

Şırnak İlinin Uludere Yöresinde Görülen Arı Ölümünün Real Time RT-PCR İle Araştırılması

Metin GÜRÇAY^{1*}, Mehmer Ali KUTLU², Ahmet SAİT³, Mustafa TÜRKDOĞAN³, Merve DEMİR³

¹Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Viroloji Anabilim Dalı, Bingöl.

²Bingöl Üniversitesi, Gıda Tarım Hayvancılık Meslek Yüksek Okulu, Arıcılık Bölümü, Bingöl.

³Tarım ve Orman Bakanlığı, İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, Viroloji Laboratuvarı, İstanbul.

*Sorumlu Yazar: mgurcay@bingol.edu.tr

Geliş Tarihi: 07.09.2023 Düzeltme Geliş Tarihi: 26.09.2023 Kabul Tarihi: 21.11.2023

ÖZ

Günümüzde 25 adet virus türünün bal arılarını (*Apis mellifera*) enfekte ettiği bilinmektedir. Bu virusların bal arılarına değişik şekillerde bulaşması sonucunda bir kısmı yüksek patojenite gösterirken önemli bir bölümünün kolonilerde hastalık oluşturmada bulunmuş, ancak bazı özel şartlar altında hastalık bulguları ve kayıplara neden olduğu görülmektedir. Bu nedenle bal arısı viruslarının patogeneğinde virus, konakçı (bal arısının yaşam evresi) ve çevre faktörlerinin beraber ele alınması gerekir. Bu çalışmada Şırnak ili Uludere ilçesinde yetiştirilen, yoğun *Varroa destructor* infestasyonu olan bal arı kolonilerinde, arı ölümlerinin görülmesi üzerine Yemişli, Ortaköy, Andaç ve Dapdibi bölgelerinden ölü ergin arı numuneleri toplandı. Bu ergin bal arısı numuneleri alındıkları bölgeler esas alınarak oluşturulan bal arısı havuzlarından elde edilen örneklerden RNA ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen RNA örneklerinde Real-Time RT-PCR ile Akut Arı Paraliz Virus (AAPV), Kronik Arı Paraliz Virus (KAPV) ve Deforme Kanat Virus (DKV) spesifik RNA varlıkları araştırıldı. Araştırma sonucunda Şırnak ili Uludere ilçesi Yemişli, Ortaköy, Andaç ve Dapdibi bölgelerinden sağlanan ergin, ölü bal arısı numunelerinden AAPV ve KAPV RNA varlığı tespit edilmesine rağmen DKV RNA varlığı tespit edilememiştir. Bu sonuçlara göre, bal arılarında çevresel etkilerin tetiklenmesi, *Varroa destructor* infestasyonu ile AAPV ve KAPV enfeksiyonları olabileceği, kolonilerde birkaç virusun beraber enfeksiyon oluşturması ve bu etkilerin yoğunluğunun artması, beraber etkilemesi ile kolonilerde arı ölümlerinin oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Şırnak/Uludere, bal arısı ölümleri, bal arısı virusları

Bee Deaths In The Uludere Region Of Şırnak Province Investigation With Real Time RT PCR

ABSTRACT

Today, 25 virus species are known to infect honey bees (*Apis mellifera*). As a result of the transmission of these viruses to honey bees in different ways, some of them show high pathogenicity, while a significant part of them are found in colonies without causing disease, but under some special conditions, they cause disease symptoms and losses. Therefore, in the pathogenesis of honey bee viruses, virus, host (life stage of the honey bee) and environmental factors must be considered together. In this study, dead adult bee samples were collected from Yemişli, Ortaköy, Andaç and Dapdibi regions after bee deaths were observed in honey bee colonies with intense *Varroa destructor* infestation raised in Uludere district of Şırnak province. RNA was extracted from samples obtained from honey bee pools created based on the regions where these adult honey bee samples were taken. The presence of Acute Bee Paralysis Virus (AAPV), Chronic Bee Paralysis Virus (KAPV) and Deformed Wing Virus (DKV) specific RNA presence was investigated in the RNA samples obtained by Real-Time RT-PCR. As a result of the research, although the presence of AAPV and KAPV RNA was detected in the

adult, dead honey bee samples obtained from Yemişli, Ortaköy, Andaç and Dapdibi regions of Uludere district of Şırnak province, the presence of DKV RNA could not be detected. According to these results, it was concluded that AAPV and KAPV infections may occur in honey bees due to environmental effects, *Varroa destructor* infestation, and the co-infection of several viruses in colonies and the increase in the intensity of these effects, affecting them together, may cause bee deaths in colonies.

Key words: Şırnak/Uludere, honey bee deaths, honey bee viruses

GİRİŞ

Bal arısı yetiştirme, bitkisel üretime olan katkısı yanında, bal ve diğer (arı sütü, polen, propolis, arı zehiri ve apiair) arıcılık ürünleriyle insan sağlığına şifa sağlayan ürünlerin üretilmesini sağlamaktadır. Ülkesel bazda Türkiye arı varlığı ve üretilen bal miktarı olarak birçok ülkeyi geride bırakarak Hindistan ve Çin'den sonra 8,179.085 kovan varlığı ile dünya sıralamasında üçüncü ülke konumundadır (Anonim 2021; Kutlu ve ark., 2022). Bu büyük potansiyele rağmen birim kovandan elde edilen bal miktarı, ürün çeşitliliği ve dünya pazarında istenilen başarıyı sağlayamamaktadır. Türkiye'de kovan sayısı ve bal üretimi her geçen yıl artmakta ancak gerek koloni başına verimde, gerekse bal dışı ürünlerin üretiminde dünya ticaretine konu olacak bir üretime sahip olunmamaktadır. Bunun nedenleri arasında bal arısı hastalık ve zararlıları başta olmak üzere, yetiştiricilikte yapılan hata ve sanitasyon kurallarına uymama gibi birçok faktör bulunmaktadır (Kutlu ve ark., 2022). Bu zararlılardan en önemlisi, hayat döngüsünde önemli yeri olan *Varroa destructor*' parazitin bal arılarının larva ve olgun formlarının vücuduna yapışması ve yağ dokularını emmesi sonucu bal arılarına mekanik ve biyolojik olarak etkenleri aktarması ile yapıldığı zarardır. Bu zarar bal arısı ve larvalarda yağ dokunun azalması hormon, bağışıklık, enerji regülasyonu ve pestisit detoksikasyonu sistemlerini olumsuz yönde etkiler. Bu olumsuz etkilerin yanında en önemlisi, arı ve larvalardan beslenmesi esnasında virus taşıyan arılardan aldıkları virusları vücutlarında muhafaza ederek, virus taşımayan diğer arı ve larvalara taşımada biyolojik vektör görevi yapmasıdır. Biyolojik bulaşma yanında bal arılarında virus bulaşması direkt olarak arıların birbiri ile temas etmesi veya indirekt olarak virusla bulaşık yetiştirme malzemeleri ile de olmaktadır (Ramsey ve ark., 2019 B; Yeşilbağ, 2021; Gürçay, 2022). Bal arılarında, *Varroa destructor*'un biyolojik vektörü olduğu birçok virus bulunmaktadır (Gürçay, 2022). *Varroa destructor* akarı, Akut arı felci virusu ve Deforme kanat virusunun yayılmasında biyolojik vektör olarak rol oynadığı bilinmektedir. AAPV ve KAPV ile enfekte felçli arılar virusu dışı yolu ile dışarı atarlar ve bu şekilde etrafi kontamine ederler. Kronik arı felci virusunun bal arılarına bulaşması kolonilerdeki bal arılarının aşırı yoğunluğa bağlı temas artışına bağlı olarak direkt temas ve gıda maddeleri ile beslenme yoluyla gerçekleşmektedir (Yeşilbağ 2021, Gürçay 2022,). Viruslarla enfekte olan bal arılarında arının almış olduğu virus yoğunluğuna bağlı olarak bağışıklık, hormon ve enerji regülasyonunun bozulması ile enfeksiyon yüksek patojenite göstermektedir. Bu bal arısı metabolizmasındaki bozuklukların şiddetine göre bal arısı ölümleri görülmektedir. AAPV ve KAPV enfeksiyonlarının önemli bir bölümünde virus yoğunluğunun az olmasına bağlı olarak kolonilerde hastalık oluşturmadan da enfeksiyonlar oluşturmaktadır, bu enfeksiyon şeklinde, koloni ve arılar üzerine etki eden bazı özel durumlarda (tekrar *Varroa destructor* enfestasyonu, beslenme stresi, soğuk-sıcak stresi gibi) olumsuz şartların tekrarı ile bal arısı kayıplara neden olduğu görülmektedir. Bu nedenle, bal arılarında görülen viral enfeksiyonlara bağlı arı ölümlerini değerlendirmede virus, konakçı ve çevresel faktörlerin beraber ele alınması gerekmektedir (Ramsey ve ark., 2019 A;Yeşilbağ, 2021; Gürçay, 2022).

Bu çalışmada, Şırnak ili Uludere bölgesinde bal arısı kolonilerinde görülen bal arısı ölümlerinin nedenlerini araştırmada Akut arı felci virusu, Deforme kanat virusu ve Kronik arı felci virusunun rolleri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bal arılarının toplanması

Çalışma materyali, Şırnak ili Uludere ilçesi Yemişli, Ortaköy, Andaç ve Dapdibi bölgelerinde yetiştirilen ve bal arısı ölümlerinin görüldüğü kolonilerinden toplanan ölü arı örnekleridir.

Her merkeze ait arı numunelerinden 15 âdeti bir havuzda toplandı. Arı örnekleri havanda PBS ile ezildi. Ezilen örnekler, 9 ml Eagle (EMEM) (Sigma, U.K.) ile homojenize edildi. Daha sonra 30 dakika 3500 rpm'de ve 4°C'de santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen süpernatant analiz edilene kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

Ekstraksiyon

Çalışmada RNA ekstraksiyonu için ticari kit (MagNA Pure LC Total Nükleik Asit İzolasyon Kiti, Almanya) kullanıldı. RNA ekstraksiyonu için elde edilen süpernatantlardan 200 uL alındı. Ekstraksiyon işlemi üretici firmanın belirtmiş olduğu prosedüre göre gerçekleştirildi.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan spesifik Primer ve Prob bilgi ve referansları.

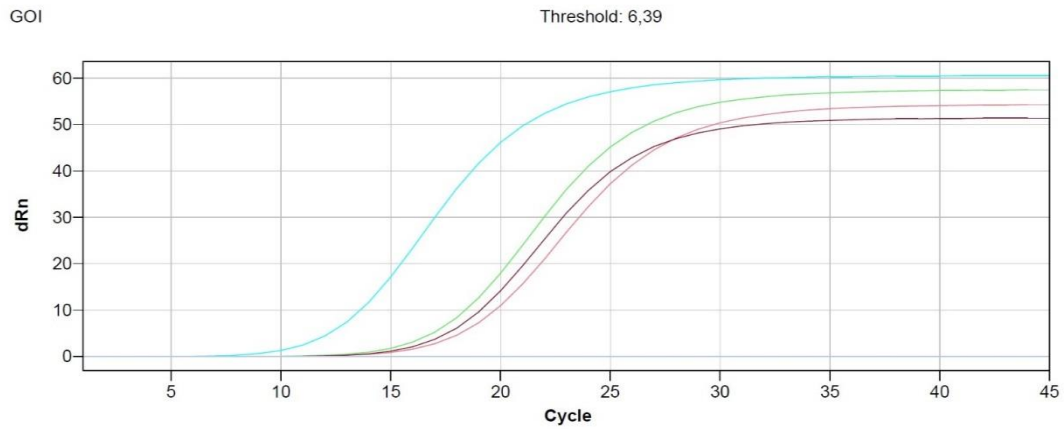
Virus	Forward Primer	Reverse Primer	Probe	Referans
AAPV	CATATTGGCGAGCCACTATG	CTACCAGGTTCAAAGAAAATTT C	(6-Fam) ATAGTTAAAACAGCTTTTCACACTG G (Tamra)	(Schurr ve ark., 2019)
KAPV	CGCAAGTACGCCTTGATAAGAA C	ACTACTAGAACTCGTCGCTTC G	(6-Fam) TCAAGAACGAGACCACCGCCAAGT TC (Tamra)	(Blanchard ve ark., 2012)
DKV	GCGGCTAAGATTGTAAATTG	GTGACTAGCATAACCATGATT A	(6-Fam) CCTTGACCAGTAGACACAGCATC (Tamra)	(Schurr ve ark., 2019)

Real Time RT-PCR

Bu çalışmanın amplifikasyon aşmasında RealTime ready RNA Virus Master kiti kullanıldı (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany). AAPV, KAPV ve DKV viral genom varlığının tespiti için TaqMan® tek aşamalı testi uygulandı. Uygulama Schurr ve arkadaşlarının (2019) belirtmiş olduğu prosedür uygulandı. AAPV, KAPV ve DKV pozitif kontrolleri için Sguazza, (2013)'nin bildirmiş olduğu primerler (Çizelge 1) kullanıldı. Örnekler Real Time RT-PCR cihazına (Roche Light Cycler 1.5 Kapiller Real-Time PCR, Almanya) yerleştirildi ve uygun programlara tabi tutuldu ve süre sonunda sonuçlar elde edildi (Castillo ve ark., 2017; Schur ve ark., 2019).

BULGULAR

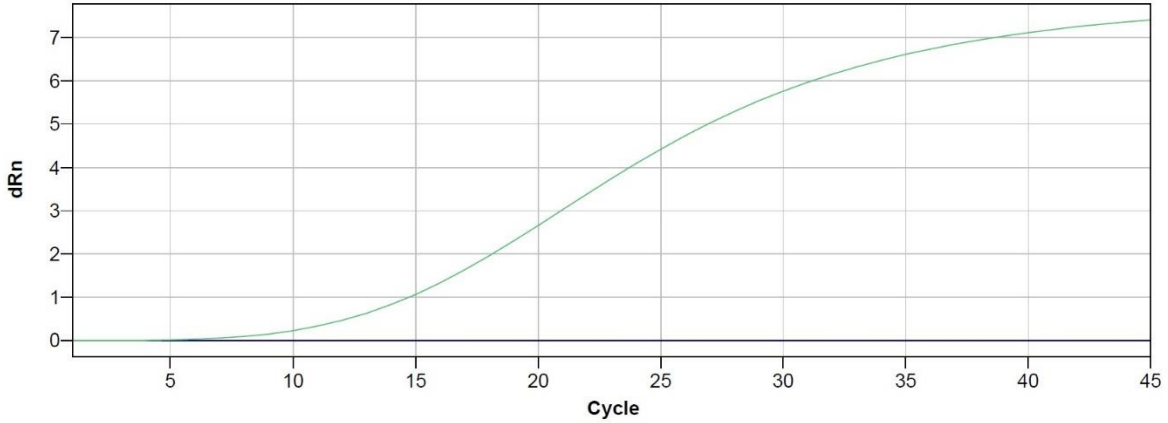
Şırnak/Uludere Yemişli merkezinden iki farklı arılık, 5 kovandan bal arısı örnekleri ve Ortaköy merkezinden iki farklı arılık 4 kovandan sağlanan arı örneklerinden elde edilen RNA' larda AAPV ve KAPV spesifik RNA varlığı tespit edilmesine rağmen spesifik DKV, RNA varlığı tespit edilmedi. Andaç merkezindeki bir arılıkta 3 kovandan alınan arı örneklerinde AAPV spesifik RNA'sı tespit edilmesine rağmen, KAPV ve DKV spesifik RNA'sı tespit edilmedi. Dapdibi merkezindeki bir arılık ve 6 kovandan alınan arı örneklerinde KAPV spesifik RNA varlığı ortaya konulmasına rağmen, AAPV ve DKV spesifik virus RNA'sı tespit edilmedi (Çizelge 2, Şekil 1, Şekil 2).



Şekil 1: AAPV ve KAPV RNA varlığının Real Time RT-PCR ile ortaya konulduğu eğriler (Örnekler Yeşil, Siyah, Pembe) Pozitif Kontrol: Mavi, Negatif Kontrol: Gri).

GOI

Threshold: 0,41



Şekil 2: DKV RNA varlığının Real Time RT-PCR test ile ortaya konulamadığı eğriler (Örnekler Siyah kalın karma, Pozitif Kontrol: Yeşil, Negatif Kontrol: Siyah kalın karma).

Çizelge 2: Real Time RT-PCR sonuçları.

Numune sağlanan Merkez	KAPV	AAPV	DKV
Yemişli (2 farklı arılık 5 Kovan)	Pozitif	Pozitif	Negatif
Ortaköy (2 farklı arılık 4 Kovan)	Pozitif	Pozitif	Negatif
Andaç (Bir arılık 3 Kovan)	Negatif	Pozitif	Negatif
Dapdibi (Bir arılık 6 Kovan)	Pozitif	Negatif	Negatif

TARTIŞMA

Arı hastalık ve zararlıları koloni bal ve diğer arıcılık ürünlerinin verimleri üzerinde büyük oranda etkili olmaktadır. Arı hastalık ve zararlıları koloni performansını olumsuz etkilediği gibi arıların yaşam süresinin azalmasına ve koloni kayıplarına neden olmaktadır. Kolonilerin bal arısı virusları ile enfekte olması birçok dünya ülkesi ve Türkiye’de yaygın olarak görülmektedir (Sguazza, 2013, Schur 2019, Rüstemoğlu 2019, Güller ve ark., 2021; Güller ve Kurt 2021, Kutlu ve ark., 2022). Bal arılarında enfeksiyona neden olan virüslerin bal arısı ve kolonileri üzerindeki klinik belirtiler oldukça karakteristiktir. Örneğin AAPV ve KAPV hücrelere tutunabilmesi ve hücre içerisine girmesi için gerekli olan reseptörler arı sinir sistemi ve beyin dokularında bulunan sinir hücreleri ile gerçekleşmektedir (Yeşilbağ, 2021). Beyin dokularının virüsle enfekte olması sonucu; sinir ve beyin hücrelerindeki bıraktığı patolojik etkilere bağlı olarak bireyde uyum bozukluğu, yön bulma güçlüğü, hızlı yaşlanma, azalmış duyuşal yetenek ve nektar, polen temininde güçlük gibi davranış bozukluğu yanı sıra titreme, sürünme ve uçamama gibi gözle görülen belirtiler oluşur (Usta ve Yıldırım 2022). DKV, bal arısının larva döneminde arı biyolojik gelişimi döneminde kanat oluşumu hücrelerini enfekte etmesi ile bu hücrelerde oluşturduğu hücre yıkımı sonucu kanatların sağlıklı gelişememesine neden olur. Bu gibi bireyler uçuş yeteneğini sağlıklı olarak gerçekleştiremeyeceğinden kolonide istenmez ve koloni bireyleri tarafından beslenmeyerek dışarı atılır (Güller ve Kurt 2021; Kutlu ve ark., 2022). Bireysel ve koloni düzeyindeki virus patogenezi, virus miktarı ile ilişkilidir. Bal arısı viruslarının çoğu, kovan ortamında gıda depoları, mum vb. zarar vermeden önemsiz seviyelerde her yerde bulunur. Kalıcı, gizli bir virus enfeksiyonunun açık, ölümcül bir salgına dönüşmesi için genellikle dış etkenler (aşırı kapalı kalma, stres, soğuk, nem, açlık, zehirlenme, diğer patojenler/parazitler vb.) gereklidir (Genersch ve Aubert, 2010). *Varroa destructor* infestasyonunun yoğunluğuna paralel olarak, bal arısı virusu titresinin artması öldürücü olmayan düzeyde (<LD50), nörotoksik böcek ilacı moleküllerinin arıların bilişsel yeteneklerini etkilediği, performanslarını bozduğu ve sonuçta kolonilerin yaşayabilirliğini etkilemesi, bal arılarında virusların virulans artışını teşvik eder, bağışıklıklarını baskılar, çevresel strese maruz kaldıktan sonra onları savunmasız hale getirir (Sánchez-Bayo ve ark., 2016). Bal arılarındaki DKV ve AAPV titrelerinin yüksek olmasına bağlı olarak, yoğunlukla orantılı olarak bal arılarındaki

koloni dayanma gücü kırılır ve melanin üretimi, *Varroa destructor* yıkıcı akarların yayılmasına yol açar. Bu sonuçlar bir araya getirildiğinde, viruslar ve akarlar arasındaki sinerjiye immünsüpresyonun değil, akar besleme aktivitesinin kendisinin katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Yang ve Cox-Foster 2005; Gisder ve Genersch 2017; López-Urbe ve ark., 2019; Molineri ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda, *Varroa destructor* invazyonu yoğunluğu paralel olarak bal arısı kolonilerinde bal arılarında klinikman felç belirtisi ve ölümlerin artması görülmektedir. Bu tür kolonilerden sağlanan ölü ergin arı numunelerinde AAPV ve KAPV varlığı tespit edildi (Molineri ve ark., 2017; López-Urbe vd, 2019; Usta ve Yıldırım, 2022). Bazı bal arısı numunelerinde iki veya üç bal arısı virusun miks enfeksiyona neden olduğu görüldü (Gisder ve Genersch 2017; Usta ve Yıldırım 2022). AAPV enfeksiyonunun bulaşmasında *Varroa destructor* invazyonunun önemli olması ancak KAPV enfeksiyonunun bulaşmasında çok etkin olmamasına rağmen bu enfeksiyonun ölüm şekillenmiş kolonilerde yaygın görülmesi *Varroa destructor* invazyonunun AAPV enfeksiyonuna neden olması yanında *Varroa destructor* akarının arı yağ dokusu ile beslenmesine bağlı bal arısı engellenmesinin neden olması ile ilgilidir. *Varroa destructor* (*Varroa mite*), bal arıları *Apis mellifera*'ya saldıran ve bunlarla beslenen bir dış parazit akardır. *Varroa* akarı sadece bal arısı kolonisinde beslenebilir ve üreyebilir. Arının vücuduna yapışır ve yağ gövdelerini emerek arıyı zayıflatır (Ramsey ve ark., 2019 A). Yetişkin akarlar, hem yetişkin arıların hem de arı larvalarının yağ gövdesini beslenme için emer. Yağlı vücut, hormon ve enerji regülasyonu, bağışıklık ve pestisit detoksifikasyon gibi birçok vücut fonksiyonu için çok önemli olduğundan, arı ciddi şekilde zayıflamış bir durumda kalır. *Varroa destructor* bal arısı kolonilerinde bal arılarının yağ gövdelerini emmesi ile arıyı zayıflatması, arı üzerinde stres etkisi yaparak gizli enfeksiyonları açık enfeksiyon haline gelmesini sağlar. *Varroa* akarı, beslenmesinin bıraktığı açık yaralar, hastalık ve virus enfeksiyonları için açık alanlar haline gelir. *Varroa* akarı, arıcılık endüstrisi üzerinde en belirgin ekonomik etkiye sahip olan parazittir. *Varroa*, dünya çapında daha yüksek arı kayıplarına katkıda bulunan çoklu stres faktörlerinden biri olarak kabul edilir (Goulson et al. 2015; Gisder ve Genersch 2017;; Molineri ve ark., 2017; Ramsey ve ark., 2019 A; López-Urbe ve ark., 2019; Yeşilbağ, 2021; Gürçay ve Kutlu 2022).

SONUÇ ve ÖNERİLER


Bal arısı ve kolonilerinde AAPV ve KAPV varlığı Yemişli ve Ortaköy merkezlerinden sağlanan numunelerde tespit edilmesi arı virus enfeksiyonlarında miks enfeksiyonların varlığını ispat etmektedir. Bal arısı viruslarının arı kolonilerindeki etkiler üzerine yapılan çalışmalarda koloni kaybı veya kolonilerdeki ani arı ölümlerinde enfeksiyon bir bal arısı virusunun neden olmadığı birkaç arı virusunun beraber miks enfeksiyonlar şeklinde etkilediği tespit edilmiştir (Usta ve Yıldırım). Klinik belirtileri ve ölümlerin şiddetini, KAPV, AAPV gibi arı virusları enfeksiyonu ile enfeksiyonu oluşturan virusun titresini yanında, *Varroa destructor* ve *Nosema* gibi parazitlerle aşırı parazitik istila olabileceği yönünde değerlendirilmektedir (Cornman ve ark., 2012; Van Engelsdorp ve ark., 2009; Zheng ve ark., 2015; Rüstemoğlu, 2019; Kalaycı ve ark. 2020; Yeşilbağ, 2021; Gürçay ve Kutlu 2022). Bölgede yaşanan kış kayıpları ve erken ilkbaharda meydana gelen koloni kayıplarının, kolonilerin kışın döneminde yeterli besin maddesini alamamasına bağlı olarak zayıf ve savunmasız kalması, koloni kayıplarının bir başka nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmada sağlanan *Varroa destructor* invazyonu ile birlikte AAPV ve KAPV virus varlığının kovanlarda belirgin belirtiler göstermeden miks enfeksiyon oluşturmaları, patojen titresini, beslenme kalitesi gibi stres faktörlerinin etkisinin tek sebebe bağlı olmaksızın birçok faktör etkisi ile arı ölümleri gerçekleşmektedir. Bal arısı kayıplarına yol açabilecek birçok faktör vardır. Özellikle viruslar kolonilerin azalmasında önemli bir rol oynamaktadır (Kalaycı, 2020).

Teşekkür: Saha çalışmasını yürüten M. Ali Kutlu'ya teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.


Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

YAZAR ORCID NUMARALARI

Metin GÜRÇAY  <http://orcid.org/0000-0001-9160-7454>

Mehmet Ali Kutlu  <http://orcid.org/0000-0003-0862-9690>

Ahmet SAİT  <http://orcid.org/0000-0001-7658-8793>

Mustafa TÜRKDOĞAN  <http://orcid.org/0000-0001-7726-351X>

Merve DEMİR  <http://orcid.org/0000-0001-7501-1570>

KAYNAKLAR

Anonim, 2021. FAO Statistical Yearbook 2021.

Blanchard, P. Regnault, J. Schurr, F. Dubois, E ve Ribiere, M. 2012. Intra-laboratory validation of chronic bee paralysis virus quantitation using an accredited standardised real-time quantitative RT-PCR method. *J. Virol. Methods* 180, 26–31.,

Castillo, C. de Graaf, DC. Forsgren, E. Granato, A. Heinikainen, S. Jurovcikova, J. Kryger, P. Manson, C. Menard, M.F. Perennes, S. Schafer, MO. Ibanez, ESM. Silva, J. Gajger, IT. Tomkies, V. Toplak, I. Viry, A. Zdanska, D ve Dubois, E. 2017. Trueness and precision of the real-time RT-PCR method for quantifying the chronic bee paralysis virus genome in bee homogenates evaluated by a comparative interlaboratory study. *J. Virol. Methods* 248, 217–225.

Cornman, R. S. Tarpy, D. R. Chen, Y. Jeffreys, L. Lopez, D. Pettis, J. S. ... ve Evans, J. D. 2012. Pathogen webs in collapsing honey bee colonies.

Genersch E, Aubert M. 2010. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Veterinary research*. 41;6; 54.

Gisder S ve Genersch E. 2017. Viruses of commercialized insect pollinators. *J. Invertebr. Pathol.* 147; 51–59.

Goulson, D. Nicholls, E. Botias, C. Rotheray, EL. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites pesticides and lack of flowers. *Science*: 347 (6229) 1255957.

Güller, A. Usta, M, Çakar, G. ve Kurt, Z. 2021. Molecular characterization of Deformed wing viruses identified in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies in Erzincan province of Turkey. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 186-192.

Güller, A. ve Kurt, Z. 2021. Occurrence and Molecular Phylogeny of Economically Relevant Viruses Infecting Honey Bees (L.) of Bingöl Province, Turkey. *Journal of apicultural science*, 66(1), 85-96.

Gürçay, M. ve Kutlu, M.A. 2022. Important Viruses Of Honey Bees. *International Journal of Food, Agriculture and Animal Sciences*, 2(2): 29-41.

Kalaycı, G. Cagırgan, A. A. Kaplan, M. Pekmez, K. Beyazit, A. Ozkan, B. ... ve Arslan, F. 2020. The role of viral and parasitic pathogens affected by colony losses in Turkish apiaries. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(5).

Kutlu, MA. Uçar, R. Özdemir, S. Ekmekçi, M. Mokhtarzadeh, S. Kökten, K. ve Çağan E. 2022. Determination of Some Yield Characteristics of Hungarian Vetch Varieties and their Evaluation as Bee Pasture. *Bee Studies* 14(1), 1-7.

López-Urbe MM ve Simone-Finstrom M. 2019. Honey bee research in the US: Current state and solutions to beekeeping problems. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Molineri, A. Giacobino, A. Pacini, A. Cagnolo, NB. Fondevila, N. Ferrufino, C. et al., 2017. Risk factors for the presence of Deformed wing virus and Acute bee paralysis virus under temperate and subtropical climate in Argentinian bee colonies. *Preventive veterinary medicine*.140; 106–115.

Ramsey, Samuel D. Ochoa, R. Bauchan, G. Gulbranson, C. Mowery, JD. Cohen, A. Lim, D. Joklik, J. Cicero, JM. Ellis, JD. Hawthorne, D. vanEngelsdorp, D. 2019. A "Varroa destructor feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 116 (5): 1792–1801.

Ramsey, Samuel D. Ochoa, R. Bauchan, Gary. Gulbranson, C. Mowery, Joseph D. Cohen, A. Lim, D. Joklik, J. Cicero, Joseph, M. Ellis, James D. Hawthorne, D. vanEngelsdorp, D. 2019. B "Varroa destructor feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 116 (5): 1792–1801.

Rüstemoğlu, M. ve Sipahioğlu, HM. 2019. Occurrence and prevalence of six honey bee viruses in Hakkari (Turkey) and their genomic divergence. *Munis Entomology & Zoology*, 14(2), 574-583.

Sánchez-Bayo, F. Goulson, D. Pennacchio, F. Nazzi, F. Goka, K. ve Desneux N.2016. Are bee diseases linked to pesticides?—A brief review. *Environ*. 2016; 89, 7–10.

- Schurr, F. Cougoule, N. Rivière, M. P. Ribière-Chabert, M. Achour, H. Ádám, D., ... ve Dubois, E. 2017. Trueness and precision of the real-time RT-PCR method for quantifying the chronic bee paralysis virus genome in bee homogenates evaluated by a comparative inter-laboratory study. *Journal of virological methods*, 248, 217-225.
- Schurr, F. Tison, A. Militano, L. Cheviron, N. Sircoulomb, F. Rivière, M. P. ... ve Dubois, E. 2019. Validation of quantitative real-time RT-PCR assays for the detection of six honeybee viruses. *Journal of virological methods*, 270, 70-78.
- Sguazza, GH., Reynaldi, FJ., Galosi, CM., ve Pecoraro, M. R. 2013. Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR. *Journal of Virological Methods*, 194(1-2), 102-106.
- Usta, A., ve Yıldırım, Y. 2022. Investigation of deformed wing virus, black queen cell virus, and acute bee paralysis virus infections in honey bees using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) method.
- Van Engelsdorp, D. Evans, JD. Saegerman, C. Mullin, C. Haubruge, E. Nguyen, BK. Frazier, M. Frazier, J. Cox-Foster, D. ve Chen, Y. Underwood R, Tarpy DR, Pettis JS: Colony collapse disorder: A descriptive study. *PLoS ONE*, 4:e6481, 2009. DOI: 10.1371/journal.pone.0006481
- Yang, X., ve Cox-Foster, DL. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(21), 7470-7475.
- Yeşilbağ, K., 2021. Veteriner Viroloji. Hayvanların Viral hastalıkları. *Medipres Yayınevi*. Malatya.
- Zheng, H. Q. Gong, H. R. Huang, S K. Sohr, A. Hu, FL., ve Chen, Y P. 2015. Evidence of the synergistic interaction of honey bee pathogens *Nosema ceranae* and deformed wing virus. *Veterinary microbiology*, 177(1-2), 1-6