



Vairimorpha (Nosema) Parazitinin Antimikrobiyal Peptidler Aracılığıyla Bal Arılarının Hümorale Bağışıklığına Etkileri

Cansu Özge TOZKAR

Van Yüzüncü Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 65000, Van, Türkiye

Cansu Özge TOZKAR, ORCID No: [0000-0003-2135-955X](https://orcid.org/0000-0003-2135-955X)

MAKALE BİLGİSİ

ÖZ

Derleme

Geliş: 16.03.2023

Kabul: 27.04.2023

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal peptidler

Apis mellifera L.

Hümorale bağışıklık

Nosemosis

*** Sorumlu Yazar**

ozgetozkar@yyu.edu.tr

Arılar, dünya çapındaki tüm tarımsal türlerin büyük çoğunluğu ve yabancı flora için önemli tozlayıcılarıdır. Son yıllarda dünyadaki arı kolonilerinin sayısında hızlı bir düşüş yaşanmıştır. Bal arıları sosyal böceklerdir, bu da onları mikrobiyal patojenler ve parazitlerin hızla yayılmasına karşı hassas hale getirir. Koloni çöküşüne yol açan tek bir nedensel ajan tanımlanamaz ve işçi arılardaki azalmayla ilgili en yaygın biyolojik etkenlerden biri parazitik microsporidia *Vairimorpha (Nosema) spp.*, esas olarak *Vairimorpha (Nosema) apis* ve *Vairimorpha (Nosema) ceranae*, her ikisi de *Apis* türlerinde görülen Nosemosis hastalığından sorumludur. *Vairimorpha ceranae* daha yaygındır ve koloni çöküşü ile ilişkili olan arı bağışıklık tepkisi üzerinde etkilidir. Bu mikrosporidiaların immünosupresif etkisi ve kovan organizasyonun bozulması koloniyi zayıflatır ve koloni kayıplarına yol açar. Bunun da ekolojik, tarımsal ve ekonomik sonuçları oldukça fazladır. Bal arıları mikrobiyal patojenlerin zararlı etkilerini en aza indiren, doğuştan ve sonradan kazanılmış bağışıklığı içeren son derece etkili savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bal arılarının en temel savunma sistemi olan hümorale tepki, doğuştan gelen bağışıklığın ikinci kategorisidir ve antimikrobiyal peptidler (AMP' ler) aracılık eder. Stres faktörleri ile başa çıkabilme yeteneğine sahip bal arılarının bağışıklık mekanizmalarına odaklanan araştırmalar, kolonilerin gücünü ve verimliliğini arttırmalarına yardımcı olabilir. *Vairimorpha (Nosema) spp.*'nin arıların bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi, karşılıklı ilişkilerini daha iyi anlamak ve etkili arı koruma yöntemleri geliştirmek için daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmalıdır. Bal arısı bağışıklık sistemleri çözümlendikçe, sosyal böcekler ve bağışıklık fonksiyonları arasındaki potansiyel evrimsel ilişki belirlenebilir. Böylece arı kayıplarını azaltmak için yerel alttür ve ekotipleri koruma stratejileri geliştirilebilir.

Effects of *Vairimorpha (Nosema) spp.* on Humoral Immunity of Honey Bees via Antimicrobial Peptides

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Review

Received : 16.03.2023

Accepted : 27.04.2023

Bees are important pollinators for the vast majority of all agricultural species and wild flora worldwide. In recent years, there has been a rapid decline in the number of bee colonies in the world. Honey bees are social insects, making them susceptible to the rapid spread of microbial pathogens and parasites. A single causative agent leading to colony collapse cannot be identified and one of the most common biological factors associated with the decline in worker bees is the parasitic

Lütfen aşağıdaki şekilde atıf yapınız / Please cite this paper as following;

Tozkar, C.Ö., 2023. *Vairimorpha (Nosema)* parazitinin antimikrobiyal peptidler aracılığıyla bal arılarının hümorale bağışıklığına etkileri, Journal of Animal Science and Products (JASP) 6 (1):72-88. DOI:[10.51970/jasp.1266441](https://doi.org/10.51970/jasp.1266441)

Keywords

Antimicrobial peptides
Apis mellifera L.
 Humoral immunity
 Nosemosis

*** Corresponding Author**

ozgetozkar@yyu.edu.tr

microsporidia *Vairimorpha* (*Nosema*) spp., primarily *Vairimorpha* (*Nosema*) *apis* and *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae*, both of which are responsible for Nosemosis in *Apis* species. *Vairimorpha ceranae* is more common and has an effect on the bee immune response associated with colony collapse. The immunosuppressive effect of these microsporidia and disruption of hive organization weaken the colony and lead to colony losses. The ecological, agricultural and economic consequences of this are quite severe. Honey bees have highly effective defense mechanisms that minimize the harmful effects of microbial pathogens, including innate and acquired immunity. The humoral response, the most basic defense system of honey bees, is the second category of innate immunity and is mediated by antimicrobial peptides (AMPs). Research focusing on the immune mechanisms of honey bees, which are capable of coping with stressors, can help colonies increase their strength and productivity. The effect of *Vairimorpha* (*Nosema*) spp on the bee immune system needs to be understood in more detail to better understand their interrelationships and develop effective bee protection methods. As honey bee immune systems are deciphered, the potential evolutionary relationship between social insects and immune functions can be determined. Thus, strategies to protect local subspecies and ecotypes can be developed to reduce bee losses.

Giriş

Sosyal topluluklar halindeki canlılarda gözlenen konak ve parazit ilişkisinin dinamikleri, yalnız yaşayan canlılara kıyasla farklıdır. Özellikle, büyük ve kalabalık sosyal böcek kolonileri parazit büyümesi ve yatay bulaşma (geçiş) için en uygun koşulları sağlar. Bal arıları sosyal böceklerdir, bu da onları mikrobiyal patojenler ve parazitlerin hızla yayılmasına karşı hassas hale getirir. Küçük kovan alanı nedeniyle diğer koloni üyeleriyle temas nedeniyle enfeksiyonlar ve patojen istilaları tüm koloniyi olmasa da çoğunu etkiler. Arılar yiyecek aramak için uzun mesafeleri aşarak sık uçuş yapar, bu durum böcekler ve patojenler arasındaki temas riskini de artırır (Fries ve Camazine, 2001). Tarım işleyişi ve ekosistem döngüsündeki rolü nedeniyle bal arısı '*Apis mellifera* L.', konukçu-parazit dinamikleri için önemli bir model sistemdir. Arılar, dünya çapındaki tüm mahsul türlerinin yaklaşık % 70' i ve yabancı flora için önemli tozlayıcılarıdır (Potts ve ark., 2010). Bu nedenle, yönetilen bal arılarının dünya çapındaki kayıplarının endişe verici raporları, bal arısı sağlığı konusunda yoğun araştırmaları teşvik etmiştir. Koloni kayıplarının nedenlerinden biri de patojenlerin yol açtığı enfeksiyonlar sonucunda gelişen immünosupresyondur (bağışıklık baskılanması). Stresörlerle başa çıkabilme yeteneğine sahip bal arılarının bağışıklık mekanizmalarına odaklanan araştırmalar, kolonilerin gücünü ve verimliliğini arttırmalarına yardımcı olabilir. Toplu savunma veya 'sosyal bağışıklık' koloni düzeyinde önemli bir rol oynar ancak bireysel üyelere her zaman mutlak koruma sağlamazlar. Bazı durumlarda arı bireyleri, koloninin yararına olacak şekilde feda edilebilir. Patojenler bireysel düzeyde karmaşık hümmoral ve hüccresel bağışıklık mekanizmalarına maruz kalırlar (Wilson-Rich ve ark., 2009; Le Conte ve ark., 2011).

Bu derlemenin amacı, bal arılarının patojenlere karşı doğuştan gelen ve sonradan kazanılan bağışıklık mekanizmaları ile birlikte hümmoral düzeyde antimikrobiyal peptidlerin (AMP' ler) yapıları, biyolojik rolleri ve aktiviteleri ilgili bilgi vermek ve arı popülasyonlarının azalmasında etkin bir rolü olan *Vairimorpha* (*Nosema*) enfeksiyonuna yol açan *Vairimorpha* spp' ni ve etkilerini tanımak, ve *Vairimorpha*'nın bal arılarında hümmoral düzeyde AMP' lerin

etkinliği ve üretimi açısından etkisini analiz eden literatürü sunmaktadır.

Bal Arılarında Bağışıklık Sistemi Türleri

Yüksek omurgalılar patojenlere karşı savaşmak için hem doğuştan gelen ve hem de adaptif (uyum sağlayan) bağışıklık sistemlerinin her ikisine de sahipken, böcekler tek savunma hattı olarak doğuştan gelen bağışıklık sistemine sahiptir. Doğuştan gelen bağışıklık, patojenlere veya toksik maddelere maruz kalmaya yanıt verirken, fiziksel engeller (örneğin kütikül, mukoza zarları, vb.) ve toksinleri ile patojenleri nötralize eden hücreler ve kimyasallar gibi edinilmiş (önceden var olan) mekanizmaları kullanır. Dendritik hücreler, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler ve fagositler hücresel efektörler kapsamındadır ve yüksek omurgalılardaki doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından kullanılırlar. Hümorale efektörleri ise doğal antikolar, antimikrobiyal peptidler (AMP'ler), akut faz proteinleri ve çeşitli sitokinler, ek sistem fraksiyonları oluşturur. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin özgünlüğü ve kısmen kalıtsal olmasının sebebi, bireysel bağışıklık sistemlerinin sayısız patojenle birlikte evrimidir (Murphy ve ark., 2017).

Adaptif veya kazanılmış bağışıklık, belirli toksinlere veya patojenlere adapte olmuş spesifik bağışıklık reaksiyonları anlamına gelir. Organizma bazı moleküller aracılığıyla patojenleri tanır ve bu molekülleri kodlama biçimleri adaptif ve doğuştan gelen bağışıklık sistemleri arasındaki farkı oluşturur. Doğuştan gelen bağışıklıkta, bu tanıma reseptörleri doğrudan germ hattına kodlanır ve yavrulara genetik olarak aktarılır. Bu durumda, incelenen türlerde tanımlanan reseptör repertuarı rastgele ve sınırlıdır. Adaptif bağışıklık, sonsuz sayıda patojeni tanıyacak kadar geniş bir adaptif bağışıklık reseptörleri repertuarı ile, doğuştan gelen bağışıklığa kıyasla daha fazla reseptör gerektirir (Murphy ve ark., 2017).

Diğer ökaryotlara benzer şekilde bal arıları (*Apis mellifera* L.) mikrobiyal patojenlerin zararlı etkilerini en aza indiren, doğuştan ve sonradan kazanılmış bağışıklığı içeren son derece etkili savunma mekanizmalarına sahiptirler. Vücutta bulunan doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bileşenleri, enfeksiyöz ajanlar için bariyer görevi gören anatomik yapılar, fagositoz, patojenlerin melanizasyonu gibi savunma süreçlerini destekleyen hücresel bağışıklık ve polifenol oksidaz, lizozim ve pektin benzeri polipeptidler ve hemolenf proteinleridir (Lemaitre ve Hoffmann, 2007).

Bal arıları dahil olmak üzere böceklerin en temel savunma sistemi olan hümorale tepki, doğuştan gelen bağışıklığın ikinci kategorisidir. Kimyasallar ve antimikrobiyal peptidler (AMP'ler) aracılık eder. Bunlar genellikle 12 ila 50 amino asit boyutunda küçük, yüksek oranda korunmuş proteinler olup, bakteri ve mantar enfeksiyonlarına yanıt olarak üretilip böcek hemolenfine salınır, aynı zamanda viral enfeksiyonlar sırasında da sentezlenebilirler (Lemaitre ve Hoffmann, 2007). Hümorale efektörlerin üretildiği ana yapı dorsal kavitenin yağ gövdesidir. Hümorale efektörler epitel hücrelerinde, tükürük bezlerinde ve hemositlerde sentezlenebilir (Schlüns, 2007; Gättschenberger ve ark., 2013). *Bombus pascuorum* ve *Bombus terrestris*' te, AMP'lerin daha fazla antimikrobiyal etki sağlamak üzere sinerji içinde hareket ettiği gösterilmiştir, bu durum, bir AMP' in diğerinin etkinliğini iyileştirebilmesi için güçlendirmeyi içerebilir. AMP'lerin kombinasyonu, AMP'lerin antimikrobiyal aktivitesini düşük konsantrasyonlarda yükselterek bağışıklık sistemine ayrılan kaynakların azalmasını sağlar ve bunu da bağışıklık yanıtlarının özgüllüklerini, etkinliklerini, çeşitliliklerini ve

sağlımlıklarını arttırarak gerçekleştirir (Rahnamaeian, 2015).

Bağışıklık tepkisinin düzenlenmesi

Böceklerin patojenler ve parazitlerle baş etmesinin birçok farklı yolu vardır. Patojenleri yok etmek için tipik mekanizmalar davranışsal, fiziksel, fizyolojik ve bağışıklık savunmalarıdır (Evans ve Spivak, 2010). Tüm bağışıklık tepkileri, genellikle üç aşamada gruplandırılabilen bir olaylar dizisini içerir: 1) tanıma, 2) patojenleri ortadan kaldırmayı amaçlayan hücrel ve humoral efektör mekanizmalar 3) sinyal yollarının aktivasyonu (Guzman-Novoa ve ark., 2011).

Enfeksiyöz ajanların nüfuz etmesini engelleyen ilk mekanik bloklar, ayrıca dış iskelet kütikülü ve sindirim sistemini kaplayan peritrofik zarlar, pH ve bağırsak kimyasallarındaki değişikliklerdir (Crailsheim ve Riessberger-Galle, 2001). Humoral ve hücrel bağışıklık ikinci savunma şeklidir (Gillespie ve ark., 1997; Lavine ve Strand, 2002; Boman, 2003). Fagositoz, kapsülleme ve melanizasyon, fenol oksidaz (PO) ve glukoz dehidrojenaz (GLD) katalizli hücre bağışıklığı ile bağlantılıdır. Bunlar fenol oksidaz (PO) tarafından katalize edilir (Cox-Foster ve ark., 1990; Decker ve Jaenicke, 2004) Doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin üçüncü yolu, serin proteaz kaskadı yoluyla profenoloksidazı (proPO) aktive etmektir. Melanin ve kinon sentezi ile sonlanır (Cerenius ve ark., 2008). Toll yolu, IMD yolu, ardından JNK yolu ve JAK/STAT yolu, *A. mellifera* genomunda dört bağışıklık yolu olarak tanımlanmıştır (Evans ve ark., 2006) ve *Vairimorpha (Nosema)* enfeksiyonuna tepki verir (Antúnez ve ark., 2009). Mantarlara ve gram pozitif bakterilere karşı korunma Toll yolu ile düzenlenir ve gram negatif bakterilere karşı IMD yolu ile korunur (Evans ve Spivak, 2010).

Antimikrobiyal peptidler (AMP'ler)

Antimikrobiyal peptidler (AMP'ler) ile temsil edilen kazanılmış bağışıklık bakteri, mantar ve parazitlere yanıt vermek için karşı bir cevap olarak aktive edilirler. Antimikrobiyal peptidler sentezlenmezler veya bağışıklık tepkisini başlatabilen bulaşıcı ajanlar vücutta olmadığına inaktif öncüler formunda meydana gelirler (Danıhlık ve ark., 2015).

Böceklerde 170'den fazla AMP tanımlanmıştır (Brutscher ve ark., 2015). Bal arılarının geniş hemolenf aktivitesine sahip dört AMP ailesi vardır: Apidaesin (Casteels ve ark., 1989), abaesin (Casteels ve ark., 1990), hymenoptaesin (Casteels ve ark., 1993) ve defensin (Klaudiny ve ark., 2005; Ilyasov ve ark., 2012). Apidaesinler küçüktür, prolin açısından zengin 18 amino asit içeren peptidlerdir. Peptidin korunmuş C-terminali antibakteriyel özelliklerinden sorumludur ve diğer amino asit kalıntıları bölgeye ikame edildiğinde molekül devre dışı bırakılır. N-terminus değişken bir bölgedir ve amino asit dizisindeki modifikasyonlar peptidin aktivite spektrumu değişikliklere yol açar ve böylece peptidin spesifik patojenlere adapte olmasına olanak tanır (Dutta ve ark., 2008, Matsumoto, 2010). Dört tane apidaesin izoformu tanımlanmıştır ve üç tanesi *A. mellifera'* da in vivo olarak tespit edilmiştir: apidaesin 1a, 1b ve 2. Apidaesin genlerinin ifadesi Toll sinyal yolu etkinleştirildiğinde, enfeksiyondan kısa bir süre sonra artar (Casteels ve ark., 1993). Gen ifadesi büyük ölçüde arıların beslenme ve sağlık durumları tarafından belirlenir (Casteels ve ark., 1989; Casteels ve ark., 1993). Gram-negatif bakteriler en güçlü bağışıklık tepkisini tetikler. Apidaesin molekülleri yapıları gereği bakteri hücre duvarlarını geçebilir, bakteriyel proteinlerin sentezini bloke edebilir, bakteriyel ATP-azların işlevini ve bakteri hücrelerinin metabolizmasını bozabilir (Gliński ve ark., 2011).

Abaesin 33-34 amino asitten oluşan prolin açısından zengin bir peptiddir (Casteels ve ark., 1990). Abaesin genlerinin ekspresyonu hem kuluçka hem de yetişkin bireylerde enfeksiyondan sonra artar. Abaesin çoğunlukla gram-pozitif bakterileri ve daha az derecede, gram negatif bakterileri hedefler. Apidaesinlerle birlikte tamamlayıcı antibakteriyel savunma sağlar (Gliński ve ark., 2011). IMD sinyal yolunun aktivasyonu gen ekspresyonunu etkiler ve peptidin etkinliği çevrede artar (Casteels ve ark., 1990). Apidaesinlere benzer şekilde abaesin, bakteri hücre duvarları üzerinde tahrip edici etkiler göstermez, ancak bakteri hücresine girdikten sonra metabolik işlevini bozar. Araştırmalar göstermiştir ki, abaesinin potansiyeli kalıtsaldır ve bu peptid daha yüksek direnç seviyeli arı kolonilerini seçmek için işaretleyici (markör) olarak kullanılabilir (Decanini ve ark., 2007). Hymenoptaesin, glisin açısından zengin 93 amino asitten oluşan bir peptiddir (Casteels ve ark., 1993). Hem gram pozitif hem de gram negatif bakterileri hedefler. Hymenoptaesin genlerinin ifadesi diğer AMP'lere kıyasla daha yavaş bir oranda yukarı regüle edilir ve IMD yolağı tarafından kontrol edilir. Hymenoptaesin çoklu patojenlere yanıt olarak aktive edilir. Bu AMP bakteri hücre membranlarını tahrip eder, membranlar ve bakteri hücre duvarında iyonların ve metabolitlerin kaçtığı kanallar oluşturur, bu da bakteri hücrelerinin işlevini bozar. Hymenoptaesin bakteri hücre zarlarının geçirgenliğini artırır (Casteels ve ark., 1993). Bir hymenoptaesin homologuna sahip olan bal arılarının aksine, doğu bal arıları (*Apis cerana*) bu türün bağışıklık sisteminde çok daha büyük bir rol oynayan iki homolog içerir (Xu ve ark., 2009).

Defensinler 51 amino asitten oluşan sistein açısından zengin peptidlerdir. Defensin genlerinin ekspresyonu, Toll yolu ile aktive edilir. Bal arısı genomunda defensin 1 ve defensin 2 olmak üzere iki farklı defensin geni bulunmuştur (Evans, 2006). Defensin 1, üç izoformdan oluşur: bunlardan biri hemolenfte bulunur ve diğer ikisi arı sütü içindedir. Defensin 1, balın önemli bir antibakteriyel bileşenidir ve arı kolonilerinde sosyal bağışıklığın oluşumunda rol alır. Defensin 2, bireysel bağışıklığı destekler ve yağ gövdesi ve hemolenfte üretilir (Ilyasov ve ark., 2013). Defensinler esas olarak gram pozitif bakterileri ve mantarları hedefler. Bakteri hücre zarına ve duvarına zarar verirler ve hücreleri hayati önem taşıyan metabolitlerden yoksun bırakırlar (Casteels ve ark., 1994). *Apis cerana* ile *Apis mellifera* AMP' lerinin karşılaştırmalı analizine göre üç AMP ailesindeki (apidaesin, abaesin ve defensin) yüksek benzerliğe rağmen Asya arıları hymenoptaesin peptidinde çok daha yüksek ayrışma göstermiştir. *A. mellifera*' da sadece bir tane hymenoptaesin peptidi bulunmasına rağmen, *A. cerana*' da 13 farklı hymenoptaesin peptidinin tespit edilmesi, Batı arısına kıyasla potansiyel olarak daha kısa evcilleştirme geçmişi ile ilişkilendirilmiştir (Xu ve ark., 2009).

Bal Arısı Koloni Kayıpları ve *Vairimorpha (Nosema)*

Son yıllarda dünyadaki arı kolonilerinin sayısında hızlı bir düşüş yaşanmıştır. Arıların mevcut sağlık durumu arı popülasyonlarını korumak için etkili önlemlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Koloni çöküşüne yol açan tek bir nedensel ajan tanımlanamaz ve keşfedilmemiş diğer mikroorganizmaların etkileri göz ardı edilemez (Flores ve ark., 2019). Bal arıları dahil olmak üzere böcek popülasyonlarındaki azalmanın nedenleri olarak iklim değişikliği, yoğun tarımsal faaliyetler, yiyecek kıtlığı ve istilacı türlerin yanı sıra kimyasalların, böcek öldürücülerin ve herbisitlerin kontrolsüz kullanımı gibi abiyotik ve biyotik faktörler gösterilmiştir. (Desneux ve ark., 2007; Bacandritsos ve ark., 2010; Potts ve

ark., 2010; Flores ve ark., 2019; Wagner, 2020). Biyotik faktörler arasında akaritler (*Varroa destructor* ve *Acarapis woodi*), *Vairimorpha* (*Nosema*), böcekler (*Aethina tumida*), Dicistroviridae familya virüsleri ve bakteriler (*Paenibacillus larvae* ve *Melissococcus plutonius*) ve son zamanlarda, *Lotmaria passim* adlı protozoalar gibi farklı türler bulunur. Abiyotik ve biyotik faktörlerden elde edilen birleşik etkiler arı popülasyonu kayıplarını artırabilmektedir (Nazzi ve ark., 2012; Desai ve ark., 2016; Grassl ve ark., 2018; Grupe ve ark., 2020).

***Vairimorpha* (*Nosema*) spp.**

İşçi arılardaki azalmayla ilgili en yaygın ikinci biyolojik ajan parazitik microsporidia *Vairimorpha* spp.: Esas olarak *Vairimorpha apis* ve *Vairimorpha ceranae*, her ikisi de *Apis* spp.'de görülen Nosemosis hastalığından sorumludur (Grupe ve ark., 2020). Nosemosis, arıcılık faaliyetleri olan her ülkede bulunan ergin arıların ciddi bir hastalığı olarak kabul edilmektedir (Bailey ve Ball, 1991). Microsporidia, 160' tan fazla cins ve *Vairimorpha* (*Nosema*) spp. dahil olmak üzere yaklaşık 1.300 türden oluşan oldukça özelleşmiş mantarlardır (Corradi ve Keeling, 2009). Yıllar boyunca, batı bal arısının Nosemosis'i ilk olarak Avrupa bal arıları *Apis mellifera* L.'de tanımlanan *Vairimorpha apis* olarak anılırdı. *Vairimorpha ceranae* ilk olarak Asya'da tanımlanmıştır. İspanya'da Nosemosis' in birincil etiyojik organizması olarak *V. ceranae* ortaya çıkmıştır (Higes ve ark., 2006), bu mikrosporidyumun prevalansı Avrupa, Amerika ve Asya'nın çeşitli bölgelerinde de rapor edilmiştir (Fries ve ark., 2006; Huang ve ark., 2007; Klee ve ark., 2007; Chauzat ve ark., 2007; Cox -Foster ve ark., 2007; Paxton ve ark., 2007; Williams ve ark., 2008; Chen ve ark., 2008; Invernizzi ve ark., 2009; Whitaker ve ark., 2010; Kartal ve ark., 2021). *In vivo* ortamla ilişkili görünme de, *V. ceranae* ve *V. apis* hücre kültüründe farklı çoğalma oranları sergilerler (Gisder ve ark., 2017). *V. apis* ve *V. ceranae* benzer virülans çoğalma ve ölüm oranları (Forsgren ve Fries, 2010), gösterse de, *V. ceranae* daha yaygındır ve koloni çöküşü ile ilişkili olan arı bağışıklık tepkisini baskılar (Antúnez ve ark., 2009; Chen ve ark., 2009; Gómez-Moracho ve ark., 2021). *V. ceranae* enfeksiyonları, ilkbaharda daha yüksek enfeksiyon seviyeleri ile mevsimsellik gösteriyor gibi görünmektedir ve coğrafya ve virüslerin varlığı gibi diğer faktörlerden etkilenmektedir (Forsgren ve Fries, 2010; Traver ve ark., 2012; Gajda ve ark., 2021).

***Vairimorpha* (*Nosema*)'nın bal arılarına etkileri**

Yetişkin işçi arılar, erkek arılar ve kraliçeler gibi koloninin tüm üyeleri *Vairimorpha*' dan etkilenir. Bal arısı kolonilerinde hastalık bulaşması, *Vairimorpha* sporlarının enfekte gıda ve su ile tüketildiği fekal-oral yolla veya enfekte arılardan ya da enfekte peteklerden fekal içeriğin uzaklaştırılması sırasında gerçekleşir. Sporlar çiçekler aracılığı ile de duyarlı olan başka konukçulara bulaşabilir. Arıların oldukça geniş olan yiyecek arama kapsamları, hem yerel patojen yükünün artmasına hem de *Vairimorpha*' nın yeni habitatlara dağılmasına da neden olur. Bu patojenlerin doğal geçişine ek olarak, ticari ürünler bal, arı poleni ve arı sütü kontamine olabilir ve potansiyel olarak bu patojenleri yayabilir (Teixeira ve ark., 2018).

Bu mantar parazitleri, konak hücrenin dışında sadece metabolik olarak aktif olmayan sporlar olarak yaşar ve konaklar arasında orta bağırsakta filizlenen sporlar olarak çoğalır. Milyonlarca ekstra spor, birincil enfeksiyondan birkaç hafta sonra bir arının orta bağırsağında büyüebilir ve çoğalabilir (Bailey ve Ball, 1991). *Vairimorpha* (*Nosema*) enfeksiyonlarının

bal arıları üzerinde önemli ölçüde zararlı etkileri vardır, dizanteriye neden olur, bal arılarının yaşam sürelerini kısaltır, enfekte olmuş ana arıların değiştirilmesine yol açar, koloni boyutunu küçültür, aşırı kış ölümleri, düşük polen toplama durumunun yanı sıra bal üretimini ve tozlaşan arılara bağlı ürün miktarını azaltır (Goodwin ve ark., 1990; Malone ve ark.,1995). Bal arılarının davranışları ve fizyolojisi *V. ceranae* ile bozulur (Goblirsch ve ark., 2013; Dussaubat ve ark., 2013).

V. ceranae ile enfekte toplayıcı arılar, hemolenflerinde düşük karbonhidrat miktarlarına ve iştahlarını artıran ve koloninin beslenme davranışı üzerinde önemli bir etki yaratan enerjik gerilime sahiptir. Bu durum olumsuz koşullar altında yiyecek aramaya daha yatkın olmaları yönünde varlıklarını etkiler (Mayack ve Naug, 2009; Mayack ve Naug, 2010). Yuvadaki enfekte arılar sükreza karşı daha hassastır ve bunu diğer arılarla paylaşmaya daha az istek gösterirler, bu da onların açlık seviyelerinin arttığına işaret eder (Naug ve Gibbs, 2009). *V. ceranae*'nin daha yüksek virülansı kafes deneylerinde ve ayrıca arazi koşullarında kaydedilmiştir (Higes ve ark., 2006; Paxton ve ark., 2007; Higes ve ark., 2007). *V. ceranae*, Amerika'da Koloni Çöküş Bozukluğu (CCD) ve Avrupa'da Bal Arısı Koloni Çöküş Sendromu (CDS) ile Dünya'da çeşitli ekonomik ve ekolojik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Higes ve ark., 2008; Higes ve ark., 2009; Buczeck, 2009; Olszewski, 2009). *V. ceranae* enfeksiyonlarının bal arısı sağlığını bireysel düzeyde olumsuz etkilediği ve bunun da belirli koşullar altında koloni uyumunun azalmasına yol açabileceği gösterilmiştir. *Vairimorpha* enfeksiyonunun yoğunluğuna bağlı olarak bal arıları beslenme ve enerji stresi (Mayack ve Naug, 2009; Martín-Hernández ve ark., 2011; Kurze ve ark., 2016), ve/veya bağışıklık baskılanması (Antúnez ve ark., 2009; Chaimanee ve ark., 2012; Holt ve ark., 2013; Aufauvre ve ark., 2014) yaşayabilir, bu da onları muhtemelen siyah kraliçe hücre virüsü (BQCV) gibi diğer patojenlere karşı daha savunmasız hale getirir. Ek olarak, *V. ceranae*'nin, kendi kendini koruma mekanizması olarak, konak hücresinde apoptozu inhibe ettiği ve böylece kendi üreme başarısını arttırdığı görülmektedir (Higes ve ark., 2013).

Vairimorpha (Nosema) enfeksiyonuna karşı bal arılarının bağışıklık tepkileri

Sosyal düzeyde koloni dinamikleri, yetişkin arılarda *Vairimorpha* enfeksiyonlarının prevalansını etkiler. Sağlıklı bir işçi arının koloni içinde parazit bulaşma şansını azaltmak için iki seçeneği vardır: ya enfekte olmuş işçi arıları koloniden uzaklaştırır ya da enfekte olmuş işçilerle temastan kaçınır. Müller ve ark. (2015)'nin çalışmasında, enfekte olmuş işçiler enfekte olmayanlar tarafından ısırılma, sokulma ve kovalanma dahil üzere saldırıya uğramışlardır ve bazı durumlarda bu deney gruplarında ölümcül saldırılar da gözlenmiştir. *Vairimorpha* enfeksiyonlarına karşı adaptif bir sosyal bağışıklık cevabı, enfekte bireylerin tanınmasıdır. Bir diğer spesifik sosyal bağışıklık durumu da kendi kendine ilaç tedavisidir. Bal, arı ekmeği ve propolis gibi bal arısı ürünleri, doğal olarak, gıda ve yuva hijyeni için çok önemli olan ve ilaç olarak da değerlendirilebilecek bitkisel ürünlerin antibiyotik, antifungal ve antiviral bileşiklerini içerir (Erler ve Moritz, 2016). Spesifik antiparaziter bal türleri, laboratuvar testlerinde sağlıklı bireylere kıyasla tercihen *V. ceranae* ile enfekte olmuş işçiler tarafından seçilmiştir (Gherman ve ark., 2014).

Bal arıları, dış savunma mekanizmalarının yanı sıra, iç savunma için doğuştan gelen bir bağışıklık sistemine sahiptir. Bağışıklık sistemleri, yalnızca azaltılmış bir dizi bağışıklık geninden oluşmasına rağmen (Evans ve ark., 2006), muhtemelen farklı parazit baskılarını ve

aralarındaki yaşam öyküsü karakterlerini yansıtan arı taksonları arasında, farklı seçim kalıpları sergiler (Barribeau ve ark., 2015). Son transkriptom ve proteom analizleri, alternatif bir bağışıklık tepkisi olarak, artan antioksidan ekspresyon seviyelerini ortaya çıkarmıştır (Vidau ve ark., 2014).

V. ceranae enfeksiyonlarına karşı olası savunma mekanizmaları, Danimarka'da yirmi yıl boyunca direnç için yapay olarak seçilen bal arılarında biraz ayrıntılı olarak incelenmiş ve bu kolonilerde *Vairimorpha* prevalansının % 60-80' den % 10' a düşmesiyle sonuçlanmıştır (Hatjina ve ark., 2014). Bu üreme hattından erkek arı bireyleri *Vairimorpha ceranae* ile enfekte edilirken, bir haftalık enfeksiyondan sonra *Vairimorpha*' ya duyarlı bal arılarına göre, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin, özellikle de Toll yolu genlerinin ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Huang ve ark., 2012). *Vairimorpha* spp' nin bal arısı bağışıklık tepkilerine etkileri birçok araştırmanın merkezini oluşturmuştur (Alaux ve ark. (2010 ve 2011); Dussaubat, ve ark. (2010 ve 2012); Huang ve ark., 2012). *Vairimorpha ceranae* enfeksiyonu, birçok genin ifadesini baskılamakla birlikte *Vairimorpha* enfeksiyonunun tetiklediği doku jenerasyonu ve hücre yenileme bozukluğu arıların ölümlerine yol açan iki ana faktör olarak tanımlanmıştır (Dussaubat ve ark., 2012).

Schwarz ve ark. (2013) ayrıca deneysel enfeksiyonlarda işçi bal arılarının *V. ceranae*' ya karşı kolayca bağışıklık tepkileri geliştirdiğini göstermiştir ve Huang ve ark. (2012), aynı sonucu erkek arılar için bulmuştur. Benzer şekilde, doğal *V. ceranae* enfeksiyonları, bağışıklık genlerinin düzenlenmesine yol açmıştır (Jefferson ve ark., 2013). Başka bir çalışmada ise, bal arısı bağışıklık sisteminin, incelenen beş bal arısı alt türünün tümü için *V. ceranae* enfeksiyonu karşısında savunma mekanizmalarını hızla yukarı regüle ettiği tespit edilmiştir (Tozkar, 2015). Ayrıca, doğal koşullar altında *V. ceranae* enfeksiyonu tarafından konukçu bağışıklık tepkisinin aktivasyonu için kanıt, Li ve ark. (2017)'nin çalışmasında sağlanmıştır. Huang ve ark. (2016) ise bazı AMP'lerin enfeksiyondan 6 gün sonrasına kadar aşırı ekspresyonunu bulmuştur. Dört AMP' in (defensin, abaesin, apidaesin ve hymenoptaesin) ekspresyonu, *V. apis* ve *V. ceranae* enfeksiyonlarından dört gün sonra yukarı regüle edilmiş, ancak enfeksiyondan 14 gün sonrasının etkilerinin belirgin olmadığı tespit edilmiştir (Sinpoo ve ark., 2018). *A. mellifera iberiensis*, *V. apis* ile enfekte edildiğinde, abaesin, defensin ve hymenoptaesin ekspresyonu dört gün sonra kademeli olarak artış göstermiştir (Antúnez ve ark., 2009). Buna karşılık Chaimanee ve ark. (2012), bağışıklık transkriptlerinin (defensin, abaesin, apidaesin ve hymenoptaesin) enfeksiyondan 3 ve 6 gün sonra aşağı regüle edildiğini göstermiştir ancak miktarların kontrol ve enfekte *A. mellifera ligustica* arıları arasında enfekte edilmelerinden 12 gün sonra önemli ölçüde değişmediği belirlenmiştir. Bu da *V. ceranae*' nin neden sadece geçici immünosupresyona (bağışıklık baskılanması) neden olduğunu göstermiştir. Li ve ark. (2017), enfeksiyondan 6 gün sonra immünosupresyon tespit etmiştir. Benzer şekilde, humoral savunma mekanizmasının kısmi baskılanması da gözlemlenmiştir (Antúnez ve ark., 2009). Bal arısının *V. ceranae* ve insektisitlere verdiği yanıtların transkriptom analizleri, bal arıları yalnızca *V. ceranae* ile enfekte edildiği zaman veya bir insektisit ile birlikte tedavi edildiğinde hymenoptaesinin aşağı regülasyonunu içeren yoğun bir değişiklik ortaya çıkarmıştır (Aufauvre ve ark., 2014). Arı başına 86.000 *V. ceranae* sporu ile enfekte edilmiş bal arılarının gen ekspresyonlarının RNA dizi analizi, AMP' lerin enfeksiyondan 5 gün sonra aşağı regülasyonunu gösterirken, bu regülasyon 10. ve 15. günlerde gözlenmemiştir (Badaoui ve ark., 2018).

Tozkar (2015) çalışmasında, tüm bal arısı alt türleri için abaesin, defensin, apidaesin ve hymenoptaesin transkript seviyelerinin birbiriyle korelasyon içinde arttığını bildirmiştir. Dört farklı bal arısı türünün *V. ceranae*' ya duyarlılığı ile ilgili bir başka çalışmada, *V. ceranae* enfeksiyonlarının dört bal arısı türünün hepsinde abaesin ekspresyon seviyeleri üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Öte yandan, aynı çalışmada Kanada orijinli *V. ceranae* izolatu ile enfeksiyondan sonra, *Apis ceranae* ve *Apis florea*' de apidaesin'in dikkate değer bir yukarı regülasyonu ve *A. ceranae*' da hymenoptaesin mRNA seviyelerinde bir artış doğrulanmıştır (Chaimanee ve ark., 2013). Bal arılarının genetik geçmişi, AMP tepkisinin yoğunluğunda farklılıklara yol açabilir (Decanini ve ark., 2007). Farklı yaşlardaki ana arılarda *V. ceranae* ile aşılamanın erken dönemlerinde (altıncı gün) apidaesin ekspresyonu yükselmiştir (Chaimanee ve ark., 2013). Abaesin ve apidaesin transkriptlerinin seviyesinin, *V. ceranae* ile enfekte olmuş arıların orta bağırsağında oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Jefferson ve ark., 2013). Bakıcı ve toplayıcı arılarda abaesin transkriptinde önemli bir artış tespit edilirken, toplayıcı arılarda apidaesin'de anlamlı bir artış gözlenmiştir. *V. ceranae* ve *V. apis* izolatları arasındaki virülans farklılıkları da araştırılmıştır (Fries, 2010).

Vairimorpha cinsi mikrosporidian parazitlerinin arıların bağışıklık sistemi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi, standartlaştırılmış bir araştırma protokolü olmaması nedeniyle güçtür. Konak genotipleri, *Vairimorpha* suşları, enfeksiyonun şiddeti (arı başına spor sayısı ile ifade edilir), arıların yaşı ve gelişim aşaması ve patojene maruz kalma süresi (genellikle enfeksiyondan sonraki gün (dpi) olarak ifade edilir), arıları sporlarla beslemek için kullanılan metodolojiler, bağışıklık sistemi ve AMP genlerinin ekspresyonu üzerinde önemli etkilere ve farklılıklara neden olur. Örneklenen materyalin tipi de rol oynar ve bütün halindeki arıların ve karın segmentlerinin analizlerinde önemli farklılıklar rapor edilmiştir (Chaimanee ve ark., 2012). Li ve ark. (2018), *V. ceranae*'ye uzun süre maruz kalmanın bal arılarının bağışıklığı üzerinde baskılayıcı etkileri olduğunu yayınlamıştır. Enfeksiyonun ilk aşamalarında gen ifadesi yukarı doğru düzenlenmiş (Huang ve ark., 2016), bundan sonra abaesin, apidaesin ve hymenoptaesin ifadesinde kademeli bir azalma not edilmiştir (Antúnez ve ark., 2009; Chaimanee ve ark., 2012; Huang ve ark., 2016; Li ve ark., 2018).

Sonuç

Arılardaki *Vairimorpha (Nosema)* spp. enfeksiyonları ile ilgili çalışmaların bulgularının yorumlanması zordur. Çoğu araştırmaya göre *Vairimorpha* spp. geçici immünosupresif (bağışıklık baskılayıcı) etkiler gösterir ve AMP genlerinin ekspresyonu sonunda normal seviyelere döner. AMP' lerin durumunu etkileyen mekanizmalar, arıların bağışıklık sistemi üzerinde patojenler tarafından uygulanan etkilerin daha geniş perspektifte anlaşılması için daha ayrıntılı olarak araştırılmalıdır. Bireysel bağışıklık bal arılarında doğuştan gelen bir bağışıklık sistemidir. Bu sistem, fiziksel engelleri ve kendilerini çok çeşitli bulaşıcı ve parazit organizmalara karşı savunmalarına izin veren hücrel ve hümorale tepkileri de içerir. Arıları etkileyen ve bağışıklık sistemini harekete geçiren çeşitli patojenlere ek olarak ksenobiyotikler de (fungisitler, akarisitler, pestisitler ve herbisitler gibi) arı sağlığı ve bağışıklık sistemi üzerinde etkiler yapabilir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi efektörleri, patojen tanıma reseptörleri ve sinyal yolları bağışıklık savunma mekanizmalarıdır. *Apis mellifera* L.'nin bağışıklık sistemi, patojenler ve pestisitler gibi birçok faktörden etkilenir ve

bu nedenle bu faktörlerin bağışıklık tepkileri üzerindeki etkilerinin sürekli olarak araştırılması önemlidir. Bu faktörlerin en etkili olanlarından biri de *Vairimorpha* spp. enfeksiyonlarıdır. *Vairimorpha* enfeksiyonlarının sonuçları göz önüne alındığında, enfekte arılardaki patojen yükünü kontrol edebilme durumu son derece gereklidir. Bu mantarların yönetimi büyük olasılıkla pek çok çözümün bir kombinasyonunu gerektireceğinden, *Vairimorpha*'ya karşı etkili bileşiklerin sürekli araştırılması ve test edilmesi gereklidir. *Vairimorpha*'ya karşı geliştirilen tedavi yöntemleri küçük moleküller, RNA etkileşimi, bazı ekstrakt veya mikrobiyal takviyeleri içermektedir. *Vairimorpha* hastalığını taşıyan kolonilerin tedavisine yönelik araştırmaların yanı sıra *Vairimorpha* türlerinin dağılımını belirlemek için hem yönetilen (yetiştirilen) hem de yabani arı kolonilerinde daha fazla çevresel araştırma yürütülmelidir. Patojen dağılımı ve bunun hem yerli hem de yabani arılara etkisinin araştırılması da dikkate değerdir. Yerli arı topluluklarında bu patojenlerin etkisinin ve dağılımının daha iyi anlaşılması yoluyla evcilleştirilmiş ve yerli arı toplulukları için daha iyi yönetim stratejileri belirlenmesi, içinde buldukları ekosistem için de hayati önem taşımaktadır. *Vairimorpha* spp'ni ayırt etmek ve etiyolojik tanısını gerçekleştirmek de gereklidir. *Vairimorpha* hem arı bireylerinin hem de tüm kovanda bulunan arıların fizyoloji ve davranışlarını değiştirir. Bu mikrosporidiaların immünosupresif etkisi ve kovan organizasyonun bozulması koloniyi zayıflatır. Bunun da ekolojik, tarımsal ve ekonomik sonuçları oldukça fazladır. Bununla birlikte, *V. ceranae* enfeksiyonunun neden olduğu ölüm verileri net değildir ve enfekte kolonilerdeki gerçek yaşayabilirlik (ömür uzunluğu) verilerini bilmek, anlamak ve tüm nedenlere göre hareket etmek gereklidir. *Vairimorpha* spp'nin arıların bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi, karşılıklı ilişkilerini daha iyi anlamak ve etkili arı koruma yöntemleri geliştirmek için daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmalıdır. Hastalıkların ve patolojilerin önlenmesi ve/veya tedavisi için belirli efektörlerin potansiyel uygulamaları ve ayrıca arı bağışıklık sisteminin moleküler mekanizmalarına yönelik araştırmalar gelecekteki çalışmaların odak noktaları olmalıdır. Bal arısı bağışıklık sistemleri çözümlendikçe, sosyal böcekler ve bağışıklık fonksiyonları arasındaki potansiyel evrimsel ilişki belirlenebilir. Böylece arı kayıplarını azaltmak için yerel alttür ve ekotipleri koruma stratejileri geliştirilebilir.

Kaynaklar

- Alaux, C., Brunet, J. L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Le Conte, Y., 2010. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*. 12, 774–782.
- Alaux, C., Folschweiller, M., McDonnell, C., Beslay, D., Cousin, M., Dussaubat, C., Le Conte, Y., 2011. Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 106, 380–385.
- Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., Higes, M., 2009. Immune Suppression in the Honey Bee (*Apis mellifera*) Following Infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environmental Microbiology*. 11, 2284–2290.
- Aufauvre, J., Misme-Aucouturier, B., Vignes, B., Texier, C., Delbac, F., Blot, N., 2014. Transcriptome analyses of the honeybee response to *Nosema ceranae* and insecticides. *PLoS One*. 9, e91686.

- Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinioti, E., Caldon, M., Falcaro, C., Gallina, A., Mutinelli, F., 2010. Sudden Deaths and Colony Population Decline in Greek Honey Bee Colonies. *Journal Invertebrate Pathology*. 105, 335–340.
- Badaoui, B., Fougeroux, A., Petit, F., Anselmo, A., Gorni, C., Cucurachi, M., Cersini, A., Granato, A., Cardeti, G., Formato, G., Mutinelli, F., Giuffra, E., Williams, J., Botti, S., 2018. RNA-sequence analysis of gene expression from honeybees (*Apis mellifera*) infected with *Nosema ceranae*. *PLoS One*. 12. e0173438.
- Bailey, L., Ball, B.V., 1991. Honey bee pathology, 2nd ed.. Academic Press, London.
- Barribeau, S. M., Sadd, B. M., du Plessis, L., Brown, M. J. F., Buechel, S. D., Cappelle, K., Carolan, J. C., Christiaens, O., Colgan, T. J., Erler, S., Evans, J., Helbing, S., Karaus, E., Lattorff, H. M. G., Marxer, M., Meeus, I., Naepflin, K., Niu, J., Schmid-Hempel, R., Smaghe, G., Waterhouse, R. M., Yu, N., Zdobnov, E. M., Schmid-Hempel, P., 2015. A depauperate immune repertoire precedes evolution of sociality in bees. *Genome Biology*. 16, 83.
- Brutscher, L. M., Daughenbaugh K. F., Flenniken M. L., 2015. Antiviral defense mechanisms in honey bees. *Current Opinion In Insect Science*. 10,71-82.
- Boman, H. G., 2003. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts. *Journal of Internal Medicine*. 254(3), 197-215.
- Casteels, P., Ampe C., Jacobs F., Vaeck M., Tempst P., 1989. Apidaecins: antibacterial peptides from honey bees. *The EMBO Journal*. 8, 2387-2391.
- Casteels, P., Ampe C., Riviere L., van Damme J., Elicone C., Fleming M., Jacobs F., Tempst P., 1990. Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *European Journal of Biochemistry*. 187, 381-386.
- Casteels, P., Ampe C., Jacobs F., Tempst P., 1993. Functional and chemical characterization of hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Biological Chemistry*. 268, 7044-7054.
- Casteels, P., Tempst P., 1994. Apidaecin-type peptide antibiotics function through a nonporeforming mechanism involving stereospecificity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 199, 339- 345.
- Cerenius, L., Lee, B. L., Söderhäll, K., 2008. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends In Immunology*. 29, 263-271.
- Chauzat, M. P., Higes, M., Martin-Hernandez, R., Meana, A., Cougoule, N., Faucon, J. P., 2007. Presence of *Nosema ceranae* in French honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research*. 46, 127–128.
- Chaimanee, V., Chantawannakul, P., Chen, Y., Evans, J. D., Pettis, J. S., 2012. Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. *Journal of Insect Physiology*. 58, 1090–1095.
- Chaimanee, V., Pettis, J. S., Chen, Y. P., Evans, J.D., Khongphinitbunjong, K., Chantawannakul, P., 2013. Susceptibility of four different honey bee species to *Nosema ceranae*. *Veterinary Parasitology*. 193, 260–265.
- Chen, Y., Evans, J. D., Smith, B., Pettis, J. S., 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *Journal of Invertebrate Pathology*. 97, 186–88.

- Chen, Y., Evans, J. D., Zhou, L., Boncristiani, H., Kimura, K., Xiao, T., Litkowski, A. M., Pettis, J. S., 2009. Asymmetrical Coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in Honey Bees. *Journal of Invertebrate Pathology*. 101, 204–209.
- Crailsheim, K., Riessberger-Gallé, U., 2001. Honey bee age-dependent resistance against American foulbrood. *Apidologie*. 32, 91-104.
- Corradi, N., Keeling, P., 2009. Microsporidia: a journey through radical taxonomical revisions. *Fungal Biology Reviews*. 23, 1-8.
- Cox-Foster, D., Schonbaum, C., Murtha, M., Cavener, D., 1990. Developmental Expression of the Glucose Dehydrogenase Gene in *Drosophila Melanogaster*. *Genetics*. 124, 873-80.
- Danihlík, J., Aronstein, K., Petřivalský, M., 2015. Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity. *Journal of Apicultural Research*. 54, 123-136.
- Decanini, L. I., Collins A. M., Evans, J. D., 2007. Variation and heritability in immune gene expression by diseased honeybees. *Journal of Heredity*. 98, 195- 201.
- Decker, H., Jaenicke, E., 2004. Recent findings on phenoloxidase activity and antimicrobial activity of hemocyanins. *Developmental and Comparative Immunology*. 28(7-8), 673-87.
- Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J. M., 2007. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review Of Entomology*. 52, 81–106.
- Desai, S. D., Currie, R.W., 2016. Effects of Wintering Environment and Parasite-Pathogen Interactions on Honey Bee Colony Loss in North Temperate Regions. *PLoS One*. 11, e0159615.
- Dussaubat, C., Maisonnasse, A., Alaux, C., Tchamitchan, S., Brunet, J. L., Plettner, E., Le Conte, Y., 2010. *Nosema* spp. infection alters pheromone production in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Chemical Ecology*. 36, 522–525.
- Dussaubat, C., Brunet, J. L., Higes, M., Colbourne, J. K., Lopez, J., Choi, J. H., Martín-Hernández, R., Botias, C., Cousin, M., McDonnell, C., Bonnet, M., Belzunces, L. P., Moritz, R. F. A., Le Conte, Y., Alaux, C., 2012. Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PLoS One*. 7, e37017.
- Dussaubat, C., Maisonnasse, A., Crauser, D., Beslay, D., Costagliola, G., Soubeyrand, S., Kretzchmar, A., Le Conte, Y., 2013. Flight behavior and pheromone changes associated to *Nosema ceranae* infection of honey bee workers (*Apis mellifera*) in field conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*. 113, 42–51.
- Dutta, R. C., Nagpal S., Salunke D. M., 2008. Functional mapping of apidaecin through secondary structure correlation. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 40, 1005-1015.
- Erler, S., Moritz, R. A., 2016. Pharmacophagy and pharmacophory: mechanisms of self-medication and disease prevention in the honeybee colony (*Apis mellifera*). *Apidologie*. 47, 389–411.
- Evans, J. D., Aronstein, K., Chen, Y. P., Hetru, C., Imler, J. L., Jiang, H., Kanost, M., Thompson, G. J., Zou, Z., Hultmark, D., 2006. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*. 15, 645–656.

- Evans, J. D., 2006. Beepath: an ordered quantitative-PCR array for exploring honey bee immunity and disease. *Journal of Invertebrate Pathology*. 93, 135–139.
- Evans, J. D., Spivak, M., 2010. Socialized medicine: Individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103 (Suppl. 1), 62–72.
- Flores, J. M., Gil-Lebrero, S., Gámiz, V., Rodríguez, M. I., Ortiz, M. A., Quiles, F. J., 2019. Effect of the Climate Change on Honey Bee Colonies in a Temperate Mediterranean Zone Assessed through Remote Hive Weight Monitoring System in Conjunction with Exhaustive Colonies Assessment. *Science of The Total Environment*. 653, 1111–1119.
- Fries, I., Camazine S., 2001. Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. *Apidologie*. 32, 199-214.
- Fries, I., Martin R., Meana, A., Garcia-Palencia, P., Higes, M., 2006. Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apicultural Research*. 45, 230–233.
- Fries, I., 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 103, 73–79.
- Forsgren, E., Fries, I., 2010. Comparative Virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in Individual European Honey Bees. *Veterinary Parasitology*. 170, 212–217.
- Gajda, A. M., Mazur, E. D., Bober, A. M., Czopowicz, M., 2021. *Nosema ceranae* Interactions with *Nosema apis* and Black Queen Cell Virus. *Agriculture*. 11, 963.
- Gätschenberger, H., Azzami, K., Tautz, J., Beier, H., 2013. Antibacterial immune competence of honey bees (*Apis mellifera*) is adapted to different life stages and environmental risks. *PLoS One*. 8(6). e66415.
- Gillespie, J. P., Kanost, M. R., Trenczek, T., 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*. 42. 611-43.
- Gisder, S., Schüler, V., Horchler, L. L., Groth, D., Genersch, E., 2017. Long-Term Temporal Trends of *Nosema* spp. Infection Prevalence in Northeast Germany: Continuous Spread of *Nosema ceranae*, an Emerging Pathogen of Honey Bees (*Apis mellifera*), but No General Replacement of *Nosema apis*. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*. 7, 301.
- Gherman, B. I., Denner, A., Bobis, O., Dezmirean, D. S., Marghitas, L. A., Schluns, H., Moritz, R. F. A., Erler, S., 2014. Pathogen-associated self-medication behavior in the honeybee *Apis mellifera*. *Behavioral Ecology And Sociobiology*. 68, 1777–1784.
- Gliński, Z., Buczek, K., Marć, M., 2011. Zjawiska i mechanizmy odporności przeciwzakaźnej pszczoły miodnej – nowe osiągnięcia [Defense phenomena and mechanisms in honey bee: new approaches]. *Życie Weterynaryjne*. 86, 687-694.
- Grassl, J., Holt, S., Cremen, N., Peso, M., Hahne, D., Baer, B., 2018. Synergistic Effects of Pathogen and Pesticide Exposure on Honey Bee (*Apis mellifera*) Survival and Immunity. *Journal of Invertebrate Pathology*. 159, 78–86.
- Grupe, A. C., Quandt, C. A., 2020. A Growing Pandemic: A Review of *Nosema* Parasites in Globally Distributed Domesticated and Native Bees. *PLoS Pathology*, 16, e1008580.
- Goblirsch, M., Huang, Z., Spivak, M., 2013. Physiological and Behavioral Changes in Honey Bees (*Apis mellifera*) Induced by *Nosema ceranae* Infection. *PloS One*. 8, e58165.
- Goodwin, M., Ten Houten, A., Perry, J., Blackman, R., 1990. Cost benefit analysis of using fumagillin to treat nosema. *New Zealand Beekeeper*. 208, 11–12.

- Gómez-Moracho, T., Durand, T., Pasquaretta, C., Heeb, P., Lihoreau, M., 2021. Artificial Diets Modulate Infection Rates by *Nosema ceranae* in Bumblebees. *Microorganisms*. 9, 158.
- Guzman-Novoa, E., 2011. Integration biotechnologies. Genetic basis of disease resistance in the honey bee (*Apis mellifera*). In: Murray M-Y editor. *Comprehensive biotechnology*, Second ed. Elsevier. (4), 763-767.
- Hatjina, F., Bienkowska, M., Charistos, L., Chlebo, R., Costa, C., Dražić, M. M., Filipi, J., Gregorc, A., Ivanova, E. N., Kezić, N., Kopernicky, J., Kryger, P., Lodesani, M., Lokar, V., Mladenovic, M., Panasiuk, B., Petrov, P., Rai, S., Smodis Skerl, M. I., Vejsns, F., Wilde, J., 2014. A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. *Journal of Apicultural Research*. 53, 337–363.
- Higes, M., Martín, R., Meana, A., 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*. 92, 93–95.
- Higes, M., Garcia-Palencia P., Martin-Hernandez, R., Meana, A., 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology*. 94, 211–217.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E., González, P. A., Barrios, L., Nozal, M., Bernal, J., Jiménez, J., Palencia, P., Meana, A., 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*. 10, 2659-69.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., García-Palencia, P., Marín, P., Meana A., 2009. Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (Microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*. 1(6). 495-8.
- Higes, M., Juarranz, A., Dias-Almeida, J., Lucena, S., Botías, C., Meana, A., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., 2013. Apoptosis in the pathogenesis of *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) in honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*. 5, 530–536.
- Holt, H. L., Aronstein, K. A., Grozinger, C. M., 2013. Chronic parasitization by *Nosema* microsporidia causes global expression changes in core nutritional, metabolic and behavioral pathways in honey bee workers (*Apis mellifera*). *BMC Genomics*. 14, 799.
- Huang, W., Jiang, J. H., Chen, Y.W., Wang, C. H., 2007. A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*. 38, 30–37.
- Huang, Q., Kryger, P., Le Conte, Y., Moritz, R. F. A., 2012. Survival and immune response of drones of a Nosemosis tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *Journal of Invertebrate Pathology*. 109, 297–302.
- Huang, Q., Chen, Y. P., Wang, R. W., Cheng, S., Evans, J. D., 2016. Host-parasite interactions and purifying selection in a Microsporidian parasite of honey bees. *PLoS One*. 11, e0147549.
- Ilyasov, R., Gaifullina, L., Saltykova, E., Poskryakov, A., Nikolenko, A., 2012. Review of the expression of antimicrobial peptide defensin in honey bees *Apis mellifera* L. *Journal of Apicultural Science*. 56, 115- 124.

- Ilyasov, R. A., Gaifullina, L. R., Saltykova, E. S., Poskryakov, A. V., Nikolaenko, A. G., 2013. Defensins in the honeybee antiinfectious protection. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 49, 1-9.
- Invernizzi, C., Abud, C., Tomasco, I. H., Harriet, J., Ramallo, G., Campá, J., Katz, H., Gardiol, G., Mendoza, Y., 2009. Presence of *Nosema ceranae* in honeybees (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology*. 101, 150–153.
- Jefferson, J. M., Dolstad, H. A., Sivalingam, M. D., Snow, J. W., 2013. Barrier immune effectors are maintained during transition from nurse to forager in the honey bee. *PLoS One*. 8, e54097.
- Kartal, S., Tunca R. İ., Özgül, O., Karabağ, K., Koç, H., 2021. Microscopic and molecular detection of *Nosema* sp. in the Southwest Aegean region (Güneybatı Ege Bölgesinde *Nosema* Türlerinin Mikroskopik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 21, 8-20.
- Klaudiny, J., Albert Š., Bachanová K., Kopernický J., Šimúth J., 2005. Two structurally different defensin genes, one of them encoding a novel defensin isoform, are expressed in honeybee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 35, 11- 22.
- Klee, J., Besana, A. M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D. Q., Chinh, T. X., Puerta, F., Ruz, J. M., Kryger, P., Message, D., Hatjina, F., Korpela, S., Fries, I., Paxton, R. J., 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 96 (1), 1–10.
- Kurze, C., Mayack, C., Hirche, F., Stangl, G. I., Le Conte, Y., Kryger, P., Moritz, R. F. A., 2016. *Nosema* spp. infections cause no energetic stress in tolerant honeybees. *Parasitology Research*. 115(6), 2381-8.
- Lavine, M. D., Strand, M. R., 2002. Insect haemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 32, 1295–1309.
- Li, W., Evans, J., Li, J., Su, S., Hamilton, M., Chen, Y., 2017. Spore load and immune response of honey bees naturally infected by *Nosema ceranae*. *Parasitology Research*. 116, 1-10.
- Li, W., Chen, Y., Cook, S.C., 2018. Chronic *Nosema ceranae* infection inflicts comprehensive and persistent immunosuppression and accelerated lipid loss in host *Apis mellifera* honey bees. *International Journal for Parasitology*. 48, 433-444.
- Le Conte, Y., Alaux, C., Martin, J. F., Harbo, J. R., Harris, J. W., Dantec, C., Navajas, M., 2011. Social immunity in honey bees (*Apis mellifera*): Transcriptome analysis of varroa-hygienic behaviour. *Insect Molecular Biology*. 20, 399–408.
- Lemaitre, B., Hoffmann, J., 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*. 25, 697-743.
- Malone, L. A., Giacón, H. A., Newton, M. R., 1995. Comparison of the responses of some New Zealand and Australian honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Nosema apis* Z. *Apidologie*. 26, 495–502.
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., Higes, M., 2011. Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitology Research*. 109, 605–612.

- Matsumoto, K., Orikasa, Y., Ichinohe, K., Hashimoto, S., Ooi, T., Taguchi, S., 2010. Flow cytometric analysis of the contributing factors for antimicrobial activity enhancement of cell-penetrating type peptides: case study on engineered apidaecins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 395, 7-10.
- Mayack, C., Naug, D., 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*. 100 (3), 185–88.
- Mayack, C., Naug, D., 2010. Parasitic infection leads to decline in hemolymph sugar levels in honeybee foragers. *Journal of Insect Physiology*. 56, 1572-1575.
- Murphy, K., Travers, P., Walport, M., 2017. Janeway's Immunobiology. 9na ed. London and New York.
- Müller, M., Biganski, S., Moritz, R. F. A., 2015. Plasticity of behavioural modulation in honey bee workers (*Apis mellifera*) infected with *Nosema ceranae* (Microsporida). *Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Münster*, pp. 40–41.
- Naug, D., Gibbs, A., 2009. Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. *Apidologie*. 40, 595-599.
- Nazzi, F., Brown, S. P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., Della Vedova, G., Cattonaro, F., Caprio, E., Pennacchio, F., 2012. Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Pathology*. 8, e1002735.
- Olszewski, K., 2009. Assessment of production traits in the Buckfast bee. *Journal of Apicultural Science*. 2, 79-90.
- Paxton, R. J., Klee, J., Korpela, S., Fries, I., 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*. 38, 558–565.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W. E., 2010. Global Pollinator Declines: Trends, Impacts and Drivers. *Trends In Ecology Evolution*. 25, 345–353.
- Rahnamaeian, M., Cytryńska, M., Zdybicka-Barabas, A., Dobszlaff, K., Wiesner, J., Twyman, R.M, Zuchner, T., Sadd, B. M., Regoes, R.R., Schmid-Hempel, P., Vilcinskas, A., 2015. Insect antimicrobial peptides show potentiating functional interactions against Gram-negative bacteria. *Proceedings of The Royal Society*. 282, 20150293.
- Schwarz, R. S., Evans, J. D., 2013. Single and mixed-species trypanosome and microsporidia infections elicit distinct, ephemeral cellular and humoral immune responses in honey bees. *Developmental and Comparative Immunology*. 40, 300-310.
- Schlüns, H., Crozier R. H., 2007. Relish regulates expression of antimicrobial peptide genes in the honeybee, *Apis mellifera*, shown by RNA interference. *Insect Molecular Biology*. 16(6), 753-9.
- Sinpoo, C., Paxton, R.J., Disayathanoowat, T., Krongdang, S., Chantawannakul, P., 2018. Impact of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* on individual worker bees of the two host species (*Apis cerana* and *Apis mellifera*) and regulation of host immune response. *Journal of Insect Physiology*. 105, 1-8.
- Teixeira, E. W, Guimarães-Cestaro L., Alves, L. T. M. F, Message, D., Martins, M. F., Luz, C.F.P da, Serrão J. E., 2018. Spores of *Paenibacillus larvae*, *Ascospaera apis*, *Nosema*

- ceranae* and *Nosema apis* in bee products supervised by the Brazilian Federal Inspection Service. *Revista Brasileira De Entomologia*. 62, 188–194.
- Tozkar, C. Ö., 2015. Türkiye'deki arı ırklarında patojen ve ilgili mikroorganizmaların yaygınlığı ve *Nosema ceranae* enfeksiyonuna karşı gösterdikleri farklı tepkiler. Doktora Tezi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 165 s.
- Traver, B. E., Williams, M. R., Fell, R. D., 2012. Comparison of within Hive Sampling and Seasonal Activity of *Nosema ceranae* in Honey Bee Colonies. *Journal Of Invertebrate Pathology*. 109, 187–193.
- Vidau, C., Panek, J., Texier, C., Biron, D. G., Belzunces, L. P., Le Gall, M., Broussard, C., Delbac, F., El Alaoui, H., 2014. Differential proteomic analysis of midguts from *Nosema ceranae*-infected honeybees reveals manipulation of key host functions. *Journal Of Invertebrate Pathology*. 121, 89–96.
- Wagner, D. L., 2020. Insect Declines in the Anthropocene. *Annual Review of Entomology*. 65, 457–480.
- Whitaker, J., Szalanski, A.L. Kence, M., 2011. Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees. *Apidologie*. 42, 174–180
- Wilson-Rich, N., Spivak, M., Fefferman, N. H., Starks, P. T., 2009. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual Review of Entomology*. 54, 405-423.
- Williams, G. R., Shafer, A. B. A., Rogers, R. E. L, Shutler, D., Stewart, D. T., 2008. First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. *Journal of Invertebrate Pathology*. 97, 189–192.
- Xu, P., Shi, M., Chen, X. X., 2009. Antimicrobial peptide evolution in the Asiatic honey bee *Apis cerana*. *PloS One*. 4(1), e4239.