

GİRİŞ

Arı yetiştiriciliği, dünyada yaygın, ekonomide önemli yer tutan ve az sermaye ile yapılabilen tarımsal etkinliklerdendir. Bugün dünyada yaklaşık 52 milyon koloniden 1.1 milyon ton bal üretilmektedir. Türkiye yaklaşık 4 milyon koloni sayısı ile dünyada ikinci, 63 bin ton bal üretimi ile dördüncü sıradadır. Oldukça zengin bir bitki florasına sahip olan Türkiye, arı popülasyonlarındaki iyi genetik varyasyonlar, verimli ve hastalıklara dirençli arı ırkları barındırması bakımından büyük bir arıcılık potansiyeline sahiptir. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden çok kaliteli ve lezzetli ballar elde edilmektedir. Bu ballar dünya ülkeleri arasında tüketim için talep almakta ve oldukça değer taşımaktadır. Bütün bu olumlu sonuçlara rağmen, arıcılığımız istenen düzeyde gelişip ilerleyememektedir. Bal üretimi, arıcılıkta ileri seviyedeki diğer ülkelerin elde ettikleri bal miktarına göre ve kovan başına düşen verim bakımından oldukça düşüktür (1-4).

Bal arılarında (*Apis mellifera* L.) ergin arı ve larvaları etkileyen, kolonin yaşam gücü ve verimini düşüren, hastalık ve zarar meydana getiren çok sayıda virus, bakteri, parazit, mantar ve diğer zararlılar (güveler, karıncalar, ayılar) bulunmaktadır. Bunlara karşı gerekli önlemler alınmazsa, bulaşıcı olan infeksiyonlar, arılıklardaki kovanlar arasında, zamanla arılıklar arasında, gezginci arıcılık nedeniyle bölgeler arasında hızla yayılabilirler. Bütün bunların olumsuz bir sonucu olarak ülkemizde büyük çapta koloni ve arı popülasyonu kayıpları ve doğal olarak önemli ekonomik kayıplar ortaya çıkar (3, 5, 6).

Arı infeksiyonları ile iyi bir mücadele, gerek bal verimi, gerek diğer arıcılık ürünlerinden (propolis, balmumu, arı sütü, arı zehiri) elde edilen gelirleri daha yüksek seviyeye çıkarabilir. Ayrıca arı yetiştiricilerinin infeksiyonları tanıyabilmesi, infeksiyonla mücadele için doğru yöntemleri uygulayabilmeleri ve gereksiz ilaç kullanımlarının engellenmesi oldukça önemlidir. Böylece arı yetiştiricilerinin koloni kayıpları önlenir, bal verimi başta olmak üzere diğer arı ürünlerinden elde ettikleri gelir arttırılabilir ve dolayısıyla da ülke ekonomisine oldukça iyi gelirler sağlanabilir. Arı yetiştiricilerinin gereksiz ilaç kullanımları tüketime sunulan ballarda kalıntı bırakabileceği için insan sağlığı da olumsuz olarak etkilenir (1, 3, 7).

Bal arılarında en önemli mantar infeksiyonu, *Ascospheeriosis* ya da chalkbrood (Kireç Hastalığı-Tebeşir Hastalığı)'dır. Stonebrood (Taş Hastalığı) ise daha az yaygındır ve arıların tarafından kireç hastalığı ile karıştırılabilmektedir (1, 4, 8, 9)

Kireç hastalığı başta *Ascospheera apis* (*A. apis*) olmak üzere *Ascospheera major* (*A. major*), *Ascospheera proliperda* (*A. proliperda*), *Ascospheera atra* (*A. atra*), *Ascospheera*

aggregata (*A. aggregata*), *Ascospaera fimicola* (*A. fimicola*) ve *Arrhenosphaera cranei* (*A. cranei*) türleri tarafından oluşturulur. *A. apis*, Türkiye’de en yaygın bulunan etkindir. Diğer etkenlerin konakçıları farklıdır ve sadece belirli ülkelerde saptanmıştır. Bulaşma etkenin askosporlarının bulaşık gıdalar aracılığı ile sindirim sistemine alınmasıyla olur, sonuçta larvanın mumyalaşarak ölümü şekillenir. İlk olarak ölü larva kapalı hücre gözleri içerisinde kabarık beyaz bir küf tarafından kaplanır, daha sonra kurur ve beyaz veya siyah mumyalara dönüşür. Larvaların rengi infekte olduğu miselyum tipine göre değişmektedir. Tek tip miselyumla yani aseksüel olarak (sadece + ya da – miselyumla) infekte olan beyaz, seksüel olarak (hem + hem de - miselyumla) infekte olan larvaların rengi ise siyah, siyah-gridir. Mumya larvalar işçi arılar tarafından kolaylıkla belirlenir ve hücrelerinden uzaklaştırılarak kovan dışına atılır (10, 11).

Kireç hastalığı nedeniyle arı popülasyonu azalır, bal üretimi düşer, larvaların % 80’inden fazlası etkilenebilir ve sonuçta infekte olan koloni söner. İnfeksiyon nedeniyle zayıflayan koloni etkili bir tozlaşma sağlayamaz. Arılıklar arasında arı ürünlerinin, ergin arılar ve kraliçe arının, kullanılmış kovanların ve arıcılık ekipmanlarının hareketlerinin kontrol altına alınması gerekliliği ortaya çıkar (12-15).

Taş hastalığı oldukça nadir görülen ve arıcılar için de kireç hastalığına göre daha az önem taşıyan fungal bir enfeksiyondur. Hastalık hem larvaları hem de ergin arıları etkiler. Etken *Aspergillus flavus* Link (*A. flavus*) başta olmak üzere *Aspergillus fumigatus* Fresenius (*A. fumigatus*) ile *Aspergillus niger* (*A. niger*)’ dir. Etkenler diğer insektler, memeliler, kuşlar ve insanlar için patojendir (16-18).

Taş hastalığında infekte olan arı larvaları ve erişkin arıların üzerlerinde yeşilimsi toz şeklinde bir küf tabakası oluşur. Etken dokulara girdiğinde larvanın vücudu ve ergin arıların abdomenleri oldukça sertleşir ve ezilmesi oldukça zordur. Erişkin arılar, ölen larvaların taşlaşması nedeniyle bu mumyaları kovandan uzaklaştırılamazlar. Taş hastalığı etkenleri bala geçer, bu nedenle enfeksiyon görülen kolonilerden elde edilen bal hasat edilmemeli, arılara gıda olarak verilmemelidir (1, 8, 19, 20). İnfekte kolonilerden hasat edilen balların tüketimi, insanlarda ağız ve dişeti iltihaplarına, göz ve karın ağrılarına hatta dizanteriye sebep olabilir (1, 17, 20).

Arılarda mantar enfeksiyonlarının teşhisi, larvaların klinik görünüşleri (9-11, 17, 20) mantar etkenlerinin koloni görünümü (9-11, 14, 17, 18, 20), spor kistlerinin çaplarının ölçümü (1, 8, 11, 17, 19) ve Polymerase Chain Reaction (PCR) (21-24) ile yapılabilir.

Mikotik infeksiyonlar yurdumuzda arıcılar tarafından görsel olarak değerlendirilmekte ve mücadele yöntemleri bilinmemektedir. Ülkemizde bu konuda yapılan bilimsel çalışmalar yeterli değildir.

Bu çalışma ile Bursa ve çevresindeki arıcılık işletmelerinde görülen mantar infeksiyonlarının yaygınlığının ve etkili mantar türlerinin belirlenmesi ile birlikte bu infeksiyonlarda önem taşıyan predispozisyon faktörlerinin incelenmesi amaçlandı. Laboratuvar tanısı ile bölgemizde, mantar hastalıklarının etkenlerinin kesin tanısının yapılması ve predipozisyon faktörlerinin belirlenmesi ve etkili mücadele yöntemlerinin saptanarak uygulanması sağlanacaktır. Çalışma prosedürü ve prensibi Türkiye geneline yayıldığında arı yetiştiriciliğinin daha bilinçli yapılacağı, hastalıkların daha iyi tanınıp mücadele yöntemlerinin geliştirileceği ve böylece ekonomik kayıpların önleneceği bir gerçektir. Böylece Türkiye, arı ve arı ürünleri konusunda diğer dünya ülkeleri arasında bir yer edinecek ve ekonomisine katkıda bulunacaktır.

BURSA VE ÇEVRESİNDEKİ ARI İŞLETMELERİNDE MİKOTİK İNFEKSİYONLARIN TEŞHİSİ

GENEL BİLGİLER

Bal arısı olarak bilinen *Apis mellifera* (*A. mellifera*), tozlaşmayı en iyi yapan canlılardır. Birçok meyve türü iyi mahsul verebilmek için tozlaşmaya ihtiyaç duyar. Amerika'da yapılan bir araştırmada, arıların tozlaşma yoluyla sağladıkları ürünün değerinin, bal ve balmumundan sağlanan değer 15-20 katı kadar olduğu bildirilmiştir (25).

Kovanlardan arı ürünü olarak elde edilen arı sütü, balmumu, polen, propolis ve arı zehiri, ilaç sanayiinde, kozmetik sanayiinde, diş hekimliğinde, cila boyalarının yapımında, balmumu ise temel petek yapımında, su geçişini önleyen bir madde olarak tente ve çadır yapımında hammadde olarak kullanılmaktadır (1, 3, 20).

Arı ürünleri, sağlık koruyucu ve tedavi edici etkilerinin öğrenilmesinden itibaren ticari alanda değer kazanmışlardır. Önceki yıllarda sadece bal ticari bir ürün iken, günümüzde arı sütü, polen, arı zehiri ve propolisin ticareti de günümüzde önem kazanmaktadır (3, 5, 20, 26).

Arıcılık, çiftçiler için tek başına bir geçim kaynağı olmakta, yatırılan sermaye ve verilen emeğe karşılık, kısa zamanda çok kar getirmektedir. Arılardan elde edilen bal ve bal mumunun parasal değerinin en az 20-50 katı kazançlı olması arıların tozlaşmaya dolayısıyla da bitkisel üretime olan katkılarının önemini vurgulamaktadır (3, 26).

Arıcılık, dünyada en yaygın tarımsal etkinliklerden biridir. Bugün dünyada yaklaşık 52 milyon koloniden 1 milyon 100 bin ton bal üretilmektedir. Türkiye'de de bal arısı ve arıcılık, kırsal nüfusun geleneksel gelir kaynaklarından biridir. Türkiye'nin değişik yörelerinden çok kaliteli ballar elde edilmektedir. Ülkemiz, dünya ballı bitkiler florasının % 75'ine sahiptir. Zengin florası, uygun ekolojisi, koloni varlığı ve arı popülasyonlarındaki genetik varyasyon bakımından da Türkiye büyük bir arıcılık potansiyeline sahiptir. Türkiye'nin 4 milyon dolayında koloni sayısı ile dünyada ikinci, 63 bin ton bal üretimi ile dördüncü sırada olduğu bildirilmiştir (1, 3, 20).

Bütün bu olumlu etkenlere rağmen, arıcılığımız istenen düzeyde gelişip ilerleyememiş, arıcılığı ve bal üretimi gelişmiş ülkelerin elde ettikleri bal miktarına ve kovan başına düşen verime göre oldukça düşük seviyede kalmasının pek çok sebebi vardır:

a-Kovan standartının olmaması.

b-Teknik bilgi ve ekipman yetersizliği.

c-Arı hastalıkları ve zararlıları ile yeteri kadar mücadele edilememesi gibi nedenlerle her sene binlerce kovanın söndüğü bildirilmiştir (1, 3, 5, 20).

Türkiye, büyük ölçüde bal ithalatı yapan Avrupa Topluluğu ve Orta Doğu ülkeleri ile yoğun ticari ilişkileri sayesinde ihracat yoluyla ülke ekonomisine döviz katkısı sağlayabilir. Ancak Türkiye’de birim verimin düşüklüğu arıcılık potansiyelinden yeterince yararlanılmadığını göstermektedir. Uygun tekniklerin kullanılması ve verimliliği sınırlayan unsurların kaldırılması durumunda arıcılık Türkiye’de kırsal kesim nüfusunun gelirinin arttırılmasında önemli rol oynayacaktır. Bu nedenle verimi düşüren hastalıkların teşhis ve tedavileri, ayrıca bu hastalıklardan korunma yolları üzerinde ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır (1, 3, 5, 7, 20, 26).

Bal arılarında hastalık ve zarar meydana getiren çok sayıda etken bulunmaktadır. Bunlar viruslar, bakteriler, parazitler, mantarlar ve diğer zararlılar (güveler, karıncalar, ayılar) olmak üzere 5 grupta incelenebilir (1, 5, 20).

Bal arılarında görülen başlıca hastalıklar, ergin arı hastalıkları ve yavru arı hastalıkları olarak iki bölümde incelenmektedir. Ancak bazı hastalıklar hem ergin, hem de yavru arılarda görülmektedir. Ayrıca bazı etkenler ise petek veya kovanda yerleşerek zarar meydana getirmektedir (17, 20, 27).

a-Ergin arı hastalıkları:

1-Nosema 2-Arı septisemisi 3-Dizanteri 4-Mantar (fungal) hastalıkları 5-Arı felci 6-Trachea akarı (*Acarapis woodi*) 7-Arı biti (*Braula caece*) 8-*Tropilaleps clarae* 8-*Varroa* 9-Bitki ve ilaç zehirlenmelerinden ileri gelen ölümler.

b-Yavru arıların hastalıkları:

1-Torba çürüklüğu 2-Amerikan yavru çürüklüğu 3-Avrupa yavru çürüklüğu 4-Kireç hastalığı 5-Para yavru çürüklüğu 6-Adi çürüklük 7-Mantar hastalıkları 8- *Varroa* 9- Bitki ve ilaç zehirlenmelerinden ileri gelen ölümler (4, 6, 9, 28-30).

Depolanmış polenlerde üreyen *Betisia alvei* (*B. alvei*) ve bazı *Aspergillus* türleri tarafından oluşturulan taş hastalığı arı larvalarını etkileyen ve nadir rastlanan mantar hastalıklarıdır. Bununla birlikte diğer faktörlerin etkisiyle koloni ciddi olarak zayıflamadıkça mantar hastalıkları pek görülmez (17, 29).

Bal arısı kolonilerinde *Ascospaera* türleri tarafından meydana getirilen, ascospaeriosis ya da chalkbrood (Kireç Hastalığı-Tebeşir Hastalığı) olarak isimlendirilen hastalık en önemli mantar enfeksiyonudur (16, 17, 19, 20, 29).

Bu iki infeksiyon dışında arıları ve larvaları etkileyen, ancak kireç hastalığı ve taş hastalığı kadar yaygın olmayan ve ülkemizde de pek görülmeyen fungal etkenler de bulunmaktadır. Erişkin arı ve larvalarda infeksiyona neden olan etkenler *Trichoderma lignorum*, *Mucor mucedo*, *Mucor hiemalis*, *Rhizopus equinus*, *Scopulariopsis brevicaulis* (Saccardo), *Geotrichum candidum utilis*, *Labyrinthula apis*, *Endomycopsis apis* ve *Neurospora intermedia* olarak sıralanabilir (17, 19, 20, 23, 30).

Bal arılarındaki kireç hastalığının en yaygın etkeni *A. apis*'tir. İnfeksiyon nedeniyle arı popülasyonu azalır, bunun sonucu olarak bal üretimi düşer, larvaların % 80'inden fazlası etkilenebilir ve sonuçta infekte kovan söner. Zayıflamış koloni etkili bir tozlaşma sağlayamaz, arılıklar arasında arı ürünleri, arılar ve kraliçe arı, kullanılmış kovan ve arıcılık ekipmanlarının hareketlerini kontrol altına alma zorunluluğu ortaya çıkar (14).

İlk olarak 1911 yılında Almanya Hannover'da bir arıcı tarafından arılarda *Ascospaera* benzeri mantar hastalığı bildirilmiş ve arıcı arılarının hastalığı ile ilgili semptomları gözlemleyerek hastalığa "Kalkbrut" (Chalkbrood) adını vermiştir. Daha sonra infekte petekleri Imperial Biological Institute for Agriculture for Diagnosis'e göndermiştir. Kireç hastalığıyla ilgili ilk rapor 1913 yılında Almanya'da Maasen (31) tarafından yayınlanmıştır.

Daha sonra dünyanın birçok bölgesinden hastalıkla ilgili raporların geldiği ve 1916 yılında kireç hastalığının hızla Avrupa merkezine doğru yayıldığı bildirilmiştir (32).

Avrupa dışında ilk rapor Güney Afrika ve Yeni Zelanda'dan (33), Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk rapor Baker ve Torchio (34) tarafından 1968 yılında, Utah'dan ilk rapor ise Torchio (35) tarafından 1971 yılında bildirilmiştir. Kanada'da bal arılarında kireç hastalığıyla ilgili ilk rapor Thomas ve Luce (36) tarafından 1972 yılında bildirilmiştir. Hastalık birçok ülkeye ve bölgeye hızla yayılmaya devam etmiştir. Daha sonra sırasıyla kireç hastalığı 1973 yılında Arizona'da (37), 1974'de Ohio'da (38), 1976 yılında Kanada'da (39), 1980 yılında Arjantin'de (40), 1981 (41), ve 1982 yıllarında (42) ise Japonya'da bildirilmiştir.

Kireç hastalığının leafcutting arılarında epizootik özellik gösterdiği 1973 yılına kadar bilinmediği, ancak 1976'da Oregon, Washington ve Idaho'da leafcutting arılarında kireç hastalığı kaynaklı kayıp oranının % 52, 1977'de Amerika'nın kuzey batısında % 40, 1978'de Washington'da % 54 ve Idaho'da % 40 olduğu bildirilmiştir (43).

Kireç hastalığı Türkiye'de ilk kez 1988 yılında Tutkun ve arkadaşları tarafından klinik olarak teşhis edilmiş, ancak yayınlanmamış bir bilgi olarak kalmıştır. Daha sonra yine Tutkun ve arkadaşları (44) mumya larvalardan etkeni (*A. apis*) 1993 yılında ilk kez izole

ettiklerini bildirmişlerdir. İlk klinik teşhis yapıldıktan iki ay sonra hastalık ülke arıcılığını tehdit edecek boyutta bütün coğrafi bölgelerimize hızla yayılmış ve koloni gelişmesine engel olmuştur. Hastalığın 16 ay gibi kısa bir sürede hızla ülkeye yayılmasına, Avrupa'dan bulaşık ham balmumu ithal edilmesinin neden olduğu bildirilmiştir (1, 7, 20).

İlk kez Maassen tarafından 1911 yılında tanımlanıp 1913 yılında rapor edilen kireç hastalığı etkenleri, yıllarca taksonomi ve isimlendirmeler konusunda yoğun bir değişim ve tanımlama geçirmiştir. 1912' de Betts (45) tarafından İngiltere'de arı kovanlarında depolanan polenlerde bir mantarın ürettiği belirlenmiş, mantar türü tanımlanmış ve buna *Pericystis alvei* Betts. (*P. alvei*) adı verilmiştir.

1916'da Maassen (32) incelemiş olduğu kadavralardaki kireç hastalığı etkeninin polen küfü olan *P. alvei*'den morfolojik olarak farklı olduğuna dikkat çekmiş ve bu yeni mantara *Pericystis apis* (*P. apis*) adını vermiştir.

1919 yılında Betts (46) iki fungusun birbirinden farklı olduğunu *P. alvei*'nin chlamydospor oluştururken *P. apis*'in oluşturmadığını belirlemiştir.

1921'de Claussen (47) infekte kovanda bulunan küflü bir bal peteğini incelemiş ve *P. apis* 'in hayat siklusu ve morfolojisi ile ilgili ilk ayrıntılı incelemeyi yapmıştır. Etkenin patojen bir mantar olduğunu saptamıştır. Erkek miselyumlarda antheridia, dişi miselyumlarda oogonia'ların oluştuğunu, yalnız erkek ve dişi hifaların bir araya geldiği zaman ürediklerini rapor etmiştir.

Maurizio (48) *P. apis*'in iki morfolojik tipini saptamış ve bunların her ikisinin de heterotallik ve kireç hastalığı oluşturma yeteneğine sahip olduğunu bildirmiştir. Bu türlerden biri küçük kistler oluşturan ve kireç hastalığının arı kolonilerindeki salgınlarının primer sebebi iken diğeri büyük tabakalı kistler oluşturan, çoğunlukla kovanlara dışarıdan gelen ve peteklerde gelişen bir mantar türü olup hastalığın sekonder sebebi olarak belirlemiştir. Büyük kistler oluşturan türlerin özellikle kist formasyonu sırasında düşük ısıyı tercih ettikleri ve optimum ısının 20°C, küçük kistler için ise 30°C olduğu bildirilmiştir.

Prökschl (49)1953'te türleri karşılaştırmış, küçük spor kistleri oluşturan *P. apis* variety *minör* (Maassen), Prökschl et Zobl ve büyük spor kisti oluşturan ise *P. apis* variety *major* (Maassen) Prökschl et Zobl olarak isimlendirmiştir.

A.B.D'de 1955 yılında Spiltoir (50) tarafından etkenin hayat siklusu çalışılmıştır. Araştırmacılar (51), *Pericystis* adının daha önce kırmızı algler için genus ismi olarak kullanıldığını saptamışlar ve fungusu yeniden sınıflandırmışlardır. *Ascospaera* ve *Ascospaeraeaceae* şeklinde yeni bir genus ve aile tanıtmışlar, *P. alvei* Betts'in geçersiz

olduğunu açıklamışlardır. Spiltoir ve Olive *P. apis* var. *minor*'u *A. apis* (Maassen) Olive at. Spiltoir variety *apis*, *P. apis* var. *major*'u ise *A. apis* (Maassen) Olive at. Spiltoir variety *major* olarak değiştirmişlerdir. *Ascospaera* genusunu içeri alan yeni bir aile oluşturmuşlardır.

Zaman içerisinde *Ascospaeraceae* ailesinin yeni türleri saptanmaya başlamıştır. Bireysel bir arı olan *Megachile centuncularis* L.'de (*M centuncularis*) *A. proliperda* (52), *Megachile willughbiella*'da (*M willughbiella*) yine aynı familya ile ilişkili *Microascus exsertus* (*M exsertus*) tanımlanmıştır (53).

Skou (52) 1972'de *Ascospaeraceae* üyelerinin kültürlerini karşılaştırmış, polen küfü olan *Ascospaera alvei*'nin (*A. alvei*) sporlarını incelemiş, spor toplarında kümelenme olmadığını ve diğer *Ascospaera* türlerinden farklı olduğunu belirlemiştir. Sporların incelenmesi sonucu etkenin *B. alvei*'yi içeren *Bettsia* Skou'dan ayrı bir genus oluşturduğunu saptamıştır.

Stejskal (54) 1974'de Venezuela'da bal arılarında kireç hastalığı etkeni *Arrhenosphaera cranei*'yi *Ascospaera* ailesinin yeni bir üyesi olarak tanımlamıştır.

Skou (55), alfalfa leafcutting bee *Megachile rotundata* (F.) (=pacific Panzer) (*M rotundata*), *M centuncularis* ve *Osmia rufa* L.'den izole ettiği türü *A. aggregata* ve *Osmia rufa* fecesinden izole ettiği türü *Ascospaera fimicola*, *B. alvei*'nin conidial halini *Chrysosporium farinaecola* (Burnside) Skou olarak, *M rotundata*'nın hücrelerinden izole edilen homotallik bir türü *A. atra* (56) olarak, *M rotundata* larvalarından izole edilen heterotallik bir türü *Ascospaera asterophora* (*A. asterophora*) (57) olarak ve *Megachile* türleri ile Avustralya'da bir duvar (mason) arısı *Chalicodoma mystaceana* Michener'den izole edilen bir türü de *Ascospaera osmophila* (*A. osmophila*) olarak isimlendirmiştir (58).

Skou (59) 1985'de *Ascospaera* ailesinin yeni bir üyesi olarak *Osmia cornuta* Latreille yuvasında bulunan polenden izole edilen etkeni *Chrysosporium hispanicum* olarak isimlendirmiştir.

1984'de Rose ve arkadaşları (60) kireç hastalığı sebebi olan *Ascospaera* türlerinin ayrımı için bir anahtar geliştirmişler, iki farklı miselyuma sahip olmayanların üreyemediklerini bildirmişlerdir.

Temel sınıflandırmada spor kistleri, spor topları, ascosporların çap ve uzunlukları, spor kistlerinin yapısı önemlidir (59-61).

Ascospaera spp. ile ilgili taksonomi aşağıdaki gibi belirtilmiştir (52)
Subdivizyon: Ascomycotina

Sınıf: Plectomycetes

Aile: Ascosphaeraceae

Takım: Ascosphaerales

Ascosphaera'ların taksonomik sınıflandırmasında önemli olan spor kist, top ve askospor kriterleri ve Ascosphaeraceae familyasındaki türler Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo-1 Ascosphaera'ların sınıflandırmasında önemli olan taksonomik kriterler (62)

Tür	Spor kistleri çapı (µm)	Spor topları çapı (µm)	Askospor ölçüsü (µm)		Askospor uzunluk/genişlik oranı
			Uzunluk (µm)	Genişlik (µm)	
<i>Ascosphaera apis</i>	80.2 (45-119)	12.5 (7-18)	2.7 (2.0-3.5)	1.4 (1.0-2.0)	1.9
<i>Ascosphaera major</i>	128.5 (59-213)	16.4 (9-24)	3.4 (3.0-4.0)	1.3 (1.0-1.5)	2.6
<i>Ascosphaera proliperda</i>	134.4 (70-208)	17.0 (11.0-25.0)	5.5 (3.5-7.5)	2.5 (1.7-3.5)	2.2
<i>Ascosphaera atra</i>	52.4 (27-76)	12.7 (9.0-18)	7.3 (4.0-9.0)	3.6 (2.0-5.0)	2.0
<i>Ascosphaera aggregata</i>	210 (100-320)	17.1 (10.0-25)	5.2 (3.8-6.8)	2.0 (1.3-2.6)	2.6
<i>Ascosphaera fimicola</i>	64.2 (25-125)	10.3 (6.6-15.5)	3.7 (2.6-4.7)	1.7 (1.1-2.6)	2.2
<i>Bettsia alvei</i>	19-34	Standart yok	3.7	Standart yok	Standart yok
<i>Arrhenosphaera cranei</i>	250 (220-320)	Standart yok, ancak ortalama 70.0	3.2-3.5-4.2	Standart yok	1.3
<i>Microascus exsertus</i>	317	-	1.9-9.4	Standart yok	5.0

Kireç hastalığının en yaygın etkeni *A.apis* heterotallik bir mikroorganizmadır (17, 21, 29, 63, 64). Suşların morfolojik olarak ayırımı yalnız seksüel üreme esnasında mümkündür (17, 21, 47). Sporlar sadece iki farklı cins miselin birbirine temas ettiği bölgede oluşmaktadır. + ve – suşlar bir araya geldiğinde spor keselerinin şekillenmesi ile sonuçlanan seksüel üreme şekillenir. + ve – suşlar morfolojik olarak identikaldir (11, 17, 27, 47, 63). *A.apis*'in şekillenen spor keseleri 45-119 µm çapındadır. Bu sınırlar kültür ısısı, besiyerine katılan substratlara bağlı olabilmektedir. Oluşan spor kistlerinin rengi zeytin yeşilinden kahverengine değişir ve küre şeklindedir. Spor kistleri, kültür yapıldığı zaman farklı alanlarda veya tüm agar yüzeyinde yayılmış olarak bulunur. Larva infeksiyonunda sporlar, larvanın baş bölgesi hariç tüm vücut yüzeyine yayılır. Spor keselerinin içinde kapalı ve küre şeklinde çok sayıda dişi ve erkek spor topları bulunmaktadır. Spor toplarının çapları ise 7-18 µm'dir. Spor toplarının içinde ise bireysel askosporlar bulunmaktadır. Askosporlar hyalin, elipsoid, düzgün duvarlı, tek hücreli, tek çekirdekli yapıda ve yaklaşık 2-3.5 x 1-2 µm ölçülerindedir. Uniform hifalara ve düzenli olmayan septalara sahiptir. Hifalar beyaz, 2.5-6 µm uzunluktadır. *A. apis* miselyumları branşlar arası uzaklığın fazla ayrılmış olması nedeniyle örümcek ağı benzeri bir yapıdadır (11, 17, 29, 50, 63, 64).

Çeşitli araştırmalar sonucunda *A. apis*'in vegetatif formunun gelişmesi için optimal ısının 25-35°C, inkubasyon süresinin 5-15 gün, sporulasyon için ise optimal ısının 30-35°C, inkubasyon süresinin ise 15 gün olduğu ortaya konmuştur (11, 17, 29, 48, 63). Diğer *Ascosphaerae*'lerin optimum gelişim ve sporulasyon sıcaklıkları değeri Tablo 2'de belirtilmiştir.

Tablo-2 *Ascospaera*'lar için uygun üreme sıcaklıkları (11, 29, 48, 63)

Türler	En iyi miselyal gelişme ve sporulasyon sıcaklıkları
<i>Ascospaera apis</i>	Gelişme ve sporulasyon: 11-37°C
<i>Ascospaera major</i>	Gelişme: 11-37°C Optimal sıcaklık: 20°C Sporulasyon: 11-30°C
<i>Ascospaera proliperda</i>	Gelişme (Çok yavaş ya da hiç yok): 10°C Gelişme yavaş (Ascomata üretilmemektedir) : 15°C Gelişme (Çok iyi ve bol sporulasyon): 20-23°C
<i>Ascospaera atra</i>	Gelişme: 11-37°C
<i>Ascospaera aggregata</i>	Gelişme: 25-40°C
<i>Ascospaera fimicola</i>	Gelişme: 11-37°C
<i>Bettsia alvei</i>	Gelişme yok: 20-23°C En iyi gelişme: 18°C
<i>Arrhenosphaera cranei</i>	Gelişme: 11-37°C
<i>Microascus exsertus</i>	Gelişme: 5-40°C

A. apis'in miselyumları sadece aerobik koşullar altında gelişir (11, 36, 48). Ancak sporların gelişimi için karbondioksit kaynağına (% 10 CO₂) ihtiyaç duyulabilir (11, 17, 29). İngiltere'de yapılan bir çalışmada havada % 5'ten daha az CO₂ bulunan ortamda *A. apis* etkeninin sporlarının yarısı, % 12.5 CO₂ bulunan ortamda ise sporların tümünün gelişim gösterdiği rapor edilmiştir (65).

Maurizio (48) *Ascospaera* türlerinin arabinose, dextrose, mannose, galaktose, sucrose, maltose ve lactose, dextrin ve nişastadan yararlandığını bildirmiştir. Gouchnauer ve Margetts (66) trehalose, glucose, galactose ve fructose'nin *A. apis*'in gelişimini uyardığını bildirmişlerdir.

A.apis enzimatik aktiviteye sahiptir. Alonso ve arkadaşları (67) tarafından yapılan bir çalışmada 3 adet referens suş ve 125 adet saha suşu API ZYM (BioMerieux) ile incelenmiş, tüm suşlarda alkaline phosphatase, acid phosphatase, esterase (C4), leucin aminopeptidase, phosphoamidase aktivitesi saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca hiçbir suşta lipase (C14), trypsine, α -galactosidase, β -glucuronidase ve α -fucosidase aktivitesine rastlanmadığı bildirilmiştir. Gilliam ve arkadaşları (68) 15 adet *A. apis* suşunun enzimatik aktivitesini seksüel ve aseksüel suşlarda API ZYM ile incelemişler, tüm suşların alkaline phosphatase, butirat esterase, leucine aminopeptidase, acid phosphatase ve β -glucosidase ürettiğini, valine aminopeptidase'in sadece aseksüel üreyen suşlar tarafından üretildiğini rapor etmişlerdir.

A. apis'in içerdiği yağ asitlerinin izolasyonu ve identifikasyonu yapılmış, elde edilen linoleik asitin antimikrobiyal özellik gösterdiği ve özellikle Amerikan yavru çürüklüğü'nün etkeni *Paenibacillus larvae*'ye karşı yeni, etkili ve ucuz bir antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (69).

A. apis'in üretilmesi için birçok besiyeri kullanılmaktadır. Fakat birçok araştırmacı potato dextrose agar (PDA) (1, 9, 11, 17, 19, 23, 52, 63, 70) ve %20 dextrose içeren malt yeast agarın (MY20) (malt agar + %4 yeast extract + % 20 dextrose) (23, 42, 70) kullanılmasını önermektedir. Ancak *A. apis*'in üretilmesi için saboraud dextrose agar (SDA), milk agar, egg yolk agar, nişasta-glucose-yeast agar, oatmeal (yulaf ezmesi) agar, coon medium, wort agar, carrot glucose agar, whole wheat kernel (tam buğday çekirdeği) medium, integral rice kernels (pirinç çekirdeği) medium da çeşitli araştırmacılar tarafından önerilmektedir (70-74).

A.apis'in üremesini arttırmak için PDA, malt agar ve SDA'ya % 0.4 yeast extract katılmasının uygun olduğu bildirilmiştir (11, 19, 63). Thomas ve Luce (36), polen içeren mediumda *A. apis*'in iyi bir gelişim gösterdiğini rapor etmiştir. *A. apis*'in kompleks nitrojen ihtiyacını karşılamak için % 0.1 asparagin, cystein veya cystinin besiyerine katılmasının üremeyi stimüle ettiği bildirilmiştir (19, 29, 48).

Spor oluşumunu daha iyi görmek için Avrupa Yavru Çürüklüğü'nün etkeni *Melissococcus pluton*'un (*M pluton*) üretilmesi için kullanılan yeast glukoz fosfat (YGPS) agar kullanılması da önerilmektedir (19, 75, 76).

PDA'da güçlü vegetatif üreme ve aerial hifaların görüldüğü, MY20 agarda ise aerial hifa üremesi olmaması nedeniyle mikroskopik incelemeler ve sporulasyon için daha uygun olduğu bildirilmiştir (19, 29, 48, 63).

A. apis besiyerinde pamuk benzeri koloniler şeklinde gelişirler. + ve – suşlar morfolojik olarak benzerlik gösterir. Farklı suşlar aynı medium üzerinde üretildiğinde üreme zonlarının birleşme yerinde spor kistleri şekillenir. Koloniler kısmen yavaş gelişir ve 10 gün içinde 5-7 cm çapında koloniler oluşturur. Oluşan aerial miselyumlar uzun, lifli pamuk benzeri görünümde veya mat, beyazdan soluk sarıya değişen renklerde. Ayrıca inkubasyon süresine bağlı olarak mercan renginden soluk kırmızımsı kahverengine değişebilirler (19, 29, 63, 64). *Ascospaera*'ların ürettiği besiyerlerindeki koloni morfolojisi Tablo-3'te özetlenmiştir.

Tablo-3 *Ascospaera*'ların besiyerlerinde görülen kolonilerinin morfolojileri (17, 19, 29, 62-64)

Fungus	Besiyerlerindeki koloni morfolojisi
<i>Ascospaera apis</i>	Gevşek örümcek ağı benzeri ve pamuk benzeri görüntü
<i>Ascospaera major</i>	Besiyerine gömülmüş, çukurumsu
<i>Ascospaera proliperda</i>	Besiyerine gömülmüş, çukurumsu
<i>Ascospaera atra</i>	Çok dağınık görünüm
<i>Ascospaera aggregata</i>	Medium yüzeyinde kalın dokuma benzeri, dağınık
<i>Ascospaera fimicola</i>	Tipik değil
<i>Bettsia alvei</i>	Kayan veya besiyerine gömülü koloni
<i>Arrhosphaera cranei</i>	Kayan veya besiyerine gömülü koloni
<i>Microascus exsertus</i>	Tipik değil

A. apis toprakta, bitkilerde, bal arılarının gıda zinciri içinde, kovanda depo edilmiş balda ve polende, petek yüzeylerinde, su kaynaklarında, erişkin arıların sindirim sistemi ve vücut yüzeylerinde bulunabilmektedir (11, 17, 29).

A. apis etkeninin sporları çevre şartlarına oldukça dirençlidir ve en az 15 yıl infektif kalabilmektedir. Sporlar depolanmış bal, polen, polen kapsül ve tabletleri, kovan ekipmanlarında, arıcılıkta kullanılan alet ve ekipmanlar ile özellikle infekte arılıktaki toprakta uzun yıllar canlı kalabilmektedir (17, 76-78). *A. apis*'in 27°C' den daha düşük sıcaklıkta en az bir yıl ve polenlerde ise en az 12 ay canlı kalabildiği bildirilmiştir (78). *A.*

apis bulunan balların 65°C' de dört saat ve 70°C' de bir saat tutulduklarında etkenin gelişmesinin yavaşladığı, 65°C' de sekiz saat ve 70°C' de iki saat tutulduklarında ise balda etkenin saptanmadığı bildirilmiştir (10).

A. apis'in -16°C' de beş gün (79) ya da 12°C' de (78) bir yıl tutulduktan sonra optimum şartlar sağlandığında gelişmesine normal olarak devam ettiği bildirilmiştir.

Değişik ısı dereceleri ve rutubet oranlarında kireç hastalığının görülme oranı karşılaştırılmış, petek gözleri kapatıldıktan sonra 25°C sıcaklığa maruz kalan larvalarda mumifikasyon oranının % 77.62, 30°C'de % 15.31, 35°C'de % 2.22 olduğu saptanmıştır. 30°C sıcaklık ve % 87 nem oranında mumifikasyon oranının % 7.75, aynı sıcaklık ve % 68 nemde ise % 0.95 olduğu bildirilmiştir (80).

Etkenin askosporlarının duvarlarının derişik sülfirik asite dirençli olduğu saptanmıştır (77). Askosporların % 20 formaldehite dayandıkları, kalın bir dış kabuk ile çevrili olması nedeniyle birçok organik ve inorganik maddeye karşı direnç gösterdikleri, düşük metabolizması nedeniyle de dış etkenlere uzun süre dayanabildikleri bildirilmiştir (81, 82).

Etkenin sporları özellikle soğuk ve nem oranı yüksek bölgelerde daha kolay gelişir. Bu nedenle özellikle yağış oranı yüksek olan ilkbahar ve sonbahar aylarında infeksiyona daha sık rastlanır. Özellikle ilkbahar aylarında, kolonilerin hızla genişlemesi ve erişkin arıların bakmakla yükümlü olduğu yavru sayısı fazla olmasından dolayı kireç hastalığına oldukça sık rastlanır. Hastalık Nisan'dan Ekim ayına kadar görülebilir. En yoğun görüldüğü aylar ise Mayıs-Haziran aylarıdır (1, 17, 20).

Özellikle petek gözleri kapatıldıktan hemen sonra üşüyen larvalarda hastalığa duyarlılık artmaktadır. Üşüme, sıcaklığın normal 35°C'den 30°C'lik sıcaklığa birkaç saatliğine düşmesi sonucu oluşur. Üşüme sırasında oksijen bağırsağa gelir ve miselyumlar reaktif olur, sıcaklık 35°C'ye ulaşana dek gelişimine devam eder (1, 76). Üşümeye maruz kalan larvaların yaşları hastalığın görülmesinde etkilidir, ileri yaşlardaki larva ve pupalarda kireç hastalığı insidensi oldukça düşüktür (83).

Kış aylarında kovanda havalandırma iyi olmadığı için *A. apis* sporları latent olarak kalır. Bu da sporların ilkbahar ya da erken yaza kadar peteklerde kalmasına ve böylece larvaların infekte olmasına neden olmaktadır (84).

Hastalığa özellikle 3-4 günlük bal arısı larvaları çok duyarlıdır. Yapılan bir çalışmada 3-5.5 günlük larvaların hastalığa eşit derecede duyarlı olduğu, larva ve prepupaların *A. apis*'e oldukça duyarlı olduğu, yumurta ve pupalarda ise etkenin gelişmediği rapor edilmiştir. Arı sütünden ise *A. apis* izolasyonunun yapılamadığı, arı sütünün antimikrobiyal etkisi nedeniyle *A. apis*'in gelişimini engellediği bildirilmiştir (17, 19).

Arıların diyetleri de kireç hastalığından ölüm süresini etkilemektedir. Polen + şekerle beslenen arılarda ölüm süresi uzun ve sporulasyon oranı düşük, polen + polen ile beslenen arılarda ise ölüm süresi kısa ve sporulasyon oranı yüksek olarak rapor edilmiştir (85). Yine başka bir çalışmada doğal diyetle beslenen larvaların yapay diyetlerle beslenenlere göre enfeksiyona daha dirençli olduğu belirlenmiştir (86). Inglis ve arkadaşları (87) γ -ışın uygulaması yapılan gıdalar ile beslenen arılara spor inokulasyonu yapıldığında kireç hastalığı görülme oranının % 50.2, sterilize edilmeyen gıdalarla beslenen arılarda ise bu oranın % 67.6 olduğunu rapor etmişlerdir.

Erişkin larvaların hastalığa yakalanma olasılıkları düşüktür. Hastalık ergin arılarda görülmez. Erkek arı gözleri yavrulu petekte sıcaklığın daha düşük olan dış kenarında bulunduğu için erkek arı larvaları hastalıktan daha fazla etkilenir. İşçi arılar erkek arı gözlerini temizlemeyi ihmal ettiği için hastalık daha şiddetli seyreder (1, 17, 19).

Ascospaera'ların bulunduğu konakçı grubu Tablo-4'te belirtilmiştir.

Tablo-4 Ascospaera türlerinin konakçı türleri (1, 17, 62, 64)

Etken	Konakçısı
<i>Ascospaera apis</i>	<i>Apis mellifera</i> (Bal arısı)
<i>Ascospaera major</i>	<i>Apis mellifera</i> (Bal arısı) <i>Megachile centuncularis</i> Bombus arısı
<i>Ascospaera prolipepa</i>	<i>Megachile centuncularis</i>
<i>Ascospaera atra</i>	<i>Megachile rotundata</i> <i>Apis mellifera</i> (Bal arısı)
<i>Ascospaera aggregata</i>	<i>Megachile centuncularis</i> <i>Megachile rotundata</i> <i>Megachile pacifica</i> <i>Osmia cornuta</i> <i>Osmia lignaria</i> <i>Osmia rufa</i> <i>Stelis</i> sp. <i>Anthidium</i> sp.
<i>Ascospaera fimicola</i>	<i>Osmia rufa</i> -Saprofit
<i>Bettisia alvei</i>	<i>Depolanmış polen</i> -Saprofit
<i>Arrhenoshaera cranei</i>	<i>Apis mellifera</i> Polen
<i>Microascus exsertus</i>	Koza <i>Megachile willughbiella</i>

Kireç hastalığının Türkiye’de 1988 yılında klinik olarak teşhis edilmesinden yaklaşık iki ay sonra hastalığın Aydın, Muğla, Ankara, Çankırı, Edirne, Sivas ve Bitlis illerine yayıldığı bildirilmiştir. Eylül 1989 yılında yapılan bir araştırmada hastalığın bütün illerimizde saptandığı bildirilmiştir (1, 20).

Kireç hastalığı dünyada en hızlı yayılan arı hastalığı olarak değerlendirilmektedir. Asya ve Japonya’da ise en ciddi bal arısı hastalığı olarak kabul edilmektedir. Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’da infeksiyonun yaygın olduğu, Afrika ve Güney Amerika’da pek rastlanmadığı bildirilmiştir (17, 19, 88).

Dünyada arılarda mantar hastalıklarının etkenlerinin belirlenmesi, hastalığın görülme sıklığı ve yayılma oranıyla ilgili gerek klinik gerekse mikrobiyolojik düzeyde birçok çalışma yapılmıştır (9, 13, 15, 27, 88).

1997 yılında Amerika Kaliforniya Santa Cruz adasında (88) bal arılarından 20 adet *A. apis* suşu izole edildiği bildirilmiştir.

1999-2000 yılları arasında Fransa’nın değişik bölgelerindeki 41 arılıktaki bal arısı kolonilerinde kış ölümlerinin sebepleri araştırılmış, *Varroa* % 40, Kireç hastalığı % 36, Avrupa Yavru Çürüklüğü (European Foulbrood) % 33, Nosemosis % 31, Amerikan Yavru Çürüklüğü (American Foulbrood) % 30 ve Kronik paraliz % 19 olarak rapor edilmiştir (12).

Kanada’da klinik bulgular incelenerek kireç hastalığı taraması yapılmış, 5374 koloninin 1694’ünde (% 31.5) hastalık semptomlarına rastlandığı bildirilmiştir. İlk hastalık bildiriminden sonra Kanada’da kireç hastalığının hızla yayıldığı rapor edilmiştir (39).

Batı Kanada’daki dört bölgede kireç hastalığının klinik olarak incelemeleri yapılmış, ortalama oran % 28 (89) ve yine Kanada’da kışlatma yapılan kolonilerde kireç hastalığı % 0.8, paket arıcılık yapılan kolonilerde ise % 2.3 olarak bildirilmiştir (90).

Kosta Rika’da Afrika bal arılarında mantar hastalıklarında en fazla izole edilen etkenin *A. apis*, daha sonra *Penicillium* sp., daha az olarak *Beauveria* sp. ve *Cladosporium* sp. olduğu bildirilmiştir (9).

İsrail’de Mayıs 1984’ten Mayıs 1985’e kadar toplam dört arılıkta 2000 civarında kovanın taraması yapılmış, arılıklardaki kireç hastalığı oranı % 1-3 olarak bildirilmiş, bunun İsrail’de bildirilen ilk kireç hastalığı raporu olduğu bildirilmiştir (8).

1987 yılında Güney Kore’de beş adet *Apis cerena* kolonisinden kireç hastalığı benzeri klinik bulgular gösteren bir koloniden *A. apis* izole edildiği bildirilmiştir. Bu arada çarpıcı

olmasından dolayı *A. cerena* arı kolonisinin yaklaşık 500 metre yakınlarında kireç hastalığı ile ağır derecede infekte olmuş 20 *A. mellifera* kolonisi bulunduğu rapor edilmiştir (13).

Kore’de 2001-2002 yılları arasında farklı bölgelerdeki 42 arılıkta bal arısı hastalıkları incelenmiş, arılıkların % 42’sinde Avrupa yavru çürüklüğü, % 62’sinde kireç hastalığı, % 21’inde her iki hastalığın bulunduğu, % 17’sinde ise her iki hastalığın da bulunmadığı bildirilmiştir (91).

1987-1992 yılları arasında İran’ın güneybatı bölgelerindeki değişik alanlarında bulunan 209 *Apis florea* kolonisi, mantar hastalıkları yönünden incelenmiş ve klinik olarak hastalık belirtisi gösteren 600 mumya larva mikrobiyolojik olarak incelendiğinde 252’sinin (% 42) *A. flavus*’la, 138’inin (% 23) *A. niger*, 72’sinin (% 12) *A. fumigatus*, 102’sinin (%17) iki ya da üç türle, 36’sının (% 6) ise diğer üç mantar türüyle (*Penicillium* sp., *Paecilomyces* sp. ve *Phoma* sp.) infekte olduğu bildirilmiştir (18).

Tysett ve arkadaşları (92) tarafından yapılan bir çalışmada ticari ballarda *Ascosphaera*, *Aspergillus*, *Cephalosporium* ve *Penicillium* saptandığı rapor edilmiştir.

Avustralya ballarının mikrobiyolojisi üzerine yapılan bir çalışmada 60 bal örneğinin yedi tanesinde (% 11.7) *A. apis* izole edildiği bildirilmiştir (27).

Ankara ve çevresinde taraması yapılan 156 kovanın altı (% 10.7) tanesinden kireç hastalığı etkeni *A. apis*’in izole edildiği bildirilmiştir (4).

Kaftanoğlu ve arkadaşları (2) tarafından yapılan bir araştırmada arı hastalıkları, arıcılara uygulanan anketler ile değerlendirilmiş ve illere göre dağılımı rapor edilmiştir. Türkiye’de 2794 arıcı ile yapılan anket çalışmalarında arıcıların % 73’ü kovanlarında kireç hastalığı klinik bulgularının görüldüğünü bildirmişlerdir. Türkiye’deki belirli illere göre rapor edilen kireç hastalığının dağılımı Tablo-5’ te gösterilmiştir.

Tablo-5 Kireç hastalığının illere göre dağılımı (2)

İLLER	DEĞERLENDİRİLEN ANKET SAYISI	KİREÇ HASTALIĞI % ORANI
ADANA	102	85.3
AKSARAY	20	80.0
ANTALYA	25	100.0
ARTVİN	70	88.6
AYDIN	34	58.8
BALIKESİR	79	53.2
BARTIN	16	100.0
BİLECİK	11	81.8
BİTLİS	26	100
BOLU	109	57.8
BURDUR	101	30.2
BURSA	46	23.9
ÇANKIRI	111	94.5
ÇORUM	21	83.3
DENİZLİ	32	65.6
DİYARBAKIR	63	33.3
EDİRNE	74	95.9
ERZİNCAN	54	35.2
HATAY	21	90.5
ISPARTA	80	77.5
İÇEL	16	100.0
İZMİR	14	85.7
K.MARAŞ	100	13.0
KARAMAN	35	91.4
KASTAMONU	49	100.0
KIRIKKALE	12	83.3
KÜTAHYA	17	100.0
MALATYA	51	23.5
MANİSA	32	96.9
MUĞLA	152	63.2
NEVŞEHİR	94	40.4
NİĞDE	123	78.0
ORDU	31	94.0
RİZE	16	68.8
SAKARYA	65	83.1
SİVAS	26	23.1
TOKAT	37	89.2
TRABZON	44	93.1
TUNCELİ	30	70.0
UŞAK	33	78.8
YOZGAT	38	81.6
	2794	ORTALAMA 73.0

Çakmak ve arkadaşları (28), Bursa ve çevresindeki balarısı zararlılarını tespit etmek için 22 bölgeden 217 kovani incelemişler ve klinik olarak kireç hastalığının oranını % 26 olarak bildirmişlerdir.

Bursa ve Yalova yörelerinde yavru çürüklüğü şüpheli 24 farklı arılıktan elde edilen eski peteklerde ve ticari firmalar tarafından üretilen 11 hazır petekte insan ve arı sağlığına zararlı bakteriyel ve fungal etkenler incelenmiş, temel ticari peteklerin bir (% 16.7) tanesinde *Candida* spp., eski peteklerin tamamında ise bakteriyel ve fungal etkenler (*A. fumigatus*, *Candida* spp., *Cladosporium corroni*, *Penicillium* spp.) bulunduğu rapor edilmiştir (30).

A. apis'in askosporları, larvaların beslenme gıdaları, depolanmış gıdalar ve bakıcı arıların vücut yüzeyleri ile bulaşır. Askosporlar toprakta, bitkilerde, su kaynaklarında, petek yüzeylerinde, polen ve nektar toplayan tarlacı arıların vücut kılları arasında ve erişkin arıların sindirim sisteminde bulunabilmektedir (1, 2, 11, 17, 19, 20). *A. apis*'in askosporlarının tarlacı arılar tarafından nektar, polen ve su kaynaklarından alınarak sağlıklı koloniye taşındığı bildirilmiştir (93). Kireç hastalığının etkeni *A. apis*'in işçi arıların polen yükleri, vücut yüzeyleri, ve arılıkta bulunan su kaynağından izole edildiği rapor edilmiştir (94). *M. rotundata*'larda erişkin arıların taşıdığı spor yükleri incelenmiş ve 1.0×10^5 ile 1.6×10^7 arasında *Ascospaera* sporlarını taşıdıkları bildirilmiştir (95). Generatif üreme sonucu bir larva üzerinde 10^4 - 10^9 spor bulunabildiği bildirilmiştir (11, 17, 19, 29).

Etken, infekte kolonilerdeki arıların barsaklarında bulunabilmekte ve kışın da arıda ve balda kalabilmektedir (48). İnfekte kolonilerdeki erişkin işçi arıların bal kursaklarından *A. apis* izole edilmiş, dolayısıyla yiyecek alışverişi sırasında sporların gıda aracılığı ile arıdan arıya ve larvalara bulaştığı, hastalıklı kolonilerden elde edilen balların verildiği sağlıklı kolonilerde de görüldüğü bildirilmiştir (77, 96).

Etkenin askosporlarının mevcut bulunduğu petek ve petek duvarından larvaların kitinlerinin duvara teması sonucu infeksiyon şekillenebilmektedir (97, 98). Kireç hastalığı, kontamine arılar ve kraliçe ile de bulaşabilmektedir (12, 96). Moeller ve Williams (93) kireç hastalığı görülen kolonilerdeki ana arının sağlıklı kolonilere verilmesi sonucu, sağlıklı kolonilerde de üç hafta içinde hastalığın semptomlarının görüldüğünü saptamışlardır.

Polenlerin de etkenin sporlarını taşıdığı ve hastalığın bulaşmasına neden olduğu belirtilmiştir (99-102). Hale ve Menapace (78) sporların polenlerde en az 12 ay canlı kalabildiğini vurgulamışlardır.

Birçok araştırmacı bireysel veya yabani arıların kireç hastalığının bulaşmasında önemli rolü olduğunu, yabani arı yuvalarının önemli infeksiyon kaynaklarından biri olduğunu bildirmişlerdir. Batra ve arkadaşları (16) *Megachile* türü arılar ve bireysel arı *Anthophora pacifica*'dan, Baker ve Torchio (34) *Megachile inermis* Provancer ve toprak arısı olan *Anthopra pacifica* Cresson'dan ve Rose ve arkadaşları (60) alkali arı, *Nomia melanderi* Cockerell'den ve alfalfa leafcutting arısı *M rotundata*'dan *A. apis* ve diğer Ascosphaera türlerini izole etmişlerdir. Hastalığın, infekte kolonilerdeki bal arıları ve yabani arıların hastalık bulunmayan bölgelerdeki çiçeklere gelmesiyle de yayılabildiği bildirilmiştir (17, 19, 94). Ayrıca infeksiyonun bulaşmasında yağmacılık (12, 14, 82, 94, 99, 103-105), kovanlarını şaşıran arılar, hastalıklı kovanlarla sağlıklı kovanların birleştirilmesi (11, 12, 14, 82, 94, 99, 103-105), arıcılıkta kullanılan alet ve ekipmanlar (eldiven, el demiri, ayakkabı, giyisiler), kovanlar arasında petek aktarımları, arıcılar, gezginci arıcılık (11, 14 82, 12, 99, 103-105), kuşlar (11, 12, 99), rüzgar (12, 99), yağmur da (12, 94, 99) nemli rol oynamaktadır.

İnfeksiyonun gelişmesinde etkili olan birçok faktör vardır. Bunlar:

1-İklim şartları: Kireç hastalığına neden olan etkenin sporları özellikle,soğuk ve rutubet oranı yüksek bölgelerde daha kolay ürerler. Bu nedenle hastalık çoğunlukla yağışın bol olduğu serin ilkbahar ve sonbahar aylarında yoğunluk gösterir. Serin ve rutubetli bölgelerde yerleşmiş bulunan arılıklarda gece sıcaklığının azaldığı, yağışlı geçen yaz aylarında da hastalık ortaya çıkabilmektedir (1, 7, 17, 19, 20, 106).

Yapılan bir çalışmada yüksek relatif nem ve yüksek ısı nedeniyle Almanya'nın doğu bölgesinde kireç hastalığının epidemik olarak seyrettiği rapor edilmiştir (17).

2-Stres faktörleri: *A. apis* fırsatçı bir patojendir. Özellikle arı kolonilerinde olumsuz koşulların ortaya çıktığı durumlarda etken aktif duruma geçer. Arı ailelerinin yetersiz beslenmesi, nektar akışının az olması ve açlık larvaların direncini düşürür ve fırsatçı patojenlerin etkili hale gelmesine neden olur. Ayrıca arı kolonilerinin birleştirilmesi, kovanların nakli, yağmacılık gibi stres faktörleri de oldukça etkili olur (1, 7, 11, 17, 19, 20, 29).

3-Diğer hastalıklar ve zararlılar: Avrupa ve Amerikan yavru ürüklüğü, *Varroa*, kovandaki diğer paraziter ve viral infeksiyonlar arı ailesinin dirençlerinin azalmasına neden olarak *A. apis*'in üremesini kolaylaştırmaktadır (1, 7, 19, 20).

Kovana gıda sağlayan işçi arıların yüksek oranda tracheal akar ile infeste oldukları durumda koloni zayıflar, işçi arılar kireç hastalığı bulunan hücreleri temizleyemezler. Bunun sonucu olarak infeksiyonun kontrol ve eradike edilememesi nedeniyle, kireç hastalığı daha yoğun görülür (107). Maurizio (48) Avrupa yavru çürüklüğüyle infekte kadavraların bulunduğu peteklerde sekonder olarak kireç hastalığına rastladığını rapor etmiştir. Kireç hastalığının nosema, bakteriyel septisemi, rickettsia ve sacbrood infeksiyonu ile birlikte görüldüğüne dair çok sayıda rapor bulunmaktadır (93, 99,108).

Ayrıca, yapılan birçok araştırmada *Varroa* ve kireç hastalığının birlikte görüldüğü, *Varroa*'nın kireç hastalığı etkeni *A. apis*'in taşıyıcısı olabileceğı bildirilmiştir (109-111). *Varroa* ve diğer bakteriyel yavru çürüklüğü infeksiyonları kovanda mevcut ise en kısa sürede infeksiyon mücadelesi gerçekleştirilmelidir (1, 7). Liu (109) tarafından yapılan bir çalışmada *Varroa* ile infeste kolonilerde kireç hastalığı insidensinin % 13.5-52.3, *Varroa* enfestasyonu bulunmayan kolonilerde ise insidensin % 10-18.8 olduğı bildirilmiştir. *Varroa* akarında da *A. apis* sporlarının izole edildiğı, elektron mikroskobu ile *Varroa* akarının kütikulası incelendiğinde ise *A. apis* sporlarının kütikulaya yapışmış durumda olduğı belirlenmiş, bu sonuçlara göre de *Varroa* akarının kireç hastalığının potansiyel vektörü olabileceğı bildirilmiştir (109).

4- Eski peteklerin kullanımı: Eski peteklerdeki yavru gözlerinde arı larvalarına ait dışkı ve pupa kalıntıları mantar sporlarının gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır (1, 7, 104, 105).

Yapılan birçok araştırma sonucunda *A. apis* sporlarının infekte kolonilerin peteklerindeki hücrelerde, larva artıklarında, dışkılarda ve balmumunda uzun süre canlı kaldığı, ve uygun ortam bulduğunda infeksiyonun tekrar ortaya çıktığı belirlenmiştir. (76, 104, 105, 112, 113)

5-Hava ve çevre kirliliğı: Hava kirliliğı ve tarımda aşırı gübre kullanımı sonucu oluşan çevre kirliliğı mantar sporlarının gelişmesi için uygun bir ortam oluşturur. Gübrelerden suya geçen üre, nitrat ve nitrit gibi azotlu maddeler arıların midesinde amonyağa dönüşerek arıların mide florasını bozar ve hastalıklar için uygun ortam oluşturur (1, 7, 26)

6-Aşırı antibiyotik kullanımı: Arılarda görülen bakteriyel hastalıkları önlemek amacıyla kullanılan çeşitli antibiyotikler, aşırı derecede kullanılırlarsa arıların intestinal florasını bozarak aktif olmayan mantar sporlarının aktif hale geçip üremesi için uygun ortam

oluştururlar (1, 7, 114-116). Bazı araştırmacılar ise yavruların üşümesi, rutubet oranının yüksek olması gibi durumlarda antibiyotiklerin özellikle de oksitetrasiklinin kireç hastalığının ortaya çıkışını arttırdığını bildirmişlerdir (114, 117, 118).

7-Aşırı şurup kullanılması: İlkbahar ve sonbaharda arılara fazla miktarda şurup verilmesi sonucu kovan içindeki nem miktarı artar ve havalandırmanın yetersiz olduğu kovanlarda mantar infeksiyonlarına neden olur (1, 7, 20)

8-Hijyenik davranışlarda bozulma: Bazı arı kolonilerinde temizliğe dikkat etmeyen işçi arılar bulunabilir. Petek gözlerindeki hastalıklı mumya larvaların kuruduktan sonra kovandan uzaklaştırılmasında görevlerini yerine getirmeyen bireyler, hastalığın artması ve devam etmesine neden olur (119-123).

9-Hassas koloniler: Kireç hastalığına genetik olarak duyarlı kolonilerde etkili tedavi yöntemleri uygulansa bile başarı sağlanamayabilir, bu gibi kolonilerde ana arıların değiştirilmesi etkili olabilmektedir (124-126).

Ayrıca arıların kireç hastalığına karşı duyarlı olmasında beslenme, mikrobiyal flora ve abiyotik faktörlerin de etkili olduğu belirlenmiştir (127).

Arıların kireç hastalığına duyarlılığında mantar suşları da önem taşımaktadır. Goettel ve arkadaşları (128) tarafından yapılan bir çalışmada *A. aggregata* “French derived univoltine” suşu ile Kanada suşu karşılaştırılmış ve arıların bu suşa Kanada suşundan daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir.

Arı larvaları, *A. apis*'in sporlarını beslenme sırasında alırlar. Sporların germinasyonu larvanın özellikle orta barsak lümeninde, dokularda CO₂ aktivasyonunun da etkisiyle başlar ve miselyumlar gelişir, özellikle de arka uçta çimlenir (1, 17, 19, 129-132). Sporların midenin peritrofik membranında ve epitelyumunda da geliştiği görülmüştür (129-131). *A. aggregata* sporları ise *M rotundata*'larda mide ve orta barsakta ürer ve hemosele penetre olur (131, 132).

Miselyumlar barsak duvarına penetre olur, larva vücudunun arka kısmından dışarıya çıkarlar, baş genellikle etkilenmez. Larvaların dış yüzeyinde gelişme başlar ve larvayı kaplar. Sporların germinasyonu anaerob olarak da oluşabilir (1, 7, 19, 129-134).

Üreyen miseller birtakım toksinler salgılar, larvaların ölümünde bu toksinler de sorumludur (7, 17, 129-130).

Larvanın derisinden dışarı yayılan mantar miselleri, vücut yüzeyinde beyaz tüy gibi bir tabaka oluşumuna neden olur. Gri-beyaz, açık sarı-yeşilimtrak renkte ve yumuşak süngerimsi yapıdaki larva ilerlemiş olaylarda sertleşir ve “mumya larva” görüntüsünü alır. Bir larva tek cinsiyetteki miseller (aseksüel) ile kaplanmış ise beyaz renk alır. Bu karakteristik görünümü nedeniyle hastalığa “Kireç Hastalığı” ya da “Tebeşir Hastalığı” denmiştir. Eğer larva her iki tür mantar miseli ile (seksüel) infekte olmuş ise, mumyalaşmış larvalar siyah benekli, koyu gri noktalı ve siyah renkte görülür (1, 11, 17, 19, 20, 29, 133,134).

Hastalığın yoğun seyrettiği durumlarda açık yavru gözlerinde beyaz pelte kıvamında ölü larvalara rastlanabilir. Kapalı yavru gözlerinde ölen larvalar ise genellikle olgun larva ya da prepupa dönemindedir. İşçi arıların bu larvaları ilk günden fark edip uzaklaştırmaları zordur (1, 17).

Kolonilerdeki arı sayısı azaldığında yavrulu çerçevelerin dış kenarındaki erkek arı larvalarının gelişimi için gerekli optimum sıcaklık sağlanamaz. Mantar sporları bu dönemde aktif duruma geçerse, hastalığın ilk belirtisi çerçeve kenarındaki erkek yavru gözlerinde ortaya çıkar. Hastalığın ileri dönemlerinde mumya larvalara yavrulu çerçevelerin orta kısmında da rastlanır. Eğer koloni şiddetli derecede infekte olmuş ise gözler kapalı kalır ve mummyalar petek silkelendiğinde petek gözlerine çarparak ses çıkarabilirler. Larva kalıntılarına kapalı ya da açık petek gözlerinde rastlanabilir. Larvaların çoğu öldüklerinde dik konumdadırlar. Erişkin arılar ölü larvaları farkedebilirlerse kovandan uzaklaştırırlar. Mumya larvalara kovan girişlerinde, uçuş tahtasında ve kovanın çevresinde rastlanabilir (11, 17, 20, 96, 101).

Kireç hastalığı etkenini işçi arıların % 20’si taşıyacak olursa, koloninin bal üretimi % 80-90, besin toplama kapasiteleri % 49 arasında azalmakta ve koloniler güçlerinin % 23’ünü kaybetmektedir (1).

Kireç hastalığı ve taş hastalığına karşı en etkili savunma sistemi, kütikulanın antifungal etkiye sahip koruyucu bariyeri, doymamış yağ asitleri tracheal sistem ve barsaklardır. Fungal invazyonların önlenmesinde, kütikulanın sertliği ve fazla geçirgen olmaması, mide-barsak sıvısının biyokimyasal ortamı, nem oranı düşük tracheal sistemle birlikte peritrofik membran, arı vücut boşluğundaki mekanik ve fizyolojik bariyerler oldukça etkilidir. Ayrıca arıların hijyenik davranışları, işçi arıların antimikrobiyal sekresyonları ve arı homoseli mikotik infeksiyonlara karşı önemli savunma mekanizmalarıdır (135-138).

Bal, nektar ve polenin antimikrobiyal aktivitesi çok sayıda saprofitik bakteri ve mantarın depolanmış gıdalarda gelişmesini inhibe eder ve çok sayıda patojenik mikroorganizmayı da yok eder (17, 19). Arı sütü de *A. apis* gibi mantar etkenlerinin gelişmesini inhibe eder ya da geciktirir. Propolis ve balmumu da arıların antimikrobiyal savunmasında oldukça etkilidir (138).

Yapılan birçok araştırma sonucu mantar hastalıkları özellikle de kireç hastalığına karşı savunmada hijyenik davranışların oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır. Hijyenik davranışlar hastalıklı ve ölü larvaların işçi arılar tarafından hızla kovandan uzaklaştırılması, kolonideki ölü insektlerin uzaklaştırılması ve petek gözlerinin temizlenmesi ile karakterizedir (138). Hijyenik ırkların hastalığa daha dirençli olduğu, hijyenik ırklardan transfer edilen işçi arıların non-hijyenik arı kolonilerinde hijyenik davranışları arttırdığı ve hijyenik ırklardan elde edilen anaların yetiştirmelerde kullanılmasının hastalıklara karşı dirençli ırkların gelişmesi ve hijyenik davranışların artırılmasında etkili olduğu rapor edilmiştir (119-126, 139-143). Hijyenik davranışların genetik ve doğal en az iki mekanizmanın kontrolü altında olduğu düşünülmektedir (138). İki resesif gen tarafından kontrol edilen hijyenik davranışlar, hastalıklı larvanın petek gözünün kapatılmaması ve mumya larvaların uzaklaştırılmasıdır (144). Kolonideki arı sayısı azaldığı zaman hijyenik koloniler etkilenir ve hijyenik aktivite yavaşlar, non-hijyenik koloniler ise etkilenmez (138). Taber (144), hijyenik davranışlara sahip olan arıların kireç hastalığına karşı dirençli olduğunu rapor etmiştir. Stephen ve Fichter (145) *M. rotundata*'larda kireç hastalığı etkeni *A. aggregata*'ya genetik dirençliliği incelemiş ve hastalığa dirençlilikte genlerin etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Arılarda entomopathogenik mantar türlerine karşı hücresel immün yanıt da söz konusudur. Hücre aracılı immün yanıt iki ana kategoriden oluşur: Bunlar, fagositozis ve yabancı cisimlerin kapsulasyonu ile antimikrobiyal immün proteinlerden oluşan cell-free savunma mekanizmasıdır. Fagositozis ve kapsulasyon mantar infeksiyonlarına karşı savunmada oldukça etkilidir. Fagositozis bakteri ve mantar sporlarının etkisiz duruma getirilmesinde önemlidir (138).

Arılarda mantar infeksiyonlarında klinik bulgu tanıya yardımcı olmakla birlikte kesin tanı laboratuvar teşhisi ile yapılmaktadır. Laboratuvara teşhis amacıyla açık ve kapalı yavru gözlerinin bulunduğu 10 x 12 cm boyutlarında kesilen bulaşık petek, koloniye ait mumya larvalar gönderilebilir (1, 17, 19, 20). Ayrıca işçi arılar ve su kaynakları da incelenebilir (94).

Mantar infeksiyonlarının tanısı etkenin izolasyonu (11, 17, 33, 42, 51), identifikasyonu (11, 17, 33, 51, 62, 64, 70) ve moleküler tanı yöntemleri (11, 17, 22, 24, 62) ile yapılabilmektedir.

Arılarda mantar infeksiyonlarının teşhisinde izolasyon oldukça önemlidir. Mantar etkenlerinin üretilmesinde PDA, malt agar + %4 yeast extract + %2 dextrose (MY2), SDA, YGPS, czapeks dox agar, patojen mantar besiyeri, MY20 ve water agar gibi birçok besiyeri kullanılmaktadır (1, 9, 17-19, 23, 63, 70).

Birçok araştırmacı tarafından besiyelerine % 4 yeast extractı katılmasının *A. apis* üremesini uyardığı bildirilmiştir. Yine % 0.1 asparagin, % 0.5 yeast extractı ve % 2-20 dextrose katılmasının da üremeyi artırıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir (1, 9, 11, 17, 23, 63, 70).

Ekimleri yapılan besiyeleri aerobik koşullarda ve sporlanma için ise % 10 CO₂'li ortamda tutulur. Üreme süresi 5-15 gün, üreme ısısı ise 25-35°C'dir. *A. apis* kolonileri ortalama 7 gün içinde 5-7 cm çapında koloniler oluşturur. (1, 17, 18, 29)

Besiyelerinde üreyen mantar kolonilerinin rengi ve görünümü identifikasyonda önemlidir. Kireç hastalığının bal arılarındaki en önemli etkeni *A. apis*'in kolonisi besiyelerinde tipiktir. Pamuk benzeri görünümlü bir kolonisi vardır. Ancak koloninin alttan görünümü ve rengi ayırteci özellikte değildir. Taş hastalığı etkenleri *A. flavus*, *A. fumigatus* ve *A. niger*'in de koloni görünümüleri de tipiktir. *A. flavus*'un kolonileri üzeri dalgalı sarı, yeşil ve kahverengi, alt kısım ise kırmızı-kahverengidir. *A. fumigatus* kolonisinin ise üzeri önce beyaz, sonraları koyu yeşil granüler görünüm, arka yüzden görünüm beyaz-pembe-açık kahverengidir. *A. niger*'in kolonisi önce beyaz-sonraları koyu ve siyah alttan görünüşü ise sarıdır (1, 9, 11-20, 23, 29, 70).

Mikroskopik inceleme için besiyerinde üremesini tamamlamış olan mantar kültüründen alınan mantar elementleri 1-2 damla gliserin, basic fucsin ya da laktofenol pamuk mavisi ile muamele edildikten sonra mikroskopta incelenir. Mikroskopta spor kistleri, spor topları ve askosporlar görülür. Bunların ölçümleri *Ascospaera* spp. identifikasyonunda özellikle önem taşımaktadır. (1, 17, 18, 146)

A. apis için spor kistinın çapı araştırmacılar tarafından 80.3 µm (52), 65.8 µm (48), 60-70 µm (49), 32-99 µm (50) gibi farklı olarak bildirilmiştir, ortalama 45-119 µm olarak kabul edilmektedir.

A. apis, *A. major* ve *A. proliperda*'nın ayırımında sporların uzunluk/genişlik oranının da identifikasyonda önemli olduğu bildirilmiştir (53). *A. major* sporlarının çok ince ve

uzunluk/genişlik oranının 2.6, *A. apis*'in 1.9, *A. proliperda* sporlarının ise 2.2 olduğu vurgulanmıştır (16).

Bisset (64), 1984-1985 yılları arasında kireç hastalığı şüpheli *M rotundata* kolonilerinden elde edilen 207 petek örneğini incelemiş, izole edilen *A. apis*'in spor kistlerinin 40-110 µm, spor toplarının 7-20 µm, askosporların ise 2.1-3.9 x 1.1-1.7µm olduğunu bildirmiştir.

Ruffinengo ve arkadaşları (70), *A. apis*'in askospor üretimi için farklı besiyerlerini incelemiş (MY20, MY2, PDA, havuçlu-glukozlu agar, pirinçli agar ve buğdaylı agar), askosporların morfometrik analizlerini yapmışlar, askospor üretimi için en uygun mediumun MY20 agar olduğunu belirtmişlerdir. Lokal izolatları spor kist çaplarına, spor toplarının çaplarına, askospor uzunluğuna, askospor çapına ve askospor uzunluk/genişlik oranına göre identifiye ederek izole edilen etkenlerin *A. apis* olduğunu bildirmişlerdir.

Chorbinsky ve arkadaşları (147) *Ascospaera* türleri ve *A. apis*'in identifikasyonu için scanning electron mikroskop (SEM) ile cryon electron mikroskopisi ile etkenlerin morfolojik detaylarını incelemiş, SEM'in *Ascospaera* türlerinin belirlenmesinde faydalı olacağını bildirmiştir.

Reynaldi ve arkadaşları (148) Arjantin ve Şili'de ballardan ve kireç hastalığı semptomları gösteren larvalardan izole ettikleri *A. apis* suşlarını incelemişler, Arjantin'de izole edilen suşların spor kistleri çaplarını ortalama 88.5 µm, spor toplarının 14.9 µm, askosporların uzunluk/genişlik oranının 3.4 x 1.5 µm ve spor uzunluk/genişlik oranı ortalamasının 2.3 µm, Şili'den izole edilen suşların aynı sırayla 91.6 µm, 15.1 µm, 3.5 x 1.5 µm ve 2.3 µm olduğunu bildirmişlerdir.

Alonso ve arkadaşları (67) *A. apis*'in identifikasyonunda önemli olan enzimlerin belirlenmesinde API ZYM'den yararlanılabileceğini belirtmişlerdir.

Maghrabi ve Kish (61), arılarda kireç hastalığı etkenleri *A. apis*, *A. aggregata* ve *A. proliperda*'yı acrylamide gel electrophoresis ile incelemişler, 285 isozyme ve 12 enzim belirlemişlerdir. *A. apis*'in seksüel suşunda esteraze, heksokinase, leucine aminopeptidase ve phosphoglucomutase enzimlerinde tür içi varyasyonlar olduğu rapor edilmiştir. Üç suşun isozyme patternlerinin bu üç türün ayırımında etkili olduğu bildirilmiştir.

Arjantin'de yapılan bir çalışmada piyasadaki ballardan ve kireç hastalığı bulgusu gösteren larvalardan izole edilen *A. apis* suşlarının tümünün katalase ve alkalin fosfatase ürettiği ve amilolitik aktiviteye sahip olduğu, değişiklik göstermekle birlikte suşların çoğunun (% 97) jelatini hidrolize ettikleri bildirilmiştir (148).

Kireç hastalığı etkeninin incelenmesinde DNA ekstraksiyon metodları son yıllarda uygulanmaya başlamıştır. Lu ve arkadaşları (149) *M rotundata*'lardan kireç hastalığı etkeni olarak izole ettikleri *A. aggregata* ve *A. larvis*'i random amplified polymorphic DNA analizi (RAPD) ile incelemiştir. Farklı bölgelerden sağlanan *A. aggregata* ile infekte olan larvalarda benzer bantların oluştuğunu, her iki türün saf kültürlerinin bant profillerinin, larvaların mantar sporlarından elde edilen bant profilleri ile benzer olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca uygulanan in situ RAPD tekniğinin *A. aggregata* ve *A. larvis* türlerinin identifikasyonunda başarılı olduğunu rapor etmişlerdir.

Anderson ve arkadaşları (62) ribozomal DNA sekanslarından yararlanarak *Ascosphaera* türlerini PCR ile incelemişler ve *Ascosphaera* türlerinin farklılığının ITS1-5.8s-ITS2 rDNA sekanslarından kaynaklandığını, uluslararası bilgilerde *A.apis*'in rDNA'sı olarak kayıtlı bulunan sekansın aslında *A. atra*'ya ait olduğunu rapor etmişlerdir.

Arjantin Buenos Aires'de 1999-2001 yılları arasında 394 bal örneğinin mikrobiyolojik analizi yapılmış, 51 örnekte *A. apis* sporları saptanmış (% 13), yine Arjantin ve Şili'de kireç hastalığı bulguları gösteren mumya larvalardan ve piyasadaki ballardan toplam 48 *A. apis* suşu izole edilmiştir. Suşlar BOX, REP ve ERIC sekans spesifikleri kullanılarak repetitive-sequence-based polymerase chain reaction tekniği (rep-PCR) ile incelenmiş, bu tekniğin *A. apis*'in özelliklerinin ortaya konmasında oldukça yararlı, uygulaması kolay ve hızlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uygulanan mantar DNA ekstraksiyonunun basit ve test için yeterli olduğu rapor edilmiştir (148).

Kireç hastalığı oldukça eski bir hastalık olmasına rağmen kesin etkili ilacı bulunamamıştır. Tedavide önerilen ilaçlar, kimyasal maddeler yer yer hastalığı önlemekle birlikte değişik bölgelerde değişik sonuçlar vermektedir. Bu nedenle kireç hastalığı ile mücadelede etkili ilaç ve kimyasal madde bulma çalışmaları devam etmektedir (1, 7, 17).

Fungisitlerin arı larvalarında ya da yetişkin arılarda zararlı etkilere neden olduğu araştırmalarla gösterilmiştir. Ayrıca uzun süre fungusit uygulanmasının çevreye yan etkileri bulunduğu, mantarların da fungusitlere çoğunlukla dirençli olduğu bildirilmiştir. Fungisitlerin genellikle miselyumların gelişmesini, spor formasyonunu veya germinasyonunu engellediği ancak sporicidal etkilerinin ne kadar olduğunun bilinmediği vurgulanmıştır (1, 7, 17).

İnfekte peteklerde *A. apis*'in etilen oksit fumigasyonu ile öldürülebildiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Etilen oksit fumigasyonunun kireç hastalığına karşı % 100 etkili olduğu saptanmıştır (36, 150-154). Etken sporlarıyla kontamine kovan materyallerinin, arı petek gözlerinin dezenfeksiyonunda paraformaldehit fumigasyonunun

etkili olduğu, kireç hastalığı yayılımının ve insidensinin önemli derecede azalttığı rapor edilmiştir (155, 156).

Fenol ve derivatları gibi dezenfektanların % 2'lik solüsyonları sporosidal, virusidal ve bakteriosidal etkili olmaktadır (157). Stockton (158), leafcutting cinsi arılarda henüz tam kapatılmamış petek gözlerini bir dakika % 2.5 ve yarım dakika da % 5'lik calcium hypochlorite daldırılmış ve her ikisinin de kireç hastalığı şiddetinin azalmasında başarılı olduğunu bildirmiştir (158).

Prezervatif maddelerin çoğunlukla miselyumların gelişmesini engellediği, sorbik asitin *A. apis* miselyumlarının gelişmesini önlediği bildirilmiştir (36).

Kireç hastalığına karşı sorbik asit, sodyum propionat (90), thiabendazole, methyl parahydroxybenzoat, allyl isothiocyanate (159, 36), sülfür (108) ve potasyum sorbat (160) gibi dezenfektanların etkili olduğu ve bunların herhangi bir toksik etkisi bulunmadığı (161) bildirilmiştir. Bununla birlikte sodyum propiyonat'ın fungal gelişmeyi önleyemediği, sorbik asit ve metil parabenin tek tek ya da birlikte etkenin duyarlılığını etkilemediğini bildiren araştırmacılar da mevcuttur (73, 162).

Yapılan çalışmalar sonucu benomyl (93, 163), captan (164, 165), botran ve carbendazim (165), DPX 965-% 75 (Dichlozoliney carbendazim) ve DPX 965-% 50'nin enilconazole, ascocidin (N-glycosylpolifungin) ve DFMO (α -DL-difluoromethylornithine) (166) gibi fungusitlerin kireç hastalığını önemli derecede azalttığı belirlenmiş, bu fungusitlerin larval ve erişkin dönemdeki arıların mortalitesi üzerinde yan etkisi olmadığı, rovral (iprodone) ve benlate (benomyl) kireç hastalığı düzeyini azalttığı ama larvalar için toksik olduğu rapor edilmiştir (167-169).

Kireç hastalığının tedavisi için çeşitli antimikotikler test edilmiş, bunlardan amphotericin B'nin oldukça etkili olduğu (159, 167, 170-176), formalin, ajatin ve salisilik asit gibi antiseptikler ile lastanox, nystatin, actidione, griseofulvine, thiabendazole ve nitrofuranin gibi antimikotiklerin etkili oldukları ancak acditionenun arılar için yüksek bir toksisite gösterdiği, griseofulvinin ise *A. apis* gelişimini engellemediği bildirilmiştir (173-175). Antiseptikler arılar için antimikotiklerden daha toksik bulunmuşlardır, chloramine T, abacin (175, 177), 5-azasterol A25822B (178) polyfungine'nin choline tuzu (174), citral, geraniol (73), trichloroisocyanuric asit (78, 179), alkyl amine'ler(IPL-7, IPL-12 ve IPL-13) (180, 181), % 0.7 thymol solüsyonunun (182), fungistatik etkili olduğu rapor edilmiştir.

Hastalıkla mücadelede nemli ısı kullanımı da sporların yok edilmesi açısından etkili olabilmektedir. Birçok fungal ascosporeların termal ölüm noktası 50-60°C arasındadır.

Johansen (183) kovan tahtalarının 93-149°C ısıda tutulduğunda kireç hastalığının % 50 azaldığını rapor etmiştir.

“Neem ağacı”nın içerdiği (*Azadirachta indica* A. Juss synonym *Melia azadirachta* L.) margosan-O kimyasal maddesi azadirachtin, neem tohumu, nimbidin ve thionimone antifungal aktiviteye sahiptir (184).

Kireç hastalığının farmakolojik tedavisi ve kimyasal kontrolü tam olarak mümkün değildir. Ayrıca bu ilaçlara karşı direnç gelişmesi ve arı ürünlerinde de kalıntılar bırakması nedeniyle son yıllarda esansiyel yağ asitlerinin *A. apis*'e karşı etkinliğini araştıran pek çok araştırma bulunmaktadır (185-189).

Citral içeren yağlar (185), farklı Labiaceae'lerin esansiyel yağlarının, *Coriandrum sativum* L.'nin yağı chalkbrood etkeni *A. apis*'e karşı etkili ve kireç hastalığını önlemede anlamlı bulunduğu bildirilmiştir (186-189)

Viruslarla birlikte seyreden mantar hastalıklarında virusidlerin kullanılması da tedavi açısından etkili olmaktadır (7, 11).

2003 yılında yapılan bir çalışmada polen ve peteklerde *A. apis* ve *Paenibacillus larvae larvae*'nin kontrolünde high velocity electron-beam radiation (HVER) uygulanmış ve etkenlerin üremelerinin inhibe olduğu görülmüştür. Bu sonuç iki etkenin kontrolünde HVER'in uygun bir metod olarak kullanılabileceğini göstermiştir (190).

A. apis'in biyolojik kontrolü amacıyla yapılan bir çalışmada Arjantin'in farklı bölgelerinden elde edilen ballardan izole edilen 249 aerobik sporlu bakterinin *A. apis*'le antagonist etkisi central disk assay yöntemi ile incelenmiş, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* ve *Paenibacillus alvei*'nin en iyi antagonist etkiyi gösterdiği, gelecekte bal arısı kolonilerine direkt biyokontrol amacıyla uygulanabileceğini göstermiştir. Ayrıca *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* ve *Bacillus circulans* gibi bal arılarının normal mikroflorasında bulunan etkenlerin *A. apis* gelişimini inhibe etmesi nedeniyle genetik olarak dirençli ırk ve hijyenik davranışlara sahip arıların kullanılmasının *A. apis* ile mücadelede oldukça faydalı olacağı bildirilmiştir (191)

Türkiye'de de kireç hastalığı ile mücadele konusunda çeşitli ilaç ve kimyasal madde denemeleri yapılmıştır. Ascocidin” (192), formik asit, nystatin, asetik asit, fluvalinat ve perizin (2), rabendazol, nystatin ve propiyonik asit etkili bulunmuş ve bal analizleri sonucunda kalıntı bırakmadıkları bildirilmiştir (193). Ayrıca, % 5'lik propolis ekstraktı PDA üzerine yayılarak ve besiyerine katılarak *A. apis*'e karşı in vitro etkinliği

incelenmiştir. Propolisin etanolik ekstratının *A. apis*'in gelişimini in vitro koşullarda inhibe ettiği bildirilmiştir (194).

Kireç hastalığında ilaç ve kimyasal maddelerle mücadeleden, çok kesin sonuçların alınamaması ve sonuçların bölgelerde değişiklik göstermesi nedeniyle daha önemli olan korunma tedbirlerinin alınmasıdır. Bunlar;

1-Etkenin sporları soğuk ve nemli havada daha fazla gelişme gösterir. Bu nedenle kovan dip tahtası nemli toprak üzerine yerleştirilmemeli, yerden 35-40 cm yükseklikte tutulmalıdır (1, 7, 20).

2-Fazla yağış olan ilkbahar ve sonbahar aylarında yağmurdan sonra kovanın havalanmasına ve rutubetten kurtulmasına yardımcı olmak için kovanın uçuş deliği biraz genişletilmelidir (1, 7, 17, 19, 20).

3-Küflenmiş ve siyahlaşmış petekler, infeksiyon belirtileri gösteren yavrulu çerçeveler kovandan çıkarılmalı, arılar temiz ve sağlam kovanlara aktarılmalıdır. Malzemeler dezenfekte edilmelidir (104, 105).

4-Kontamine petekler 120°C'de 15 dakika sterilize edilmeli, hastalıklı kovanlardan süzülen ballar arılara kesinlikle gıda olarak verilmemelidir (1, 104, 105, 113)

5-Mantar hastalıklarında hijyenik davranışlar ve hastalığa dirençlilik genetik olduğundan hastalıklı koloninin anası hemen değiştirilmelidir (119, 121, 124, 125, 195).

6-İnfeksiyon nedeniyle zayıflamış kolonilere, koloninin güçlenmesini sağlamak için sağlıklı kovanlardan genç arılar ilave edilmelidir (93, 196, 197).

7-Arılarda stres oluşturan açlık, uzun yolculuk, aşırı antibiyotik ve şurup kullanma ve diğer arı hastalıkları gibi faktörlerden arılar uzak tutulmalıdır (1, 7, 20).

8-Hastalığa duyarlı kolonilerle çalışılmaktan kaçınılmalıdır (181, 198).

9-Arılar için temiz su kaynağı sağlanmalıdır. Arılıkta bulunan su kaynakları da fungal infeksiyonlara neden olabilmektedir (1, 7, 20, 94).

10-İlkbahar kontrollerinde kovanlar uzun süre açık tutulmamalı, yavrular üşütülmemeli, erken ilkbaharda bölme yaparak koloniler zayıflatılmamalıdır (1, 7, 20).

Arılarda görülen diğer bir mikotik infeksiyon taş hastalığıdır. Taş hastalığı bal arılarında oldukça nadir görülen ve arıcılar için de kireç hastalığına göre daha az önem taşıyan bir mantar hastalığıdır. Hastalık hem larvaları hem de ergin arıları etkilemektedir. Etken *Aspergillus* genusuna ait mantarlardır. *A. flavus* Link başta olmak üzere *A. fumigatus* Fresenius ile *A. niger* daha az izole edilen hastalık etkenidir. Etkenler diğer insektler, memeliler, kuşlar ve insanlar için de patojendir (1, 7, 17, 19, 20, 23, 46, 63).

İnfekte larvanın tanınması infekte yetişkin arının tanınmasından daha kolaydır. İnfekte larva ve pupalar ölümden sonra taş benzeri sert mumyalara dönüşürler. İnfekte yetişkin arıların abdomenleri de mumifiye olabilir (17, 20, 46, 63).

Taş hastalığı ilk olarak 1906 yılında Almanya'da Maassen (199) tarafından tanımlanmıştır. Maassen ölü arılardan *A. flavus*'u izole ve identifiye etmiş, etkilenen larva ve pupaların oldukça sert mumyalara dönüştüğünü bildirmiştir. Sırasıyla 1916'da Danimarka'da (200), 1919'da Avrupa kıtasından İngiltere'ye kadar olan ülkelerde (46), 1923'te Fransa'da (201), 1930-1963 yılları arasında Kuzey Amerika'da (75, 203, 204) ve 1958 yılında Venezuela'da (204) rapor edilmiştir.

Taş hastalığı sonucu oluşan ölümün arıların barsaklarında bulunan mantar tarafından üretilen toksik ürünlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (205) Burnside (203) *A. flavus*'un bir suşu tarafından üretilen toksik bir substansın arılarda fatal ölümlere neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca arılarda infeksiyon oluşturan etkenin çoğunlukla *A. flavus* olduğu, fakat *A. fumigatus*'un daha patojen olduğu rapor edilmiştir (17, 19).

Larvaların petek gözlerine miselyumları ile tutunmasından dolayı işçi arıların petek gözlerindeki mumyaları uzaklaştıramadığı, bu nedenle etkenin kovanda uzun süre kalabilmesi sonucu spontan salgınlara neden olduğu görülmüştür (206).

Canlı vücudu içinde gelişen miseller, öldürücü etkiye sahip mikotoksinler salgılar. Aflatoksin, B1, B2, G1, G2, M1, M2 gibi toksin çeşitleri olan hepaptotoksik bir maddedir. Aflatoksin, hücrelerdeki DNA (Deoksiribonükleik asit) molekülünün görev yapmasını önleyerek RNA (Reoksiribonükleik asit) sentezini engeller. Bunun sonucu olarak ribozomlarla birlikte canlı yaşamı için önemli olan proteinler ve enzimler sentezlenmesi yavaşlar. Aflatoksin bu nedenle oldukça toksik ve kanserojen etkilidir. İnsan ve hayvan sağlığı yönünden de oldukça önem taşımaktadır (1, 7, 20, 43, 203-206).

A. flavus kolonileri hızlı gelişirler, 25°C'de 7 gün içinde gelişebilirler. *A. flavus* derin, tozlu-granüler, sarı-yeşilden yeşil renge kadar değişen renkte koloniler oluştururlar, beyaz marginal ya da sentral miselyumlara sahiptirler. Konidioforlar 3.5-5 µm çapındadır. *A. fumigatus* 37-45°C'de 7 gün içinde gelişebilir, kolonileri tozlu, sönük mavi, yeşil görünümündedir. Konidioforlar yeşilimsi renkte, 2.5-3 µm çapında ve veziküllüdür. *A. niger* ise derin, granüler görünümde, kahverengiden sarı renge geçişebilen renktedir, konidioforlar 3.5-4.5 µm çapındadır (23).

Açık ve kapalı yavru gözlerindeki larvalar gibi pupalar da etkilenebilir. Kapalı yavru gözlerindeki pupalar daha az duyarlıdır. Çoğunlukla kapalı gözlerdeki larvalar pupa

oluşumundan önce ölürlar, yaşlı ergin arılar ise sonbahar aylarında hastalığa daha hassas durumdadırlar (17).

Dünyada ve Türkiye’de kireç hastalığının aksine taş hastalığı konusunda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bunun nedeni kireç hastalığının daha sık görülmesi, hızla yayılması, önemli ekonomik zararlara ve kovan kayıplarına neden olmasıdır. İnfeksiyon kireç hastalığında olduğu gibi rutubetli ve fazla yağışlı mevsimlerde görülmektedir (1, 7, 17, 20).

Taş hastalığı özellikle Avrupa, Kuzey Amerika, nadiren Venezuela ve İngiltere’de görülmektedir (1, 7, 17, 19, 20.).

Taş Hastalığı ülkemizde arıcılar tarafından pek bilinmemekte ve önemsenmemektedir. Hastalığa özellikle Karadeniz bölgesinde rastlanmakta ve ergin arılarda zaman zaman toplu ölümlere neden olmaktadır (1, 7, 20).

Mantar sporları, serbest halde toprakta ve özellikle *Gramineae* familyasındaki bitkilerde oldukça fazla bulunurlar. İnfeksiyonun nasıl bulaştığı tam olarak açıklanamamıştır. Bu konuda değişik görüşler bulunmaktadır. Mantarın ilk olarak polen ile dolu petek gözlerinde geliştiği (199), infeksiyon bulunan kolonilerden sağlıklı kolonilere petek aktarımı yapılması ve infekte peteklerden elde edilen kontamine ballarla arıların beslenmesi (46), rutubet oranının yüksek olduğu durumlarda fungal sporları taşıyan bal veya polenin koloniye girmesi sonucu (207) bulaşabileceği gibi görüşler öne sürülmüştür. Bailey (75) sporların sadece larva ve prepupalar stres altındayken infeksiyona sebep olabileceğini, eğer çok sayıda larva ölümü olursa koloninin zayıflayacağı ve erişkin arıların da duyarlı hale gelerek mantarlardan etkileneceğini ileri sürmüştür. Antibiyotik kullanımı sonucu arıların normal intestinal floralarının dengesinin bozulması, rutubet, havalandırma eksikliği, gıdaların fazla su içermesi, genetik faktörlerin infeksiyonun ortaya çıkması ve yayılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (115, 116, 208).

Koloniler deneysel olarak taş hastalığı ile infekte edilememiştir. Bu nedenle özellikle stres altında bulunan ya da anormal arıların toksinlere oldukça duyarlı olduğu bu nedenle infeksiyondan aflatoksinlerin sorumlu olduğu ileri sürülmüş, aflatoksin verilen erişkin arılarda mortalite oranlarının arttığı bildirilmiştir (17, 19).

Bir kolonide hastalığın ortaya çıkması, kovan içinde bulunan etkenlerin spor gelişimi için uygun koşulların belirli bir süre devam etmesine bağlıdır. % 85-90 oranındaki nem hastalığın başlaması ve yayılmasında oldukça etkilidir. Zayıf koloniler ve yavru üşümesi gerçekleşen açık gözlerdeki larvalarda hastalık daha kolay ve hızlı gelişir. Hasta larvaların büyük kısmı pupa döneminde ölürlar (1, 7, 17, 19, 20).

Çeşitli yollarla kovana bulaşan sporlar, ergin arı ya da larvaları etkileyebilirler. Sporlar larvanın kütikulasında germine olabilir ve miselyumlar sub-kütikular dokulara penetre olur, konidioforlar ile lokal aerial hifalar üretilir. Ancak infeksiyon genellikle mide-barsak yoluyla bulaşır. İç dokularda miselyumlar hızla gelişir, vücudun anterior kısmındaki kütikulayı parçalar, larvada karakteristik olarak başın arka kısmında beyazımsı sarı renkte yüzük ya da halka şekillenir, dışarı çıkan miseller hızla gelişerek 2-3 gün içinde yalancı deri oluştururlar. Larvalar toz halindeki mantar sporlarıyla kaplı oldukları için yeşilimtrak sarı renkte görülürler. Sporlar çoğunlukla baş ve abdomen sonunda yoğun olarak bulunurlar. İnfeksiyonun sebebi, çoğunlukla miseller tarafından salgılanan toksinlerdir. Bu toksinler hücrelerde RNA sentezini engelleyerek larvaların ölümüne sebep olurlar (7, 17, 19, 203-207).

Taş hastalığı, çok şiddetli infeksiyonlarda kolonilerin ölümüne sebep olmakla birlikte genellikle geçici bir infeksiyondur. Miselyumlar, larvanın petek hücre duvarlarında geliştiklerinden dolayı erişkin arıların buraları temizlemesi ve hücreleri dezenfekte etmesi oldukça zordur (17, 20).

İnfekte olan arı larvaları ve erişkin arıların üzerleri yeşilimsi toz şeklinde bir küf tabakası oluşur. Peteklerde ve ölü larvanın üzerinde *A. flavus* sarı-yeşil, *A. fumigatus* gri-yeşil, *A. niger* ise koyu gri görünümündedir. İnfeksiyonun başlangıcında ise, larvada bu belirtiler görülemez. Fungus dokulara girdiğinde larvanın vücudu ve ergin arıların abdomenleri oldukça sertleşir ve ezilmesi çok zordur. Bu nedenle infeksiyona “Taş Hastalığı” adı verilmiştir. Erişkin arılar, ölen larvalar taşlaşıp hücre duvarına yapıştıkları için kolaylıkla bu mumyaları uzaklaştıramazlar (1, 7, 19, 20).

Erişkin arılarda ilk olarak görülen semptomlar spesifik değildir. Hareketsizlik, kuvvetsizlik, paraliz, uçamama ve sürünme gibi semptomlar görülür. Abdomenleri çoğunlukla dilatedir, ölümden sonra abdomenleri sertleşir ve mumifiye olur (17, 19, 20).

Taş hastalığı etkenlerinin teşhisinde kullanılan yöntemler *A. apis*'in teşhis yöntemleri aynıdır (17, 19, 23).

Hastalığın tedavisi için etkili bir ilaç bilinmemektedir. İnfekte arıların, peteklerin ve kovanın tüm malzemelerinin yakılması, daha sonra kovanın dezenfekte edilmesi önerilmektedir. Eğer koloni hafif derecede infekte ise arılar yeni kovan ekipmanlarına alınabilir ve eski kovan dezenfekte edilirken, eski petekler yakılabilir. Bu işlemler yapılırken göz, ağız ve burun korunmalıdır (209).

Taş hastalığında etkenler bala geçer, bu nedenle infekte kolonilerden elde edilen bal hasat edilmemelidir, arı gıdası olarak tüketilmemelidir. Kontamine ballar, insanlarda ağız ve

dişeti iltihaplarına, göz ve karın ağrularına hatta dizanteriye sebep olabilirler (17, 19, 20, 23).

İnfeksiyonla mücadelede, sülfür (112, 206), stamycin (210), nystatin ve thiabendazole'ün etkili olduğu (115), 22° C'de 15 saat ve 1,5 saat 100 mg/litre etilen oksit uygulamasının peteklerde *A. flavus*'u öldürdüğü (151, 177) bildirilmiştir.

Arılarda ve larvalarda infeksiyon oluşturmayan, özellikle depolanmış polenlerde bulunan bir diğer etken ise *B. alvei*'dir. Önceden yanlışlıkla kireç hastalığı ile karıştırılmış, daha sonra etkenin hastalık yapmadığı sadece peteklerdeki hücrelerde bal arıları tarafından depolanan polenlerde bulunan saprofitik bir fungus olduğu ortaya çıkmıştır. Bu etkenlerden biri de *Penicillium* sp.'dir. Bunlar kovan girişlerinde, peteklerde ve ölü arılarda oldukça yaygındır. Fakat bir hastalık etkeni değildir (17, 19, 202-207).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇ

Saha Örnekleri:

Ağustos 2003-Ağustos 2005 tarihleri arasında Bursa ve çevresindeki çeşitli arıcılık işletmelerinde 1850 kovan mantar infeksiyonları yönünden klinik olarak incelendi. Mikotik infeksiyonlar yönünden şüpheli bulunan ve klinik septomlar gözlenen 20 kovandan larva ve işçi arı olmak üzere iki çeşit materyal alındı (Tablo-6). Örneklerin alındığı bölge, işletmedeki kovan sayısı, örneklerin alındığı kovanlar ve örnek çeşidi kaydedildi. Alınan materyaller soğuk zincire dikkat edilerek en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

İnfeksiyon çıkan kovanların periyodik olarak 2 yıl boyunca takipleri yapıldı.

Tablo-6 İncelenen kovanların ilçelere göre dağılımı

İlçe	İncelenen Kovan sayısı	Örnek alınan kovan sayısı	Örnek çeşidi
Merkez	20	1	Larva
Görükle	40	-	-
Harmancık	25	-	-
Nilüfer	231	5	-
Karacabey	605	1	Larva İşçi arı
Orhaneli	197	7	Larva İşçi arı
Osmangazi	10	-	-
Orhangazi	25	-	-
Mustafakemalpaşa	507	2	Larva İşçi arı
Yıldırım	20	4	Larva İşçi arı
Balıkesir-Susurluk	170	-	-
TOPLAM	1850	20	-

Standart A. apis suşu:

Kontrol amaçlı DSMZ'den sağlanan *A. apis* suşu (DSMZ 3116-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany) kullanıldı.

Besiyerleri:

Mantar etkenlerinin izolasyonunda;

PDA (CM139-Oxoid) + % 4 yeast extract (L21-Oxoid) + % 10 lactic acide (SR21K-Oxoid),

MY20 agar: Malt agar (CM59-Oxoid)+ % 4 yeast extract + % 20 dextrose (0155-17-Difco),

SDA (CM41-Oxoid)+ % 4 yeast extract + % 10 lactic acide,

Patojen mantar besiyeri (1.05467-Merck),

Czapeks dox agar (CM97-Oxoid) ve

YGPS agar'a ekimler yapıldı.

Besiyerleri üretici firmaların belirttiği formulasyona göre hazırlanarak kullanıldı.

YGPS agar aşağıda belirtilen formüle göre pH 6.6'ya ayarlanarak laboratuvarında hazırlandı. Petri kutularına 20 cc.olacak şekilde döküldü.

Yeast extract (L21-Oxoid)	10 gr
Dextrose (0155-17-Difco)	10 gr
KH ₂ PO ₄ (Art.4873-Merck)	3.5 gr
Eriyebilir nişasta (1.01252-Merck)	10 gr
Agar (L11-Oxoid)	15 gr
Distile su	1000 ml

Mikroskop: Spor keseleri, kistleri ve ascospor çapları ve uzunluklarının ölçümü için Nikon Eclipse E600 mikroskobun Nikon Model Eclipse E200 mikrofotografi ataşmanı kullanıldı.

YÖNTEM

Klinik İnceleme:

Kovanlar, petekler ve larvalar mikotik infeksiyon bulguları yönünden incelendi. Arıcılık işletmelerinde bulunan kovanlarda inceleme yapılırken peteklerdeki normalden farklı renk değişimlerine, küf, pamuksu tabakaların bulunup bulunmadığına, kovanın genel durumuna, ergin arıların davranışlarına, larvaların görünümüne dikkat edildi. Yavru gözleri, polen çekmeceleri ve kovanların etrafı incelendi. Mantar infeksiyonlarının klinik ayırımına yardımcı olduğu için mumyalaşmış larvaların sertliği incelendi.

İzolasyon Çalışmaları:

İzolasyon çalışmaları için infeksiyondan şüpheli larvalar steril bir pens ve eldiven yardımıyla ağız vidalı kapaklı steril tüplere ya da steril petri kutularına alındı. Ayrıca infeksiyon şüphesi bulunan kovanların farklı peteklerinden ve peteklerin değişik bölgelerinden işçi arılar da steril bir pens yardımıyla tüplere ya da petri kutularına alındı. Örnekler en kısa sürede laboratuvara ulaştırılarak izolasyon işlemlerine geçildi.

Larvalardan mantar etkenlerinin izolasyonu için üç ayrı yöntem uygulandı (9, 94):

- 1.Yöntem: Mumya larvalar steril distile suda yıkandı ve besiyerlerine direkt olarak ekildi.
- 2.Yöntem: Larva örnekleri % 0.5 sodyum hipoklorit solusyonunda 60 saniye tutulduktan sonra 10 ml steril distile suda homojenize edildi. Elde edilen süspansiyondan steril bir pipet yardımıyla 0.1 ml alınarak besiyerlerine inokule edildi.
- 3.Yöntem: Larvaların kütikülaları steril bir bistüri yardımıyla kazındıktan sonra besiyerlerine ekimleri yapıldı.

A. apis izolasyonu için öncelikle tek bir miselyumla infekte olan (aseksüel) beyaz renkli larvalar ile her iki miselyumla infekte olan (seksüel) siyah- gri benekli ve siyah renkli larvaların ekimi için ayrı ayrı petriler kullanıldı.

İşçi arılardan mantar izolasyonunda ise iki yöntem kullanıldı (94):

- 1.Yöntem: İşçi arılar steril tüplere alındı, 10 ml steril distile su ile homojenize edildikten sonra besiyerlerine inokule edildi.
- 2.Yöntem: 8-10 işçi arının sindirim sistemi steril bir pens yardımıyla dışarı alındı ve örnekler 5 kez steril distile suda yıkandı ve homojenize edilerek besiyerlerine inokule edildi.

Kültüre edilen besiyerleri 30°C 'de aerobik ve mikroaerofilik koşullarda 1-14 gün inkube edildi. Günlük olarak üreme kontrolleri yapıldı.

İdentifikasyon Çalışmaları:

Etkenlerin üreme süresi, koloni morfolojileri, mikroskobik görünümleri incelendi ve *Ascosphaera* türleri için spor keseleri, spor topları ve askosporların çapları ölçüldü.

Koloni Morfolojilerinin İncelenmesi:

Besiyerlerinde etkenlerin üreme süresi ve gelişim yetenekleri karşılaştırıldı. Üreyen koloniler, koloni morfolojileri bakımından incelendi.

Mikroskobik İncelemeler:

İnkubasyon süresi sonrasında besiyerlerinde üreyen mantar kolonileri iğne uçlu öze yardımıyla lam üzerine alındı. *A. apis* şüpheli kolonilerin mikroskobik incelemesinde iki yöntem uygulandı. Birinci yöntemde üzerine gliserin damlatılarak, ikinci yöntemde ise laktofenol pamuk mavisi ile boyanarak preparat hazırlandı. Üzerine lamel kapatıldıktan sonra mikroskopta incelendi.

Diğer mantar etkenlerinin mikroskobik incelemesinde ise üreyen mantar kolonisi iğne uçlu öze yardımıyla lam üzerine alındı. Laktofenol pamuk mavisi ile boyanarak 40 x 'lık objektifte incelendi.

Her iki misel türüyle de infekte olduğundan şüphelenilen larvaların kültürü ile izole edilen kolonilerde askosporlar ve zigosporların varlığı incelendi. Spor keseleri, spor topları 100 x'lük ve askosporların çapları ve uzunlukları 400 x'lük büyütme ile mikrofotografi cihazında mikrometre (μm) olarak ölçüldü. Her bir izolat için spor kesesi, spor topları ve askosporlar için 50 sayım yapıldı ve ortalamaları alınarak değerlendirildi (9, 22, 64, 70).

Predispozisyon Faktörlerinin İncelenmesi:

Örneklerin alındığı bölgelerde ve işletmelerde mantar infeksiyonunun oluşmasında etkili olabilecek predispozisyon faktörlerinin varlığı belirlendi. İki aylık aralıklarla iki yıl boyunca kovanlardan etken üremesi olup olmadığını incelemek için örnekler alındı. Bu faktörler Tablo-7'de verilmiştir.

Tablo-7 Örneklerin alındığı bölgelerde ve işletmelerde incelenen predispozisyon faktörleri

Kullanılan peteklerin eski ya da yeni olması
Kovanlar arası petek aktarımı yapıp yapılmadığı
Kovanların yerden yüksekliği
Kovanların çevresinde uzun boylu bitkilerin varlığı
Paraziter hastalıklar
Antibiyotik uygulamaları ve kullanılan antibiyotikler
Bölgede zirai ilaç kullanımı

İnfeksiyon bulguları görülen ve izolasyon yapılan kovanların sahiplerine infeksiyonla mücadele için önerilerde bulunuldu (Tablo 8).

Tablo-8 Mantar infeksiyonlarıyla mücadele için önerilerde bulunulan konular

Kraliçe Arının Değiştirilmesi
Kovanların Yerden Yüksekliğinin 40-45 cm'ye Çıkarılması
Kovan Çevresindeki Otların Kesilmesi
Eski Peteklerin Uzaklaştırılması
Kovanların Değiştirilip Dezenfekte Edilmesi
Kovanların Bulunduğu Alana Temiz Su Konulması

Meteorolojik Veriler: 2003-2005 yılları arasında aylara göre nem oranı bilgileri Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü'nün internet sayfasından elde edildi (211).

İstatistik Analiz: İnfeksiyonda etkili olan predispozisyon faktörlerinin önemi tek tek ve kombineli olarak Ki-Kare testi ile incelendi.

BULGULAR

İncelenen Kovanlarda ve Peteklerdeki Klinik Görünüm:

İncelenen 1850 kovanın 20'sinde (% 1.08) mantar infeksiyonu semptomları gözlemlendi. Bu kovanlarda peteklerin üzerinde beyaz pamuk benzeri tabakalar olduğu ve bu peteklerin üzerindeki gözlerin büyük çoğunluğunun kapalı olduğu gözlemlendi. Bu kovanların girişi, kovanların 2-3 metre çevresi ve polen çekmeceli kovanların çekmeceleri incelendiğinde işçi arılar tarafından kovan dışına atılmış mumyalaşmış larvalar saptandı (Şekil-1). Mumya larvalarının renklerinin beyazdan, gri- siyah benekli ve siyah renge kadar farklılık gösterdiği (Şekil-2, 3), kıvamlarının yumuşak olduğu ve parmaklar arasında parçalanabildiği belirlendi.



Şekil-1 Polen çekmecesinde kireç hastalığı şüpheli mumya larvalarının görünümü



Şekil-2 İnfeksiyondan şüpheli mumya larva örneklerinin klinik görünümü



Şekil- 3 İnfeksiyondan şüpheli mumya larva örneklerinin klinik görünümü

Ayrıca kovan sahipleri, hastalık şüphesi bulunan kovanlarının bir önceki seneye göre bal verimlerinin kayba uğradığını ve kolonideki arıların huzursuz olduklarını bildirdi.

İzolasyon Çalışmaları:

Klinik olarak mantar infeksiyonu şüpheli 20 kovandan alınan her iki tür materyalin (larva ve işçi arı) tümünden (% 100) her iki izolasyon yöntemi ile kireç hastalığı'nın etkeni *A. apis* izole edildi. Ayrıca 20 kovanın dört (% 20)'üne ait işçi arı örneklerinden aynı zamanda *Penicillium* spp. izole edildi.

İzolasyon çalışmaları sonucunda taş hastalığı nedeni olan mantar türlerine rastlanmadı.

Örneklerin alındığı bölgeler, alınan materyal ve izole edilen etkenler Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo-9 Örneklerin alındığı ilçeler, alınan materyal ve izole edilen etkenler

İlçe	Örnek alınan kovan sayısı	Örnek alınan kovan no	Örnek çeşidi	İzole edilen etkenler
Merkez	1	Kovan 1	Larva	<i>A. apis</i>
Nilüfer	5	Kovan 2	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 3	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 4	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
Kovan 5	Larva ²	<i>A. apis</i>		
Kovan 6	Larva ²	<i>A. apis</i>		
Karacabey	1	Kovan 7	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i> + <i>Penicillium</i> spp.
Orhaneli	7	Kovan 8	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 9 ¹	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 10 ¹	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 11 ¹	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 12	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i> + <i>Penicillium</i> spp.
		Kovan 13	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 14	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i> .
Mustafa kemalpaşa	2	Kovan 15	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i> + <i>Penicillium</i> spp.
		Kovan 16 ¹	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
Yıldırım	4	Kovan 17 ¹	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 18	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 19	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i>
		Kovan 20	Larva	<i>A. apis</i>
			İşçi arı	<i>A. apis</i> + <i>Penicillium</i> spp.
TOPLAM	20			

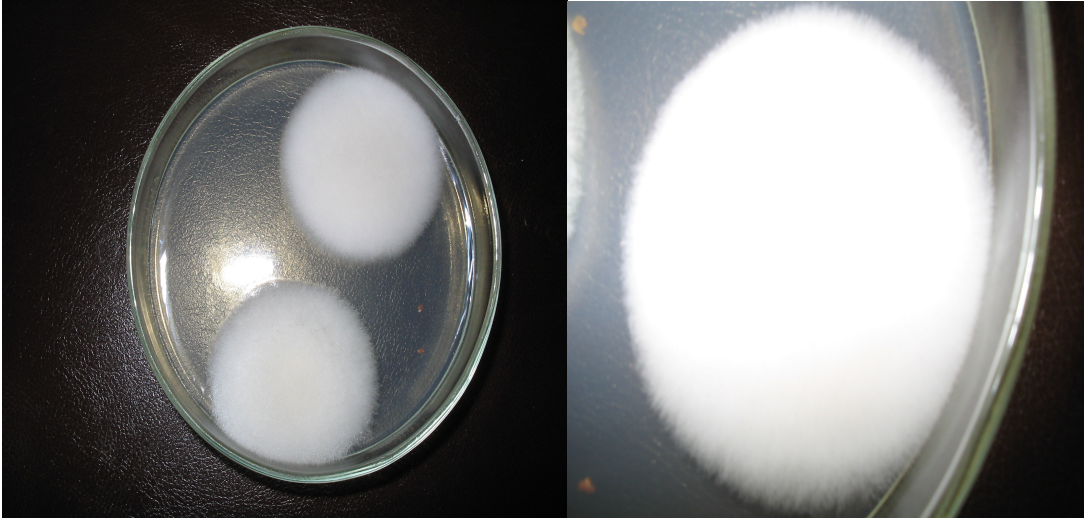
¹ İşaretli kovanların periyodik kontrollerinde aynı kovanlarda enfeksiyona rastlanmış ve aynı etkenler izole edilmiştir.

² İşaretli örnekler arı yetiştiricileri tarafından getirildiği için işçi arılar incelenemedi.

İdentifikasyon Çalışmaları:

Koloni Morfolojilerinin İncelenmesi:

Farklı yöntemlerle ekilen tüm larva ve işçi arı örneklerinden izole edilen *A. apis* kolonileri makroskobik olarak incelendiğinde tüm besiyerlerinde pamuk benzeri beyaz renkli, 5-7 cm çapında koloniler oluşturduğu gözlemlendi (Şekil-4).

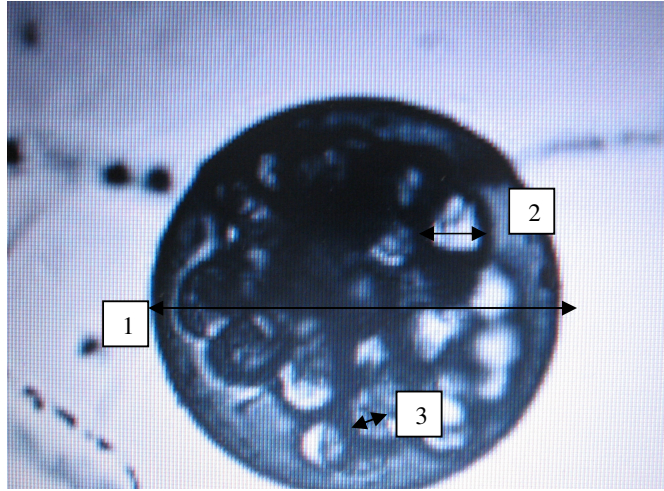
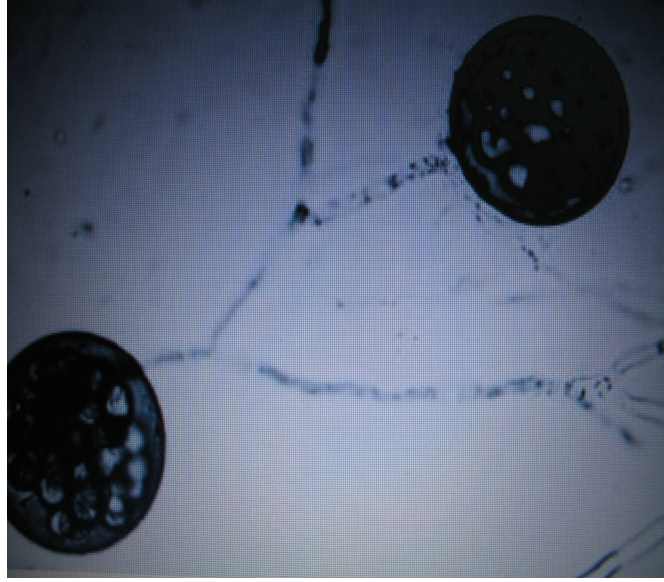


Şekil-4 PDA + %4 yeast extract + %10 lactic acide agarda *A. apis* koloni görünümüleri

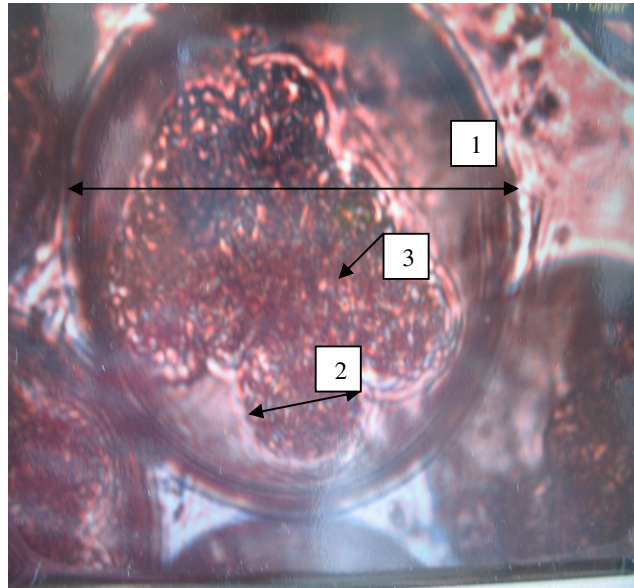
İzole edilen *Penicillium* sp. kolonileri ise mavi-yeşil renkli ve tozlu görünümde idi. Koloniler alttan incelendiğinde ise sarı-beyaz renkteydi.

Mikroskobik İncelemeler:

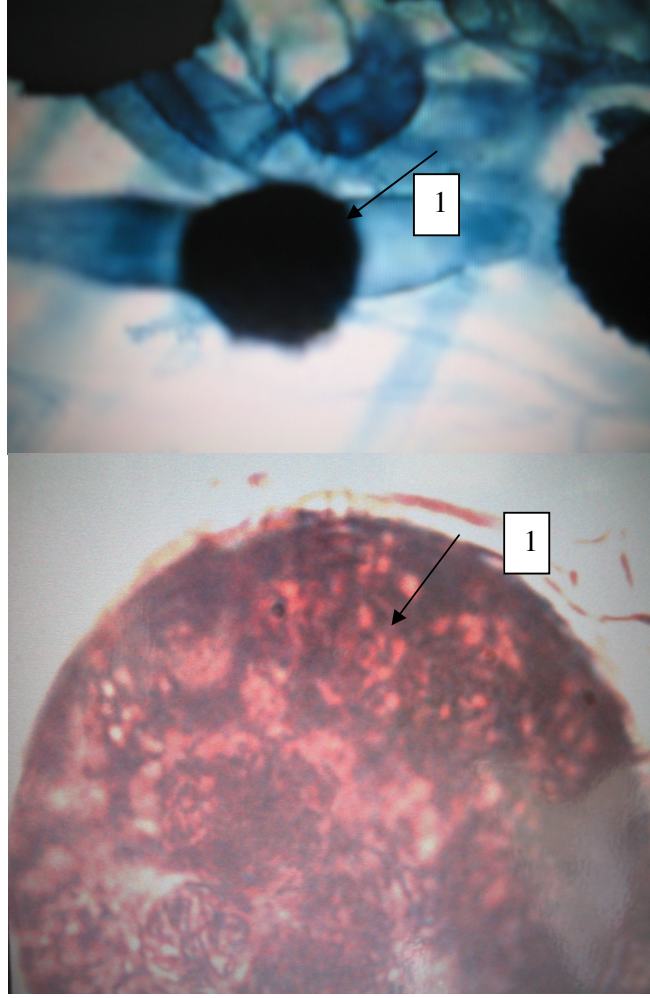
Hem tek miselyumla (aseksüel) hem de iki miselyumla (seksüel) infekte örneklerden izole edilen *A. apis* şüpheli koloniler mikroskobik olarak incelendi. Aseksüel sporlarla infekte olan örneklerde askosporlar, seksüel sporlarla infekte olan örneklerde ise spor keseleri, spor topları ve askosporlar görüldü (Şekil-5). Seksüel sporlarla infekte olan örneklerde ise aynı zamanda zigosporeler de belirlendi (Şekil-6).



1-Spor keseleri
2-Spor topları
3-Askosporlar



Şekil-5 Askospor, spor topları ve spor keseleri (x 400 büyütme)



1 Zigospor

Şekil-6 Zigosporlar (x 400 büyütme)

Yapılan ölçümler sonucu spor keselerinin çapları 37-121 μm , spor toplarının çapları 7-18.5 μm , askosporların çapı 1-1.8 μm , askosporların uzunluğu ise 1-3.8 μm , uzunluk/genişlik oranı ise 1-2.1 μm sınırları arasında bulundu. Bu ölçülere göre izolatlar *A. apis* olarak tanımlanmıştır.

Spor kesesi, spor topları ve askosporlar için bulunan ölçümler Tablo 10'da verilmiştir.

Penicillium şüpheli koloniler mikroskopik olarak incelendiğinde ise konidiofor ve hifa yapısına göre izolatlar *Penicillium* sp. olarak tanımlanmıştır.

Tablo-10 *A. apis* izolatlarının spor keseleri, spor topları ve askospor ölçüleri

<i>A. apis</i> 'in izole edildiği kovan	Spor kesesi çapı (µm)	Spor topları çapı (µm)	Askospor çapı (µm)	Askospor uzunluğu (µm)	Ascospore uzunluk/ genişlik oranı
Kovan 1	37	7	1	1	1
Kovan 2	48	9	1.2	1.2	1
Kovan 3	58.5	10	1.3	1.4	1.07
Kovan 4	68	11.5	1.4	1.5	1.07
Kovan 5	65.5	11.5	1.4	1.5	1.07
Kovan 6	75	12.5	1.5	2.2	1.4
Kovan 7	83	12	1.6	2.3	1.4
Kovan 8	78	14	1.4	2.3	1.6
Kovan 9 ^a	80	14.5	1.4	2.3	1.6
Kovan 9 ^b	82	15	1.4	2.3	1.6
Kovan 10 ^a	85	16	1.4	2.5	1.7
Kovan 10 ^b	82	16.5	1.5	2.5	1.6
Kovan 11 ^a	85	17	1.3	2.6	2
Kovan 11 ^b	90	17.5	1.4	3	2.1
Kovan 12	86	13	1.4	2.5	1.7
Kovan 13	102	18	1.6	3.5	2.1
Kovan 14	110	18	1.8	3.5	1.9
Kovan 15	78	13	1.2	2.4	2
Kovan 16 ^a	121	18.5	1.8	3.8	2.1
Kovan 16 ^b	113	18	1.8	3.8	2.1
Kovan 17 ^a	80	12	1.5	2.5	1.6
Kovan 17 ^b	84	12.5	1.5	2.8	1.8
Kovan 18	86	12	1.5	2.7	1.8
Kovan 19	81	11.5	1.4	2.5	1.7
Kovan 20	101	18	1.6	3	1.8

^{a, b} Kovanlardan örnekler farklı tarihlerde iki kez alınmıştır.

İzolasyon Metotlarının Karşılaştırılması:

Larvanın steril suyla yıkandıktan sonra direkt olarak ve işçi arıların distile suyla homojenize edilerek kültüre edildiği metotta besiyerlerinde üreyen koloniler spesifik görünümde ve diğer metotlara göre daha büyüktü. Larvanın süspansiyon hazırlanarak ve kütikülaları kazınarak, işçi arıların da sindirim sistemlerinin dışarı alınıp distile suyla

süpanse edilerek ekimleri yapılan metodlarda ise besiyerlerinde gelişen koloniler daha yaygın, fakat daha küçüktü (Tablo 11).

Tablo-11 Farklı yöntemlerle kültüre edilen örneklerin besiyerinde üremelerinin karşılaştırılması

Kültüre edilen larva numunelerinin besiyerlerinde üreme durumları			Kültüre edilen işçi arı numunelerinin besiyerlerinde üreme durumları	
Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 1*	Yöntem 2*
-Spesifik görünüm	-Spesifik görünüm	-Spesifik görünüm	-Spesifik görünüm	-Spesifik görünüm
-Büyük koloniler	-Küçük koloniler	-Küçük koloniler	-Büyük koloniler	-Küçük koloniler
-Bölgesel üreme	-Yaygın üreme	-Yaygın üreme	-Bölgesel üreme	-Yaygın üreme

Yöntem 1: Mumya larvalar steril distile suda yıkanarak besiyerlerine direkt inokulasyonu yapıldı.

Yöntem 2: Larvalar % 0.5 sodyum hipoklorit solusyonunda 60 saniye tutuldu, sonra 10 ml steril distile suda homojenize edildi ve steril bir pipet yardımıyla 0.1 ml alınarak besiyerlerine ekildi.

Yöntem 3: Larvaların kütikülaları steril bir bistiiri yardımıyla kazanarak kültüre edildi.

Yöntem 1*: İşçi arılar steril tüplere alınıp 10 ml steril distile suda homojenize edildi ve besiyerlerine ekildi.

Yöntem 2*: İşçi arıların sindirim sistemi steril bir pens yardımıyla dışarı alındı 5 kez steril distile suda yıkandı ve örnekler 10 mlsteril distile suda homojenize edilerek kültüre edildi.

Besiyerlerinin Karşılaştırılması:

En iyi ve en hızlı *A. apis* üremesi lactic acide ve yeast extract ilave edilen PDA'da gözlemlendi. Üreme süresi 3-5 gün idi. Daha sonra sırasıyla MY20 ve lactic acide ve yeast extract ilave edilen SDA, patojen mantar besiyeri, czapeks dox agar'da üreme saptandı. Bu besiyerlerindeki üreme süreleri arasında önemli bir farklılık yoktu. Genellikle 5-8 günde üreme görüldü

Spor kesesi, spor topları ve askosporların gelişimi ise en iyi olarak MY20 agar ve YGPS agarda 10-14 gün içinde yoğun ve net olarak gözlemlendi.

Hem aerobik hem de mikroaerofilik ortamda üreme sağlandı. Sporlanma özellikle mikroaerofilik ortamda daha yoğundu.

İnfekte Kovanlarda Predispozisyon Faktörlerinin İncelenmesi:

Mantar infeksiyon bulguları olan ve *A. apis* izolasyonu yapılan 20 kovanın 19'unda (% 95) *Varroa* enfestasyonu saptandı.

17 kovanda (% 85) ise koruma amaçlı antibiyotik (Apimisin-Eritromisin) kullanıldığı saptandı.

Kovan sahiplerinden alınan bilgiye göre 17 kovanda (% 85) eski peteklerin kullanıldığı, 4 kovanda (% 70) ise kovanlar arası petek değişimi yapıldığı bildirilmiştir.

Kovanların yerleşim durumları incelendiğinde 15 kovanın (% 75) uçuş deliğine yakın çevresinde uzun boylu bitkilerin olduğu, 4 kovanın ise (% 70) yerden yüksekliğinin 30 cm'den az olduğu belirlendi.

Yedi kovan sahibinden (% 35) hastalık çıkan dönemlerde bölgelerinde zirai ilaç uygulaması yapıldığı öğrenildi.

Mantar infeksiyonu görülen ve etken izolasyonu yapılan 20 kovanda saptanan predispozisyon faktörleri Tablo-12'de gösterilmiştir.

Tablo-12 A. *apis* izolasyonu yapılan kovanlarda belirlenen predispozisyon faktörleri

Kovan No	Mevcut hastalık durumu	Kovan yakın çevresinde uzun boylu bitki varlığı	Kovan yüksekliği (Yerden yüksekliği 30 cm'den düşük)	Eski petek kullanımı	Petek değişimi	Antibiyotik kullanımı	Zirai ilaç uygulaması
	Varroa						
Kovan 1	+	-	+	+	-	+	-
Kovan 2	+	+	+	+	+	+	-
Kovan 3	+	+	+	+	+	+	-
Kovan 4	+	-	-	+	-	+	-
Kovan 5	+	+	+	+	+	+	-
Kovan 6	+	+	+	+	+	+	-
Kovan 7	+	-	-	+	-	+	-
Kovan 8	+	-	-	+	+	+	-
Kovan 9 ^a	+	-	-	+	+	+	-
Kovan 9 ^b	+	-	-	+	+	+	-
Kovan 10 ^a	+	+	+	-	+	-	+
Kovan 10 ^b	-	+	+	-	+	-	+
Kovan 11 ^a	+	+	+	+	+	+	+
Kovan 11 ^b	+	+	+	+	+	+	+
Kovan 12	+	+	+	+	+	+	+
Kovan 13	+	+	+	-	+	-	+
Kovan 14	+	+	+	-	+	-	+
Kovan 15	+	+	+	+	-	+	-
Kovan 16 ^a	+	+	+	+	-	+	-
Kovan 16 ^b	+	+	+	-	-	-	-
Kovan 17 ^a	+	+	-	+	-	+	+
Kovan 17 ^b	+	+	-	+	-	+	+
Kovan 18	+	+	-	+	+	+	+
Kovan 19	+	+	+	+	+	+	-
Kovan 20	+	+	+	+	+	+	-

^{a,b} Numuneler farklı tarihlerde iki kez gelmiştir.

+ Belirtilen predispozisyon faktörleri mevcuttur.

- Belirtilen predispozisyon faktörleri mevcut değildir.

Periyodik kontroller sırasında, mantar infeksiyonlarına karşı kraliçe arının değiştirilmesi, kovanların yerden yüksekliğinin 40-45 cm'ye çıkarılması, kovan çevresindeki otların kesilmesi, eski peteklerin uzaklaştırılması, kovanların değiştirilip dezenfekte edilmesi, gereksiz antibiyotik kullanılmaması, kovanların bulunduğu alana temiz su konulması gibi koruyucu önlemlerin uygulandığı hastalıklı kovanlarda kireç hastalığı infeksiyonunun herhangi bir ilaç tedavisine gerek kalmadan klinik semptomların kaybolduğu görüldü. Bu nlemleri alan 15 kovandan ikinci kez alınan materyallerde etken üremesi olmadı. nlemleri uygulamayan 5 kovanda ise infeksiyonun klinik bulgular devam etti ve ikinci kez etken izolasyonu yapıldı (Tablo 13). Bu kovanlarda da gerekli önlemler alındıktan sonra infeksiyon bulguları kayboldu. nc kez alınan örneklerde etken üremesine rastlanmadı.

Tablo 13-Periyodik kontroller sırasında infeksiyon çıkan kovanlarda önerilen ve uygulanan koruyucu önlemler

Kovan No	Kraliçe arı değişimi	Kovanların yerden yüksekliğinin artırılması	Kovan çevresi uzun boylu otların temizlenmesi	Kovan değişim ve dezenfeksiyonu	Eski peteklerin uzaklaştırılması	Temiz su konulması	Predispoze faktörlerin düzenlenmesinden sonra <i>A. Apis</i> üremesi
1	-	+	Ø	-	+	+	-
2	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	-
4	-	Ø	Ø	+	+	+	-
5	-	+	+	-	+	-	-
6	-	+	+	-	+	-	-
7	+	Ø	Ø	+	+	+	-
8	+	Ø	Ø	-	+	-	-
9 ^a	-	Ø	Ø	-	-	-	+
9 ^b	+	Ø	Ø	+	+	-	-
10 ^a	-	-	-	Ø	-	+	+
10 ^b	+	+	+	Ø	-	+	-
11 ^a	-	-	-	+	-	+	+
11 ^b	+	+	+	+	+	+	-
12	-	+	+	+	+	+	-
13	-	+	+	Ø	-	+	-
14	-	+	+	Ø	-	+	-
15	-	+	+	+	+	+	-
16 ^a	-	+	-	+	+	+	+
16 ^b	+	+	+	-	+	+	-
17 ^a	-	-	-	-	-	+	+
17 ^b	+	-	-	+	+	+	-
18	+	-	+	+	+	+	-
19	-	+	+	+	+	+	-
20	-	+	+	+	+	+	-

^{a,b} Numuneler üç kez gelmiştir.

- +: Öneri yapılan ve uygulanan durumlar
- -: Öneri yapılan ve uygulanmayan durumlar
- Ø: Öneri yapılmayan durumlar

Meteoroloji Sonuçları:

2003-2005 yılları arasında kireç hastalığı infeksiyonunun yaygınlığı incelendiğinde infeksiyonun en yoğun olarak 2004 Mart-Mayıs döneminde görüldüğü belirlendi. 2004 yılındaki nem oranı % 73 iken 2003 ve 2005 yıllarındaki nem oranının % 60 olduğu belirlendi. Aynı zamanda infeksiyonun en yaygın olduğu 2004 yılının Mayıs ayında ortalama nemin % 94-96 olduğu tespit edildi.

İstatistiksel Analiz Bulguları:

Yapılan Ki-Kare testine göre kireç hastalığı infeksiyonu bulunan kovanlarda *Varroa* enfestasyonu tek olarak diğer predispozisyon faktörlerine göre istatistiksel olarak daha önemli bulundu ($p<0.05$)

Varroa enfestasyonu, eski petek kullanımı ve antibiyotik uygulaması gibi predispozisyon faktörlerinin aynı anda bulunduğu kireç hastalığı infeksiyonlu kovanlar ile diğer kovanlar arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye 4 milyon dolayında koloni sayısı ile dünya ülkeleri arasında ikinci sıradayken bal üretimi konusunda kovan başına düşen verim oldukça düşüktür. Bu verim düşüklüğünün en önemli sebeplerinden biri de hastalıkların oldukça yaygın olması ve arı hastalıkları ve zararlıları ile yeterli ve uygun mücadele yapılamamasıdır. Bunun sonucu olarak kolonilerden yeterince verim alınamamakta, Türkiye'nin gerek ihracatta gerekse ülke içinde mevcut ekonomik potansiyelden yararlanmasına engel olmaktadır (1, 7, 20).

Arıcıların büyük çoğunluğunun arı hastalık ve zararlıları konusunda yeterli bilgiye sahip olmaması nedeniyle hastalıklara karşı koruma ve kontrol yöntemleri yeterince uygulanamamaktadır. Ayrıca bilinçsiz ve gereksiz olarak aşırı ilaç kullanılması kolonilerin dengesini bozup özellikle mantar enfeksiyonlarına karşı kolonideki arıların duyarlı duruma gelmesine neden olmakta, hastalık etkenleri ilaçlara karşı direnç kazanmakta ve ilaçlar bal ve balmumu gibi arı ürünlerinde kalıntı bırakarak insan sağlığını da tehdit etmektedir (1, 20).

Bu çalışma ile Bursa'nın farklı ilçelerindeki arıcılık işletmelerinde mantar enfeksiyonlarının yaygınlığı incelenmiş, etkenler belirlenmiş ve enfeksiyonun oluşumunda etkili olan predispozisyon faktörlerinin önemi araştırılmıştır. Ayrıca taraması yapılan kovanların 2 yıl boyunca periyodik kontrolleri yapılmıştır. Mantar enfeksiyonlarına karşı koruyucu önlemler tavsiye edildi. Periyodik kontroller sırasında bu önlemlerin alındığı kovanlarda iyileşme olup olmadığı incelenmiştir.

Kireç hastalığının ülkemizde görülüş oranı klinik bulgu ve anket çalışmalarına göre % 10.7-73, diğer ülkelerde ise % 0.8-62 arasında bildirilmiştir (2, 4, 8, 9, 15, 90, 91). 1999-2000 yılları arasında Fransa'nın farklı bölgelerindeki 41 arılıktaki bal arısı kolonilerinde kış ölümlerinin sebepleri araştırılmış, % 76'sında ölüm nedenlerinin önemli hastalıklar olduğu bildirilmiştir. Bu yıllar arasında görülen hastalıklar arasında kireç hastalığı oranı % 36 olarak bildirilmiştir (15).

Kanada'da kışlatma yapılan kolonilerde kireç hastalığı % 0.8, paket arıcılık yapılan kolonilerde ise % 2.3 olarak bildirilmiştir (90).

Batı Kanada'nın 4 farklı bölgesinde kireç hastalığının klinik olarak incelemeleri yapılmış, ortalama oran % 26 bulunmuştur (89).

Kore'de 2001-2002 yılları arasında farklı bölgelerdeki 42 arılıktaki bal arısı hastalıkları incelenmiş, % 62'sinde sadece kireç hastalığı, % 21'inde de Avrupa yavru çürüklüğü ile birlikte kireç hastalığı görüldüğü bildirilmiştir (91).

bildirilmiştir (18).

Kosta Rika'da Afrika bal arılarında mantar hastalıklarında çoğunlukla *A. apis*, daha sonra *Penicillium* sp., daha az olarak *Beauveria* sp. ve *Cladosporium* sp. izole edildiği bildirilmiştir (9).

Kaftanoğlu ve arkadaşları (2) tarafından yapılan bir araştırmada arı hastalıkları, arıcılara uygulanan anketler ile değerlendirilmiş ve illere göre dağılımı rapor edilmiştir. Türkiye'de 2794 arıcı ile yapılan anket çalışmalarında arıcıların % 73'ünde kireç hastalığı görüldüğü bildirilmiştir.

Çakmak ve arkadaşları (28), Bursa ve çevresindeki balarısı zararlılarını tespit etmek için 22 bölgeden 217 kovani incelemişler ve kireç hastalığını klinik teşhis ile belirleyerek oranını % 26 olarak bildirmişlerdir.

Ankara ve çevresinde inceleme yapılan 156 kovandan 6 (% 10.7) tanesinden alınan larvalardan kireç hastalığı etkeni *A. apis*'in izole edildiği bildirilmiştir (4).

Bu çalışma ile Bursa'nın merkez ve ilçelerindeki arıcılık işletmelerinde mantar hastalıkları yönünden kovan taramaları yapılmış, toplam 1850 kovan mantar hastalıkları yönünden klinik olarak incelenmiş, şüpheli 20 kovandan mumya larva ve işçi arı örnekleri alınmış ve mantar etkenleri yönünden incelenmiştir. 20 kovandan alınan mantar enfeksiyonu şüpheli her iki tür materyalden de kireç hastalığının etkeni *A. apis* % 100 oranında izole edilmiştir. Ayrıca dört (% 20) kovana ait işçi arı örneklerinde aynı zamanda *Penicillium* spp. üredi. Bu bulgular Bursa ve çevresindeki arıcılık işletmelerindeki mantar enfeksiyonlarına *A. apis*'in neden olduğunu ve kireç hastalığının arılar için önemli bir sorun teşkil ettiğini göstermiştir. Türkiye'de 1992 yılından beri kireç hastalığı konusunda yapılan az sayıdaki çalışmalarda (2, 28) belirlenen prevalans oranlarına (% 73, % 26) göre bu çalışmada saptanan % 1.08'lik oranın düşük olması diğer çalışmaların anket çalışması niteliğinde olmasından kaynaklandığını düşündürmüştür. Etken izolasyonu yapılan tek çalışmada (4) ise saptanan %10.7'lik orana göre bu çalışmada saptanan %1.08'lik oran hastalığın Bursa ve çevresinde azalmakla birlikte, sorun olmaya devam ettiğini göstermiştir.

Araştırmacılar, kireç hastalığında gri-beyaz, gri-siyah renkte mumya larvaların görüldüğünü, mumya larvaların kıvamının başlangıçta yumuşak, daha sonra sert olduğunu, bazı kontamine peteklerin üzerinin pamuksu tabakalarla kaplı olduğunu bildirmişlerdir (2, 4, 8, 9, 15, 90, 91). Bu çalışmada da literatürler ile paralel olarak enfeksiyon bulgusu gösteren kovanlarda peteklerinin üzerinin beyaz pamuksu bir tabaka ile kaplı ve petek

gözlerinin büyük çoğunluğunun kapalı olduğu, polen çekmecelerinde mumyalaşmış, beyaz, gri-siyah, siyah renkli larvalar (Şekil-1, 2, 3) olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada, klinik olarak şüpheli kovanlardan alınan larva ve işçi arı örneklerinin hepsinden *A. apis* izole edilmiştir. İşçi arıların tümünde kireç hastalığı etkeninin izole edilmesi infeksiyonun larvalara bulaştırılmasında işçi arıların etkili olduğunu, ayrıca kovandan kovana infeksiyonun taşınmasına neden olabildiklerini göstermiştir. Bu bulgu hastalığın bulaşmasında işçi arıların önemli rolü olduğunu belirten literatürler (8, 9, 15, 90, 91, 94) ile uyumlu bulunmuştur. İşçi arıların infeksiyonun bulaşmasında etkili olduğu bilinmekle birlikte Türkiye’de işçi arılardan etkenin izole edilmesine yönelik başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

A. apis’in besiyerinde oluşturduğu kolonilerin üstten görünümünün tipik (pamuk topu gibi) ve ön teşhiste yeterli olduğu, diğer mantar türlerinde koloni tanımlamasında kullanılan alttan görünüm kriterinin *A. apis* için geçerli olmadığı belirtilmiştir (11, 19, 22, 29, 63, 64, 70). Araştırmacılar kireç hastalığı şüpheli kovanlardan alınan larva ve işçi arı örneklerini farklı işlemlerden geçirdikten sonra besiyerlerine ekmişler ve tipik koloni elde etmek için en uygun metodu bulmaya çalışmışlardır (9, 18, 94). Calderon ve arkadaşları (9) tarafından yapılan bir çalışmada mumya larvalar hem distile su ile yıkanarak direkt, hem de süspansiyon hazırlanarak besiyerlerine ekilmiştir. Koenig ve arkadaşları (94) tarafından yapılan bir çalışmada ise işçi arılar hem steril suda homojenize edilerek, hem de sindirim sistemleri çıkarılıp distile su ile yıkandıktan sonra homojenize edilerek ekimleri yapılmıştır. Mumya larvalar hem direkt olarak hem de kütikuları kazınarak ekilmiştir. Her iki çalışmada da direkt kültüre edilen larva örneklerinden izole edilen *A. apis* koloni görünümünün daha tipik olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, işçi arıların da bütün olarak homojenize edildikten sonra besiyerlerine ekilmelerinin tipik koloni oluşumunda etkili yöntem olduğu belirtilmiştir (94). Bu çalışmada da, birkaç yöntem karşılaştırılmış ve larvaların steril suyla yıkandıktan sonra direkt olarak ve işçi arıların yine distile su ile homojenize edilerek kültüre edildiği izolasyon yönteminde besiyerlerinde gelişen *A. apis* kolonilerinin daha spesifik (pamuk topu gibi) (Şekil-4) ve büyük olduğu gözlenmiştir. Buna karşın larvadan süspansiyon hazırlayarak ve kütikuları kazınarak, işçi arıların da sindirim sistemlerinin çıkarılıp distile suyla süpanse edilerek ekimlerinin yapıldığı metodlarda ise besiyerlerinde gelişen kolonilerin yaygın ve daha küçük olduğu görülmüştür. Bu da spesifik koloniler elde etmek için larva örneklerinden direkt izolasyonun, işçi arıların ise bütün olarak homojenizasyonunun en uygun seçim olduğunu belirten çalışmalarla paralellik göstermiştir (9, 94). Böylece *A. apis*’in laboratuvar

teşhisinde çok önemli olan spesifik görünümlü ve büyük koloniler elde etmek için yöntem seçiminin önemli olduğu vurgulanmış ve bu bulgu daha sonraki izolasyon çalışmaları için yol gösterici olmuştur.

PDA, malt agar ve SDA besiyerlerine % 0.4 yeast extract katılmasının *A. apis*'in üremesini arttırdığı konusunda çok sayıda araştırma bulunmaktadır (11, 19, 63, 64). Spor oluşumunu daha iyi görmek için Avrupa Yavru Çürüklüğü'nün etkeni *M pluton*'un üretilmesi için kullanılan YGPS kullanılması önerilmiştir (29, 64, 75, 76). Ruffinengo ve arkadaşları (70) ise MY20 agarın bu amaç için uygun olduğunu belirtmiştir. Aynı zamanda karbondioksit bulunan ortamda (% 10 CO₂) sporların gelişiminin daha iyi olduğu bildirilmiştir (11).

Bu çalışmada *A. apis*'in lactic acide ve yeast extract ilave edilen PDA'da diğer besiyerlerine (SDA, patojen mantar besiyeri, czapeks dox agar) göre daha iyi ve daha hızlı üreme gösterdiği belirlenmiştir. *A. apis*'in spor kesesi, spor topları ve askosporların gelişiminin ise en iyi MY20 agar ve YGPS agarda olduğu saptanmıştır. Bu bulgular araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermiştir.

Bisset (64), kireç hastalığı şüpheli *M rotundata* kolonilerinden elde edilen 207 petek örneğini incelemiş, izole edilen *A. apis*'in spor kistlerinin 40-110 µm, spor toplarının 7-20 µm, askosporların ise 2.1-3.9 x 1.1-1.7µm çapında olduğunu bildirmiştir. Ruffinengo ve arkadaşları (70) yaptıkları bir çalışmada lokal izolatların spor kist çaplarının 30-109 µm, spor toplarının 6.5-22.5 µm, askospor uzunluğunun 2-4 µm, askospor çapının 1-2 µm ve askospor uzunluk/genişlik oranının 2.2 µm olduğunu, bu ölçümlerin de *A. apis* ölçümleriyle uygunluk gösterdiği ve izole edilen etkenlerin *A. apis* olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda *A. apis*'in spor kisti çapının 45-119 µm, spor toplarının 7-18 µm, askospor uzunluğunun 2.0-3.5 µm, askospor çapının 1.0-2.0 µm ve askospor uzunluk/genişlik oranının 1.9 µm sınırları arasında değiştiği bildirilmiştir (11, 17, 19, 22, 29, 50, 52, 63, 70).

Bu çalışmada, kireç hastalığı şüpheli kolonilerden izole edilen *A. apis*'in askosporları, spor topları ve spor keseleri görülmüştür. Seksüel sporlarla infekte olan örneklerde ise aynı zamanda zigosporlar belirlenmiştir. Larva örneklerinden izole edilen *A. apis* için spor keseleri, spor topları ve askosporların çapları ve uzunlukları mikrometre (µm) olarak ölçülmüştür. Yapılan ölçümler sonucu spor keselerinin çapları 37-121 µm, spor toplarının 7-18.5 µm, askosporların çapı 1-1.8 µm, askosporların uzunluğu ise 1-3.8 µm, uzunluk/genişlik oranı ise 1-2.1 µm sınırları arasında bulunmuştur. Bu sonuçlara göre

izole edilen *Ascosphaera* türü *A.apis* olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar *Ascosphaera* türleri arasındaki ayrımı spor kistleri, spor topları ve askospor ölçülerinin kesin olarak sağladığını vurgulamışlardır (11, 17, 50, 52, 63, 70, 212, 213).

Arılarda mantar enfeksiyonlarında, predispozisyon faktörleri oldukça önem taşımakta, enfeksiyonun oluşumunda ve enfeksiyonla mücadelede de etkili olmaktadır. Bu çalışmada, kovanlarda fungal enfeksiyon taraması yapılırken enfeksiyona neden olabilecek predispozisyon faktörleri de incelenmiştir.

Bal arılarında kireç hastalığı ve *Varroa* arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan bir çalışmada *Varroa* ile infeste kolonilerde kireç hastalığı insidensinin % 13.5-52.3 olduğu, *Varroa* enfestasyonu bulunmayan kolonilerde ise insidensin % 10-18.8 olduğu belirlenmiş ve *Varroa* türlerinden *A. apis* sporlarının izole edildiği, elektron mikroskobu ile *Varroa* türlerinin kütikulası incelendiğinde *A. apis* sporlarının kütikulaya yapışmış durumda olduğu saptanmış, bu sonuçlara göre de *Varroa* türlerinin kireç hastalığının potansiyel vektörü olabileceği bildirilmiştir (109). Bir başka çalışmada ise yoğun *Varroa* enfestasyonu görülen kolonilerde kireç hastalığının daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (111). Sammataro ve Finley (110), kireç hastalığı mummyaları bulunan peteklerin, *Varroa* enfestasyonu bulunmayan kolonilere transferi durumunda ya da çekirdek koloni olarak kullanıldıklarında kolonilere *Varroa* akarını bulaştırdıklarını saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *A. apis* izolasyonu yapılan 20 kovanın 19'unda (% 95) *Varroa* enfestasyonu saptanmıştır. Bu da *Varroa* enfestasyonunun bulunmasının kireç hastalığına duyarlılığı arttırdığını belirten araştırmalarla paralellik göstermiştir. Kireç hastalığı semptomu gösteren kolonilerde % 95 oranında *Varroa* enfestasyonu belirlenmesi ve bunun da istatistiki olarak anlamlı bulunması ($p<0.05$) *Varroa* enfestasyonunun kireç hastalığında en etkili predispozisyon faktörü olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, *Varroa* türlerinin taşıyıcılığının yanısıra arılarda stres faktörü olarak da etkili olabildiğini vurgulamaktadır (109, 111, 214). Arılar stres sonucu hastalığa predispoze hale gelmekte ve eğer kovanda bir kontaminasyon mevcut ise hastalık ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada *Varroa* türlerinden etken izolasyonu yapılmadığı için hastalığın oluşumunda *Varroa* türlerinin ne şekilde etki gösterdiği yorumlanamamıştır. Daha sonraki çalışmalarda *Varroa* türlerinden de *A. apis* izolasyonunun yapılması düşünülmektedir.

Gereksiz antibiyotik uygulamalarının bal arılarında intestinal mikrofloranın dengesini bozması nedeniyle *A. apis* gibi mantar etkenlerinin gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir. (118, 214). Flores ve arkadaşları (114) oksitetrasiklin uygulamasının tek başına değil de

rutubet, ani sıcaklık düşmesi durumunda, kovanlarda kireç hastalığını indükleyici etki yaptığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada görüşülen, arı yetiştiricileri 17 kovanda (% 85) koruma amaçlı antibiyotik (Apimisin-Eritromisin) kullandıklarını belirtmişlerdir. İki yıl boyunca kovanlar periyodik olarak kontrol edilmiş ve gerekli uyarılar yapılmıştır. Bu kovanların tümünde kireç hastalığı görülmesi antibiyotiklerin infeksiyonun çıkışında etkili olduğu görüşlerini desteklemiştir. Ayrıca infeksiyonun en yaygın görüldüğü dönem olan 2004 yılı Mart-Mayıs döneminde nem oranının da meteorolojik verilere göre yüksek olması, Flores ve arkadaşlarının (114) bulgularıyla paralel olarak nemin, antibiyotiğin olumsuz etkisini arttırdığını düşündürmüştür. Diğer taraftan antibiyotik uygulaması ballarda da kalıntıya neden olmaktadır. Bu nedenle arı yetiştiricileri antibiyotik kullanımından kaçınmalıdır. Yurt dışında yavru çürüklüğü infeksiyonlarında antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır (7, 11, 19, 29, 83).

Hastalıklı ve eski petekler ile infeksiyon çıkan kovanlar da kireç hastalığı bulaşmasına neden olabilmektedir. Buralarda etkenin sporları uzun süre canlı kalarak sağlıklı kolonileri de infekte edebilir. Bu peteklerin yenileri ile değiştirilmesi sonucunda kireç hastalığı şiddetinin azaldığı, sonraki yıllarda daha az sorun yaşandığı yapılan bir araştırmayla bildirilmiştir (104). Arı kovanlarında kullanılan peteklerin süresi ve tipi de kireç hastalığı ortaya çıkmasında oldukça etkilidir. Koenig ve arkadaşları (104) tarafından yapılan bir çalışmada iki farklı yeni petek, etilen oksit fumigasyonu yapılmış eski petekler, 30-45 yıllık ve 5-30 yıllık petekler kullanılarak kolonilerde kireç hastalığının görülme oranı incelenmiş ve hastalıktan sonra mutlaka yeni petek kullanılmasının gerekli olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca petek yapımında kullanılan balmumunda bulunan *A. apis* sporlarının larvaları infekte edebileceği rapor edilmiştir (1, 7, 113). Bu araştırmada kovan sahipleri ile görüşülmüş ve infeksiyon görülen 17 kovanda (% 85) 2-3 yıl önceki peteklerin kullanıldığı belirlenmiştir. 14 kovanda (% 70) ise kovanlar arası petek değişimi yapıldığı saptanmıştır.

Bu çalışmada, *Varroa* enfestasyonu, eski petek kullanımı ve antibiyotik uygulamasının kombinasyonunun istatistiki olarak önemli olması ($p<0.05$) bu üç faktörün hastalığın ortaya çıkmasında oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Bu da yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (104, 113, 114, 118).

Etkenin sporlarının soğuk ve nemli havada daha fazla gelişme göstermesi nedeniyle kovan dip tahtasının nemli toprak üzerine yerleştirilmemesi, kovanların yerden 35-40 cm yükseklikte sehpa, birbirine paralel iki ağaç ya da briket üzerine yerleştirilmesi gerektiği

bildirilmiştir (1, 7, 17, 63, 215-217). Bu çalışmada, infeksiyon semptomu görülen kovanların ıslak toprak zemin üzerinde bulunmasının hastalık oluşumunu hızlandırdığı düşünülmüştür. Nem, kireç hastalığını indükleyici bir predispozisyon faktörüdür. Bu nedenle kovanların yerden en az 30-40 cm yükseklikte olması ve rutubete maruz kalması engellenmelidir.

Ayrıca kovan çevresinde uzun boylu bitkilerin varlığı (1, 17, 19), kovanlar arası petek aktarımı (113, 114), zirai ilaç uygulamaları (218) gibi faktörlerin de predispozisyonu arttırdığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada da uzun boylu bitkilerin varlığı % 75, kovanlar arası petek aktarımı % 70, zirai ilaç uygulaması % 35 oranında bulunmuştur. Diğer tedbirlerle birlikte bu korunma önlemlerinin alınması sonucu infeksiyonun tekrarlamaması dikkat çekicidir.

İnfeksiyonla mücadele için kovanları temizlenmesi ve dezenfekte edilmesinin (12, 33, 86, 113, 150, 216, 217), arılıklarda temiz su bulundurulmasının (12, 94), kraliçe arının değiştirilmesinin (12, 139, 140, 141) oldukça önemli olduğu bildirilmiştir.

Hastalık saptanan kovan sahiplerine predispozisyon faktörlerini engellemek için kovan dezenfeksiyonu yapılması, eski ve kontamine peteklerin kovanlardan uzaklaştırılması, arılıklarda temiz su bulundurulması, kovanların yerden yüksekliğinin arttırılması, kovan çevresindeki uzun boylu bitkilerin kesilmesi genetik yatkınlığı engellemek için kraliçe arının değiştirilmesi gibi önerilerde bulunulmuştur. Kovanlara herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamıştır. Önlemlerin alınması sonrasında kovanlarda infeksiyon belirtileri kaybolmuş ve tekrar alınan örneklerde herhangi bir etken üremesine rastlanmamıştır. Ayrıca, bu önlemler alınmayan 5 kovanda klinik olarak infeksiyon belirtileri devam etmiş ve tekrar alınan örneklerde *A. apis* izole edilmiştir. Tekrar hastalık çıkan ve etken izolasyonu yapılan kovan sahiplerinin belirtilen önlemleri alması sonucu infeksiyon belirtileri kaybolmuş ve herhangi bir etken izolasyonu olmamıştır. Bu durum predispozisyon faktörlerinin kireç hastalığının ortaya çıkmasında ne kadar etkili olduğunu ve alınan önlemler sonucu ilaç kullanımına gerek kalmaksızın hastalığın ortadan kaldırılabileceğini göstermiştir.

Bu çalışma ile Bursa ve çevresindeki arıcılık işletmelerinde mantar infeksiyonları yönünden kovan taramaları yapılmış, mantar infeksiyonu semptomları gösteren kovanlardan örnekler alınmış ve izolasyon ve identifikasyon çalışmaları yapılmıştır. Larva ve işçi arı örneklerinden % 100 oranında *A. apis* izole edilmiştir. Bu sonuçlar Bursa ve çevresinde bal arılarında kireç hastalığının diğer mantar infeksiyonlarına göre daha yaygın olduğunu göstermiştir. *Varroa* enfestasyonu, eski petek kullanımı ve antibiyotik

uygulamasının en etkili predispozisyon faktörleri olduğu ve ilaç uygulamasına gerek kalmadan belirli korunma tedbirlerinin alınmasının enfeksiyonla mücadelede oldukça etkili olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. ZEYBEK H. Arı hastalıkları ve zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Etlik/Ankara, sayfa: 96, 1991.
2. KAFTANOĞLU O, YENİNAR H, KUMOVA U, OZKOK D Epidemiology and control of honeybee (*Apis mellifera* L.), diseases in Turkey. TUBİTAK Project No VHAG-925, TUBİTAK Publication No: 92-0054, Final Report. 93 pp. Ankara. 1995.
3. TUTKUN E. Teknik arıcılık el kitabı. Türkiye Kalkınma Vakfı, Yayın No: 6, Ankara, sayfa: 235, 2000.
4. ÖZKIRIM A, KESKİN N. Distribution of the major bacterial brood diseases diagnosed in apiaries in Ankara and its surroundings. *Mellifera*, 2-4: 40-44, 2002.
5. TINAR R. Türkiye’de yetiştirilen bal arılarında görülen önemli hastalıklar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 18: 199-203, 1994.
6. AYDIN L, ÇAKMAK İ, GÜLEĞEN E, KORKUT M Güney marmara bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları anket sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 3: 37-40, 2003.
7. İNAL Ş, GÜÇLÜ F. Arıların mikotik hastalıkları. Arı yetiştiriciliği ve hastalıkları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, sayfa: 82, 1998.
8. YAKOBSON BA, ELAD D, EFRAT H. Chalkbrood (*Ascospaeromycosis*) in apiaries in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 43: 1, 28-33, 1987.
9. CALDERON RA, RIVERA G, SANCHEZ LA, ZAMORA LG. Chalkbrood (*A. apis*) and some other fungi associated with Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Costa Rica. *Journal of Apicultural Research*, 43: 187-188, 2004.
10. ANDERSON DL, GIACON H, GIBSON NL. Culture, detection and thermal destruction of the chalkbrood fungus, *Ascospaera apis*. *Journal of Apicultural Research*, 36: 163-168, 1997.
11. PUERTA F, FLORES JM, RUIZ JA, RUIZ JM, CAMPANO F. Fungal diseases of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Options Medierraneennes Series:B*, 61-68, 1999.
12. HERBERT EW Jr. SHIMANUKI H, KNOX DA. Transmission of chalkbrood disease of honeybees by infected queens, and worker brood and adults. *Journal of Apicultural Research*, 16: 204-208, 1977.
13. GILLIAM M, LORENZ BJ, PREST DB, CAMAZINE S. *Ascospaera apis* from *Apis cerena* from South Korea. *Journal of Invertebrate Pathology*, 61: 111-112, 1993.
14. WITTE K DE. Chalkbrood disease of honeybees. *Agnote*, 578, No: K11, , 1-3, February 2000.
15. FAUCON JP, MATHIEU L, RIBIERE M, MARTEL AC, DRANJNUDEL P, ZEGGANE S, AURIERES C, AUBERT MFA. Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. *Bee World*, 83: 14-23, 2002.
16. BATRA LR, BATRA SWT, BOHART GE. The mycoflora of domesticated and wild bees (*Apiodea*). *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, 49: 13-14, 1973.
17. GILLIAM M, VANDENBERG JD. Fungi. Editor: MORSE RA., NOWOGRODZKI R. Honey bee pests, predators and diseases. Cornell University Press, Ithaca and London, page 64-91, 1990.
18. ALIZADEH A, MOSSADEGH MS. Stonebrood and some other fungi associated with *Apis florea* in Iran, *Journal of Apicultural Research*, 33: 213-218, 1994.
19. BAILEY L, BALL BV. Fungi. Honey bee pathology. Second Edition, Academic Press, London, page: 53-62, 1991.
20. TUTKUN E, BOŞGELMEZ A. Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri. Bizim Büro Basımevi, Ankara, sayfa: 365, 2003.
21. MAGHRABI HA, KISH LP. Isozyme characterization of *Ascospaerales* associated with bees. IV. Analyses. *Mycologia*, 79: 519-523, 1987.

22. ANDERSON DL, GIBSON NL. New species and isolates of spore-cyst fungi (Plectomycetes: Ascosphaerales) from Australia. *Australian Systematic Botany*, 11: 53-72, 1998.
23. SUMMERBELL R. *Aspergillus, Fusarium, Sporothrix, Piedria and Their relatives*. Edit: Howard DH. *Pathogenic fungi in humans and animals*. 237-499, Second edition, New Orleans, Louisiana, Marcel Dekker Inc., 2003.
24. JAMES RR, SKINNER JS. PCR diagnostic methods for *Ascospaera* infections in bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90: 98-10, 2005.
25. MARTIN EC. The use of bees for pollination. Editor: DADANT AND SONS. *Hive and Honey Bee*. Hamilton, Illinois, page: 579-614, 1975.
26. KAYRAL G. Yeni teknik arıcılık. 8.baskı, Simge Ofis Matbaacılık ve Tic.Ltd.Şti., İstanbul, sayfa: 666, 2004.
27. WARD WH, TRUEMAN KF. A quality survey of australian honeys. Rural Industries Research Development Corporation (RIRDC), RIRDC Publication No: 01/049, 2001.
28. ÇAKMAK İ, AYDIN L, GÜLEĞEN E. Güney marmara bölgesinde bal arısı zararlıları ve hastalıkları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 3: 33-35, 2003.
29. HORNITZKY M Literature review of chalkbrood a fungal disease of honey bees. Rural Industries Research Development Corporation (RIRDC), 11, 1-14, 2001.
30. ÖZAKIN C, AYDIN L, ÇAKMAK İ, GÜLEĞEN E. Hazır ve eski peteklerin bakteriyolojik ve mikolojik yönden incelenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 3: 26-30, 2003.
31. MAASSEN A. Further communication on the epidemic brood diseases of bees. *Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land-und Forstwirtschaft*, 14: 48-58, 1913.
32. MAASSEN A. On bee diseases: Further communication on the epidemic brood diseases of bees. *Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land-und Forstwirtschaft* 16:51-58, 1916.
33. SEAL DWA. Chalkbrood disease of bees. *New Zealand Journal of Agriculture*, 95: 562, 1957.
34. BAKER GM, TORCHIO PF. New records of *Ascospaera apis* from North America. *Mycologia*, 60: 189-190, 1968.
35. TORCHIO PF. The biology of *Anthophora (Micranthopra) peritomae* Cockerell (Hymenoptera: Apidoea, Anthophoridae). *Contributions in Science*, 206: 1-14, 1971.
36. THOMAS GM, LUCE A. An epizootic chalkbrood, *Ascospaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive and Spiltoir in the honey bee, *Apis mellifera* L., in California. *American Bee Journal*, 112: 88-90, 1972.
37. GILLIAM M, TABER S. Microorganisms and diseases encountered in continuous bee production. *American Bee Journal*, 113: 222-223, 1973.
38. CONNOR LJ. Chalkbrood is now in Ohio. *American Bee Journal*, 114: 460, 1974.
39. NELSON DL, BARKER R, BLAND E, CORNER J, SOEHNGEN U, VILLENEUVE JL. Chalkbrood disease survey of honey bees in Canada. 1975. *American Bee Journal*, 116: 108-109, 1976.
40. ROSSI CO, CARRANZA MR. Mummification of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae- a disease new to Argentina, caused by *Ascospaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive&Spiltoir. *Gaceta del Colmenar*, 42: 235-237, 1980.
41. FURUYA K, TAKATORI K, SONOBE O, MABUCHI T. Occurence of chalkbrood disease in honeybee larvae in Japan. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, 22: 127-133, 1981.

42. TAKATORI K, TANAKA I. *Ascospaera apis* isolated from chalkbrood in honey bees. Japanese Journal of Zootechnical Science, 53: 89-92, 1982.
43. STEPHEN WP, UNDURRAGA JM Chalkbrood disease in the leafcutting bee. Oregon State University Agricultural Experiment Station Bulletin, No: 630, 1978.
44. TUTKUN E, MADEN S, İNCİ A, YILMAZ B. General situation of chalkbrood disease in honey bees in Turkey. Türk Entomoloji Dergisi, 17: 65-68, 1993.
45. BETTS AD. A bee-hive fungus, *Pericystis alvei*, gen. et. sp. nov. Annals of Botany, 26:795-799, 1912.
46. BETTS AD. Fungus diseases of bees. Bee World, 1:132, 1919.
47. CLAUSSEN P. Historical development of the researches concerning the cause of the diseases of bees known as "Chalkbrood. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land-und Forstwirtschaft 10:467-521, 1921.
48. MAURIZIO A. Fungi in bee colonies. I. *Pericystis* infection of bee larvae. Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft 44: 133-156, 1935.
49. PROKSCHL H. Contributions to the knowledge of development of *Pericystis apis* Maassen. Archiv für Mikrobiologie, 18:198-209, 1953.
50. SPILTOIR CF. Life cycle of *Ascospaera apis* (*Pericystis apis*). American Journal of Botany, 42:501-508, 1955.
51. SPILTOIR CF, OLIVE LS. A reclassification of the genus *Pericystis* Betts. Mycologia, 47:238-244, 1955.
52. SKOU JP. Ascosphaerales. Friesia, 10:1-24, 1972.
53. SKOU JP. *Microascus exsertus* sp. nov. associated with a leafcutting-bee, with considerations on realtionships of species in the genus *Microascus* Zucal. Antonie van Leeuwenhoek, 39: 529-538, 1973.
54. STEJSKAL M *Arrhenosphaera cranei*, gen. et. sp. nov., a beehive fungus found in Venezuela. Journal of Apicultural Research, 13:39-45, 1974.
55. SKOU JP. Two new species of *Ascospaera* and notes on the conidial state of *Bettsia alvei*. Friesia, 11:62-74, 1975.
56. SKOU JP., HACKETT K. A new, homothallic species of *Ascospaera*. Friesia, 11: 265-271, 1979.
57. SKOU JP. *Ascospaera asterophora* species nova. Mycotaxon, 14: 149-159, 1982.
58. SKOU JP, KING J. *Ascospaera osmophila* sp. nov., an Australian spore cyst fungus. Australian Journal of Botany, 32: 225-231, 1984.
59. SKOU JP. Notes on habitats, morphology and taxonomy of spore cyst fungi (Ascosphaerales). Apiacta (Bucharest), 20: 105-108, 1985.
60. ROSE JB, CHRISTENSEN M, WILSON WT. *Ascospaera* species inciting chalkbrood in North America and a taxonomic key. Mycotaxon, 19:41-55, 1984.
61. MAGHRABI HA, KISH LP. Isozyme characterizatón of Ascosphaerales associated with bees. I-*Ascospaera apis*, *Ascospaera prolipeperda*, and *Ascospaera aggregata*. Mycologia, 77: 358-365, 1985.
62. ANDERSON DL, GIBBS AJ, GIBSON NL. Identification and phylogeny of spore-cyst fungi (*Ascospaera* spp.) using ribosomal DNA sequences. Mycological Research, 102: 541-547, 1998.
63. SHIMANUKI H, KNOX DA. Diagnosis of honey bee diseases. Agriculture Handbook Number 690, United States Department of Agriculture, 14-16, 2000.
64. BISSET J. Contribution toward a monograph of the genus *Ascospaera*. Canadian Journal of Botany, 66: 2541-2560, 1988.
65. BAMFORD S., HEATH LAF. The effects of temperature and pH on the germination of spores of the Chalkbrood fungus, *Ascospaera apis*. Journal of Apicultural Research, 28: 36-40, 1989.

66. GOCHNAUER TA, MARGETTS VJ. Properties of honeybee larvae killed by chalkbrood disease. *Journal of Apicultural Research*. 18: 212-216, 1979.
67. ALONSO JM, REY J, PUERTA F, MENDOZA JH, MENDOZA HM, FLORES JM. Enzymatic equipment of *Ascosphaera apis* and the development of infection by this fungus in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 24: 383-390, 1993.
68. GILLIAM M LORENZ BJ. Enzymatic activity of strains of *Ascosphaera apis*, an entomopathogenic fungus of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 24: 19-23, 1993.
69. FELDLAUER MF, LUSBY WR, KNOX DA, SHIMANUKI H. Isolation and identification of linoleic acid as an antimicrobial agent from the chalkbrood fungus, *Ascosphaera apis*. *Apidologie*, 24: 89-94, 1993.
70. RUFFINENGO S., PENA NI., CLEMENTE G., PALACIO MA., ESCANDE A. Suitability of culture media for the production of ascospores and maintenance of *Ascosphaera apis*. *Journal of Apicultural Research*, 39: 143-148, 2000.
71. KISH LP. Spore germination of *Ascosphaera* spp. associated with the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 36: 125-128, 1980.
72. HUBER J. Untersuchungen zur Physiologie Insektentötender Pilze. *Archiv für Microbiologie*, 29: 257-276, 1958.
73. GOCHNAUER TA, BOCH R, MARGETTS VJ. Inhibition of *Ascosphaera apis* by citral and geraniol. *Journal of Invertebrate Pathology*, 34: 57-61, 1979.
74. YOUSSEF NN, WILLIAM RM. In vitro culture of *Ascosphaera aggregata* (Ascosphaeraceae), a pathogen of the alfalfa leafcutting bee *Megachile rotundata* (Apidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 58: 335-347, 1991.
75. BAILEY L. Infectious diseases of the honeybee, *Lands Boks Ltd.*, London, page:202, 1963.
76. BAILEY L. The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus, *Ascosphaera apis*, for larvae of the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Pathology and Microbial Control*, Wageningen, editor: P.A. van der Laan, North-Holland Publishing, Amsterdam, 162-167, 1967.
77. TOUMANOFF C. The diseases of bees. *Revue Française d'Apiculture* numero special, 68, 1951.
78. HALE PJ, MENAPECE DM. Effect of time and temperature on the viability of *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 36: 429-430, 1980.
79. EBLE H, WEIDE W. Die Bekämpfung von *Pericystis apis* Maassen in Labor und Praxis. *Wissenschaftliche Zeitschrift Universität Halle, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe*, 10: 83-86, 1961.
80. FLORES JM, RUIZ JA, RUIZ JM, PUERTA F, BUSTOS M, PADILLA F, CAMPANO F. Effect of temperature and humidity of sealed brood on chalkbrood development under controlled conditions. *Apidologie*, 27: 185-192, 1996.
81. ALBISETTI J, BRIZARD A. Les mycoses de la colonie d'abeilles. *Bulletin Technica Apiculture*, 6: 43-48, 1979.
82. THORSTENSEN K. Kalkyngel en soppsykdom hos bier. *Birokteren*, 92: 14-17, 1976.
83. PUERTA F, FLORES JM, BUSTOS M, PADILLA F, CAMPANO F. Chalkbrood development in honeybee brood under controlled conditions. *Apidologie*, 1994.
84. SEAL DWA. Chalkbrood disease of bees. *New Zealand Journal of Agriculture*, 95: 562, 1957.

85. VANDENBERG J. Chalkbrood susceptibility among alfalfa leafcutting bee (Hymenoptera: Megachilidae) reared on different diets. *Journal Economic Entomology*, 87: 350-355, 1994.
86. VANDENBERG J. Susceptibility to chalkbrood of alfalfa leafcutter bees, *Megachile rotundata*, reared on natural and artificial provisions. *Journal Invertebrate Pathology*, 61: 58-61, 1993.
87. INGLIS GD, GOETTEL MS, SIGLER L. Influence of microorganisms on alfalfa leafcutter bee (*Megachile rotundata*) larval development and susceptibility to *Ascospaera aggregata*. *Journal Invertebrate Pathology*, 61: 236-243, 1993.
88. GILLIAM M, LORENZ BJ, WENNER AM, THORP RW. Occurrence and distribution of *Ascospaera apis* in North America: chalkbrood in feral honey bee colonies that had been in isolation on Santa Cruz Island, California for over 110 years. *Apidologie*, 28: 329-338, 1997.
89. NELSON DL, BARKER RG, BLAND E, SOEHNGEN U, CORNER J. Western Canadian chalkbrood disease survey of honey bees, 1976. *American Bee Journal*, 116: 494-496, 505, 1977.
90. NELSON DL, GOCHNAUER TA. Field and laboratory studies on chalkbrood disease of honey bees. *American Bee Journal*, 122: 29-34, 1982.
91. LEE ML, LEE MY, CHANG YD. Infection rates of three common diseases of *Apis mellifera* L. in Korea. *Apimondia*, 2003.
92. TYSSSET C, DURAND C, TALIERGIO YP. Contribution to the study of microbial contamination and the hygiene of commercial honey. *Recueil de medecine veterinaire*, 146:1471-1492, 1970.
93. MOELLER FE, WILLIAMS PH. Chalkbrood research at Madison, Wisconsin. *American Bee Journal*, 116: 484-486, 1976.
94. KOENIG JP, BOUSH GM, ERICKSON EH JR. Isolation of the chalkbrood pathogen, *Ascospaera apis*, from honey bee (*Apis mellifera*) surfaces, pollen loads, and a water source. *American Bee Journal*, 127: 581-583, 1987.
95. VANDENBERG JD, FICHTER BL, STEPHEN WP. Spore load of *Ascospaera* species on emerging adults of the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39: 650-655, 1980.
96. DE JONG D, MORSE RA. Chalkbrood: a new disease of honey bees in the U.S. *New York's Food and Life Sciences Quarterly*, 9: 12-14, 1976.
97. BARTHEL B. On the trail of chalkbrood. *Garten und Kleintierzucht*. C. Imker, 10: 12-13, 1971.
98. MATUS F, SARBAK L. Occurrence of chalkbrood in Hungary. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 29: 250-255, 1974.
99. MEHR Z, MENAPACE DM, WILSON WT, SACKETT RR. Studies on the initiation and spread of chalkbrood within an apiary. *American Bee Journal*, 116: 266-268, 1976.
100. MEHR Z, WILSON WT, SACKETT RR. Persistence of chalkbrood (*Ascospaera apis*), in some North American honey bee colonies one year after infection. *Apiacta* (Bucharest), 13: 99-102, 1978.
101. MENAPACE DM Chalkbrood infection and detection in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. *American Bee Journal*, 118: 158-159, 1978.
102. MOFETT JO, WILSON WT, STONER A, WARDECKER A. Feeding commercially purchased pollen containing mummies caused chalkbrood. *American Bee Journal*, 118: 412-414, 1978.
103. MENAPACE DM, WILSON WT. The spread of chalkbrood in the North American honey bee *Apis mellifera*. *American Bee Journal*, 116: 570, 1976.

104. KOENIG JP, BOUSH GM, ERICKSON EH. Old may contribute to chalkbrood disease. *American Bee Journal*, 126: 191-192, 1986.
105. KOENIG JP, BOUSH GM, ERICKSON EH. Effect of type of brood comb on chalkbrood disease in honeybee colonies. *Journal of Apicultural Research*, 25: 58-62, 1986
106. DALLMAN H. New methods for the control of chalkbrood in bee colonies. *Garten und Kleintierzucht, Ausgabe C, Imker*, 5: 10, 1966.
107. DEANS ASC. Chalkbrood. *Bee World*, 21:46, 1940.
108. WILLE H. Control of chalkbrood. *Schweizerische Bienen-Zeitung*, 87: 381, 1964.
109. LIU TP. *Varroa* mites as carriers of honey-bee chalkbrood. *American Bee Journal*, 136: 655, 1996.
110. SAMMATARO D, FINLEY J. Observations of the ectoparasitic bee mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) cells infected with chalkbrood (*Ascospaera apis*). *Journal of Apicultural Research*, 43: 28-30, 2004.
111. MEDINA LM, MEJIA EV. The presence of *Varroa jacobsoni* mite and *Ascospaera apis* fungi in collapsing and normal honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, Mexico. *American Bee Journal*, 139:794-796, 1999.
112. GOCHNAUER TA, FURGULA B, SHIMANUKI H. Diseases and enemies of the honey bee. Editors: Dadant and Sons. *The hive and the honey bee*. Hamilton, Illinois: Dadant and Sons, page: 615-662, 1975.
113. FLORES JM, SPIVAK M, GUTIERREZ I. Spores of *Ascospaera apis* contained in wax foundation can infect honeybee brood. *Veterinary Microbiology*, 108: 141-144, 2005.
114. FLORES JM, GUTIERREZ I, PUERTA F. Oxytetracycline as a predisposing condition for chalkbrood in honey bee. *Veterinary Microbiology*, 103: 195-199, 2004.
115. GIAUFFRETT AM, TALIERCIO YP. Fungal diseases of the honey bee (*Apis mellifera* L.): a study of some antimycotics. *Bulletin Apicole*, 9: 123-124, 1967.
116. GIAUFFRETT AM, TALIERCIO YP. Les mycoses de l'abeille (*Apis mellifera* L.) etude de quelques antimycosiques. *Bulletin Apicole De Documentation Scientifique Et Technique Et D'information* 10: 164-174, 1967.
117. SAMSINAKOVA A, KALALOVA S, HARAGSIN D. Effects of some antimycotics and disinfectants on the *Ascospaera apis* Maassen fungus in vitro. *Zeitschrift fuer Angewandte Entomologie*, 84: 225-232, 1977.
118. MENAPACE DM, WILSON WT. Feeding oxytetracyclines as terramycin does not aggravate chalkbrood infections. *Apidologie*, 10: 167-174, 1979.
119. GILLIAM M, TABER S III, RICHARDSON GV. Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. *Apidologie*, 14: 29-39, 1983.
120. SPIVAK M, DOWNEY DL. Field assays for hygienic behavior in honey bees. *Journal of Economic Entomology*, 91: 64-70, 1998.
121. PALACIO MA, FIGINI EE, RUFFINENGO SR, RODRIGUEZ EM, DEL HOYO ML, BEDASCARRAASBURE EL. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*, 31: 471-478, 2000.
122. STANIMIROVIC Z, STEVANOVIC J, PEJOVIC D, MIRILOVIC M. Srbistan'da farklı iki ekocoğrafik bal arısı çeşidinin hastalığa karşı direncinde hijyenik ve düzenleyici davranışlar. *Mellifera*, 1-2: 24-29, 2001.
123. STANIMIROVIC Z, PEJOVIC D, STEVANOVIC J. Hygienic behavior diseases resistance of two honeybee ecogeographic varieties (*Apis mellifera* Carnica) from Serbia. *Apiacta*, 37: 24-31, 2002.

124. TABER S. Breeding bees resistant to chalkbrood disease. *American Bee Journal*, 126, 823-825, 1986.
125. OLROYD BP. Evaluation of Australian commercial honey bees for hygienic behaviour, a critical character for tolerance to chalkbrood. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 36: 625-629, 1996.
126. SPIVAK M, GILLIAM M. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *Journal of Apicultural Research*, 32: 147-157, 1993.
127. VANDENBERG J. Bioassay of the chalkbrood fungus *Ascosphaera aggregata* on larvae of the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60: 159-163, 1992.
128. GOETTEL MS, DUKE GM, RANK GH. Comparisons of chalkbrood susceptibility between a French-derived univoltine strain and a Canadian strain of the alfalfa leafcutter bee, *Megachile rotundata*. *Journal of Apicultural Research*, 34: 123-128, 1995.
129. BAMFORD S, HEATH LAF. The infection of *Apis mellifera* larvae by *Ascosphaera apis*. *Journal of Apicultural Research*, 28: 30-35, 1989.
130. CARRERA P, SOMMARAGUA A, VALITI G. The development of *Ascosphaera apis* within larvae of *Apis mellifera ligustica*. *Journal of Apicultural Research*, 26: 59-63, 1987.
131. VANDENBERG JD, STEPHEN WP. Pathogenesis of chalkbrood in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Apidologie*, 14: 333-341, 1983.
132. HEATH LAF, GAZE BM. Carbondioxide activation of spores of the chalkbrood fungus *Ascosphaera apis*. *Journal of Apicultural Research*, 26: 243-246, 1987.
133. VANDENBERG JD, STEPHEN WP. Etiology and symptomatology of Chalkbrood in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 39: 133-137, 1982.
134. CHORBINSKY P. The development of the infection of *Apis mellifera* larvae by *Ascosphaera apis*. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 7: 1-9, 2004.
135. BARR A, SHOPE RE. The invertebrate gut as a barrier to invading parasites. Edit: MARAMOROSH K, SHOPE RE. *Invertebrate Immunity*. Academic Pres, Newyork, USA, 113-114, 1975.
136. GLINSKI Z, JAROSZ J. The honey bee defense in mycotic diseases. *Honeybee Science*, 21: 69-74, 2000.
137. GLINSKI Z, KOSTRO K. Key stones in insect immunity. *Central European Journal of Immunology*, 26, 43-50, 2001.
138. GLINSKI Z, BUCZEK K. Response of the apoidea to fungal infections. *Apiacta*, 38: 183-189, 2003.
139. CHARLES P, JR MILNE. Honey bee (Hymenoptera: Apidae) hygienic behavior and resistance to chalkbrood. *Annals of the Entomological Society of America*, 76: 384-387, 1983.
140. MORITZ RFA. A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *The Journal of Heredity*, 79: 257-262, 1988.
141. SPIVAK M, REUTER GS. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*, 29: 291-302, 1998.
142. STANIMIROVIC Z, PEJOVIC D, STEVANOVIC J., VUCINIC M, MIRILOVIC M. Investigations of hygienic behaviour and disease resistance in organic beekeeping of two honeybee ecogeographic varieties from Serbia. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 52: 169-180, 2002.

143. STANIMIROVIC Z, STEVANOVIC J, CIRKOVIC D, STANIMIROVIC M
Investigations of hygienic and grooming behaviours of syenichko-Peshterski honey
bee ecotype. XXXVIIIth. Apimondia International Apicultural Congress, Ljubljana,
Slovenia, August 24-29, 2003.
144. TABER S. Studies on chalkbrood disease. American Bee Journal, 132: 327-328,
1992.
145. STEPHEN WP, FICHTER BL Chalkbrood (*Ascosphaera aggregata*) resistance in
the leafcutting bee (*Megachile rotundata*). I. Challenge of selected lines. Apidologie,
21: 209-219, 1990.
146. MAGHRABI HA, KISH LP. Morphological and isozyme survey of chalkbrood
diseases of the alfalfa leafcutting bee in the Western United States. Mycologia, 79:
565-570, 1987.
147. CHORBINSKY P, RYPULA K. Studies on the morphology of strains *Ascosphaera*
apis isolated from chalkbrood disease of the honey bees. Electronic Journal of Polish
Agricultural Universities, 6: 1-9, 2003.
148. REYNALDI FJ, LOPEZ AC, ALBO GN, ALIPPI AM Differentiation of
Ascosphaera apis isolates by rep-PCR fingerprinting and determination of
chalkbrood incidence in Argentinean honey samples. Journal of Apicultural
Research, 42: 68-76, 2003.
149. LU R, GOERZEN W, RANK GH. Use of RAPD analysis for in situ identification of
Ascosphaera aggregata and *Ascosphaera larvis* in larval cadavers of the alfalfa
leafcutting bee, *Megachile rotundata*. Journal of Invertebrate Pathology, 68: 78-83,
1996.
150. GIAFFURET A, TOSTAIN-CAUCAT MJ, TALIERCIO Y. Possibilities of
disinfection by ethylene oxide in bee pathology. Bulletin Apicole, 12: 45-52, 1969.
151. CANTWELL GE, LEHNERT T, TRAVERS RS. USDA research on ethylene oxide
fumigation for control diseases and pests of the honey bee. American Bee Journal,
115: 96-97, 1975.
152. GOCHNAUER TA, MARGETTS VJ. Decontaminating effect of ethylene oxide on
honeybee larvae previously killed by chalkbrood disease. Journal of Apicultural
Research, 19: 261-264, 1980.
153. MABUCHI T. Sterilizing effects of ethylene oxide gas on *Ascosphaera apis*. Journal
of the Japan Veterinary Medical Association, 35: 32-34, 1982.
154. THURBER PF, Good news-A possible easy cure for chalkbrood. American Bee
Journal, 124: 658-659, 1984.
155. GOETTEL MS, RICHARDS KW, GOERZEN DW. Decontamination of
Ascosphaera aggregata spores from alfalfa leafcutting bee (*Megachile rotundata*)
nesting materials by fumigation with paraformaldehyde. Bee Science, 3: 22-25, 1993.
156. GOETTEL MS, DUKE GM Decontamination of *Ascosphaera aggregata* spores from
alfalfa leafcutting bee cadavers and bee cells by fumigation with paraformaldehyde.
Bee Science, 4: 26-29, 1996.
157. LAWRENCE CC, BLOCK SS. Disinfection, sterilisation and preservation. Lea and
Febiger, Philadelphia, 808, 1968.
158. STOCKTON L. Chlorine disinfection of leafcutting bee cells and equipment for
chalkbrood control. Nevada Seed Bulletin, 78: 3, 1978.
159. KOWALSKA M In vitro sensitivity of *Ascosphaera apis* to chemotherapy. Polskie
Archiwum Weterynaryjne, 24: 165-172, 1984.
160. GOETTEL MS, DUKE GM Effects of sorbic acid and methyl paraben on
susceptibility of alfalfa leafcutting bees (*Megachile rotundata*) to chalkbrood
(*Ascosphaera aggregata*). Journal of Invertebrate Pathology, 68: 94-96, 1996.

161. TABER S, SACKET R, MILLS J. A possible control for chalkbrood disease. *American Bee Journal*, 115: 20, 1975.
162. MENAPACE D, HALE P. Citral and a combination of sodium propionate and potassium sorbate did not control chalkbrood. *American Bee Journal*, 121: 889-891, 1981.
163. LIU TP. Ultrastructural changes in the spore and mycelia of *Ascosphaera apis* after treatment with benomyl (Benlate 50W). *Mycopathologia*, 116: 23-28, 1991.
164. PARKER FD. Further studies on the use of fungicides for control of chalkbrood of the alfalfa leafcutting bee. *Journal of Apicultural Research*, 26: 144-149, 1987.
165. PARKER FD. Influence of wood, paper and plaster nesting units on efficacy of three candidate fungicides for control of chalkbrood in the alfalfa leafcutting bee (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Economic Entomology*, 81: 789-795, 1988.
166. YOUSSEF NN, BRINDLEY WA. Effectiveness of botran and DPX 965 as growth inhibitors of *Ascosphaera aggregata* (Ascosphaeraceae) in the alfalfa leafcutting bee (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Economic Entomology*, 82: 1335-1338, 1989.
167. HARTWIG A. Curing chalkbrood by ascocidin application. *Proceedings of the 29th International Congress of Apiculture*, 29: 233, 1983.
168. GOETTEL MS, RICHARDS KW, SCHAALJE GB. Bioassay of selected fungicides for control of chalkbrood in alfalfa leafcutter bees, *Megachile rotundata*. *Apidologie*, 22: 509-522, 1991.
169. GOETTEL MS, DUKE GM, SCHAALJE GB, RICHARDS KW. Effects of selected fungicides on in vitro spore germination and vegetative growth of *Ascosphaera aggregata*. *Apidologie*, 23: 299-309, 1992.
170. GLINSKI Z, RZEDZICKI J. Chalkbrood disease of the honey bee (*Apis mellifera* L.) toxicity of the polyfungine antibiotics and Amphotericine B to larval and adult honey bees. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 22: 297-303, 1980.
171. GLINSKI Z, RZEDZICKI J. Chalkbrood disease of the honey bee (*Apis mellifera* L.) stability of the polyfungine antibiotics and Amphotericine B in honey and sugar syrup. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 22: 305-313, 1980.
172. GLINSKI Z, CHMIELEWSKI M. Detection of residues of choline salt of N-glucopolifungine in honey. *Medycyna Weterynaryjna*, 37: 732-736, 1980.
173. GLINSKI Z, RZEDZICKI J. Chalkbrood disease of the honey bee (*Apis mellifera* L.) The "in vitro" studies of some antimycotics with particular reference to antibiotics *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 22: 315-322, 1980.
174. GLINSKI Z, CHMIELEWSKI M. Antifungal activity of certain polyene antibiotics against *Ascosphaera apis*, the causative agent of chalkbrood. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Section D, Medicina* 34: 1-7, 1979.
175. GLINSKI Z, KOWALSKA M, OSIPOWSKI T. Activity of some disinfectants against *Ascosphaera apis*. *Medycyna Weterynaryjna*, 37: 277-280, 1981.
176. FLORES JM, PUERTA F, GUTIERREZ I, ARREBOLA F. Efficacy of the Apimicos-B control and prevent chalkbrood diseases in honey bees. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 18: 187-190, 2001.
177. GIAUFFRETT A, TOSTAIN-CAUCAT MJ, TALIERCIO Y. Possibilities of disinfection by ethylene oxide in bee pathology. *Bulletin Apicole*, 12: 45-52, 1969.
178. LIU TP, PENG CYS, MUSSEN EC, MARSTON JM, MUNN RJ. In vitro activity of 15-azasterol (A25822B) against chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis* in the honey bee. *Mycopathologia*, 115: 175-184, 1991.

179. TANAKA MT, WATANABE T, TAWARA T, HANAKI S, UCHIYAMA K, TOMINAGA M, INAJI R. An experiment to protect honeybees from chalkbrood disease. *Honeybee Science*, 5: 117-120, 1984.
180. HERBERT EW Jr, CHITWOOD DJ, SHIMANUKI H. New compounds with potential for the control of chalkbrood. *American Bee Journal*, 125: 430-431, 1985.
181. HERBERT EW Jr, CHITWOOD DJ, SHIMANUKI H. The effect of a candidate compound on chalkbrood disease in New Jersey. *American Bee Journal*, 126: 258-259, 1986.
182. ELBE H, WEIDE W. Control of *Pericystis apis* Maassen in the laboratory and in practice. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Universität Halle, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe*, 10: 83-86, 1961.
183. JOHANSEN C. Ninth annual interstate alfalfa seed growers winter seed school. University of Oregon Cooperation Extension Service, Ontario, 1979.
184. LIU TP. A possible control of chalkbrood and nosema diseases of the honey bee with neem *American Bee Journal*, 135: 195-198.
185. DAVIS C, WENDY WARD. Control of chalkbrood disease with natural products. A report for the Rural Industries research and development corporation. RIRDC Publication No 03/107, 2003.
186. COLIN ME, LAHITTE JD, LARRIBAU E, BOUE T. Activity of essential oils of Labiaceae on *Ascosphaera apis* and treatment of an apiary. *Apidologie*, 20: 221-228, 1989.
187. CALDERONE NW, SHIMANUKI H, ALLEN-WARDELL G. An invitro evaluation of botanical compounds for the control of the honey bee pathogens *Bacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and secondary invader *Bacillus alvei*. *Journal of Essential Oil Research*, 6: 279, 1994.
188. LARRAN S, RINGUELET JA, CARRANZA MR, HENNING CP. In vitro fungistatic effect of essential oils against *Ascosphaera apis*. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 122, 2001.
189. DELLACASA AD, BAILAC PN, PONZI MI, RUFFINENGO SR, EGUARAS MJ. Invitro activity of Essential oils from San Luis-Argentina against *Ascosphaera apis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15, 282-285, 2003.
190. MELATHOPOULOS AP, NELSON D, CLARK K. High velocity electron-beam radiation of pollen and comb for the control of *Paenibacillus larvae subspecies larvae* and *Ascosphaera apis*. *American Bee Journal*, 144: 714-720, 2004.
191. REYNALDI FJ, De GIUSTI MR, ALIPPI AM Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Revista Argentina de Microbiologia*, 36: 52-55, 2004.
192. ŞABANOĞLU M, İNCİ A, TUTKUN E, KAFTANOĞLU O, FIRATLI Ç, MADEN S, SÜSLÜ A. Chalkbrood diseases in apiculture (*A. apis* Maas. Ex. Cla.) definition, control and methods of combating it research and publication Project. Development Foundation of Turkey, Kazan, Ankara, 1992.
193. BAYAT C, DEMİR G, BAYAT M Bal arısı larvalarında zarar yapan kireç hastalığı (*Ascosphaera apis* Maassen ex Claussen)'na karşı kimyasal mücadele imkanları üzerinde araştırmalar. *Tür Veteriner Hekimliği Dergisi*, 9: 42-46, 1997.
194. ŞAHİNLER N, KURT Ş, KAFTANOĞLU O. Propolisin kireç hastalığı üzerine etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 3: 37-39, 2003 .
195. TARPY DR. Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270: 99-103, 2003.

196. NELSON DL. An evaluation: a cross between New Zealand and Californian honey bee stocks. *American Bee Journal*, 115: 228-229, 334, 1975.
197. HEATH LAF. Development of chalkbrood in a honeybee colony: a review. *Bee World*, 63: 119-130, 1982.
198. GILLIAM M Chalkbrood control. Ed: CONNOR LJ, RINDERER T, SYLVESTER HA, WONGSIRI S. *Asian Apiculture, Proceedings of the first International Conference on the Asian Honey Bees and Bee Mites*, Wicwas Press, Cheshire, Conneticut, USA, 589-595, 1993.
199. MAASSEN A. The aspergillus mycosis of bees. *Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land-und Forstwirtschaft*, 2: 30-31, 1906.
200. BAHR L. Diseases of honey bees and their broods. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 24: 255-258, 264-266, 1916.
201. VINCENS F. On aspergillus mycosis of bees. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences (Paris)*, 177: 540-542, 1923.
202. STEINHAUS EA. *Principles of Insect Pathology*. Mc Graw Hill, Newyork, page: 216, 1949A.
203. BURNSIDE CE. Fungous disease of the honeybee. U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin, 149, 1930.
204. STEJSKAL M Correlations between bee diseases and atmospheric conditions in Venezuela. *Proceedings of the 17th International Beekeeping Congress*, 17: 634-640, 1958.
205. TOUMANOFF K. Aspergillus mycosis of bees. *Bee World*, 9, 187-188, 1928.
206. DREHER K. On stonebrood of the honey bee. *Zeitschrift für Bienenforschung*, 2: 92-97, 1953.
207. CURY R. Mycoses of honey bees and fungi of beehives. *Biologico (Brazil)*, 17: 214-220, 1951.
208. GRIGORTSOVSKAYA TP, BORODAI NI. A study of the toxicity of cultures of fungi *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma lignorum* on bees of Primorsk (USSR). *Mikologia i Fitopatologiya*, 6: 345-346, 1972.
209. BETTS A. The diseases of bees: their signs, causes and treatment. Hickmott, Camberley, England, page: 126, 1951.
210. MITROUI PA, POPA A, SERBAN M, TOMA C. A study of the intestinal mycotic flora of bees submitted to treatment with antibiotics and sulfathiazole. *Bulletin Apicole*, 9: 43-66, 1966.
211. T.C. ÇEVRE VE ORMAN BAKANLIĞI DEVLET METEOROLOJİ İŞLERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ <http://www.meteor.gov.tr/index.aspx>
212. OLIVE LS. On the evolution of heterothallism in fungi. *The American Naturalist*, 865: 233-251, 1958.
213. JAMES RR. Temperature and chalkbrood development in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Apidologie*, 36: 15-23, 2005.
214. BIENKOWSKA M, POHORECKA K, KONOPACKA Z. Preliminary investigations on the relationship between *Varroa* and chalkbrood infestations in honeybee colonies. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*. XL(2):271-272, 1996.
215. GILLIAM M, TABER III S, LORENZ BJ, PREST DB. Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed polen contaminated with *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 52: 314-325, 1988.
216. GILLIAM M Infectivity and survival of the chalkbrood pathogen, *A. apis*, in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 17: 93-100, 1987.

217. STEPHEN VP, VANDENBERG JD, FICHTER BL. Etiology and epizootiology of chalkbrood in the leafcutting bee, *Megachile rotundata* (Fabricius), with notes on *Ascospaera* species. Australian Experiment Station, Oregon State University, Corvallis, Oregon, Station Bulletin number 653, 1981.
218. DOĐAN A, TOPĐU B, BİLGİLİ A. Arılarda organik fosforlu insektisit (Kaumafos) zehirlenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi., 5: 125-127, 1999.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, planlanması ve yazım aşamasında bana zaman ayıran, yardım ve desteklerini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mihriban ÜLGEN'e, Anabilim Dalımızın diğer öğretim üyelerine, Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma ve teknik kadromuza en derin sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım

Arıcılığı ve arıları bana sevdiren, desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Levent AYDIN'a, arı yetiştiricileriyle iletişimimi sağlayan ve yardımlarını benden esirgemeyen Prof. Dr. Ercan DÜLGEROĞLU, Doç. Dr. Cüneyt ÖZAKIN, Yard. Doç. Dr. İbrahim ÇAKMAK'a, istatistiki analizlerin yapılmasında yardımcı olan Doç. Dr. Metin PETEK'e, Orhaneli köylerindeki arıcılarla bağlantı kurmamı sağlayan Laborant Ayşe UYAR'a, bana hem kovanlarını hem de gönüllerini açan tüm arıcılara, her zaman ve her durumda hep yanımda olan sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım

ÖZGEÇMİŞ

28. 01. 1977 tarihinde Erzincan'da doğdum İlkokul öğrenimimi Erzincan Bahçelievler İlkokulu'nda, ortaokul öğrenimimi Erzincan Cumhuriyet Ortaokulu'nda, lise öğrenimimi ise Aydın Efeler Lisesi'nde tamamladım 1994 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde eğitimime başladım ve 1999 yılında mezun oldum 2000 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım 2006 yılında bu görevimden ayrıldım ve aynı yıl Uludağ Üniversitesi Keles Meslek Yüksekokulu'na Öğretim Görevlisi olarak atandım Halen burada görev yapmaktayım