



**DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DE *Nosema spp.*
İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR**

Mahmut Hulisi GÜL

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı
Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU
2017
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DE *Nosema spp.* İLE İLGİLİ YAPILAN
ÇALIŞMALAR

Mahmut Hulisi GÜL

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DE *Nosema spp.* İLE İLGİLİ YAPILAN
ÇALIŞMALAR**

Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU danışmanlığında, Mahmut Hulisi GÜL tarafından hazırlanan bu çalışma 28/04/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı – Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ferat GENÇ

İmza :

Üye: Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Yaşar ERDOĞAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 05.05.2017 tarih ve 18 / 17 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DE *Nosema spp.* İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR

Mahmut Hulisi GÜL

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU

Nosema hastalığı dünya genelinde büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Nosema hastalığı nedeniyle her yıl fazla sayıda arıcı kolonilerini kaybetmekte ve normalinden çok daha az ürün elde etmektedir. Bunların yanında kolonilerini iyileştirme çabası içine giren birçok arıcı değişik yöntemlere başvurarak kolonilerinden hastalıkları uzaklaştırmaya çalışmaktadır. Arıcıların ekonomisi nosema hastalığı nedeniyle sarsılmakta arı ürünlerinden istedikleri kazancı elde edememektedirler. Dünya genelinde nosema hastalığı üzerine yapılan birçok çalışma mevcuttur. Mücadelesinde ve korunmasında fumagilin kullanılmakla beraber yeni mücadele yöntemleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Fumagillin kullanımı birçok ülkede yasaklanmıştır. Uzun bir süre dünyanın fumagilline yoğunlaşması nedeniyle sporlar direnç kazanmıştır. Bu sebeplerden dolayı yeni mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Birçok araştırmada ise yeni mücadele teknikleri araştırılmaktadır. Türkiye'de nosema hastalığı üzerine yapılan çalışmalar az sayıda olsa da yeni ve kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Dünya'da ve Türkiye'de yapılan bu çalışmaların çok farklı yönleri olmasına rağmen amaçları aynıdır. Esas amaçlar nosema enfeksiyonun kolonilerden uzak tutulması, enfekte olan kolonilerin en az hasarla kurtarılmasıdır.

2017, 38 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Nosema spp.*

ABSTRACT

MS Thesis

STUDIES ABOUT *Nosema spp.* IN THE WORLD AND TURKEY

Mahmut Hulisi GÜL

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science
Animal Husbandry Department

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU

Nosema disease has caused major economic losses at the worldwide. Many beekeepers losing their colonies every year due to nosema disease and get much less product than normal. In addition to these, many beekeepers try to remove the disease from their colonies using different methods to improve their colonies. Nosema disease have become a major concern in the beekeeping industry and beekeepers couldn't get enough profit from bee products. There are many studies about nosema disease in the world. Although fumagillin is the only antibiotic approved for control of nosema disease in honey bees, there are different studies to fight with Nosema disease. Most of the countries prohibited using fumagillin. Using fumagillin for a long time also caused the spores resistant to the drug. For these reasons, new control methods have been used. New fighting techniques have also been investigated in many studies. Although the number of studies about nosema disease are limited in Turkey, new and extensive studies are being carried out. The goals are the same although there are many different aspects of these studies in the world and in Turkey. The main purpose is to keep the nosema infection away from the colonies and save the infected colonies with minimal damage.

2017, 38 pages

Keywords: *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Nosema spp.*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bç	Primer Uzunluğu
°C	Santigrat Derece
ml	Mililitre
r	Korelasyon Katsayısı
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribo Nükleik Asit
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit

TEŞEKKÜR

Çalışmamın yürütülmesi sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU, Sayın Prof. Dr. Ferat GENÇ ve Sayın Doç. Dr. Berna Emsen STAINMAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmam süresince maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen aileme minnettarım.

Mahmut Hulisi GÜL

Nisan, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Hastalıklı kolonilerden örnek alınması.....	16
3.1.2. Laboratuvar malzemeleri.....	22
3.1.2.a. <i>Nosema spp.</i> miktarını belirlemede kullanılan malzemeler.....	22
3.1.2.b. Sahada hastalıklı kolonilerden örneklerin toplanmasında kullanılan malzemeler	22
3.1.2.c. Örnek analizleri, üzerinde laboratuvar da sayımların yapılması	22
3.1.2.d. <i>Nosema spp.</i> laboratuvar ölçümleri sonucunda elde edilen verilerin analizinde kullanılan istatistiksel yöntemler	32
3.1.2.e. <i>Nosema spp.</i> enfeksiyonlarına karşı kullanılan ilaçlar ve alternatif mücadele seçenekleri	32
4. SONUÇ	34
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Kovan önünde dışkı belirtisi, sürünen ve uçamayan arılar.....	17
Şekil 3.2. Arı bağırsaklarının pens yardımıyla çıkarılması.....	23
Şekil 3.3. Nosemalı ve sağlıklı bir arının bağırsak görüntüsü	23
Şekil 3.4. Hemositometreye damlatılacak numunenin hazırlanması	24
Şekil 3.5. Havadaki arı abdomenlerinin ezilmesi	25
Şekil 3.6. Distile suyun eklenmesi	25
Şekil 3.7. Distile suyun eklendiği karışımın iyice karıştırılıp ezilmesi	26
Şekil 3.8. Spor sayımı yapılacak kareler.....	27

1. GİRİŞ

Arı hastalık ve zararlıları koloni popölasyon gelişimini önemli ölçüde etkileyen, verimliliği azaltan, arı sağlığını doğrudan etkileyen çok önemli bir sorundur. Arı sağlığına gereken önemin verilmemesi, hastalık ve zararlıların yeterince tanınmaması, hastalıklarla mücadele edilmemesi, çevrede bulunan sağlıklı arı kolonileri için de tehlikeli olmaktadır (Sıralı ve Doğaroğlu 2005).

Türkiye'de arı hastalıkları önemli derecede koloni kayıplarına sebep olmaktadır. Ülkemizde arı hastalıklarına karşı bilinçli bir ilaç kullanımı olduğunu söylemek oldukça güçtür. Hastalıklar tam ve kesin belirlenmeden antibiyotik ve diğer ilaçların karıştırılıp kullanımı arıların sağlıkları açısından çok büyük tehlike arz etmektedir. Kış kayıpları olarak kayıtlara geçen koloni kayıplarının büyük bir kısmına arı hastalıklarının ciddi seviyeye çıkması neden olmaktadır. Kovanlarında yeterli besin maddesi bulunmayan arı kolonilerinin sönmesi olağandır. Kışlatma için besin maddesi yeterli olan arı kolonilerinin sönmesi arıcıları düşündürmektedir. Mikroskop gibi görüntüleme cihazlarıyla ancak görüntülenebilen hastalık etkenlerinin çok büyük kayıplara neden olabileceği unutulmamalıdır. Asitlik oranı yüksek şuruplar, bozulmuş ballar, çam ve kolza balları nosema hastalığına zemin hazırlamaktadır (Aydın vd 2003).

Balarısı yetiştiriciliğinde bilgi, beceri ve zamanlamanın beraber olması gereklidir. Balarısı kolonileri kendi iç yapılarındaki değişiklikler ve çevresel değişimler nedeniyle değişik zamanlarda farklı özellikler gösterebilir. Başarılı bir yetiştiricilik yapılmak isteniyorsa önceki dönemlerde kolonilerin ihtiyaçlarının ne kadar olduğu kayıt altına alınmalıdır (Aydın 2005).

Balarılarında verim düzeyini çevre şartları ve genetik durum etkilemektedir. Arılar için çevre şartları kovan içi ve kovan dışı şartlardan oluşmaktadır. Kovan dışındaki şartlara arıcıların müdahale etme şansları yoktur. Arıcıların müdahale edeceği ancak kovan içi

şartlar olup, kovan içinde hastalık ve zararlılara karşı koruma ve mücadele yapmaları gerekmektedir (Seven ve Yeniar 2010).

Balarısının gelişme döneminde içinde bulunduğu ortam hastalık etmenlerinin yaşaması ve çoğalması için uygundur. Bu nedenle patojenler kolayca hastalık oluşturabilmektedir (Uygur ve Girişgin 2008).

Ülkemiz arıcılığa elverişli olmasına rağmen, Türkiye’de arıcılığın birçok sorunu mevcuttur. Bu sorunlar eğitim ve araştırma ile ilgili sorunlar, ana arı yetiştiriciliği ve damızlık sorunu, arı sağlığı ile ilgili sorunlar, arıcıların örgütlenmesi ve ürünlerin değerlendirilmesi ile ilgili sorunlar, doğrudan devlete ve hükümete dayalı sorunlar olarak sıralanabilir. Bu sorunların içerisinde önemli payı arı sağlığı ile ilgili sorunlar almaktadır (Genç ve Dodoloğlu 2011).

Türkiye’de arı hastalıkları 1960’lı yıllardan itibaren artan göçer arıcılık ile yayılma göstermiştir. Böylece birçok arılık değişik türdeki hastalıklarla bulaşık hale gelmiştir. Bu hastalıklardan birisi de nosema hastalığıdır (Topçu ve Arslan 2004).

Arı hastalıkları, hastalığı oluşturan etmene göre sınıflandırılabilirdiği gibi, ergin ve yavru hastalıkları diye de sınıflandırılmaktadır. Hastalığı oluşturan etmene göre arı hastalıkları bakteriyel hastalıklar, fungal hastalıklar, paraziter hastalıklar, viral hastalıklar, protozoon hastalıklar diye sınıflandırılabilir. Hastalıkları oluştuğu konağa göre ise, ergin ve yavru hastalıkları diye sınıflandırılabilir (Uygur ve Girişgin 2008).

Nosema dünyada geniş yayılma göstermiş parazitik bir balarısı hastalığıdır. *Nosema spp.* ökaryotik bir canlıdır. İlk önce parazitik bir protozoon olarak tanımlanan *Nosema spp.* sonradan yapılan incelemeler sonucunda fungal bir parazit olarak kaydedilmiştir. Yapılan moleküler düzeydeki incelemeler sonucunda hif oluşturmaması da göz önüne alınarak microsporidia sınıfının fungi aleminden sayılmıştır (Güzerin 2013).

Nosema, hastalığı oluşturan etmene göre sınıflandırıldığında, protozoon hastalıklar sınıfındandır. Nosema hastalığı olduğu konuğa göre ise ergin arı hastalıkları grubundandır (Genç ve Dodoloğlu 2011). Nosema hastalığı halk dilinde "Mayıs hastalığı" ya da "Bulaşıcı ishal" olarak bilinmektedir. Daha çok ilkbahar ve sonbahar aylarında görülmektedir (Topçu ve Arslan 2004).

Arıcılar nosema hastalığından bahsederken şu manalardaki cümleleri kullanmaktadır; Sağlıklı arılar kovan dışına uçarak çıkarken nosema hastalığına yakalanmış arılar kovandan yürüyerek çıkarlar. Nosema hastalığı etkili bir şekilde tedavi edilebilir (Çakmak vd 2003).

Nosema hastalığı balarısı kolonilerinde kayda değer oranlarda ölümlere sebep olmaktadır. Hastalığın iki değişik etmeni vardır. *Nosema apis* Avrupa bal arılarında hastalık oluştururken, *Nosema ceranae* ise Asya bal arılarında hastalık oluşturmaktadır. *N.apis* ilk keşif edildiği yıllarda Avrupa bal arılarında hastalık oluşturduğu bilinirken ilerleyen yıllarda *N.ceranae*'ninde Avrupa bal arılarında hastalık oluşturduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda yapılan araştırmalarda *Apis ceranae*'de *N.apis* varlığı rapor edilmiştir (Tosun 2012).

N.apis ilk tanımlanan mikrosporidialardandır. Ancak *N.ceranae* dünya genelinde *N.apis*'in yerini almaktadır. Yapılan çalışmalarda *N.ceranae*'nin *N.apis*'den daha patojenik olduğu kaydedilmiştir. *N.ceranae* tedavi edilmez ise koloni kayıplarına sebep olacaktır. *N.ceranae* Asya, Avrupa, Kuzey Amerika, Güney Amerika kıtalarında görülmekte ve Avrupa balarılarında hızlı bir şekilde yayılma göstermektedir. Ülkemizde nosema ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır (Ütük vd 2010).

Türkiye'de hem *N.apis* varlığı hem de *N.ceranae* varlığı kaydedilmiştir. Sindirim sisteminin endotel hücrelerinde çoğalıp sindirim sistemini iflas ettiren nosema hastalığı, kış mevsiminde akut olarak seyrettiğinde, kovanlardaki arıların bağırsaklarında ishal nedeniyle biriken dışkıları vücut ağırlıklarının yarısını aştığı zaman arılar salkımı

bozarak kovan dışına dışkılarını bırakmak için çıkar ve bir daha geri dönemezler (Muz vd 2012).

Nosema apis sporlarıyla bulaşık arılar 18-54 gün yaşayabilirken *Nosema ceranae* ile bulaşık arılar ancak 8 gün yaşayabilmektedir. Bu durum *Nosema apis* ile *Nosema ceranae*'nin kolonilerin çökme sürelerine etkisini gözler önüne sermektedir (Muz 2008).

Nosema hastalığı arılarda normal uçuş sürelerinden daha fazla uçuş yapmaya ve daha fazla temizlik uçuşuna çıkmaya sebep olmaktadır. Arıların daha uzun süre ve daha çok uçuş yapmaları ömür sürelerini kısaltmaktadır. Hastalığa bağlı olan fazla dışkılama isteği ile arılar olumsuz hava şartlarında bile uçuşa çıkmakta kimi zaman geri dönememektedirler. *N.ceranae* sporlarının sebep olduğu nosema da ise on gün içinde yüksek oranlarda arı kayıpları yaşanmaktadır. Arıcılığın on beş günde bir yaptıkları koloni kontrollerinde popülasyonlarda görülebilecek önemli azalmanın nosema hastalığı nedeniyle olabileceği söylenebilir (Muz 2013 a).

Nosema hastalığı ana arı yenilemeye, yavru üretiminin azalmasına, yumurtlamanın yavaşlamasına neden olabilmektedir. Gerekli önlemler alınmadığı zaman koloni kayıplarına sebep olabilmektedir (Çakmak vd 2003).

N.apis besin maddeleri ve oral yolla sindirim sistemine girer. Ergin arıların orta midelerine geçen sporlar burada hızla çoğalarak kısa sürede hastalık oluşturur. Hastalanan arılarda uçuşma isteği olsa da uçamazlar. Kovan çevresindeki ot veya çöplere tutunarak yürümeye çalışırlar. Hastalanan arılarda iğneleme gücü azalır. Bunun sebebi ise abdomenlerin şişip uzamasıdır. Mide şişmiş, kıvrımları kaybolmuş ve beyaz rengi almıştır. Sağlıklı arılarda ise mide normal büyüklüğünde ve kıvrımları belirgin olup sarımsı bir renktedir. Hasta arılarda görülen bazı belirtiler ilaç zehirlenmeleri ile karıştırılabilir (Korkmaz 2013).

N.apis'de belirtiler gözlenebilirken *N.ceranae*'de belirtiler görülmeden kısa sürede kayıplar olur. *N.ceranae* ve *N.apis* balarılarında hücre içi parazit olarak yaşamaktadır.

N.ceranae güçlü kolonilerde bile çabuk yayılabilmektedir. Yine *N.ceranae*'de de arıclar ilaç zehirlenmelerinden şüphelenmektedir. Nosema hastalığı, tedavisinde antibiyotik kullanımına izin verilen tek arı hastalığıdır (Korkmaz 2013).

Nosema apis enfeksiyonları yıl içerisinde değişik zamanlarda görülmekle beraber en st seviyede enfeksiyonlarla ilkbahar aylarında, ikinci derecede enfeksiyonlarla ise sonbahar aylarında karşılaşılmaktadır. İşçi arılarla beraber ergin erkek arılarda da nosema hastalığı görülebilmektedir. Kovan tipleri nosema hastalığının oluşumunda etkilidir (Lermi 2010).

Dünyada nosema hastalığıyla arıcılık yapılabilen tüm bölgelerde karşılaşılabilir. *N.apis* farklı iklimlerde görülmesine rağmen, ılıman iklimlerde daha sık rastlanmaktadır. Ancak Meksika'da yapılan bir araştırmaya göre ise ılıman iklimlerde daha az grlmektedir. Subtropikal ve Tropikal bölgelerde daha az görüldüğü de söylenmektedir (Kurt 2007 a).

N.ceranae daha sıcak bölgelerde hastalık oluştururken, *N.apis* ise soğuk bölgelerde hastalık oluşturmaktadır. Sıcaklık değişikleri *N.ceranae*'nin yaygınlığını etkilemektedir. Buna rağmen *N.ceranae* tüm mevsimlerde görülebilmektedir. Ancak yaz aylarında çok yüksek seviyelerde çoğaldığı tespit edilmiştir. İlkbahar ve sonbaharda *N.apis* sporlarının sayı olarak artışı ile ve kiş sezonunda ise yayılma göstermesiyle karşılaşılmıştır (Tosun 2012).

Nosema hastalığının yaygınlaştığı kolonilerde bal, arı sütü ve polen verimi oldukça düşmektedir. *N.ceranae* Avrupa lkelerinde çok fazla arı kolonisinin çökmesine sebep olmuştur. Yaşama süresi *N.apis*'e göre daha kısa olan *N.ceranae* ldrc etkisinin fazla olması ile ön plana çıkmakta; belirtiler göstermeden ölümlere sebep olduğu için sağlıklı görünen kolonilerde büyük zararlara yol açmaktadır (Korkmaz 2013).

N.apis sporunun önemli bir özelliği de çoğalma şeklidir. Spor oğalmak için içerisinde bulunan kangal şeklindeki kutup ince iplikiğini kutup kısmındaki delikten çıkararak

konakçı hücrelerinde hücre zarına girerek çoğalmaktadır. *N.apis* ile bulaşık kolonilerin kış salkımlarındaki arı sayısı sağlıklı kolonilerinkine göre daha azdır. Ana arıların *N.apis* ile enfekte olması durumunda kayıplar sanıldığından daha fazla olacaktır. Bu sebeplerden dolayı nosema hastalığı karlı ve başarılı arıcılığın baş düşmanıdır (Kurt 2007 a).

Çevre sıcaklıklarındaki ani değişiklikler bal arılarını olumsuz etkilemektedir. Kovanlarda alacağımız bazı önlemler bu değişikliklerle olabilecek kayıpları önleyebilmektedir. Soğuk hava şartlarında nosema hastalığının ölümcül etkisi sebebiyle salkımı bozup dışarı çıkarak geri dönemeyen arılar nedeniyle salkım küçülmekte ve bu da tüm koloniyi etkilemektedir. Ayrıca bu durum yavru üşümesinde de önemli bir faktördür (Çetin 2004).

Nosema hastalığının oluşmaması için kovan içindeki nem miktarı düşürülmeli ve havalandırmanın yeterli olmasına dikkat edilmelidir. Kovanın yerden biraz yüksek olmasında fayda vardır. Kovanlara giriş bölümünün eğimli tarafa geleceği şekilde eğim verilerek pozisyon verilmesi iyi bir yaklaşımdır. Nosema hastalığı görülen kolonilerde viral hastalıklar da görülebilmektedir. Viral hastalıklar görüldüğünde birçok kovan malzemesi yakılarak imha edilmek zorundadır. Nosema hastalığını tetikleyecek faktörler ortadan kaldırılmalıdır (Kurt 2007 b).

Nosema hastalığının etmenleri olan *N.apis* ve *N.ceranae*'nin kesin teşhisi laboratuvarlar da moleküler incelemeler ile yapılmaktadır. Bu çalışmalarda ışık ve elektron mikroskopları kullanılmakta ve bazı tekniklerden faydalanılmaktadır (Tosun 2012).

Nosema çalışmalarında kovan içerisindekilerden çok arılarda bulunan spor sayıları önemlidir. Yine nosema çalışmalarında önemli bir faktör de hangi etmenin olduğunun tespit edilmesidir. Ülkemizde iki etmenin varlığı birçok çalışmada tespit edilmiştir (Kandemir 2011).

N.apis protozoonunun sporları 4-6 µm uzunluğunda, 2-4 µm genişliğinde olup oval şekilde görüntülenir. Ergin arıların mide epitelinde görüntülenebilir. *N.apis* sporları Alman bilim adamı Zander tarafından 1909 tespit edilmiştir (Uygur ve Girişgin 2008).

N.ceranae'nin yaşam döngüsü *N.apis*'e benzemektedir. Fakat spor morfolojileri değişiktir. *N.ceranae* sporları, *N.apis* sporlarından daha küçük olması sebebiyle ışık mikroskobu altında ayırt edilememektedirler. *N.apis*'in kutup ince iplikçiği 30 sarmallı olup, *N.ceranae*'nin kutup ince iplikçiği 20-23 sarmalıdır. *N.ceranae* PZR yöntemiyle teşhis edilmektedir (Kurt 2007a).

Nosema hastalığının yayılma nedenleri arasında hasta kolonilerde bulunan tüm ekipman ve besinlerin sağlıklı kolonilere verilmesi, koloni kontrollerinin uygun şekilde yapılmaması, uzun süren arı taşımacılığı ve uzun süre arıların kapalı ortamda kalması, kışlatma sırasında arıların rahatsız edilmesi, çok sık koloni kontrolleri ve yetersiz besleme gibi faktörler sayılabilir (Korkmaz 2013).

Nosema hastalığının tedavisinde doğru yöntemler kullanılmalıdır. Mücadelesinde ve tedavisinde çok sayıda ilaç kullanılabilir. İlkbahar ve sonbahar koloni kontrolleri yapılırken koloniler hastalıklar bakımından da incelenmeli ve gerekli olduğu durumlarda ilaç kullanılmalıdır (Tosun 2012).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya’da yaşanan koloni kayıplarını inceleyen bilim adamları, koloni kayıplarının bir sebebinin de nosema hastalığı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yani nosema hastalığının varlığının belirtilerinden biri de koloni çökme bozukluğudur (Muz 2013 b).

Arıların elli seneden fazladır Nosema hastalığıyla iç içe yaşadığı bilinmektedir. Nosema hastalığının etkinliği gittikçe daha da artmaktadır. Nosemanın artık daha zararlı etkileri olduğu ortaya çıkmıştır. Yeni nesil nosema hastalığı da denen *N.ceranae*’nin oluşturduğu nosema enfeksiyonuna karşı kullanılabilecek ilaçların büyük bir kısmı ithal edilmiştir ve her yerde bulunamamaktadır. *N.apis*’de belirtiler gözlenebilmesinden dolayı arıcılar bazı belirtilerle karşılaştıkları zaman hastalıkla mücadele yapabilmektedirler. Ancak *N.ceranae*’de bunun mümkün olmayışı nedeniyle büyük sıkıntılar yaşanmakta, ağır kayıplar ortaya çıkmaktadır. Bu sebeplerden dolayı arıcılar mücadelede başarısız olmaktadır. Bu da *N.ceranae*’ya karşı yeni nesil mücadeleler keşif edilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır (Muz 2013a).

Kırşehir ilinde nosema hastalığının varlığı ve dağılımını araştıran bilim adamları Kırşehir ilinin beş farklı ilçesinden toplam 51 arılıktan (her arılığı örnekleyen 100 arı olmak üzere) 5100 arıyı incelemek için laboratuara götürmüş ve yaptıkları mikroskopik incelemelerde Merkez ilçesinde %25, Mucur ilçesinde %23.7, Akpınar ilçesinde %12.5, Boztepe ilçesinde %60, Kaman ilçesinde ise %0 oranında nosema sporu bakımından pozitif değerler almışlardır. Nem oranı ile nosema spor sayıları arasındaki korelasyon araştırılmış ve $r=0.708$ olarak bulunmuştur. Hastalık sporları moleküler düzeyde incelenmiş ve tüm bölgelerde çıkan sporların *N.ceranae* olduğu ortaya çıkmıştır (Büyük vd 2017).

Bursa ve Balıkesir çevrelerindeki arılıkların hangi nosema sporlarıyla ne kadar enfekte olduğunu araştıran bir çalışmada multipleks PZR yöntemi kullanılmış, 14 arı kolonisinden örnekler alınmış ve bunların 11'inde nosema hastalığının varlığı tespit edilmiştir. Genelde *N.ceranae* sporlarıyla karşılaşmıştır (Koca vd 2016).

Balkaya ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'deki balarısı hastalık ve zararlıları ile ilgili elde edilen veriler tablo şeklinde sunulmuştur. Bu tabloda hangi bölge ve illerde nosema üzerine çalışmalar yapıldığı, hangi bilim insanları tarafından ne zaman yapıldığı kaydedilmiştir (Balkaya vd 2016 b).

Bursa ve yöresinde hastalık ve zararlıları belirlenmek üzere yapılan bir çalışmada 22 farklı arılık üzerinde çalışılmış, arılıkların her birinden rastgele 10 kovan seçilmiştir. 217 kovanın % 24'ünde nosema hastalığı belirlenmiştir (Çakmak vd 2003).

Erzurum ilindeki arıcıların karşılaştıkları arı hastalık ve zararlılarını belirlemeye yönelik yapılan bir anket çalışmasında toplamda 10.965 kovana sahip 100 arıcı ile görüşme yapılmış, görüşmelerin 32'sinde nosemosis ile karşılaşıldığı kaydedilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmanın laboratuvar çalışmaları ile teyit edilmesi gerekli olduğu kanısına varılmıştır (Balkaya vd 2016 a).

Kars ilinde nosemosis hastalığının yaygınlığının araştırıldığı bir çalışmada 8 ana yerleşim yerinden rastgele 50 arılıktan örnekler alınmıştır. Toplamda 343 balarısı kolonisinden alınıp değerlendirilen arı numunelerinin %15.74'ü *N.apis* sporları yönünden pozitif çıkmıştır. Nosema hastalığının yaygınlığı Kağızman ilçesinde %28, Selim ilçesinde %20.69, Kars merkezinde %18.56, Susuz ilçesinde % 18.33, Dığor ilçesinde %15.79, Arpaçay ilçesinde %13. 04 ve Akyaka ilçesinde ise % 6. 82 olarak bulunmuştur. Sarıkamış'da ise nosemosis ile karşılaşmamıştır. Bu ilçelerden ayrı olarak Susuz'da iki arı kolonisinde klinik nosemosis görülmüştür (Topçu ve Arslan 2004).

Balarılarında koloni kaybı konulu bir çalışmada farklı çalışmalardan derlemeler yapılmış koloni kaybına neden olan faktörler ve bu faktörlerin bazılarının oranları sunulmuştur. Bu çalışmada, nosema hastalığının kolonilerin %10'unda bulunduğu belirtilmiştir (Yalçın ve Turgut 2016).

Adıyaman ilindeki arıcılık faaliyetlerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 86 arıcı ile anket çalışması yapılmış, nosema hastalığı ile karşılaşan arıcıların oranının %27 olduğu belirlenmiştir. Arıcıların kullandıkları ilaçların nosema hastalığından korunmada ve hastalıkla mücadelede kullanılamayacak ilaçlar olduğu ifade edilmiştir (Özbakır vd 2016).

Kış salkımı bozulan kolonilerdeki hastalıklara değinen bir araştırmacı hava sıcaklığı 14 derecenin altına düştüğü durumlarda arıların oluşturduğu kümeyi kış salkımı diye tanımlamıştır. Salkım bozulduğunda kolonilerde ne gibi değişiklikler oluşacağını anlatan araştırmacı Hatay yöresinde bu değişiklikleri araştırmıştır. Kış salkım dengesi bozulan kolonilerde incelemeler yapmış nosema sporlarını görüntülemek amacıyla abdominal homojenizasyon tekniğini kullanmıştır. Hatay ilindeki altı farklı kışlatma bölgesinden 30 değişik arılıktaki 900 kolonide araştırmalarını devam ettirmiş ve nosema sporlarıyla paraziter ve bakteriyel patojenlere %10 oranında karşılaştığını kaydetmiştir (Muz vd 2012).

Türkiye ve Orta Doğu ülkelerindeki nosema hastalığının belirlenmesi ve yaygınlığı üzerine araştırmalar yapan bir araştırmacı Amerika'da birçok toplantılara katılmış bu toplantılardaki çalışmaları kaydedip ve Uludağ arıcılık dergisine yazmıştır. Bu çalışmalardan birinde balarısı kolonilerinde beslenme, varroa ve nosema ilişkisinin araştırıldığını ve çok farklı bilgilerden bahsedildiğini aktarmıştır. Varroa ve nosema ile bulaşık kolonilerde apistan ve fumagillinin uygulandıktan sonra ne gibi değişikliklere sebep olduğunun ortaya konduğunu iletmiştir (Kandemir 2011).

Bartın yöresinde balarılarını etkileyen beş değişik hastalığın incelendiği bir çalışmada arıcıların hastalık ve zararlılarla mücadelede diğer arıcılardan bilgiler alıp bu bilgileri uyguladığı belirtilmiş, yapılan incelemelerde nosema hastalığıyla da karşılaşmıştır (Lermi 2010).

Alman bilim adamlarının Avrupa'yı kapsayan ve karşılaştırmalar yaparak sonuçları elde ettikleri bir çalışmada nosema ve virüslere karşı arıların dayanıklılığı araştırılmıştır. Koloni kayıplarının en büyük nedenlerinin varroa paraziti ve ana arı ile ilgili sorunlar ve nosema olduğu belirtilmiştir. Çalışmaya göre nosema bu nedenlerin %8'ini teşkil etmektedir (Marina ve Büchler 2015).

Alman bilim adamları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise bazıları belirgin olan arı kayıplarının nedeninin *N.ceranae* olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışma Alman laboratuvarları ile İspanya enstitülerinin ortak katılımıyla yapılmıştır. Örnek alınan on arılığının sekiz tanesinde *N.ceranae* varlığına rastlandığı belirtilmiştir (Ritter 2006).

İran'ın kuzey batısındaki ekonomik öneme sahip arı hastalıklarının mevsim faktörü de göz önüne alınarak incelendiği bir çalışmada diğer hastalıklarla beraber nosemosis hastalığı da araştırılmış, bölgedeki kovanlar incelenmiş, daha önceden sunulan raporlar araştırılmıştır. Nosemosis ile ilgili iki deneme yapılmış ve sonuç olarak enfeksiyonların en yüksek oranı Mayıs ayında % 59 olarak tespit edilmiştir. Bölgede yapılan eski çalışma raporları incelendikten sonra vardıkları sonuç ise bu sonuçla aynı olup bahar aylarında enfeksiyonun en şiddetli şekilde seyrettiği ifade edilmiştir (Lotfi ve Shahryar 2011).

Türkiye' deki *Nosema spp.* varlığına yönelik yapılan çalışmaların derlendiği bir çalışmada arıcılığa elverişli farklı mevsim ve coğrafyaya sahip bölgelerdeki düşük bal üretim sebebinin arı hastalık ve zararlıları olduğu söylenmiştir. Bal üretiminin düşük olmasının nedenlerinden birinin de nosema hastalığına sebep olan sporlar olduğu vurgulanmıştır (Büyük vd 2014).

Artvin bölgesindeki balarısı hastalık ve zararlıları konusu üzerine yapılan bir çalışmada, ergin balarılarında örnekler alınıp mikroskopik incelemeye tabi tutulmuştur. İncelemeler sonucunda nosema hastalığının varlığıyla karşılaşılırken diğer bal arısı hastalıklarının hiçbirisiyle karşılaşılmamıştır (Güzerin 2013).

N.ceranae'nin moleküler tanısının Türkiye'de ilk defa yapıldığı bir çalışmada, iki arı kolonisinden gönderilen örneklerde *N.apis* varlığı belirlenmiş, nosema türlerinin görüntülenmesi amacıyla önceden bulunan özel PZR primerleri kullanılmıştır (Ütük vd 2010).

Doğu Karadeniz bölgesindeki nosematosis'in varlığını, etkenlerini, dağılımını ve nosematosis'i etkileyen iklim faktörlerini inceleyen bir çalışmada tüm incelenen alanlarda hastalığa rastlanmıştır. İncelenen 5893 ölü arı örneğinin içinde hastalık sadece işçi arılarda tespit edilmiş ve enfeksiyon oranı ise %20.2 olarak kaydedilmiştir. Moleküler düzeyde yapılan inceleme sonucu bütün araştırılan alanlarda *N.ceranae* çıkmıştır. Mikroskopik incelemeye tabi tutulan arıların vücut boşluklarında, bağırsak dokularında sporlar görüntülenmiştir. *N.ceranae* sarmalları 20-27 olarak belirlenmiştir. Kolonilerin etrafındaki sıcaklık ve nemin artışının *N.ceranae* üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (Tosun 2012).

Bir araştırmada Ordu yöresinde nosemosis varlığı ve dağılımı çalışılmış ve Ordu merkezi ile 9 ilçesinden arı numuneleri toplamıştır. 10 farklı örneği inceleyen araştırmacılar 200 ergin işçi arı örneğinin 88 tanesinde nosemosis ile karşılaşmıştır. Çalışma ile Ordu yöresinde bu hastalık ile ilgili ilk kapsamlı araştırma yapılmıştır. Hastalığın Ordu yöresinde fazlaca bulunabileceği ve iki etmene de rastlanabileceği belirtilmiştir (Yaman vd 2015).

Coğrafi faktörlerin iklimsel faktörlerle beraber değerlendirilip, *N.apis* ve *N.ceranae*'nin değişik iklim ve coğrafyalardaki durumlarının karşılaştırılması ve tespiti için yapılmış olan bir çalışmada enfeksiyona sebep olan iki türün değişik ortamlara ihtiyaç duyabileceği ileri sürülmüştür. Bunu incelemek amacıyla 169 arılıktan her birinden 30

adet olmak üzere numuneler alınmıştır. Örnekler incelendikten sonra coğrafi ve iklimsel değişiklerin nosemanın farklı etmenleri ve enfeksiyon seviyeleri için etkili olduğu bildirilmiştir. Sıcaklık ve nemin nosemada spor yoğunluğunu direkt etkilediğı tespit edilmiştir. Çalışmada incelenmiş olan arılarda daha fazla *N.ceranae* sporlarıyla karşılaşlmıştır. Bunun sebebinin balarılarında yaygınlığının artmasıdır, denmiştir. Aynı zamanda bu *N.ceranae*'nin *N.apis*'in yerini aldığıın bir belirtisi olduğu söylenmiştir (Özgör vd 2015).

Güney Marmara bölgesinde yapılan bir anket çalışmasında araştırmacılar nosema hastalığının gizli seyreden ve önemli sayılabilecek derecede arılıklarda var olan (%26.25) bir hastalık olduğunu belirtmişlerdir. Birçok arıcının nosema hastalığını tanımadığını söylenmiştir. Nosema hastalığı ve diğer hastalıkların anketlerle belirlenmesinin hastalıklardan dolayı oluşabilecek koloni kayıplarını önlemede önemli olduğunu belirtmişlerdir. Arıcılara göre arılara zarar veren hastalık ve zararlılar içerisinde nosema %5 oranında çıkmıştır (Aydın vd 2003).

Elazığ yöresinde yapılan bir çalışmada 218 anket formu arıcılarla yüz yüze görüşmeler sonucu doldurulmuştur. Çalışma sonucunda 142 arıcı arı hastalık ve zararlılarından endişe duymadığını söylemiş, hastalık ve zararlıları tanıdığını iletmış ve bu hastalıklar içerisinde nosema hastalığının da olduğu kaydedilmiştir (Seven ve Yeniar 2010).

Trakya bölgesinde arı hastalık ve zararlılarının incelendiğı bir çalışmada kış öncesi bakım ve beslemenin arıcıların %29.8'i tarafından yapıldığı, arıcıların kışlatma döneminde %29.12 kayıp verdiği, arılıkların %6.5'inde nosema hastalığı bulunduğu, nosemayla mücadelede ilaç kullanan arıcıların %5.9 olduğu tespit edilmiştir (Sıralı ve Doğaroğlu 2005).

Bal arısı hastalık ve zararlıları ile ilgili yapılan bir derleme çalışmasında, Türkiye'de 4 milyonun üzerinde koloni varlığı olduğu belirtilmiş, koloni başına düşen bal verimi düşüklüğünün önemli faktörlerinden birinin balarısı hastalık ve zararlıları olduğu, bu hastalık ve zararlılarla ilgili yetecek kadar bilgili olunmadığı ve mücadelenin doğru

zaman ve ilaçla yapılmadığı vurgulanmıştır. Bu faktörlerin de Türkiye arıcılığında kovan başı verim düşüklüğüne sebep olduğu bildirilmiştir. Yapılan derlemede balarısı hastalık ve zararlılarının belirtileri, teşhisi mücadelesi için faydalanılabilecek bilgilere yer verilmiştir (Uygur ve Girişgin 2008).

N.ceranae hakkında farklı ülkelerden bilgilerin verildiği bir yayında İspanya'da 2000 yılında koloni kayıpları %10 iken 2004 yılında %88 olmuş ve nihayetinde 2005 yılında çok daha fazla kayıplara sebep olmuştur. Almanya'da görülen arı kayıplarının sebebinin *N.ceranae* olup olmadığı araştırılmış ve bu oran %80 oranında tespit edilmiş olup başka bir eyalette ise *N.apis*'in neden olduğu ifade edilmiştir. Araştırma yapılan dönemlerden sonra incelenen arılıklarda çok büyük kayıplar meydana gelmiş fakat bu arılıklarda *N.apis* belirtilerine çok fazla rastlanılmamıştır (Ritter 2006).

İspanya'da yapılan bir çalışmada ülkenin bazı bölgelerinde nosema hastalığının yaygın olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada aynı koloni içerisinde hem *N.apis* hem de *N.ceranae* sporlarıyla karşılaşmanın mümkün olduğu belirtilmiştir (Fernandez et al 2012).

Polonya'da yapılan bir çalışmada Varşova ve çevresindeki arı kolonileri incelenmiştir. Kış kayıplarına nosema hastalığının %55 oranında sebep olduğu bildirilmiştir (Topolska et al 2010).

Dussaubat ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, nosema enfeksiyonlarının bal arılarında feromon üretimini değiştirdiği belirtilmiştir. Yine pestisitlerin ve çevresel stresin de, bal arılarında feromon üretimi üzerinde etkisi olduğu belirtilmiştir (Dassaubat et al. 2010).

Gisder ve arkadaşlarının 5 yıl süreyle çalışarak, 220 arılıktan, 1997 arı örneği alıp incelediği bir çalışmada; Almanya'da *N.ceranae* enfeksiyonunun *N.apis*'e göre daha yaygın olduğu ortaya konmuştur. Gisder ve arkadaşları bu çalışmada giemsa boyama tekniklerinden faydalanmışlardır (Gisder et al. 2010).

Botias ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada, *Nosema ceranae* enfeksiyonunun bulunduğu 50 arı kolonisi incelenmiş, *N.ceranae*'nin bal üretiminde önemli azalmalara sebep olduğu, son derece patojen olduğu, karlı arıcılığı kötü yönde etkilediği bildirilmiştir. Nosema hastalığıyla mücadele edilecek yeni yöntem ve tekniklerin bulunması gerektiği belirtilmiştir (Botias *et al.* 2013).

Yapılan bir çalışmada, optik sayaçlar ile bal arıları izlenip, nosema paraziti ve diğer parazitlerin bal arılarının uçuş aktivitesi ve immün sistemine etkisi izlenmiştir. Yaşamları boyunca optik sayaçlarla izlenen bal arılarında, konak-parazit ilişkisi olduğu gözlenmiştir (Alaux *et al.* 2014).

Nosema ile enfekte olan bal arılarının günlük uçuş aktivitesinin sağlıklı bal arılarınıninkine göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Nosemanın uçuş aktivitesine olan etkisi bu çalışmaya göre çok belirgindir. Optik izlenimli bu çalışmaya göre nosemasız kontrol arıları, tüm günlerde daha fazla uçuş yapmıştır (Alaux *et al.* 2014).

2016 yılında yapılan bir çalışmanın sonucunda, nosema parazitinin genç bal arılarının daha çabuk yaşlanmasına sebep olduğu, ana arının feromon salgılamasını olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Lecocq *et al.* 2016).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hastalıklı kolonilerden örnek alınması

Nosema hastalığının dağılımı, varlığı, enfeksiyon yoğunluğu belirlenecek ise alınacak ergin arı örnekleri erken ilkbahar ve geç sonbaharda alınmalıdır. Nosema mücadelesi etkin olarak bu dönemlerde yapılabilmektedir. Alınacak örnekler nosema mücadelesi yapılmamış kolonilerden olmalıdır.

Ergin arı örnekleri alınacak ise güneşli günlerde arıların uçuş etkinliklerinin yoğun olduğu açık havalarda örnekler alınabilir. Uçuşa uygun olmayan havalarda kovanları açmak petekleri incelemek sağlıklı olmayacaktır. Arıcılar uygun olmayan hava şartlarında kovanlarını açtırmamaktadır. Eğer salgılarından ve su kaynaklarından örnek alınacaksa arıların besin toplama uçuşuna çıktıkları zaman dilimleri içerisinde örneklerin alınmasında fayda vardır. Arılarda nosema var ise bu zaman dilimlerinde besin kaynaklarına patojenleri taşıyacaklardır.

Örnekler petek yüzlerine etil alkol dolu kavanozların yukarıdan aşağıya doğru hareketiyle alınabilir. Canlı arı örnekleri için bu yöntem uygulanabilir. Ancak petek yüzleri incelenmeden bu yöntemin yapılması sakıncalıdır. Eğer ana arı örnek alınacak petek yüzünde ise onun etil alkol içine düşürülüp öldürülme ihtimali bulunmaktadır. Bu nedenle örnek alınacak petek yüzü iyice gözlenmelidir. Şayet nosema varlığı araştırılacaksa erken ilkbaharda örnekler alınırken popülasyonu daha az olan kovanlar tercih edilmelidir. Bu durumda olan kovanlarda nosema etmenlerine rastlamak daha kolay olacaktır. Aslında bu durum hem *N.ceranae*'nin hem de *N.apis*'in belirtisi sayılabilir. Popülasyonlardaki azalmalar birçok hastalıkta belirti sayılmaktadır.

Alınacak örneklerin belirlenmesi amacıyla kovanlar iç ve dış görünüşleri bakımından incelenebilir, arılıklar gezilip kontrol edilebilir. Nosema belirtilerini gösteren kolonilerden örnekler alınabilir. Tarama yapılacak ise belirti göstermeyen kolonilerden de örnekler alınabilir. Birçok araştırmacı örnek alırken hastalık belirtilerini de dikkate almıştır. Bu olayların tümüne birden kolonilerin gözlemi denilebilir. Gözlem yapıldıktan sonra örnekler toplanmaya başlanır.

Arılıklarda kovan önünde sürünen, uçamayan, dışkılarıyla kovayı kirleten arıların bulunduğu koloniler tespit edilir. Şekil 3.1'deki gibi kovandaki kirli görüntü, kovan önünde uçamayan arılar gözlemlenebilir (Kurt 2007a). Bu belirtilerin gözlemlendiği kolonilerden çalışmaların durumlarına göre örnekler alınabilir.



Şekil 3.1. Kovan önünde dışkı belirtisi, sürünen ve uçamayan arılar (Tosun 2012)

Bir araştırmacı hastalık belirtilerinin gözleendiği zayıf kovanları belirleyerek bu kovanların iç ve dış durumunu gözlemlemiştir. Kovanlar önünde sürünen, halsizlik görünen ve ölü ergin arı bireylerini 400 ml kapasitesindeki ağız kapaklı kavanozlara koyarak numaralandırıp laboratuara götürmüştür. Çalışma boyunca örneklerin zarar görmemesi amacıyla örnekler ayarlı dolaplarda belirlenen sıcaklıklarda tutulmuştur (Güzerin 2013). Uludağ üniversitesi kampüsünde bulunan arılıktan örnek alan bilim adamları ise aldıkları balarısı örneklerini oda sıcaklığında %70 etil alkol içinde muhafaza etmişlerdir (Koca vd 2016).

Kırşehir ilinde nosema hastalığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, örnekler temmuz ayında toplanmış ve nosema hastalığına karşı ilaç kullanılmayan kovanlardan alınmıştır. Her arılıktan kendisini temsil etmesi amacıyla 100'er tarlacı işçi arı örneği toplanmıştır (Büyük vd 2017).

Yapılan çalışmalarda koloni başına 5-10, 25, 50 adet arı örnekleri alındığı görölmektedir. Ancak her bir koloniyi temsilen en az 50 arı alınması gereklidir. Çünkü laboratuvar çalışmaları esnasında bazı bireylerde mide ve bağırsaklar ayıklanırken ya da abdomen koparılırken örnekler kullanılamaz duruma gelebilmektedir. Bununla beraber yeniden örnek hazırlama ihtiyacı da duyulabilir ya da örnekler farklı çalışmalar için farklı şekillerde hazırlanabilir. Yapılan bir çalışmada ise her bir arılığı temsil etmesi için arılıkların her birinden 100 arı örneği alınmıştır. Nosema sporları ergin bal arılarında enfeksiyon oluşturması nedeniyle ergin arılardan örnekler alınır. Alınan örnekler cam kavanozlarda etil alkol içerisinde muhafaza edilerek laboratuara götürülecekse ağızları sıkıca kapatılmalıdır. Çünkü etil alkol uçucudur. Nosema sporları temas yoluyla da bulaşabilmektedir. Örneklerin toplanacağı pensler steril olmalı bir örnekten diğer bir örnek alımına geçilince sterilize edilmelidir. Alınan örneklerin bozulma ihtimaline karşı en hızlı ve güvenli yollarla laboratuarlara götürölmesi gerekmektedir.

Güney Marmara bölgesinde arı hastalık ve zararlılarının araştırıldığı bir çalışmada her arılıktan rastgele 10 koloni çalışmaya dahil edilmiş, her koloniden ortalama 50 arı örneği alınmış, alınan arı örneklerinin 25 adedi nosema mikroskopik incelemesi için hazırlamıştır. Örnek bireyleri %70'lik etil alkol içinde laboratuara götürülmüşlerdir (Çakmak vd 2003).

Topçu ve Arslan (2004), örnekleri toplarken poşetleri kovan uçuş deliklerinin önüne tutarak her kovandan 5-10 arası işçi arı toplamıştır. Mayıs-Haziran 2001 yılında bu şekilde örnek toplanan çalışmada Mayıs-Eylül 2002 yılında aynı şekilde yeniden örnek toplanmıştır.

Nosema enfeksiyonlarının mevsimsel seyrini belirlemek amacıyla nisan-eylül ayları arasında kolonilerden 6 farklı örnek alan araştırmacı, kovan girişleri ve çevrelerinden en az 50'şer ölü ergin arı bireyi toplamıştır. Ölü arıları steril pensler yardımıyla toplayarak kapalı ağızlı poşetlerle laboratuara götürmüştür. Ayrıca kovanlardaki arıları gözleyen araştırmacı kovanlarının önlerinde sürünen, uçamayan arıların da bulunduğu kolonilerden örnekler almış %70'lik etil alkol içerisinde muhafaza ederek laboratuara götürmüştür. Çalışma içerisindeki kovanların yakın çevresindeki sıcaklık ve nemi her ay ölçerek kayıt altına almıştır. Tüm arılıklardan örnek alırken farklı olayları, ani ölüm artışlarını, tarihleri yazarak kaydetmiştir. Örnekleri alırken oldukça dikkatli olduğunu belirtmiş ve sonra hızlıca çalışmaya başlamak için harekete geçtiğini bildirmiştir (Tosun 2012).

Hastalığın teşhisine yönelik ölü arı örnekleri toplanacaksa ağız kapalı steril poşetler, steril pensler kullanılmalı ve ölü arı örnekleri cam kavanozların içindeki etil alkole konulup taşınmalıdır. Teşhis için canlı arı örnekleri kullanılacaksa etil alkol, steril olan kapaklı cam kavanozlar tercih edilmelidir. Alınan örnekler numaralandırılmalı, alındığı kovan ve bölgeler kaydedilmelidir. Gerekliyse alınan koloniler de işaretlenmelidir. Kovan içi ve çevre sıcaklığı ölçülecekse bunlar için derecelere ve nem değerlerine ihtiyaç duyulacaksa nem ölçerler de olmalıdır. Çalışmada rakım ve yükseklikle

hastalığın durum değişkenliği incelenecekse rakım ve yükseklik haritalarından da yararlanılabilir.

Güzerin (2013), nosema belirtilerini gösteren kolonilerden örnekler alırken 400 ml'lik ağzı kapaklı kavanozlar ve %70'lik etil alkol kullanmıştır. Ölü arıları da aynı şekilde içinde etil alkol bulunan cam kavanozlara koymuştur. Numune olarak alınan canlı ve ölü arıları farklı kavanozlara koymuştur.

Nosema hastalığının dağılımı, varlığı, enfeksiyon yoğunluğu belirlenecek ise alınacak ergin arı örnekleri erken ilkbahar ve geç sonbaharda alınmalıdır. Nosema mücadelesi etkin olarak bu dönemlerde yapılabilmektedir. Alınacak örnekler nosema mücadelesi yapılmamış kolonilerden alınmalıdır. Koca vd (2016), Uludağ Üniversitesi kampüs alanında bulunan arılıktaki 14 kovandan ekim ayında örnek almıştır.

Güzerin (2013), balarılarını parazitler ve hastalıklar yönünden incelemiş, yaptığı çalışmada araziden numune alma işlemlerini ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde yapmıştır. Çalışması için Türkiye'de arıcılık sektöründe önemi büyük olan Artvin ili ile bu ile bağlı 7 ilçe ve köylerini seçmiştir. Gideceği bölgeleri harita üzerinde tespit etmiş ve il genelinde arıcıların hangi bölgelerde olduğunu öğrenmiş ve bu arıcılarla irtibata geçerek Artvin ili genelinde homojen bir dağılım gösterecek şekilde örneklerin toplanması için gideceği arılıkları önceden belirlemiştir. Belirlediği arılıklarından ergin arı ve yavrulu petek örnekleri toplamıştır.

Hastalığın teşhisine yönelik başka bir araştırmada Tosun (2012), arazi çalışmalarına başlamadan önce çalışılacak alanları belirlemek amacıyla ön çalışma yapmıştır. 2009 yılında çalışmalarını 3 aylık süre zarfında Temmuz-Eylül aylarında Rize'de tamamlamıştır. 2010 yılı Nisan-Ağustos ayları arasında Trabzon, Giresun, Ordu ve Rize olmak üzere 4 ilde arazi çalışması yapmıştır. Araştırmacı 2011 yılında ise Nisan-Eylül ayları arasında 7 değişik ilde çalışmıştır. 2011 yılında çalışacağı alanları ise rakımları farklı olacak şekilde ayarlamıştır. Örnek alacağı arılıkların 6 ay yer değiştirmeyecek arılıklardan olmasını sağlamış, bu arılıklardan da geliş güzel olarak örnekler almıştır.

Muz ve arkadaşlarının (2012), yaptığı "Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler" isimli çalışmada Hatay ilinde kışlama yaptırılan 6 bölge seçilmiş salkım bozma ihtimalinin yüksek olduğu günlerde seçilen arıliklara giderek gelişi güzel örnekler almışlardır. Topçu ve Arslan (2004), Kars yöresindeki nosema yaygınlığını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada ergin canlı arıları toplayarak materyal olarak kullanmıştır.

Birçok çalışmada arı kolonilerinden alınan bal, ölü veya canlı ergin arılar nosema çalışmalarının örneklerini oluşturmakla beraber bazı çalışmalarda besin kaynakları, ağaç salgıları da örnek olarak kullanılmıştır. Özkırım ve Schiesser (2016), nektar kaynaklarında, balda ve farklı salgılarda (çam salgısı gibi.) nosema sporlarının varlığını araştırmıştır. Hatta su kaynaklarında dahi nosema sporlarının bulunabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu yaklaşım nosema çalışmalarında birçok örnek çeşidi kullanılabileceğini göstermektedir.

Nosema yönünden nekropsi yapılmak isteniyorsa beyaz kağıt ve ince uçlu pens gerekmektedir (Kurt 2007 a). Nosema varlığı incelenecekse natif muayene yapılacaktır. Natif muayene için arı örnekleri, ışık mikroskobu, lam, lamel, arı abdomenlerini ayırmak için pens, serum fizyolojik yada distile su, havan ve karıştırıcısı, pipet seti yada şırınga gerekmektedir. Eğer karışım tespit edilecekse etanol da lazımdır. Sporların stoplazması görüntülenmek isteniyorsa giemsa boyaları gereklidir (Kurt ve Kaya 2016).

Nosema sporlarının sayımı yapılacak ve enfeksiyon düzeyi belirlenecekse; 1 adet ince uçlu pens, tutucu pens, porselen havan ve karıştırıcısı, distile su veya temiz su, 25 ml'lik şırınga, pipet seti, hemositometre, 400X ölçekbilen mikroskop, yıkama şişesi, kağıt havlu ve yumuşak bir bez laboratuvar çalışmasında kullanılacak malzemelerdir (Anonymous 2010).

Tosun (2012), laboratuvarında yaptığı çalışmalarda ışık mikroskobunu, elektron mikroskobunu, giemsa boyalarını, PZR cihazını, agaroz jeli, elektroforez cihazını,

forseps aletini, ringer solüsyonunu, lam, lameli, saf suyu, immersiyon yağını ve metil alkolü kullanmıştır.

3.1.2. Laboratuvar malzemeleri

3.1.2.a. *Nosema spp.* miktarını belirlemede kullanılan malzemeler

Bu amaçla ışık mikroskobu, elektron mikroskobu, lam, lamel, pens, serum fizyolojik yada distile su, havan ve karıştırıcısı, pipet seti yada şırınga, etanol, giemsa boya, immersiyon objektifi olan mikroskop, immersiyon yağı, öze, pürmüz, safranin boyası, 25 ml'lik şırınga, pipet seti, hemositometre, 400X ölçekbilen mikroskop, yıkama şişesi, kağıt havlu, yumuşak bir bez, PZR cihazını, agaroz jeli, elektroforez cihazı, forseps aleti ve ringer solüsyonu kullanılmaktadır.

3.1.2.b. Sahada hastalıklı kolonilerden örneklerin toplanmasında kullanılan malzemeler

Naylon poşet, steril pens, ağzı kapaklı poşet, ağzı kapaklı kavanoz, ve %70'lik etil alkol

3.1.2.c. Örnek analizleri üzerinde laboratuvarda sayımların yapılması

Arıların mide ve bağırsakları incelenip nosema nekropsisi yapılabilir. Bu incelemede ince uçlu bir pens yardımıyla beyaz kağıt tabakasına en az bir düzine arı bağırsağı alınır. Seçilen arılar genç işçi arılardan olmamalıdır. Arılar baş parmak ile işaret parmağı arasında sıkıştırılır. İnce uçlu pens ile abdomenin son kısmından tutularak arı çevrilip geriye doğru çekilir ve kolayca bağırsak dışarı çıkar (Şekil 3.2). Eğer arının bağırsakları düzgün bir şekilde çıkarılmamışsa tekrar tekrar denenir ve düzgün bir şekilde bağırsakların çıkarılması sağlanır (Kurt 2007 a).



Şekil 3.2. Arı bağırsaklarının pens yardımıyla çıkarılması (Anonymous 2012)

Dışarı çıkarılan bağırsaklar beyaz kağıt üzerine serilir. Sonra orta bağırsaklar incelenir. Sağlıklı bağırsaklar kıvrıkları belirgin ve sarı renkte, nosemalı bağırsaklar ise kıvrıkları belirgin olmayacak şekilde şiş ve beyaz renkte görülür. Şekil 3.3.'de nosemalı ve sağlıklı bir arının bağırsak görüntüsü görülmektedir. Esasen bu uygulamaya nosema nekropsisi de denilebilir (Kurt 2007 a).



Şekil 3.3. Nosemalı ve sağlıklı bir arının bağırsak görüntüsü

Eğer hastalığın varlığı çalışılıyorsa basit ışık mikroskobu altında inceleme yapılır. Sadece oluşan spora bakılır. Çok az sayıda ve kısıtlı çalışmalar ile ülkemizde epey bir süre bu şekilde nosema tanısı yapılmıştır (Tosun 2012).

Kurt ve Kaya (2016), mikroskopik inceleme için ergin arıların abdomenlerinin son segmentini koparmış ve havanda iyice ezmişlerdir. Her biri için 1 ml serum fizyolojik havana eklemiş, hazırladıkları karışımlardan 1 damla lam üzerine koymuş ve üzerini lamel ile kapatıp ışık mikroskobunda incelemişlerdir. Örneklerden nosema etmenlerine rastladıklarına nosema hastalığı yönünden pozitif demiş ve bu aşamadan sonra hazırladıkları karışımları ortamda kurumaya bırakmışlardır. Kuruyan karışımları etanolle tespit etmişlerdir. Giemsa ile 45 dakika boyayıp sporların stoplazmalarını mavi renkte görüntülemişlerdir (Şekil 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7).



Şekil 3.4. Hemositometreye damlatılacak numunenin hazırlanması (Anonymous 2010)



Şekil 3.5. Havadaki arı abdomenlerinin ezilmesi (Anonymous 2010)



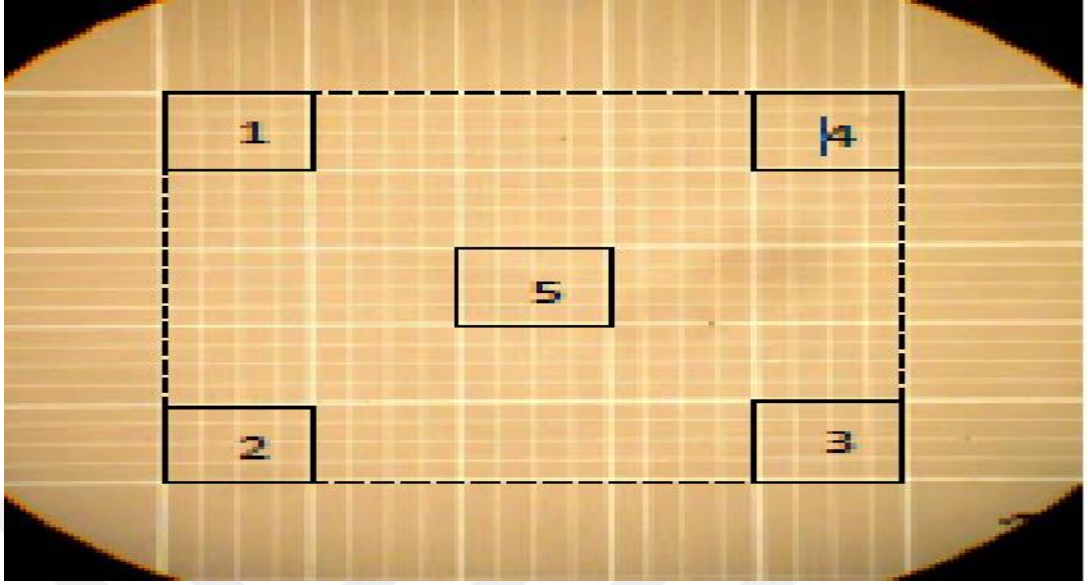
Şekil 3.6. Distile suyun eklenmesi (Anonymous 2010)



Şekil 3.7. Distile suyun eklendiği karışımın iyice karıştırılıp ezilmesi (Anonymous 2010)

Ontario Eyaleti, Arı Yetiştiricileri Birliği, devlet teknolojileri aktarım programlarında, nosema sayım protokolünün aşağıda sunulan şekilde yapıldığı belirtilmektedir. Her koloninin numunesinden en az 25 arı alınmalıdır. Arılar teker teker alınarak baş ile abdomen kısmı ayrılır, kanatlar, bacaklar pens yardımıyla koparılır. Şekil 3.4'de görüldüğü gibi. Havanda ezilmek üzere 25 adet arı yukarıda belirtildiği gibi hazırlanıp, havana konur. (Anonymous 2010).

Hemositometrede 1., 2., 3., 4. ve 5. karelerde spor sayımı yapılır. Şekil 3.8.'de kareler görülmektedir. 1. karedeki üst köşe ve sol köşe üzerindeki sporlar sayılmaz, 2. karedeki alt ve sol köşe üzerindeki sporlar sayılmaz, 3. karedeki sağ köşe ve alt köşe üzerindeki sporlar sayılmaz, 4. karedeki sağ köşe ve üst köşedeki çizgiler üzerindeki sporlar sayılmaz. 5. karedeki üst ve sol köşe çizgilerindeki sporlar sayılmaz (Anonymous 2010).



Şekil 3.8. Spor sayımı yapılacak kareler (Anonymous 2010)

Bu aşamadan sonra ise her karedeki veriler kaydedilir. Tüm karelerdeki sporlar toplanıp bir kenara yazılır (Anonymous 2010).

Eğer arı başına düşen spor miktarı hesaplanmak isteniyorsa, 1. oda ve 2. odanın içerisinde tespit edilen spor sayılarının ortalaması alınır. Alınan ortalama 50.000 ile çarpılır, bu şekilde arı başına düşen spor sayısını tespit edebilir (Anonymous 2010).

Bu aşamadan sonra hemositometre yumuşak bir bezle silinir, havan temizlenir ve başa dönüp tekrar başka koloni örnekleri nosema spor sayım protokolüne tabi tutulabilir (Anonymous 2010).

Spor sayımı sonrası veriler kaydedilip istatistik hesap programlarına işlenerek bölgeler arası farklılıklar, yoğunluklar, kolonilerdeki farklı enfeksiyon düzeyleri hesaplanabilir.

Nosema sporları moleküler düzeyde incelenecek ve etmenler birbirinden ayırt edilecek ise, hangi etmenin hangi oranda var olduğu ortaya koyacak moleküler çalışma gerekmektedir. Bunun için ise PZR metodu uygulanmaktadır. PZR metodu ülkemizde birçok çalışmada kullanılmaktadır.

İlk kez 1952 yılında bilime sunulan Polimeraz Zincir Reaksiyonu hem araştırma aşamalarında hem de tanı aşamalarında bir çok alanda kullanılmaktadır. Bu teknik Amerikalı bilim adamları Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından bulunmuş Kary Mullis bu buluşundan dolayı Nobel Kimya ödülünü almıştır (Anonim 2015).

PZR nükleik asitlerin çoğalmaya uygun ortam veya koşullarda çoğaltılmasıdır. Ya da özel bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimler tarafından sentezlenmesini sağlayan canlı dışında yapılan bir tekniktir. Adli tıptan tutun da birçok alanda günümüzde kullanılmaktadır. Eski tip tekniklere göre daha hızlı bir tekniktir. Birçok kolaylıklar sağlamaktadır (Anonim 2015).

PZR metodu çok az miktarlardaki DNA'lar ile gerçekleştirilebilir. Bu teknikte radyo aktivite kullanımına ihtiyaç yoktur. Çoğaltılacak ürünler bazı aşamalardan geçmektedir. Bu aşamaların tekrarı ürünü daha fazla çoğaltmaya yarar. Bu teknikte ürünler çoğaltılırken Denatürasyon, Annealing (Hibridizasyon), Extension (Polimerizasyon) aşamalarından geçer (Anonim 2015).

Denatürasyon aşamasında DNA zincirleri yüksek sıcaklık altına birbirinden ayrılmaya çalışılır. Annealing aşamasında sentetik oligonükleotidlerin istenilen DNA'ya bağlanması sağlanır. Extension aşamasında ise zincirin uzatılması veya DNA polimerazının uzatılması gerçekleştirilir. Denatürasyon 94-98°C'de, Annealing, 37-65°C'de, Extension ise 72°C'de gerçekleştirilir. Yani her aşama farklı derecelerde yapılır. Bu aşamalar her tamamlandığında istenilen bölge iki katına çıkar. Eğer her aşama %100 verimle işlerse her aşamada ürün iki kat artar. PZR verimini bazı faktörler etkiler. Bu faktörlerden biri polimeraz enzimi iken diğer faktör ise konsantrasyonu artan hedef dizilerin primerlere bağlanma yarışlarıdır (Anonim 2015).

PZR tekniğinde kullanılan temel bileşenler kalıp olarak kullanılacak olan DNA molekülü veya RNA, DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksiribonükleozidtrifosfat karışımları, tampon ve MgCl₂ dür. Bu teknikte Taq/Amplitaq enzimlerine özgü olan

tamponlar kullanılmaktadır. $MgCl_2$ içeren tamponlar kullanılıyorsa ayrıca $MgCl_2$ kullanımına gerek yoktur. Çoğaltılan ürünlerin doğrulanması için ise elektroforez yöntemi kullanılır. Elektroforez agaroz yada jel ile yapılabilir. PZR tekniğinin birçok çeşidi bulunmaktadır (Anonim 2015).

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütünün bildirimi ile *N.ceranae* sporları *N.apis*'ten küçüktür. *N.apis* sporları 5-7 μm boyunda, 3-4 μm enindedir. Yani esas olarak sporların polar filamentlerinin oluşturduğu sayı, sporların iç ve dış duvar kalınlığı, polar filamentin katman sayısı nosema sporlarının varlığını kanıtlamada kesin yardımcı olacaktır. İki etmeni birbirinden ayırmada sarmalların sayısı ve boyut farklılığı kullanılır. Bu aşamada kullanılacak olan geçirimli elektron mikroskobudur (Tosun 2012).

Laboratuar çalışmalarında nosema nekropsisi, nosema varlığının belirlenmesi, nosema sporlarının sayımı, etmenlerin ayırımı yukarıda belirtilen yöntemlerle yapılabilir. Bu yöntemleri birçok araştırmacı kullanmıştır. Bu teknikler değişik çalışmalarda kullanılmış, bazı çalışmalardaki kullanılış şekilleri de aşağıda belirtilmiştir.

Tosun (2012), yaptığı çalışmada önce ışık mikroskobu ve geçirimli elektron mikroskobu ile etkeni tanımlamış, ışık mikroskobu altında sporları ölçmüş ve sporların hangi dokularda bulunduğunu belirtmiştir. Daha sonra geçirimli elektron mikroskobu ile tür seviyesinde incelemelerde bulunmuş, en son ise moleküler çalışmalarla kesin tür teşhisini yapmıştır.

Güney Marmara bölgesinde arı hastalık ve zararlılarını inceleyen araştırmacılar tarafından nosema yönünden incelenmek amacıyla 25 arı abdomeni ile 25 ml distile su temiz bir test tüpü içinde karıştırılıp ezilmiş, karışım homojen hale geldikten sonra ışık mikroskobu altında 40x büyütmede, lam ve lamel arasına konarak incelenmiştir. Bu mikroskobik teşhis tekniğini Cantwell'in 1970 yılında yayınlanan araştırmasında belirttiği şekilde yapmışlardır (Çakmak vd 2003).

Kars yöresinde nosemosisin yaygınlık oranını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, örneklerin laboratuvar incelemesi şu şekilde yapılmıştır; Arı abdomenlerinin son halkalarıyla beraber çıkarılan mide ve bağırsaklar havan içerisine konarak serum fizyolojikle karıştırılıp ezilmiş, ezilen örnek öze (ucunda daire şeklinde halka bulunan laboratuvar aleti) adlı laboratuvar aleti ile alınıp lam üzerine konulmuştur. Hazırlanan preparat önce alevden geçirilerek tespit edilmiş, 2-3 damla safranin boyası üzerine eklenmiş alev üzerinde kaynatılmıştır. Bu aşamadan sonra ise lam soğutulup distile su ile temizlenmiş ve metilen mavisinden üzerine 1-2 damla eklenerek 20 dakika boyanmaya bırakılmıştır. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında 40x ölçeğinde görüntülenmiştir. Daha sonra ise mikroskop altında immersiyon objektif kullanılarak (cisim ile objektif arasında immersiyon yağı kullanılarak kötü görüntüleri önleme sistemi) görüntülenmiştir. Son olarak ise nosema sporlarının safranin ile boyandığında kırmızı renkte görüldüğü mantarların ise metilen mavisiyle maviye boyandıkları görülmüştür (Topçu ve Arslan 2004).

Diğer bir çalışmada *N.apis* ve *N.ceranae*'da abdomen incelemesi yapan araştırmacı enfeksiyon oranı ve düzeyinin belirlenmesi için ise spor sayımı yapmıştır. Spor sayımında aynı arılıktan aldığı örnekleri incelemeye tabi tutmuş ve 10 arı örneği kullanmıştır. Arıların abdomenlerini vücutlarından ayırarak bir kaptaki toplamış ve 10 ml distile su eklemiştir. Homojen bir karışım elde edene kadar karıştırmış ve elde ettiği karışımı 3 kat gazlı bezden süzmüştür. Gazlı bez ile süzülen karışımı 15 ml'lik tüplere koyarak dakikada 5000-6000 dönüş hızında 10 dakika santrifüj etmiştir. Tüpün üst kısmında kalan düşük yoğunluklu sıvıyı dökmüş ve tüpün dibinde çökmüş olan peletin üzerine arı başı 1 ml distile su ekleyip vorteks aleti ile pelet ve suyu homojenize edip sporları incelemeye başlamıştır. Spor sayımını Neubauer lamında yapmıştır. Bu laboratuvar çalışmalarını Cantwell'in bildirdiği şekilde ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'nün 2008 yılı önerilerine göre yapmıştır (Güzerin 2013).

N.ceranae'nin mikroskopik ve moleküler olarak incelendiği bir çalışmada, örneklerini mikroskopik incelemeye tabi tutan araştırmacılar, her arı abdomeni için ilk önce 500 µl su kullanmış, bu su ile abdomenleri yumuşatarak ezmiştir. Daha sonra hazırladıkları

karışıma tekrar her arı için 500 µl daha su eklemiştirler. Bu aşamadan sonra elde ettikleri süspansiyon içerisinde 10 µl sıvı almış ışık mikroskobu altında 40x ölçeğe büyütüp görüntülemiştirler. Spor yoğunluğunu da hemositometre kullanarak sayıp hesaplamışlardır. *N.ceranae* yönünden pozitif olan koloniler için hazırlanan süspansiyonlardan 500 µl'lik sıvılar alıp tür tayini yapmak üzere PZR'ye tabi tutmuşlardır. DNA izolasyonunu yaparken Doyle and Doyle'nin Cetyltrimethylammonium bromide yöntemini kullanmışlardır. DNA'ların saflıklarını ve miktarlarını Nanodrop spektrometresiyle tespit etmişlerdir. İzole edilen DNA'ları -20 °C'de muhafaza etmişlerdir (Koca vd 2016).

Büyük ve arkadaşları (2017), Kırşehir ilinde nosema hastalığını belirlemek üzere yaptığı çalışmada Dünya Hayvan Sağlığı Örgütünün 2008 yılında sunmuş olduğu kılavuzdaki tekniklerden faydalanmıştır. Faydalandıkları tekniklere göre homojenatları hazırlayan araştırmacılar 400x ölçekli ışık mikroskobu altında hemositometre üzerinde spor sayımı yapmışlardır. Nosema sporlarıyla karşılaştıkları örnekleri ve Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nden aldıkları nosema bulunan örnekleri DNA izolasyonuna tabi tutmak amacıyla Fermantas K512 kitini kullanarak izole etmişlerdir. Bu aşamadan sonra PZR analizi yapmış ve bu analiz sonucunda nosema sporları tespit edilen örneklerin tümünde *N.ceranae*'nin de olduğunu görmüşlerdir. PZR analizinden sonra agaroz jelde PZR ürünlerini yürütmüşlerdir. Etidyum bromür ile boyamış ve ultraviyole ışınları altında görüntülemiştirler. Sıcaklık, nisbi nem ve spor sayıları arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla korelasyon katsayılarını hesaplamışlardır.

Nosema sporlarının türünü ise Hernandez ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınlanan çalışmasında belirttiği şekilde 16S rRNA gen bölgesi için özel olarak sentezlenmiş nükleotid dizilerini seçerek belirlemişlerdir. *N.apis*'i karakterize edebilecek bantlar çalışmalarında görüntülenememiştir. *N.ceranae*'yi belirlemeye yarayan 218bp'lik DNA bantlarını ise görüntülemeyi başarmışlardır. Böylece *N.ceranae* varlığını moleküler düzeyde incelemişlerdir (Koca vd 2016).

3.1.2.d. *Nosema spp.* Laboratuvar ölçümleri sonucunda elde edilen verilerin analizinde kullanılan istatistiksel yöntemler

Tosun (2012), çalışmasında SPSS 11.0 programını kullanmış, Chi square (χ^2) analizinden faydalanmıştır. Bu program ve analiz tekniğiyle *nosema* hastalığının yıllık varlığını, illere göre dağılımını, rakıma göre durumunu, sıcaklık, nem ve mevsimsel değişimlere göre boyutlarını analiz etmiştir.

Güzerin (2013), *Nosema spp.* spor oranlarını karşılaştırmak amacıyla Kruskal Wallis testini kullanmış, *nosema* etmenlerinin mevsimlere göre oranlarını karşılaştırmak amacıyla da Mann-Whitney U testini kullanmıştır.

Coğrafi ve iklimsel faktörlerin etkisinde *nosema* etmenlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Pearson korelasyon testleri kullanılmıştır. Bu testle *nosema* etmenlerinin üzerinde coğrafi ve iklimsel farklılıkların etkisi olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada iller arasındaki *nosema* düzeylerinin farklılıklarının araştırılmasında tek yönlü Anova testi kullanılmıştır (Özgör vd 2015).

3.1.2.e. *Nosema spp.* Enfeksiyonlarına karşı kullanılan ilaçlar ve alternatif mücadele seçenekleri

Nosema hastalığının tedavisi oldukça zordur. Mücadele ve korunmasında Fumagillin etken maddesini barındıran Fumidil B'nin kullanılması Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmıştır. Ülkemizde ise kullanımı devam etmektedir. Ancak hastalık etmenleri bu ilaçların devamlı kullanılmasından dolayı direnç kazanmıştır. Bu nedenle bazı ülkelerde yeni mücadele yöntemlerinin araştırılması çalışmaları başlamış ve Novezit, Apiherb, Nosestat, Protofit, Noestat, Vitafeed Gold ile yapılabilen doğal mücadele teknikleri bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin kullanımıyla da mücadele yapılabileceği gösterilmiştir. Arı hastalıklarıyla mücadelede antibiyotik kullanımını yasaklayan ülkelerde bu tekniklerin kullanıldığı araştırmalar yaygınlaşmaktadır. Yapılan

birçok çalışmada bu tekniklerle nosema hastalığıyla mücadele edilebileceği ortaya konmuştur (Genç vd 2016).



4. SONUÇ

1. Nosema etmenleri hem *Apis mellifera*'da hem de *Apis cerana*'da enfeksiyon oluşturup zararlar vermektedirler.
2. Daha önceden yapılan çalışmaların literatür bulgularından fumagillinin hem *N.apis* üzerinde hem de *N.ceranae* üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Fumagillin etken maddesinden daha az yan etkiye sahip bir antibiyotik henüz bulunamamıştır.
3. Ülkemizdeki nosema çalışmaları Asya ve Avrupa ülkelerine göre daha sonraları başlamış olup, moleküler incelemeler yakın yıllarda yapılmıştır.
4. Türkiye'de nosema teşhisi uzun süre basit yöntemlerle yapılmış; 2010 yılından sonra moleküler düzeyde ilk çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Ülkemizdeki farklı bölgelerdeki nosema yoğunlukları henüz tespit edilmemiştir. Bazı bölgelerin kendi içlerindeki nosema dağılım ve yoğunlukları birçok çalışmalarda belirlenmiş olup, tüm bölgelerin karşılaştırılması henüz yapılmamıştır.
5. Dünya'da yapılan çalışmalar sonucunda *N.ceranae*'nin *N.apis*'in yerini aldığı belirtilmiş, birçok çalışmada iki etmeninde aynı konukçuda bulunabileceği bildirilmiştir. Şayet önlemler alınmaz ise *N.ceranae*'nin belirti göstermemesi sebebiyle arı yetiştiricilerini çaresiz bırakacağı ve daha ciddi salgınlara yol açabileceği vurgulanmaktadır.
6. Avrupa'da yapılan bazı çalışmalarda örnek kolonilerde nosema hastalığıyla beraber diğer hastalıkların da ortaya çıkabileceği belirtilmiştir.
7. Arıcılar nosemaya karşı hangi ilaçları kullanacaklarını bilmemektedirler. Nosemanın teşhisine yönelik yapılan çalışmaların hemen hemen hepsi ülkemizde hastalığının dağılımının yüksek olduğunu göstermektedir. Bu yüksek dağılım da

hastalığın ortaya çıkması için patojenlere uygun ortamın birçok arıcı tarafından sağlandığını göstermektedir.



KAYNAKLAR

- Alaux, C., Crauser D., Pioz M., Saulnier C. and Conte Y.L, 2014. Parasitic and Immune Modulation Of Flight Activity In Honey Bees Tracked With Optical Counters. *Journal Of Experimental Biology*, 217, 3416-3424.
- Anonim, 2015. Trakya Üniversitesi Biyofizik Dersi Ders Notları. Trakya Üniversitesi Web Sitesi. <http://bys.trakya.edu.tr/fileopen44259122>, (23.02.2017).
- Anonymous, 2010. Ontario Beekeepers Association Technology Transfer Program. Nosema Assessment Protocol. Ontario. Ontariobee Web Page, <http://www.ontariobee.com/> (07.10.2016).
- Anonymous, 2012. Arı mide-bağırsağının pens ile çıkarılması. The Nosema Twins Part 3 Sampling. <http://www.scientificbeekeeping.com> (12.02.2017).
- Aydın, L., 2005. Sonbaharda Bal Arısı Hastalık ve Zararlılarının Kontrolü. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5, 159-161.
- Aydın, L., Çakmak İ., Güleğen E., Korkut M., 2003. Güney Marmara Bölgesi Arı Hastalık ve Zararlıları Anket Sonuçları. *Uludağ arıcılık dergisi*. 3 (1): 37-40.
- 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.
- Balkaya, İ., Gülbaz H., Avcıoğlu H., Güven E., 2016 b. Türkiye’de Görülen Bal Arısı (*Apis mellifera*) Hastalıkları. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(3): 339-347.
- Botias, C., Hernandez R.M., Barrios L., Meana A. and Higes M., 2013., *Nosema spp.* Infection and Its Negative Effects On Honey Bees (*Apis Mellifera Iberiensis*) At The Colony Level., Ncbi Nlm Nib Web Page, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (09.10.2016).
- Büyük, M., Tunca R. İ ve Taşkın A., 2014. Türkiye’de *Nosema spp.* Varlığına Yönelik Yapılmış Çalışmalar. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1 (2), 234-238.
- Büyük, M., Tunca R. İ ve Taşkın A., 2017. Kırşehir İlindeki Arılıklarda Nosema Hastalığının Belirlenmesi. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(1): 1-5.
- Çakmak, İ., Aydın, L. ve Güleğen, A.E., 2003. Güney Marmara bölgesinde balarısı zararlıları ve hastalıkları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 1:33-35.
- Çetin U., 2004. Isı Değişimlerinin Arı Kayıplarına Etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 171-174.
- Dassaubat, C., Maisonnasse A., Alaux C., Tchamitchan S., Brunet J.L., Plettner, E., Belzunces L.P ve Le Conte y., 2010. Ncbi Nlm Nib Web Page, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (07.10.2016).
- Fernandez, J. M., Puerta F., Cousinou M., Dios-Palomares R., Campano F ve Redondo L., 2012. Asymptomatic presence of *Nosema spp.* In Spanish Commercial apiaries. *Apicultural Reference Center In Andalusia (C.E.R.A.)*, 111, 106-110.
- Genç, A. G., Tutun H., Sevin S., Bilgili A., 2016. 5.Uluslararası Muğla Çam Balı Kongresi. *Kongre Bildiri Özet Kitabı*, 319-320.
- Genç, F. ve Dodoloğlu A., 2011. Arıcılığın Temel Esasları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları*, No:931, 386 s, Erzurum.

- Gisder, S., Hedtk K., Möckel N., Frielitz M. C., Linde A. and Genersch E., 2010. Does Climate Shape Virulence and Assertiveness Of *Nosema ceranae*?. Aem Asm Web Page, <http://aem.asm.org/> (09.10.2016).
- Güzerin, E., 2013. Artvin Yöresindeki Bal Arılarının Mikrobiyal ve Paraziter Hastalıklar Yönünden İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Kandemir, İ., 2011. Amerika'da Katıldığım Arıcılık Toplantıları. Uludağ Arıcılık Dergisi, (5): 34-40.
- Koca, A. Ö., Zanjani P. A., Çakmak İ., Çakmak S. S., Kandemir İ., 2016. Ülkemizde Güney Marmara Bölgesindeki Bal Arılarında *Nosema Ceranae*'nin Mikroskopik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi. Uludağ Arıcılık Dergisi, 16 (1):12-19.
- Korkmaz, A., 2013. Anlaşılabilir Arıcılık. Samsun Gıda Tarım Hayvancılık İl Müdürlüğü Yayını, 330 s, Samsun.
- Kurt, M., 2007 a, Nosemosis. Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 14 s. Samsun.
- Kurt, M., 2007 b. Organik Arıcılık ve Hastalıklarla Mücadele. Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 54 s, Samsun.
- Kurt, M., Kaya S., 2016. 5.Uluslararası Muğla Çam Balı Kongresi. Kongre bildiri özet kitabı., 77-78.
- Lecocq, A., Jensen A. B., Kryger P ve Nieh J.C., Parasite Infection Accelerates Age Polyethism In Young Honey Bees. 2016. France., Nature Web Page, <http://www.nature.com/> (07.10.2016).
- Lermi, U., 2010. Bartın Yöresi Bal Arısı Hastalık ve Zararlıları. Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bartın.
- Lotfi, A., ve Shahryar H. A., 2011. İran'ın Kuzeybatısındaki Balarısı Kolonilerinde Bazı Ekonomik Arı Hastalıkları(Varroosis, Nosemosis ve Amerikan Yavru Çürüklüğü)'nın Mevsimlere Göre Enfeksiyon Oranları. Uludağ Arıcılık Dergisi. 11(1): 25-31.
- Marina, M., Büchler R., 2015. Bal arısı soylarının çevre ve ırklar arasındaki etkileşimleri, En iyi balarısını bulma çalışması. Arıcılık Araştırma Dergisi, 7 (13): 5-9.
- Muz, M. K., Solmaz H., Yaman M ve Karakavuk M., 2012. Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler, YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 23 (3), 147 - 150.
- Muz, M. N., 2008. Bal arılarında ani koloni sönmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32 (3): 271-275.
- Muz, M. N., 2013 a. Koloni kayıplarına bilimsel bakış. Arıcılık Araştırma Dergisi, 5(10): 22-25.
- Muz, M. N., 2013 b. Varroosis'in Semptomları, Patojenezi ve Virüs Bağlantısı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi. S 36-37. Denizli.
- Özbakır, G. Ö., Doğan Z., Öztokmak A., 2016. Adıyaman İli Arıcılık Faaliyetlerinin İncelenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 20(2): 119-126.
- Özgör, E., Güzerin E., Keskin N., 2015. Coğrafik ve İklimsel Faktörler Açısından *Nosema apis* ve *Nosema ceranae*'nin Tespiti ve Karşılaştırması. Hacettepe J. Biol. & Chem., 43 (1), 9–15.
- Özkırım, A., Schiesser A., 2016. Nosema Araştırmalarında Yeni Yaklaşımlar. 5.Uluslararası Muğla Çam Balı Kongresi. Kongre Bildiri Özet Kitabı, 81-82.

- Ritter, W. 2006. *Nosema Ceranae* Disease. Ulusal İhbarı Mecbur Arı Hastalıkları Referans Laboratuvarı. Uludağ Arıcılık Dergisi (8), 91-97.
- Seven, İ., Yeniar H., 2010. Elazığ Yöresindeki İşletmelerin Hastalık, Parazit ve Zararlılar Yönünden İncelenmesi. E-Journal of New World Sciences Academy. 5, (2): 52-66.
- Sıralı, R. ve Doğaroğlu M., 2005. Trakya Bölgesi Arı Hastalıkları ve Zararlıları Üzerine Anket Sonuçları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 1 (5), 70-78.
- Topçu, B. ve Arslan, 2004. Kars Yöresindeki Bal Arılarında Nosemasosis'in Yaygınlığı. Uludağ Arıcılık Dergisi, 1 (1), 164-170.
- Topolska, G., Gajda A., Pohoracke K., Bober A., Kasprzak S., Skubida M. ve Semkiw P., 2010. Winter Colony Losses In Poland. Journal Of Apicultural Research, (49)1, 126-128.
- Tosun, O., 2012. Bal Arılarında (*Apis Melifera* L., 1758) Nosemosis (Nosematosis) Hastalığının Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Bulunun Arı Kolonilerdeki Varlığı, Dağılımı ve Hastalık Etkenlerinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Uygur, Ş. Ö. ve Girişgin, A. O., 2008. Bal Arısı Hastalık Ve Zararlıları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 8(4):130-142.
- Ütük, A. E., Pişkin F. Ç ve Kurt M., 2010. Türkiye'de *Nosema ceranae*'nin ilk moleküler tanısı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 57, 275-278.
- Yalçın, M. ve Turgut C., 2016. Bal Arılarında Koloni Kaybı. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 13(1): 151-157.
- Yaman, M., Yarılgaç E. Ş., Güner B. G. ve Ertürk Ö., 2015. Ordu Yöresi Bal Arılarında Nosemosis Hastalığının Varlığı ve Dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 39: 47-51.

ÖZGEÇMİŞ

Mahmut Hulisi GÜL, 1985 yılında Elazığ ilinde dünyaya geldi. İlk öğrenimini Erzurum Atatürk İlkokulu'nda, orta öğrenimini Erzurum Merkez İmam Hatip Ortaokulu'nda, lise öğrenimini Erzurum Lisesi'nde tamamladı. Üniversite öğrenimini Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden mezun olarak tamamladı. Evli ve 1 çocuk babasıdır.

