölgesinde Bal arısı Zararlıları ve Hastalıkları', *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 1, 33-35.
- Derakhshan, A., Mohaghegh A., Mozaffari, AA., (2010), 'An Outbreak of Trypanosomiasis (Surra) in Camels in the Southern Fars Province of Iran: Clinical, Hematological and Pathological Findings', *Research Journal of Parasitology* 5(1):23-26
- Doğaroğlu, M. (1999), ' Modern Arıcılık Teknikleri', Anadolu Matbaa ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Sti., İstanbul.
- Doğaroğlu M, Sıralı R. (2005), 'Survey results on honeybee pests and diseases in Thracian Region of Turkey', *Uludağ Bee J*, 5: 71-78, 2005.
- Dussaubat, C., Brunet, J.L., Higes, M., Colbourne, J.K., Lopez, J., Choi, J.H., Martin-Hernandez, R., Botias, C., Moritz, R.F., Le Conte, Y., Alaux, C. (2012), 'Gut

- pathology and responses to the microsporidium', *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*, PLoS One, 7(5): e37017.
- Emsen, B., Guzman-Novoa E., Hamiduzzaman M., Eccles L., Lacey B., Ruiz-Pérez RA., Nasr M., (2016), 'Higher prevalence and levels of *Nosema ceranae* than *Nosema apis* infections in Canadian honey bee colonies', *Parasitol Res* 115:175–181 DOI 10.1007/s00436 015-4733-3
- Forsgren E, Fries I. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Vet Parasitol*, 170(3-4): 212-217, 2010.
- Franzen, C., Müller, A., (1999), 'Moleküler techniques for detection, species differentiation and phylogenetic analysis of Microsporidia', *Clin Microbiol Rev*, 12: 243-85.
- Franck, P., Garnery L., Loiseau, A., Oldroyd, B.P., Hepburn, H.R., Solignac, M., Cornuet, J.M., (2001), 'Genetic diversity of the honey bee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data', *Heredity*, 86, 420–430. 10.1046/j.1365-2540.2001.00842.x
- Fries I. (1988), 'Comb replacement and *Nosema* disease (*Nosema apis*) in honeybee colonies', *Apidologie*, 19: 343-356.
- Fries, I., (1989), 'The intracellular development of *Nosema apis* Z.', *Apidologie* 20, 502-503.
- Fries, I., Feng F., Da Silva, A., Slemenda, S.B., Pieniazek, N.J. (1996), '*Nosema ceranae* (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honeybee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae)', *European Journal of Protistology* 32, 356-365.
- Fries, I. (1997), 'Protozoa. In: Morse, R.A.F.K. (Ed.), *Honey Bee Pests, Predators and Diseases*', A.I. Root Company, Medina, Ohio, USA, pp. 59–76
- Fries, I., Martín, R., Meana, A., García-Palencia, P., Higes, M. (2006), 'Natural infections of *Nosema ceranae* in European honeybees', *Journal of Apicultural Research* 45, 230-233.
- Fries, I. (2010), '*Nosema ceranae* in European honey bees', *Journal of Invertebrate Pathology* 103, 73-79.
- Fries, I., Chauzat, M.P., Chen, Y.P., Doublet, V., Genersch, E., Gisder, S., Higes, M., McMahon, D.P., Martín Hernández, R., Natsopoulou, M., Paxton, R.J., Tanner,

- G., Webster, T.C., Williams, G.R. (2013), 'Standard methods for *Nosema* research. In: The COLOSS BEEBOOK: Volume II: Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research', Dietemann V, Ellis J.D. & Neumann P, eds. Journal of Apicultural Research, 52 (1):<http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.14>
- Garrido, PM., Porrini, MP., Antúnez, K., Branchiccela, B., Martinez-Noel, G.M.A., Zunino, P., Salerno, G., Eguaras, MJ., Leno, E., (2016), 'Sublethal effects of acaricides and *Nosema ceranae* infection on immune related gene expression in honeybees', Garrido *et al. Vet Res* 47:51DOI 10.1186/s13567-016-0335-z
- Genç, F., Dodoloğlu, A. (2002), ' Arıcılığın Temel Esasları', Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Yayınları. No: 166. Erzurum.
- Gajger, T.V., Grilec, D, Petrinc, Z. (2010), ' Prevalence and distribution of *Nosema ceranae* in Croatian honeybee colonies', Veterinarni Medicina 55 (9), 457–462.
- Gatehouse, HS., Malone LA., (1998), 'The ribosomal RNA gene region of *Nosema apis* (Microspora): DNA sequence for small and large subunit rRNA genes and evidence of a large tandem repeat unit size', *J Invertebr Pathol.* Mar;71(2):97-105
- Giersch, T., Berg, T., Galea, F., Hornitzky, M. (2009), '*Nosema ceranae* infects honeybees (*Apis mellifera*) and contaminates honey in Australia', Apidologie 40, 117–123.
- Giray, T., Kence, M., Oskay, D., Doke, MA., Kence, A. (2010), ' Scientificnote: colony losses survey in Turkey and causes of beedeaths', Apidologie, 41,451–453.
- Gisder, S., Hedtke, K., Möckel, N., Frielitz, MC., Linde, A., Genersch, E. (2010), 'Five year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climates hape virulence and as sertiveness of *Nosema ceranae*?' , Applied andEnvironmental Microbiology76,3032–3038.
- Granato, A., Caldon, M., Falcaro, C., Mutinelli, F., (2010),' Presence of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in Italian apiaries', COST Action FA0803 - Prevention of honeybee colony losses, *Nosema* disease: lack of knowledge and work standardization.
- Gurgulova K, Valchovski R, Petrov P, Ivanova E. (2010), ' Distribution of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in Bulgaria. Diagnostic in honeybees', From sampling to data analyses. Beedoc – Cost Action. Ghent University, Belgium, 2010.

- Güleğen, A.E. (2002), ‘ Bal arılarında trake akarı (*Acarapis woodi*)’, *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 1(2) : 27-29.
- Gülpınar, V. (2005), ‘ Bal arısı hastalık ve zararlıları’, *Teknik Arıcılık*. 87: 2- 7.
- Hatjina F, Tsoktouridis G, Bouga M, Charistos L, Evangelou V, Avtzis D, Meeus I, Brunain M, Smagghe G, de Graaf DC. (2011), ‘Polar tube protein gene diversity among *Nosema ceranae* strains derived from a Greek honey bee health study’, *J Invertebr Pathol*, 108(2): 131-4.s.
- Higes, M., Martin, R., Meana, A. (2006), ‘ *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honey bees in Europe’, *Journal of Invertebrate Pathology* 92, 93–95.
- Higes M, Garcia-Palencia P, Martin-Hernandez R, Aranzazu M. (2007), ‘Experimental infection of *Apis mellifera* honey bees with *Nosema ceranae* (Microsporidia)’, *J Invertebr Pathol*, 94(3): 211-217.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, AV., Barrios, L., Del Nozal, MJ., Bernal, JL., Jiménez, JJ., Palencia, PG., Meana, A. (2008), ‘ How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse’, *Environmental Microbiology* 10, 2659–2669.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., González-Porto, AV., García-Palencia, P., Meana, A., ve ark. (2009), ‘ Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in Professional apiaries’, *Environmental Microbiology Reports* 1, 110–113.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Meana, A. (2010), ‘ *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis’, *Apidologie* 41, 375–392.
- Higes, M., Meana, A., Bartolomé, C., Botías, C., Martín-Hernández, R. (2013) ‘*Nosema ceranae* (Microsporida), a controversial 21st century honeybee pathogen’, *Environmental Microbiology Reports* 5, 17–29.
- Huang, WF., Jiang, JH., Chen, YW., Wang, CH. (2007) ‘ A *nosema ceranae* isolate from the honeybees *Apis mellifera*’, *Apidologie* 38, 30-37
- Huson, D.H., Bryant H., (2006) ‘Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies’, *Mol. Biol. Evol.*, 23(2):254-267

- Invernizzi, C., Abud, C., Tomasco, I.H., Harriet, J., Ramallo, G., Campa, J., Katz, H., Gardiol, G., Mendoza, Y. (2009), ‘ Presence of *Nosema ceranae* in honeybees (*Apis mellifera*) in Uruguay’, J. Invertebr. Pathol. 101, 150–153.
- İvgin Tunca.,R., Oskay.,D., Gösterit.,A., Tekin.,K., (2016),‘Does *Nosema ceranae* Wipe Out *Nosema apis* in Turkey?’(Short Communication), Iranian journal of Parasitology 11(2):259-264
- Kaftanoğlu, O. (2002), ‘ Türkiye arıcılığının genel yapısı ve temel sorunları- II: *Varroa jacobsoni* ve kontrol yöntemleri’, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2(2): 4-6.
- Kandemir, İ., Kence, A., (1995) ‘Allozyme variation in Central Anatolian honey bee (*Apis mellifera* L.) populations’, *Apidologie*, Vol:26, pp:503-510.
- Kandemir I., Kence M., Kence A., (2000), ‘Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey’, *Apidologie* 31: 343–356.
- Kandemir I., Kence M., Sheppard W.S., Kence A. (2006) Mitochondrial DNA variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from Turkey, J. Apic. Res. and Bee World 45, 33–38.
- Kence , A.(2006), ‘ Türkiye Balarılarında Genetik Çeşitlilik ve Korunmasının Önemi’, *Uludağ Arıcılık Dergisi*. Şubat, 25-32.
- Kevan, P.G., Hannan, M.A., Ostiguy, N., Guzman, E. (2006), ‘ A summary of the Varroa-virus disease complex in honeybees’, *AmericanBee Journal* 146: 694 - 697.
- Klee J, Besana A, Genersch E, Gisder S, Nanetti A, Tam DQ, ve ark.. (2007), ‘Wide spread dispersal of the microsporidium *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honeybee, *Apis mellifera*’*Journal of InvertebratePathology*96,1–10.
- Kutlu, M. A. (1988), ‘ Ergin Balarısı (*Apis mellifera* L.) Hastalığı *Nosema apis*'in Dağılımı ve Enfeksiyon Oranı Üzerine Bir Araştırma’, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 45 s.
- Kutlu, M.A., Ekmen, F. (2003), ‘ Bingöl yöresi bal arılarında (*Apis mellifera* L.) *Nosema* hastalığının varlığı ve enfeksiyon oranı’, *Teknik Arıcılık*. 79: 24-26.
- Larsson, R., (1986), ‘ Ultra structure, function, and classification of microsporidia’, *Prog. Protistol.* 1, 325–390.

- Lotfi A, Jamshidi R, Shahryar HA, Yousefkhani M. (2009), 'The prevalence of Nosemosis in honey bee colonies in Arasbaran Region Iran', *American-Eurasian J Agric & Environ Sci*, 5: 255-257, 2009.
- Martin-Hernandez, R., Meana, A., Prieto, L., Martinez- Salvador, A., Garrido- Bailon, E., Higez, M. (2007), ' Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*', *Applied and Environmental Microbiology* 73, 6331-6338.
- Martin-Hernandez, R., Meana, A., Garcia-Palencia, P., Marin, P., Botias, C., Garrido-Bailon, E., *et al.* (2009) ' Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia', *Applied and Environmental Microbiology* 75, 2554–2557.
- Matheson, A., (1996), 'World bee health update', *Bee World* 77: 45–51.
- Mayack CH, Naug D. (2009), 'Energetic stress in the honey bee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection', *J Invertebr Pathol*, 100: 185-188.
- Milner, A., (1996), 'Introduction to understanding honeybees, their origins, evolution and diversity', http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/genetica/An_introduction_understanding_honeybees.PDF
- Mogie, Michael (1986). "Automixis: its distribution and status". *Biological Journal of the Linnean Society* 28 (3): 321–9. doi:10.1111/j.1095-8312.1986.tb01761.x.
- Mussen, E.C., Furgala, B., Hyser, R.A., (1975), 'Enzootic levels of Nosema disease in the continental United States', (1974). *Am. Bee J.* 115, 48–50. 58.
- Muz, M.N., Girisgin, A.O., Muz, D., Aydin, L. (2010), ' Molecular detection of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infections in Turkish apiaries with collapsed colonies', *Journal of Apicultural Research* Vol. 49 (4), 342.
- Muz M.N, Solmaz H, Yaman M, Karakavuk M. Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2012; 23 (3):147– 150.
- Nie N. H., Hull, C. H., Bent D. H., (1968), *Statistical Package for Social Sciences (SPSS)*
- Office International des Epizooties (OIE) (2008) *Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines*. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00123.htm (accessed on 20 Nov.2009).
- Öder, E. (1983), ' Balarısı Hastalıkları', Atatürk Üniversitesi Basımevi. Erzurum.

- Öncüer, C., Benlioğlu, K. (1998), ‘ Balarısı Zararlıları, Hastalıkları ve Zehirlenmeleri’, Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları. Yayın no: 3. Aydın.
- Özkırım, A., Keskin, N., Sorkun, K. (2006), The Determination of a Parasite of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) 6, 10-12, Harum, 2-6.
- Öztürk, A. İ. (2000), ‘ Balarılarında yavru çürüklüğü hastalıklarının kontrolü ve mücadelesi’, TYUAP Ege- Marmara Dilimi 2000 Yılı Hayvancılık Bilgi Alışveriş Toplantısı Bildirileri. 25-27 Nisan 2000. Menemen-İzmir.
- Öztürk, A. İ. (2001), ‘ Balarısı hastalıkları’, *Muğla’da Tarım*. 1(5): 57-59.
- Özüüçü M., Aydın L (2018) Türkiye Bal arılarında Ciddi Tehlike; Nosemosis. Uludağ Üniver.J. Fac. Vet. Med. 37 (2) 151-157 Palmer, MR., Smith, DR., Kaftanoğlu, O.,(2000), ‘Turkish honeybees: genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA’, The Journal of Heredity 91, 42-46.
- Papini R., Mancianti F., Canovai R., Cosci R., Rocchigiani G., Benelli G., Canale A. (2017), ‘ Prevalence of the microsporidian *Nosema ceranae* in honeybee (*Apis mellifera*) apiaries in Central Italy’, King Saud University Saudi Journal of Biological Sciences
- Paxton, RJ., Klee, J., Korpela, S., Fries, I. (2007) *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*’, *Apidologie* 38,558–565.
- Paxton, RJ. (2010), ‘Does infection by nosema ceranae cause “colony collapse disorder” in honeybees (*Apis mellifera*)?’ , *Journal of Apicultural Research* 49,80-84.
- Ruttner F., (1988), ‘Biogeography and Taxonomy of Honeybees’, Springer, Berlin, Germany, xii+284 pp.
- Ruttner, F., (1988), ‘Biogeography and Taxonomy of Honeybees’, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Sagastume, S; Del águila, C; Martín-hernández, R; Higes, M; Henriques-gil, N., (2010), ‘Polymorphism and recombination for rDNA in the putatively asexual microsporidian *Nosema ceranae*, a pathogen of honey bees’, *Environmental Microbiology* 13(1): 84-95. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02311.x>

- Sarıbıyık, C., Özkırım, A. (2018), 'The Transition Ratio of *Nosema* spp. Spores From Colonies to HoneyVersus Honey to Colonies', Journal of Agricultural Science; Vol. 11, No. 1; 2019
- Sarlo, E., Medici, S.K., Braunstein, M., Eguaras, M., (2008), ' Presencia y distribución de *Nosema ceranae* en la región sudeste de la Provincia de Buenos Aires', In: Actas del Segundo Congreso Argentino de Apicultura, Mar del Plata, Argentina, Agosto 2008, p. 26.
- Sanford, M.T. (2003), ' Diseases and pests of the honeybee', Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. Erisim: <http://edis.ifas.ufl.edu>
- Seehuus, SC., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T., Amdam, GV., (2006), 'Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress', Proc Natl Acad Sci U S A., 2006 Jan 24;103(4):962-7
- Sheppard, WS., Meixner, MD., (2003) , '*Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia', Apidologie 34(4): 367–375. doi: 10.1051/apido:2003037
- Shimanuki, H., Knox, D.A., Furgala, B., Caron, D.M., Williams, J.L. (1993), 'Diseases and pests of honey bees', The Hive and The Honey Bee. Dadant and Sons, Hamilton. Chapter 25. p 1083-1151.
- Shimanuki, H., Knox, D.A. (2000), ' Diagnosis of Honey Bee Diseases', US Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. AH-690, pp. 61.
- Smith, DR., Slaymaker, A., Palmer, M., Kaftanoğlu, O., (1997), 'Turkish honeybees belong to the east Mediterranean lineage', Apidologie 28, 269-274
- Somerville, D., Hornitzky, M. (2007), Nosema disease. Erişim: http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/177519/nosema-disease.pdf (Erişim Tarihi: 27.11.2018).
- Şimşek, H. (2005), 'Elazığ Yöresi Bal Arılarında Bazı Parazit ve Mantar Hastalıklarının Araştırılması', Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 52, 123-126.

- Şimşek D., (2007), ‘Muğla İli Balarılarının (*Apis mellifera* L.) mikrobiyal ve paraziter hastalıklar yönünden incelenmesi’, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Şahinler, N., Gül, A. (2005), ‘ Hatay Yöresinde Bulunan Arıcılık İşletmelerinde Arı Hastalıklarının Araştırılması’, Uludağ Arıcılık Derg., 2005, 5, 27-31.
- Tay, W T., O’mahoney, E M., Paxton, R J., (2005), ‘Complete rRNA gene sequences reveal that the microsporidium *Nosema bombi* infects diverse bumble bee (*Bombus* spp.) hosts and contains multiple polymorphic sites’, Journal of Eukaryotic Microbiology 52(6): 505-513. <http://dx.doi.org/10.1111/j.550-7408.2005.00057.x>
- Tamura, K., Stechr, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., (2013), ‘MEGA 6: Molecular Evolutionay Genetics Analysis Version 6.0.’Molecular Biology and Evolution: 30 2725-2729
- Tapaszti, Z., Forgách, P., Kovágó, C., Békési, L., Bakonyi, T., Rusvai, M. (2009), ‘First detection and dominance of *Nosema ceranae* in Hungarian honeybee colonies’, Acta Veterinaria Hungarica 57, 383–388.
- Terry, R.S., Smith, J.E., Bouchon, D., Rigaud, T., Duncanson, P., Sharpe, R.G., Dunn, A.M., (1999), ‘ Ultrastructural characterisation and molecular taxonomic identification of *Nosema granulosus* n. Sp., a transovarially transmitted feminising (TTF) microsporidium’, J. Eukaryot, Microbiol. 46, 492–499.
- Topçu, B., Arslan, M. Ö. (2004), ‘ Kars Yöresindeki Balarılarında Nosemosis’in Yaygınlığı’, Uludağ Arıcılık Dergisi, 4, 164-170.
- Tosun, O. (2012), ‘Bal Arılarında (*Apis mellifera* L., 1758) Nosemosis (Nosematosis) Hastalığının Doğu Karadeniz Bölgesinde Bulunan Arı Kolonilerindeki Varlığı, Dağılımı Ve Hastalık Etkenlerinin Karakterizasyonu’, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, 112s.
- Tozkar, C.Ö., Kence, M., Evans, J., Kence, A. (2012), ‘Identification of *Nosema spp.* Among Honey Bees from Different Regions of Turkey’, WG2 Workshop: *Nosema*, from knowledgeto experimentals etup – Istanbul, Turkey 3rd-4th of March p.25.
- Traver, B.E., Fell, R.D., (2011), ‘ Prevalence and infection intensity of *Nosema* in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Virginia’, J. Invertebr. Pathol. 107, 43–49.

- Tsai, S.J., Lo, C.F., Soichi, Y., Wang, C.H. (2003), ‘ The characterization of Microsporidian isolates (Nosematidae: Nosema) from five important lepidopteran pests in Taiwan’, J. Invertebr. Pathol. 83, 51–59.
- Tunca, R.I., Kence, M., (2011), ‘Genetic diversity of honey bee (*Apis mellifera* L.: Hymenoptera: Apidae) populations in Turkey revealed by RAPD markers’, *African Journal of Agricultural Research*, 6, 6217–6225.
- Tutkun, E. (2000), ‘ İlkbaharda en çok görülen bal arısı hastalık ve zararlıları’, *Teknik Arıcılık*. 67: 6-8
- Tutkun, E., Başgelmez, A. (2003), ‘Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teshis ve tedavi yöntemleri’, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Uygur, Ş. Ö., Girişgin, A.O. (2008), ‘Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları’, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 8, 4,130-142.
- Ütük AE, Pişkin C, Kurt M. (2010),‘Türkiye’de *Nosema ceranae*’nın ilk molekuler tanısı’, *Ankara Univ Vet FakDerg*, 57: 275-278.
- Ütük, A. E., Piskin, F.Ç., Kurt, M. (2010), ‘First molecular detection of *Nosema ceranae* in Turkey’, *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakutesi Dergisi* 57, 275-278.
- Ütük, A. E., Pişkin, F. Ç., Deniz, A., Balkaya, İ. (2011), ‘Varroosis ve Nosemosis Üzerine Retrospektif Bir Çalışma’, *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 22, 11-15.
- Ütük, A. E., Piskin, F.Ç., Girişgin, A.O., Özgür, S., Aydın, L., (2015), ‘Microscopic and Molecüler Detection of *Nosema* spp. In Honeybees of Turkey’, *Apidologie* 47: 267-271
- Yalçınkaya, A., Martin-Hernandez, R., Higes, M., Özkırım, A. (2012), ‘Epidemiology of *Nosemaspp.* in Turkey’, WG2 Workshop: *Nosema*, from know ledge to experimental setup – Istanbul, Turkey 3rd-4th of March p.27.
- Yaman, M., Yarılgac, E. Ş., Güner, B. G., Ertürk, Ö. (2015), ‘Ordu Yöresi Bal Arılarında Nosemosis Hastalığının Varlığı ve Dağılımı’ *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 39, 47-51.
- Yoloğlu, N. (2014), ‘ Türkiye'deki Bal Arılarında Görülen Nosemosis Üzerine Bir Çalışma’, *Yüksek Lisans Tezi*, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.,Ordu, 34s.

- Yoshiyama, M., Kimura, K. (2011), ‘ Distribution of *Nosema ceranae* in the European honey bee, *Apis mellifera* in Japan’, Journal of Invertebrate Pathology, 106, 263–267.
- Van der Steen J, Cornelissen B, Blacquiere T. (2010), ‘Strategy to control bee diseases in the Netherlands. Diagnostic in honeybees’, From sampling to data analyses. Beedoc - Cost Action. Ghent University, Belgium.
- Van Der Zee, R., Pisa, L., Andonov, S., Brodschneider, R., Charrière, J.D., Chlebo, R., Coffey, M.F., Crailsheim, K., Dahle, B., Gajda, A., Gray, A., Drazic, M.M., Higes, M., Kauko, L., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kralj, J., Kristiansen, P., Martin-Hernandez, R., Mutinelli, F., Nguyen, B.K., Otten, C., Özkırım, A., Pernal, S.F., Peterson, M., Ramsay, G., Santrac, V., Soroker, V., Topolska, G., Uzunov, A., Vejsnæs, F., Wei, S., Wilkins, S. (2012), ‘Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008–2009 and 2009–2010’, Journal of Apicultural Research 51(1), 100-114. DOI 10.3896/IBRA.1.51.1.12.
- Wasson, K., Peper, R.L. (2000), ‘ Mammalian microsporidiosis’, Vet. Pathol. 37, 113–128.
- Webster, T.C. (1993), ‘Nosema apis spore transmission among honey bees’, Am. Bee J., 133, 869–870.
- Whitaker, J., Szalanski, A L., Kence, M. (2010), ‘Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees’, Apidologie doi:10.1051/apido/2010045.
- Williams, GR., Shafer, ABA., Rogers, REL., Shutler, D., Stewart, DT. (2008), ‘First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honeybees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA.’, Journal of Invertebrate Pathology 97, 189–192.
- Winston, Mark L., (1987), ‘The biology of the honey bee’
- Zander, E. (1909), ‘Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. Münchener Bienenztg’, 31, 196–204
- Zeybek, H. (1991), ‘ Arı Hastalıkları ve Zararlıları’, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Etlik-Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Ad Soyad : Serengül Kartal
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Samsun 15/01/1991
Medeni Hali : Bekar
E-posta : kartalserengul@gmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Cumhuriyet Lisesi	2010
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2019