

## Tekirdağ'da "Koloni Kaybı Sendromu" Benzeri Kayıp Görülen Arılıklarda Bazı Patojenlerinin Araştırılması

Dilek MUZ<sup>\*1</sup>, Mustafa Necati MUZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji A.D, TEKİRDAĞ  
<sup>2</sup> Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji A.D, TEKİRDAĞ

\*Corresponding author e-mail: dilekmm@gmail.com

### ÖZ

Dünya'da on yıldan fazla süredir dikkat çeken koloni kayıpları, farklı etken ve faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan arı sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Bal anısı koloni sağlığını tehdit eden hastalık etkenleri arasında virüsler, *Nosema ceranae* ve *Varroa destructor* ciddi öneme sahiptir. Bu çalışmada 2015 ve 2016 yıllarında Tekirdağ ilindeki farklı arılıklardan gönderilen balansı numuneleri incelenmiştir. Örnekler "koloni popülasyonundaki beklenmeyen azalma veya ani koloni kaybı" şikâyetleriyle gönderilmiştir. Buna göre 17 arılıktan gönderilen 510 bal anısı örneği, *Deforme kanat virüsü (Deformed Wing Virus – DWV)*, *Nosema ceranae* ve *Varroa destructor* yönünden kontrol edilmiştir. Bu arılıkların tamamında varroosis tespit edilirken, DWV 15 arılıkta, *N. ceranae* ise 5 arılıkta tespit edilmiştir. DWV tespit edilemeyen iki arılıkta *N. ceranae* da tespit edilememiştir. Bu çalışmada, ani koloni kaybı sendromuna benzer şekilde görülen koloni kayıplarında DWV, *Nosema ceranae* ve *Varroa destructor*'a rastlanma oranlarının araştırılarak bu konuda güncel veri sağlanması hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelime:** Bal anısı, DWV, Koloni Kaybı, Nosema, Varroa

## Investigation of Some Pathogens "Colony Loss Syndrome" Resembled Losses Apiaries in Tekirdağ

### ABSTRACT

Colony losses, which are remarkable in the world for more than ten years, are regarded as bee health problems arising from the interaction of different factors and agents. The viruses, *Nosema ceranae* and *Varroa destructor* among the disease agents threaten the colony health, have significant importance. In this study, the honeybee samples delivered to our laboratory from different apiaries in Tekirdağ province between 2015 and 2016, were examined. Samples were sent by complaints with "unexpected decrease in colony populations or sudden colony loss". A total of 510 honey bee samples from 17 apiaries were tested for *Deformed Wing Virus (DWV)*, *Nosema ceranae* and *Varroa destructor*. DWV and *N. ceranae* were detected in 15 and 5 apiaries, respectively while varroosis was detected in all apiaries. *N. ceranae* was not be detected in the DWV negative two apiaries. In this study, it was concluded that considering the presence of DWV, *Nosema ceranae* and *Varroa destructor* in sudden colony losses resemble case, and it would be advantageous the precaution and treatment strategies for bees against these pathogens.

**Key Words:** Honey bee, Colony Losses, DWV, Nosema, Varroa

To cite this article: Muz D. Muz MN. Tekirdağ'da "Koloni Kaybı Sendromu" Benzeri Kayıp Görülen Arılıklarda Bazı Patojenlerinin Araştırılması. *Kocatepe Vet J. 2017; 10(1): 21-28.*

## GİRİŞ

Bal arıları (*Apis mellifera* L.) ekosistemdeki dengeleyici ve eşsiz polinatör rolleriyle vazgeçilemeyecek ekonomik ve biyolojik öneme sahiptirler. Bal arıları bal, polen, propolis, arı sütü, balmumu, apılarnıl ve perga gibi ticari ürünleriyle birlikte yetiştiriciliği yapılan türler arasında ekonomik açıdan en yüksek değere sahip böcek türüdür (Klein ve ark., 2007; Aizen ve ark., 2009; Gallai ve ark., 2009; Cakmak, 2014). Sosyal yaşam biçimiyle farklı bir varoluş mücadelesi sergileyen bal arıları, bazı patojenlere, pestisitlere ve stres faktörlerine (Karahana ve ark., 2015; Dussaubat ve ark., 2016) karşı da oldukça hassastır. Hastalık etkenlerine karşı duyarlılık, arı kolonisinin etkileşim halinde bulunduğu farklı ortam koşullarına, ırk ve ekotip özelliklerine, yetiştiricilik tekniklerine, karşılaşılan patojenin türüne, miktarına ve virulensine hatta kolonideki propolis miktarı ve kaynağına varıncaya kadar birçok faktörden etkilenmektedir. Başta parazitler olmak üzere virus, bakteri ve mantar gibi çeşitli patojen etkenler arı sağlığını pestisitler ile sinerjizma oluşturarak daha ciddi tehdit etmektedir (Evans ve ark, 2006; Simone ve ark, 2009; Evans ve Spivak; 2010; Richard ve ark, 2012; Simone-Finstrom ve ark, 2012; Mondet ve ark., 2016, Fine ve ark; 2017). Bilim adamlarını ve üreticileri yoğun şekilde meşgul eden bal arısı koloni sağlığı sorunları on yılı aşkın süredir dünya ile eş zamanlı olarak Türkiye’de de artan öneme sahiptir (Aydın ve ark., 2001; Akkaya ve Alkan, 2002; Çakmak ve ark., 2003; Muz ve Muz, 2009; Van der Zee ve ark., 2015; Brodschneider ve ark., 2016). Bal arısı koloni sağlığı sorunları arttıkça bu konuda yapılan *tıbbi* araştırmaların, enfeksiyöz hastalıklar üzerinde odaklandığı görülmektedir (Genersch, 2010; Genersch ve ark., 2010). Özellikle 2006 yılından itibaren çok sayıda araştırmada “honeybee colony collapse disorder (HCCD)” veya “honey bee depopulation syndrome (HBDS)” (Cox-Foster ve ark., 2007; Stoksad, 2007a; Stoksad, 2007b; Winfree ve ark., 2007) olarak tanımlanan bu sendrom kısaca farklı etkenlerin ortak etkileşimi neticesinde bal arısı kolonilerinde işçi arı nüfusundaki sıra dışı, ani kayıpları nitelemektedir. Ancak üreticilerin tam olarak bu tanımlamalara uymayan fakat oldukça benzer koloni kayıpları yaşadıkları da bilinmektedir. Günümüze kadar dünyada tanımlanan arı viruslarının çoğu *Picornaviridae* ailesindeki *Disictovirus* ve *Iflavirus* genusları içerisinde sınıflandırılan, pozitif polariteli tek iplikcikli RNA viruslarıdır. Özellikle Deforme Kanat Virüsü (DWV) ve Siyah Kraliçe Hücre Virüsü (BQCV) gibi türler arılıklardan en çok izole edilen viruslardır. Bunun yanında arı virusları içerisinde özellikle DWV diğer arı patojenleri ile birlikte tespit edilme oranı dünyada en yüksek dolayısıyla en yaygın bal arısı virusudur (Zhang ve ark., 2012; Desai ve ark., 2016). *Iflavirus* sınıfında yer alan DWV 30 nm büyüklüğünde tek iplikcikli pozitif polariteli bir RNA

molekülü içermektedir (Lanzi ve ark. 2006). Dünya’da ilk defa 1980 yılında Japonya’da tanımlanmıştır (Bailey ve Ball, 1991). Bu viruslar bal arılarının farklı gelişim aşamalarında akut ve persiste enfeksiyonlara yol açarak zayıf, güçsüz kolonilerin oluşmasına neden olurken, meydana gelen ölümlerle de beklenmeyen koloni kayıplarında (HCCD, HBDS) rol oynarlar (Benaets ve ark., 2017). DWV arılarda başlıca kanat anomalilerinin oluşumuna yol açar. Akut enfekte arılar eksik kanatlı, kanatsız, kısa veya buruşuk kanatlı olduklarından uçamazlar. Enfeksiyon sonucu ana arılarda meydana gelen ovaryum dejenerasyonuna bağlı patolojiler koloni nüfusunda kayıpların oluşumuna neden olur (Gauthier ve ark., 2011; Dainat ve ark., 2013). Patolojik durumdaki arı sayısı arttıkça kovan içi ve kovan dışı yapılması gereken görevler yerine getirilemediğinden koloni gelişimi yavaşlamaya başlar. Bu durum düzelmediği takdirde kolonilerde üretim durur, koloni popülasyonu zayıfladıkça koloni nüfusunda gerileme başlar. Sosyal canlılar olan bal arıları ortak bağışıklık mekanizması ve savunma davranışı sergiledikleri için karşılaşılan tıbbi sorunlar hızla yıkıcı etki gösterebilir ve koloniler aniden sönebilir (Evans ve Pettis, 2005; Evans ve ark., 2006; Simone ve ark., 2009; Evans ve Spivak, 2010; Richard ve ark., 2012, Simone ve Spivak, 2012). Çoğu virusa vektörlük yapan ve arı hemolenfi dışında hiçbir besin kaynağı bulunmayan *Varroa destructor*, ekonomik ve tıbbi açıdan çok önemli arı akarıdır. *Varroa* enfeste kolonilerde DWV virulensinin ve koloni kayıplarının çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Van der Zee ve ark., 2015; Nazzi ve Le Conte, 2016). Akarın, arı üzerinde açtığı yara odaklarından beslenirken tegument hasarına bağlı olarak değişik sekonder enfeksiyonlara kapı açtığı bildirilmektedir (Kanbar ve Engels, 2005). Farklı türleri bulunan *Varroa* akarının, Türkiye’deki tür tespiti ve yaygınlığı hakkında yapılan araştırmalarda mevcut türün *Varroa destructor* olduğu bildirilmiştir (Aydın ve ark., 2003; Warrit ve ark., 2004). Türkiye’de arılıklarda yaygınlığı yüksek olarak bildirilen *Varroa*’ya karşı mücadelede çeşitli organik asitlerin, sentetik insektisidlerin kullanımı ve etkinliği üzerine yapılan çalışmalar da mevcuttur (Akkaya, 1996; Girişgin ve ark., 2010; Akkaya, 2014). Bal arılarının son yıllarda gittikçe artan öneme sahip diğer bir patojeni *Nosema ceranae*, arıların bağırsaklarında neden olduğu hastalık tablosuna bağlı olarak arıların beslenme, uçuş ve koloni içerisindeki görevlerini yerine getirmesine engel olmakta, koloni gelişiminde yavaşlama ve gerilemeye yol açmakta, temizlenmek veya dışkılamak üzere uçan işçi arıların çoğu zaman geri dönememesi sonucunda koloni popülasyonunda beklenmeyen düşüslere yol açmaktadır (Doublet ve ark., 2016). Gelişme ve üretim sorununun yaşandığı bal arısı kolonileri ile kış kayıplarının arttığı arılıklardan sıklıkla izole edilmektedir. Özellikle İspanya başta olmak üzere değişik merkezlerde yapılan araştırmalar kolonilerde görülen beklenmeyen

kayıplarda *Nosema ceranae*'nin da rolü olduğunu göstermiştir (Wenning, 2002; Higes ve ark., 2009; Bacandritsos ve ark., 2010; Dainat ve ark., 2012; Botias ve ark., 2013; Cepero ve ark., 2014). *Nosema ceranae* ve DWV miks enfeksiyonlarında, hedef hücrelere önce DWV'nin girmesi durumunda her iki patojenin sinerjizma gösterdikleri tespit edilmiştir (Doublet ve ark., 2015; Zheng ve ark., 2015). Bu araştırmanın amacı Tekirdağ ilinde “ani koloni kaybı” görülen arıliklarda söz konusu arı patojenlerinin araştırılması, üreticilerin şikayetleri hakkında kanıt dayalı şekilde bilgilendirilmesidir.

## MATERYAL VE METOT

**Bal Arısı Örnekleri** Araştırmada kullanılan bal arısı örnekleri, 2015-2016 yıllarında Tekirdağ ilindeki arıliklarda beklenmeyen şekilde koloni gerilemesi veya ani kayıplar yaşayan üreticilere aittir. Örneklem aşamasında üreticiler yönlendirilmemiştir. Bu örnekler arıliklarında sorun olduğunu düşünen üreticiler tarafından, problem yaşanan kovanlardan, anormal oldukları kanaatiyle toplanmıştır. Araştırmada kullanılan numuneler; gönderilen petek örnekleri, plastik pet şişe içerisinde canlı ve/veya ölü arılardan oluşmaktadır. Çalışma materyali olarak canlı ve ölü işçi arılar kullanılmıştır. Çalışma materyalinin sağlandığı 17 arılığa ait 510 adet bal arısı örneğinden her bir arılığı temsilen 10 adet canlı, 10 adet ölü arı analiz zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir

**Örneklerde Viral tanı** Muhafaza edilen bal arısı örneklerinden, her bir arılığı temsilen beş adet canlı ve beş adet ölü arılardan toplam on tane alınarak tek tek homojenize edildi. Homojenizasyon daha önce bildirilen yöntemle (Muz ve Muz 2009) PBS içerisinde gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası alınan 200 µl süpernatant viral RNA'nın eldesi amacıyla ticari bir kit (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Thermo) kullanılarak RNA ekstraksiyonu yapıldı. RNA ekstraksiyonu kitin kendi prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi. Elute edilen sıvıdan toplam 5 µl RNA RT-PCR amacıyla kullanıldı. cDNA sentezi ticari bir kit (First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo) kullanılarak, kitin kendi prosedürüne uygun olarak yapıldı. PCR testleri de, daha önce bildirilen DWV helikaz enzimini kodlayan gen spesifik primer çiftleri (Berenyi ve ark 2006) kullanılarak viral tanı gerçekleştirildi. Toplam 30 µl hacimde hazırlanan PCR karışımı içeriği; 5 µl cDNA, 2 ünite Taq polimeraz (TrueStart Hot Start Taq DNA Polymerase, Thermo), 10xTaq buffer, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µmol dNTP miks ve her bir primerden 300 µmol oluşmaktadır. Hazırlanan karışım Muz ve Muz (2009) bildirilen ısı ve süre şartlarında reaksiyona tabi tutuldu. Çoğaltılan reaksiyon ürünleri 5µg/µl oranında ethidium bromide içeren %1'lik agaroz içerisinde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi.

**Örneklerde *Nosema ceranae* ve *Varroa destructor* tanısı** Homojenat sıvısından alınan 200 µl sıvı gDNA eldesi için kullanıldı. Bu amaçla ticari bir kit (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Thermo) kullanım rehberine uygun şekilde çalışıldı. Elde edilen gDNA *Nosema ceranae* spesifik oligonükleotid primer çifti kullanılarak (Martín-Hernández ve ark., 2007) PCR testi gerçekleştirildi. Hazırlanan PCR karışım içeriği ve reaksiyon ısı şartları Muz ve ark (2010) bildirildiği gibi yapıldı. Çoğaltılan reaksiyon ürünleri 5µg/µl oranında ethidium bromide içeren %1'lik agaroz içerisinde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Bal arısı numunelerinin gönderildiği şeffaf numune şişeleri önce *Varroa destructor* varlığı yönünden çıplak gözle makroskopik olarak incelenmiş ardından arılar bir pens yardımıyla tutulup stereomikroskop altında incelenmiştir.

## BULGULAR

Örnek gönderilen 17 arılıktan 15'inde (%88,23) DWV, 5'inde (%29,41) *Nosema ceranae* ve tamamında *Varroa destructor* bulunduğu tespit edildi. Gönderilen bal arısı örnekleri arasında canlı ve ölü olarak dondurulan arıların DWV analizi sonuçlarında farklılık bulundu. Virus tespiti için analiz edilen bal arısı örnekleri arasında sadece canlı olarak dondurulan numunelerde DWV pozitifliğine rastlandı. *Nosema* pozitiflik sonuçlarında ise aynı kolonideki canlı ve ölü arı numunelerinde fark olmadığı tespit edildi. *Nosema ceranae* pozitif bulunan örneklerin tamamında DWV pozitifliği saptandı. DWV bulunmayan iki arılıkta (%11,76) da *N. ceranae* tespit edilemedi. Tüm arılikların *Varroa destructor* ile enfeste olduğu belirlendi. Örneklenen arıliklardan 5'i (%29,41) her üç patojen için pozitif iken 10'u (%58,82) iki patojen için pozitif olarak bulundu.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya genelinde HCCD olarak tanımlanan bu sendroma çok benzeyen semptomlarla seyreden koloni kayıpları yaşanmaktadır. Bu ikiz tablo bazı literatürlerle kısaca “*HCCD benzeri*” ifadesiyle tarif edilmektedir (Hristov, 2014; Parvanov ve Rusenova, 2014; Pries ve ark., 2016). Her iki soruna bağlı koloni kayıplarının arıliklarda birlikte görülüp görülmediği ve klinik epidemiyolojileri hakkında bazı araştırmalar bulunmaktadır. Hristov'un (2014) bildirdiğine göre, Bulgaristan'da görülen koloni kayıplarının HCCD ile bağlantısı araştırılmıştır. Meydana gelen ölümlerin gerçek nedenlerinin on vakada pestisit zehirlenmesi, on vakada varroosise bağlı kayıplar, altı vakada noseiosis bağlı kayıplar, altı vakada açlıktan dolayı ölüm ve üç vakada ise arıcların teknik hatalarından dolayı ölümler yaşandığı ve HCCD nin tarifine kesin olarak uyan bir vakaya rastlanmadığını da bildirmiştir

(Hristov, 2014). Bunun gibi Pires ve ark. (2016)'da HCCD benzeri kayıplar yaşandığını ancak bunun tam olarak HCCD şeklinde tabir edilemeyeceğini belirtmiştir. Türkiye'de kolonilerde hastalık oluşturan etkenler hakkında yapılan saha çalışmalarında arı popülasyonlarındaki bal arısı virusları, Nosema türleri ve *Varroa destructor* enfestasyonlarının yaygınlığı araştırılmış, bu patojenlerin varlıkları hakkında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Türkiye'de *Varroa destructor*'a % 6,2 ile %100 arasında değişen oranlarda rastlanıldığı bildirilmiştir (Balkaya ve ark., 2016). DWV varlığı Türkiye'de ilk defa 2006 yılında çok yoğun koloni kayıpları yaşanan Doğu Akdeniz bölgesinde tespit edilerek 2008 yılında resmen tanımlanmıştır (Muz ve Muz, 2008). Söz konusu çalışmada kolonilerde DWV'ye rastlanma oranı %100 olarak belirtilmiştir. Bunun dışında DWV hakkında yapılan araştırma sayısı oldukça sınırlı olup Hatay ve Ordu illerinde 2009 yılında (Muz ve Muz, 2009; Gülmez ve ark., 2009) ve ayrıca 2015 yılına ait araştırmalarda DWV varlığı tespit edilmiştir (Tozkar ve ark., 2015). Nosema türlerinin moleküler tanısı amacıyla Türkiye'de farklı çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Muz ve ark., 2010; Ütük ve ark., 2010; Whitaker ve ark., 2010; Muz ve ark., 2012; Ütük ve ark., 2016; Büyük ve ark., 2017). Türkiye'deki kolonilerden *Nosema ceranae* ile *Nosema apis*'in ilk moleküler teşhisi ve genetik ayrımı 2010 yılında bildirilmiştir (Muz ve ark., 2010). Koloni kayıpları hakkında 2010 yılında gerçekleştirilen bir araştırmada, Hatay ve Adana yöresi arlıklarında *Varroa destructor*'a rastlanma oranı %98, *Nosema ceranae*'ya rastlanma oranı %12,9 olarak tespit edilmiş, kolonilerin %52,3'ü ise sağlıklı olarak bildirilmiştir (Yalçınkaya ve Keskin, 2010). Farklı açıdan yapılan bir anket çalışmasında ise kışlatma nedeniyle yaşanan koloni kayıpları, 2008-2009 yılları arasında %14,5, 2009-2010 yılları arasında %18,9 ve 2010-2011 yılları arasında ise %12,6 olarak bildirilmiştir (Tunca ve ark., 2016). Mevcut araştırmada, koloni kaybı benzeri sorunlar yaşayan 17 arılıktan gönderilen 5 örnekte (%29,41) *Nosema ceranae*'ya rastlanırken gönderilen örneklerin hepsinin *Varroa destructor* ile enfeste oldukları tespit edilmiştir. Türkiye'de bal arısı virusları hakkında yapılan bir araştırmada (Gülmez ve ark., 2009) DWV nin sadece *Varroa destructor* ile enfeste kolonilerde bulunacağı bu nedenle diğer kolonilerin DWV arı sağlıklı olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir oysa koloniler arasında DWV'nin bulaşma yolu sadece *Varroa destructor* olmadığı farklı kaynaklarda bildirilmektedir. Kolonilerde DWV bulaşıklığı için *Varroa destructor* enfestasyonu ön şart değildir. Bununla birlikte, DWV ve *Varroa destructor* birlikteliğinin arı sağlığındaki riski arttırdığı farklı yönleriyle tartışılarak açıklanmıştır (Yue ve ark., 2007). DWV kovan içindeki farklı arı ürünlerini de kontamine etmektedir. Örneğin arı sütü, polen ve bal DWV ile kontamine olabilmektedir. Yine sağlıklı arılar tarafından kovan

dışından getirilen polen örneklerinde de DWV bulunabilmektedir (Singh ve ark., 2010; Mazzei ve ark., 2014). DWV'nin bulaşmasında taşıyıcı ana arı, erkek arı sperması, taşıyıcı vektör varroa, virus kontamine besinler rol oynamaktadır (Yue ve Generich, 2005; Fievet ve ark., 2006; Yue ve ark., 2006, 2007; Yanez ve ark., 2012; Amiri ve ark., 2016). Dünya'da koloni kaybı görülen ya da buna benzer sorunlar yaşanan arılıklarda tespit edilen DWV ve *Nosema ceranae* oranları değişiklik göstermektedir. Bazı araştırmalarda DWV ve *Nosema ceranae* birlikteliğinin koloni kayıplarında daha ciddi sorunlara yol açtığı iddia edilirken (Johnson ve ark., 2009; Bromenshenk ve ark., 2010), hedef hücrelere önce DWV'nin girmesi durumunda her iki patojenin sinerjizma gösterdiği de tespit edilmiştir (Doublet ve ark., 2015; Zheng ve ark., 2015). Sonuç olarak bu araştırmada bal arısı koloni kaybı (HCCD) benzeri sorunların yaşandığı arılıklardan gönderilen bal arısı örnekleri bazı hastalık etkenleri açısından incelenmiştir. Arılıkların tümünde (%100) *Varroa destructor* enfestasyonu, %88,23'ünde DWV ve %29,41'inde ise *Nosema ceranae* tespit edilmiştir. Buna göre koloni kaybı benzeri sorunlara karşı tedbir olarak mevcut patojenlerin varlığı göz önünde tutularak başta *Varroa destructor* mücadelesi olmak üzere, *Nosema ceranae*'ye karşı koruma ve tedavi tedbirlerinin yanı sıra viral hastalıkların yayılmasına engel olacak şekilde "iyi arıcılık uygulamalarına" dikkat edilmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM.** How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of Botany*. 2009; 103: 1579–1588.
- Amiri E, Meixner MD, Kryger P.** Deformed wing virus can be transmitted during natural mating in honey bees and infect the queens. *Sci Rep*. 2016; 9(6):33065.
- Akkaya H.** "Balansı Kolonilerinin Varroosis'İne Flumethrin'In Etkisi. "The Efficacy Of Flumethrin (Bayvarol-Strips) On Varroosis In Honeybee Colonies. *Acta Parasitologica Turcica*". *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 1996; 20: 457-460.
- Akkaya H, Alkan S.** "Turkish Bee Researchers Request Help", *American Bee Journal*. 2002;142: 549-550.
- Akkaya H.** "Arıcılıkta İlaç Kullanımı: Varroosis". *Arıcılık Araştırma*. 2014; 6:19-21.
- Aydın L, Güleğen E, Çetinbaş H.** Prevalence of *Nosema apis* in Southern Marmara Region in

- Turkey. Apimondia. Proceedings of the 37th International Apicultural Congress, 28 October – 1 November 2001.
- Aydın L, Çakmak İ, Güleğen E, Korkut M.** Güney Marmara Bölgesi'nde arı hastalık ve zararlıları anket sonuçları. U. Arı Drg./U. Bee J. 2003; 3(1): 38-41.
- Bacandritsos N, Granato A, Budge G, Papanastasiou I, Roinioti E, Caldon M, Falcaro C, Gallina A, Mutinelli F.** Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. J Invertebr Pathol. 2010; 105(3):335-40.
- Bailey L, Ball BV.** Honey bee pathology. 1991, Academic Press, London. Pp:10-34.
- Balkaya I, Gülbaz H, Avcıoğlu H, Güven E.** Honeybee (*Apis mellifera*) Diseases in Turkey. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Dergisi. 2016; 11(3): 339-347.
- Benaets K, Van Geystelen A, Cardoen D, De Smet L, de Graaf DC, Schoofs L, Larmuseau MH, Brettell LE, Martin SJ, Wenseleers T.** Covert deformed wing virus infections have long-term deleterious effects on honeybee foraging and survival. Proc Biol Sci. 2017; 8; 284(1848).
- Berenyi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Koglberger H, Nowotny N.** Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. Appl Environ Microbiol. 2006; 72 (4): 2414-20.
- Botias C, Martín-Hernández R, Barrios L, Meana A, Higes M.** Nosema spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. Vet Res. 2013; 10: 44:25.
- Brodshneider R, Gray A, van der Zee R, Adjlane N, Brusbardis V, Charrière JD.** Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/16 from the COLOSS survey. J of Apicultural Res. 2016; 55: 375-378.
- Bromenshenk JJ, Henderson CB, Wick CH, Stanford MF, Zulich AW, Jabbour RE, Deshpande SV, McCubbin PE, Seccomb RA, Welch PM, Williams T, Firth DR, Skowronski E, Lehmann MM, Bilimoria SL, Gress J, Wanner KW, Cramer RA.** Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. PLoS One. 2010; 5.
- Büyük M, Tunca İvgin R, Taşkın T.** Kırşehir İlindeki Arıliklarda Nosema Hastalığının Belirlenmesi. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi. 2017; 5(1): 1-5.
- Cepero A, Ravoet J, Gómez-Moracho T, Bernal JL, Del Nozal MJ, Bartolomé C, Maside X, Meana A, González-Porto AV, de Graaf DC, Martín-Hernández R, Higes M.** Holistic screening of collapsing honey bee colonies in Spain: a case study. BMC Res Notes. 2014; 15(7): 649.
- Çakmak I, Aydın L, Seven S, Korkut M.** Beekeeping Survey in Southern Marmara Region of Turkey. Uludag Bee Journal. 2003; 3(1): 31-36.
- Çakmak I.** Foraging Ecology of Bees and Their Role in Crop Production. Veterinarni Medicina, 2014; 59(1): 1–10.
- Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA, Quan PL, Briese T, Hornig M.** A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. Science. 2007; 318: 283–287.
- Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P.** Predictive markers of honey bee colony collapse. PLoS One. 2012; 7(2).
- Dainat B, Neumann P.** Clinical signs of deformed wing virus infection are predictive markers for honey bee colony losses. J Invertebr Pathol. 2013; 112(3):278-80.
- Desai SD, Currie RW.** Effects of Wintering Environment and Parasite-Pathogen Interactions on Honey Bee Colony Loss in North Temperate Regions. PLoS One. 2016; 2;11(7).
- Doublet V, Natsopoulou ME, Zschiesche L, Paxton RJ.** Within-host competition among the honey bees pathogens Nosema ceranae and Deformed wing virus is asymmetric and to the disadvantage of the virus. J Invertebr Pathol. 2015. 124:31-4.
- Doublet V, Paxton RJ, McDonnell CM, Dubois E, Nidelet S, Moritz RF, Alaux C, Le Conte Y.** Brain transcriptomes of honey bees (*Apis mellifera*) experimentally infected by two pathogens: Black queen cell virus and Nosema ceranae. Genom Data. 2016; 28(10):79-82.

- Dussaubat C, Maisonnasse A, Crauser D, Tchamitchian S, Bonnet M, Cousin M, Kretschmar A, Brunet JL, Le Conte Y.** Combined neonicotinoid pesticide and parasite stress alter honeybee queens' physiology and survival. *Sci Rep.* 2016; 31; 6.
- Evans JD, Pettis JS.** Colony-level impacts of immune responsiveness in honey bees, *Apis mellifera*. *Evolution* 2005. 59(10):2270-4.
- Evans JD, Spivak M.** Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *J Invertebr Pathol.* 2010; 103 (1):62-72.
- Evans JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler JL, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z., Hultmark D.** Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Mol Biol.* 2006; 15(5): 645–656.
- Fievet J, Tentcheva D, Gauthier L, de Miranda J, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M.** Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. *Virology* 2006; 3:16.
- Fine JD, Cox-Foster DL, Mullin CA.** An Inert Pesticide Adjuvant Synergizes Viral Pathogenicity and Mortality in Honey Bee Larvae. *Sci Rep.* 2017; 16(7):40499.
- Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissiere BE.** Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics.* 2009; 68: 810–821.
- Gauthier L, Ravallec M, Tournaire M, Cousserans F, Bergoin M, Dainat B, de Miranda JR.** Viruses associated with ovarian degeneration in *Apis mellifera* L. queens. *PLoS One.* 2011; 25;6(1).
- Genersch E.** Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010; 87(1):87-97.
- Genersch E, Evans JD, Fries I.** Honey bee disease overview. *J Invertebr Pathol.* 2010; 103 Suppl 1:S2-4.
- Girişgin AO, Aydın L.** Varroa destructor ile Doğal Enfeste Balarılarında Organik Asitlerin Kullanımı ve Etkinliği. *Kafkas Ün.Veteriner Fak.Derg.* 2010; 16(6): 941-945.
- Gülmez Y, Bursalı A, Tekin S.** First molecular detection and characterization of deformed wing virus (DWV) in honeybees (*Apis mellifera* L.) and mites (*Varroa destructor*) in Turkey. *African Journal of Biotechnology.* 2009; 8: 3698–3702.
- Higes M, Martín-Hernández R, Garrido-Bailón E, Botías C, Meana A.** First detection of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in African Honey bees (*Apis mellifera intermissa*). *J. Apic. Res.* 2009; 48: 217–219.
- Hristov Y.** Reasons for bee colony losses in Bulgaria and their relation with CCD. *Comptes rendus de l'Academie Bulgare des Sciences.* 2014; 67 (5): 727-736.
- Johnson RM, Evans JD, Robinson GE, Berenbaum MR.** Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2009; 106: 14790–14795.
- Kanbar G, Engels W.** Communal use of integumental wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae multiply infested by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Genet Mol Res.* 2005; 30;4(3):465-72.
- Karahan A, Çakmak I, Hranitz JM, Karaca I, Wells H.** Sublethal imidacloprid effects on honey bee flower choices when foraging. *Ecotoxicology.* 2015; 24(9):2017-25.
- Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T.** Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences.* 2007; 274: 303–313.
- Lanzi G, Miranda JR, Boniotti MB, Cameron CE, Lavazza A, Capucci L, Camazine SM, Rossi C.** Molecular and Biological Characterization of Deformed Wing Virus of Honeybees (*Apis mellifera* L.) *J. Virology.* 2006; 80(10): 4998-5009.
- Martín-Hernández R, Meana A, Prieto L, Salvador AM, Garrido-Bailón E, Higes M.** Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(20):6331-8.
- Mazzei M, Carrozza ML, Luisi E, Forzan M, Giusti M, Sagona S, Tolari F, Felicioli A.** Infectivity of DWV associated to flower

- pollen: experimental evidence of a horizontal transmission route. *PLoS One*. 2014; 24;9(11).
- Mondet F, Kim SH, de Miranda JR, Beslay D, Le Conte Y, Mercer AR.** Specific cues associated With Honey Bee social defence against *Varroa destructor* infested brood. *Sci Rep*. 2016; 3 (6):25444.
- Muz MN, Muz D.** Occurrence and genetic analysis of DWV (Deformed wing virus) and ABPV (Acute bee paralysis virus) and *Varroa destructor*-1 virus (VD-1) in Turkey. Proceedings of the 2nd International Forum of Apimondia-Apicality, 9-12 June 2008, Villa Mondragone, Rome, Italy. pp. 94.
- Muz D, Muz MN.** Survey of the occurrence of Deformed Wing Virus and multiple parasites of queens (*Apis mellifera* L.) in apiaries with collapsed colonies in Hatay, Turkey, *Journal of Apicultural Research*. 2009; 48: 204-208.
- Muz MN, Girişgin AO, Muz D, Aydın L.** Molecular detection of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infections in Turkish apiaries with collapsed colonies, *J of Apicultural Res*. 2010; 49: 342-344.
- Muz MN, Solmaz H, Yaman M, Karakavuk M.** Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2012; 23 (3):147–150.
- Nazzi F, Le Conte Y.** Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. *Annu Rev Entomol*. 2016; 61:417-32.
- Parvanov P, Rusenova N.** Etiology and clinicoepidemiological profile of apiaries with colony collapse disorder-like symptoms in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 2014; 17(3): 199-206.
- Pires CCS, Pereira FM, Lopes MTR, Nocelli RCF, Malaspina O, Pettis FS, Teixeira EW.** Weakness and collapse of bee colonies in Brazil: are there cases of CCD? *Pesq. agropec. bras*. 2016; 51(5):422-442.
- Richard FJ, Holt HL, Grozinger CM.** Effects of immunostimulation on social behavior, chemical communication and genome-wide gene expression in honey bee workers (*Apis mellifera*). *BMC Genomics*. 2012; 16(13):558.
- Simone Finstrom MD, Spivak M.** Increased resin collection after parasite challenge: a case of self-medication in honey bees? *PLoS One*. 2012;7(3):e34601.
- Simone M, Evans JD, Spivak M.** Resin collection and social immunity in honey bees. *Evolution*. 2009; 63(11):3016-22.
- Singh R, Levitt AL, Rajotte EG, Holmes EC, Ostiguy N, Vanengelsdorp D, Lipkin WI, Depamphilis CW, Toth AL, Cox-Foster DL.** RNA viruses in hymenopteran pollinators: evidence of inter-Taxa virus transmission via pollen and potential impact on non-*Apis* hymenopteran species. *PLoS One*. 2010; 22;5(12):e14357.
- Stokstad, E.** The case of the empty hives. *Science*. 2007a; 316: 970– 972.
- Stokstad, E.** Puzzling decline of U. S. bees linked to virus from Australia. *Science*. 2007b; 317: 1304–1305.
- Tozkar CO, Kence M, Kence A, Huang Q, Evans JD.** Metatranscriptomic analyses of honey bee colonies, *Front Genet*. 2015; 6, 100.
- Tunca R, Çimrin T, Büyük M, Taşkın A, Oskay D.** A Survey on Beekeeping Activities and Colony Losses in Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*. 2016; 33 (2), 56-62.
- Ütük AE, Pişkin FÇ, Kurt M.** First molecular detection of *Nosema ceranae* in Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2010; 57: 275-278.
- Ütük AE, Piskin FC, Girişgin AO, Selcuk O, Aydın L.** Microscopic and molecular detection of *Nosema spp.* in honeybees of Turkey. *Apidologie* (2016); 47: 267.
- Van Der Zee R, Gray A, Pisa L, De Rijk T.** An Observational Study of Honey Bee Colony Winter Losses and Their Association with *Varroa destructor*, Neonicotinoids and Other Risk Factors. *PLoS One*. 2015; 8;10(7)
- Warrit N, Hagen TAR, Smith DR, Çakmak İ.** A survey of *Varroa destructor* strains on *Apis mellifera* in Turkey. *Journal of Apicultural Research*. 2004; 43 (4): 190-191.
- Wenning CJ.** Experimenting with honey bees: Northern hive depopulation & wintering. *American Bee Journal*. 2002; 142(8), 587-590.
- Whitaker J, Szalanski AL, Kence M.** Molecular Detection of *N. ceranae* and *N. apis* from

Turkish Honey Bees. *Apidologie*. 2010; 42(2): 174-180.

**Winfree R, Williams NM, Dushoff J, Kremen C.** Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecol Lett*. 2007; 10(11):1105-13.

**Yalçınkaya A, Keskin N.** The Investigation of Honey Bee Diseases After Colony Losses in Hatay and Adana Provinces of Turkey. *Mellifera*. 2010; 10-20:24-31.

**Yanez O, Jaffe R, Jarosch A, Fries I, Moritz RFA, Paxton RJ, de Miranda JR.** Deformed wing virus and drone mating flights in the honey bee (*Apis mellifera*): implications for sexual transmission of a major honey bee virus. *Apidologie (Celle)*. 2012; 43: 17–30.

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

**Yue C, Schroder M, Bienefeld K, Genersch E.** Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones. *J Invertebr Pathol*. 2006; 92: 105–108.

**Yue C, Schroder M, Gisder S, Genersch E.** Vertical transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). *J Gen Virol*. 2007; 88, 2329–2336.

**Zhang X, He SY, Evans JD, Pettis JS, Yin GF, Chen YP.** New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens. *J Invertebr Pathol*. 2012; 109(1):156-9.

**Zheng HQ, Gong HR, Huang SK, Sohr A, Hu FL, Chen YP.** Evidence of the synergistic interaction of honey bee pathogens *Nosema ceranae* and Deformed wing virus. *Vet Microbiol*. 2015; 15;177(1-2):1-6.