

# Ana Arı Yetiştirme Kolonilerinde Önemli Bakteriyel ve Mantari Hastalıklar

Mitat KURT  
Yunus GÜR

Veteriner Kontrol Enstitüsü  
Müdürlüğü, Samsun.



## Özet

Örnekleme yapılan 30 ana arı işletmesinde ana arı ve larvaların muayeneleri sonucunda, 5(% 16.66) işletmede A.Y.Ç. etkeni *Paenibacillus larvae* (P. larvae), tespit edildi. Ana arı işletmelerinde Av.Y.Ç. ve kireç hastalığı hiçbir örnekte tespit edilmedi.

Ana arı işletmelerindeki ana arılarda 1(% 3.33) işletmede P. larvae tespit edildi. Ana arı işletmelerindeki larvalarda 5 (% 16.66) işletmede A.Y.Ç. etkeni P. larvae tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Paenibacillus larvae*, Larva, Ana Arı Yetiştirme Kolonileri, Ana Arı, Amerikan Yavru Çürüklüğü

## Giriş

Türkiye, sahip olduğu koloni sayısı ve bal üretimi ile dünyanın önemli ülkelerindedir. Arıcılık sektörü 2011 yılı verilerine göre 6.011.332 kovan sayısı ve 73.935 ton bal üretimi ile ülkemiz hayvancılığının belli başlı sektörlerinden birisi haline gelmiştir(6).

Amerikan Yavru Çürüklüğü, P. larvae tarafından meydana getirilen, bal arılarının larvalarında ölümler yapan bulaşıcı bir enfeksiyondur. P. larvae, mikroaerofilik, Gram (+), spor ve basil formlu bir bakteridir. Delikli, rengi koyulaşmış ve çökmüş petek gözü kapakları altında hastalıklı larvalar görülmektedir. (7, 10, 11, 15, 16).

Lotfi ve ark. (20), İran'da yaptıkları çalışmada, 650 arıcılıktan alınan örneklerin % 5.8'inde P. larvae tespit etmişlerdir.

Ülkemizde; Yalçinkaya (25), Adana ve Hatay'da 185 yavrulu petekte % 29 oranında, Akmaz (1), Adana'da, 300 petekte % 21.6 oranında P. larvae tespit etmiştir. Beyazıt

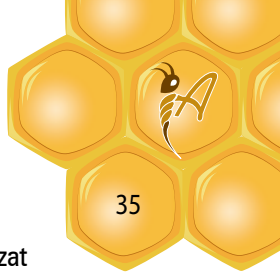
ve ark. (12), numune alınan 394 arı işletmesinden 5 (% 1.27)'inde P. larvae tespit etmişlerdir.

Avrupa yavru çürüklüğü etkeni olan *Melissococcus plutonius*(M. plutonius) larvaları 4-5 günlük iken ölümlerine neden olmaktadır. Açık gözlerdeki larvalar kıvrılmış ve trakeal sistemlerinin görünür haldedir. (4, 10, 22).

Çakmak ve ark.(14) Güney Marmara Bölgesinde 217 arı kolonisinin % 5'inde M. pluton tespit etmişlerdir. Özakin ve ark.(22), 2003 yılında Bursa ve Yalova'da yavru çürüklüğü şüpheli 24 farklı arılıktan eski petek ve 11 marka ticari hazır petekte A.Y.Ç. ve Av.Y.Ç. etkenleri bulamamışlardır. Beyazıt ve ark. (12), numune alınan 394 arı işletmesinden 4 (% 1.01)'ünde *Melissococcus pluton* izole ve tanıya etmişlerdir. Yalçinkaya (25), Adana ve Hatay'da 185 yavrulu petekte % 19 oranında Avrupa yavru çürüklüğü tespit etmişlerdir.

Bal arılarının kireç hastalığı, *Ascosphaera apis* (A. apis) tarafından arı larvalarında mumyalaşmaya ve yavru ölümlerine neden olan fungal bir hastalıktır. Kireç Hastalığı ilk defa Almanya'da 1913 yılında görülmüş, daha sonra ABD, Avrupa ve Asya'da tespit edilmiştir (19, 21). Fransa'nın farklı bölgelerinde 1999-2000 yılları arasında kış ölümlerinin araştırıldığı çalışmada, 41 arılıktaki kireç hastalığı % 36 olarak rapor edilmiştir (18).

Türkiye'de bal arılarında kireç hastalığını; Aydın ve ark. (8) Güney Marmara Bölgesinde % 11, Çakmak ve ark. (14), yine Güney Marmara Bölgesinde % 26, Beyazıt ve ark. (12), Ege Bölgesinde % 1.27, Şahinler ve Gül (24) Hatay'da % 0.01 oranında bulmuşlardır. Yalçinkaya(25), Adana ve Hatay'da 185 yavrulu petek örneğinde yaptıkları çalışmada kireç hastalığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.



## Gereç ve Yöntem

### Materyal

Saha çalışmasında; Türkiye'nin değişik coğrafi bölgelerinde bulunan ana arı işletmelerinden; ana arı, bal arıları ve yavrulu petek gözü temin edilmiştir. Farklı coğrafi bölgelerdeki illerden Ankara'dan 5, Kırklareli'den 2, Mersin'den 5, Adana'dan 1, Artvin'den 5, Ordu'dan 1, Samsun'dan 1, Ardahan'dan 5, Elazığ'dan 1, Aydın 2 ve İzmir'den 2 işletmeden olmak üzere 11 ilden toplam 30 ana arı işletmesinden ana arı ve yavrulu petek örnekleri alındı. Örnekler, ana arı satışının erken olduğu Akdeniz ve Ege Bölgesinde Mayıs-Haziran aylarında; diğer bölgelerde ise Haziran – Temmuz aylarında alındı. İşletmelerden örnekler alınırken basit rastgele örnekleme metodu ile seçilen 3 ana arı üretme kovanından numuneler temin edildi. Her bir ana arı işletmesinden 3 ana arı ve 3 larvalı petek temin edildi.

Laboratuvar çalışmasında; yavru çürüklüğü hastalıklarında ana arılar, larvalı petekler, kireç hastalığında larvalı petekler materyal olarak kullanıldı.

### Metot

#### Amerikan ve Avrupa Yavru Çürüklüğü Hastalık Etkenlerinin Teşhisi

#### Etkenlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu:

#### Paenibacillus larvae'nın İzolasyon ve İdentifikasyonu

Çalışmada kullanılan kovanlardan seçilmiş larvalı peteklerden alınan larva örnekleri ve seçilmiş kovanlardan alınan ana arı örnekleri (larvalar ve ana arı örnekleri ayrı olarak) 9 ml steril PBS içerisinde ezilerek süspansiyon edildi. Elde edilen homojenizatlar biri klasik izolasyon, diğeri de PCR testi için kullanılmak üzere ikiye ayrıldı. PCR için ayrılan homojenizat test edilene kadar -80 OC'de saklandı. İzolasyon için ayrılan homojenizat, sporlu olmayan bakterilerin ölmesi için 80°C benmaride 10-15 dakika bekletildi. Ardından süspansiyon örnekler vorteks ile karıştırıldı. Süspansiyon daha sonra 0,2 ppm tiamin ilaveli Brain Heart Infusion Agar, 9 ppm nalidiksik asit ilaveli kanlı agar, % 7 defibrine koyun kanı ilaveli Columbia Agar ve MYPGP Agar'a ekim yapıldı. Nalidiksik Asit ilavesi ile Paenibacillus alvei'nin üremesi inhibe edildi. Kontrol örneği olarak P. larvae ATCC 9545 suşu kullanıldı. Ekim yapılan petriler 37°C'de % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 48-96 saat inkübe edildi. Her gün petrilerde üremeler kontrol edildi. İnkübasyon sonunda P. larvae'nın vejetatif ve spor formları Gram ve nigrosin boyama ile kontrol edildi. Biyokimyasal karakterizasyon için katalaz, Voges-Proskauer, glukoz, trehaloz, arabinoz, ksiloz, nitrat, nişasta hidroliz ve Holst süt testleri kullanıldı (2, 3).

#### Melissococcus plutonius'nın İzolasyon ve İdentifikasyonu

OIE tarafından tavsiye edilen metotlar kullanıldı. Çalışmada kullanılan kovanlardan seçilmiş larvalı peteklerden alınan larva örnekleri ve seçilmiş kovanlardan

alınan ana arı örnekleri (larvalar ve ana arı örnekleri ayrı olarak) 9 ml steril PBS içerisinde ezilerek süspansiyon edildi. Elde edilen homojenizat biri klasik izolasyon, diğeri de PCR için kullanılmak üzere ikiye ayrıldı. PCR için ayrılan homojenizat kullanılmaya kadar -80°C'de saklandı. Süspansiyon örnekler vorteks ile karıştırıldı. Ardından M. plutonius için hazırlanan M. plutonius agara (MPA) ekim yapıldı. Ekim yapılan petriler 35°C'de % 5-10CO<sub>2</sub>'li ortamda 48-96 saat inkübe edildi. Ekimlerde bir pozitif kontrol örneği olarak M. plutonius ATCC 35311 suşu kullanıldı. Her gün petrilerde üremeler kontrol edildi. İnkübasyon sonunda M. plutonius Gram boyama ile kontrol edildi (4).

#### Amerikan Yavru Çürüklüğü ve Avrupa Yavru Çürüklüğü'nün PCR ile Teşhis Metodu:

OIE tarafından tavsiye edilen metotlar kullanıldı. Amerikan Yavru Çürüklüğü'nde; ana arı ve larva homojenizatlarından hazırlanan süspansiyonlardan QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit kullanılarak, üretici firmanın test protokolüne uygun olarak DNA ekstraksiyonu yapıldı (5).

Amerikan yavru çürüklüğü için 50 µl'lik her bir PCR reaksiyon hacmi için, 5 µl DNA örneği, 50 pmol forward (AFB-F) ve reverse primeri (AFB-R), 10 nmol dNTP, 1-2.5 U Taq polimeraz ve 2 mM MgCl<sub>2</sub> reaksiyon tampon çözeltisi kullanıldı. PCR işleminde reaksiyon koşulları; 95°C 1-1,5 dakika; 30 döngü 93°C'de 1 dakika, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika ve 72°C'de 5 dakika final ekstansiyon aşaması idi (11). PCR değerlendirmesinde pozitif suş olarak P. larvae ATCC 9545 kullanıldı.

AFB-F 5'-CTT-GTG-TTT-CTT-TCG-GGA-GAC-GCC-A-3' 1106 bp (3)

AFB-R 5'-TCT-TAG-AGT-GCC-CAC-CTC-TGC-G-3'

Avrupa yavru çürüklüğünde; ana arı ve larva homojenizatlarından hazırlanan süspansiyonlardan QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit kullanılarak, üretici firmanın test protokolüne uygun olarak DNA ekstraksiyonu yapıldı (13). Avrupa Yavru Çürüklüğü için 50 µl'lik her bir PCR reaksiyon hacmi için, 5 µl DNA örneği, 50 pmol forward (EFB-F) ve reverse primeri (EFB-R), 25 mM dNTP, 1 U Taq polimeraz ve 2 mM MgCl<sub>2</sub> reaksiyon tampon çözeltisi kullanıldı. PCR işleminde reaksiyon koşulları; 95°C 1 dakika; 30 döngü 93°C'de 1 dakika, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika ve 72°C'de 5 dakika final ekstansiyon aşaması ile yerine getirildi (7).PCR değerlendirmesinde pozitif suş olarak M. plutonius ATCC 35311 kullanıldı.

EFB-F 5'-GAA-GAG-GAG-TTA-AAA-GGC-GC-3' 812 bp (4)

EFB-R 5'-TTA-TCT-CTA-AGG-CGT-TCA-AAG-G-3'

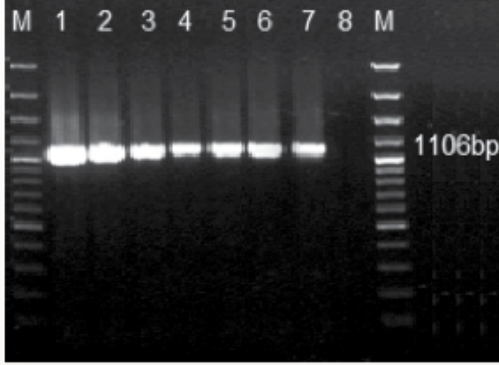
Her iki testte elde edilen PCR ürünleri, A.Y.Ç. için % 0.8, Av.Y.Ç. için %1-1.5'lik agaroz jel içinde yürütülerek UV transillüminatör ile görüntülendi (3).



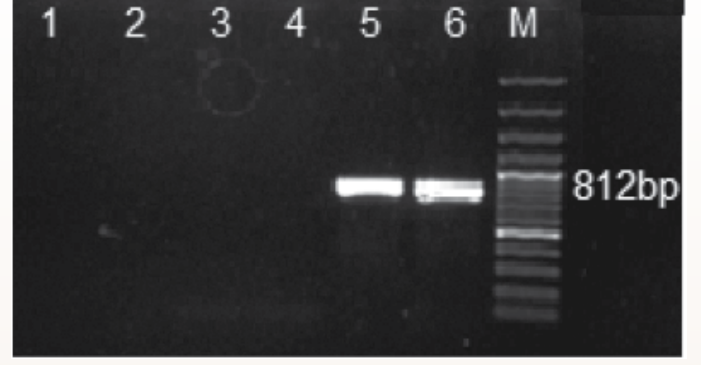
## Kireç Hastalığının Teşhis Metodu:

Laboratuvara getirilen yavrulu peteklerden alınacak larvalar Patato Dextroz Agar + % 0.4 yeast extract besi yerlerine ekilerek; 28°C' de 48 saat inkube edilerek ve mikroskopik muayeneleri yapıldı (19, 22, 23).

### Bulgular



Şekil 1. P. larvae PCR görüntüsü. Soldan sağa. M. Marker  
1. Pozitif örnek (P. larvae ATCC 9545) 2.-6. Pozitif larva örnekleri, 7. Pozitif ana arı örneği, 8. Negatif örnek, M. Marke



Şekil 2. M. plutonius PCR görüntüsü.  
Soldan sağa. 1.-2. Negatif örnekler, 3.-4. Negatif kontrol, 5.-6. Pozitif kontrol (M. plutonius ATCC 9545), M Marker

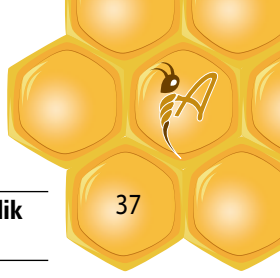
Çizelge 1. Ana Arı İşletmelerindeki Arı, Ana Arı ve Larvalarda Hastalıklarının Dağılımı

İller	Ana Arı İşletme Sayısı	Kireç Hast. Pozitiflik (%)	A.Y.Ç. Pozitiflik (%)	Av. Y. Ç. Pozitiflik (%)
Artvin	5	0	0	0
Ardahan	5	0	0	0
Ordu	1	0	1	0
İzmir	2	0	1	0
Ankara	5	0	1	0
Kırklareli	2	0	0	0
Samsun	1	0	0	0
Mersin	5	0	0	0
Adana	1	0	1	0
Elazığ	1	0	0	0
Aydın	2	0	1	0
<b>TOPLAM</b>	<b>30</b>	<b>0</b>	<b>5 (16.66)</b>	<b>0</b>

Ana arılarda 1(% 3.33) işletmede P. larvae, tespit edildi. Ana arı işletmelerindeki larvalarda 5 (% 16.66) işletmede A.Y.Ç. tespit edildi.

Çizelge 2. Ana Arı İşletmelerindeki Ana Arılarda Arı Hastalıklarının Dağılımı

İller	Ana Arı İşletme Sayısı	A. Y. Ç. Pozitiflik (%)	Av.Y. Ç. Pozitiflik (%)	Kireç Hast. Pozitiflik (%)
Artvin	5	0	0	0
Ardahan	5	0	0	0
Ordu	1	0	0	0
İzmir	2	0	0	0
Ankara	5	1(20)	0	0
Kırklareli	2	0	0	0
Samsun	1	0	0	0
Mersin	5	0	0	0
Adana	1	0	0	0
Elazığ	1	0	0	0
Aydın	2	0	0	0
<b>TOPLAM</b>	<b>30</b>	<b>1(3.33)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>



Çizelge 3. Ana Arı işletmelerindeki Larvalarda Arı Hastalıklarının Dağılımı

İller	Ana Arı İşletme Sayısı	A. Y. Ç. Pozitiflik (%)	Av.Y. Ç. Pozitiflik (%)	Kireç Hast. Pozitiflik (%)
Artvin	5	0	0	0
Ardahan	5	0	0	0
Ordu	1	1	0	0
İzmir	2	1	0	0
Ankara	5	1	0	0
Kırklareli	2	0	0	0
Samsun	1	0	0	0
Mersin	5	0	0	0
Adana	1	1	0	0
Elazığ	1	0	0	0
Aydın	2	1	0	0
<b>TOPLAM</b>	<b>30</b>	<b>5(16.66)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Ana arı işletmelerinde ana arı ve larva örneklerinde Av.Y.Ç. hiç görülmedi. Larva örneklerinde A.Y.Ç. 5(% 16.66) işletmede, ana arı örneklerinde 1(% 3.33) işletmede tespit edildi. P. larvae izole edilen ana arı örneği işletmesinin larva örneklerinden de P. larvae izole edildi.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, 30 ana işletmesinden alınan 5 ana arı işletmesinde (%16.66) P. larvae tespit edilmiştir. Bu sonuç Herbert (18), Akmaz (1), Yalçinkaya (25), Şimşek (24), çalışmalarından yüksek, Çakmak ve ark. (14) ile Borum ve ark. (13) sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Araştırma sonucumuzun nispeten düşük olmasının bir nedeni arıcıların yavru hastalıklarına karşı ilaç kullanmaları olabilir. Ancak A.Y.Ç. ile mücadelede antibiyotik uygulamasının hastalığı yalnızca baskıladığı göz önüne alındığında ana arı alan arıcılık işletmelerinde ileride çıkabilecek hastalık için önemli bir bulaşma kaynağı olabileceği düşünülmelidir. Bu çalışmada bir ana arı işletmesinde ana arıda P. larvae tespit edilmiş olması, hastalığın ana arılarca yayılabileceğini göstermesi

bakımından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Bu araştırmada 30 ana arı işletmesindeki ana arı ve larva örneklerinde Avrupa yavru çürüklüğü tespit edilememiştir. Bu sonuç Borum ve ark. (13) ve Özakin ve ark.(22) sonuçları ile uyumlu, Yalçinkaya(25)'nin, Şimşek (24) ve Çakmak ve ark. (14)'in sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Ana arı işletmelerinde Avrupa yavru çürüklüğünün görülmemesi nedeniyle, üreticilerin yavru çürüklüğü hastalıklarına karşı antibiyotik kullanmaları olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu araştırmada, 30 ana arı işletmesinden alınan 90 petek örneğinin hiçbirinde kireç hastalığı tespit edilememiştir.

### Kaynaklar

- AKMAZ, Ö. (2001). Adana Yöresinde Amerikan Yavru Çürüklüğü Hastalığının Yaygınlığı. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 32 (1-2): 55-60.
- ANON. (2005). Final Report. Annex 3-5. Laboratory Method Collection. Twinning Project between Turkey and Germany. Support for the Alignment of Turkey with the EU Veterinary Acquis. Twinning No: TR02/IB/AG-01, Project No: TR 0203.05.
- ANON. (2011a). OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. American foulbrood disease. <http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals> Erişim: 04.04.2011
- ANON.(2011b). OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. European foulbrood disease <http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals> 04.04.2011
- ANON. (2011c). OIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit. Erişim:<http://www1.qiagen.com/Products/GenomicDnaStabilizationPurification/DNeasyTissueSystem/DNeasyBloodTissueKit.aspx>.Erişim tarihi: 29.06.2011.
- ANON(2012b).[http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt\\_id=46](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=46).Erişim Tarihi: 22.12. 2012.
- AYDIN, N., BÜLBÜL, H., YAVUZ, M.K., BİYİKOĞLU, G., YARALI, C. (1997). Tüketime Sunulan Ballardan ve Hastalık Kovanlardan Alınan Örneklerden Bacillus larvae İzolasyonu ve Antibiyotik Duyarlılığının Saptanması Üzerinde Araştırmalar. TAGEM Projesi, Sonuç Raporu.
- AYDIN, L., ÇAKMAK, İ., GÜLEĞEN, E., KORKUT, M. (2003). Güney Marmara Bölgesi Arı Hastalık ve Zararlıları Anket Sonuçları. Uludağ Arıcılık Dergisi, 3(1):37-40.
- AYDIN, L., GULEGEN, E., ÇAKMAK İ., GIRISGIN, A.O., WELLS, H. (2006). Relation between Nosema and Chalkbrood diseases, and its implication for an apimary management model. Bull Vet Inst Pulawy 50: 471-475.
- BAILEY, L. (1981). Honey Bee Pathology. Academic Press, Inc. Ltd. LONDON.
- BAILEY, L. ve BALL, B. V. (1991). Honey Bee Pathology, 2nd Ed. Academic Press Limited, London, U. K., 183.
- BEYAZIT, A., AKKOCA, N., ESKİZMİRLİLER, S., ALBAYRAK, H., ÖZAN, E., ÖZDEN, M., SELVER, M. M., TUNALIĞIL, S. (2012). Ege Bölgesi İllerinde Önemli Arı Hastalıklarının Yaygınlığının Araştırılması. Hayvan Sağlığı Program Değerlendirme Kitapçık.
- BORUM, A. E., ÜLGEN, M. (2010). Güney Marmara bölgesinde bal arılarında chalkbrood (Aspocphaera apis) infeksiyonunda predispozisyon faktörleri. Uludağ arıcılık dergisi, 10(2):56-69.
- ÇAKMAK, İ., AYDIN, L., GÜLEĞEN, A.E. (2003). Güney Marmara bölgesinde balansı zararlı ve hastalıkları. U. An Derg., 3, 33-35.
- CHANTAWANNAKUL, P. and DANCER, B., N. (2001). American Foulbrood in Honey bees. Bee World, 82(4): 168-180.
- DE RYCKE P.H., JOUBERT J.J., HOSSEINIAN S.H., JACOBS F.J. (2002). The possible role of Varroa destructor in the spreading of American foulbrood among apiaries. Exp Appl Acarol 27(4):313-8.
- FAUCON, J-P., MATHIEU, L., RIBIERE, M., MARTEL, A-C., DRAJNUDEL, P., ZEGGANE, S., AURIERES, C. A. and AUBERT, M. F. A.(2002). Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. Bee World 83(1): 14-23.
- HERBERT EW JR. SHIMANUKI H, KNOX DA. (1977). Transmission of chalkbrood disease of honeybees by infected queens, and worker brood and adults. Journal of Apicultural Research, 16: 204- 208.
- JOHNSON, R. N., ZAMAN, M.T., DECELLE, M. M., SIEGEL, A. J., TARPY, D. R., SIEGEL, E. C. and STARKS, P. T. (2005). Multiple micro-organisms in chalkbrood mummies: evidence and implications. Journal of Apicultural Research 44(1): 29-32.
- LOTFI, A. and SHAHRYAR, H. A. (2011). İran'ın Kuzeybatısındaki Bal Arısı Kolonilerinde Bazı Ekonomik Arı Hastalıkları (Varroosis, Nosemosis ve Amerikan yavru çürüklüğü)'nin Mevsimlere Göre Enfeksiyon Oramları. Uludağ Arıcılık Dergisi, Şubat, 11(1):25-31.
- MORSE, R. A. and FLOTTUM, K. (1997). Honey Bee Pests, Predators and Diseases. Third Edition, Published by the A.I. Root Company, Medina, Ohio, USA.
- ÖZAKIN, C., AYDIN, L., ÇAKMAK, İ. ve GÜLEĞEN, E. (2003). Hazır ve Eski Peteklerin Bakteriyolojik ve Mikolojik Yönden İncelenmesi. Uludağ Arıcılık Dergisi, 3 (1): 27-30.
- ŞAHİNLER, N., GÜL, A. (2005). Hatay Yöresinde Bulunan Arıcılık İşletmelerinde Arı Hastalıklarının Araştırılması. Uludağ Arıcılık Dergisi, 5(1): 27-31.
- ŞİMŞEK, D. (2008). Muğla ili bal arılarının (Apis mellifera L.) mikrobiyal ve paraziter hastalıklar yönünden incelenmesi. Bilim Uzmanlığı Tezi. Hacettepe Üniversitesi.
- YALÇINKAYA, A. (2008). Hatay ve Adana Yöresindeki Bal Arılarının (Apis mellifera L.) Mikrobiyal ve Paraziter Hastalıklar Yönünden İncelenmesi, (Yüksek Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi.

