

Atf İçin: Kızıltepe, Ş., Akpınar, R., Akman, A., Kaya, S. ve Çelik, S. (2023). İğdir İlinde Görülen Arı Kolonisi Kayıplarında Viral ve Paraziter Etkenlerin Rolü. *İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(2), 858-871.

To Cite: Kızıltepe, Ş., Akpınar, R., Akman, A., Kaya, S. & Çelik, S. (2023). The Role Of Viral and Parasitic Factors In Bee Colony Losses İn İğdir Province. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(2), 858-871.

İğdir İlinde Görülen Arı Kolonisi Kayıplarında Viral ve Paraziter Etkenlerin Rolü

Şemistan KIZILTEPE^{1*}, Rahşan AKPINAR², Ayhan AKMAN², Selma KAYA², Semanur ÇELİK²

Öne Çıkanlar:

- Koloni kayıpları
- Bal arıları
- Miks enfeksiyon

Anahtar Kelimeler:

- Türkiye
- İğdir
- Koloni kaybı
- Arı virüsleri
- Nosemosis

ÖZET:

Bal arılarında görülen koloni kayıplarında bakım ve beslenme hataları, pestisitler, arı hastalıkları ve zararlıları, küresel ısınma ve stres gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Arı hastalıkları arasında yer alan viral ve paraziter enfeksiyonlar arı işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara ve zaman zaman da kolonilerin sönmesine neden olabilmektedir.

Bu çalışmada, İğdir ilinde bulunan, koloni kaybı geçmişi olan 64 işletme belirlenmiş, bu işletmelerde görülen koloni kayıplarında viral, paraziter ve mikrosporodiyal etkenlerin rolü araştırılmıştır. Bu amaçla yedi viral etken; Akut arı felci virusu (Acute Bee Paralysis Virus-ABPV), kronik arı felci virusu (Chronic Bee Paralysis Virus-CBPV), siyah kraliçe hücre virusu (Black Queen Cell Virus-BQCV), deforme kanat virusu (Deforme Wing Virus-DWV), torba çürüklüğü virusu (SacBrood Virus-SBV), Kaşmir arı virusu (Kashmir Bee Virus-KBV), İsrail akut arı felci virusu (Israeli Acute Paralysis Virus-IAPV) ile nosemosis ve varroasis yönünden incelenmiştir. Araştırma sonunda viral etkenlerden ABPV, BQCV, CBPV, DWV, KBV, SBV ve IAPV sırasıyla %1.56, %76.56, %4.68, %50, %1.56, %81.25, %20.31 oranlarında; mikrosporodiyal hastalıklardan nosemosis % 60.93 oranında bulunmuştur. Nosemosise neden olan etken *Nosema ceranae* olarak belirlenmiştir. Ayrıca koloni kaybı gözlenen arı işletmelerinin hiçbirinde *Varroa sp.* tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, koloni kaybı gözlenen arı işletmelerinde miks enfeksiyonların görüldüğü ve bu görülen miks enfeksiyonların koloni kayıplarında etkili olabileceği düşünülmektedir.

The Role Of Viral And Parasitic Factors In Bee Colony Losses İn İğdir Province

ABSTRACT:

Colony losses in honey bees; It is caused by many factors such as care and feeding errors, pesticides, bee diseases and pests, global warming and stress. Viral and some parasitic infections, which are among the bee diseases, can cause significant economic losses in bee holdings and, from time to time, colony extinction.

In this study, the role of viral and parasitic factors in colony losses observed in honey bee enterprises engaged in beekeeping and making their living from this activity in İğdir province was investigated. For this purpose, seven viral agents in 64 bee farms with colony loss; Acute bee paralysis virus (ABPV), Chronic bee paralysis virus (CBPV), Black queen cell virus (BQCV), Deformed wing virus (DWV), Sacbrood bee virus (SBV), Cashmere bee virus (KBV), Israel acute bee paralysis virus (IAPV) and two parasitic agents; Examined for *Nosema apis/cerana* and *Varroa*. For this purpose, samples of 64 bee farms with colony loss in the spring of 2021 were analyzed. ABPV, BQCV, CBPV, DWV, KBV, SBV and IAPV factors were found to be 1.56%, 76.56%, 4.68%, 50%, 1.56%, 81.25%, 20.31%, respectively, in honey bee enterprises with colony loss. *Nosema ceranae* was positive at a rate of 60.93%, and *N. apis* was not found. In addition, in any of the bee farms with colony loss, *Varroa sp.* not detected. As a result, it is thought that mixed infections are seen in bee holdings with colony loss and these mixed infections are thought to be effective in colony losses.

Highlights:

- Colony losses
- Honeybees
- Mixed infections

Keywords:

- Türkiye
- İğdir
- Colony loss
- Bee viruses
- Nosemosis

¹Şemistan KIZILTEPE (Orcid ID:0000-0003-3727-8893), İğdir Üniversitesi, Tuzluca Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, İğdir, Türkiye

²Rahşan AKPINAR (Orcid ID:0000-0003-0075-9247), Ayhan AKMAN (Orcid ID:0000-0003-0152-0481), Selma KAYA (Orcid ID:0000-0002-8934-3418), Semanur ÇELİK (Orcid ID:0000-0001-5657-1273), T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü, Samsun, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Şemistan KIZILTEPE, e-mail: semistan.kiziltepe@igdir.edu.tr

GİRİŞ

Farklı iklim özelliklerine sahip coğrafyası ile geniş bir biyolojik çeşitliliğin sahip olan Türkiye, *Apis mellifera* (bal arı) yetiştiriciliği için çok avantajlı bir ülkedir. Türkiye 8.733.394 koloni sayısı ve yıllık 96.344 ton bal üretimi verimi ile dünyada bal arısı yetiştiriciliğinde çok önemli bir konumdadır. Bal arıları hem doğadaki bitki türlerinin polinasyonunda hem de ürettikleri ürünler bazında çok önemli canlılardır. Arıcılık sektörünün üretimi ve sürdürülebilir olması için bal arısı kolonilerinde koloni kayıplarının sebeplerinin bilinmesi ve gerekli tedbirlerin alınması önemlidir. Son yıllarda bal arısı kolonilerinde ciddi koloni kayıpları gözlemlenmektedir. Bal arılarında görülen koloni kayıplarında bal arısı hastalıkları başta olmak üzere, koloninin bakım beslenme hataları, ana arı yetmezliği, pestisit ilaçlar ile iklim değişiklikleri gibi birçok nedenin birlikte rol oynadığı bildirilmektedir (Genersch, 2010; Ratnieks ve Carreck, 2010; Williams ve ark., 2010; Gajger ve ark., 2014; Simon-Delso ve ark., 2014). Yapılan araştırmalar sonucunda koloni kayıplarının önemli sebeplerinden biri de kolonide miks enfeksiyonların bulunması olarak değerlendirilmiştir (Cox foster ve ark., 2007).

Nosemosis ergin bal arılarının sindirim sisteminde yerleşen, hem koloni kayıplarına hem de verim düşüklüğüne sebep olan, sık rastlanan önemli mikrosporoidal entomopatojen hastalıklarından biridir (Özüoğlu ve Aydın, 2018). Günümüzde dünya genelinde *Apis mellifera*'da hastalık yaptığı bilinen *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* olmak üzere 2 tür tanımlanmıştır (Fries ve ark., 1996; Şimşek ve ark., 2001; Chemurot ve ark., 2017).

Varroasis arı kolonilerinde önemli derecelerde kayıp ve hasarlara sebep olan paraziter bir hastalıktır. *Varroa* cinsi altında *V. jacobsoni*, *V. underwoodi*, *V. rindereri* ve *V. Destructor* olmak üzere 4 tür bulunmaktadır. Türkiye'de *Varroa* sp.'nin tür ve haplotipi üzerine yapılan çalışmalarda, ülkemizde bulunan türün *V. destructor*, haplotipin ise Kore (K) haplotipi olduğu tespit edilmiştir (Çakmak ve ark., 2003; Shen ve ark., 2005a; Aydın ve ark., 2007).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda bal arısı patojenleri arasında yer alan arı viruslarının, koloni kayıplarında büyük bir rol oynadığı ve arıların için ciddi bir tehdit oluşturduğu görülmüştür (Chen ve Siede, 2007). Arı viruslarının bal arılarına bulaşması, arıların farklı yaşam formlarında olabilmektedir. Bal arılarında arı virusleri genellikle asemptomatik seyretmesine rağmen arıların hastalanmalarına ve ölümlerine neden olabilirler. Bazı virusler arıların sağlığını önemli ölçüde etkiler ve bazı koşullarda yaşam süresinin kısalması sonucunda tüm koloninin çökmesine sebep olur (Berenyi ve ark., 2006a; Welch ve ark., 2009). Şu ana kadar yapılan araştırmalarda bu şekilde koloni çöküşüne sebep olan 26 bal arısı virusunun varlığı bildirilmiştir (Allen ve Ball, 1996; Ellis ve Munn, 2005; Gauthier ve ark., 2007; Baker ve Schroeder, 2008; Reynaldi ve ark., 2010; Reynaldi ve ark., 2011; De Miranda ve ark., 2013; Levitt ve ark., 2013; Remnant ve ark., 2017; Galbraith ve ark., 2018). Arıcılığımızı tehdit eden hastalıklardan biri olarak karşımıza çıkan koloni çöküş hastalığı (Colonic Collapse Disease-CCD); yetişkin arıların aniden ortadan kaybolması, yetişkin arıların bir daha kovana dönmemesi, kovanda arı nüfusunun az bulunması ve/veya tüketilmemiş polen ve bal bulunması ile karakterize bir sendromdur (Cox-Foster ve ark., 2007; Ratnieks ve Carreck, 2010). Bu viruslerin çoğunluğunun RNA genomu taşıdığı, filamentöz virus ve *Apis iridescent* virusün ise DNA genomu taşıdığı belirlenmiştir (Doğanay ve Aydın, 2017; Garigliany ve ark., 2018; Levin ve ark., 2019).

Akut arı felci virüsü (ABPV), *Dicistroviridae* ailesinden *Aparavirus* cinsinden RNA virüsüdür. Ergin bal arılarında titreme, felç ve ani arı ölümleri ile karakterize olup, larva ve pupalarda da enfeksiyon oluşturmaktadır (Maramorosch ve Shatkin 2007).

Kronik arı felci virüsü (CBPV), tek iplikli RNA taşıyan yeni bir virus ailesi olarak kabul edildiğinden henüz tam olarak sınıflandırılmamıştır (Gürçay ve Kutlu 2022). Arı kolonilerinde

asemptomatik seyredebilir. Hastalık görülen kolonilerde iki farklı sendrom gösterdiği belirlenmiş; tip 1 sendromda, kanat ve vücutta titreme, abdomende şişkinlik, disloke olmuş kanatlardan dolayı uçuş yeteneğini kaybetme, tip 2 sendromda, vücut kıllarının dökülmesi sonucunda vücudun parlak-siyah renk aldığı görülür. Enfekte arılar uçamaz, uzuvlarda titremeler belirgindir (Ribiere ve ark., 2007; Olivier ve ark. 2008; Blanchard ve ark., 2009; Tuncer ve Yeşilbağ, 2009; Ribiere ve ark., 2010; Muz ve Muz, 2018).

Siyah kraliçe hücre virusu(BQCV), etken *Dicistroviridae* ailesinden *Triatovirus* cinsinden RNA virusüdür (Spurny ve ark., 2017; Muz ve Muz, 2018). Enfeksiyon, kraliçe bal arısı larvaları ve pupalarının soluk sarı renkten koyu renge dönme ve ölümüyle karakterizedir. Bulaşmada arılar beslenme yoluyla etkenleri alırlar. Ayrıca bu viral hastalığın özellikle noseiosisli kolonilerde görüldüğü bilinmektedir (Tentcheva ve ark., 2004a; Anderson, 2005; Berenyi ve ark., 2006b; Nielsen ve ark., 2008).

Deforme kanat virusu (DWV) *Iflaviridae* ailesinin *Iflavirus* cinsi tek iplikçikli RNA virusüdür (Lanzi ve ark., 2006, Berenyi ve ark., 2006a; Maramorosch ve Shatkin 2007). Hastalık ergin arılarda buruşuk kanat, abdomende küçülme, ağırlık azalması ve renksizleşme ile karakterizedir. *Varroa destructor* deforme kanat virusunun vektörüdür (Tentcheva ve ark., 2004b, Maramorosch ve Shatkin 2007).

Kaşmir Arı virusu (KBV), etken *Dicistroviridae* ailesinden *aparavirus* cinsinden tek iplikçi RNA virusüdür. KBV enfeksiyonu virülensi yüksek bir arı hastalığıdır. KBV genellikle persiste enfeksiyon olarak seyrettiği fakat *Varroa* sp. akarının istilasından sonra hastalık semptomlarının ortaya çıktığı bildirilmektedir (Allen ve Ball, 1996; De Miranda ve ark., 2004; Shen ve ark., 2005b; Aubert ve ark., 2008; Francis ve Kryger, 2012; Usta ve Yıldırım, 2020).

Torba Çürüklüğü Virusü (SBV), bal arılarını tüm yaşam evrelerinde enfekte eden *Iflaviridae* ailesinin, *Iflavirus* cinsi, tek sarmallı, zarfsız bir RNA virusüdür (Nielsen ve ark., 2008; Valles ve ark., 2017; Yıldırım ve ark., 2020). SBV arıliklarda büyük kayıplara neden olabilir (Morawetz ve ark., 2019, Kalaycı ve ark., 2019). SBV yetişkin arılarda yaşam süresinin kısalmasına sebep olurken larvalar için öldürücüdür (Uygur ve Girişgin, 2008; Reddy ve ark., 2016; Li ve ark., 2019).

İsrail Akut Arı felci Virusü (IAPV), *Dicistroviridae* ailesinde *Aparavirus* cinsinin bir üyesi olan IAPV çoğunlukla klinik belirti oluşturmada seyretmektedir (Govan ve ark., 2000; Maori ve ark., 2007; Chen ve ark., 2006; Palacios ve ark., 2008; Yan ve ark., 2009; Meeus ve ark., 2014; Mullapudi ve ark. 2016). Hasta olan arılarda felç bulguları ve kanatlarda titreme tipik klinik semptom olarak görülmektedir. Kovan dışında ve yakın çevrede ölü arılara rastlanır (Meeus ve ark., 2014; Usta ve Yıldırım, 2020). IAPV yayılmasında *Varroa destructor* rol oynar (Chen ve ark., 2007,2014; De Miranda ve ark., 2010; Di Prisco ve ark., 2011).

Bal arısı yetiştiriciliğinde herbir kovan için bal verimi önemlidir. Türkiye, kovan başına bal veriminde 11.03 kg/kovan ile dünya ortalamasının çok altındadır. Bununla birlikte, kovan başına bal verimi ülkemizde her geçen gün azalmakta olup, bunun sebeplerinin bir an önce belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışma, İğdir ilinde görülen koloni kayıpları ile Akut Arı Felci Virusü (ABPV), Kronik Arı Felci Virusü (CBPV), Deforme Kanat virusu (DWV), Siyah Kraliçe Hücre Virusü (BQCV), Torba Çürüklüğü Virusü (SBV), Kaşmir Arı virusu (KBV), İsrail Akut Arı felci Virusü(IAPV) *Varroa* akarı ve nosema varlığı arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, Iğdır ilinde koloni kaybı görülen işletmelerden alınan numuneler incelenmiştir. Bu amaçla 2021 yılının ilkbahar mevsiminde (Mart, Nisan ve Mayıs ayları) koloni kaybı gözlenen 64 işletmenin herbirinden 100 adet ergin arı örnekleri alınmış ve örneklerin ilçelere göre dağılımı Çizelge 1 de sunulmuştur.

Çizelge 1. Örnek Alınan İşletmelerin İl-İlçe Bazında Dağılımı

Örnek alınan ilçe	Örnek alınan işletme sayısı
Merkez	15
Aralık	15
Karakoyunlu	10
Tuzluca	24
Toplam	64

Metot

Homojenizasyon: RNA ve DNA ekstraksiyonunda kullanılacak örneklerin homojenizasyonu ayrı ayrı yapıldı. RNA ekstraksiyonundan önce aynı kovandan alınan 15 ergin arı örneği 7 ml'lik tüplere konularak üzerine 3 ml PBS eklendi. DNA ekstraksiyonu için ise yine aynı kovandan alınan 30 ergin arı abdomeni 7 ml'lik tüplere aktarıldı ve üzerlerine 3 ml PBS konuldu. Daha sonra cryo tüpler otomatik homojenizasyon cihazında (bead ruptor elite, bead mill homogenizer, sku 19-042E, omni international, USA) homojenizasyonları yapılan örnekler soğutmalı santrifüj cihazında sırasıyla RNA ekstraksiyonu için 4000 rpmde 15 dk, DNA ekstraksiyonu için 2500 rpmde 10 dk santrifüj edildi.

RNA Ekstraksiyonu: RNA ekstraksiyonu için hazırlanan homojenizattan 200 µL süpernatant alındı ve Roche High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Lot: 53059300) test protokolüne uygun olarak ekstraksiyonu yapıldı. PCR işlemine kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Kullanılan Qiagen Onestep RT-PCR kit (Kat. No. / ID: 210212) içeriğinde reverse transkriptaz enzimi bulunduğu için ayrıca bir DNA işlemi yapılmadı.

DNA Ekstraksiyonu: Nosema teşhisi amacıyla DNA ekstraksiyonu için hazırlanan homojenizattan 100 µL süpernatant alındı ve Invitrogen Purelink Genomic DNA Mini Kit (Lot: 2392135) protokolüne uygun olarak ekstraksiyonu yapıldı. PCR işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Viral etkenlerin varlığının onestep RT-PCR ile araştırılması

ABPV, CBPV ve BQCV etkenlerinin RT-PCR işlemi Qiagen Onestep RT-PCR kit (Kat. No. / ID: 210212) kullanılarak gerçekleştirildi. Üretici firmanın protokolüne göre 5X Onestep RT-PCR buffer 10 µl, dNTPs mix 2 µl, 5 pmol'luk reverse primer 6 µl, 5 pmol'luk forward primer 6 µl, enzim mix 2 µl, RNase inhibitör 0.5 µl, DEPC su 18,5 µl ve RNA 5 µl kullanılarak toplam hacim 50 µl olacak şekilde hazırlandı (Chen ve ark., 2006).

DWV, KBV, SBV ve IAPV etkenlerinin de RT-PCR işlemi Qiagen Onestep RT-PCR kit (Kat. No. / ID: 210212) kullanılarak gerçekleştirildi. Üretici firmanın protokolüne göre 5X Onestep RT-PCR buffer 10 µl, dNTPs mix 1 µl, 10 pmol'luk reverse primer 5 µl, 10 pmol'luk forward primer 5 µl, enzim mix 2 µl, RNase inhibitör 0.5 µl, DEPC su 21.5 µl ve RNA 5 µl kullanılarak toplam hacim 50 µl olacak şekilde hazırlandı (Chen ve ark., 2006).

Tüm virusler için kullanılan PCR koşulları aynı olup; 48°C'de 45 dakika ve 95°C'de 2 dakika olan ısı koşullarında tek tekrar yaptırılarak cDNA ve enzim denatürasyonu yapıldıktan sonra 95°C'de 30 saniye, 55°C'de 1 dakika ve 68°C'de 2 dakikadan oluşan ısı koşulları 40 defa tekrarlandı. Son olarak

68°C’de 7 dakika final ekstansiyonu ile PCR aşaması sonlandırıldı (Chen ve ark., 2006). Örnekler 0.5 µg/ml ethidium içeren %1.5’lik agaroz jel içinde yürütüldü ve UV transmülatörde görüntülendi (Şekil 1). Sonuçlar Çizelge 2’de yer alan amplikon büyüklüklerine göre değerlendirildi.

Çizelge 2. Onestep RT-PCR’da Kullanılan Primerler

Viruslar	Primerler	Amplikon Büyüklüğü (bp)	Kaynaklar
ABPV	ABPV-F : 5'-TTATGTGTCCAGAGACTGTATCCA-3' ABPV-R : 5'-GCTCCTATTGCTCGGTTTTTCGGT-3'	900 bp	Benjeddou ve ark., 2001
BQCV	BQCV-F : CTTTATCGAGGAGGAGTTCGAGT BQCV-R : GCAATAGATAAAGTGAGCCCTCC	536 bp	Sguazza ve ark., 2013
DWV	DWV-F : 5'- TGGTCAATTACAAGCTACTTGG -3' DWV-R: 5'- TAGTTGGACCAGTAGCACTCAT -3'	269 bp	Sguazza ve ark., 2013
KBV	KBV-F : 5'- GATGAACGTCGACCTATTGA-3' KBV-R: 5 - TGTGGGTTGGCTATGAGTCA-3'	415 bp	Stoltz ve ark., 1995
SBV	SBV- F : CGTAATTGCGGAGTGGAAAAGATT SBV- R : AGATTCCTTCGAGGGTACCCTCATC	342 bp	Sguazza ve ark., 2013
IAPV_IGR_F	CGATGAACAACGGAAGGTTT	767 bp	Cox foster ve ark., 2007
IAPV_IGR_R	ATCGGCTAAGGGGTTTGTTT		
CBPV-F	AACCTGCCTCAACACAGGCAAC		Squazza ve ark., 2013
CBPV-R	ACATCTCTTCTTCGGTGTGACCC	774 bp	

Nosema sp. teşhisi

Nosema sp. teşhisi natif muayene ve moleküler analiz olmak üzere iki aşamalı olarak yapılmıştır. Önce natif muayene yapılmış, sonra tüm örnekler moleküler olarak da incelenmiştir. Bir kovandan natif ve moleküler analiz için 30 ergin arı örneği kullanılmıştır. Mikroskopik bakı sonuçları cins düzeyinde, moleküler tanı sonuçları ise tür düzeyinde belirtilmiştir.

Natif Muayene; Natif muayene amacıyla her kovandan 30 ergin arının abdomeninin üzerine 10 ml distile su eklenmiş ve steril havanda ezilmiş ve Süspansiyondan 1 damla lam-lamel arasına konarak ışık mikroskopunda 40’lık objektifte *Nosema* sporları yönünden incelenmiştir.

N. apis / *N.cerana* Multipleks-PZR; 50 µl’lik hacimde hazırlanan miks karışımına 10X Taq Buffer ile 5 µl (NH₄)₂SO₄, 6 µl 25 mM MgCl₂, 2 µl dNTPs mix, 2 µl 10 pmol’luk *N. ceranae* forward primer, 2 µl 10 pmol’luk *N. ceranae* reverse primer, 2 µl 10 pmol’luk *N. apis* forward primer, 2 µl 10 pmol’luk *N. apis* reverse primer, 0.5 µl Taq DNA Polymerase 23.5 µl DEPC su ve 5 µl template DNA ilave edildi. PCR amplifikasyonunda; 95°C’de 2 dk başlangıç denatürasyonu sonrası devamında, 95°C 1 dk, 50°C 1 dk ve 72°C 1 dk 35 döngü ve son uzama basamağı 72°C’de 5 dk uygulandı. Oluşan ürünler %1.5’lik agaroz jelde yürütülerek ethidium bromide ile boyanıp, UV transilliminatorde *N. ceranae* için 218-219 bp, *N. apis* için 321 pb pozitif olarak kabul edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* 'da Kullanılan Primerler

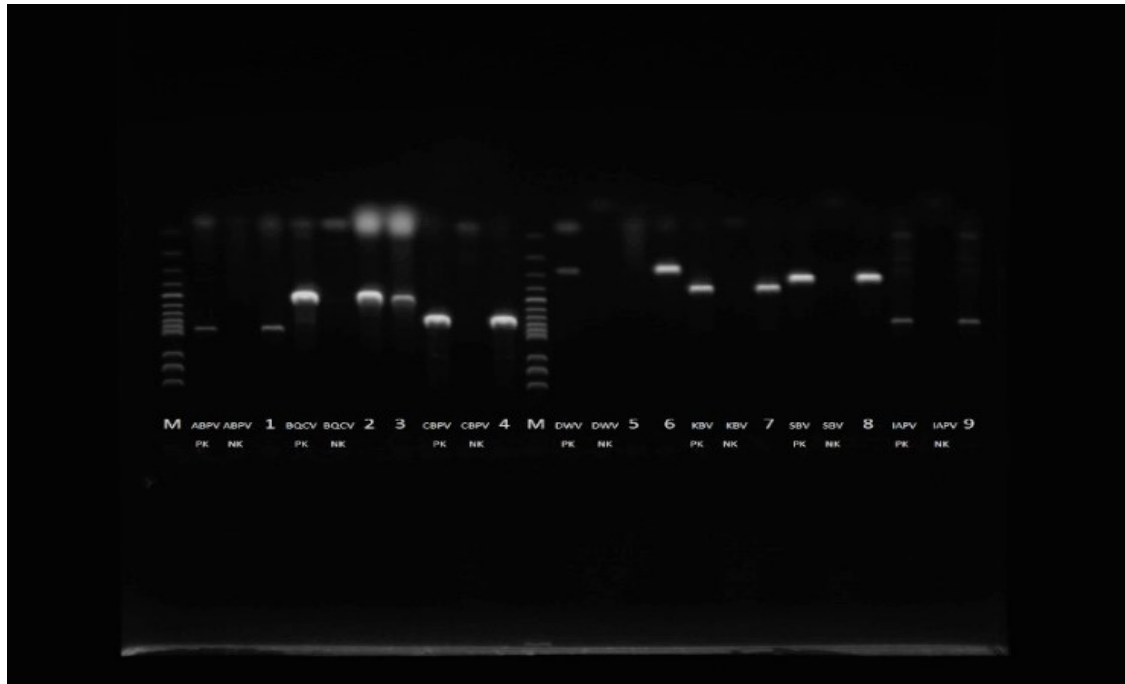
Parazitler	Primerler	Amplikon Büyüklüğü (bp)	Kaynaklar
N. ceranae	N.ceranae-F:5' - CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTA-3'	218-219 bp	Hernández RM, ve ark., 2007,
	N. ceranae-R:5'- CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG-3'		
N. apis	N. apis- F: 5'- GGGGGCATGTCTTTGACGTA-3'	321 bp	Hernández RM, ve ark., 2007,
	N. apis- R: 5'- GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAACAACTATG-3'		

Varroa teşhisi

Kovanlardaki varroosis varlığın araştırmak için en az 50 arı numunesi petri kaplarına konulup, stereo-mikroskop altında *Varroa* sp. varlığı bakımından muayene edilmiştir. Tüm arıların abdomen segment araları ve kanat altları özellikle kontrol edilmiştir. Mikroskopik analizi tamamlanan bu arılar diğer analizlerde kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

2021 yılının ilkbahar mevsiminde koloni kaybı gözlenen 64 arı işletmesine ait örneklerin ilçelere göre dağılımı(çizelge 1), patojen sayıları ve patojen yüzdesi çizelge 4'de verilmiştir. Koloni kaybı yaşanan bal arısı işletmelerinde ABPV 1 işletmede (%1.56), BQCV 49 işletmede (%76.56), CBPV 3 işletmede (%4.68), DWV 32 işletmede (%50), KBV 1 işletmede (%1.56), SBV 52 işletmede (%81.25), ve IAPV 13 işletmede (%20.31) oranında tespit edilmiştir (Çizelge 4). Ayrıca 39 işletmede (%60.93) nosemosise rastlanırken, koloni kaybı gözlenen arı işletmelerinin hiçbirinde *Varroa* sp. tespit edilmemiştir.

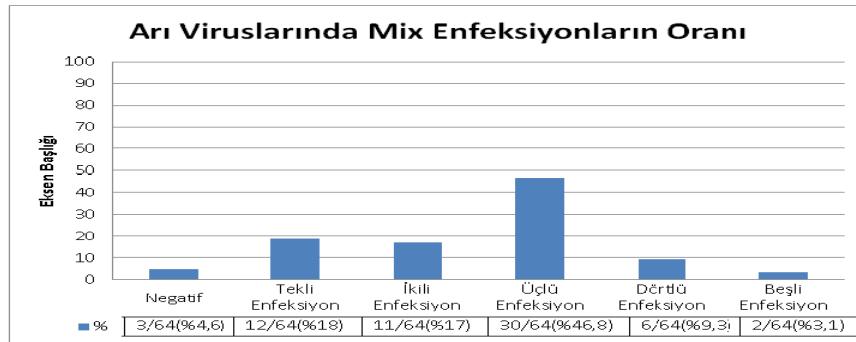


Şekil 1. Arı Virusları PCR görüntüsü; M: Merdiven, ABPV PK: ABPV (900 bp amplicon) Pozitif Kontrol, ABPV NK: ABPV Negatif Kontrol, 1: ABPV pozitif numune, BQCV PK: BQCV Pozitif Kontrol (536 bp amplicon), BQCV NK: BQCV Negatif Kontrol, 2,3: BQCV Pozitif Numuneler, CBPV PK: CBPV Pozitif Kontrol (774 bp amplicon), CBPV NK: CBPV Negatif Kontrol, 4: CBPV Pozitif numune, DWV PK: DWV Pozitif Kontrol (269 bp amplicon), DWV NK: DWV Negatif Kontrol, 5: DWV Negatif numune, 6: DWV Pozitif numune, KBV PK: KBV Pozitif Kontrol (415 bp amplicon), KBV NK: KBV Negatif Kontrol, 7: KBV Pozitif numune, SBV PK: SBV Pozitif Kontrol (342 bp amplicon), SBV NK: SBV Negatif Kontrol, 8: SBV Pozitif numune, IAPV PK: IAPV Pozitif Kontrol (767 bp amplicon), IAPV NK: IAPV Negatif Kontrol, 9: IAPV Pozitif Numune.

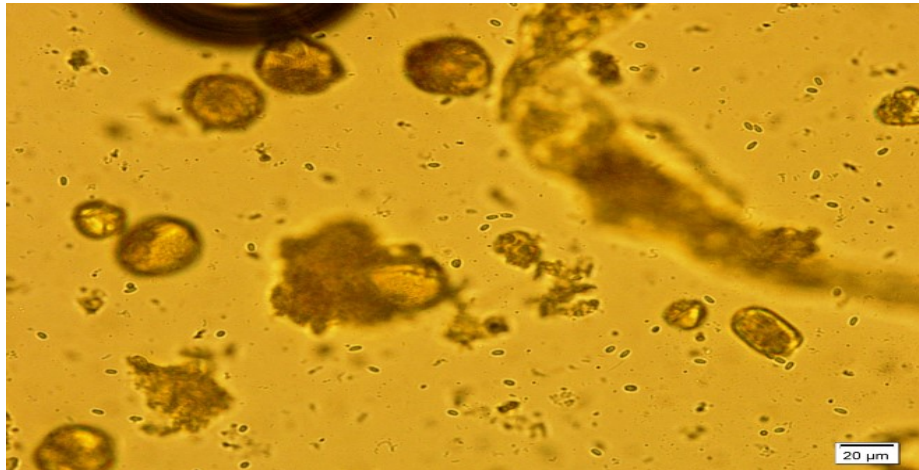
Çizelge 4: Örneklerin Patojen Sayıları ve Patojen Yüzdesi

	ABPV	BQCV	CBPV	DWV	KBV	SBV	IAPV	Nosema sp	Varroa sp.
Merkez	1	11	2	3	1	14	3	5	0
Aralık	0	8	0	10	0	10	5	5	0
Karakoyunlu	0	6	0	1	0	4	1	8	0
Tuzluca	0	24	1	18	0	24	4	21	0
Toplam	1	49	3	32	1	52	13	39	0
Görülme Oranı %	1.56	76.56	4.68	50	1.56	81.25	20.31	60.93	0

Yapılan analizlerde 3 işletmede viral etkenlere rastlanmazken, bu 3 işletmelerin 2 sinde *N.cerana* bulundu. Çalışmanın yapıldığı işletmelerden sadece 1 işletmede ise her hangi bir etken tespit edilmemiştir. Diğer işletmelerde ise arı viruslerinin genelde ikili, üçlü ve dördülmiks enfeksiyonlar şeklinde seyrettiği gözlenmiştir (Şekil 2).

**Şekil 2:** Örneklerin İlçelere Göre Dağılımı, Patojen Sayıları ve Patojen Yüzdesi

Yapılan natif muayene sonucunda 39 işletmede *Nosema sp.* sporları (Şekil 3) tespit edilmiştir. Multipleks PCR analizinde *N. cerana* (Şekil 3) 39 işletmede bulunurken, *N.apise'e* ise rastlanmamıştır, bu sonuçlara göre mikroskopik analiz ile moleküler analiz sonuçları %100 uyumlu bulunmuştur.

**Şekil 3:** *Nosema sp.* Sporu

Iğdır ili bölgede mikroklima özelliği ile arı yetiştiriciliği yönünden iklim ve bitki florası çok uygun bir bölgedir. Mevcut konumundan dolayı da çevre illerden kışlatmak amacıyla gezginci arıcılığın yoğun yapıldığı bir bölge olarak karşımıza çıkmaktadır. Bölgenin avantajlarına karşılık oluşan hastalıklardan dolayı istenilen verim alınmamaktadır. Koloni kayıplarının temelinde biyotik ve abiyotik olmak üzere birçok sebep vardır. Bu verim kayıplarında ilk sırayı arı hastalıkları oluşturmaktadır.

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda bakteri, virus, mikrosporidia ve parazitlerin koloni kayıplarında başlıca rol oynadığı bildirilmiştir (Cox-Foster ve ark., 2007; Muz ve ark., 2010;

Genersch, 2010; Francis ve Nielsen, 2013; Kalaycı ve ark., 2020). Bu çalışmada, Iğdır yöresinde koloni kayıplarına sebep olan patojen etkenlerin varlığı araştırılmıştır.



Şekil 4: *N. apis* ve *N. cerana* PCR görüntüsü; M: Merdiven, *N. apis* ve *N. cerana* PK: *N. apis* (321 bp amplicon) ve *N. ceranae* (218 bp amplicon) Pozitif Kontrol, *N. apis* ve *N. cerana* NK: *N. apis* ve *N. ceranae* Negatif kontrol: 1,2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10: *N. cerana* Pozitif Numuneler, 11, 12, 13, 14 : *N. cerana* Negatif Numuneler

ABPV enfeksiyonunun Türkiye’de değişik oranlarda varlığı rapor edilmiştir. Ege bölgesindeki arı işletmelerinde ergin arılarda yapılan çalışmalarda, Gümüşova ve ark., (2010) etkene rastlamazken, Beyazıt ve ark., (2012) tarafından %1.27, Kalaycı ve ark., (2020) %35.5 etkeni tespit etmiştir. Ayrıca ABPV enfeksiyonu Hakkari’de %2.2 (Rüstemoğlu, 2015), Ege Bölgesinde %3.6 (Çağırğan, 2018), Burdur yöresinden %74.19 (Usta, 2020) oranlarında bildirilirken, Van yöresinde bu enfeksiyonun varlığına rastlanmamıştır (Karapınar ve ark., 2018). Yapılan literatür taramasında Türkiye’de daha önceki çalışmalarda bildirilen oranların %1.27 ile % 74.19 geniş yelpazeli bir aralıkta olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ise ABPV %1.56 oranında tespit edilmiş olup, daha önceki çalışmalarda bildirilen çalışmalar ile uyumludur.

CBPV enfeksiyonunu için yapılan çalışmalarda, Çağırğan, (2018) % 1.8, Gümüşova ve ark., (2010) % 25, Kalaycı ve ark., (2020) %18.4 oranında etkeni tespit etmiştir. Çalışmamızda bu oran %4.68 bulunmuş, bu değer Türkiye’de daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen değerler arasında olduğu görülmüştür.

BQCV enfeksiyonu en yaygın enfeksiyonlar arasında olup, Türkiye ve Avrupa ülkelerinde varlığı bildirilmiştir. Türkiye’de Gümüşova ve ark.(2010) %21.42, Oğuz ve ark. (2017) %88.5, Karapınar ve ark.(2018) %88.46, Aydın, (2020) %16 ve Kalaycı ve ark.(2020), %28.9 oranlarında varlığını bildirmişlerdir. Rodriguez ve ark. (2012) Şili’de % 82 oranında pozitiflik bildirmiştir. Bu çalışmada BQCV % 76.56 oranında tespit edilmiştir. Bu oran Türkiye’de daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu BQCV oranının yüksek bulunmasında nosemozisin varlığı göz önünde bulundurulmalıdır.

DWV hem ülkemiz de hem de dünya genelinde sık karşılaşılan arı viruslerinden biridir. Burdur ilinde %74.19 (Usta ve Yıldırım 2022), Van ilinde %69.23(Karapınar ve ark., 2018), Ege Bölgesinde %25.2 (Çağırğan, 2018), Hakkari ilinde %23.3 (Rüstemoğlu, 2015) oranında pozitiflik saptanmıştır. Sunulan çalışmada bu oran % 50 olarak kaydedilmiştir. Bu oran Van ve Burdur yöresinde yapılan çalışmaya göre düşük ve diğerlerine göre yüksek bulunmuştur. Bu durumun bölgedeki vektör mücadelesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Türkiye’de KBV’yi Tozkar ve ark., (2015), Rüstemoğlu ve Sipahioğlu,(2016), Çağırğan, (2018), Kalaycı ve ark., (2020) tespit edemediklerini bildirirken, Aydın, (2020) çalışmasında%1,1 oranında KBV varlığını belirlemiştir. Çalışmamızda ise benzer şekilde %1.56 oranında tespit edilmiştir.

Çalışmamızda SBV en yaygın görülen viral etken olmuştur. Etken larva ve yetişkinleri enfekte edebilmektedir, ancak larvalar yetişkin arılardan çok fazla daha etkilenmektedir. Bu hastalığın bulaşmasında işçi arılar önemli bir rol oynar. Yapılan bildirimlerde farklı ülkelerinde % 68 oranında tespit edilmiştir (Tentcheva ve ark., 2004b; Li ve ark., 2019). Türkiye’de daha önce yapılan çalışmalarda Çağırğan, (2018) % 2.7, Kalaycı ve ark. (2020) %22.3 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise yayılım % 81.25 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Bulunan bu yüksek oranda, çalışmamızda zayıflamış kolonilerde arıların incelenmesinin ve örnekleminin yapıldığı mevsimsel farklılıkların rol oynadığı düşünülmektedir.

IAPV çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarla varlığı bildirilmiştir (Kukielka ve Rodríguez, 2010; Formato ve ark., 2011). Türkiye’de yapılan çalışmalarda Tozkar ve ark., (2015) ve Çağırğan, (2018) çalışmalarında pozitiflik bulamadıklarını raporlamışlardır. Fakat Kalaycı ve ark. (2020) %6.5, Özkırım ve Schiesser, (2013) ise 71 işletmenin 10’unda virus varlığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda %20.31 oranında varlığı tespit edilmiştir. IAPV virusünün koloni kayıplarındaki rolü düşünüldüğünde bu oran oldukça yüksektir.

Nosemosis üzerine Türkiye’de yapılan çalışmalarda % 0-100 aralığında seyrettiği bildirilmiştir (Balkaya ve ark., 2016a). Türkiye’de genelinde 2009 -2016 yıllarında yapmış olduğu çalışmada *N. cerena* % 26.8-72.6, *N.apis* ise %8.8-29.2 ve miks enfeksiyon oranının da %18.49 oranında olduğu bildirilmiştir (Kutlu ve Kaftanoğlu,1990; Şimşek ve ark., 2001; Balkaya ve ark., 2016b). Bizim çalışmamızda ise *N.apise’e* hiç rastlanmazken *N. cerena* %60.93 olarak belirlenmiştir.

Türkiye’de yapılan çalışmalarda *Varroa sp.* etkeni %6.2 -100 oranlarda teşhisi yapılmıştır. Varroasisin oluşturduğu hasar, kendisinin oluşturduğu doğrudan etkileri ve vektörlük yaptığı viruslerin oluşturduğu hastalıklardan kaynaklanır. Çalışmamızda *Varroa sp.* etkeni tespit edilememiştir. Bunun muhtemel sebebinin ilkbahar mevsiminde paraziter mücadele sonrası numune toplanmasının olduğu düşünülmektedir. Türkiye’de ve dünyanın çeşitli yerlerinde bu akarın koloni kayıplarından sorumlu tutulduğu ve çoğu viral etkene vektörlük ettiği bilinmektedir.

SONUÇ

Son yıllarda koloni kayıplarında, arı sağlığını etkileyen birden fazla etkenin varlığı kabul edilmektedir. Bal arısı koloni sağlığını tehdit eden virusler, bakterilerin yanında parazitlerde hastalık etkenleri de önemli bir yere sahiptir. Çalışmamız İğdır yöresinde bal arılarında viral etkenlerin incelenmesi yönünde yapılan ilk çalışmadır. Arılarda görülen viral hastalıklar genel olarak tekli enfeksiyonlar olarak değil, bir koloni de çoklu enfeksiyonlar olarak karşımıza çıkabilmektedir. Bu çalışmada İğdır ilinde görülen koloni kayıplarında miks enfeksiyonlara sık rastlandığı tespit edilmiştir. Özellikle BQCV, DWV ve SBV’ün üçüne de rastlanılan kovan sayısı 30 olup, örnekleme yapılan kovanların %46.8’inde her üç hastalık ile aynı anda enfekte bulunmuştur. En dikkat çeken sonuçlardan biri ise dörtlü enfeksiyonun görüldüğü kovan sayısının (6 kovan), enfeksiyon görülmeyen kovan sayısının (3 kovan) iki katı olmasıdır. Son olarak ise kovanların %3.1’inde (2/64) beşli viral enfeksiyonların varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, koloni kayıplarında özellikle viruslerin ve miks enfeksiyonların önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İğdır mikroklima özelliği nedeni ile bölgenin kışlak alanlarının en önemlilerinden biridir. İğdır bölgesinde gözlenen koloni kayıplarında; viral ve paraziter enfeksiyonlar ve miks enfeksiyon görülmesinin koloni çöküşünde önemli olduğu ve bundan sonra yapılacak

çalışmaların bal arısı kolonilerinin çöküşünde rol oynayan tüm faktörleri dahil edileceği daha kapsamlı araştırma ile ortaya konulmasının bölge ekonomisine ve bilime katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Allen, M.F., Ball, B.V. (1996). The incidence and World distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 77: 141–162.
- Anderson, D. (2005). Triggering virus replication in honey bees, Bee Research And Virus in Europe. In *Proceedings of the meeting in Sophia-Antipolis (France)* (Vol. 24, p. 26).
- Anonim, (2022). Hayvansal üretim istatistikleri (Erişim Linki: <https://www.tuik.gov.tr/>, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Tarim-111>). (Erişim Tarihi: 21.09.2022).
- Aubert, M., Ball, B., Fries, I., Moritz, R., Milani N, Bernardinelli A. (2008). Virology and the Honey Bee. Belgium ,ISBN 92-79-00:586-3.
- Aydın S. 2020. *Malatya ve Elazığ illerindeki arı viruslerinin RT-PCR yöntemi ile tespiti ve Moleküler karakterizasyonlarının yapılması* (MTÖ Üniversitesi).Yüksek lisans tezi(Basılmamış). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Aydın, L., Güleğen, E., Çakmak, İ., & Girişgin, A. (2007). The occurrence of Varroa destructor Anderson and Trueman, 2000 on honey bees (Apis mellifera) in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 31(3), 189-191.
- Baker, A., & Schroeder, D. (2008). Occurrence and genetic analysis of picorna-like viruses infecting worker bees of Apis mellifera L. populations in Devon, South West England. *Journal of invertebrate pathology*, 98(2), 239-242.
- Balkaya İ, Kaplan H, Güven E, Avcıoğlu H, 2016.(b)Türkiye’de Görülen Bal Arısı (Apis mellifera) Hastalıkları. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(3): 339-347.
- Balkaya, İ., Kaplan, H., Güven, E., Avcıoğlu, H. (2016)(a). Erzurum yöresi arıcılarının karşılaştıkları bal arısı hastalıkları. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(3), 273-281.
- Benjeddou, M., Leat, N., Allsopp, M., & Davison, S. (2001). Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5), 2384-2387.
- Berenyi, O., Bakonyi, T., Derakhshifar, I., Köglberger, H., & Nowotny, N. (2006)(b). Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Applied and environmental microbiology*, 72(4), 2414-2420.
- Berenyi, O., Bakonyi, T., Derakhshifar, I., Köglberger, H., Topolska, G., Ritter, W., ... & Nowotny, N. (2007)(a). Phylogenetic analysis of deformed wing virus genotypes from diverse geographic origins indicates recent global distribution of the virus. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(11), 3605-3611.
- Beyazıt, A., Akkoca, N., Eskiizmirliler, S., Albayrak, H., Özcan, E., Özden, M., ... & Tunalıgil, S. (2012). Ege Bölgesi illerinde önemli arı hastalıklarının yaygınlığının araştırılması. *Hayvan Sağlığı Program Değerlendirme Kitapçığı*, 366.
- Blanchard, P., Schurr, F., Olivier, V., Celle, O., Antúnez, K., Bakonyi, T., ... & Ribièrè, M. (2009). Phylogenetic analysis of the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and a predicted structural protein (pSP) of the Chronic bee paralysis virus (CBPV) isolated from various geographic regions. *Virus Research*, 144(1-2), 334-338.
- Chemurot, M., De Smet, L., Brunain, M., De Rycke, R., & de Graaf, D. C. (2017). Nosema neumannii n. sp.(Microsporidia, Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, Apis mellifera in Uganda. *European journal of protistology*, 61, 13-19.
- Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in virus research*, 70, 33-80.
- Chen, Y. P., Pettis, J. S., Collins, A., & Feldlaufer, M. F. (2006). Prevalence and transmission of honeybee viruses. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 606-611.

- Chen, Y. P., Pettis, J. S., Corona, M., Chen, W. P., Li, C. J., Spivak, M., ... & Evans, J. D. (2014). Israeli acute paralysis virus: epidemiology, pathogenesis and implications for honey bee health. *PLoS pathogens*, *10*(7), e1004261.
- 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*(5848), 283-287.
- Çağırğan, A. A., & Yazıcı, Z. (2021). The prevalence of seven crucial honeybee viruses using multiplex RT-PCR and their phylogenetic analysis. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *45*(1), 44-55.
- Çağırğan, A. A., Yıldırım, Y., & Usta, A. (2020) (b). Phylogenetic Analysis of Deformed Wing Virus, Black Queen Cell Virus and Acute Bee Paralysis Viruses in Turkish Honeybee Colonies. *Medycyna Weterynaryjna*, *76*:8: 480-484.
- Çağırğan, A. A., Yıldırım, Y., & Usta, A. (2020)(a). The investigation of Israel acute bee paralysis virus, sacbrood virus, Kashmir bee virus and chronic bee paralysis virus in honeybees (*Apis mellifera*). *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, *36*(2), 96-101.
- Çağırğan, A. A. (2018). *Ege bölgesinde virus nedenli arı hastalıklarının multipleks polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Viroloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. (Basılmış). (Doktora tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Çakmak, İ., Aydın, L., & Güleğen, E. (2003). Güney Marmara Bölgesinde balarısı zararlı ve hastalıkları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, *3*(2), 33-35.
- De Miranda, J. R., Bailey, L., Ball, B. V., Blanchard, P., Budge, G. E., Chejanovsky, N., ... & Van Der Steen, J. J. (2013). Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. *Journal of apicultural research*, *52*(4), 1-56.
- De Miranda, J. R., Cordoni, G., & Budge, G. (2010). The acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of invertebrate pathology*, *103*, S30-S47.
- De Miranda, J. R., Drebot, M., Tyler, S., Shen, M., Cameron, C. E., Stoltz, D. B., & Camazine, S. M. (2004). Complete nucleotide sequence of Kashmir bee virus and comparison with acute bee paralysis virus. *Journal of General Virology*, *85*(8), 2263-2270.
- Di Prisco, G., Pennacchio, F., Caprio, E., Boncristiani Jr, H. F., Evans, J. D., & Chen, Y. (2011). *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of General Virology*, *92*(1), 151-155.
- Doğanay, A., Aydın, L. (2017). Bal Arısı Yetiştiriciliği Ürünleri Hastalıkları. 1. Baskı, Bursa: Dora Yayınevi, s: 21-57, 283-343.
- Ellis, J. D., & Munn, P. A. (2005). The worldwide health status of honey bees. *Bee world*, *86*(4), 88-101.
- Formato, G., Giacomelli, A., Olivia, M. A., Aubin, L., Glick, E., Paldi, N., ... & Mutinelli, F. (2011). First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Italy. *Journal of apicultural research*, *50*(2), 176-177.
- Francis, R. M., Nielsen, S. L., & Kryger, P. (2013). *Varroa*-virus interaction in collapsing honey bee colonies. *PloS one*, *8*(3), e57540.
- Francis, R., & Kryger, P. (2012). Single assay detection of acute bee paralysis virus, Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus. *Journal of Apicultural Science*, *56*(1), 137-146.
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S. B., & Pieniazek, N. J. (1996). *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology*, *32*(3), 356-365.
- Gajger, T.I., Kolodziejek, J., Bakonyi, T., & Nowotny, N. (2014). Prevalence and distribution patterns of seven different honeybee viruses in diseased colonies: a case study from Croatia. *Apidologie*, *45*, 701-706.
- Galbraith, D. A., Fuller, Z. L., Ray, A. M., Brockmann, A., Frazier, M., Gikungu, M. W., ... & Grozinger, C. M. (2018). Investigating the viral ecology of global bee communities with high-throughput metagenomics. *Scientific reports*, *8*(1), 1-11.
- Garigliany, M., El Agrebi, N., Franssen, M., Hautier, L., & Saegerman, C. (2019). Moku virus detection in honey bees, Belgium, 2018. *Transboundary and emerging diseases*, *66*(1), 43-46.
- Gauthier, L., Tentcheva, D., Tournaire, M., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., & Bergoin, M. (2007). Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique. *Apidologie*, *38*(5), 426-435.

- Genersch, E. (2010). Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Applied microbiology and biotechnology*, 87, 87-97.
- Govan, V. A., Leat, N., Allsopp, M., & Davison, S. (2000). Analysis of the complete genome sequence of acute bee paralysis virus shows that it belongs to the novel group of insect-infecting RNA viruses. *Virology*, 277(2), 457-463.
- Gümüsova, O.S., Albayrak, H., Kurt, M., & Yazici, Z. (2010). Prevalence of three honey bee viruses in Turkey. *Veterinarski Arhiv*, 80(6), 779-785.
- Gürçay, M., & Kutlu, M. A. Bal Arılarının Önemli Virusları. *Uluslararası Gıda Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 2(2), 29-41.
- Kalaycı, G., Çağırğan, A. A., Pekmez, K., Özkan, B., & Kaplan, M. (2019). Molecular detection and phylogenetic analysis of the honeybee (*Apis mellifera*) sacbrood virus in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(4), 551-554.
- Kalayci, G., Cagirgan, A. A., Kaplan, M., Pekmez, K., Beyazit, A., Ozkan, B., ... & Arslan, F. (2020). The role of viral and parasitic pathogens affected by colony losses in Turkish apiaries. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(5).
- Karapınar, Z., Oğuz, B., Dinçer, E., & Öztürk, C. (2018). Phylogenetic analysis of black queen cell virus and deformed wing virus in honeybee colonies infected by mites in Van, Eastern Turkey. 74 (7): 460-465.
- Kukielka, Z.D., & Rodríguez, J. M. S. V. (2010). First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Spanish honeybees. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (2), 308-311.
- Kutlu, M.A., Kaftanoğlu, O. (1990). Ergin bal arısı (*Apis mellifera* L.) hastalığı *Nosema apis*'in dağılımı ve enfeksiyon oranı üzerine bir araştırma. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2)41-53
- Lanzi, G., De Miranda, J. R., Boniotti, M. B., Cameron, C. E., Lavazza, A., Capucci, L., ... & Rossi, C. (2006). Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of virology*, 80(10), 4998-5009.
- Levin, S., Sela, N., Erez, T., Nestel, D., Pettis, J., Neumann, P., & Chejanovsky, N. (2019). New viruses from the ectoparasite mite *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Viruses*, 11(2), 94.
- Levitt, A. L., Singh, R., Cox-Foster, D. L., Rajotte, E., Hoover, K., Ostiguy, N., & Holmes, E. C. (2013). Cross-species transmission of honey bee viruses in associated arthropods. *Virus research*, 176(1-2), 232-240.
- Li, J., Wang, T., Evans, J. D., Rose, R., Zhao, Y., Li, Z., ... & Chen, Y. (2019). The phylogeny and pathogenesis of sacbrood virus (SBV) infection in European honey bees, *Apis mellifera*. *Viruses*, 11(1), 61.
- Maori, E., Lavi, S., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Peretz, Y., Edelbaum, O., ... & Sela, I. (2007). Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra-and inter-species recombination. *Journal of General Virology*, 88(12), 3428-3438.
- Maramorosch, K., Shatkin, A. (2007). Honey bee viruses. *Advances in Virus Research*. Academic Press. 33-80
- Meeus, I., de Miranda, J. R., de Graaf, D. C., Wäckers, F., & Smagghe, G. (2014). Effect of oral infection with Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus on bumblebee (*Bombus terrestris*) reproductive success. *Journal of Invertebrate Pathology*, 121, 64-69.
- Morawetz, L., Köglberger, H., Griesbacher, A., Derakhshifar, I., Crailsheim, K., Brodschneider, R., & Moosbeckhofer, R. (2019). Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. *PloS one*, 14(7), e0219293.
- Mullapudi, E., Přidal, A., Pálková, L., de Miranda, J. R., & Plevka, P. (2016). Virion structure of Israeli acute bee paralysis virus. *Journal of Virology*, 90(18), 8150-8159.
- Muz, D., & Muz, M. N. (2018). A molecular epidemiological study of black queen cell virus in honeybees (*Apis mellifera*) of Turkey: the first genetic characterization and phylogenetic analysis of field viruses. *Apidologie*, 49(1), 89-100.
- 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*, 49(4), 342-342.
- Nielsen, S. L., Nicolaisen, M., & Kryger, P. (2008). Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark. *Apidologie*, 39(3), 310-314.

- Oğuz, B., Karapınar, Z., Dincer, E., & DEĞER, M. S. (2017). Molecular detection of Nosema spp. and black queen-cell virus in honeybees in Van Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(2), 221-227.
- Olivier, V., Massou, I., Celle, O., Blanchard, P., Schurr, F., Ribière, M., & Gauthier, M. (2008). In situ hybridization assays for localization of the chronic bee paralysis virus in the honey bee (*Apis mellifera*) brain. *Journal of virological methods*, 153(2), 232-237.
- Özkırım, A., & Schiesser, A. (2013). Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Turkish bees. *Journal of Apicultural Research*, 52(2), 56-57.
- Özüüçli, M., & Aydın, L. (2018). Türkiye bal arılarında ciddi tehlike; nosemosis. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37(2), 151-157.
- Palacios, G. U. S. T. A. V. O., Hui, J. E. F. F. E. R. Y., Quan, P. L., Kalkstein, A. B. B. Y., Honkavuori, K. S., Bussetti, A. V., ... & Lipkin, W. I. (2008). Genetic analysis of Israel acute paralysis virus: distinct clusters are circulating in the United States. *Journal of Virology*, 82(13), 6209-6217.
- Ratnieks, F. L., & Carreck, N. L. (2010). Clarity on honey bee collapse?. *Science*, 327(5962), 152-153.
- Reddy, K. E., Yoo, M. S., Kim, Y. H., Kim, N. H., Ramya, M., Jung, H. N., ... & Kang, S. W. (2016). Homology differences between complete Sacbrood virus genomes from infected *Apis mellifera* and *Apis cerana* honeybees in Korea. *Virus Genes*, 52, 281-289.
- Remnant, E. J., Shi, M., Buchmann, G., Blacquièrre, T., Holmes, E. C., Beekman, M., & Ashe, A. (2017). A diverse range of novel RNA viruses in geographically distinct honey bee populations. *Journal of virology*, 91(16), e00158-17.
- Reynaldi, F. J., Sguazza, G. H., Pecoraro, M. R., Tizzano, M. A., & Galosi, C. M. (2010). First report of viral infections that affect argentine honeybees. *Environmental Microbiology Reports*, 2(6), 749-751.
- Reynaldi, F. J., Sguazza, G. H., Tizzano, M. A., Fuentealba, N., Galosi, C. M., & Pecoraro, M. R. (2011). First report of Israeli acute paralysis virus in asymptomatic hives of Argentina. *Rev Argent Microbiol*, 43(2), 84-6.
- Ribière, M., Lallemand, P., Iscache, A. L., Schurr, F., Celle, O., Blanchard, P., ... & Faucon, J. P. (2007). Spread of infectious chronic bee paralysis virus by honeybee (*Apis mellifera* L.) feces. *Applied and environmental microbiology*, 73(23), 7711-7716.
- Ribière, M., Olivier, V., & Blanchard, P. (2010). Chronic bee paralysis: a disease and a virus like no other?. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S120-S131.
- Rodríguez, M., Vargas, M., Gerding, M., Navarro, H., & Antúnez, K. (2012). Viral infection and Nosema ceranae in honey bees (*Apis mellifera*) in Chile. *Journal of Apicultural Research*, 51(3), 285-287.
- Rüstemoğlu M, 2015. Hakkari İli Bal Arılarında (*Apis Mellifera* L.) Görülen Önemli Arı Viruslarının RT-PCR Yöntemi İle Araştırılması Ve Moleküler Karakterizasyonlarının Yapılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmış). (Doktora tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Rüstemoğlu, M., & Siphahioğlu, H. M. (2016). Occurrence and molecular characterization of acute bee paralysis virus (ABPV) in honeybee (*Apis mellifera*) colonies in Hakkari province. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*. 26(2): 174-182.
- Sguazza, G. H., Reynaldi, F. J., Galosi, C. M., & Pecoraro, M. R. (2013). Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR. *Journal of Virological Methods*, 194(1-2), 102-106.
- Shen M, Yang X, Cox-Foster D, Cui L, 2005a. The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342(1): 141-149.
- Shen, M., Cui, L., Ostiguy, N., & Cox-Foster, D. (2005)(b). Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite. *Journal of General Virology*, 86(8), 2281-2289.
- Shen, M., Yang, X., Cox-Foster, D., & Cui, L. (2005)(a). The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342(1), 141-149.
- Simon-Delso, N., San Martin, G., Bruneau, E., Minsart, L. A., Mouret, C., & Hautier, L. (2014). Honeybee colony disorder in crop areas: the role of pesticides and viruses. *PloS one*, 9(7), e103073.
- Spurny, R., Přidal, A., Pálková, L., Kiem, H. K. T., de Miranda, J. R., & Plevka, P. (2017). Virion structure of black queen cell virus, a common honeybee pathogen. *Journal of virology*, 91(6), e02100-16.

- Stoltz, D., Shen, X. R., Boggis, C., & Sisson, G. (1995). Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *Journal of apicultural research*, 34(3), 153-160.
- Şimşek, H., Dilgin, N., & Gültekin, İ. (2001). Elazığ ve yöresinde bulunan arı işletmelerinde nosematosisin yaygınlığı. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(1-2), 49-52.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Jouve, S., Canabady-Rochelle, L., Dainat, B., Cousserans, F., ... & Bergoin, M. (2004)(a). Polymerase Chain Reaction detection of deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35(4), 431-439.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., & Bergoin, M. (2004)(b). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7185-7191.
- Tozkar, C. Ö., Kence, M., Kence, A., Huang, Q., & Evans, J. D. (2015). Metatranscriptomic analyses of honey bee colonies. *Frontiers in genetics*, 6, 100.
- Tuncer, P., & Yeşilbağ, K. (2009). Bal arılarının viral hastalıkları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9(4), 149-161.
- Usta, A., & Yıldırım, Y. (2020). Bal Arılarının Viral Hastalıkları. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 35(1), 57-66.
- Usta, A., & Yıldırım, Y. (2022). Investigation of deformed wing virus, black queen cell virus and acute bee paralysis virus infections by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique in honey bees. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.
- Uygur, Ş. Ö., & Girişgin, A. O. (2008). Bal arısı hastalık ve zararlıları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 8(4), 130-142.
- Valles, S. M., Chen, Y., Firth, A. E., Guérin, D. M. A., Hashimoto, Y., Herrero, S., ... & Consortium, I. R. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Iflaviridae. *The Journal of general virology*, 98(4), 527.
- Welch, A., Drummond, F., Tewari, S., Averill, A., & Burand, J. P. (2009). Presence and prevalence of viruses in local and migratory honeybees (*Apis mellifera*) in Massachusetts. *Applied and environmental microbiology*, 75(24), 7862-7865.
- Williams, G. R., Tarpy, D. R., Chauzat, M. P., Cox-Foster, D. L., Delaplane, K. S., Neumann, P., ... & Shutler, D. (2010). Colony collapse disorder in context. *Bioessays*, 32(10), 845.
- Yan, X., Liu, X. J., Chen, J. H., Zhang, Y., & Han, R. C. (2009). First detection of Israel acute paralysis virus (IAPV) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in China. *Sociobiology*, 54(1), 95.
- Yıldırım, Y., Çağırğan, A. A., & Usta, A. (2020). Phylogenetic analysis of sacbrood virus structural polyprotein and non-structural RNA dependent RNA polymerase gene: Differences in Turkish strains. *Journal of invertebrate pathology*, 176, 107459.