



**DPÜ ARI MERASINDAKİ KOVAN HAVA AKIŞININ
HAD ANALİZİ İLE İNCELENMESİ VE *Apis mellifera* L.'DEN
ELDE EDİLEN MELİTTİNİN BAZI
MİKROORGANİZMALARDAKİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Doktora Tezi)

Sema ÇETİNKAYA

Kütahya - 2023

T.C.
KÜTAHYA DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**DPÜ ARI MERASINDAKİ KOVAN HAVA AKIŞININ HAD
ANALİZİ İLE İNCELENMESİ VE *Apis mellifera* L.'DEN ELDE
EDİLEN MELİTTİNİN BAZI MİKROORGANİZMALARDAKİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Danışman:
Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Hazırlayan:
Sema ÇETİNKAYA

Kütahya- 2023

Kabul ve Onay**KÜTAHYA DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Biyoloji Ana bilim dalında, 801810410104 öğrenci numaralı Sema ÇETİNKAYA tarafından hazırlanan “*DPÜ ARI MERASINDAKİ KOVAN HAVA AKIŞININ HAD ANALİZİ İLE İNCELENMESİ VE Apis mellifera L. 'DEN ELDE EDİLEN MELİTTİNİN BAZI MİKROORGANİZMALARDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*” başlıklı doktora tez çalışması ile ilgili tez savunma sınavı jüri tarafından yapılmış ve adayın tezinin OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmesine karar verilmiştir.

04/08/2023

Tez Jürisi	İmza	
	Kabul	Red
Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU (Danışman)		
Prof. Dr. Cüneyt Nadir SOLAK		
Prof. Dr. Cem TOKATLI		
Dr. Öğr. Üyesi Gözde KARABULUT		
Dr. Öğr. Üyesi Sinan DARCAN		

Onay

Doç. Dr. Arif KOLAY

Enstitü Müdürü

Bilimsel Etik Bildirimi

Doktora tezi olarak hazırladığım “*DPÜ Arı Merasındaki Kovan Hava Akışının Had Analizi İle İncelenmesi ve Apis Mellifera L.’den Elde Edilen Melittinin Bazı Mikroorganizmalardaki Etkisinin Araştırılması*” adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

04/08/2023

Sema ÇETİNKAYA

Özgeçmiş

Sema Çetinkaya, lise öğrenimini Kütahya Lisesi'nde tamamlamıştır. Ardından, 2003-2007 yılları arasında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden mezun olmuştur. Yüksek lisansını 2011-2014 yılları arasında Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi alanında tamamlamıştır. 2018 yılında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başlamıştır. 2007-2008 yıllarında Kütahya Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji-Biyokimya (ROCHE) departmanında çalışmıştır. 2018 yılında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Bölümü'nde Öğretim Görevlisi (Uzman) olarak çalışmaya başlamıştır ve halen bu görevini sürdürmektedir. "Apiterapi'nin Türkiye'deki Yeri" başlıklı bir poster 2. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimyasal Bilimler Konferansı'nda (EurasianBioChem 2019) sunmuştur. Ayrıca, Arı Zehri Çalıştay ve Sertifikalı Üretim Kursu'na katılmıştır. 2019 yılında DAGEM - Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi'nde uygulama eğitimi almıştır. Ayrıca, "Autoimmune Neurological Diseases'de Arı Zehri Kullanımı" konulu bir sözlü bildiriye Trakya Üniversitesi tarafından düzenlenen III. Uluslararası Tarım, Biyolojik ve Yaşam Bilimleri Konferansı'nda (AGBIOL 2021) sunmuştur. "Homeopati ve Apis Mellifica" konusunda bir poster sunumu gerçekleştirmiştir. Ayrıca, "Apiterapi ve COVID-19" konulu bir poster sunumu ve "Apiterapi ve Kanser" konulu bir sözlü bildiri de 3. Uluslararası Hayvan Bilimleri Konferansı'nda sunmuştur. Aynı konferansta "The Doolittle Grafting Metod with Queen Bee" ve "The Honey Bee Queen's Insemination" başlıklı poster sunumları yapmıştır. Sema Çetinkaya, arıcılık, arı ürünleri, homeopati ve agrohomeopati gibi konularla ilgili çeşitli etkinliklere katılmış ve sunumlar yapmıştır. Ayrıca, 2021 yılında Kütahya Belediyesi, Kütahya Özel Eğitim Anaokulu, Kütahya İli Orman Bölge Müdürlüğü, Kütahya Ticaret ve Sanayi Odası Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Kütahya İl Milli Eğitim Müdürlüğü kurumlarıyla iş birliği yaparak çeşitli projelerde yer almıştır. Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi'nde Arıcılık üzerine eğitim vermiştir. Sema Çetinkaya evli ve iki çocuk annesidir.

ÖZET

DPÜ ARI MERASINDAKİ KOVAN HAVA AKIŞININ HAD ANALİZİ İLE İNCELENMESİ VE *Apis mellifera* L.'DEN ELDE EDİLEN MELİTTİNİN BAZI MİKROORGANİZMALARDAKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ÇETİNKAYA, Sema
Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU
Ağustos, 2023, 157 sayfa

Bu tez çalışmasında DPÜ arı sahası oluşturulmuş, Langstroth tipi boş kovanın akış akımları Hesaplamalı Akışkanlar Dinamiği (HAD) ile simüle edilmiş, buradaki bal arılarının (*Apis mellifera* L.) bakımı ve sürekliliği sağlanmıştır. Ayrıca kovan hava bileşeni GC-MS ile analiz edilmiştir. Ardından, varroa zararlısı ile mücadele için pudra şekeri yöntemi ve hazırlanan remediler uygulanmış ve karşılaştırılmıştır. Arılar *Mentha piperita* ile hazırlanan remedi tedavisine cevap vermiş ve varroa ile mücadeleyi kazanmışlardır. Öte yandan pudra şekeri yöntemi ile arılar hijyenik davranış kazanamamışlardır. Remedi ile tedavi edilen arılardan toplanan arı zehri HPLC kullanılarak saflaştırılmış, LC-MS ile kütle spektroskopisi yapılmıştır. Çalışmanın devamında arı zehrinden saflaştırılan melittinin, kovandan toplanan propolisin ve ek olarak ampisilinin altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisi ve üç farklı metot karşılaştırılmıştır. Bu yöntemler kuyucuk, damlatma ve disk difüzyonu yöntemleridir. Bu tezde çalışılan arı ürünü; antimikrobiyal ajanlar, antiviral ilaçlar ve immün sistem modülatörleri gibi tedavilerin mikrobiyal enfeksiyonların kontrol altına alınmasında etkili olabileceğine inanılan melittindir. Sonuçlar göstermiştir ki melittin, uygulanan üç metot içerisinde en çok damlatma yönteminde etkilidir. Disk difüzyonunda etkili değildir. Kuyucuk metodu ile zonlar oluşsa da değerler hem CSLI (CSLI, 2023) hem de EUCAST (EUCAST, 2023) standardizasyonu için bakterilerin dirençli olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan ampisilin için zon oluşumu yalnızca *E. coli* (zon çapı: 14 mm) ve *S. aureus* (zon çapı: 30 mm) için gerçekleşmiştir. Bu sonuçlara göre *E. coli*'nin ampisiline direnme sınırında olduğunu ve *S. aureus*'un da ampisiline duyarlı olduğu söylenebilir. Ancak bu deneylerin de artırılması önerimizdir. Bununla birlikte propolis çalışmalarına da devam edilmelidir. Çünkü özellikle *P. aeruginosa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları için duyarlı (S) sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan deneylerdeki en yüksek zon çapı *P. aeruginosa* için 30 mm ve *S. aureus* için 19 mm değerlerinde elde edilmiştir.

Bu tez, özellikle melittinin enfeksiyon tedavisinde kullanımının potansiyelini araştırmak ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmanın sonuçlarını sunmaktadır. Literatürdeki veriler, melittinin antimikrobiyal etkilerinin olduğunu ve potansiyel bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır ve melittinin toksisitesi göz önünde bulundurularak dozaj ve uygulama yöntemleri dikkatlice ayarlanmalıdır. Bu alışma, yeni bir tedavi seçeneği için değerli bir başlangıç olabilir ve melittinin antimikrobiyal etkilerini daha iyi anlamak için gelecekteki araştırmalara ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: *Apis mellifera* L., Damlatma Metodu, Disk Difüzyonu Metodu, DPÜ Arı Merası, Gram-Negatif, Gram-Pozitif, HAD Analizi, Kuyucuk Metodu, Melittin

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE HIVE AIR FLOW IN DPÜ BEE PASTURE BY CFD ANALYSIS AND INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MELITTIN OBTAINED FROM *Apis mellifera* L. ON SOME MICROORGANISMS

ÇETİNKAYA, Sema

Ph.D Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

August, 2023, 157 pages

In this thesis study, a DPÜ bee area was created, the flow currents of the Langstroth type empty hive were simulated with Computational Fluid Dynamics (CFD), and the care and continuity of the honeybees (*Apis mellifera* L.) there were ensured. Additionally, the hive air component was analyzed by GC-MS. Secondly, the powdered sugar method and the prepared remedies were applied and compared to combat the varroa pest. The bees responded to the remedy treatment prepared with *Mentha piperita* and won the fight against varroa. On the other hand, bees could not acquire hygienic behavior with the powdered sugar method. Bee venom collected from bees treated with the remedy was purified using HPLC and LC-MS was performed for mass spectral evaluation. In the continuation of the study, the effects of melittin, purified from bee venom, propolis, collected from the hive, and, additionally, ampicillin on six different microorganisms were compared and three different methods were also compared. These methods are called well, dripping and disc diffusion. The bee product handled in this thesis was melittin and it is effective in the treatments of antimicrobial agents, antiviral drugs, and immune system modulators and believed to be effective in controlling microbial infections. The results showed that melittin was most effective in the drip method among the three applied methods. It is not effective in disc diffusion. Although zones are formed with the well method, the values show that the bacteria are resistant to both CSLI (CSLI, 2023) and EUCAST (EUCAST, 2023) standardization. On the other hand, zone formation for ampicillin occurred only for *E. coli* (zone diameter: 14 mm) and *S. aureus* (zone diameter: 30 mm). According to these results, we can comment that *E. coli* is at the limit of resistance to ampicillin and *S. aureus* is sensitive to ampicillin. However, we recommend to increase these experiments in the future. Moreover, propolis studies should be continued. Because sensitive (S) results were obtained especially for *P. aeruginosa*

and *S. aureus* species. The highest zone diameters was obtained at 30 mm for *P. aeruginosa* and 19 mm for *S. aureus* in the studies.

This thesis presents the results of a study conducted specifically to investigate the potential of using melittin in the treatment of infection and to evaluate its usability as an antimicrobial agent. Data in the literature show that melittin has antimicrobial effects and can be considered as a potential treatment option. However, further clinical studies are needed and dosage and administration accomodations should be carefully adjusted considering the toxicity of melittin. This study may be a valuable beginning for a new treatment option and may shed light on future research to better understand the antimicrobial effects of melittin.

Keywords: *Apis mellifera* L., CFD Analysis, Disk Diffusion Method, DPU Bee Pasture, Drop Method, Gram-Negative, Gram-Positive, Melittin, Well Method

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca yardımını ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmalarımı titizlikle takip edip önerileri ve yardımları ile bana yol gösteren, çalışmalarımda özgür düşünmeme engel olmayan ve öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım sayın danışman hocam Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim. Her fırsatta tüm desteğiyle bana yardımlarını esirgemeyen Dr. Ayhan YILMAZ'a çok teşekkür ederim. Bütün homeopatik bilgi ve çalışmalarını benimle paylaşan Sayın Önder MERGAN'a teşekkürlerimi sunarım. Hızlı Destek projemizi desteklediği için DPÜ-BAP birimine teşekkür ederim.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarının yapılmasında bana yardımcı olan sayın hocalarım Prof. Dr. Aynur GÜLCAN ve Prof. Dr. Duygu PERÇİN RENDERS'e teşekkür ederim. Çalışmalarımda her zaman bana destek olan sayın hocam Doç. Dr. Muharrem AKCAN'a ve çalışma arkadaşım Araş. Gör. Nurcan BİÇEN KARAKOÇ'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yardımları için Dr. Öğr. Üyesi Yasin Furkan GÖRGÜLÜ'ye teşekkür ederim.

Bütün doktora sürecim boyunca bana çocukluklarının en kıymetli zamanlarını ödünç veren çocuklarım Kerem ve Ege ÇETİNKAYA'ya sonsuz minnettarım. Aile olmanın en kıymetli zamanlarını doktora için ödünç aldığım eşim Volkan ÇETİNKAYA'ya sonsuz minnettarım. Tüm çalışmalarımda desteğini benden esirgemeyen ağabeyim Önder ÖZTÜRK'e teşekkür ederim. Arı ile başlayan maceramda kendime inandığım ve asla vazgeçmediğim için kendime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiv
KISALTMALAR VE SİMGELER	xviii
GİRİŞ	1

BİRİNCİ BÖLÜM BAL ARILARI VE VARROA MÜCADELESİ

1.1. BAL ARILARI	12
1.1.1. Bal Arılarının Kanat Yapıları	13
1.2. VARROA	13
1.2.1. Varroanın Dünyaya Yayılışı	14
1.2.2. Varroanın Yaşam Döngüsü.....	15
1.2.2.1. Ergin Arılar Üzerinde Yaşamı	15
1.2.2.2. Yavru Üzerinde Yaşamı.....	15
1.3. VARROA İLE MÜCADELE	17

İKİNCİ BÖLÜM

PEPTİT YAPILI İLAÇLAR, MELİTTİN VE ARI PEPTİTLERİ

2.1. ANTİMİKROBİYAL PEPTİTLER.....	21
2.2. ARI PEPTİTLERİ	24

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ENFEKSİYON İYİLEŞTİRME

3.1. ENFEKSİYON İYİLEŞMESİ	30
3.2. HOMEOSTAZ VE İNFLAMASYON.....	32
3.2.1. Proliferasyon.....	33
3.2.2. Yeniden Şekillendirme	34
3.2.3. Enfeksiyon İyileşmesi ve Antimikrobiyal Peptitler.....	34

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

4.1. UYGULAMA SAHASI.....	36
4.2. HESAPLAMALI AKIŞKANLAR DİNAMİĞİ (HAD)	36
4.3. KOVANLARDAN HAVA MOLEKÜLÜNÜN ALINMASI	38
4.4. KOVANLARA PUDRA ŞEKERİ UYGULANMASI.....	40
4.5. KOVANLARA REMEDİ UYGULANMASI	41
4.5.1. Deneylerde Kullanılan Remedilerin Hazırlanması	44
4.6. MİKROORGANİZMALARA MELİTTİN UYGULANMASI	49
4.6.1. Arı Zehri Toplama	49
4.6.2. Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) Uygulaması.....	51
4.6.3. Saflaştırılan Peptitlerin Analitik RP-HPLC Analizi	53
4.6.4. Kütle Spektrometresi (MS).....	54
4.6.5. Peptitlerin Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi İle Saflaştırılması ve LC-MS Karakterizasyonu.....	55
4.6.6. Kullanılan Besi Ortamları.....	56
4.6.6.1. Patates Agarı	56
4.6.6.2. Mueller Hinton Agarı.....	58
4.6.7. Antibakteriyel Aktivite Testi	60
4.6.8. Antibakteriyel Etki.....	61

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇLAR

5.1. HAD İLE KOVAN HAVASI AKIŞ ANALİZİ.....	64
5.2. KOVAN HAVA BİLEŞENLERİNİN GC-MS ANALİZ SONUÇLARI.....	66
5.3. REMEDİLERİN VARROA ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ....	69
5.3.1. Remedilerin Varroa Üzerindeki Etkisi	69
5.4. ARI ZEHRİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYONU	72
5.5. ARI ZEHRİ KÜTLE ANALİZİ	74
5.6. BESİLERİN HAZIRLANMASI.....	80
5.6.1. Patates Agarı	81

5.7. MELİTTİN, PROPOLİS VE AMPİSİLİNİN MİKROORGANİZMALARA ETKİSİNİN İNCELENMESİ	83
5.7.1. <i>Candida parapsilosis</i>	83
5.7.2. <i>Candida krusei</i>	87
5.7.3. <i>Escherichia coli</i>	91
5.7.4. <i>Enterococcus faecium</i>	94
5.7.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99
5.7.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	104
5.8. ÖLÇÜLEN ZONLARIN NÜMERİK DEĞERLERİ	108
TARTIŞMA VE ÖNERİLER	111
KAYNAKÇA	121
DİZİN	136

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi Tarafından Onaylanan Bazı Peptit Yapılı İlaçlar	21
Tablo 4.1: Kovanlara Uygulanan Farklı Potensler.....	46
Tablo 4.2: Bu Tezde Kullanılan HPLC Cihazının Teknik Özellikleri.....	52
Tablo 5.1: MS Pik Sonuçları (Oxim-metoksifenil).....	66
Tablo 5.2: Gliserin (C ₃ H ₈ O ₃) Hakkında Meta Bilgiler (NIST, 2023).....	67
Tablo 5.3: Varroa Akarına Karşı Mücadelede Uygulamaların Yapıldığı Kovanlar, Uygulama Sonrası Kovan Atık Kütlesi (Gram) ve Arıların Sağ Kalım Bilgisi	71
Tablo 5.4: Melittin, Propolis ve Ampisilinin Altı Farklı Mikroorganizma Üzerindeki Etkisi (Anlamlı Zon Var veya Yok)	108
Tablo 5.5: Propolis ve Melittin İçin Ölçülen Zon Çapları	109

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 4.1: Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Evliye Çelebi Yerleşkesi'nde Kovanların Bulunduğu Uygulama Sahası (Ölçek: 1:10000).....	36
Şekil 4.2: Kovanların Sahadaki Genel Görüntüsü.....	36
Şekil 4.3: Kovanlardaki Havanın Toplanması.....	39
Şekil 4.4: Pudra Şekeri Uygulaması (Ekim 2022).....	40
Şekil 4.5: Pudra Şekeri Uygulanmadan Önceki Kovan (Solda), Uygulamadan Sonraki Kovan (Sağda)	41
Şekil 4.6: Hazırlanan Farklı Potensteki Remediler.....	46
Şekil 4.7: Arılar Kışlamaya Girmeden Önce Hazırlanan Remedilerin Kovanlara Uygulanması (Ekim 2022).	47
Şekil 4.8: Remedi Uygulaması Yapılan Kovanların Kışlamadan Sonra İlk Kez Açılması (Nisan 2023).	48
Şekil 4.9: Nisan 2023'te Açılan Rastgele Bir Kovandaki Atığın Işık Mikroskopi Görüntüleri	49
Şekil 4.10: Arı Zehri Toplama Aparatı.....	50
Şekil 4.11: Sahadaki Arılardan Nisan-Mayıs 2023'te Toplanan Arı Zehirleri.....	51
Şekil 4.12: HPLC İle Arı Zehrinin Saflaştırıldığı Deneyler	53
Şekil 5.1: Üç-Boyutlu Kovan Geometrisi.....	64
Şekil 5.2: Kovan Tasarımının 3-Boyutlu Akış Çizgisi Görünümü.....	65
Şekil 5.3: Yalnızca xy-Düzlemini Gösteren Akış Çizgileri.....	65
Şekil 5.4: Yalnızca yz-Düzlemini Gösteren Akış Çizgileri.....	66
Şekil 5.5: Kütle Spektrumu (MS) Sonucu (Oxim-metoksifenil).....	67
Şekil 5.6: Kütle Spektrumu (MS) Sonucu (Gliserin).....	68
Şekil 5.7: Gaz Kromatografi (GC) Sonucu.....	69
Şekil 5.8: Arı Zehri HPLC Kromatografisi	74
Şekil 5.9: Apamin Peptitinin LC-MS Sonuçları	76
Şekil 5.10: Mast Hücrelerinin Peptitinin LC-MS Sonuçları.....	77
Şekil 5.11: Tertiapin Peptitinin LC-MS Sonuçları	77
Şekil 5.12: Secapin-1 Peptitinin LC-MS Sonuçları.....	78
Şekil 5.13: Secapin Peptitinin LC-MS Sonuçları	78
Şekil 5.14: Melittin-F Peptitinin LC-MS Sonuçları	79

Şekil 5.15: Melittin Peptitinin LC-MS Sonuçları	79
Şekil 5.16: Kullanılan Patates Agarı.....	81
Şekil 5.17: Kaynatılan Distile Suyun Agara Boşaltılması.....	82
Şekil 5.18: Besinin Kaynatılması ve Otoklavda Tutulması.....	82
Şekil 5.19: Besinin Steril Petrilere Dökülme Aşaması.....	82
Şekil 5.20: Ekim ve Pasajlama İşlemi	82
Şekil 5.21: Kullanılan Spektrofotometre	83
Şekil 5.22: Altı Farklı Mikroorganizmayla Etüv (Sol), Ekim (Orta) ve Zon Ölçümü (Sağ) Çalışması	83
Şekil 5.23: Pasajlanmış <i>Candida Parapsilosis</i> Mikroorganizması.....	84
Şekil 5.24: Propolisin <i>Candida Parapsilosis</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda)	85
Şekil 5.25: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>Candida Parapsilosis</i> Üzerindeki Etkisi.....	86
Şekil 5.26: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>Candida Parapsilosis</i> Üzerindeki Etkisi.....	86
Şekil 5.27: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>Candida Parapsilosis</i> Üzerindeki Etkisi.....	87
Şekil 5.28: Ampisilinin <i>Candida Parapsilosis</i> Üzerindeki Etkisi	87
Şekil 5.29: Pasajlanmış <i>Candida Krusei</i> Mikroorganizması	88
Şekil 5.30: Propolisin <i>Candida Krusei</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda)	89
Şekil 5.31: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>Candida Krusei</i> Üzerindeki Etkisi.....	89
Şekil 5.32: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>Candida Krusei</i> Üzerindeki Etkisi.....	89
Şekil 5.33: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>Candida Krusei</i> Üzerindeki Etkisi.....	90
Şekil 5.34: Ampisilinin <i>Candida Krusei</i> Üzerindeki Etkisi	90
Şekil 5.35: Pasajlanmış <i>Escherichia Coli</i> Mikroorganizması	91
Şekil 5.36: Propolisin <i>E. Coli</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda)	92
Şekil 5.37: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>E. Coli</i> Üzerindeki Etkisi.....	93

Şekil 5.38: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>E. Coli</i> Üzerindeki Etkisi.....	93
Şekil 5.39: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>E. Coli</i> Üzerindeki Etkisi.....	93
Şekil 5.40: Ampisilinin <i>E. Coli</i> Üzerindeki Etkisi	94
Şekil 5.41: Pasajlanmış <i>Enterococcus Faecium</i> Mikroorganizması.....	95
Şekil 5.42: Propolisin <i>Enterococcus Faecium</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda).	96
Şekil 5.43: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>Enterococcus Faecium</i> Üzerindeki Etkisi.....	97
Şekil 5.44: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>Enterococcus Faecium</i> Üzerindeki Etkisi.....	97
Şekil 5.45: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>Enterococcus Faecium</i> Üzerindeki Etkisi.....	98
Şekil 5.46: Ampisilinin <i>Enterococcus Faecium</i> Üzerindeki Etkisi	98
Şekil 5.47: Pasajlanmış <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Mikroorganizması.....	99
Şekil 5.48: Propolisin <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda).	100
Şekil 5.49: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisi.....	101
Şekil 5.50: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisi.....	101
Şekil 5.51: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisi.....	102
Şekil 5.52: Ampisilinin <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisi	102
Şekil 5.53: 400 µL Melittinin <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Üzerindeki Etkisi (Damlatma Yöntemi).....	103
Şekil 5.54: Pasajlanmış <i>Staphylococcus Aureus</i> Mikroorganizması	104
Şekil 5.55: Propolisin <i>Staphylococcus Aureus</i> Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Disk Difüzyonu (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Damlatma (Sağda).....	106
Şekil 5.56: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle <i>Staphylococcus Aureus</i> Üzerindeki Etkisi.....	106

Şekil 5.57: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle <i>Staphylococcus Aureus</i> Üzerindeki Etkisi.....	107
Şekil 5.58: Melittinin Damlatma Yöntemi İle <i>Staphylococcus Aureus</i> Üzerindeki Etkisi.....	107
Şekil 5.59: Ampisilinin <i>Staphylococcus Aureus</i> Üzerindeki Etkisi.....	108



KISALTMALAR VE SİMGELER

AMP	Antimikrobiyal Peptit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DPÜ	Kütahya Dumlupınar Üniversitesi
DWV	Deforme Kanat Virüsü
ESBL	Extended-Spectrum β -Lactamase
EUCAST	European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrumu
HAD	Hesaplamalı Akışkanlar Dinamiği
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
MRSA	Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus
MS	Kütle Spektrometresi
NP-HPLC	Normal Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
UV	Ultraviyole
VRE	Vancomycin-Resistant Enterococcus
°C	Derece santigrat
eV	elektronvolt
kPa	kilopaskal
mm	milimetre
mg	Miligram
mL	Mililitre
μL	Mikrolitre



TEZ METNİ

GİRİŞ

Bal arıları, koloni içinde on binlerce koordine olmuş bireyden oluşan bir süper organizma ve bağımsız bireyler olarak işlev görme konusunda inanılmaz kapasitelidirler (Southwick, 1991; Moritz ve Southwick, 1992). Bal arısı kolonisi bir birim olarak nefes alır ve yaşar (Heinrich, 1981). Bal arısı kolonileri bir açıdan daha dikkate değerdir: geliştirmekte olan larva ve pupaları; yani yavrularını dar sıcaklık sınırları içinde kuluçkaya yatırır, bunun dışındaki koşullarda yavrular uygunsuz bir şekilde olgunlaşıp ölürler (Heinrich, 1985; Crane, 1990; Seeley, 1995). Bal arılarının koloni üretkenliğinden binlerce yıldır faydalanan insanlar, onlar için kovanlar sağlayarak kovukta yuva yapan türleri kendi korumalarına almışlardır (Wilson, 2007). Batı bal arısının (*Apis mellifera* L.) Avrupa ırkları Avrupa, Asya'nın bazı bölgeleri, Afrika, Avustralya, Pasifik ve Amerika'daki ticari (Crane, 1990; Bonney, 2012) ve hobi arıcılığının temel dayanak noktasıdır. Nefes alan, yaşayan ve sıcaklığı düzenlenmiş koloninin nasıl çalıştığının bilimsel olarak anlaşılması modern arıcılığa dahil edilmiştir. Arı yetiştiricisi veya daha kısa olarak bir arıcı, bal toplamak, ekinleri tozlaştırmak ve ürettiği arıları diğer arıcılara tedarik etmek amacıyla bal arısı yetiştirir. Modern arıcılık, yalnızca popüler bir hobi faaliyeti değil, aynı zamanda gelişen bir endüstri haline gelmiştir. (Crane, 1990).

Dünya genelinde bal arısı kolonilerinin hızlı çöküşünün nedenlerini anlamak için yapılan çalışmalar (Oldroyd, 2007), bu çöküşün nedenlerinden birinin yavruların uygun şekilde kuluçkaya yatırılmamasının olduğunu tespit etmiştir. Kovan içindeki akışı anlamak ve havalandırmayı artırmanın yollarını bulmak, bal arısı kolonileri üzerindeki stresi hafifletebilir ve yavrularının uygun şekilde kuluçkaya yatırılmasına yardımcı olabilir. Bir arı kovanında iyi havalandırma ihtiyacı ve bunun sağlıklı bir arı kovanının sürdürülmesindeki rolü uzun zamandır arıcılar tarafından kabul edilmektedir (Root ve Root, 2005). Bu durum, arı yetiştiricileri tarafından standart Langstroth kovan tasarımında yapılan farklı değişikliklere (örneğin, kovanın ön yüzüne tepeye yakın birden fazla açıklık eklenmesi, özel üst kapaklar) atıfta bulunan çok sayıda patente de yansımıştır (Sudarsan, vd., 2012). Havalandırmanın hayati rolü konusunda fikir birliği olmasına rağmen, kovan içindeki akış ve özellikleri ile bal arılarının davranışsal ve fizyolojik yönlerinin bu akışı nasıl etkilediği konusunda yayınlanmış çok az bilgi mevcuttur (A.g.e). Aktif bir arı kovanındaki akış yapısını deneysel olarak değerlendirmek, kovan içindeki

dar hava boşluğu ve propolisle kaplanarak enstrümantasyonu engelleyen bal arılarının varlığı nedeniyle zordur (A.g.e).

Bal arıları kovanlarının içindeki sıcaklık ve nem seviyelerini dar sınırlar içinde tutarlar. Özellikle peteklerdeki yavruları 33-36 °C aralığında sabit bir sıcaklıkta tutarlar (Southwick, 1991; Moritz ve Southwick, 1992; Seeley, 1995; Kleinhenz, vd., 2003). Bu sabit sıcaklık, yavruların normal büyüme ve gelişimi için çok önemlidir (Tautz, vd., 2003). Ortam hava sıcaklığı değiştiğinde bu aralıktan sapmalar meydana gelebilir. Bu durum yavruların gelişimi için zararlı olabilir. Böyle bir durumda işçi arılar yavruyu ısıtmak ya da soğutmak için davranışsal ve fizyolojik faaliyetlerde bulunurlar.

Düşük ortam sıcaklıklarında, yavru sıcaklığı ihtiyaç duyulan sıcaklık aralığının altına düştüğünde, işçi bal arıları yavruyu ısıtmak için farklı stratejiler uygular. Kullandıkları bu stratejilerden biri, kas aktivitesi yoluyla göğüs kafeslerini ısıtmak ve sıcak göğüs kafeslerini bir seferde birkaç dakika boyunca kapaklı kuluçka hücrelerine bastırmaktır (Bujok, vd., 2002), bu tür bal arıları kapak ısıtıcı bal arıları olarak adlandırılır. İşçi bal arılarının kullandığı ikinci strateji ise kendilerini ısıtmak, yavruların arasındaki boş petek gözlerine girmek ve vücut ısılarını etraflarındaki yavru gözlerine yaymaktır (Kleinhenz, vd., 2003); bu tür bal arıları hücre ısıtıcı bal arıları olarak adlandırılır. Hem hücre hem de başlık ısıtıcı bal arılarında, arılar uçuş kaslarının izometrik kasılması ile vücut sıcaklıklarını arttırırlar (Crane, 1990; Seeley, 1995). Bu ısıtma stratejilerine ek olarak, bal arıları ayrıca kuluçka alanında kalabalıklaşarak kuluçkadan ısı kaybını azaltmaya ve yalıtmaya çalışırlar (Kronenberg ve Heller, 1982; Harrison, 1987). Bir başka fizyolojik tepki de metabolik tepkinin ortam sıcaklığına göre değişmesidir (Kronenberg ve Heller, 1982).

Ortam hava sıcaklığı 30 °C'ın üzerine çıktıkça, kümeyi oluşturan bal arılarının yoğunluğu azalır (Kronenberg ve Heller, 1982) ve kovan içindeki bal arıları kovan içindeki akışı arttırmak için yelpazeleme yapar (Chadwick, 1922; Simpson, 1961; Hazelhoff, 1954; Lindauer, 1971). Buna ek olarak, sıcak yaz günlerinde işçi arıların kovan girişinin hemen dışına yöneldikleri ve kovan gövdesinden sıcak havayı havalandırdıkları gözlemlenmiştir (Bruman, 1928). Bu havalandırma davranışı, kovan içinde artan solunum gazı konsantrasyonlarına yanıt olarak da tetiklenir (Hazelhoff, 1954; Seeley, 1974; Lacher, 1966). Yelpaze tepkisine ek olarak, bal arılarının kuluçka alanında bulunan boş hücreler arasında suyu yaydıkları ve daha sonra suyun buharlaşmasıyla kuluçka alanından

ısıyı uzaklaştırdıkları evaporatif soğutma kullandıkları gözlemlenmiştir (Von Frisch, 1972; Lindauer, 1971).

Bir arı kovanının havalandırılması ile ilgili bazı çalışmalar şu şekildedir: Deneysel araştırmalar, esasında bal arılarının bir koloni olarak farklı koşullar altında havalandırma yoluyla kovan içindeki akışı nasıl başlattığı ve sürdürdüğü üzerine odaklanmıştır (Kronenberg ve Heller, 1982; Southwick, 1985; Southwick ve Moritz, 1987; Jones ve Oldroyd, 2006). Sadece birkaç deneysel araştırma (Wedmore, 1947; Hazelhoff, 1954) aktif havalandırmanın olmadığı durumlarda arı kovanında meydana gelen havalandırmayı belgelemeye odaklanmıştır. Buna ek olarak, söz konusu çalışmalar havalandırma sırasında ortaya çıkan akışı yalnızca niteliksel olarak tanımlamaktadır. Bu nedenle, mühendislik kapsamındaki alanlarda havalandırmanın ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan ölçümlerin değerleri bir arı kovanı için mevcut değildir. Hazelhoff (1954) tarafından önerilen "havalandırma" kelimesi bal arısı literatüründe iki farklı bağlamda kullanılmıştır; tek bir bal arısının solunumuna (Lighton ve Lovegrove, 1990) veya bal arılarının yelpazelenmesiyle oluşan akışa (Southwick ve Moritz, 1987) atıfta bulunulmuştur. Burada arı kovanı ile kovan dışındaki ortam arasında hava alışverişi yapan ve bu sürecin kovan içinde hava akışı oluşturmasıyla sonuçlanan süreç olarak tanımlanacak. Bu üç bağlamdan yelpaze tepkisine bağlı akış, bilimsel literatürde en fazla ilgiyi çekmiştir (Wedmore, 1947; Hazelhoff, 1954; Simpson, 1961; Kronenberg ve Heller, 1982; Southwick ve Moritz, 1987; Fahrenholz, Lamprecht ve Schrick, 1989). Bu çalışmaların çoğu, yüksek ortam sıcaklığı veya yüksek karbondioksit seviyeleri gibi fanlama tepkisini tetikleyen dış koşulların anlaşılmasına odaklanmıştır. Bu araştırmaların sonuçları, bu yelpazeleyiciler tarafından kurulan akışın gücü ve bunun kovan içindeki koşulları nasıl etkilediğine dair ayrıntılardan yoksundur. Southwick ve Moritz (1987) tarafından küçük gövdeli bir arı kovanının girişinde bal arılarının koordineli bir şekilde kanat çırpmasının neden olduğu havalandırma incelenmiştir. Bal arılarının girişte periyodik bir yelpazeleme davranışı sergilediği gözlemlenmiştir; bu davranış, taze dış havanın pasif akışının gerçekleştiği dinlenme dönemlerini takiben kovan içindeki sıcak bayat havanın kovan dışına atıldığı sürekli yoğun yelpazeleme dönemlerinden oluşmuştur. Sadece Hazelhoff (1954) kovan içindeki akışı Sudarsan vd. (2012) tarafından yapılan çalışma ile aynı bağlamda incelemiştir. Hazelhoff (1954), dış rüzgârın olmadığı sakin yaz havalarında bile kovan içinde ve dışında önemli miktarda akış olduğunu bildirmiştir. Çalışmalarında kullandıkları arı kovanları, biri kovanın önünde ve diğeri üst

kapakta olmak üzere iki ek hava girişine sahiptir. Hazelhoff (1954) havalandırmanın yer değiştirme modunun aktif olduğunu, havanın alt girişten girdiğini ve üst açıklıklardan çıktığını bildirmiştir. Hazelhoff (1954) ayrıca arıların, başları kovanın girişine bakacak şekilde kendilerini yönlendirdikleri ve kanatlarını neredeyse uçar gibi çırpıtları, ancak alt tahtayı sıkıca tutarak kovanın içinden havayı dışarı iten bir hava akımı oluşturdıkları yelpaze mekanizmasını da gözlemlemiştir. Bu kanat çırpma davranışı hem kovanın dışarıdan ısıtılmasına hem de kovan dışından karbondioksit girişine tepki olarak başlatılmıştır.

Termoregülasyon (organizmanın yaşadığı çevre koşullarına uyum sağlayarak sağlığını ve yaşamsal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için hayati öneme sahip bir süreçtir) ve havalandırmanın kovan içindeki koloninin genel refahı için gerekli olan enerji yoğun faaliyetler olduğu göz önüne alındığında, bal arılarının faaliyetlerinin kovan içindeki ve kovan ile dış ortam havası arasındaki akışı nasıl yönlendirdiğini anlamak faydalı olacaktır. Bu konudaki ilk girişim Sudarsan vd. (2012)'ne aittir. Burada, bazı basitleştirici varsayımlar yardımıyla, arı kovanı içindeki önemli ısı ve kütle transferi etkileşimlerini modellemişler ve arı kovanı içindeki akışı simüle etmişlerdir. Önceki modeller, genellikle yavruların kovan içinde bulunmadığı kış aylarında bal arısı kümesini ele alırken, ilkbahar/yaz mevsiminin başlarında içinde yavrularıyla birlikte bir bal arısı kolonisi bulunan tam bir arı kovanını modellemeye çalışan daha önceki herhangi bir modelleme çalışmasına rastlanmadığı bildirilmiştir (A.g.e). Bu tez çalışmasında buna benzer bir amaç ele alınmış, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi (DPÜ) arı sahasındaki Langstroth tipi boş kovanın geometrisi oluşturularak akış akımları ve havalandırması bölgedeki rüzgârın ortalama sürati dikkate alınarak hesaplamalı akışkanlar dinamiği (HAD) araçları ile simüle edilmiştir. Kovandan alınan hava molekülü GC-MS ile analiz edilmiştir.

Diğer taraftan, bal arıları, iki çift kanada sahip olup Hymenoptera (Zar kanatlılar) takımına aittir. Kanatlar, arıların sadece uçmasını sağlamaz, aynı zamanda kovanın havalandırılması, taze balın suyunun uçurulması ve balın olgunlaştırılması gibi birçok hayati işlevi yerine getirir. Bunun yanında, bir kovandaki havalandırma, kovana taze oksijen sağlar, karbondioksit ve su buharı gibi bal arısı metabolizmasının yan ürünlerini ortadan kaldırır (Crane, 1975). Ayrıca, Kevan'ın (2007) bildirdiğine göre arı yetiştiricileri tarafından haşere ve enfeksiyon yönetimi amacıyla uygulanan fümigantların taşınması ve dağıtılmasında kovandaki havalandırmanın rolü oldukça yüksektir.

Bal arılarının üreme, beslenme, iş bölümü gibi temel davranışlarını inceleyebilmek için gerekli çalışmalar hazırlanan ilk adımdır. Bu deneyler, arılar karmaşık sosyal organizasyonlarını, iletişim sistemlerini ve koloni içi etkileşimlerini anlamak için bir pencere sunar. Aynı zamanda arı popülasyonları üzerinde çevresel faktörlerin etkilerini değerlendirirler, hastalıkların yayılma mekanizmalarını anlamamıza ve arı sağlığını destekleyici yöntemlerin geliştirilmesi gibi konularda da önemli veriler sağlamaktadır. Kovan havası deneyleri, arıların biyolojik ve ekolojik yönlerini aydınlatan değerli bilgiler sunarak hem arıcılık sektörüne hem de ekosistem sağlığına katkı sağlayan önemli bir araştırma alanını temsil etmektedir. Kovan havası deneyleri aynı zamanda arı popülasyonlarının çevresel faktörlerden nasıl etkilendiğini değerlendirmek için kullanılır. Hastalıkların yayılma mekanizmalarını anlamada ve arı sağlığını destekleyici yöntemlerin geliştirilmesinde de önemli veriler sunarlar. Bu deneyler, arıların biyolojik ve ekolojik yönlerini aydınlatan değerli bilgiler sağlayarak hem arıcılık sektörüne hem de genel olarak ekosistem sağlığına katkıda bulunur. Bu tez çalışmasının bir bölümünde de DPÜ arı sahasındaki kovandan alınan hava bileşenleri GC-MS teknikleri ile analiz edilmiştir.

Arı kanatları, arılar virüs kaptıklarında deforme olabilir. Deforme kanat virüsü (DWV) (De Miranda ve Genersch, 2010) adı verilen bu RNA virüsü bulaşıcıdır ve kanat buruşukluğu, renk kaybı ve gövde küçülmesi gibi belirtilere yol açar. Bu virüsün nedeni olan varroa akarları, arı kolonilerinin ölümünde ana faktör olarak kabul edilmektedir (Moscatelli, vd., 2016). Varroa akarlarına maruz kalan yavru arılar kanatsız olurlar ve koloniler yok olur.

Ülkemizde arıcıların çoğu genellikle varroa ile mücadelede kimyasal ürünlere başvurur. Bu ürünler varroaları öldürürken bir kısmının da koloniye zarar vermesi kaçınılmazdır. Arılar, kovandaki yaşamlarının bir bölümünde hijyenik davranış sergilemeyi azaltarak varroa ile mücadeleyi zayıflatabilirler. Varroa akarlarını yetişkin arılardan uzaklaştırmak için bir yöntem pudra şekeri kullanımıdır. Bu yöntem arıların hijyenik davranışlarını yeniden kazanmalarını tetikler ve varroaların yok edilme sürecinde önemli bir sorunu çözebilir (Fakhimzadeh, 2001b; Macedo, Wu ve Ellis, 2002).

Pudra şekeri sallama (çalkalama) yöntemi ile ilgili literatürdeki bazı çalışmalara (Macedo, Wu ve Ellis, 2002; Aliano ve Ellis, 2005; Gregorc ve Sampson, 2019; Mahmood, vd., 2021; Gregorc, Knight ve Adamczyk, 2017) bakıldığında yetişkin arı üzerinde genellikle sonuç alındığı söylenebilir. Özellikle, Aliano ve Ellis (2005) pudra

şekeri kullanarak yetişkin bal arılarından varroayı uzaklaştırmak için bir teknik geliştirmişlerdir. Teknikleri, pudra şekeri uygulamasından önce bir koloninin yetişkin arı popülasyonunun ayrılabilir bir kutuda izole edilmesini gerektirmektedir. Koloninin girişine bağlanan ve yetişkin arı popülasyonunu tutabilen ayrılabilir bir 'arı kutusu' tasarlanmışlardır. Bu teknikte yetişkin arılardan varroalar büyük oranda temizlense de Aliano ve Ellis (2005) zaman kısıtlamaları nedeniyle bu tekniğin ticari arıcılar için uygulanabilir olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaların çoğunda seçilen arı kolonileri ayrı bir izole ortamda deneye tabii tutulmuşlardır ve uygulama belli periyotlarda takip edilerek arılar kovanlara alınmışlardır. Bu tez çalışmasında farklı olarak yetişkin arılar kışlatmaya girmeden önce uygulama kovanlarda yapılmış ve kovanlar ilkbahara kadar açılmamıştır.

Bu tez çalışmasında varroa akarları ile mücadelede bir başka yöntem daha önemsenmiş ve uygulanmıştır. Veterinerlik uygulamalarında homeopatik ürünlerin kullanımı son elli yılda sürekli olarak artmıştır (Hammarberg, 2002; Mathie, vd., 2007). Bal arısı hastalıkları için homeopatik tedavilerin uygulanmasına ilişkin çok az veri mevcuttur (Moscatelli, vd., 2016), ülkemizde ise böyle bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Moscatelli, vd. (2016)'nin bildirdiğine göre, Lotti ve Martini (2013) *Calcarea sulphurica* 200 CH ve ApiBioxal®'ın kuluçka yokluğunda tedavi edilen bal arısı ailelerinin varroa'ya karşı direncini artırmadaki etkinliğini test etmiştir. Aynı amaçla Persano Oddo ve Marinelli (2022) üç homeopatik ürünü test etmiştir: *Eureka*, *Apeas plus* ve *Apedin vapor*. Sassoli vd. (2012) ön çalışmalarında *Calcarea Sulphurica*'nın kovanlarda varroa akarlarına karşı direnci artırmadaki etkinliğini araştırmışlardır. Ruiz Espinoza ve Guerrero Salinas (2005) tarafından varroanın kontrolü için uygulama sıklığı ve Kükürt ve *Varroa nosode*'un etki gücü (202 CH) dahil olmak üzere deneysel bir protokol oluşturmaya çalışan başka çalışmalar da yapılmıştır. Flores Sánchez (2005) varroa akarlarını kontrol etmek için *Equisetum spp.* 60 CH'yi süksesyonlu veya süksesyonsuz olarak doğrudan bal arılarına verilen yeme uygulamıştır. Moscatelli vd. (2016) ise Fosfor 30 CH tedavisinin bal arıları üzerindeki tolere edilebilirliğini ve varroaya karşı direnci artırmadaki etkinliğini araştırmıştır. Bu çalışmaların dışında, farklı remediler hazırlanarak bu tez çalışmasında ilk defa DPÜ arı merasındaki kovanlara uygulama yapılmıştır.

Remedilerle tedavi edilen bal arılarının zehir yapılarında bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Toplanan arı zehrinden saflaştırılan melittinin enfeksiyona neden olan altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisinin incelenmesi bu tezin son amacı olmuştur.

Enfeksiyona neden olan bakteriler, farklı türlerde ve özelliklerde geniş bir çeşitlilik gösterir. Patojenik bakteriler, enfeksiyon hastalıklarının ana nedenleridir ve özel enfeksiyon mekanizmalarıyla konak organizmada hastalık oluştururlar (Murray, Rosenthal ve Pfaller, 2020). Örneğin, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* ve *Clostridium difficile* gibi patojenik bakteriler, insanlarda çeşitli enfeksiyonlara yol açabilirler (A.g.e).

Fakültatif patojenler, normalde zararsız olan bakterilerdir, ancak bazı durumlarda hastalık yapabilme yetenekleri vardır. Örneğin, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterococcus faecalis* gibi bakteriler, bağışıklık sistemi zayıfladığında veya bölgesel değişiklikler meydana geldiğinde enfeksiyonlara neden olabilir (A.g.e).

Komensal bakteriler, normalde konak organizmada yaşarlar ve zararsızdırlar, ancak bazı durumlarda bağışıklık sistemi zayıfladığında enfeksiyonlara neden olabilirler (Murray, Rosenthal ve Pfaller, 2020). Örneğin, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivarius*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.* ve *Propionibacterium acnes* gibi komensal bakteriler, cilt, ağız, bağırsak ve diğer bölgelerde bulunurlar ve genellikle sağlıklı bir mikrobiyota dengesi oluştururlar. Ancak bazı durumlarda bağışıklık sistemi zayıfladığında veya denge bozulduğunda enfeksiyonlara neden olabilirler.

Antibiyotik dirençli bakteriler ise antibiyotik kullanımının artmasıyla ortaya çıkan ve antibiyotiklere karşı direnç kazanan bakterilerdir (World Health Organization, 2022). Örneğin, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Vancomycin-resistant Enterococcus* (VRE) ve *Extended-spectrum β -lactamase* (ESBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakteriler, çeşitli enfeksiyonlara neden olan ve tedaviyi zorlaştıran antibiyotik dirençli türlerdir.

Mikrobiyal enfeksiyonlar, sağlık sorunlarına neden olan önemli bir konudur ve bu konuda yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar, melittinin antimikrobiyal etkilerini ve mikrobiyal enfeksiyonlarla ilişkisini ayrıntılı olarak ele almaktadır. Örneğin, Melittin'in bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı etkili olduğu açıklanmaktadır (Huan, vd., 2016). Melittin gibi antimikrobiyal peptitlerin AMP'lerin tüberküloz gibi önemli mikrobiyal enfeksiyonlara karşı potansiyel kullanımı

ele alınmaktadır. Melittin'in Mycobacterium tuberculosis üzerindeki etkileri ve antimikrobiyal mekanizmaları açıklanmaktadır (Jangra, vd., 2019). Melittin gibi AMP'lerin geleneksel antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilen potansiyel ajanlar olduğu vurgulanmaktadır (Wang, G., Li ve Wang, Z., 2016).

Melittin ve analogları, antimikrobiyal etkileri ve yapısal benzerlikleri nedeniyle enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde potansiyel birer aday olarak değerlendirilmektedir (Wang, vd., 2019). Melittin, antimikrobiyal peptitler (AMP'ler) ailesine ait bir peptit olarak arı zehrinden izole edilmiştir (Wang, Hu ve Liu, 2014). AMP'ler, doğal olarak çeşitli organizmalarda bulunan küçük protein yapılarıdır ve geniş bir mikrobiyal etki spektrumuna sahiptirler (Wang, vd., 2016). Melittin'in analogları ise, melittin molekülünün yapısında yapısal benzerliklere sahip olan diğer peptitlerdir. Bu analoglar, genellikle sentetik yollarla üretilir veya doğal kaynaklardan elde edilebilir (Xu, vd., 2020). Analoglar, Melittin'in bazı özelliklerini koruyabilirken, bazı durumlarda da özgün özellikler sergileyebilirler.

Yapısal modifikasyonlar kullanılarak analogların antimikrobiyal etkilerini optimize etmek için çeşitli faktörler üzerinde etki edilebilir. Bu faktörler arasında, analogların amino asit dizisi, yükseltgenme durumu, lipofiliklik veya hidrofobisite gibi özellikleri yer almaktadır. Analogların amino asit dizisi, peptitin hedef mikroorganizmalara karşı daha etkili olmasını sağlamak için değiştirilebilir. Yükseltgenme durumu, peptitin antimikrobiyal etkilerini artırabilir veya stabilizasyon sağlayabilir. Lipofiliklik veya hidrofobisite özellikleri, peptitlerin hedef mikroorganizmalar üzerindeki etkisini optimize edebilir. Lipofilik veya hidrofobik grupların eklenmesi veya çıkarılmasıyla peptitlerin hedef mikroorganizmalara olan etkisi yönlendirilebilir ve güçlendirilebilir. Yapısal modifikasyonlarla analoglar, antimikrobiyal etkilerini optimize etmek için amino asit dizisi, yükseltgenme durumu, lipofiliklik veya hidrofobisite gibi faktörleri etkileyebilir (Lee, Park ve Hahm, 2019; Cheng, Prickett ve Gutschmann 2021). Melittin ve analogları, mikroorganizmaların hücre zarlarını hedef alarak zar geçirgenliğini artırır ve hücre ölümüne yol açarak antimikrobiyal etkilerini gösterirler (An, vd., 2018). Bu etki, bakteriyel enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar, mantar enfeksiyonları ve protozoal enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyon türlerine karşı etkili olabilir (Bai, vd., 2019). AMP'lerin antimikrobiyal etkileri, hedeflenen mikroorganizmaların zar yapısını bozarak veya hücre içi bileşenlerin kaçmasına neden olarak mikroorganizmaların ölümüne yol açar (Yang, vd., 2019).

Melittin ve analogları, antimikrobiyal tedavilerin geliştirilmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. Bu peptitler, antibiyotik direncine sahip bakterilere karşı etkili olabilir, antiviral etkiler gösterebilir ve mantar veya protozoal enfeksiyonlara karşı aktif olabilir (Duffy, vd., 2020). Ancak, her bir analogun spesifik etki mekanizmaları, mikroorganizmalar üzerindeki etkileri ve kullanım alanları hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Xu, vd., 2020).

Melittin'in enfeksiyon biyokimyası üzerindeki etkileri, hedef mikroorganizmanın özelliklerine ve enfeksiyonun türüne bağlı olarak farklılık gösterebilir. İşte bazı örnekler: Bakteriyel enfeksiyonlar: Melittin, bakteriyel enfeksiyonlarda hedef bakterinin hücre zarını bozarak etki gösterebilir (Lee, vd., 2016). Bakterilerin hücre zarı, lipit çift tabakalarından oluşur. Melittin, lipit çift tabakalarına yerleşerek zarın bütünlüğünü bozar ve zar geçirgenliğini artırır. Bu, bakterinin iç dengesini bozar, hücre içi bileşenlerin kaçmasına ve sonunda hücrenin ölümüne neden olabilir. Viral enfeksiyonlar: Melittin, viral enfeksiyonlarda farklı mekanizmalarla etki gösterebilir (Park, vd., 2016b). Örneğin, melittin bazı virüslerin hücreye girişini engelleyebilir veya virüs partiküllerini inaktive edebilir. Bunun yanı sıra, melittin bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu uyararak antiviral yanıtları güçlendirebilir (Yang, vd., 2019). Mantar enfeksiyonları: Melittin, mantar enfeksiyonlarında hedef mantarın hücre zarına zarar vererek etki gösterebilir. Mantarların hücre zarı, lipit çift tabakalarından oluşur ve melittin bu lipit çift tabakalarına etki edebilir. Melittin, mantar hücrelerinin zar geçirgenliğini artırarak hücre içi bileşenlerin kaçmasına ve mantar hücrelerinin ölümüne neden olabilir. Protozoal enfeksiyonlar: Melittin, bazı protozoal enfeksiyonlarla da etkili olabilir. Protozoaların hücre zarı da lipit çift tabakalarından oluşur, bu yüzden melittin hedef protozoanın hücre zarını hedef alabilir. Melittin, protozoanın zar yapısını bozarak zar geçirgenliğini artırabilir ve protozoanın hücresel homeostazını bozar (Li, vd., 2020).

Bu tez çalışmasının amaçları şu şekilde özetlenebilir: DPÜ arı merasının oluşturulması ve sahadaki geometrisi oluşturulmuş Langstroth tipi boş kovanın akış akımlarının ve kovan havalandırmasının bölgedeki rüzgârın ortalama sürati dikkate alınarak hesaplamalı akışkanlar dinamiği (HAD) araçları ile simüle edilmesi, ayrıca kovan içinden alınan gaz moleküllerinin incelenmesi. Bununla birlikte, bal arılarının bakımı ve sürekliliğinin sağlanması ve varroa ile mücadele için pudra şekeri yöntemi ile remedi uygulamasının kullanılması ve karşılaştırılması. Diğer

tarafından, remedilerle tedavi edilen arılardan toplanan arı zehrinin HPLC kullanılarak saflaştırılması, LCMS ile kütle spektroskopisinin yapılması ve elde edilen melittinin altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisinin incelenmesi, ampisilin ve propolisle olan aktivitelerinin karşılaştırılması. Bu karşılaştırmalar yapılırken üç farklı yöntem (kuyucuk, damlatma ve disk difüzyonu yöntemleri) kullanılması ve karşılaştırılması.





BİRİNCİ BÖLÜM
BAL ARILARI VE VARROA MÜCADELESİ

1.1. BAL ARILARI

Tek bir kovandaki işlevsel bir bal arısı kolonisi üç tür bal arısından oluşur : bir kraliçe (ana) arı, yaklaşık 20.000-30.000 işçi arı ve yılın belirli zamanlarında yaklaşık 500 erkek arı (Sudarsan, vd., 2012). Her arı kolonisinde bir ana arı bulunur ve bu ana arı, koloninin sürekliliğini sağlamak için yumurtlama yapar. Aynı zamanda, koloninin düzenini muhafaza etmek için salgıladığı kokuyu kullanır. Ana arılar, işçi arılardan daha büyük ve uzundur ve günde 1000 ila 2500 yumurta yumurtlayabilirler. Bu miktar, ana arının kalitesine bağlıdır. Genç bakıcı işçi arılar, ana arıları sürekli olarak "Arı Sütü" ile besler. Ana arılar, işçi arılar gibi iğne taşırlar ve bu iğneleri rakip ana arılara karşı kullanırlar. Ayrıca, ana arılar iki farklı türde yumurta bırakır. İşçi arılar bu yumurtalardan çıkar, erkek arılar ise dölsüz yumurtaları gözlerine bırakırlar.

İşçi arıların yumurtalıkları gelişmemiştir. Dişi arılar, döllenmiş yumurtadan 21 gün içinde gelişirler. Kolonideki işçi arı sayısı mevsime bağlı olarak değişir. Kış aylarında 10 bin ila 20 bin arasında değişirken, ilkbahar ve yaz aylarında 60 bin ila 80 bin arasında değişebilir. İşçi arıların ömrü yaz aylarında 40 ila 60 gün, kış aylarında ise 4-6 aydır. Tüm işler kolonideki işçi arılar tarafından yapılır. İşçi arıların yaptığı işler arasında kovan temizliği, kovanın havalandırılması, arı sütü ve bal mumu salgılama, petek örme, yavru bakımı, ana arının bakım ve beslenmesi, kovan bekçiliği, nektar ve polen toplama, propolis ve su taşıma, balın olgunlaştırılması gibi görevler yer alır. İşçi arıların görevleri yaşlarına bağlı olarak farklılık gösterir. Yaşlarına göre işçi arıların görevleri şu şekildedir:

- 2. gün birbirlerini temizler, yavru gözlerini temizler ve besler, yavru gözlerini ıslatır.
- 5. gün yaşlı larvaları polen ve bal ile besler.
- 11. gün genç larvaları arı sütü ile besler, arı sütü salgılar.
- 13. günden sonra uçuş becerilerini geliştirir.
- 17. gün mum bezleri gelişir. Petek örür, kovayı temizler ve havalandırır.
- 21. gün kovanın girişinde bekçilik yapar.
- 35-55. gün arasında kovan dışında faaliyetlerde bulunur.

Döllenmemiş yumurtalardan 24 gün içinde oluşan erkek arılar büyük bedenli olup besin toplayamazlar ve mum bezleri ile iğneleri yoktur. Kolonideki görevleri çiftleşmemiş ana arıları döllerler. Erkek arılar genellikle Nisan-Mayıs ayları ve yaz mevsiminde kolonide görülür. Kolonideki erkek arıların sayısı genellikle birkaç yüzü

geçmezken, oğul mevsiminde 500-2 bin arasında olabilir. Bal akımının sona ermesiyle işçi arılar tarafından dışarı atılarak ölüme terk edilirler. Ortalama yaşam süreleri 55-60 gündür ve bu süre boyunca erkek arılar solunumda herhangi bir sorun yaşamazlar.

1.1.1. Bal Arılarının Kanat Yapıları

Bal arıları, Hymenoptera (Zar kanatlılar) takımına aittir. Bu arılar, iki çift kanada sahiptirler. Kanatlar, arıların sadece uçmasını sağlamaz, aynı zamanda kovanın havalandırılması, taze balın suyunun uçurulması ve balın olgunlaştırılması gibi birçok hayati işlevi yerine getirir. Arıların kanatları güçlüdür ve göğsün son iki halkasında bulunur. Kanatlar, ince tüylerle ve damarlarla kaplıdır. Ön kanatlar, arkadakilere göre daha büyük ve daha damarlıdır. Uçuş sırasında ön kanatlar havada kalırken çengel yatağına sahiptir. Arka kanatlar ise uçuşta yön tayinini sağlar ve tutunma çengellerine sahiptir. Kanat çengelleri birbirine geçerek aynı kanat hareketini yapar, bu da tek bir kanat gibi davranmayı ve daha hızlı uçmayı sağlar. Uçuş hızı azaldığında kanatlar yeniden ayrılır. Uçuş sırasında kanatlar ileri-geri, aşağı-yukarı ve kısmen dairesel hareketler yapar.

Arı kanatları, arılar virüs kaptıklarında deforme olabilir. Deforme kanat virüsü (DWV) adı verilen bu RNA virüsü bulaşıcıdır ve kanat buruşukluğu, renk kaybı ve gövde küçülmesi gibi belirtilere yol açar. Bu virüsün nedeni olan varroa akarları, arı kolonilerinin ölümünde ana faktör olarak kabul edilmektedir. Varroa akarlarına maruz kalan yavru arılar kanatsız doğarlar ve koloniler yok olur. Bu gözlemimiz kaçınılmaz bir sonuçtur.

1.2. VARROA

Arılar, çeşitli nedenlerle sayılarının azaldığı ve iklim krizlerinden etkilendiği canlılardır. varroa akarları, arı kolonilerinin ölümünde ana neden olarak kabul edilmektedir. Arıcılar varroa akarlarıyla mücadele etmek zorunda kalmaktadırlar. Her yıl bal arısı kolonilerinin neredeyse üçte biri, varroa akarı saldırısının sonucunda ölmektedir. Ergin arılarda sadece dişi varroa akarları yaşar. Bu akarlar, arıların karın halkaları arasına yerleşir ve hassas zarları yırtarak hayatta kalmayı başarır. Varroa akarı, arıya zarar vermeden yağ hücreleri ve hemolenf karışımını emer. Ancak bu süreçte, yaranın içinden geçen diğer mikroplar arının güçsüzleşmesine ve zayıf kalmasına neden olur. Arının sinir sistemi zarar görür ve kovandan uçuş yapamaz hale gelir. Varroa akarları, yetişkin arılar üzerinde kısa bir süre kalırken, en büyük zararı yeni doğacak yavrulara verir. Yavruların

kanatsız doğmasına ve kovanların zayıflamasına yol açarlar. Bu nedenle, Varroa akarlarıyla mücadele etmek ve arıları bu zararlıdan korumak önemlidir (Usta ve Yıldırım, 2020).

Varroanın vücudu iki ana bölümden oluşur. Bunlar, ağız parçalarını içeren gnathosoma olarak adlandırılan ön ve orta kısım ile dört çift bacağı içeren idiosoma olarak adlandırılan arka bölümdür (Tutkun ve Boşgelmez, 2003). Dişiler delici-emici ağız yapılarına sahiptir ve ağızlarında eğri uçlu ve keskin bir çift çene bulunur. Her çene ileri geri hareket edebilir ve arının segmentleri arasında rahatlıkla tutunmak için ön tarafta bulunan iğneleri kullanır (Akyol ve Korkmaz, 2006).

Ergin dişi varroalar, koyu kırmızı kahverengi renkte ve 1.1-1.2 mm uzunluğunda, 1.6-1.7 mm genişliğindedir. Erkek varroalar ise dişilere göre daha küçüktür, 0.8-0.9 mm uzunluğunda, 1-1.1 mm genişliğinde ve gri-beyaz sarımtırak renkte görülürler (Kaftanoğlu, vd., 1992). Erkek varroaların ağız yapısı, dişi varroalara sperm transferi için özelleşmiştir. Bu nedenle erkek varroalar beslenemez ve çiftleştikten kısa bir süre sonra kapalı yavru gözlerinde ölürler. Varroalar altı parçalı dört çift bacaklarına sahiptir. Bacaklar kısa ve kalın yapıdadır ve üzerlerinde bir dizi duyu kılı bulunur. Dişi varroalar yaz aylarında 2-3 ay, kış aylarında ise 5-8 ay yaşayabilirler. Dişi varroa üremesi ilkbaharda arı kolonisinde kuluçka faaliyetleriyle başlar ve sonbahara kadar devam eder. Kış aylarında ve koloninin yavrusuz döneminde ergin işçi arılar üzerinde yaşayabilirler, ancak yumurta bırakmazlar (Kumova, 2003).

1.2.1. Varroanın Dünyaya Yayılışı

Varroa ilk olarak Endonezya'nın Java adasında *Apis cerana* üzerinde tespit edilmiş ve buna aynı yıl Hollandalı A.C. Qudemans tarafından "varroa" adı verilmiştir. Akarın *Apis cerana* üzerinde çok fazla zararı olmadığı için yaklaşık 50 yıl boyunca üzerinde fazla araştırma yapılmamıştır. Varroa'nın *Apis mellifera*'ya bulaşması ise 1962 yılında Hong Kong'dan Rusya kuşağına gönderilen arılar aracılığıyla gerçekleşmiştir. Akar, 1970-1976 yılları arasında Rusya'da büyük koloni kayıplarına neden olmuş, ayrıca 1973 yılında Japonya'dan Paraguay'a ihraç edilen enfekte kovanlarla taşınmış ve Güney Amerika'ya yayılmıştır. Varroa, 1970 yılında Avrupa Rusya'sı ve özellikle Kafkasya'dan Bulgaristan'a geçmiş, 1972 yılında Yugoslavya'ya, 1976 yılında Türkiye'ye, 1977'de Romanya'ya ve 1978 yılında Yunanistan'a ulaşmıştır. Varroa'nın 1982 yılında ise Kıbrıs, Güney İtalya ve Fransa'ya ulaştığı belirlenmiştir.

Varroa, 1976 yılında Bulgaristan üzerinden ülkemizdeki Trakya bölgesine gelmiştir. Ardından ayçiçeği balı üretmek için bölgeye giden Anadolu'daki arıcıların arılıklarına bulaşmış ve Anadolu'ya taşınmıştır. 1977-78 yıllarında Ege bölgesinde görülen varroa daha sonra çam balı üretmek amacıyla ülkenin tüm bölgelerinden Ege Bölgesine özellikle Muğla iline gelen arıcıların arılıklarına bulaşmış ve kendi bölgelerine döndüklerinde kısa bir süre içinde (4-5 yıl gibi) tüm ülkeye yayılmıştır. Bu parazit, ülkemizde ilk yıllarda yaklaşık 600 bin koloninin kaybına ve 7000-7500 ton ürün kaybına neden olmuştur (Fakhimzadeh, 2001a, 2001b).

1.2.2. Varroanın Yaşam Döngüsü

1.2.2.1. Ergin Arılar Üzerinde Yaşamı

Yetişkin varroalar genellikle konak değiştirir veya konakçıları tarafından tımar edilirler (Delfinado-Baker, Rath ve Boecking, 1992). Bu aşama, akarlar için birçok doğal risk oluşturduğundan, yetişkin seyahat aşamasının fizyolojik olarak önemli olduğu düşünülmektedir (Xie, Huang ve Zeng, 2016). Ancak, bu akarlar kışı yetişkin arılar üzerinde geçirdikleri için ergin seyahat aşaması aylarca sürebilir (Boecking ve Genersch, 2008). Yeni doğan arılar kuluçkayı sık sık ziyaret ettikleri için genellikle tercih edilen konukçulardır. Ancak, özellikle kolonileri ölüm sürecindeyken, tozlayıcı (tarlacı) arılar da akarları farklı kolonilere taşıyabildikleri için bazen seçilir (Kuenen ve Calderone, 1997).

1.2.2.2. Yavru Üzerinde Yaşamı

Varroa akarlarının üremesi, yumurta, larva, protonimf, deutonimf ve ergin aşamalarını içerir (Rosenkranz, Aumeier ve Ziegelmann, 2010). Larvalar 3 çift bacaklıdır, protonimf, deutonimf ve ergin varroa ise 4 çift bacaklıdır. Erkek varroalar döllenmemiş yumurtalardan, dişiler ise döllenmiş yumurtalardan gelişir. İlk olarak erkek varroalar yumurtalardan çıkar, ardından dişi varroalar oluşur.

Normal şartlarda, ergin bir arının üzerinde yaklaşık bir hafta kadar kalan dişi varroa paraziti, daha sonra ergin arıyı terk ederek yumurtlamak ve çoğalmak için kapanmak üzere olan ve larva bulunan petek gözlerine girer (Anderson ve Trueman, 2000). Parazitin çoğalabildiği tek yer, yavrulu petek gözleridir. Ergin bir arı üzerinde bulunan bir Varroa, üreme yeteneğine sahip değildir. Varroanın yumurtlayabilmesi için

larvanın hemolimf ile beslenmesi ve bu sırada larvanın hemolimfinden juvenil hormonu kullanması gerekmektedir. Erkek arı larvalarının hemolimfinde juvenil hormon miktarı daha yüksek olduğu için parazit, erkek larvaların bulunduğu gözlerle girmeyi tercih eder. Erkek arı gözlerinde, işçi gözlerine göre yaklaşık olarak 8-10 kat daha fazla varroa bulunur (Goodwin ve Van Eaton, 2022).

Erkek arıların pupa dönemleri (14 gün) daha uzun olduğu için bir erkek arının gözünde, işçi arının gözüne göre daha fazla varroa ergin hale gelebilir. Ana arı gözlerinde ise varroa, ergin hale gelemeyen gözden çıkar ve varroa akarları ölür (Akyol ve Korkmaz, 2006). Dişi parazit, göze girdikten sonra göz tabanına ilerler ve larva besini üzerinde yerleşir. Göz kapatıldıktan sonra ilk dört saat içinde larva besinini terk eder ve larvanın hemolimf (vücut sıvısı) ile beslenmeye başlar. Prepupa dönemi boyunca larvanın hemolimfiyle beslenen parazit, göz kapanmasından yaklaşık 60-70 saat sonra ilk yumurtasını bırakır (Infanditis, 1984). Parazit genellikle 4 ila 6 arasında yumurta bırakır ve genellikle ilk yumurtadan erkek bireyler, sonraki yumurtalardan ise dişi bireyler gelişir. Yumurtadan çıkan parazitler, protonymph ve deutonymph dönemlerini geçirdikten sonra ergin vücut yapısına ulaşırlar. Dişi varroa akarlarının 5-6 gün, erkek varroa akarlarının ise 6.5-7 gün içinde ergin hale geldiği, dişi Varroa akarlarının döllenmiş yumurtalardan ($2n=14$), erkek varroa akarlarının ise döllenmemiş yumurtalardan ($n=7$) meydana geldiği belirtilmektedir (Rehm ve Ritter, 1989).

Arılar gelişimlerini tamamlayıp gözden çıkacakları zamana kadar, işçi arı gözlerinde ilk 2-3, erkek arı gözlerinde ise ilk 3-4 parazit yumurtası gelişimini tamamlayarak ergin dişi Varroa haline gelebilir. Daha sonraki yumurtalar ise ergin hale gelmeden gözden çıkar ve Varroa akarları ölür. Yeni oluşan parazitler, konukçuları gözden çıkmadan önce göz içinde çiftleşirler. Arı gözden çıktığında, sadece ergin ve çiftleşmiş dişi varroa akarları onunla gözden çıkarlar.

Bazı varroa akarları ikinci kez yavru gözlerine girerek ikinci bir nesil oluşturabilir, bazıları ise üçüncü kez bu işlemi gerçekleştirebilir, ancak bu durum oldukça nadirdir. Yeni dişi varroa akarlarının tamamının göze girip yumurta bırakma şansı olmadığından, üreme oranı işçi arı gözlerinde ortalama olarak 2.2-2.5, erkek arı gözlerinde ise 2.6-3.5 arasında değişmektedir (Infanditis, 1984). Birden fazla dişi parazitin bir işçi arı gözüne girdiği durumlarda bu oran düşer.

Kısacası, varroa akarının üreme oranı; üreme yerine (erkek veya işçi arı gözü), kolonideki yavru miktarına ve bir göze yumurtlamak üzere giren çiftleşmiş dişi varroa akarı sayısına bağlı olarak değişir. Üreme oranındaki küçük bir değişiklik, varroa popülasyonunun gelişimi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Dört aydan daha uzun süren bir üreme döneminde, her gözde üreme oranı 1.2 olduğunda, bir varroa akarından 6 varroa akarı oluşurken, üreme oranı 1.7 olduğunda bu sayı 200'e, üreme oranı 2.7 olduğunda ise 20 bine çıkar. Bu durum, erkek arı gözlerinin varroa akarı çoğalması için ne kadar önemli olduğunu açık bir şekilde göstermektedir.

Bir kolonide yavru üretimi ne kadar az ise varroa akarının üreme oranı da o kadar az olur, yavru üretimi yok ise varroa akarı üremesi ve çoğalması da mümkün olmaz, yavru üretimi ne kadar fazla ise varroa akarı üremesi de o kadar yoğun olur. Koloninin yavru üretimi özellikle erkek arı üretim sezonunda varroa akarı için uygun bir üreme dönemidir. Yavru üretiminin yıl boyunca veya büyük bir bölümünde devam ettiği ılıman bölgelerde, varroa popülasyonu artışı yıl boyunca devam eder (Goodwin ve Van Eaton, 2022).

1.3. VARROA İLE MÜCADELE

Ülkemizde arıcıların çoğu genellikle varroa ile mücadelede kimyasal ürünlere başvurur. Bu ürünler varroaları öldürürken bir kısmının da koloniye zarar vermesi kaçınılmazdır. Arılar, kovandaki yaşamlarının bir bölümünde hijyenik davranış sergilemeyi azaltarak varroa ile mücadeleyi zayıflatabilirler. Varroa akarlarını yetişkin arılardan uzaklaştırmak için bir yöntem pudra şekeri kullanımıdır. Bu yöntem arıların hijyenik davranışlarını yeniden kazanmalarını tetikler ve varroaların yok edilme sürecinde önemli bir sorunu çözebilir (Fakhimzadeh, 2001b; Macedo, Wu ve Ellis, 2002). Bu sebeple tez çalışmasının bir bölümünde DPÜ arı merasında bulunan bal arılarının da kanat yapılarını bozan ve özellikle yavru arıların kanatsız doğmalarına yol açan varroa ile mücadelede pudra şekeri yöntemi uygulanmıştır. Buradaki uygulama Sonuçlar bölümünde verilmiştir.

Öte yandan, bu tez çalışmasını önemli kılan araştırmalardan biri de varroa mücadelesinde remedilerin kullanılmasıdır. Böylelikle araştırmanın bu kısmı Giriş Bölümü'nün son kısmında da bahsi geçen tez çalışmasının ikinci kısmını tetiklemiştir. Çünkü yapılan bir çalışmada, bitki ekstraktlarının arı zehri kalitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Araştırmada, bazı bitki özlerinin arı zehrinin antimikrobiyal etkisini artırdığı ve antioksidan aktivitesini yükselttiği bulunmuştur (Maaroufi, vd., 2021). Adı

geçen çalışma, varroa mücadelesinde kullanılan remedilerin arı zehri üretimi üzerindeki etkilerini desteklemektedir. Başka bir çalışmada ise bitki özlerinin arı zehri stabilitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Araştırmada, bazı bitki özlerinin arı zehrinin antioksidan aktivitesini artırarak zehrin kalitesini ve stabilitesini artırdığı gösterilmiştir (Silici, vd., 2013). Bu bulgular, bitki özlerinin arı zehri üretiminde kullanıldığında kalite ve etkinliğin artabileceğini göstermektedir. Bu çalışmalar, varroa mücadelesinde kullanılan remedilerin arı zehri kalitesi üzerinde etkili olabileceğini ve arı sağlığı açısından potansiyel faydalar sağlayabileceğini göstermektedir. Ancak, daha fazla araştırma yapılması ve bu bileşiklerin etkilerinin daha detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, arıların sağlığı ve yan etkiler üzerinde de daha fazla çalışma yapılması önemlidir.

Tezin Sonuç bölümünde detaylandırılan ve özellikle remedi ile varroa mücadelesinde olumlu sonuçlar elde edilen DPÜ arı merasındaki arıların zehirleri titizlikle alınmış ve bunu oluşturan peptitlerden biri olan melittinin altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisi incelenmiş, ampsilin ve propolis ile olan aktiviteleriyle karşılaştırılmıştır. Bu sebeple bir sonraki bölümde peptit yapılı ilaçlar, melittin ve arı peptitlerinin detaylandırılmasında fayda vardır.



İKİNCİ BÖLÜM
PEPTİT YAPILI İLAÇLAR, MELİTTİN VE ARI PEPTİTLERİ

Peptit yapılı ilaçlar, tedavi amacıyla kullanılan ve peptit adı verilen kısa protein zincirlerinden oluşan farmasötik bileşiklerdir (Johnson ve Chiou, 2018). Peptitler, amino asitlerin bir araya gelerek peptit bağlarıyla bağlandığı moleküllerdir. Doğal olarak vücutta bulunan peptitler, çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirir ve bu nedenle terapötik etkileri olan ilaçlar olarak kullanılmaktadır. Peptit yapılı ilaçlar, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır. Bu ilaçlar, peptitlerin hedef hücrelerdeki reseptörlere bağlanarak belirli biyolojik etkileri tetiklemesine dayanır. Peptitler, hedefe spesifik olarak etki edebilme yetenekleri sayesinde genellikle daha az yan etkiye sahip olurlar (Gurung, vd., 2020). Peptit yapılı ilaçlar, birçok terapötik alanda kullanılmaktadır. Örneğin, diyabet tedavisinde insülin peptiti kullanılır. Ayrıca hormonlar, büyüme faktörleri, nöropeptitler ve immünomodülatörler gibi çeşitli peptitler, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalığın tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilir (Smith, 1985). Peptit yapılı ilaçlar genellikle parenteral yoldan (enjeksiyon veya infüzyon) uygulanır, çünkü peptitler, sindirim sistemi tarafından hızla parçalanabilir ve etkinliklerini kaybedebilirler. Ancak, araştırmalar, peptitlerin oral yolla alınabilmesi için geliştirme çalışmalarını da içermektedir (Lopes, vd., 2018). Peptit yapılı ilaçların avantajları arasında yüksek hedef spesifikliği, düşük toksisite potansiyeli, kısa yarı ömürleri ve genellikle düşük molekül ağırlığı yer alır. Ancak, bazı dezavantajlar da bulunmaktadır. Peptitlerin üretimi karmaşık olabilir, stabilitesi düşük olabilir ve verimli hücre içi geçişi zor olabilir (Sheik, vd., 2019). Son yıllarda, peptit yapılı ilaçların geliştirilmesi ve kullanımı üzerine araştırmalar hızla ilerlemektedir. Yeni teknolojiler ve ilaç teslim sistemleri, peptitlerin daha etkin ve güvenli bir şekilde kullanılmasını sağlamak için çalışmaktadır. Bu gelişmeler, peptit yapılı ilaçların daha geniş bir tedavi yelpazesine uygulanabilmesi ve hastalıkların daha etkili bir şekilde tedavi edilmesine katkıda bulunabilir (Chen, vd., 2018). Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanan bazı peptit yapılı ilaçlar hedef hastalıklarla birlikte Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi Tarafından Onaylanan Bazı Peptit Yapılı İlaçlar

Peptit Adı	Hedef Hastalık	Referans
Exenatide	Tip 2 Diyabet Mellitus	(Knop, Bronden ve Vilsboll, 2017)
Teduglutid	Kısa Bağırsak Sendromu	(Kim ve Keam, 2017)
Zikonotid	Kronik Ağrı	(Williams, Day ve Heavner, 2008)
Teriparatid	Osteoporoz	(Minisola, vd., 2019)
Karfilzomib	Multipl Miyelom	(Mushtaq, vd., 2018)
Abarelix	Prostat Kanseri	(Kirby, Fitzpatrick ve Clarke, 2009)

Peptitler, küçük moleküllü bileşikler ve biyolojikler arasında bir geçiş formu olarak düşünülebilir. Peptitler, genellikle 2 ila 50 amino asit arasında değişen boyutlara sahip olan ve amino asitlerin peptit bağlarıyla birleşmesiyle oluşan molekülüdür (Friedberg, Winnick ve Greenberg, 1947). Küçük moleküllü bileşikler genellikle daha küçük boyutlarda ve basit yapıya sahip organik molekülüdür. Biyolojikler ise daha büyük ve karmaşık yapıya sahip olabilir, örneğin proteinler, nükleik asitler veya polisakkaritler gibi. Peptitler genellikle hücreler arası iletişim, hormonal kontrol veya biyolojik aktiviteler gibi çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirirken, küçük moleküllü bileşikler metabolik reaksiyonlarda substrat veya enzim aktivitesini etkileyen inhibitörler gibi çeşitli işlevlere sahip olabilir. Biyolojikler ise genellikle spesifik bir işlevi yerine getiren büyük ve karmaşık molekülüdür, örneğin antikorlar, enzimler veya hücre sinyalleşme molekülüleri gibi. Peptitlerin farmakokinetik özellikleri genellikle daha düşüktür, çünkü hızlı bir şekilde parçalanabilir ve sindirilebilirler. Bununla birlikte, küçük moleküllü bileşikler genellikle daha iyi biyoyararlanım, oral emilim ve dolaşımda daha uzun yarı ömür gibi farmakokinetik avantajlara sahip olabilir. Peptitler, spesifik hedeflerin inhibisyonu veya aktivasyonu için potansiyel bir terapötik hedef olabilir, ancak farmakokinetik ve toksikolojik zorluklar nedeniyle daha sınırlı bir uygulama alanına sahiptirler. Sonuç olarak, peptitler küçük moleküllü bileşikler ve biyolojikler arasında geçiş bir sınıfı temsil eder ve daha spesifik işlevlere sahip olabilir, ancak ilaç geliştirme sürecinde bazı zorluklarla karşılaşabilirler.

2.1. ANTİMİKROBİYAL PEPTİTLER

Antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), vücutta bulunan doğal protein molekülüdür ve geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı doğal savunma mekanizması olarak işlev görürler. AMP'lerin keşfi, 1980'lerin ortalarında yapılan araştırmalarla hız kazanmıştır (Zasloff, 2002). Bu molekülün antimikrobiyal etkiye sahip olduğuna dair işaretler, mikroorganizmaların vücuda saldırısını engelleyen doğal

maddelerin varlığına işaret ediyordu. İlk olarak, AMP'lerin varlığı bakteriyel kaynaklarda keşfedildi, ardından omurgalıların bağışıklık sistemlerinde bulundukları tespit edildi. AMP'lerin geniş bir mikrobiyal yelpaze üzerinde etkili oldukları ve potansiyel olarak antimikrobiyal direnç gelişimi açısından alternatif bir tedavi stratejisi olabilecekleri gösterilmiştir (Hancock ve Sahl, 2006). Son yıllarda, AMP'lerin antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra, immünmodülasyon, doku onarımı ve antiinflamatuvar etkiler gibi çeşitli diğer biyolojik etkileri olduğu ortaya çıktı. Bu nedenle, AMP'lerin yeni ilaçlar ve terapötik ajanlar olarak kullanılma potansiyeli üzerine araştırmalar devam etmektedir (Wang ve Li, 2014).

Melittin, arı zehrinden elde edilen bir antimikrobiyal peptittir. Bunun yanı sıra, melittinin çeşitli analogları da bulunmaktadır. Melittinin bazı analogları şu şekildedir:

- Brevinin: Melittin benzeri bir antimikrobiyal peptittir ve brevinin-1 ve brevinin-2 olarak adlandırılan iki sınıfa ayrılır. Brevininler, özellikle bakterilere karşı etkili olan antimikrobiyal peptitlerdir.
- Apamin: Melittin'in bir diğer analogu olan apamin, arı zehrinden izole edilen bir peptittir. Apamin, nörotoksik etkileriyle bilinir ve sinir hücrelerindeki iyon kanallarını etkileyerek sinir iletimini değiştirir.
- Mastoparan: Bu peptit, arı zehrinden elde edilen bir başka analogdur. Melittin gibi antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve hücre zarlarını hedef alarak mikroorganizmaların ölümüne neden olabilir.
- Melittin-Like Peptides (MLPs): Bu terim, melittin benzeri peptitleri ifade etmek için kullanılır. MLP'ler, melittinin yapısal özelliklerine ve antimikrobiyal etkilerine benzerlik gösterir (Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007; Dosler ve Gerceker, 2014; Hancock ve Sahl, 2006; Wang, vd., 2016).

Melittin, arıların zehirlerinde bulunan bir peptittir ve arıların korunmasına yardımcı olmak için evrimsel olarak gelişmiştir. Arılar, kendilerini ve yuvalarını dış etkenlere karşı savunmak için zehir kullanırlar ve melittin bu zehrin ana bileşenlerinden biridir. Melittin, antimikrobiyal ve antiparazit özelliklere sahiptir. Bu peptit, hedeflediği organizmaların hücre zarlarına bağlanarak zarları bozabilir ve onları öldürebilir. Ayrıca, melittin, iltihaplanmayı azaltabilen ve bağışıklık sistemini uyarabilen etkilere sahip olabilir. Yapılan bazı araştırmalar, melittinin kanser hücrelerine karşı etkili olabileceğini göstermektedir. Melittin, kanser hücrelerinin zarlarını hedef alarak hücre ölümüne yol açabilir. Ancak, melittinin koruyucu etkileri yalnızca arılara özgüdür. İnsanlarda melittin

kullanımı veya uygulanması durumunda ciddi alerjik reaksiyonlara veya toksisiteye neden olabilir. Bu nedenle, melittin üzerindeki araştırmalar dikkatlice yapılmalı ve uygun güvenlik önlemleri alınmalıdır (Kinghorn ve Pan, 2013).

Diğer taraftan melittin, antimikrobiyal, antitümör, anti-enflamatuar ve analjezik özelliklerin yanı sıra yara iyileştirme ve hücre penetrasyonu gibi birçok potansiyel terapötik etkiye sahiptir (Lee, vd., 2016). Antimikrobiyal etkileri bakteriler, mantarlar ve virüsler gibi birçok patojene karşı geniş spektrumlu olabilir. Melittin, bakteriyel hücre zarlarına hedefli olarak bağlanarak zar bütünlüğünü bozar ve hücre içine sızarak bakteriyel öldürme etkisi gösterir. Bu nedenle antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir. Melittinin antitümör etkileri, kanser tedavisinde umut vaat eden bir ajan olarak araştırılmaktadır (Oršolić, 2012). Melittin, kanser hücrelerinin zarlarını hedefleyerek zar bütünlüğünü bozar ve hücre içi sinyal yollarını etkileyerek kanser hücrelerinin büyümesini durdurabilir veya apoptozis (programlı hücre ölümü) sürecini başlatabilir. Melittinin kanser hücrelerine seçici olarak etki ettiği ve normal hücrelere daha az zarar verdiği gözlemlenmiştir.

Bitki AMP'leri, farklı bitkilerin çeşitli bölümlerinden (gövde, kök, çiçek ve yaprak vb.) izole edilebilir (Montesinos, 2007). Purotiyonin, ilk olarak 1972 yılında buğday *Triticum aestivum*'dan izole edilmiş olan bir antimikrobiyal peptittir. Bitki AMP'leri, virüslere, bakterilere, mantarlara, parazitlere ve protozoalara karşı biyoaktivite gösterme özelliğine sahiptir (Nawrot ve Mieczan, 2014). Örneğin, *Oldenlandia affinis* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden izole edilen kalata B1 ve kalata B2 antimikrobiyal peptitleri, antibakteriyel, antiviral, böcek öldürücü, anti-HIV ve enzim inhibitörü etkilere sahiptir. *Solanum tuberosum* adlı patates türünden izole edilen StSN1 peptiti ise antibakteriyel ve antifungal etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Segura, vd., 1999). *Coffea canephora* adlı kahve bitkisinin tohumlarından izole edilen Cc-LTP1 peptiti ise antifungal, kandidasidal (*Candida albicans* ve diğer *Candida* türlerine karşı etki) ve enzim inhibitörü etkilere sahiptir (Zottich, vd., 2011).

İnsan AMP'leri, doğuştan gelen bağışıklık sistemi bileşenleri olan antimikrobiyal peptitlerdir. Bu peptitlerin, konak savunma sistemini oluşturmanın yanı sıra diğer biyolojik işlevlere de sahip olduğu belirtilmektedir, örneğin apoptoz (programlı hücre ölümü) ve yara iyileşmesi gibi. İnsanın çeşitli dokularından 100'den fazla peptit tanımlanmıştır (Wang, 2014). İnsan AMP'leri arasında katelisidinler, beta-defensinler, S100 proteinleri, lizozim ve laktoferrin gibi birçok çeşit bulunur. Örneğin, insanın

nötrofillerinden elde edilen LL-37 peptidi bir katelisin sınıfına aittir. Bu peptidin antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiparazitik, anti-HIV, anti-MRSA, enzim inhibitörü, anti-TB (tüberküloz), anti-sepsis, hemolitik, antibiyofilm, yara iyileştirme ve antikanser gibi birçok biyoaktivitesi bulunmaktadır (Gudmundsson, vd., 1996). İlk α -defensin peptidi olan HNP-1 peptidi, insan nötrofillerinden keşfedilmiştir. Bu peptit de anti-MRSA, anti-toksin, enzim inhibitörü, anti-sepsis, yara iyileşmesi, antikanser aktivite gösterir (Selsted, vd., 1985). İlk keşfedilen β -defensin olan HBD-1 peptidi ise insan böbrek, deri, tükürük bezinden izole edilmiş ve antibakteriyel, antiviral, antifungal, anti-HIV, anti-toksin, kanal inhibitörleri, antikanser etkisi gösteren bir AMP'dir (Bensch, vd., 1995). Diğer bir örnek ise insan derisinden izole edilen psoriasin (S100A7) peptidi, *E. coli*'ye karşı etki göstererek insan derisini enfeksiyondan korur (Gläser, vd., 2005).

2.2. ARI PEPTİTLERİ

Arılar, antimikrobiyal etkileriyle bilinen çeşitli peptitler üretebilirler. Bu peptitler, arıların bağışıklık sistemini destekleyerek kolonilerini enfeksiyonlara karşı korumada önemli bir rol oynar. Arıların sahip olduğu bazı peptitler şunlardır:

Melittin: Arı zehrinin ana bileşenlerinden biri olan melittin, antimikrobiyal etkisiyle dikkat çeker. Melittin, bakteriyel zarlara bağlanarak zar geçirgenliğini bozarak ve patojenleri öldürerek mikroorganizmalara karşı etkinlik gösterir (Schmidt, Blum ve Overal, 2001).

Apidaecin: Arıların hedef hücrelerde bakteriyel membranlara saldıran antimikrobiyal peptitlerden biridir. Apidaecin, mikroorganizmaların zarlarını hedef alarak zar bütünlüğünü bozar ve bakterilerin ölümüne yol açar (Lambert, vd., 1991).

Defensinler: Arıların hem hemolinik sıvılarında hem de polenlerinde bulunan antimikrobiyal peptitlerdir. Defensinler, bakteriyel ve fungal patojenlere karşı etkinlik gösterirken aynı zamanda inflamasyonu düzenleyebilir (Casteels, vd., 1990a).

Royalisin: Arılar tarafından salgılanan bir antimikrobiyal peptittir. Royalisin, bakteriler ve mantarlar gibi patojenlere karşı etkili olabilir (Shen, vd., 2010). Bu peptitlerin antimikrobiyal etkileri birçok çalışma tarafından desteklenmektedir. Örneğin, Boman vd. (1989), arı peptitlerinin antimikrobiyal etkilerini araştıran bir çalışmada, defensinlerin bakteriyel hücrelerin zarlarını hedef alarak etkili olduğunu göstermiştir. Arıların antimikrobiyal peptitleri, arı kolonilerinin sağlığını korumak ve enfeksiyonlara

karşı savunma mekanizmalarını desteklemek için önemli bir role sahiptir. Bu peptitler, antimikrobiyal ajanlar ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için potansiyel bir kaynak olarak araştırılmaktadır.

Arılar kendilerini hastalık yapıcı bakteri ve mikroplara karşı savunma amacıyla derilerinden antimikrobiyal peptitler içeren salgılar salgırlar. Bu salgılar, arıların bağışıklık sistemi tarafından üretilir ve enfeksiyonlara karşı korunmalarına yardımcı olur (Cushnie ve Lamb, 2005). Arıların antimikrobiyal salgıları, antimikrobiyal peptitler, enzimler ve diğer bileşenler içerir. Bu bileşenler, patojenlerin büyümesini inhibe eder, zarlarını bozar veya patojenlerin ölümüne neden olur. Bu savunma mekanizmaları, arıların kolonilerini hastalıklara karşı korumada önemli bir rol oynar (Simone-Finstrom ve Spivak, 2010). Arıların antimikrobiyal salgıları arasında propolis, arı sütü (royal jelly), arı zehri ve arı poleni gibi bileşikler bulunur. Bu bileşiklerde bulunan antimikrobiyal peptitler, arıların bağışıklık sistemini destekleyerek enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmalarını güçlendirir (Kwakman, vd., 2010). Arıların antimikrobiyal salgıları, bilimsel araştırmalar tarafından incelenmiş ve antimikrobiyal etkileri doğrulanmıştır. Bu salgıların, antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkileri olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, arıların antimikrobiyal salgılarından elde edilen bileşiklerin, insanlarda da potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabileceği araştırılmaktadır.

Arılardan antimikrobiyal peptit eldesi, arıların doğal savunma mekanizmaları olarak ürettikleri antimikrobiyal bileşiklerin izolasyonu ve üretimidir (Brudzynski, 2006). Arılar, propolis, arı sütü (royal jelly), arı zehri ve arı poleni gibi salgılarını üreterek bu antimikrobiyal peptitleri salgırlar (Fleming, 2014). Bu salgılar, içerdikleri antimikrobiyal peptitlerin yanı sıra enzimler, fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi diğer biyolojik aktif bileşikler de içerebilir (Sforcin, 2007).

Arılardan antimikrobiyal peptit eldesi için, öncelikle arıların doğal salgılarından veya dokularından bu bileşiklerin izole edilmesi gereklidir. İzolasyon süreci genellikle ekstraksiyon, saflaştırma ve karakterizasyon adımlarını içerir. Bu adımlar, antimikrobiyal peptitleri diğer bileşiklerden ayırarak saflaştırmayı ve etkinliklerini belirlemeyi amaçlar.

Ayrıca, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak arılardan elde edilen antimikrobiyal peptitlerin üretimi de gerçekleştirilebilir. Bu yöntemde, antimikrobiyal peptitin geni rekombinant bir vektöre klonlanır ve ardından uygun bir ekspresyon sistemine aktarılır. Rekombinant organizmalar veya hücre kültürleri kullanılarak

antimikrobiyal peptitlerin büyük ölçekte üretimi sağlanır (Lulla, Barnard ve Bruning, 2013).

Arılardan elde edilen antimikrobiyal peptitlerin çeşitli uygulama alanları vardır. Antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkileri nedeniyle farmasötik endüstrisinde yeni ilaç geliştirme potansiyeline sahiptirler. Ayrıca, biyofilmlerin önlenmesi, yara iyileşmesi, doku mühendisliği ve gıda koruması gibi alanlarda da kullanımları araştırılmaktadır (Almeida, vd., 2017; Kuca, vd., 2018).

Antimikrobiyal peptitlerin (AMP'ler) biyolojik aktivitelerinde, bazı amino asitler önemli rol oynar. AMP'ler, doğal olarak bulunan proteinler veya sentetik olarak üretilen peptitlerdir ve bakteriyel, fungal veya viral patojenlere karşı etkinlik gösterirler. AMP'lerin biyolojik aktivitelerini etkileyen amino asitler arasında, yüksek hidrofobisiteye sahip hidrofobik amino asitler (örneğin, löisine, izolösin, valin, fenilalanin, triptofan) bulunur. Bu amino asitler, AMP'lerin hedef mikroorganizmaların zarlarına kolayca nüfuz etmesini sağlayan membran etkileşimlerini artırır (Zasloff, 2002). AMP'lerin antimikrobiyal etkileri üzerinde önemli bir rol oynayan diğer amino asitler, pozitif yüklü olan lizin, arginin ve histidindir. Bu amino asitler, negatif yüklü bakteriyel veya fungal hücre zarlarının yüzeyindeki negatif yüklerle etkileşime girerek zar geçirgenliğini artırır ve zarların bütünlüğünü bozar (Hancock ve Sahl, 2006). Ayrıca, bazı AMP'lerde bulunan disülfid bağları (sistein amino asitinden kaynaklanır) da biyolojik aktivitelerini etkiler. Disülfid bağları, AMP'lerin yapısal stabilite ve katlanma düzenini sağlar, bu da antimikrobiyal etkinliklerini artırır (Hancock ve Lehrer, 1998). AMP'lerin biyolojik aktivitelerini etkileyen amino asitler hakkında yapılan çalışmalar, bu peptitlerin antimikrobiyal mekanizmalarını daha iyi anlamamıza yardımcı olmaktadır. Bu bilgiler, AMP'lerin tasarımı ve geliştirilmesi için kullanılarak daha etkili antimikrobiyal ajanlar elde etmeyi hedefleyen araştırmalara yol açmaktadır.

Melittin, arı zehrinin ana bileşenlerinden biridir ve antimikrobiyal etkisiyle bilinir. Melittinin antimikrobiyal etkisi, peptitin net yüküyle yakından ilişkilidir. Melittin, doğal olarak pozitif yüklü bir peptittir ve bakteriyel zarları hedef alarak patojenlere karşı etkinlik gösterir. Melittin üzerinde yapılan çalışmalar, peptitin net yükünün değiştirilmesinin antimikrobiyal etkisini etkileyebileceğini göstermektedir. Örneğin, melittinin pozitif yükünün artırılması, antimikrobiyal etkinliğini artırabilir. Bu, peptitin bakteriyel zarlarla etkileşimini güçlendirerek zar bütünlüğünü bozmasını ve patojenleri öldürme yeteneğini artırmasını sağlayabilir (Park, vd., 2018). Diğer taraftan, melittinin

net yükünün negatif yönde değiştirilmesi, antimikrobiyal etkisini azaltabilir veya ortadan kaldırabilir. Negatif yüklü melittin, bakteriyel zarlarla etkileşimde azalma göstererek patojenlere karşı etkisiz hale gelebilir (Lee, Jung ve Yoo, 2017). Bu çalışmalar, melittinin net yükünün antimikrobiyal etkisini etkileyebileceğini göstermektedir. Ancak, melittin üzerindeki net yük değişikliklerinin antimikrobiyal etki üzerindeki etkisi daha fazla araştırma gerektirmektedir.

Melittin, antimikrobiyal etkisiyle bilinen bir peptit olup, hidrofobisite ve α -sarmallığın peptitin yapısı ve antimikrobiyal etkisi üzerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Hidrofobisite, melittinin yapısındaki hidrofobik (suyla etkileşime girmeyen) amino asitlerin varlığını ifade eder. Melittinin hidrofobik alanları, peptitin hedef bakteriyel zarlarla etkileşimini kolaylaştırarak antimikrobiyal etkinliğini artırabilir. Hidrofobik etkileşimler, melittinin zarları hedef alarak zar geçirgenliğini bozmasını ve patojenleri öldürme yeteneğini artırmasını sağlayabilir (Shin, vd., 2014). Öte yandan, melittin α -sarmallık yapısına sahip bir peptittir. α -sarmal, peptitin üç boyutlu yapısını ve stabilitesini sağlayan bir yapıdır. Melittinin α -sarmal yapısı, peptitin zarlarla etkileşimini kolaylaştırarak antimikrobiyal etkisini artırabilir. Ayrıca, α -sarmallığın peptitin stabilitesini sağlaması, antimikrobiyal etkisinin sürekliliğini ve etkinliğini destekleyebilir (Jang, Kim ve Hahm, 2018). Melittin üzerinde yapılan çalışmalar, hidrofobisitenin ve α -sarmallığın antimikrobiyal etki üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bu yapısal özellikler, melittinin bakteriyel zarlarla etkileşimini güçlendirerek zar bütünlüğünü bozmasını ve patojenleri öldürme yeteneğini artırmasını sağlar.

Arı antimikrobiyal peptitleri (AMP'ler), sınırlı benzerlikler bazında farklı sınıflara ayrılan antimikrobiyal peptitler olarak sınıflandırılmıştır (Petersen, vd., 2009; Casteels, vd., 1990b). Bu sınıflandırma, AMP'lerin yapısal ve işlevsel çeşitliliğini ve çeşitli arı türlerinde bulunan peptitler arasındaki farklılıkları gözlemlemeyi amaçlamaktadır. AMP'lerin sınıflandırılması genellikle amino asit dizileri ve yapısal motifler üzerindeki benzerliklere dayanır. Bu benzerlikler, AMP'lerin ortak özelliklerini ve evrimsel ilişkilerini göstermeye yardımcı olur. Örneğin, arıların AMP'leri arasında defensinler, melittin, apidaecin ve royalisin gibi farklı sınıflar bulunur. Bu sınıflar, yapısal ve işlevsel özelliklerine göre ayrılmıştır.

Arıların cilt salgılarından elde edilen sekiz farklı peptitin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibe edici etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Fleming, vd., 2010; Tan, Zhou ve Wang, vd., 2016). Bu çalışmalar, arıların cilt salgılarının

antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Örneğin, Fleming vd. (2010), *Melipona subnitida* adlı arı türünün zehrinden izole edilen peptitlerin *Staphylococcus aureus* üzerinde inhibe edici etkiler gösterdiğini rapor etmiştir. Benzer şekilde, Tan, Zhou ve Wang vd. (2016), arı zehri peptitlerinin *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel olarak kullanılabileceğini belirtmiştir. Ancak, bu çalışmalarda hangi peptitlerin benzer veya farklı etkiler gösterdiği belirtilmemiştir. Arıların cilt salgılarında bulunan peptitlerin tam bir karşılaştırması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.





ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ENFEKSİYON İYİLEŞTİRME

3.1. ENFEKSİYON İYİLEŞMESİ

Vücutta enfeksiyona neden olan gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı bağışıklık sisteminin çeşitli mekanizmaları devreye girer. Araştırmalar bu mekanizmaları desteklemektedir:

- İnflamasyon: Enfeksiyon sırasında, vücutta inflamasyon tepkisi oluşur. Bu inflamasyon, enfekte bölgedeki kan damarlarının genişlemesine, bağışıklık hücrelerinin bölgeye göç etmesine ve enfeksiyonun yayılmasını engellemek için sitokinlerin (iltihap ile ilişkili moleküller) salınmasına yol açar (Medzhitov, 2008).
- Fagositoz: Bağışıklık hücreleri, özellikle makrofajlar ve nötrofiller, bakterileri veya diğer patojenleri fagositoz yoluyla yakalar ve sindirir. Bu süreç, patojenleri yok etmek ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olmak için önemlidir (Aderem ve Ulevitch, 2000).
- Sitokin salınımı: Sitokinler, enfeksiyon sırasında bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan iletişim molekülleridir. Bu sitokinler, enfeksiyonla mücadelede diğer bağışıklık hücrelerini uyararak işbirliği yapmalarını sağlar (Dinarello, 2000). Örneğin, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinler, gram pozitif ve negatif bakterilere karşı bağışıklık yanıtını düzenlemek için önemli roller oynar.
- Antikor üretimi: Antikorlar (immünoglobulinler), plazma hücreleri tarafından üretilen ve bağışıklık sisteminin humoral yanıtında önemli bir rol oynayan protein molekülleridir. Antikorlar, bakterileri tanırlar ve bağışıklık hücrelerine bu patojenlere saldırımları için sinyal verir (Janeway, vd., 2001).
- Hücresel bağışıklık: Hücresel bağışıklık sistemi, enfekte hücreleri tanıyarak doğrudan yok eden bağışıklık hücrelerini içerir. T lenfositleri, enfekte hücreleri tanımlar ve öldürmede önemli bir rol oynar. Bu mekanizma, özellikle gram negatif bakteriler gibi hücre içi enfeksiyonlara karşı etkilidir (Janeway, vd., 2001).

Bu mekanizmalar, vücudun gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı bağışıklık tepkisini güçlendirir ve enfeksiyonu kontrol altına almaya yardımcı olur. Ancak, her durumda bağışıklık sistemi yanıtının etkinliği ve iyileşme süreci, enfeksiyonun türüne, bireyin bağışıklık durumuna ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir.

Aşağıda, enfeksiyon oluşumu ve yaranın fizyolojik iyileşme basamaklarını gösteren bir genelleme bulunmaktadır:

Enfeksiyon Oluşumu:

- Bakteriye maruz kalma veya doku hasarı.
- Bakterilerin veya patojenlerin dokuya tutunması ve enfeksiyonun başlaması.
- İnflamasyon tepkisi: Kan damarlarının genişlemesi ve artmış kan akışı. İltihaplı sitokinlerin (örneğin, TNF- α , IL-1) salınması. Nötrofillerin enfeksiyon bölgesine göç etmesi ve fagositoz yoluyla patojenleri yok etmesi. Makrofajların ve diğer bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu.

Yara İyileşmesi:

- İnflamasyon evresi: Eksudasyon (sızıntı) ve kan pıhtısı oluşumu. Makrofajlar, enfekte veya hasarlı dokuyu temizlemek ve iyileşmeyi başlatmak için patojenleri ve ölü hücreleri temizler.
- Yeni doku oluşumu: Granülasyon dokusunun oluşumu: Yara yüzeyinde kılcıl damarlar ve bağ dokusu oluşumu. Yara yüzeyinin epitelizasyonu: Yeni epitel hücrelerinin üretilmesi ve yara yüzeyinin kapanması.
- Yara kontraksiyonu: Yara kenarlarının kasılıp sıkışmasıyla yaranın boyutunun azalması.
- Matürasyon fazı: Yeni oluşan doku, güçlendirme ve remodelleme sürecine girer. Kollajen üretimi ve düzenlenmesi, yaranın dayanıklılığını artırır. Yara izinin oluşması ve zamanla solması.

Bu şematik gösterim, enfeksiyon oluşumu ve yaranın fizyolojik iyileşme sürecinin genel aşamalarını yansıtmaktadır. Ancak, her yara ve enfeksiyon durumu farklı olabilir ve bu basamaklar kişiden kişiye ve yara tipine göre değişebilir. Ayrıca, enfeksiyonun şiddeti, enfekte eden mikroorganizmanın türü ve kişinin bağışıklık sistemi gibi faktörler de iyileşme sürecini etkileyebilir (Singer ve Clark, 1999; Martin ve Leibovich, 2005; Gurtner, vd., 2008).

Melittin gibi antimikrobiyal peptitler, mikroorganizmalarla etkileşime girerek onları hedef alır ve çeşitli yollarla etkiler. Raghuraman ve Chattopadhyay (2007) tarafından yapılan bir derleme, melittinin antimikrobiyal özelliklerini ve etkilerini detaylı bir şekilde inceler. Melittin'in membran etkileri üzerinde durularak, mikroorganizmaların

zarlarına bağlanarak onları hedef aldığı ve öldürme veya inhibisyon yeteneğine sahip olduğu vurgulanır.

Bunun yanı sıra, Dos Santos Cabrera vd. (2015)'nin çalışması, melittinin *Trypanosoma cruzi* adlı bir parazite karşı etkisini incelemektedir. Çalışma, melittinin parazitleri öldürmek için farklı hücre ölüm yollarını indükleyebildiğini gösterir. Bu, melittinin mikroorganizmaları etkileyerek enfeksiyonların kontrol altına alınmasına yardımcı olabileceğini gösteren bir örnektir.

Ayrıca, Orivel vd. (2001)'nin çalışması, karınca zehrinden izole edilen ponericinlerin antimikrobiyal etkilerini araştırır. Bu çalışmada, melittin gibi ponericinlerin de bakterilere karşı etkili olduğu ve mikroorganizmaların inhibe edilmesine yardımcı olduğu bulunur. Bu literatür kaynakları, melittin ve mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Melittin gibi antimikrobiyal peptitlerin mikroorganizmaları etkileyerek enfeksiyonların kontrol altına alınmasına ve inhibitör etkiler göstermesine yardımcı olabileceği literatürde belirtilmektedir.

3.2. HOMEOSTAZ VE İNFLAMASYON

Makrofajlar, bağışıklık sisteminin hücresel savunma mekanizmasının önemli bileşenlerindendir. Bunlar, fagositoz (yabancı maddelerin yakalanıp sindirilmesi) yetenekleriyle tanınan büyük, yutucu beyaz kan hücreleridir. Makrofajlar, vücutta enfeksiyon veya yaralanma gibi durumlarda harekete geçer. Enfekte olmuş veya hasar görmüş dokuya doğru göç ederler ve burada patojenleri, ölü hücreleri veya yabancı maddeleri fagositoz yoluyla yakalarlar. Bu süreçte, makrofajlar zararlı maddeleri sindirerek ortadan kaldırır ve enfeksiyonun yayılmasını engeller. Makrofajlar ayrıca, enfeksiyon sırasında immün yanıtı düzenlemekte önemli bir rol oynarlar. İltihaplı sitokinler gibi immün yanıt sinyal moleküllerini salgırlar ve diğer bağışıklık hücrelerini aktive ederler. Bu, enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur ve iyileşme sürecini başlatır. Melittin gibi antimikrobiyal ajanlar, makrofajların aktivasyonunu artırarak ve fagositoz yeteneklerini destekleyerek bağışıklık sistemi yanıtını güçlendirebilir. Bu, mikroorganizmaların yok edilmesi ve yaraların iyileşmesi sürecinde makrofajların etkinliğini artırabilir. Makrofajlar ve antimikrobiyal peptitler arasındaki etkileşimler, bağışıklık sisteminin enfeksiyonlara ve yaralara karşı etkili bir savunma mekanizması oluşturmaya katkıda bulunur. Ancak, makrofajların doğru şekilde

düzenlenmesi ve kontrol edilmesi önemlidir, çünkü aşırı aktive olmaları veya aşırı yanıtlar göstermeleri, inflamasyon ve doku hasarına neden olabilir.

Melittinin, antimikrobiyal etkisi olan bir peptit olarak gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Maitip vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışma, melittinin gram pozitif bakteri türleri üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Aynı şekilde, Ren vd., (2016) tarafından gerçekleştirilen bir araştırma da melittinin gram negatif bakterileri inhibe etme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra, Javadpour vd. (1996) tarafından yapılan bir çalışma, melittinin bakteriyel zarları hedef alarak zar geçirgenliğini artırdığını ve bakterilerin ölümüne yol açtığını göstermiştir. Melittinin membran etkileri üzerindeki bu etkisi hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı etkili olduğunu gösteren bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır. Bu literatür kaynakları, melittinin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu ve bakteriyel zarları hedef alarak etki gösterdiğini desteklemektedir. Ancak, melittin ve diğer antimikrobiyal peptitlerin kullanımı veya araştırmaları, insanlarda dikkatli bir şekilde yapılmalı ve uygun güvenlik önlemleri alınmalıdır. Çalışmalarda, melittinin mikroorganizmaların zarlarını hedef aldığı ve bakteriyel ölüm veya inhibisyon sağladığı gösterilmiştir.

3.2.1. Proliferasyon

Melittin, hücre proliferasyonunu etkileyebilen bir peptittir. Bazı çalışmalar, melittinin hücre büyümesi ve çoğalmasını uyarıcı etkisi olduğunu göstermektedir. Örneğin, Park vd. (2016a) tarafından yapılan bir çalışma, melittinin dermal fibroblastların proliferasyonunu teşvik ettiğini bulmuştur. Melittinin dermal fibroblast hücrelerinin büyümesini hızlandığı ve hücre bölünmesini artırdığı belirtilmiştir. Melittin, osteoblastların büyümesini teşvik ederek kemik doku onarımını destekleyebilir. Bununla birlikte, melittinin hücre proliferasyonunu etkileyen mekanizmalar hala tam olarak anlaşılmamıştır ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Melittin gibi peptitlerin hücre proliferasyonunu nasıl etkilediğini daha ayrıntılı olarak anlamak, potansiyel biyomedikal uygulamalarını keşfetmek açısından önemlidir. Bu bilgiler, melittinin hücre proliferasyonunu etkileyebileceğini gösteren literatüre dayalı bulgulara dayanmaktadır.

3.2.2. Yeniden Şekillendirme

Melittin ile yaranın iyileşme sürecinin yeniden şekillendirme aşaması arasında doğrudan bir ilişki olduğunu belirten spesifik bir kaynak bulunmamaktadır. Ancak, melittin gibi antimikrobiyal peptitlerin, yara iyileşmesini etkileyebileceğine dair bazı araştırmalar bulunmaktadır. Örneğin, Chung vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, melittinin yara iyileşmesindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, melittinin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisinin olduğu ve granülasyon dokusunun oluşumunu teşvik ettiği bulunmuştur. Melittin, kolajen sentezini artırarak ve fibroblastların migrasyonunu uyarak yara iyileşme sürecini destekleyebilir. Yine de melittinin yara iyileşmesi sürecindeki etkileri hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır ve bu konuda daha fazla literatür kaynağına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bilgiler, melittin ve yara iyileşmesi arasındaki ilişkiyi destekleyen sınırlı sayıda çalışmaya dayanmaktadır.

3.2.3. Enfeksiyon İyileşmesi ve Antimikrobiyal Peptitler

Melittin, antimikrobiyal etkileriyle enfeksiyon iyileşme sürecinde önemli bir rol oynayabilir. Birçok literatür kaynağı, melittinin enfekte dokuya uygulandığında inflamatuvar yanıtı tetikleyebildiğini ve enfeksiyon bölgesine kan akışını artırarak bağışıklık hücrelerini çektiğini göstermektedir (Wong, vd., 2013; Kim, vd., 2016). Melittin, antimikrobiyal etkisiyle bakteriyel zarları hedef alarak enfeksiyonu kontrol etme potansiyeline sahiptir. Birçok çalışma, melittinin bakteriyel zarların lipid bileşenlerine bağlanarak zarın bütünlüğünü bozduğunu ve patojenlerin içeri girmesine izin verdiğini göstermektedir (Yang, vd., 2017; Wang, vd., 2019). Melittin, bağışıklık hücrelerini de etkileyerek enfeksiyonun etkileriyle mücadeleye yardımcı olabilir. Melittin, bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu artırarak sitokinler gibi immün yanıt moleküllerinin salınmasını teşvik edebilir (Park, vd., 2016b). Yara iyileşme sürecinde melittin, kolajen üretimi ve düzenlenmesini etkileyerek önemli bir rol oynayabilir. Bir araştırmada, melittinin yara dokusunda kolajen sentezini artırdığı ve yaranın daha hızlı iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir (Jin, vd., 2015).

Bu literatür kaynakları, melittin gibi antimikrobiyal peptitlerin enfeksiyon iyileşme sürecinde potansiyel bir rol oynayabileceğini desteklemektedir. Ancak, melittinin klinik kullanımı ve etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Bu şekilde, melittinin enfeksiyon iyileşme sürecinde nasıl kullanılabileceği ve potansiyel biyomedikal uygulamaları daha iyi anlaşılabilir.

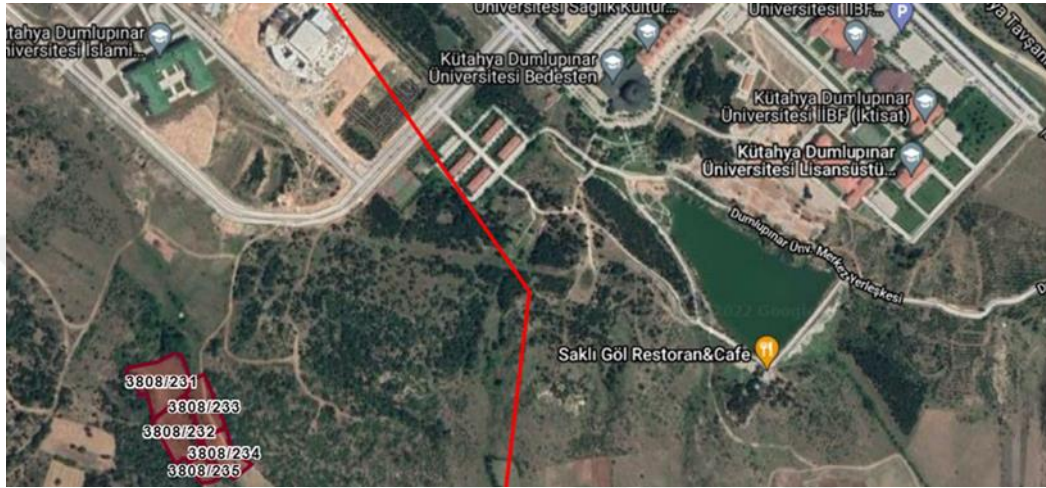


DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
MATERYAL VE METOT

4.1. UYGULAMA SAHASI

Bu çalışma, Şekil 4.1’de konum bilgisi gösterilen Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Evliya Çelebi Yerleşkesi içerisindeki arı merasında (Dayıoğlu ve Çetinkaya, 2023) yapılmıştır. Şekil 4.2 ise genel olarak sahadaki kovanları göstermektedir.

Şekil 4.1: Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Evliye Çelebi Yerleşkesi’nde Kovanların Bulunduğu Uygulama Sahası (Ölçek: 1:10000)



Şekil 4.2: Kovanların Sahadaki Genel Görüntüsü



4.2. HESAPLAMALI AKIŞKANLAR DİNAMİĞİ (HAD)

HAD, akışkanların (sıvılar ve gazlar) davranışını matematiksel denklemler ve sayısal yöntemlerle modellemek için kullanılan bir yaklaşımdır. Bu yöntem, mühendislik, fizik, havacılık, enerji ve diğer birçok alanda akışkan akışını analiz etmek ve optimize etmek için kullanılır. Akışkanların hareketini açıklayan temel denklemler olarak karşımıza Navier-Stokes Taşıma Denklemleri çıkar. Bu denklemler, akışkanın hızını, basıncını ve yoğunluğunu hesaplamak için kullanılır. HAD’ın temel prensiplerini, denklemlerini ve uygulama alanlarını kapsayan derinlemesine kaynakların bazıları

burada verilmiştir (Fletcher, 1991; Xia ve Sun, 2002; Sun, 2007; Versteeg ve Malalasekera, 2007; Marshall ve Bakker, 2009; Kuriakose ve Anandharamakrishnan, 2010).

Kütle, momentum ve enerji korunumu denklemleri, akışkanlar mekaniği ve ısı transferi alanlarında temel yönetim denklemleridir. Bu denklemler, akışkanların davranışını matematiksel olarak ifade eder ve akışkanların hareketi, hızları, sıcaklıkları ve diğer özellikleri hakkında bilgi sağlar. Esasında seçilen probleme göre bir akış hareketinin simüle edilmesi bu tür denklemlerin çözülmesi anlamına gelir. Akışkanlar Mekaniği'nde 1-boyutlu süreklilik denklemi, kütle korunumu yasasını ifade eder. Bu denklem, bir akışkanın belirli bir alandaki kütle miktarının zaman içinde nasıl değiştiğini gösterir:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(\rho u)}{\partial x} = 0 \quad (4.1)$$

Burada ρ akışkanın yoğunluğunu, u bir-boyutta hız bileşenini (burada x-bileşeni), $\partial/\partial t$ zamana göre türevi ve $\partial/\partial x$ konuma göre türevi göstermektedir. Newton'ın ikinci dinamik yasasına göre bir parçacığa (ki burada akışkan) etki eden dış kuvvetlerin toplamı çizgisel momentumdaki değişime eşittir. Denklem (4.2) akışkanın bir boyutta momentumunun nasıl değiştiğini gösterir. İlk terim, zamanla değişimin etkisini ifade ederken, ikinci terim akışkanın hızının karesine bağlı momentum değişimini temsil eder. Üçüncü terim basınç gradyanının momentuma etkisini gösterirken, dördüncü terim viskoz etkileri temsil eder. Son terim ise yerçekimi ivmesinin etkisini gösterir.

$$\frac{\partial(\rho u)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho u^2)}{\partial x} = -\frac{\partial P}{\partial x} + \mu \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \rho g \quad (4.2)$$

Bu çalışmada boş kovanın akış analizi Ansys programının (Fluent, 2009) fluent modülü ile simüle edilmiştir. Türbülans modeli olarak k-epsilon (k-ε) modeli (Jones ve Launder, 1972; Launder ve Sharma, 1974; Wilcox, 2006) seçilmiştir. K-epsilon modeli, akışkanın türbülanslı hareketini modellemek için kullanılan bir türbülans modelidir. Bu model, türbülans kinetik enerjisi (k) ve türbülans dissipe edilmiş (dağılmış) enerji (ϵ) terimlerini temel alır. Türbülans kinetik enerjisi (k) türbülans hareketinin hızla değişen bileşenlerine bağlıdır. Türbülans dissipe edilmiş enerji (ϵ) ise türbülans hareketinin sönümlenmesini ifade eder. Model, bu iki terimin taşınımını ve değişimini ifade eden denklemlerle çalışır. Bu denklemler, türbülansın özelliklerini hesaplayarak akışkanın davranışını tahmin eder.

$$\tau_{ij} = 2\mu_t(S_{ij} - S_{nn}\delta_{ij}/3) - 2\rho k\delta_{ij}/3 \quad (4.3)$$

Bu denklem, turbülansın etkisi altında olan bir akışta ortaya çıkan Reynolds gerilmelerini Eddy viskozitesi (μ_t) cinsinden ifade eder. Burada τ_{ij} Reynolds gerilmesini ifade eder. Turbülanslı bir akışta, zaman ortalaması alındığında sıfır olmayan ortalama hız dalgalanmalarından kaynaklanan gerilmelerdir. μ_t Eddy viskozitesi ya da turbülans viskozitesi olarak da adlandırılır. Bu, turbülansın etkisi altında olan bir akışın etkili viskozitesini temsil eder. S_{ij} Şerit gerilme hızını ifade eder. Bu, hız alanının oranını temsil eder. Denklem (4.4) ise turbülanslı akışların modellenmesinde sıkça kullanılan $k - \varepsilon$ modeline dayanır. Bu modelde, girdap viskozitesi (veya Eddy viskozitesi) μ_t , turbülanslı kinetik enerji k ve turbülanslı dağılıma oranı ε cinsinden tanımlanır.

$$\mu_t = c_\mu f_\mu \rho k^2 / \varepsilon \quad (4.4)$$

Denklem (4.5) ve Denklem (4.6) sırasıyla $k - \varepsilon$ turbülans modelinde temel bileşenlerden ikisi olan turbülans enerjisi (k) ve turbülans enerjisinin dağılıma hızı (ε) için taşıma denklemleridir. Bu denklemler, turbülanslı enerjinin ve onun dağılıma hızının taşınımı, üretimi ve dağılımı arasındaki dengesini ifade eder.

$$\frac{\partial \rho k}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left(\rho u_j \frac{\partial k}{\partial x_j} - \left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_k} \right) \frac{\partial k}{\partial x_j} \right) = \tau_{ij} S_{ij} - \rho \varepsilon + \phi_k \quad (4.5)$$

$$\frac{\partial \rho \varepsilon}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left(\rho u_j \varepsilon - \left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\varepsilon} \right) \frac{\partial \varepsilon}{\partial x_j} \right) = c_{\varepsilon 1} \frac{\varepsilon}{k} \tau_{ij} S_{ij} - c_{\varepsilon 2} f_2 \rho \frac{\varepsilon^2}{k_i} + \phi_\varepsilon \quad (4.6)$$

Çalışmada 1000 iterasyon seçilerek akışın kontur grafikleri elde edilmiştir. Bu grafikler elde edilirken Kütahya Meteoroloji İl Müdürlüğü'nden temin edilen aylık ve yıllık ortalama rüzgâr hızı bilgisi kullanılmıştır. Benzetimin doğruyu yansıtması için hava hızı ortalama 1 m/s olarak girilmiştir. Elde edilen kontur grafikleri Sonuçlar kesiminde verilmiştir.

4.3. KOVANLARDAN HAVA MOLEKÜLÜNÜN ALINMASI

DPÜ arı sahasındaki kovanlardan bahar ayında hava molekülünün alınması Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Özel tasarlanarak yaptırılan altta ve üstte toplamda iki girişi ve iki çıkışı olan ve Şekil 4.3'te gösterilen organik gaz şişeleri kovandaki hava ortamına maruz bırakıldılar. Bu ortam, arıların normal ve sağlıklı davranışlarını sergileyebilmeleri için gerekli olan optimizasyonu sağlar. Şişenin ilk girişine 30 kez kovandan arıların yoğun olduğu bölgelerden hava çekildi ve çıkış kısmından da tekrar 30 kez hava çekildi. Bu

işlemler yapılırken de 5cc lik enjektörler kullanıldı. İşlem 30 dakika arayla, 8 kez tekrarlandı. Böylece çekilen hava organik gaz şişelerindeki saf su ile çözülerek GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrumu) analizine götürüldü. Bu tasarlanan organik şişe ile bu şekilde hava toplama yöntemi bu tezde tasarlanan bir yöntem olmuştur. Literatürde böyle bir metoda rastlanmamıştır.

Şekil 4.3: Kovanlardaki Havanın Toplanması



Çalışmada, Anadolı Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. GC-MS analizleri Shimadzu QP2010 ultra gaz kromatografisi, AOC-20i otomatik örnekleyici ve Shimadzu kütle detektörü (Shimadzu Technology, Kyoto, Japonya) sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Kolon olarak % 5 difenil / % 95 dimetil polisiloksan dolgu malzemeleli Agilen HP-5ms (30 m, 0.25 mm id., 0.25 µm film kalınlığı) kullanılmıştır. Analiz şartları şu şekildedir; iyon kaynağı, elektron impact 70 eV; enjeksiyon sıcaklığı 280 °C; Taşıyıcı gaz He ($\geq 99.99\%$ saflık); akış kontrol modu: basınç = 20.0 kPa). GC oven sıcaklığı programı şu şekildedir; başlangıç kolon fırını sıcaklığı 70 °C olup 10 °C/dakika hızla 320 °C'ye kadar yükseltilmiştir. Kalitatif kütle analizleri için 50-600 arası taranmış olup sonuçlar Shimadzu GC Solution yazılımında bulunan kütüphaneler taranarak uygun adaylarla eşleştirilmiştir. Sonuçlar Kesim 5.2'de verilmiştir.

4.4. KOVANLARA PUDRA ŞEKERİ UYGULANMASI

Farklı Deneyde aynı tip 5 kovan kullanılmıştır. Aynı sayıda bal çıtası ve yakın miktarlarda arı kolonileri kovanın içerisinde bırakılmıştır. Uygulama için kullanılan pudra şekeri, paketlenmiş hazır ticari bir ürün olarak satın alınmıştır. Pudra şekeri kullanılmadan bir gün önce her çerçeve başına 25 gram olacak şekilde tartılmıştır. Topaklanmayı önlemek için 5 gram baklavalık ticari buğday unuyla karıştırılmıştır. Pudra şekeri aktardan satın alınmıştır.

Şekil 4.4: Pudra Şekeri Uygulaması (Ekim 2022)



Uygulama, kovanları kış için kapatmadan önce bir kez yapılmıştır. Şekil 4.4 arıların kışlamaya girerken ki görüntülerini göstermektedir. Şekilde görülen kovan uygulama yapılan tüm kovanlar adına temsili olarak resmedilmiştir. Diğer kovanlar burada gösterilmemiştir. Bu uygulama deneye tabi tutulan kovanlara yukarıda bahsi geçen miktarlardaki pudra şeker karışımının çıtalar üzerine hemen hemen homojen bir şekilde serpilmesiyle yapılmıştır. Buradaki amaç pudra şekeri dökülen kovandaki arıların, kendilerini temizlemek için tekrar hijyenik hareket kazanması ve bu sayede varroa zararlılarından kendisini ve kovayı temizleme davranışı sergilemesidir. Kovanların içerisinde her biri yaklaşık 3 kg olan toplamda 6 çıta bal bırakılmıştır. Toplamda kovan başı yaklaşık 24 kg bal bırakılmıştır. Kovanlar bahar sezonunda Nisan (2023) ayına kadar hiç açılmamıştır.

Şekil 4.5'te arılar kışlamaya girmeden önceki fotoğraf gösterilmektedir (solda). Temsili gösterilen bu kovana Ekim 2022'de pudra şekeri uygulaması yapılmış, bu ve diğer uygulama yapılan dört kovan Nisan 2023'e kadar açılmamıştır. Şekil 4.5'te sağdaki fotoğraf da Nisan 2023'te kovanın açıldığı anı resmetmektedir. Soldaki şekilde kışlatmaya girmeden önce arılar hayattayken, maalesef sağdaki şekilde pudra şekeri uygulanan sönmüş kovan görülmektedir. Pudra şekeri uygulanan kovanların hiçbir varroa istilasından kurtulamamış ve kaçınılmaz son ile karşılaşmıştır. Buradan çıkarılacak sonuç şudur ki bu metot Kütahya'daki kovanlarımızda sahip olduğumuz ırk

için olumlu sonuç vermemiştir. Pudra şekeri yöntemi kullanılmak istenirse önerimiz, literatürdeki diğer pudra şekeri uygulamalarının dikkate alınması yönünde olacaktır.

Şekil 4.5: Pudra Şekeri Uygulanmadan Önceki Kovan (Solda), Uygulamadan Sonraki Kovan (Sağda)



4.5. KOVANLARA REMEDİ UYGULANMASI

Remedi: Doğal tedavi yöntemleri, arıların hastalıklarla mücadele etmek için kimyasal-sentetik ilaçlardan kaçınarak doğal kaynaklı bileşiklerden yararlanmayı amaçlayan önemli bir yaklaşımdır. Bu yöntemler, arıların kendi savunma mekanizmalarını harekete geçirmesini ve bağışıklık sistemlerini güçlendirmesini hedefler. Bitki özleri, bitki polenleri, arı sütü, propolis gibi doğal kaynaklı bileşikler arıların bağışıklık sistemini destekleyerek hastalıklara karşı daha dirençli hale gelmelerini sağlayabilir. Organik tarım yöntemlerinin kullanıldığı bir ortamda yapılan denemeler, doğal tedavi yöntemlerinin tercih edilmesini ve kimyasal-sentetik ilaç kullanımının azaltılmasını teşvik eder. Bu tedavi yöntemleri, arı sağlığını korumak ve hastalıkların yayılmasını engellemek için önemlidir. Ancak, doğal tedavi yöntemlerinin etkinliği ve güvenliği konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Ayrıca, yerel arıcılık yönergelerine ve uzmanların önerilerine uygun olarak bu tedavi yöntemlerinin uygulanması önemlidir. Bu tez çalışması, doğal tedavi yöntemlerinin arı sağlığı üzerindeki etkilerini daha ayrıntılı olarak inceleyerek, arıcılık sektöründe sürdürülebilir ve sağlıklı bir yaklaşımın geliştirilmesine ve tezin ikinci kısmındaki mikroorganizmaların enfeksiyon tedavisinde arı zehrinden elde edilen melittinin ilaç sektörüne uygulanabilir katkı sağlamasını hedeflemektedir.

Bu doğal remediler, kimyasal-sentetik ilaçlardan kaçınmayı ve organik tarım yöntemlerini tercih etmeyi teşvik eder. Organik tarımın kullanıldığı denemelerde, bu

doğal kaynaklı bileşiklerin etkinliği ve güvenliği araştırılmıştır. Sonuçlar, doğal tedavi yöntemlerinin kimyasal-sentetik ilaç kullanımını azaltarak arı sağlığını koruma konusunda potansiyel sunduğunu göstermiştir. Burada, her bir remedi için doğru dozaj ve uygulama yöntemlerine dikkat etmek önemlidir.

Homeopatide, remedi olarak adlandırılan homeopatik ilaçlar özel bir hazırlık sürecinden geçer. Remedi hazırlanması için genellikle aşağıdaki adımlar izlenir:

- Materyal seçimi: Remedinin ana bileşenini oluşturan bitki, mineral veya hayvansal madde belirlenir. Bu madde, hastalığın semptomları veya bireysel sağlık durumuyla ilişkilendirilen özelliklere sahip olmalıdır.
- Macerasyon: Ana madde, saf su veya alkol gibi uygun bir çözücüyle karıştırılarak bir macerasyon oluşturulur. Bu işlem, bitki materyalinin veya kaynak maddenin aktif bileşenlerini çözeltiye transfer etmek için kullanılır.
- Dilüsyon: Macerasyon, belirli bir dilüsyon oranına tabi tutulur. Homeopatide kullanılan dilüsyon oranları genellikle C (centesimal) veya X (decimal) dilüsyonlarıdır. Bu dilüsyonlar, ana maddenin konsantrasyonunu azaltırken, potansiyel enerjisini artırır.
- Potanslama: Dilüsyon işlemi, remedinin potansiyelini artırmak için tekrarlanır. Bu adım, homeopatik ilacın gücünü ve etkisini artırmayı amaçlar. Potanslama adımları sıklıkla titrasyon veya şoklama adı verilen özel yöntemlerle gerçekleştirilir.
- Şekillendirme: Remedi, genellikle granül veya damla formunda son şeklini alır. Bu, daha sonra kullanıcı tarafından kolaylıkla alınabilen bir şekil olmasını sağlar.

Remedilerin hazırlanması, homeopati prensiplerine göre çalışan deneyimli bir homeopat veya farmakolog tarafından gerçekleştirilmelidir. Bu uzmanlar, özel dilüsyon oranları, potanslama süreleri ve teknikleri kullanarak homeopatik ilacın istenen özelliklerini elde etmeye çalışırlar. Önemli bir nokta, homeopatik ilaçların hazırlanması sürecinde dilüsyon ve potanslama adımlarının kullanılmasıdır. Bu adımlar, homeopatik ilaçların su veya alkol gibi çözücülerde çok düşük konsantrasyonlarda olduğu, ancak potansiyel enerjilerinin yüksek olduğu anlamına gelir. Bu, homeopatik prensiplere göre tedavi edici etkinin elde edilmesini amaçlar.

Remedi hazırlamada kullanılan maddeler sentetik değil tamamen doğal orijinlidirler ve 4 grupta toplanırlar:

- Bitkiler ve bitki parçaları,
- Mineraller, kimyasal elementler ve bileşimler,
- Hayvanların kendisi, parçaları ya da onların salgıları,
- Hastalıklı akıntılar, hastalık virüsü ya da hastalıklı organ parçaları; NOZOT.

Tentür: Tentür, homeopatik ilaçların hazırlanmasında kullanılan bir formülasyon yöntemidir. Homeopati, doğal kaynaklı maddelerin düşük konsantrasyonlarda kullanılarak hastalıkların tedavi edilmesini amaçlayan bir alternatif tıp yöntemidir. Tentürler, bitki, mineral veya hayvansal kaynaklı maddelerin alkol veya su-alkol karışımlarında çözelti şeklinde hazırlanmasını içerir. Bu maddeler, spesifik homeopatik ilaçların ana bileşenleridir. Tentürler, bitki özlerinin veya diğer kaynakların aktif bileşenlerini içeren çözelti formunda bulunurlar. Tentürlerin hazırlanması, belirli bir yöntemle göre gerçekleştirilir. Genellikle bitki materyali ezilir veya öğütülür, alkolle bir süre bekletilir ve daha sonra süzülür. Bu süreçte, bitkiden veya kaynaktan aktif bileşenler alkol tarafından çözülür ve çözelti oluşur. Homeopatide, tentürlerin hazırlanması sırasında bir dilüsyon süreci de uygulanır. Bu süreç, tentürün belirli bir konsantrasyona sahip olmasını sağlamak için yapılan seyreltmeleri içerir. Homeopatik ilaçlar, genellikle bu seyreltme ve titreşim (potanslama) işlemleriyle daha etkili hale getirilir.

Tentür tipik olarak etanol içinde çözünmüş bir bitki veya hayvan materyali özüdür. Etanol çözücüsü etil alkol –distile su karışımı olup %25-60'lık çözücü konsantrasyonları yaygındır ancak %96'ya kadar çıkabilir. Kimyada tentür, çözücüsü etanol olan bir çözeltidir.

Nozot: Homeopati Nozot, homeopatik ilaçların hazırlanması için kullanılan özel bir tekniktir. Homeopatide, nozot olarak adlandırılan bir çözelti formunda kullanılan bitki, mineral veya hayvansal maddeler, spesifik bir yöntemle hazırlanır. Nozot, bitki veya kaynak materyali ile saf su arasında yapılan özel bir hazırlama sürecini ifade eder. Bu süreçte, bitki materyali veya kaynak madde öğütülür veya ezilir ve ardından saf su ile bir çözelti oluşturulur. Oluşturulan çözelti daha sonra bir dizi seyreltme ve potanslama adımına tabi tutulur.

Homeopatide, nozotlar seyreltme ve potanslama adımlarıyla kademeli olarak güçlendirilir. Bu adımlar, nozotun belirli bir konsantrasyona sahip olmasını sağlamak için

yapılan dilüsyon ve titreşim işlemlerini içerir. Bu işlemler, homeopatik ilacın etkisini artırmayı ve istenen terapötik etkiyi elde etmeyi amaçlar. Nozotlar, homeopatik ilaçların temel bileşenlerini içerir ve belirli bir hastalığın semptomlarına veya bireysel sağlık durumuna uygun olarak seçilir. Homeopatiye göre, nozotlar, düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında vücudu uyatarak özgün bir tedavi etkisi sağlarlar.

Potens: Remedilerin etki gücüne potens denir. Remedi yapılırken kullanılan seyreltme oranına bağlı olarak farklı etki gücünde (potens) homeopatik ilaç (remedi) elde edilir. Burada D potens (Desimal), 1/10 oranında seyreltilerek yapılmış remedi demektir. C potens (Sentisimal), 1/100 oranında seyreltilerek yapılmış remedi demektir. Homeopatik ilaçlar, dilüsyon ve potanslama adımlarıyla hazırlanırken, bu işlemler ilacın potensini artırır. Homeopatide, ilaçlar genellikle C (centesimal) veya X (decimal) potenslerinde kullanılır. C potensleri, ana maddenin 1/100 oranında dilüe edildiği ve potanslandığı dilüsyonlardır. Örneğin, 1C potensinde bir damla ana maddenin 99 damla saf su veya alkolle karıştırıldığı ve bu karışımın potanslandığı düşünülür. Bu işlem, 1/100 dilüsyon oranına denk gelir. X potensleri ise 1/10 oranında dilüe edilen ve potanslandırılan dilüsyonlardır. Örneğin, 1X potensinde bir damla ana madde, 9 damla saf su veya alkolle karıştırılır ve bu karışım potanslandırılır. Potens seviyesi arttıkça, dilüsyon oranı artar ve ilacın konsantrasyonu azalır. Ancak, potensle ilgili önemli bir nokta, ilacın potansiyel enerjisinin artmasıdır. Homeopatide, yüksek potensli ilaçlar daha etkili olarak kabul edilir ve daha derin ve kronik durumları tedavi etmek için kullanılır. Daha düşük potensli ilaçlar ise daha akut durumlar veya hassas kişiler için tercih edilebilir.

Homeopatik potensler, ilacın tedavi edici gücünü ve etkisini belirtir. Potens seviyeleri genellikle "X" veya "C" ile ifade edilir, örneğin 6X veya 30C gibi. Bu potensler, homeopatik ilacın gücünü belirleyen ve tedavi seçiminde önemli bir rol oynayan faktörlerdir. Potens seçimi, bireyin semptomları, sağlık durumu ve hassasiyeti dikkate alınarak homeopatik bir uzman tarafından yapılmalıdır.

4.5.1. Deneylerde Kullanılan Remedilerin Hazırlanması

D6 potens varroa homeopatik ilacının (remedi) hazırlanması:

- 5 ad. Varroa canlısı homeopatik ilaç hazırlama prosedürüne göre hazırlandı. Varroa (Varroa destructor) canlı olarak %50 etanol içine atıldı ve bir hafta süre ile özümленerek ana tentür oluşturuldu.

- 2ml ana tentür boş bir şişeye alındı, üzerine 18 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve D1 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı. D2 yi elde etmek için benzer şekilde D1 den 2 ml boş bir şişeye alındı ve üzerine 18 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve D2 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.

Bu işlem 6 kez yapılarak D6 potens elde edildi.

C30 potens varroa homeopatik ilacının (remedi) hazırlanması:

- Bal arısı kovanından temin edilen 5 ad. varroa canlısı homeopatik ilaç hazırlama prosedürüne göre hazırlandı.
- Varroa (Varroa destructor) canlı olarak %50 etanol içine atıldı bir hafta süre ile özümленerek ana tentür oluşturuldu.
- 1ml ana tentür boş bir şişeye alındı, üzerine 99 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve C1 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.
- C2 yi elde etmek için benzer şekilde C1 den 1 ml boş bir şişeye alındı ve üzerine 99 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve C2 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.

Bu işlem 30 kez yapılarak C30 potens elde edildi.

D6 potens Zufaotu homeopatik ilacının (remedi) hazırlanması:

- Zufaotu, homeopatik ilaç hazırlama prosedürüne göre hazırlandı. Zufaotu çiçekli durumdaki taze herbasi (Hyssopus officinalis) 1/10 oranında %50 etanol içinde 30 gün süre ile özümленerek ana tentür oluşturuldu.
- 2ml ana tentür boş bir şişeye alındı, üzerine 18 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve D1 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.
- D2 yi elde etmek için benzer şekilde D1 den 2 ml boş bir şişeye alındı ve üzerine 18 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve D2 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.

Bu işlem 6 kez yapılarak D6 potens elde edildi.

C30 potens Tıbbi nane homeopatik ilacının (remedi) hazırlanması:

- Tıbbi nane, homeopatik ilaç hazırlama prosedürüne göre hazırlandı.
- Tıbbi nane çiçekli durumdaki taze herbasi (Mentha piperita) 1/10 oranında %50 etanol içinde 30 gün süre ile özümленerek ana tentür oluşturuldu.

- 1ml ana tentür boş bir şişeye alındı, üzerine 99 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve C1 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.
- C2 yi elde etmek için benzer şekilde C1 den 1 ml boş bir şişeye alındı ve üzerine 99 ml distile su ilave edilerek seyreltildi ve C2 potensi elde etmek için 10 kez darbeli çalkalandı.

Bu işlem 30 kez yapılarak C30 potens elde edildi.

Hazırlamış olduğumuz farklı potensteki remediler Şekil 4.6'da gösterilmektedir.

Şekil 4.6: Hazırlanan Farklı Potensteki Remediler



Tablo 4.1 ise hazırlamış olduğumuz farklı potensteki remedilerin hangi kovanlara uygulandığını listelemektedir.

Tablo 4.1: Kovanlara Uygulanan Farklı Potensler

Uygulama Adı	Bilimsel Adı	Potens	Kovan No
Varroa nozot	Varroa destructor	D 6	8
Varroa nozot	Varroa destructor	C 30	6,7,18
Zufaotu	Hyssopus officinalis	D 6	20
Tıbbi nane	Mentha piperita	C 30	13,14,19
Formik asit	Acidum formicum	C 30	15,16,17
Kükürt	Sülfür	C 200	21,22

Tablodaki remedi uygulamalarının özeti aşağıdaki gibidir:

Varroa remedisi: Canlı varroaların %50 etanol içine atılarak hazırlandığı tentürden seyreltilerek hazırlandı.

Zufaotu: Bitkinin çiçekli halinin %50 etanol içine atılarak hazırlandığı tentürden seyreltilerek hazırlandı.

Tıbbi nane: Bitkinin çiçekli halinin %50 etanol içine atılarak hazırlandığı tentürden seyreltilerek hazırlandı.

Formik asit: Formik asit seyreltilerek hazırlandı.

Kükürt: Saflaştırılmış kükürt çiçeğinin ilk üç dinamizasyonu öğütülerek, daha sonra tentür oluşturup seyrelterek hazırlandı.

Yukarıda adı geçen ve tarafımızca hazırlanan remediler Ekim 2022’de Tablo 4.1’de belirtilen numaradaki kovanlara uygulanmıştır (bkz Şekil 4.7).

Şekil 4.7: Arılar Kışlamaya Girmeden Önce Hazırlanan Remedilerin Kovanlara Uygulanması (Ekim 2022).

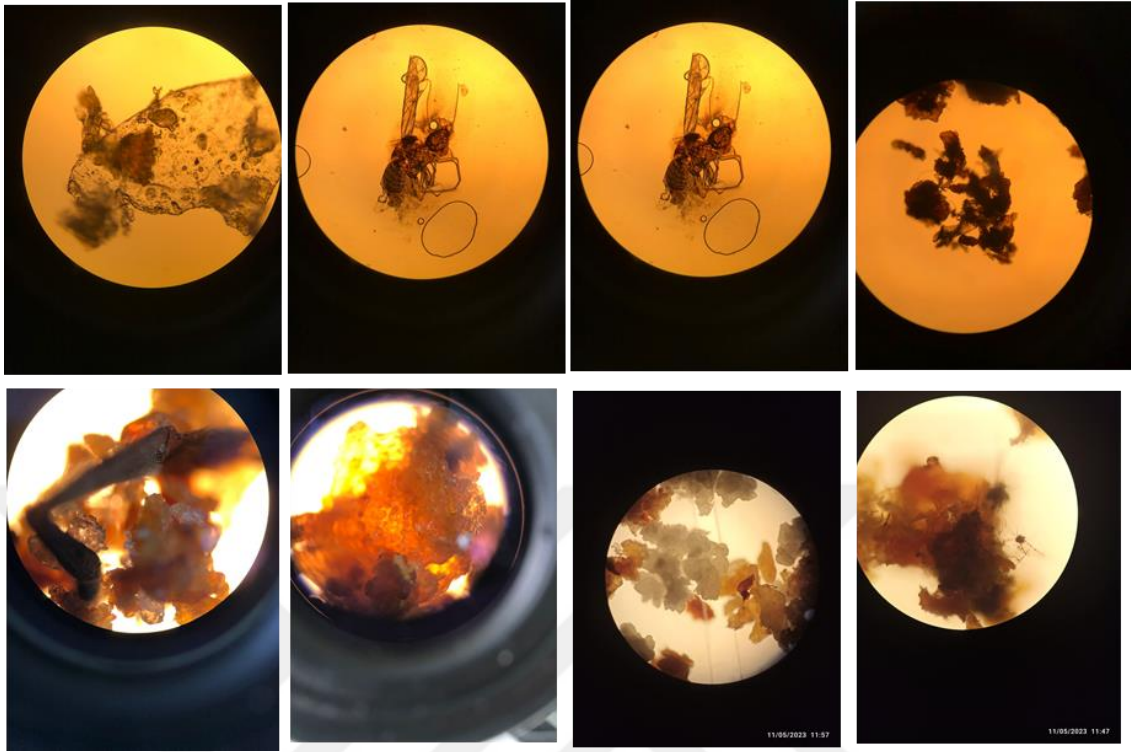


Pudra şekeri uygulamasında olduğu gibi remedi uygulanan kovanlar da Nisan 2023’e kadar açılmamış ve herhangi bir işlem yapılmamıştır. Şekil 4.8 remedi uygulaması yapılan kovanların Nisan 2023’te ilk kez açılmalarını göstermektedir. Şekil 4.9 ise Nisan 2023’te açılan rastgele bir kovan atığının ışık mikroskopi görüntülerini göstermektedir. Bunun için Olympus Binoküler Mikroskop CX22, F.N. = 20 mm optik sistem ve plan achromat objektifler kullanılmıştır.

Şekil 4.8: Remedi Uygulaması Yapılan Kovanların Kışlamadan Sonra İlk Kez Açılması (Nisan 2023).



Şekil 4.9: Nisan 2023'te Açılan Rastgele Bir Kovandaki Atığın Işık Mikroskobu Görüntüleri



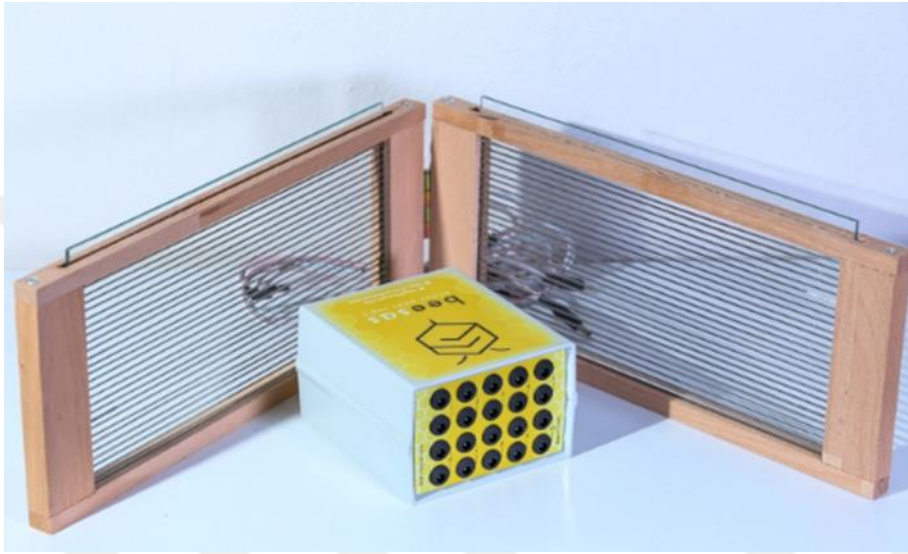
4.6. MİKROORGANİZMALARA MELİTTİN UYGULANMASI

4.6.1. Arı Zehri Toplama

Arı zehri toplamak için genel olarak şu malzemelere ihtiyaç duyulur: 4 ya da 10 kovanlık aparatlar ve cam plakalar, 12 volt 7 amper akü, akü bağlantı kablosu, akü şarj adaptörü, kazıma jileti, cerrahi maske ve eldiven, amber şişe. Arı zehri toplama makinesi elektronik kısmın bulunduğu bir kutu ve zehir toplama aparatları olarak iki ana ekipmandan oluşur. Tuzaklarda 316 kalite paslanmaz krom tel kullanılmaktadır. Tuzaklarda kullanılan ahşap malzeme, bakteri oluşturacak ve diğer insan sağlığına zararlı olabilecek malzemelerden oluşmamaktadır. Tuzaklarda kullanılan malzemeler, üretimi yapılacak ürünün kalite ve yapısını bozmayacak şekilde tasarlanmıştır. Tuzaklarda kullanılan ekipman ve malzemeler, arazi şartlarında rahat kullanım kolaylığı sunmaktadır. Buradaki tuzaklar her bir kovan için iki adet olmak üzere, 10 kovanın aynı anda zehir sağımını yapabilecek şekilde tasarlanmıştır. Tuzaklar kovan içinde devrilmemesi için, uygun şekilde tasarlanmıştır. Tuzaklarda kullanılacak camların kalınlığı 3 mm'lik olup cam kenarları zarar vermeyecek biçimde zımparalanmıştır. Tuzaklarda kullanılacak kablo uzunlukları, en az 2,5 metre olmalıdır. Ayrıca, tuzakların cihaza kolay şekilde montajının

ve demontajının yapılabilmesi için jaklı şekilde tasarlanmıştır. Tuzak çerçevesi gürgen ağacından yapılmış olup ölçüleri:380x163x18 mm³ tür. Cihaz, ürünün en az kayıpla ve en az işçilikle üretilmesi için uygundur. Cihazın besleneceği akü 12 volt ve en az 3 amperdir. Cihaz üzerinde on-off anahtarı, cihaz çalışıyor ikaz ışığı, program bitti uyarı ışığı ve program bitti uyarı sireni bulunmaktadır. Yukarıdaki özelliklere sahip zehir toplama aparatının bir temsili Şekil 4.10'da gösterilmektedir.

Şekil 4.10: Arı Zehri Toplama Aparatı



Arı zehri toplanırken arılar aşırı seviyede agresif olmaktadır. Bu uygulama esnasında son derece dikkatli olunmalıdır. Çok zor bir işlem olduğu için ancak birkaç miligram kütlelerinde zehir toplanabilmektedir. Sahamızda yer alan kovanlardan toplanan arı zehirleri Şekil 5.10'da gösterilmektedir. Alttaki siyah düzlem; cam ve üstündeki ince çizgiler; teldir. Aparat kovanın giriş ve çıkışına yerleştirildikten sonra aküden 12V voltaj uygulanarak titreşim oluşturulur. Tehdit hisseden arılar iğnelerini batırmaya çalıştıkça cam yüzeye zehirlerini akıtmaya başlarlar. Başlangıçta sıvı olan zehir 15-20 saniye içinde katılaşarak Şekil 4.11'de gösterilen katı forma ulaşır. Kazıma jileti ile camdan kazınarak daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilir.

Şekil 4.11: Sahadaki Arılardan Nisan-Mayıs 2023'te Toplanan Arı Zehirleri



Toplanan arı zehrinin saflaştırılması ve saflıklarının belirlenmesinde ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılmıştır. Peptitlerin molekül ağırlıklarını belirleyip, sentezin doğru bir şekilde olup olmadığını anlamak için ise sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) kullanılmıştır. Şimdi bu uygulamalar ele alınacaktır.

4.6.2. Ters Faz Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) Uygulaması

Kromatografi, bir karışım içerisinde bulunan bileşenlerin hareketli faz ile sabit faz arasındaki etkileşimlerine dayanan bir analitik ayırıştırma yöntemidir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), bu prensibe dayalı olarak kullanılan bir kromatografi tekniğidir. HPLC sistemleri genellikle bir çözücü pompası, bir kolon ve bir dedektörden oluşur. Çözücü pompası, hareketli faz olan çözücüleri kontrol eder ve kolona ileterek akışı sağlar. Kolon ise sabit fazı temsil eder ve içerisinde bir dolgu maddesi bulunur. Numune, çözücü pompası aracılığıyla HPLC sistemine enjekte edilir ve kolon üzerindeki dolgu maddesiyle etkileşime girer. Bu etkileşim, numunedeki bileşenlerin farklı polaritelere göre kolonda tutunma zamanlarının değişmesine neden olur. Dedektör, kolondan çıkan bileşenleri tespit eder ve analiz için kullanılan bir sinyal üretir. Dedektör, genellikle ultraviyole (UV) veya floresan özelliklere sahip olabilir ve belirli bir dalga boyunda emisyon veya absorpsiyon ölçümleri yapabilir. Böylece, numunedeki bileşenlerin ayrılma derecesi ve yoğunluğu belirlenebilir. HPLC, yüksek basınç altında çalışan bir teknik olduğu için yüksek çözünürlük, hassasiyet ve hızlı analiz sağlar. Bu nedenle, bir numunedeki bileşenlerin birbirinden ayrılması ve miktarlarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca, farklı bileşenlerin analizi için farklı

kolonlar ve çözücüler kullanılabilir; böylece geniş bir uygulama alanı sunar. HPLC, farmasötik, gıda, çevre, biyokimya, kimya ve diğer birçok bilim alanında analitik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Yüksek ayırıştırma gücü, yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik özellikleri sayesinde karmaşık karışımlardaki bileşenlerin belirlenmesi ve analizi için güvenilir bir seçenek sunar.

Normal faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (NP-HPLC), apolar bir çözücü (örneğin kloroform) hareketli faz olarak kullanılırken, polar bir sabit faz (örneğin silika jel) tercih edilir. Bu durumda, numunedeki daha polar bileşikler sabit faz olan kolonda daha fazla süre tutunur ve daha yavaş hareket ederken, daha apolar bileşikler daha hızlı hareket eder. Ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (RP-HPLC) ise polar bir çözücü (genellikle asetronitril) hareketli faz olarak kullanılırken, sabit faz olarak apolar bir hidrokarbon (örneğin C18, C8, C4) tercih edilir. Bu durumda, numunedeki daha apolar bileşikler hidrokarbonlu sabit fazda daha fazla süre tutunurken, daha polar bileşikler daha hızlı hareket eder. Ters faz HPLC, yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir çünkü genellikle biyokimya, ilaç analizi, gıda analizi ve çevre analizi gibi alanlarda kullanılan bileşiklerin çoğu hidrofobiktir. Ters faz kromatografide, polar çözücü ve apolar sabit faz kombinasyonu, bileşiklerin ayrılmasını ve analizini sağlar. Bu yöntemde, bileşiklerin hidrofobikliklerine göre tutunma süresi ve ayrışma elde edilir. Her iki kromatografi yöntemi de analitik kimyada yaygın olarak kullanılır ve numunelerin bileşenlerinin ayrılması, tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için değerli araçlardır. Kullanılan çözücüler, sabit fazlar ve diğer parametreler, analiz hedeflerine, numune özelliklerine ve analitlerin polaritelerine bağlı olarak seçilir.

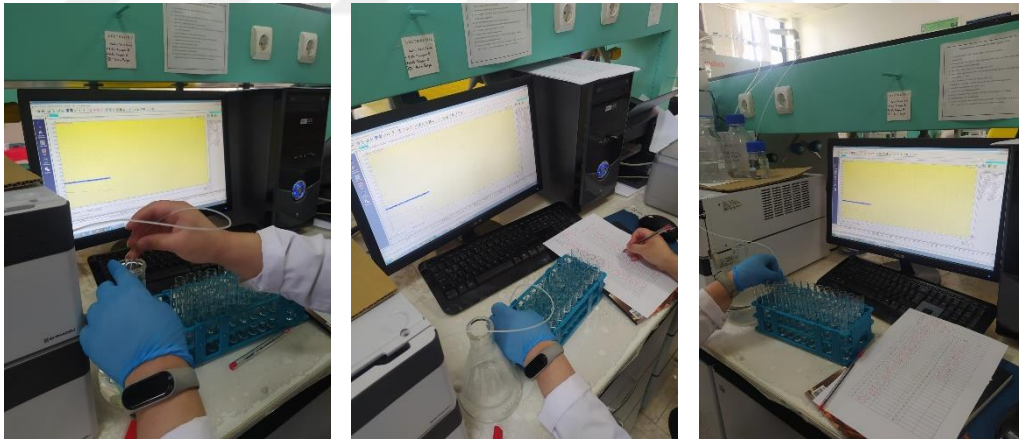
Bu tezde arı zehrinin saflaştırılması ve saflıklarının belirlenmesinde Shimadzu L20 marka RP-HPLC cihazı kullanılmıştır. Tablo 4.2’de kullanılan cihaz için teknik bilgiler verilmiştir.

Tablo 4.2: Bu Tezde Kullanılan HPLC Cihazının Teknik Özellikleri

ss	Markası
RP-HPLC	Shimadzu, L20, Japonya
RP-HPLC degazer	Shimadzu, DGU-20AT, Japonya
RP-HPLC kolon fırını	Shimadzu, CTO-10ASVP, Japonya
RP-HPLC otoörnekleyici	Shimadzu, SIL-20AHT, Japonya
RP-HPLC pompa	Shimadzu, LC-20AT, Japonya
RP-HPLC UV dedektör	Shimadzu, SPD-20A, Japonya
RP-HPLC kolon	Intersil WP300 C18 5µm 20x250 mm, Japonya Intersil WP300 C18 5µm 10x250 mm, Japonya Intersil WP300 C18 5µm 2.1x150 mm, Japonya

Bu çalışmada, ters faz HPLC kullanılarak peptitlerin saflaştırılması ve analizi gerçekleştirilmiştir. Polar hareketli faz olarak tampon A (%0,05 TFA içeren H₂O) ve tampon B (%90 CH₃CN, %10 H₂O, %0,045 TFA) kullanılmıştır. Saflaştırma işlemleri için GL Sciences marka preparative C18 kolonu (Inertsil 20x250 mm, WP300, C18, 5 µm) ve yarı preparative C18 kolonu (Inertsil 10x250 mm, WP300, C18, 5 µm) kullanılmıştır. Preparative kolon, 8 mL/dakika akış hızında 80 mg'a kadar peptit saflaştırılmasına olanak sağlarken, yarı preparatif kolon 3 mL/dakika akış hızında 10 mg'a kadar peptit saflaştırılmasını sağlamaktadır. Peptitlerin saflaştırılmasında, %1 ve %0,5 gradyan metotları kullanılarak 8 mL/dakika ve 3 mL/dakika akış hızlarıyla çalışılmıştır. Peptitlerin saflıklarının belirlenmesinde ise GL Sciences marka analitik kolon (Inertsil 2.1x150 mm, WP300, C18 5 µm) kullanılmıştır. Analitik kolonda %2 gradyan, 0,3 mL/dakika akış hızı ve 5 µL enjeksiyon hacmi ile 35 dakikalık bir metot uygulanmıştır. Analizler, UV dedektörü aracılığıyla gerçekleştirilmiş ve 215 nm ve 280 nm dalga boylarındaki absorbans ölçümleri kullanılmıştır. Bu deneyde kullanılan HPLC sistem ve koşullar, peptitlerin saflaştırılması ve analizinde hızlı, hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Şekil 4.12 bu deneyden bazı görüntüleri göstermektedir.

Şekil 4.12: HPLC İle Arı Zehrinin Saflaştırıldığı Deneyler



4.6.3. Saflaştırılan Peptitlerin Analitik RP-HPLC Analizi

Saflaştırılan peptitlerin fraksiyonlarını belirlemek için LC-MS analizi yapıldı. Bu analizle hangi tüplerde peptitlerin bulunduğu tespit edildi. Daha sonra, bu tüplerde bulunan peptitlerin saflığını belirlemek için analitik RP-HPLC analizleri gerçekleştirildi.

Analitik RP-HPLC analizi için %2 gradiyent, 0,3 mL/dak akış hızı ve 35 dakikalık bir yöntem kullanıldı. Bu yöntem, peptitlerin analitik özelliklerine dayanarak

ayırıştırma ve tanımlama sağlamak için kullanıldı. Analiz sonucunda, tüplerde bulunan peptitlerin ne kadar saf olduğu değerlendirildi. Bu analiz, peptitlerin saflığını belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Analitik RP-HPLC analizi, peptitlerin fraksiyonlarını ve saflığını değerlendirmek için güvenilir bir araçtır.

4.6.4. Kütle Spektrometresi (MS)

Kütle spektrometresi gaz veya sıvı olan bileşikler kolay hareket edebilen genellikle pozitif iyonlara dönüştürür. Oluşan iyonları kütle/yük (m/z) oranına göre ayırır. Kütle spektrumu, kütle/yük oranının sıralanmasıyla oluşturulan sinyal grafiğidir. Temel bir kütle spektroskopisi; numune verme sistemi, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör ve veri kayıt sisteminden oluşur. Kütle spektrometresi, bilinmeyen bir maddenin tanımlanmasında kullanılır.

Kütle spektrometresi numune verme sistemi, numunenin fiziksel haline bağlı olarak farklılık gösterebilir. Örneğin, eğer numune sıvı halindeyse, sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS) gibi sistemler kullanılır. Bu durumda, numune gaz haline dönüştürülerek iyon kaynağına yönlendirilir. İyon kaynağında gaz haline getirilen numune, pozitif veya negatif iyonlara dönüştürülerek elektrik akımıyla kütle analizörüne iletilir. Pozitif iyonlar genellikle tercih edilir. Uçucu bileşikler için elektrosprey iyonizasyon (ESI) ve kimyasal iyonizasyon (CI) gibi yöntemler kullanılabilirken, uçucu olmayan bileşikler için hızlı atom bombardmanı (FAB), atmosferik basınç iyonizasyonu (API) ve matris yardımlı lazer desorpsiyon/iyonizasyon (MALDI) gibi yöntemler tercih edilir. Bu yöntemler, numunenin iyonlaştırılmasını ve kütle analizörüne iletilmesini sağlar. Yukarıda bahsedilen teknikler, kütle spektrometresinin bir numuneyi analiz etmek için kullanabileceği çeşitli iyonizasyon yöntemlerini temsil etmektedir. Hangi yöntemin kullanılacağı, numunenin fiziksel özelliklerine, analiz amacına ve analiz edilmek istenen bileşik türüne bağlı olarak belirlenir. Bu yöntemler, numune hazırlık süreci ve analiz prosedürü sırasında optimize edilir ve analitik gereksinimlere uyacak şekilde ayarlanır.

Bu tez çalışmasında, sıvı kromatografisi/kütle spektroskopisi (Agilent LC/MS) kullanıldı. Cihazda iyon kaynağı olarak elektrosprey iyonizasyon (ESI) yöntemi ve kütle analizörü olarak kuadropol-uçuş zamanı (q-TOF) kullanıldı. Bu yapılandırma, analiz edilen numunelerin karmaşıklığına ve analizin amaçlarına uygun olarak seçildi. Elektrosprey iyonizasyon (ESI), çözücü içindeki analitleri iyonize etmek için kullanılan yaygın bir yöntemdir. Bu yöntemde, numune çözücüsü yüksek gerilim altında

iyonlaştırıcı uçtan püskürtülür. Püskürtülen çözelti damlacıkları, vakum altındaki bir ortamda kururken içlerindeki analitler iyonlaşır. Bu iyonlar daha sonra kütle analizörüne aktarılır. Kuadropol-uçuş zamanı (q-TOF), kütle analizörü olarak kullanılan bir yapıdır. Kuadropol kısmı, iyonların belirli bir kütle aralığında filtrelenmesini sağlar. Bu sayede belirli bir kütle aralığındaki iyonlar seçilerek diğerleri elenir. Ardından, seçilen iyonlar uçuş zamanı kısmına yönlendirilir. Uçuş zamanı kısmında, iyonlar elektrik alanı altında hızlanarak hareket eder ve farklı kütlelere sahip oldukları için farklı uçuş zamanlarına sahip olurlar. Bu uçuş zamanları, dedektöre ulaşan iyonların kütlelerini belirlemek için kullanılır.

Agilent LC/MS sistemi, sıvı kromatografisi (LC) ve kütle spektrometrisini (MS) bir araya getiren bir yapıdır. LC, numunenin bileşenlerini ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Numune, bir sıvı taşıyıcı (mobil faz) tarafından taşınır ve bir doldurma malzemesi (sabit faz) içeren bir kolon üzerinden geçer. Bileşenler, farklı etkileşimlerden dolayı farklı hızlarda hareket eder ve bu şekilde ayrışır. Ayrışmış bileşenler daha sonra kütle spektrometrisine yönlendirilir ve kütle analizi yapılır. Bu yapılandırma, analiz edilen numunelerin karmaşıklığını ve çoklu bileşenlerinin belirlenmesini sağlar. Ayrıca, yüksek kütle hassasiyeti ve çözünürlüğü sayesinde yapı analizi, izotop analizi ve tanımlama gibi çeşitli analitik amaçlar için kullanılabilir.

4.6.5. Peptitlerin Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi İle Saflaştırılması ve LC-MS Karakterizasyonu

Peptitler liofilize edildikten sonra, her biri 50 mL hacminde olan beherlere aktarıldı ve 50 mL tampon A ile çözdürüldü. Çözünen peptitler, şırınganın ucuna 0,45 µm filtre takılarak geçirildi. Filtrelenen peptitler, HPLC cihazındaki kolona yüklendi. Saflaştırma için %1 gradiyent, 8 mL/dakika akış hızı ve 80 dakikalık bir yöntem kullanıldı. Saflaştırma sırasında her pik, deney tüplerine toplandı. Peptide ait olan deney tüplerini belirlemek için her fraksiyon, LC-MS analizi ile incelendi.

Böylece arılardan toplanan zehirler yukarıda detayları verilen yöntemlerle saflaştırılarak melittin peptiti elde edilmiştir. Saflaştırma sürecindeki HPLC ve LC-MS grafikleri ve yorumlamaları 5.4 ve 5.5 kesimlerinde anlatılmıştır. Tezin son aşaması melittinin seçilen altı farklı organizmaya uygulanması olacaktır. Bunun için ilk olarak kullanılan besi ortamları ayrıntılı bir şekilde ele alınacaktır.

4.6.6. Kullanılan Besi Ortamları

4.6.6.1. Patates Agarı

Patates agarı, mantar kültürlerinin yetiştirilmesinde daha fazla ayrıntıya sahip bir besiyeridir. Daha fazla ayrıntı aşağıdaki gibi madde madde verilebilir:

- **Besin İçeriği:** Patates agarı, mantarların büyümesi için gerekli olan bir dizi besin maddesi içerir. Bunlar arasında karbonhidratlar (ör. glukoz, sukroz), proteinler, amino asitler, vitaminler, mineraller ve diğer organik bileşikler bulunur. Bu besin maddeleri mantarların metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için önemlidir.
- **Jel Oluşumu:** Agar, patates agarı içinde jel oluşumunu sağlayan temel bileşendir. Agar, deniz yosunlarından elde edilen bir polisakkarittir. Besiyerine eklenen agar, ısıtıldığında erir ve soğudukça jel formuna geçer. Bu jel, mantar kültürlerinin büyümesi için bir destek matrisi sağlar ve kolonilerin daha belirgin bir şekilde gözlemlenmesini sağlar.
- **pH Kontrolü:** Patates agarı, mantarların uygun pH seviyelerinde büyümesini sağlamak için kullanılır. Mantarların büyüme aralığı genellikle hafif asidik (pH 5-6) veya nötr (pH 6-7) aralıklarda gerçekleşir. Patates agarı, pH seviyesinin ayarlanmasına izin verir ve bu da mantarların optimal büyüme koşullarını sağlamaya yardımcı olur.
- **Besiyeri Hazırlama:** Patates agarı hazırlanırken, patatesler genellikle kaynatılarak suyu çıkarılır ve daha sonra bu patates suyu agar ile karıştırılır. Karışım, sterilizasyon için uygun bir sıcaklıkta ısıtılır ve ardından steril petri kaplarına dökülerek jelleşmesi beklenir. Bu sterilizasyon süreci, istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini engeller ve sadece mantarların yetiştirilmesini sağlar.
- **Mantar Büyümesi ve Gözlem:** Patates agarı üzerine mantar sporları veya mantar miselyumları eklenir ve uygun koşullarda inkübe edilir. Mantarlar, agar üzerinde büyüme göstererek koloniler oluşturur. Bu koloniler, farklı mantar türlerinin özelliklerini gözlemlmek ve incelemek için kullanılır. Büyüme sürecinde mantarlar tarafından üretilen gazlar veya diğer değişiklikler, mantarların aktivitesini ve gelişimini izlemek için gözlemlenebilir.

Patates agarı, mikrobiyoloji alanında mantar kültürlerinin yetiştirilmesi için kullanılan birçok farklı besiyerinden sadece bir tanesidir. Diğer besiyerleri ve koşullar da

belirli mantar türlerinin ihtiyaçlarına ve araştırma amaçlarına göre değişebilir. Patates agarı, mikroorganizmaların büyümesi için kullanılan bir besiyeri olmasına rağmen, diğer besiyerlerine kıyasla bazı dezavantajlara sahiptir. İlk olarak, patates agarı pH değeri ve besin içeriği gibi faktörlerde istikrarsızlık gösterebilir. Bu istikrarsızlık, mikroorganizmaların tutarlı bir şekilde büyümesini engelleyebilir ve sonuçları etkileyebilir. İkinci olarak, patates agarı, doğal olarak bazı mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilen bileşenler içerebilir. Bu, istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini teşvik edebilir veya hedeflenen mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilir. Bu nedenle, belirli bir mikroorganizmayı izole etmek veya kültürlenmek istediğinizde, daha spesifik ve tanımlanmış besiyerlerini tercih etmek daha iyidir. Son olarak, patates agarı, bazı mikroorganizmalar için ideal bir besiyeri olmayabilir. Özellikle bazı bakteri türleri, patates agarı yerine daha spesifik besiyerlerini tercih edebilir. Bu bakterilerin spesifik gereksinimlerini karşılamak için, özel olarak formüle edilmiş besiyerleri kullanmak daha uygun olabilir.

Bu nedenlerle, patates agarı mikrobiyolojide yaygın olarak kullanılan bir besiyeri olsa da istikrarsızlık gösteren pH değeri ve besin içeriği, mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilen bileşenlerin varlığı ve bazı mikroorganizmalar için uygun olmaması gibi dezavantajları vardır. Bu dezavantajlar göz önünde bulundurulmalı ve spesifik mikroorganizmaların gereksinimlerini karşılayan daha tanımlanmış besiyerleri tercih edilmelidir.

Candida mantarının ve patates agarının ekim stratejisi, Candida mantarının besiyerinde büyümesini kolaylaştırmak ve tanıda kullanılan yöntemleri uygulamak için belirlenmiştir. İşte bu stratejinin nedenleri:

- **Candida Mantarının Seçici Yetiştirilmesi:** Patates agarı, Candida mantarının seçici bir şekilde yetiştirilmesi için bir besiyeridir. Bu besiyeri, Candida mantarlarının kolonilerini diğer mikroorganizmalardan ayırt etmek için bazı özelliklere sahiptir. Candida mantarı, patates agarında belirgin bir şekilde büyüyebilirken, diğer mikroorganizmaların büyümesi baskılanır veya sınırlı kalır.
- **Candida Mantarının Morfolojik Özelliklerinin Gözlenmesi:** Patates agarı, Candida mantarının morfolojik özelliklerini gözlemlemek için kullanılır. Candida mantarı, patates agarında karakteristik koloni morfolojisine sahiptir. Bu

morfolojik özellikler, Candida türlerinin diğer mikroorganizmalardan ayrılmasını sağlar ve tanıya yardımcı olur.

- **Biyokimyasal Testlerin Yapılması:** Patates agarı, Candida mantarının belirli biyokimyasal testlerini yapmak için kullanılır. Bu testler, Candida türlerinin tanısında ve ayırıcı tanısında kullanılır. Patates agarı, Candida mantarının biyokimyasal tepkilerini ortaya çıkaran uygun koşulları sağlar.

Sonuç olarak, Candida mantarı ve patates agarının ekim stratejisi, Candida mantarının seçici olarak yetiştirilmesini, morfolojik özelliklerinin gözlenmesini ve biyokimyasal testlerinin yapılmasını sağlamak için belirlenir. Bu strateji, Candida enfeksiyonlarının tanısında ve ayırıcı tanısında önemli bir rol oynar.

4.6.6.2. Mueller Hinton Agarı

Bu agar, antimikrobiyal duyarlılık testlerinin gerçekleştirildiği bir besiyeridir. Mikrobiyolojik çalışmalarda Mueller Hinton agarı'nın kullanılmasının bazı nedenleri şunlardır:

- **Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri:** Mueller Hinton agarı, antibiyotiklerin mikroorganizmalara karşı etkinliğini belirlemek amacıyla kullanılan standart bir besiyeridir. Bu agar, antibiyotiklerin minimum inhibe edici konsantrasyonunu (MIC) ve disk difüzyon testini belirlemek için kullanılır. Bu testler, belirli bir mikroorganizmanın belirli bir antibiyotiğe karşı duyarlılığını belirlemek için kullanılır.
- **Standartlaştırma:** Mueller Hinton agarı, antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kullanılan bir standart besiyeridir. Agar, genellikle belirli bir mikroorganizma süşunun duyarlılığını değerlendirmek için kullanılan standart bir metot olan disk difüzyon testinde kullanılır. Bu şekilde, farklı laboratuvarlarda yapılan test sonuçları karşılaştırılabilir ve standartlaştırılabilir.
- **Büyüme Koşulları:** Mueller Hinton agarı, birçok mikroorganizmanın büyümesi için uygun bir ortamdır. Agarın bileşimi, mikroorganizmaların büyümesini destekleyen ve antibiyotiklerin etkisini değerlendirmek için gerekli olan koşulları sağlar.
- **Yüksek İnokülasyon Yoğunluğu:** Mueller Hinton agarı, antimikrobiyal duyarlılık testlerinde yüksek inokülasyon yoğunluğuna izin verir. Bu,

mikroorganizmaların daha homojen bir şekilde besiyeri üzerinde yayılmasını sağlar ve test sonuçlarının daha güvenilir olmasına yardımcı olur.

- Mueller Hinton agarı, antimikrobiyal duyarlılık testlerinin standartlaştırıldığı ve farklı mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değerlendirildiği bir ortamdır. Bu nedenle, mikrobiyolojik çalışmalarda bu agara başvurulur.

Mueller Hinton agarı, antibiyotik duyarlılık testleri için yaygın olarak kullanılan bir besiyeri (agar) türüdür. Özellikle antibiyotik duyarlılık testlerinde, bir bakterinin belirli antibiyotiklere karşı direncini belirlemek amacıyla kullanılır. Bu agar, özellikle gram negatif ve gram pozitif bakterilerin antibiyotik duyarlılığını değerlendirmek için kullanılır. Bu besiyeri, özellikle gram negatif bakterilerin etkili bir şekilde büyümesini sağlayan düşük içerikli, et suyu ve koyu renkli bir renklendirici içerir.

Mueller Hinton agarı ayrıca, özellikle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan birçok yaygın antibiyotiğin (örneğin, amoksisilin, sefotaksim, gentamisin, tetrasiklin vb.) etkinliğini değerlendirmek için standartlaştırılmış bir yöntem olan Kirby-Bauer (Bauer, vd., 1966) disk difüzyon testinde de kullanılır. Ancak, Mueller Hinton agarın yalnızca belirli bakteri türlerinin antibiyotik duyarlılığını değerlendirmek için kullanıldığını belirtmek önemlidir. Her bakteri türünün farklı beslenme ve büyüme gereksinimleri olduğundan, diğer besiyerleri ve yöntemler de belirli bakterilerin antibiyotik duyarlılığını değerlendirmek için kullanılır.

Mueller Hinton agarının bazı sınırlılıkları şunlardır:

- Bazı bakteri türlerinin büyümesi için uygun olmayabilir: Örneğin, bazı türlerin veya tür gruplarının büyümesi için özel besiyerleri gerekebilir. Mueller Hinton agar, bazı bakteri türlerini desteklemez veya zayıf büyüme sağlayabilir.
- İnaktif veya etkisiz antibiyotiklere karşı dirençli olabilir: Bazı bakteri türlerinin dirençli olduğu veya bazı antibiyotiklere karşı etkisiz olduğu durumlarda yanıltıcı sonuçlara neden olabilir.
- Bazı antibiyotiklerin aktivitesini etkileyebilir: Bazı antibiyotikler, Mueller Hinton agarında daha az etkili olabilir veya agar içindeki bileşenlerin aktivitesini değiştirebilir.
- Özel besiyerleri gerektiren antibiyotiklerin değerlendirmesi için uygun olmayabilir. Bazı antibiyotiklerin etkinliğini değerlendirmek için özel

besiyerleri gerekebilir ve Mueller Hinton agarı bu tür çalışmalar için uygun olmayabilir.

4.6.7. Antibakteriyel Aktivite Testi

Katı besiyerler, agar maddesiyle jel kıvamına getirilmiş ve içerisine bakterilerin büyümesi için gerekli olan besin maddeleri eklenmiş besiyerleridir. Bu besiyerlerinin kullanıldığı deneylerde, antibiyotik etkisi ölçülmek veya mikroorganizmaların duyarlılığı test edilmek amacıyla zon çapı veya minimum inhibisyon konsantrasyonu gibi parametreler incelenir.

Bu tez çalışması için yapılan deneyde, Mueller Hinton agar kullanılarak besiyerleri hazırlanmıştır. Mueller Hinton agar , besin maddeleri ve agar maddesinin birleşimiyle oluşturulan bir katı besiyeridir. Agar, jel kıvamına getirilerek petri kutularına döküldü ve donması için bekletildi. Daha sonra bu besiyeri üzerine bakteri dilisyonu eklendi ve agar içerisinde bakterilerin büyümesi sağlandı. Mueller Hinton agar (katı besiyeri) katı formda ve mikroorganizmaların büyüme kolonilerini izlemek ve çeşitli deneylerde kullanmak için tercih edildi.

Mueller Hinton Agar (Merck 1.05437) dehidre besiyeri derişimi 1000 mL destile su içinde 34,0 g olacak şekilde tartılıp ısıtılarak çözüldü ve otoklavda 115 °C'da 120 dakika sterilize edildi. Mueller Hinton agar cam şişelere konuldu ve donmasın diye sıcak su banyosunda bekletildi. 9 mL olan agarın içine 1 mL bakteri dilisyonu eklendi ve hazırlanan petrilere 10 mL olan bakteri dilisyonlu agar konuldu. Petrilerin içindeki agar kurumaya bırakıldı. Daha sonra peptitler 10 µg/µL olacak şekilde saf suda çözüldü. Bu hazırlanan numune stok çözeltileri tartılıp 10 µg/µL olacak şekilde saf suda çözüldü. Böylece hazırlanan numune çözeltileri stok çözeltisi oldular. Daha sonra bu stok çözeltiden 5 µL alınıp 1 mL'ye tamamlanarak numunelerimiz hazırlandı. Numunelerimizden 5 µL alınıp petrinin uygun alanına uygulandı. Petriler daha sonra 37 °C'de bir gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra petrideki zon alanlarına bakılarak antibakteriyel etkinin olup olmadığı belirlendi.

4.6.8. Antibakteriyel Etki

Agar difüzyon testi (Disk difüzyon testi): Bu yöntemde, antibiyotik içeren diskler bir petri kabı üzerine yerleştirilir ve mikroorganizmalarla kaplanmış agar tabakasına uygulanır. Antibiyotiklerin çevresinde oluşan bölgeye "inhibisyon zonu" denir. Zonun büyüklüğü, antibiyotiğin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliğini gösterir.

Kuyucuk metodu veya kuyucuk testi: Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılığını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Kuyucuk metodu, bir mikrodilüsyon plakası veya mikroçukur plakası adı verilen bir plaka kullanılarak gerçekleştirilir. Bu plakalar, çeşitli antibiyotiklerin farklı konsantrasyonlarını içeren mikroçukurlara sahiptir. Her bir mikroçukur, mikroorganizmaların büyümesini engelleyen bir antibiyotik konsantrasyonunu içerir.

Test süreci genellikle şu adımları içerir:

- Mikroorganizmaların hazırlanması: Mikroorganizmaların uygun bir kültür ortamında çoğaltılması ve belirli bir yoğunluğa ulaştırılması.
- Antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması: Farklı konsantrasyonlardaki antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması.
- Mikroçukurların doldurulması: Mikroçukur plakasındaki her bir mikroçukur, farklı konsantrasyonlardaki antibiyotik çözeltileri ile doldurulur.
- Mikroorganizmaların eklenmesi: Mikroorganizma kültürü, her bir mikroçukurdaki antibiyotik çözeltisine eklenir.
- İnkübasyon: Plaka, uygun inkübasyon koşullarında bir süre boyunca tutulur.
- Okuma: İnkübasyon süresinin sonunda, plaka üzerinde mikroorganizmaların büyümesi gözlemlenir. En düşük antibiyotik konsantrasyonunun mikroorganizmaların büyümesini engellediği kuyucuklar belirlenir.

Bu yöntemle, mikroorganizmaların belirli antibiyotiklere karşı duyarlılığı değerlendirilebilir. Kuyucuk metodu, birçok farklı antibiyotik için aynı anda test yapılabilmesi ve sonuçların kolayca okunabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Ancak, doğru sonuçlar elde etmek için uygun deney koşullarının sağlanması ve standardizasyonun dikkatle takip edilmesi önemlidir ve bu konuda iki önemli kuruluş vardır: ABD kökenli bir kuruluş olan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2023) ve Avrupa merkezli bir kuruluş olan European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (EUCAST, 2023).

Kuyucuk metodu ve disk difüzyon metodu, mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığını değerlendirmede kullanılan iki farklı yöntemdir. Her bir yöntemin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır. Hangi yöntemin tercih edileceği, laboratuvarın ihtiyaçlarına, kaynaklara ve standartlara bağlı olacaktır (Bauer, vd., 1966).



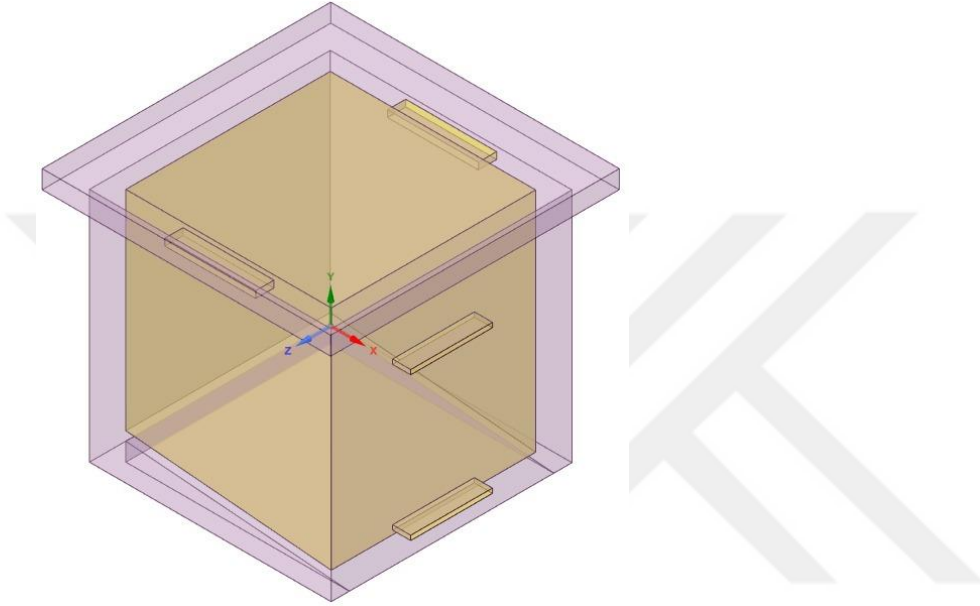


BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇLAR

5.1. HAD İLE KOVAN HAVASI AKIŞ ANALİZİ

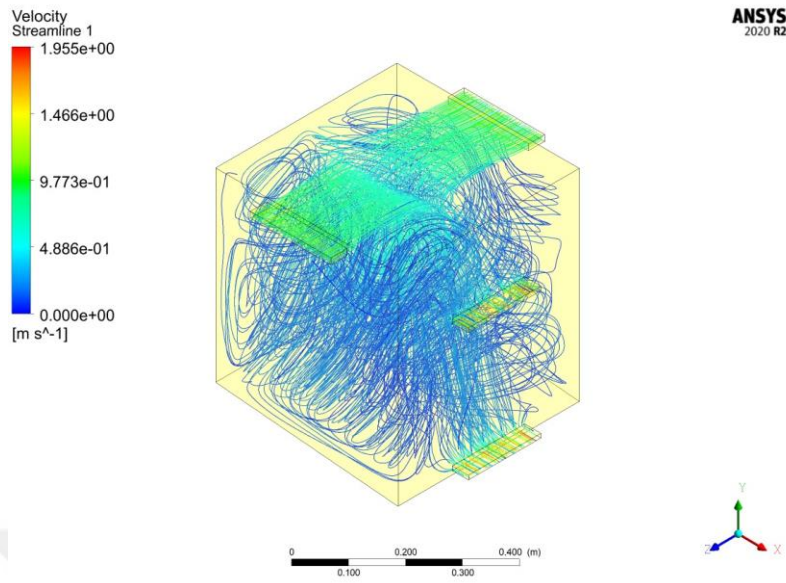
Bu tez çalışmasında öncelikle Şekil 5.1’de görünen kovan geometrisi oluşturulmuştur. Burada Ansys'in DesignModeler ve SpaceClaim eklentileri kullanılmıştır. Sahada kullanılan tipik kovan ölçüleri buraya yansıtılmıştır (yaklaşık olarak 50cm×43cm×26cm).

Şekil 5.1: Üç-Boyutlu Kovan Geometrisi



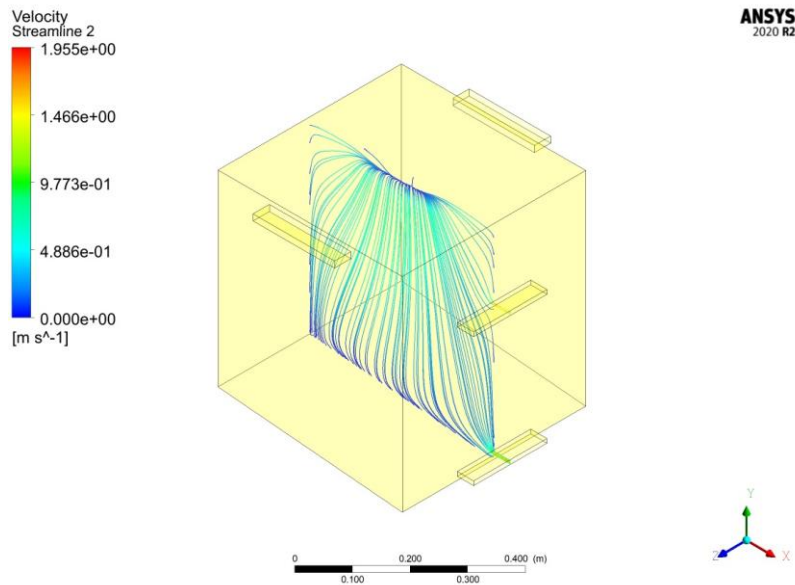
Burada dış tarafta görünen pembe renkli kısım kovani ve iç tarafta görünen sarı renkli kısım ise kovan içerisindeki akış alanını temsil etmektedir. Geometride görünen en üstteki iki açıklık hava girişi, alttaki iki açıklık ise hava çıkışı olarak tanımlandı. 1m/s’lik hava hızında gerçekleşen akış konturları Şekil 5.2 – 5.4’te gösterildiği gibidir. Şekil 5.2, üç-boyutlu akım çizgileri konturunu göstermektedir. Şeklin sol kenarındaki renk ölçeğindeki hız büyüklüğü kırmızıdan maviye doğru azalmaktadır. Kırmızı en yüksek hız büyüklüğünü (1,955 m/s), mavi ise en düşük hız büyüklüğünü (sıfır) göstermektedir. Üst kısımlardan giren hava ortalama hız büyüklüğü (1 m/s) olarak seçilen değerdeki rengi (yeşile yakın) göstermektedir. Orta alanda görünen iplikçikler ise hava moleküllerinin tanımlanan girişlerden itibaren nasıl yol izlediklerini sergilemektedir.

Şekil 5.2: Kovan Tasarımının 3-Boyutlu Akış Çizgisi Görünümü



Şekil 5.3 akış çizgilerini xy-düzleminde göstermektedir. Dikkat edilirse xy-düzlemindeki orta alan boyunca hızın büyüklüğü 1 m/s civarındadır. En alt ve kenarlara gidildikçe hız azalmakta hatta sıfıra yaklaşmaktadır.

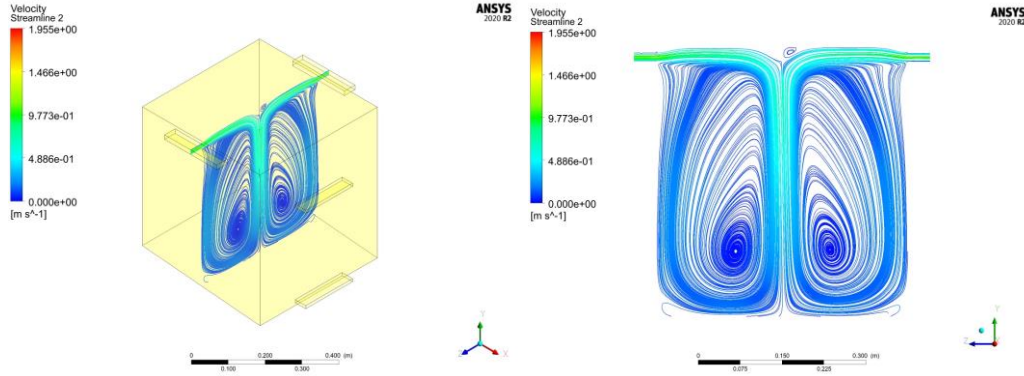
Şekil 5.3: Yalnızca xy-Düzlemini Gösteren Akış Çizgileri



Şekil 5.4 de akış çizgilerini yalnızca yz düzlemi boyunca göstermektedir. Verilen izometrik gösterimde akışın iki ana gövdeye ayrıldığı görülmektedir. Hava üst açıklıklardan gelip zemine çarptıktan sonra +z ve -z yönlerinde ikiye bölünmekte ve girdapların olduğu gözlemlenmektedir. Kenarlardan girdaplara doğru gelindiğinde hız

büyükliğünün azaldığı hatta sıfır olduğu söylenebilir. Bu kısım da kovandaki petek çıtalarının alt kısımlarına denk gelmektedir.

Şekil 5.4: Yalnızca yz-Düzlemini Gösteren Akış Çizgileri



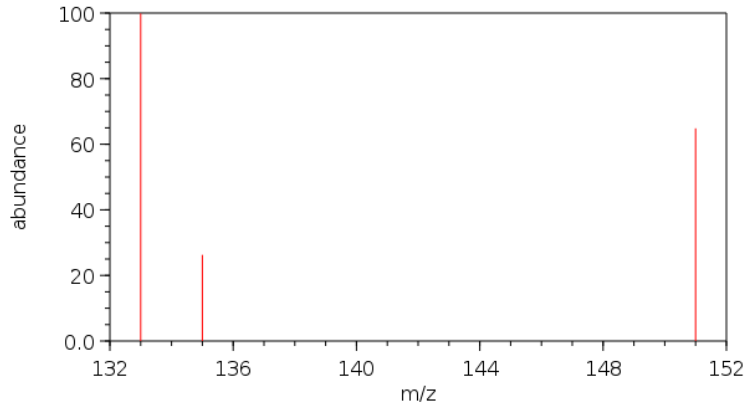
5.2. KOVAN HAVA BİLEŞENLERİNİN GC-MS ANALİZ SONUÇLARI

DPÜ arı sahasındaki kovandan toplanan gaz molekülleri GS-MS ile analiz edildi. Çalışmada, Anadolü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında elde edilen bir bileşğin Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (GC-MS) sonuçları incelenmiştir. Bu bileşğin NIST numarası 222866'dır (NIST, 2023). Analiz sırasında toplamda 48 pik elde edilmiştir. En yüksek yoğunluğa sahip m/z değeri 133 iken, ikinci en yüksek yoğunluk 151 m/z ve üçüncü en yüksek yoğunluk ise 135 m/z değerindedir. Bu spektral veriler, oxime ve methoxy-phenyl temelli bir bileşiğe işaret etmektedir (Oxim-metoksifenil). Tablo 5.1 sonuçların özetini ve Şekil 5.5 bu sonuçların okunduğu yoğunluk-m/z grafiğini göstermektedir (alttaki diğer grafik yakınlaştırmış bölgeyi göstermektedir).

Tablo 5.1: MS Pik Sonuçları (Oxim-metoksifenil)

Parametre	Değer
NIST Numarası	222866
Kütüphane	Ana
Toplam Pik Sayısı	48
m/z En Yüksek Pik	133
m/z İkinci Yüksek Pik	151
m/z Üçüncü Yüksek Pik	135

Şekil 5.5: Kütle Spektrumu (MS) Sonucu (Oxim-metoksifenil)



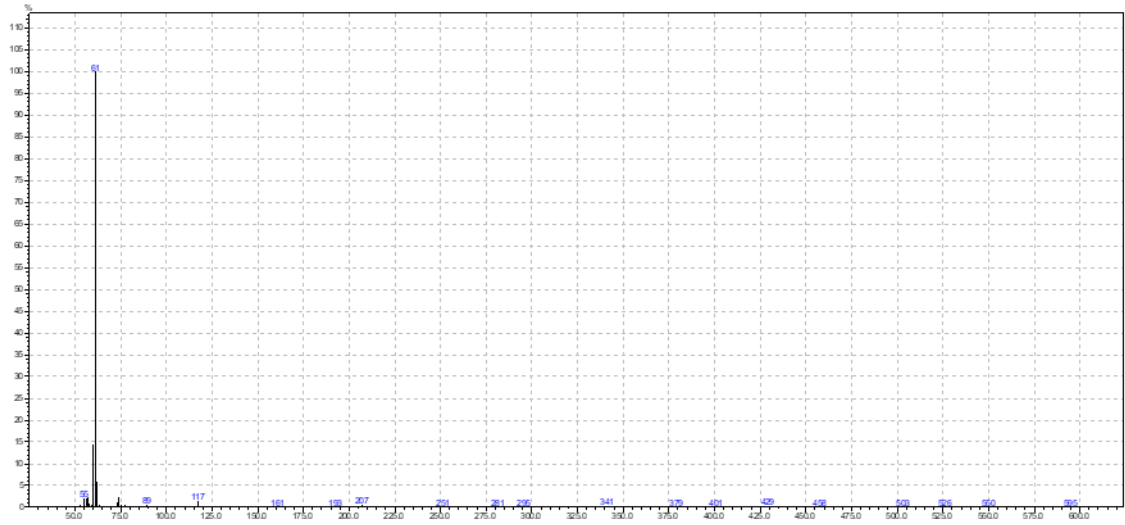
© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Bir diğer MS sonucu da gliserine işaret olan Şekil 5.6'da verilmiştir. NIST (NIST, 2023) özellikleri Tablo 5.2'deki gibidir.

Tablo 5.2: Gliserin (C₃H₈O₃) Hakkında Meta Bilgiler (NIST, 2023)

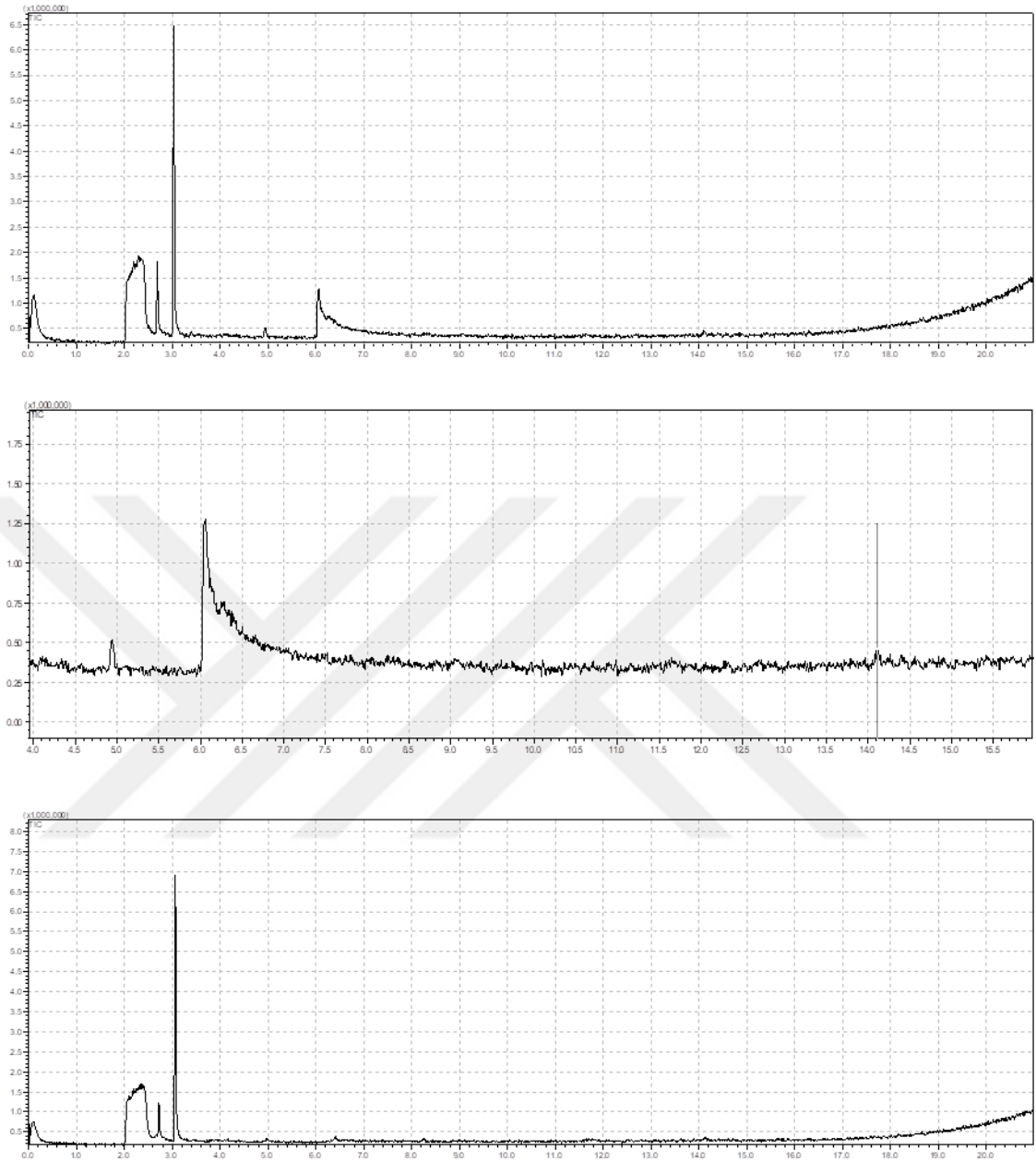
Başlık	Glycerin
JCAMP-DX Versiyonu	4.24
Veri Türü	Mass Spektrumu
Kaynak	NIST Mass Spectrometry Data Center, 1990
Sahip	NIST Mass Spectrometry Data Center
CAS Kayıt Numarası	56-81-5 (Bu, gliserin için kimyasal soyut hizmet numarasıdır)
Molekül Formülü	C ₃ H ₈ O ₃
Molekül Ağırlığı	92
NIST Kaynak	MSDC
X Ekseni Birimleri	M/Z (Kütle/Yük)
• Y Ekseni Birimleri	Göreceli Yoğunluk
• Veri Noktaları	40
• Spektrum Aralığı	: m/z 12'den 75'e

Şekil 5.6: Kütle Spektrumu (MS) Sonucu (Gliserin)



Şekil 5.7’de gaz kromatografisi (GC) sonucu gösterilmektedir. Burada x-ekseni zamandır (dk). Analiz süresini temsil eder. Analiz süresi boyunca sırasıyla farklı bileşikler elde edilir ve bu bileşiklerin ayrışma profilleri görüntülenir. y-ekseni ise sinyal şiddetidir. Dedektörden gelen sinyal şiddetini gösterir. Bu sinyal, herhangi bir zamandaki belirli bir bileşiğin miktarını yansıtır. Analiz sonucunda kayda değer 5 adet pik tespit edilmiştir. Bunların ilk üçü kör okumalarda da tespit edildiği için yok sayılmıştır. Bunun için Şekil 5.7’de bulunan 3 adet grafikten su için olan sonuncusuna bakılabilir. Ancak alı konma zamanı yaklaşık 50. ve 60. dakikalarda iki farklı pik tespit edilmiştir (bkz. Şekil 5.7 ilk grafik). Bu piklerin Wiley veri tabanındaki eşleşmeleri sırasıyla oxim-metoksifenil ve gliserin şeklindedir. Şekil 5.7’de ortadaki (ikinci) grafik ise birinci grafiğin yakın görüntüsüdür. Sonuç olarak, “Oxime”, “Methoxy” ve “Phenyl” moleküllerinin arıların davranışları veya sağlığı üzerindeki etkileri, kovandan alınan hava bileşenlerinin neticesinde belirlenmiştir.

Şekil 5.7: Gaz Kromatografi (GC) Sonucu



5.3. REMEDİLERİN VARROA ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

5.3.1. Remedilerin Varroa Üzerindeki Etkisi

a. Örnekler: Bitkisel özler, uçucu yağlar gibi bileşiklerin varroa üzerinde farklı sonuçlar ortaya koyduğu, varroayı etkisiz hale getirdiği, üreme yeteneklerini azaltabildiği veya varroayı arıların bağışıklık sistemi üzerinden etkileyebildiği literatürden bilinmektedir (Johnson, vd., 2020). Bu tez çalışmasında bazı remedilerin kovanın içindeki patojenlerle mücadelede yardımcı olduğu gözlemlenmiştir.

b. Etki Mekanizmaları: Remedilerin varroa üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar bunların varroanın sinir sistemi, solunum sistemi veya sindirim sistemi gibi hassas bölgelerini hedefleyebileceğini göstermektedir (A.g.e). Bu tezde elde edilen sonuçlar Tablo 5.3'te gösterilmektedir. Karşılaştırma açısından bu tablo üç farklı durumun sonuçlarını yansıtmaktadır. Birincisi kovanlara pudra şekeri uygulaması, ikincisi farklı remedilerin uygulanması ve üçüncüsü de kovanlara bu iki uygulamanın da yapılmaması. Kovanlara müdahalenin yapılmadığı ve balların propolisleriyle birlikte kovanlarda bırakıldığı üçüncü durumda kovanların sönmüş olması sadece propolisin kovanları korumaya yetmediğini bize göstermiştir.

Remedilerin ve Pudra Şekerinin Eş Zamanlı Uygulanması:

Bu çalışmada remedilerin ve pudra şekerinin farklı kovanlara aynı şekilde, aynı zamanda uygulanması (Ekim 2022) bize sonuçları kıyaslama fırsatını sunmuştur.

Avantajlar ve Zorluklar:

Remedilerin kullanımı, sentetik ilaçların kullanımında bazı avantajlar sunmaktadır. Doğal ve çevre dostu olmaları, arı sağlığına zarar verme potansiyellerinin daha düşük olması ve direnç gelişimi riskinin azalması gibi faktörler bunlardan bazılarıdır.

Bununla birlikte, remedilerin etkinliği ve uygulanabilirliği üzerine daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Dozaj, uygulama yöntemleri ve kullanım sıklığı gibi faktörlerin optimize edilmesi önemlidir. Ayrıca, remedilerin varroa üzerindeki etkilerinin araştırılması ve olası yan etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Remediler, varroa destructor'un kontrolünde umut verici bir alternatif tedavi yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Bu doğal bileşiklerin varroa üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı olarak araştırılması ve uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu doktora tezinin bir kısmı, remedilerin varroa tedavisindeki potansiyelini daha iyi anlamak için bir adımdır ve gelecekteki araştırmalar için önemli bir kaynak olacaktır.

Tablo 5.3: Varroa Akarına Karşı Mücadelede Uygulamaların Yapıldığı Kovanlar, Uygulama Sonrası Kovan Atık Kütlesi (Gram) ve Arıların Sağ Kalım Bilgisi

Kovan No	Uygulanan Materyal	Potens	Kovan Atığı (gr)	Sağ Kalım
1	Pudra şekeri	-	19,20	Söndü
2	Pudra şekeri	-	22,22	Söndü
3	Pudra şekeri	-	21,12	Söndü
4	Pudra şekeri	-	22,18	Söndü
5	Pudra şekeri	-	10,56	Söndü
6	Varroa destructor	C 30	49,19	Söndü
7	Varroa destructor	C 30	33,10	Söndü
8	Varroa destructor x 6	D 6	6,98	Söndü
9	–	–	10,48	Söndü
10	–	–	34,91	Söndü
11	–	–	26,38	Söndü
12	–	–	30,45	Söndü
13	<i>Mentha piperita</i> Tıbbi nane	C 30	55,67	+
14	<i>Mentha piperita</i> Tıbbi nane	C 30	18,84	+
15	Acidum formicum Formik asit	C 30	50,1	Söndü
16	Acidum formicum Formik asit	C 30	16,88	Söndü
17	Acidum formicum Formik asit	C 30	30,22	Söndü
18	Varroa destructor	C 30	38,83	Söndü
19	<i>Mente piperita</i> Tıbbi nane	C 30	53,62	+
20	<i>Hyssopus officinalis</i> Züfraotu	D 6	8,85	Söndü
21	Sülfür	C 20	36,50	Söndü
22	Sülfür	C 20	59,72	Söndü

(“–” işareti olan kovanlara müdahale edilmedi.)

(“-” işareti olan materyallerin potensi yok.)

Pudra şekeri yöntemi varroa yükünü azaltmak için doğal bir alternatif olarak dünya genelinde arıcılar tarafından uygulanmaktadır (Ellis A.M., Hayes, Ellis J.D., 2009). Pudra şekerinin, uygun dönemlerde ve yeterli miktarda kovan içinde uygulandığında, varroa akarının tutunma organelleri ambulacrum üzerinde bir tabaka oluşturarak akarın oksijen almak için kullandığı hava deliklerine girmesi ve böylece akarı oksijensiz bırakmak için nemlendirici etkisini göstermesi hedeflenir (Fakhimzadeh, 2000, 2001a, 2001b). Ayrıca varroaların temizlenmesi arının üzerindeki pudra şekerini temizlerken de hijyenik davranış geliştirdiği düşünülmektedir. Bu etkinin gözlenebilmesi için pudra şekerinin iyi öğütülmüş olması gereklidir. Arıları sindirim sürecinde ve beslenme sürecinde yormamak için toz haline getirmek önemlidir. Bu tez çalışmasında sahada uygulanan beş kovanda da varroa ile mücadele başarılı olamamıştır (Tablo 5.3). Bu tablonun üçüncü sütunundaki kovan atığı arıların varroa ile kısmen mücadele ettiğini

gösterir. Buradaki atıklar ölmüş varroalardır. İlk dört kovandaki atık miktarı beşinci kovandaki miktarın yaklaşık iki katıdır. Bu nümerik bilgiler ilk dört kovandaki mücadelenin daha fazla olduğunu göstermektedir. Ancak bu sayılara bakarak bir tahmin yürütülse de arıların ölümüne aç kalmak, soğukla mücadele edememek gibi etkilerin de yol açabileceği unutulmamalıdır. Sonuçta 1-5 nolu kovanlarda kanat üzerindeki deformasyonlar da gözlemlendiği için arıların varroa ile mücadele edemediği söylenebilir.

Öte yandan 9-12 nolu dört kovana müdahale edilmemiş, yani pudra şekeri ya da remedi uygulanmamıştır. Bu kovanlarda arılar ancak kendi propolisleri ile mücadele etmek zorunda kalmışlardır. 9 nolu kovan haricinde diğer kovanlar pudra şekeri uygulanan kovanlara kıyasla varroa ile daha çok mücadele etmiştir. Ancak bu kovanlarda da sönme gerçekleşmiştir. Pudra şekerinin günlük uygulandığı Hatay ilindeki çalışmada (Muz, Arslan ve Girişgin, 2014) başarı sağlanması, aynı metodolojinin Kütahya ırkı için de sağlanacağı anlamına gelmez. Hava koşulları, arılara kovanlarda bırakılan bal miktarı vb. etkiler çok daha ayrıntılı incelenmeli.

Bu tez çalışmasının önemli bir kısmı remedilerin tarafımızdan hazırlanarak varroa mücadelesi için kovanlara uygulanmasıdır. Burada *Mentha piperita* (tıbbi nane) uygulanan 13, 14 ve 19 nolu kovanlarda varroa mücadelesi başarılı olmuştur. 13 ve 19 nolu kovanlardaki atık miktarı 14 nolu kovanın yaklaşık üç katıdır. Örneğin başlangıçta 14 nolu kovanda daha az canlı varroa olmuş olabilir. Bu bilgiye nümerik olarak sahip değiliz. Bu tez çalışması *Mentha piperita* uygulanan kovanlarda Kütahya ırkı için bu bal arılarının varroa ile mücadele ederek hayatta kalmayı başardıklarını göstermiştir. Bu bir başlangıçtır. Çalışmalar, sahada bu metabolitlerin ve daha farklı metabolitlerin uygulanmasıyla devam edecektir. Homeopatik remedide toksik madde olmadığı için varroa mücadelesi her zaman yapılabilir. Bu durum da homeopatik mücadelenin önemli bir avantajıdır. Tablo 5.3'teki diğer remedi uygulanan kovanlarda bu mücadele başarısız olmuştur. Ancak hem pudra şekeri hem de remedilerin eş zamanlı olarak arıları kışlatmadan hemen önce uygulandığı ve bahara kadar kovanlara müdahale edilmediği tekrar vurgulanmalıdır.

5.4. ARI ZEHRİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYONU

Bu çalışma, melittinin verimli bir şekilde izole edilmesi için optimizasyon adımlarını içermektedir ve elde edilen sonuçlar, melittinin arı zehrinden etkili bir şekilde

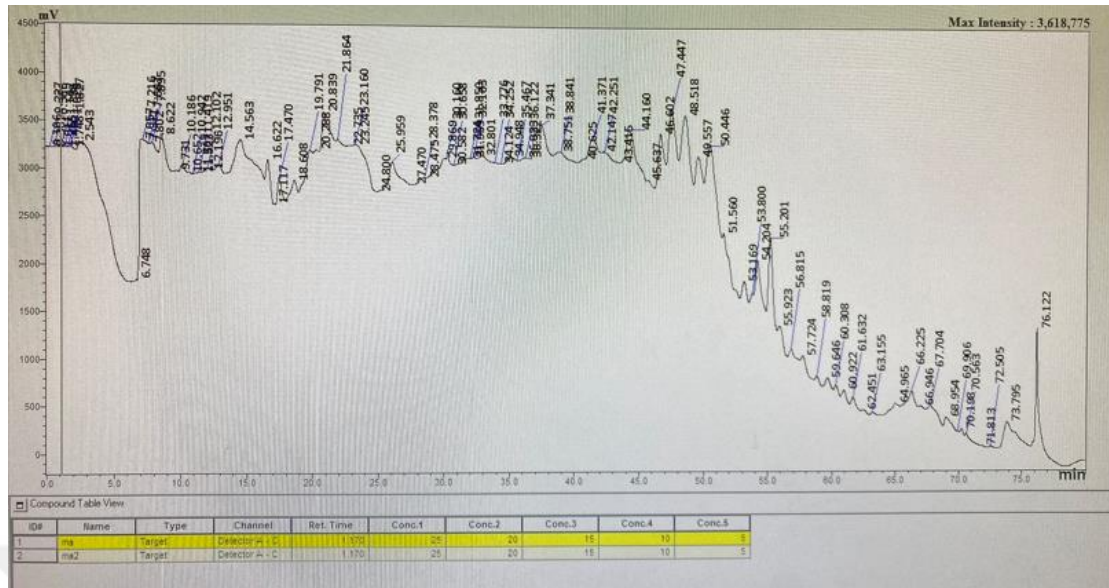
elde edilebileceğini göstermektedir. İlk aşamada, arıların zehir keselerinden zehirlerinin toplanması sağlanmıştır (bkz. Kesim 4.6.1). Bu adımın optimize edilmesi, arıların stres altında kalmadan ve zarar görmesini önlemek için büyük önem taşımaktadır. Daha sonra, zehir keselerinden elde edilen örneklerin uygun şekilde işlenmesi ve melittinin saf hale getirilmesi için bir dizi aşama; RP-HPLC ile saflaştırma ve LC-MS analizleri, sırasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyon adımları, melittin izolasyon sürecinin etkinliğini artırmak ve yüksek saflıkta bir ürün elde etmek için önemlidir.

Bu çalışma, melittinin arı zehrinden verimli bir şekilde elde edilmesi için uygun bir metodoloji sunmaktadır. Elde edilen sonuçlar, melittinin biyolojik etkilerini araştırmak ve potansiyel kullanımlarını değerlendirmek için ilgi çekici bir kaynak oluşturmuştur. Bununla birlikte, melittinin farmakolojik özellikleri, toksisitesi ve klinik uygulamaları gibi konularda daha fazla araştırma gerekmektedir.

Bu kısımda sırasıyla HPLC ve LC-MS sonuçları verilecektir. Bunun için deney aşaması ve sonuçlar birlikte ele alınacaktır. Çalışmanın ilk kısmında kovanlara uygulanan remediler sonucunda hijyenik davranış kazandırılan arılar ele alınmıştır. Bu sağlıklı kovanların giriş ve çıkışına yerleştirilen zehir toplama aparatı ile arı zehri elde edilmiştir. Tezin ikinci ana kısmında remediler ile hijyenik davranış kazandırılan arılardan elde edilen arı zehrinden melittin peptitinin saflaştırılması en önemli amaçlardan birisidir. Bunun için uygulanan adımlar ve sonuçlar şu şekildedir:

Arı zehri içerisinde yer alan pek çok molekülün ayrıştırıldığı aşama HPLC aşamasıdır. HPLC sistemi, bir mobil fazın (solvent sistemi) bir sabit faz (kolon) üzerinden geçirilmesiyle bileşiklerin ayrılmasını sağlayan sistemdir. Şekil 5.5 toplanan arı zehri için HPLC kromatografisini göstermektedir. Bu grafiğin x-ekseni zamanı (dakika), y-ekseni ise absorbansı (mV) göstermektedir. Grafik eğrisi üzerindeki sayılarsa o an ki zamanı dakika cinsinden göstermektedir. HPLC analizi sırasında moleküllerin ayrı ayrı tüplere çekilerek ayrıştırılması grafikte görülen her bir pik sayesinde. Yükselen ve alçalan bu pikler o an bir sinyal yakalandığının işaretidir ve hemen bir molekül ayrıştırılması gerektiğini anlamamızı sağlar. Yatay eksene retansiyon zamanı (RT) ya da elüsyon zamanı da denir. HPLC grafiği, genellikle analitin elüsyon profiline ve pik şekline dayanmaktadır. Elüsyon profili, analitlerin ne zaman ve hangi sırada ayrıldığını gösterirken, pik şekli analitin yoğunluğunun nasıl değiştiğini göstermektedir. HPLC analizi sonucunda farklı tüplere alınan farklı moleküllerin ne olduklarını anlamak içinse LC-MS analizine ihtiyaç vardır.

Şekil 5.8: Arı Zehri HPLC Kromatografisi



5.5. ARI ZEHRİ KÜTLE ANALİZİ

Arı zehri, arıların sokma işlemi sırasında enjekte ettikleri bir sıvıdır ve içeriğinde çeşitli biyolojik etkilere sahip peptitler bulundurulur. Bu peptitlerin her biri farklı şekillerde etki gösterebilir. İşte arı zehrinden elde edilen bazı önemli peptitlerin biyolojik etkileri:

- **Apamin:** Sinir sisteminde etkili olan bir peptittir. Apamin, nöromodülatör olarak görev yapar ve K^+ (potasyum) kanallarını inhibe ederek sinir iletimini etkiler. Ayrıca antiproliferatif (hücre çoğalmasını önleyici) özellikleri de olabilir.
- **Mast Hücre Degranülasyon Peptit (Mast Cell Degranulation Peptide, MCDP):** Mast hücrelerinin degranülasyonunu (granüllerin salınmasını) tetikleyen bir peptittir. MCDP, alerjik reaksiyonlarda ve inflamasyon süreçlerinde rol oynayabilir.
- **Adolapin:** Analjezik (ağrı kesici) özelliklere sahip bir peptittir. Adolapin, ağrı hissini azaltıcı etkisiyle bilinir ve bu nedenle arı zehrinden kaynaklanan ağrılı durumlarda rahatlama sağlayabilir.
- **Hyaluronidase:** Bu enzim, arı zehrinden elde edilen bir peptit değil, arılar tarafından zehrin deri altına yayılmasını kolaylaştırmak için salgılanır. Hyaluronidase, hücre dışı matriksin bir bileşeni olan hyaluronik asidi parçalayarak dokular arasında difüzyonu artırır.
- **Fosfolipaz A2:** Bu enzim, zar yapısında bulunan fosfolipidleri parçalayarak serbest yağ asitleri ve diğer molekülleri üretir. Arı zehrinden elde edilen

fosfolipaz A2, inflamasyon süreçlerine katkıdabulunabilir ve arı sokmasının yerel etkilerini artırabilir.

- Histamin: Arı zehri, histamin içeren bazı peptitlerin salınmasına neden olabilir. Histamin, alerjik reaksiyonlarda, inflamasyonda ve bağışıklık sistemi tepkilerinde önemli bir rol oynar. Histamin, damarların genişlemesi, düz kasların kasılması ve mukus salgılanmasının artması gibi etkilere sahip olabilir.

Kütle spektrometresi gaz veya sıvı olan bileşikler kolay hareket edebilen genellikle pozitif iyonlara dönüştürür. Oluşan iyonları kütle/yük (m/z) oranına göre ayırır. Sonuçta kütle/yük oranının sıralanmasıyla oluşturulan önemli bir sinyal grafiği elde edilir.

Arı zehrinin yukarıda sıralanan bileşenleri DPÜ-İLTEM bünyesinde yer alan LC-MS ile analiz edilmiştir. LC-MS kütle spektrumları, m/z değerlerine (yatay eksen) karşı sinyal yoğunluğu değerlerini (düşey eksen) gösteren grafiklerdir (bkz. Şekil 5.9 – 5.15). Arı zehri örneğinde, bu spektrumlar aracılığıyla melittin gibi arı zehri bileşiklerinin varlığı ve yoğunluğu belirlenebilir. Melittin, arı zehrinin ana bileşenlerinden biridir ve terapötik potansiyeli nedeniyle araştırmacılar için büyük bir ilgi odağıdır.

LC-MS kütle spektrumları, arı zehri örneğinde bulunan diğer bileşikler de tanımlamak için kullanılabilir. Arı zehrinde ayrıca enzimler, peptitler, amino asitler, lipidler ve diğer biyoaktif bileşikler gibi çeşitli bileşikler bulunabilir. LC-MS analizi, bu bileşiklerin varlığını ve miktarını belirlemek için kullanılır ve bunlar aracılığıyla arı zehrinin farmakolojik etkileri ve potansiyel kullanım alanları hakkında daha fazla bilgi elde edilebilir.

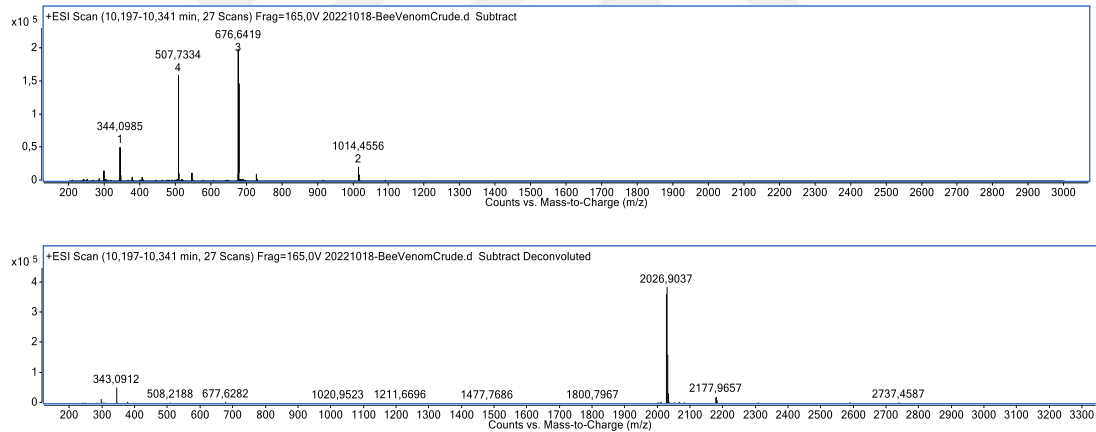
Sonuç olarak, LC-MS kütle spektrumları, arı zehri örneğinde bulunan bileşikler belirlemek, yapılarını tanımlamak ve miktarlarını belirlemek için kullanılır. Bu spektrumlar, arı zehri bileşenlerinin farmakolojik etkilerini ve potansiyel kullanım alanlarını anlamak için önemli bir araçtır. Şekil 5.9 – 5.15 arı zehrindeki çeşitli peptitlerin LC-MS sonuçlarını göstermektedir. Burada bu grafiklerin bazıları, dolayısıyla birkaç molekül için elde edilen grafikler verilmiştir. Diğer moleküller için elde edilen grafikler de benzer şekildedir. Şekil 5.9 – 5.15 arasındaki tüm grafikler (her şekilde yer alan iki grafikten alttaki) Şekil 5.8’de gösterilen HPLC grafiğinde ayrıştırılan ve her biri ayrı ayrı tüplere konulan moleküllerin molekül ağırlığı (D_a - Dalton) değerlerini gösteren grafiklerdir. Dikkat edilirse her şekilde iki grafik ve altlarında açıklayıcı bilgi yer

almaktadır. Üstteki grafikler altta yazan açıklamalarla ilişkilidir. Grafiklerin alt kısımlarında yer alan bilgiler +1, +2, +3 vb. iyonla sahip kütle/yük oranını göstermektedir. Örneğin Şekil 5.9 ele alınsın: Üstteki grafikte +2 yüklü peptitin kütlesi için (kastedilen kütle/yük oranı) pik değeri 1014,4556'dır. Bu bilgiyi kullanarak alttaki grafikteki en yüksek pik değeri olan 2026,9037 değerine çok yaklaşık olarak ulaşılabilir. Bunun için aşağıdaki (5.1) denklemi kullanılır.

$$1014,4556 = (M+2)/2 \quad (5.1)$$

Eşitliğin sağ tarafındaki 2'ler +2 yüklü iyon olduğu içindir. Benzer şekilde +3 için de $(M+3)/3$ kullanılır. Eşitlik (5.1)'den M değeri hesaplanırsa 2026,9112 Da değeri elde edilir. Burada Da kısaltması Dalton birimini kastetmektedir ve g/mol olarak bildiğimiz molekül ağırlığına karşılık gelmektedir. Benzer şekilde tüm değerler sınanabilir. Şekil 5.9'a bakılarak molekül kütle değeri yaklaşık 2026 Da olan apamin peptidinin ilgili tüpte olduğu anlaşılır.

Şekil 5.9: Apamin Peptidinin LC-MS Sonuçları



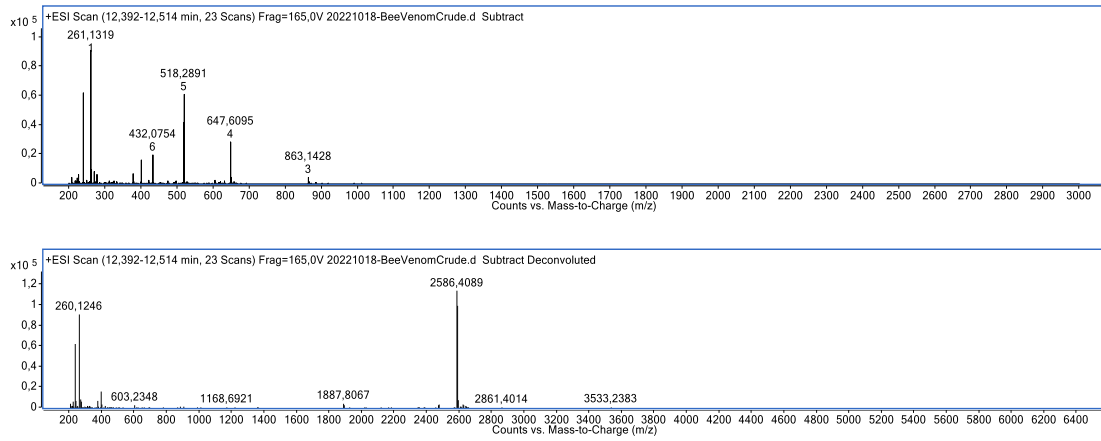
Apamin peptidinin molekül kütlesi (M): 2026.9037 Da

+2 yüklü peptitin kütlesi (M^{+2}): 1014.4556

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 676.6419

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 507.7334

Şekil 5.10: Mast Hücrelerinin Peptitinin LC-MS Sonuçları



Mast Cell-Degranelating Peptide molekül kütlesi (M): 2586.4089 Da

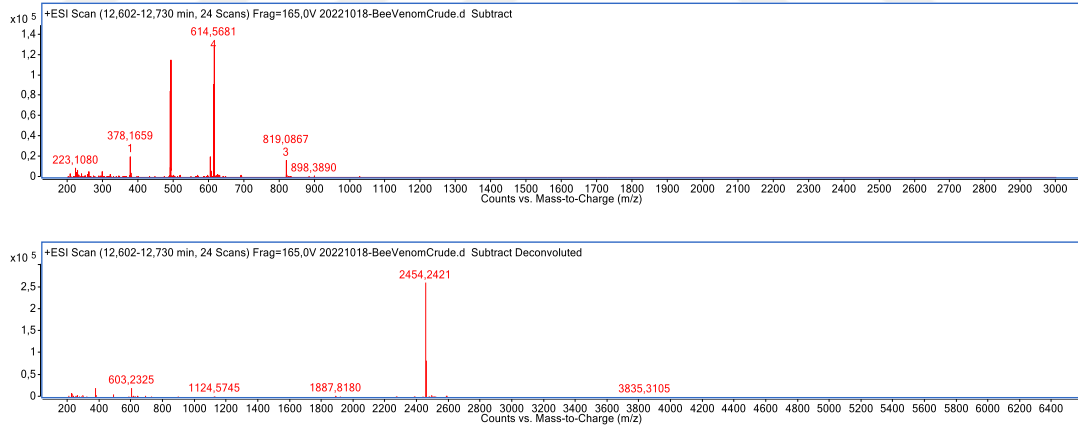
+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 863.1428

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 647.6095

+5 yüklü peptitin kütlesi (M^{+5}): 518.2891

+6 yüklü peptitin kütlesi (M^{+6}): 432.0754

Şekil 5.11: Tertiapin Peptitinin LC-MS Sonuçları

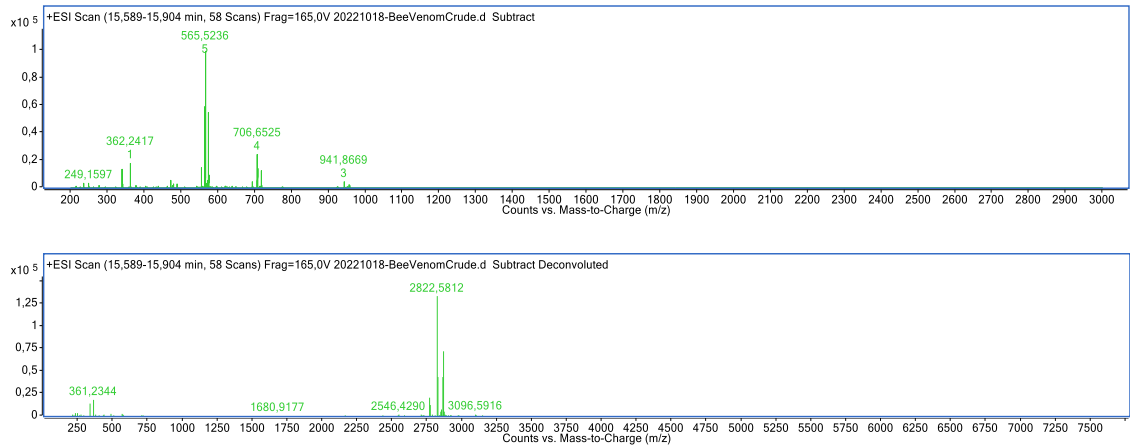


Tertiapin peptitinin molekül kütlesi (M): 2454.2421 Da

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 819.00867

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 614.5681

Şekil 5.12: Secapin-1 Peptitinin LC-MS Sonuçları



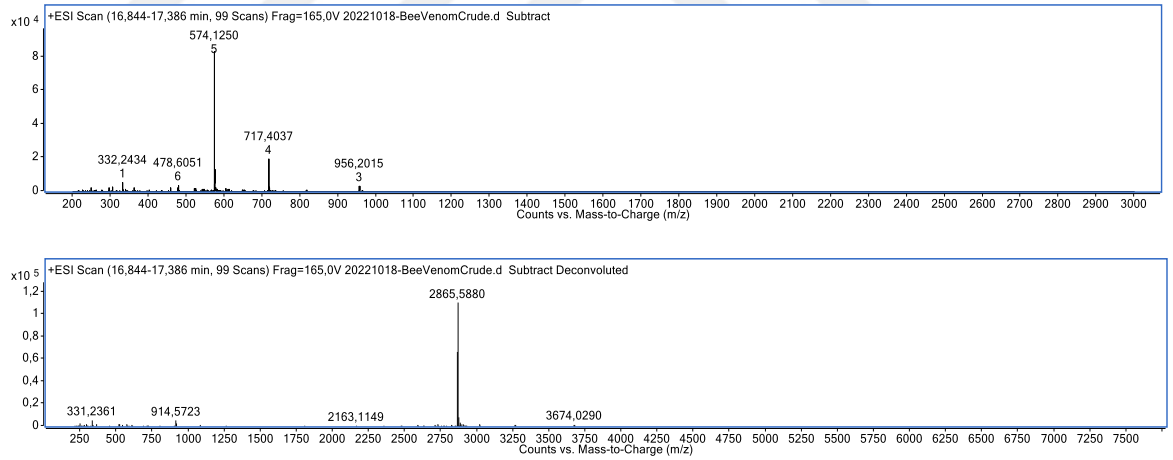
Secapin-1 peptitinin molekül kütlesi (M): 2822.5812 Da

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 941.8669

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 706.6525

+5 yüklü peptitin kütlesi (M^{+5}): 565.5236

Şekil 5.13: Secapin Peptitinin LC-MS Sonuçları



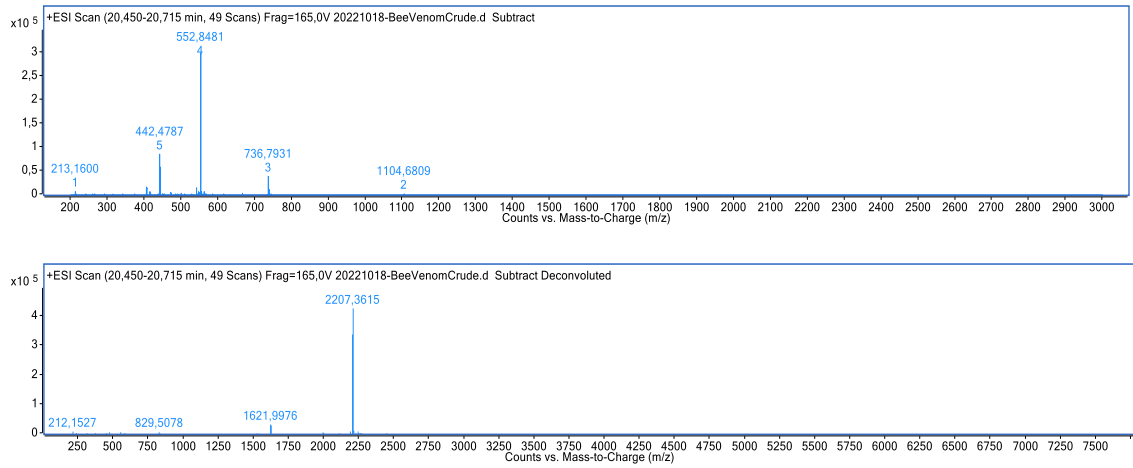
Secapin peptitinin molekül kütlesi (M): 2865.5880 Da

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 956.2015

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 717.4037

+5 yüklü peptitin kütlesi (M^{+5}): 574.1250

+6 yüklü peptitin kütlesi (M^{+6}): 478.6061

Şekil 5.14: Melittin-F Peptitinin LC-MS Sonuçları

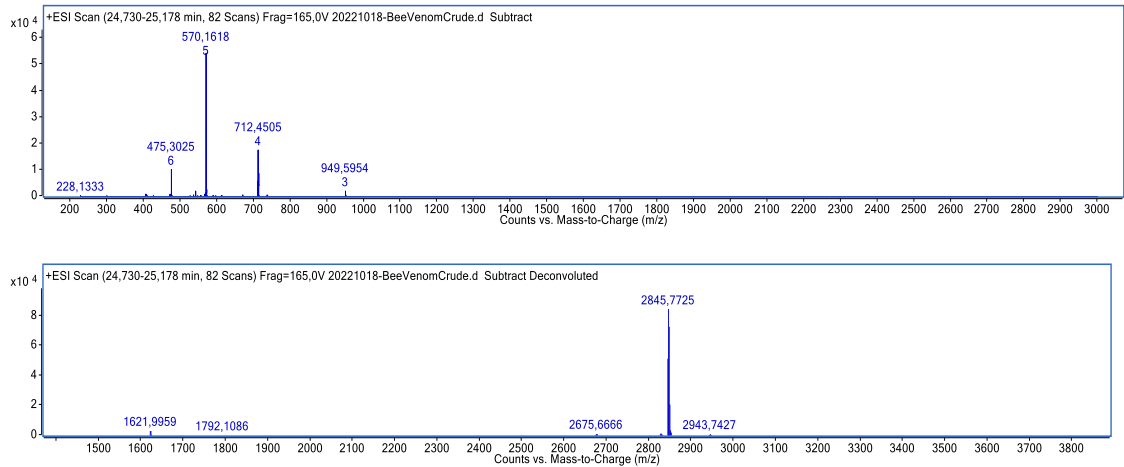
Melittin-F peptitinin molekül kütlesi (M): 2207.3615 Da

+2 yüklü peptitin kütlesi (M^{+2}): 1104.6809

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 736.7931

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 552.8481

+5 yüklü peptitin kütlesi (M^{+5}): 442.4787

Şekil 5.15: Melittin Peptitinin LC-MS Sonuçları

Melittin peptitinin molekül kütlesi (M): 2845.7725 Da

+3 yüklü peptitin kütlesi (M^{+3}): 949.5954

+4 yüklü peptitin kütlesi (M^{+4}): 712.4505

+5 yüklü peptitin kütlesi (M^{+5}): 570.1618

+6 yüklü peptitin kütlesi (M^{+6}): 475.3025

Özellikle Şekil 5.15'i oluşturan tüplerdeki moleküller melittin molekülünü göstermektedir. Molekül kütlesi yaklaşık 2845,7 Da değerinde olan melittin molekülü Şekil 5.8'deki HPLC grafiğinin belli dakikalarında tespit edilmiştir. Bu fraksiyonlar toplanıp birleştirilerek kurutulmuş ve böylece bu tez çalışmasının son aşaması olan biyolojik testlerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Melittinin LC-MS analizi sonucunda elde edilen veriler, melittinin yapısını ve peptitin karakteristik özelliklerini belirlemeye yardımcı olmuştur. Elde edilen kütle spektrumu, melittinin kütle dağılımını gösterir ve bu bilgi, peptitin kimlik doğrulaması için kullanılmıştır. Melittinin sekonder yapı özellikleri arasında α -heliks yapısı bulunur. Bu yapı, melittinin hedef hücre zarlarına etkili bir şekilde bağlanmasını sağlar. Hücre zarları, lipidlerden oluşan çift katmanlı bir yapıya sahiptir. Melittin, bu lipid çift katmanına yerleşerek zarın içine doğru penetre olabilir. α -heliks yapısı, melittinin hedef zarla etkileşime girebilmesi için uygun bir konformasyon (uzamsal şekil) sağlar.

Bu çalışmanın sonuçları, melittinin arı zehrinden verimli bir şekilde elde edilebileceğini ve potansiyel terapötik kullanımı için umut vadettiğini göstermektedir. Bununla birlikte, melittinin endüstriyel ölçekte üretimi için optimize edilmiş süreçlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Ayrıca, melittin farmakokinetiği, toksisitesi ve yan etkileri gibi konuların daha ayrıntılı bir şekilde araştırılması önemlidir. Melittinin farmakolojik özelliklerinin daha fazla araştırılması, onun terapötik kullanımının değerlendirilmesi ve klinik çalışmalara doğru ilerlemesi için gelecekteki çalışmaların odak noktası olmalıdır. Enfeksiyonlar, sağlık sorunları arasında önemli bir yer tutar ve antibiyotik direncinin artmasıyla mücadele etmek giderek zorlaşmaktadır. Bu nedenle, yeni ve etkili antimikrobiyal ajanlara olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu doktora tezi, melittinin enfeksiyon tedavisinde kullanımının potansiyelini araştırmayı amaçlamıştır.

Arı zehrinin saflaştırılması işlemi tamamlandıktan sonra bu tez çalışmasının son aşaması olan melittinin farklı mikroorganizmalara etkisi incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları aşağıda detaylandırılmıştır.

5.6. BESİLERİN HAZIRLANMASI

Bu tez çalışması için yapılan deneylerde iki tip besi ortamı kullanılmıştır; Patates agarı ve Mueller Hilton besiyeri.

5.6.1. Patates Agarı

Besi yeri hazırlanırken çalışılması planlanan mikroorganizmaların büyüyebildikleri özel isteklerine uygun besi ortamı seçilmiştir (bkz. Kesim 4.6.6). Patates agarı besi ortamı hazırlanırken kullanılan miktarlar yapılacak tekrarlara göre hesaplanmıştır.

Bu işlemler için BIOMARK firmasının hazır patates agarı kullanılmıştır (Şekil 5.16). Mantarların patates agarı üzerinde yetiştirilmesi için akademik açıdan kullanılan döngü; izolasyon, inokülasyon, büyüme ve çoğalma, koloni gelişimi, replikasyon ve saklama adımlarını içerir. Büyüme ve çoğalma sürecinde, mantarlar patates agarı üzerinde uygun sıcaklık ve nem kontrolü sağlanan bir ortamda inkübe edilir. Patates agarı, mantarların beslenmesi ve büyümesi için gerekli olan karbon kaynakları, vitaminler ve mineraller içerir. Mantarlar, patatesteki nişasta gibi karbon kaynaklarını kullanarak büyüme ve çoğalma sürecini sürdürür.

Koloni gelişimi aşamasında, mantarlar patates agarı üzerinde büyüdükçe, karakteristik koloniler oluştururlar. Bu koloniler genellikle farklı morfolojik ve renk özelliklerine sahip olabilir. Koloni gelişimi, mantar türüne ve büyüme koşullarına bağlı olarak değişebilir.

Şekil 5.16: Kullanılan Patates Agarı



Tartılan patates agarı (19,50 gram) distile su ile çözelti formuna dönüştürüldü. 500 mL distile su kaynatılarak sıcak su şeklinde agarın üzerine boşaltıldı (Şekil 5.17). Kaynatılmaya bırakılan ve kaynayınca karıştırarak alınan besi, otoklavda 2 saat tutuldu (Şekil 5.18). Şekil 5.19’da gösterildiği gibi iki saat sonrasında otoklavdan çıkarılan besi steril petrilere 1 cm olacak kalınlıkta döküldü. Pasajlama işlemi için bir gün önce ekim yapılan bakteriler 24 saat etüvde çoğaltıldıktan sonra pasajlama işlemine geçildi (Şekil 5.20).

Şekil 5.17: Kaynatılan Distile Suyun Agara Boşaltılması



Şekil 5.18: Besinin Kaynatılması ve Otoklavda Tutulması



Şekil 5.19: Besinin Steril Petrilere Dökülme Aşaması



Şekil 5.20: Ekim ve Pasajlama İşlemi



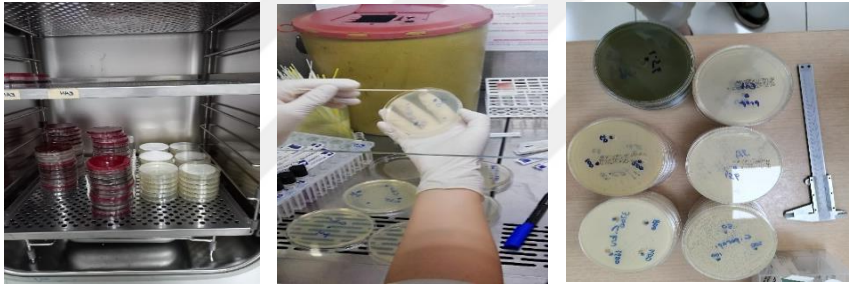
Spektrofotometre, belirli bir maddenin çözelti veya gaz fazındaki absorpsiyon veya transmitansını ölçmek için kullanılan bir cihazdır (Şekil 5.21). Bu yöntemde, ultraviyole (UV) ve görünür (Vis) ışık aralığında maddenin absorpsiyon spektrumu 50.0 mV ölçüldü. UV-Vis spektrofotometresi, pasajlanacak bakterileri eşit yoğunlukta tutmak için, absorbe edilen veya geçirilen ışığın dalga boylarını ve yoğunluklarını belirlemek için

kullanıldı. Bu işlem konsantrasyonları eşitlemek için yapıldı. Şekil 5.18’de gösterildiği gibi bakteri zonlarının besi agarlarına tek zon düşürme yöntemi için boşluksuz, zigzaglı yıldız şeklinde ekim tekniği kullanılarak her 60⁰’de bir saat yönünde bir kere döndürmek şartıyla bakteri ekimleri temiz kabindeki çeker ocakta gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.21: Kullanılan Spektrofotometre



Şekil 5.22: Altı Farklı Mikroorganizmayla Etüv (Sol), Ekim (Orta) ve Zon Ölçümü (Sağ) Çalışması



5.7. MELİTTİN, PROPOLİS VE AMPİSİLİNİN MİKROORGANİZMALARA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Melittin peptitinin hastane ve insan enfeksiyonlarında en yaygın olarak görülen altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisinin, ilaç olup olmayacağının sonuçları bu kısımda anlatılmıştır. Burada yapılan çalışma şöyle özetlenebilir: Melittinin altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisi kuyucuk, damlatma ve disk difüzyonu yöntemleri ile sınanmış, melittin ile karşılaştırmak için benzer işlemler propolis ve ampisilin ile tekrarlanmıştır. Bu etkilerin sonuçları aşağıda detaylandırılmıştır. Tüm deneyler üçer kere tekrarlanmıştır. Ancak bu kesimde verilen her şekil bir temsili göstermektedir.

5.7.1. *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis, *Candida* cinsi maya benzeri bir mantar türüdür ve insanlar dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda yaygın olarak bulunur. Normal floranın bir

parçası olarak deri, ağız, sindirim sistemi ve genital bölgede bulunabilir. Ancak bazı durumlarda *Candida parapsilosis* enfeksiyonlarına neden olabilir. *Candida delozyon* metotlarının her çalışmada taze pasajlanarak ekimlerinin gerçekleştirildiği preparatlar Şekil 5.23'te gösterilmiştir.

Şekil 5.23: Pasajlanmış *Candida Parapsilosis* Mikroorganizması



Candida parapsilosis'un neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

Kan Dolaşımı Enfeksiyonları: *Candida parapsilosis*, kan dolaşımına girdiğinde ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar genellikle hastanelerdeki invaziv cihazlar (kateterler, ventilatörler vb.) veya uzun süreli damar yoluna erişim gerektiren tedavilerle ilişkilidir. Kan dolaşımı enfeksiyonları, ateş, titreme, hızlı solunum, hızlı kalp atışı gibi belirtilerle kendini gösterebilir.

Yara Enfeksiyonları: Cerrahi müdahaleler sonrasında veya deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda *Candida parapsilosis* enfeksiyonları ortaya çıkabilir. Bu tür enfeksiyonlar genellikle yarada kızarıklık, şişlik, ağrı ve cehat gibi belirtilerle kendini gösterir.

Göz Enfeksiyonları: *Candida parapsilosis*, kontakt lens kullanıcılarında veya göz cerrahisi geçiren kişilerde göz enfeksiyonlarına neden olabilir. Bu durum ciddi görme kaybına yol açabilir.

Solunum Yolu Enfeksiyonları: *Candida parapsilosis*, solunum yollarında enfeksiyona neden olabilir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde veya ventilatör kullanımı gerektiren hastalarda görülebilir. Solunum yolu enfeksiyonları öksürük, nefes darlığı ve göğüs ağrısı gibi belirtilerle kendini gösterebilir.

Candida parapsilosis gibi *Candida* türleri melittine de duyarlıdır. Melittin, *Candida parapsilosis*'un hücre zarına etki ederek zar bütünlüğünü bozabilir ve hücre içindeki işlevleri etkiler. Bu şekilde, melittin *Candida parapsilosis*'un büyümesini ve çoğalmasını engeller.

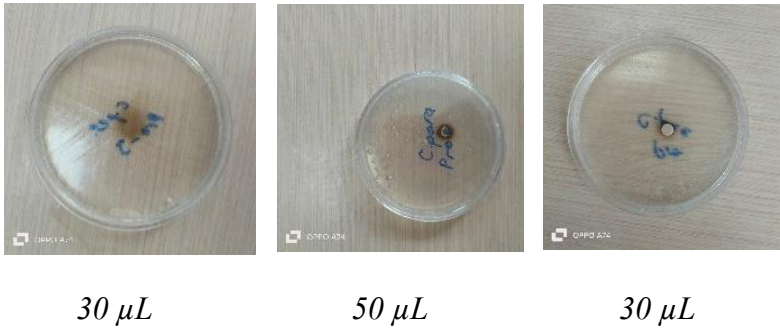
Candida parapsilosis ile propolis arasındaki ilişki, propolisin *Candida* türleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda araştırılmıştır. Propolis, *Candida parapsilosis*'un büyümesini ve çoğalmasını engeller, hücre zarını etkiler ve hücre içindeki işlevleri bozabilir.

Ampisilin ise bir antibiyotiktir ve genellikle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Ancak ampisilin, mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkili değildir çünkü mantarlara karşı etkili olan bir antibiyotik değildir.

Candida parapsilosis enfeksiyonu genellikle antifungal ilaçlarla tedavi edilir. Öncelikle hekimler, enfeksiyonun yayılma derecesini ve hastanın durumunu değerlendirerek uygun bir tedavi planı oluştururlar. Antifungal ilaçlar genellikle oral tabletler, krem veya enjektabl formlarda kullanılır. Tedavi süresi ve dozu, enfeksiyonun şiddetine ve hastanın durumuna bağlı olarak değişir. Özetlemek gerekirse, *Candida parapsilosis* enfeksiyonlarında ampisilin kullanımı etkili değildir.

Deney sonucuna göre propolisin *Candida parapsilosis* üzerinde her üç yöntemde de zon oluşturmadığı, yani etkili olmadığı görülmüştür. Sonuçlar Şekil 5.24'te gösterilmiştir. Burada propolis 30 μ L damlatma (solda), 50 μ L kuyucuk (ortada) ve 30 μ L disk difüzyonu (sağda) yöntemleriyle uygulanmıştır.

Şekil 5.24: Propolisin *Candida Parapsilosis* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda)



Candida parapsilosis, insanlar dahil birçok canlıda doğal olarak bulunan bir maya türüdür. Ancak, zayıflamış bağışıklık sistemi olan kişilerde enfeksiyona neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar genellikle cilt, tırnaklar, mukoza zarları ve kan dolaşımı gibi alanları etkiler. Tedavi edilmediğinde, *Candida parapsilosis* enfeksiyonları ciddi sorunlara yol açabilir.

Şekil 5.25 – 5.27, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *Candida parapsilosis* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon (1,56 – 3200 μ L aralığı) kullanılırken damlatma metodunda 4 farklı delozyon (400, 800, 1600 ve 3200 μ L) kullanılmıştır. Çünkü 400 μ L'nin altındaki delozyonlar kontrollü testlerde iyi sonuç vermemiştir. Bu durum diğer mikroorganizmalarda da bu şekilde uygulanmıştır. Delozyon, bir proteinin amino asit dizisinden bir veya daha fazla amino asidin çıkarılmasıyla oluşan bir durumu ifade eder. Bu durum, proteinin yapısını ve işlevini etkileyebilir çünkü amino asitler proteinin üç boyutlu yapısını belirler ve işlevsel bölgeleri oluşturur.

Deneyler üç yöntemde de melittinin *Candida parapsilosis* üzerinde etkin olmadığını göstermiştir.

Şekil 5.28 ise ampisilinin *Candida parapsilosis* üzerindeki etkisini göstermektedir. Ancak etkin olmadığı gözlemlenmiştir.

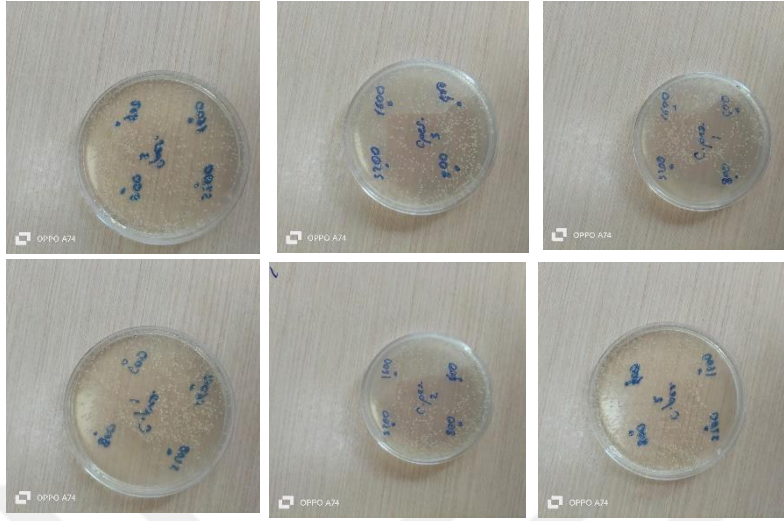
Şekil 5.25: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *Candida Parapsilosis* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.26: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *Candida Parapsilosis* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.27: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *Candida Parapsilosis* Üzerindeki Etkisi. Şekiller Dört Farklı Delozyon İçin Üç Tekrarı (Düz ve Ters Çekim) Göstermektedir



Şekil 5.28: Ampisilinin *Candida Parapsilosis* Üzerindeki Etkisi



Ampisilin, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkilidir. *Candida parapsilosis* gibi mantarlar üzerinde etkili değildir, çünkü antibiyotikler bakterilere yönelik çalışırken, mantarlar farklı bir yapıya sahiptir ve antibiyotiklere tepki vermezler.

Özetle, melittin, propolis ve ampisilin *Candida parapsilosis* üzerinde etkin değildir.

5.7.2. *Candida krusei*

Candida krusei, Candida cinsine ait bir mantar türüdür. Bu mantar, genellikle çevrede bulunan bir mikroorganizmadır ve insanlarda enfeksiyonlara neden olabilir. *Candida krusei* enfeksiyonları genellikle bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde ortaya çıkar. Candida delozyon metotlarının her çalışmada taze pasajlanarak ekimlerinin gerçekleştirildiği preparatlar Şekil 5.29'da gösterilmiştir.

Şekil 5.29: Pasajlanmış *Candida Krusei* Mikroorganizması



Candida krusei 'nin neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

Kandidemi: *Candida krusei*, kana yayılan enfeksiyonlara neden olabilir. Bu durumda mantarlar vücudun farklı bölgelerine yayılabilir ve ciddi bir sağlık sorunu haline gelebilir. Kandidemi, immün yetmezlikli hastalar, kanser hastaları, organ nakli yapılan hastalar ve uzun süreli yoğun bakımda kalan hastalarda daha sık görülür.

İdrar yolu enfeksiyonları: *Candida krusei*, idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olabilir. Bu enfeksiyonlar genellikle idrar yolunda rahatsızlık, sık idrara çıkma, idrarda kanama gibi belirtilerle kendini gösterir. İdrar yolu enfeksiyonları genellikle kadınlarda daha sık görülür.

Solunum yolu enfeksiyonları: *Candida krusei*, solunum yollarında enfeksiyonlara yol açabilir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde entübe edilen hastalarda, solunum cihazına bağlı pnömoni gelişimiyle ilişkilendirilebilir.

Yara enfeksiyonları: Cerrahi operasyonlar sonrası veya cilt yaralanmaları durumunda *Candida krusei*, yara enfeksiyonlarına neden olabilir. Bu enfeksiyonlar genellikle yaranın etrafında kızarıklık, şişlik, ağrı ve irin oluşumuyla kendini gösterir. *Candida krusei* enfeksiyonları, genellikle diğer *Candida* türlerine göre daha dirençli olabilir. Bu nedenle, tedavi seçeneklerini belirlemek için genellikle mantarın ilaca duyarlılığının belirlenmesi önemlidir. Tedavi genellikle antifungal ilaçlarla yapılır, ancak bazı durumlarda cerrahi müdahale de gerekebilir.

Deney sonucuna göre propolisin *Candida krusei* üzerinde her üç yöntemde de zon oluşturmadığı, yani etkili olmadığı görülmüştür. Sonuçlar Şekil 5.30'da gösterilmiştir. Burada propolis 30 µL damlatma (solda), 50 µL kuyucuk (ortada) ve 30 µL disk difüzyonu (sağda) yöntemleriyle uygulanmıştır.

Şekil 5.30: Propolisin *Candida Krusei* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) Ve Disk Difüzyonu (Sağda)



30 μ L

50 μ L

30 μ L

Şekil 5.31 – 5.33, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *Candida krusei* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon kullanılırken damlatma metodunda 4 farklı delozyon kullanılmıştır. Deneyler üç yöntemde de melittinin *Candida krusei* üzerinde etkin olmadığını göstermiştir.

Şekil 5.34 ise ampisilinin *Candida krusei* üzerindeki etkisini göstermektedir. Ancak etkin olmadığı gözlemlenmiştir.

Şekil 5.31: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *Candida Krusei* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.32: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *Candida Krusei* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.33: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *Candida Krusei* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.34: Ampisilinin *Candida Krusei* Üzerindeki Etkisi



Candida krusei, insanların ve hayvanların mukoza zarlarında bulunan bir maya türüdür. Bazı araştırmalar propolisin *Candida* türlerine karşı etkili olabileceğini göstermiştir. Propolis özleri, *Candida* türlerinin büyümesini inhibe edebilen antifungal bileşikler içerebilir.

Bir çalışma, propolisin *Candida* türlerine karşı antifungal etkisini değerlendirmiştir. Bu çalışmada, propolis özlerinin *Candida albicans*, *Candida glabrata* ve *Candida tropicalis* gibi diğer *Candida* türlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Ancak, *Candida krusei*'ye karşı özel bir değerlendirme yapılmamıştır.

Candida enfeksiyonları için tedavi seçenekleri genellikle antifungal ilaçlar içerir. Ancak, bazı araştırmalar propolisin antifungal etkilerini desteklemektedir. *Candida krusei* ile propolisin spesifik etkileşimleri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, propolis antifungal özelliklere sahiptir ve *Candida* türlerine karşı etkili olabilir. Ancak, *Candida krusei*'nin propolise karşı duyarlılığı hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

5.7.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*), normalde insan ve hayvanların bağırsak florasında bulunan bir bakteri türüdür. Ancak bazı suşları, çeşitli hastalıklara neden olabilen patojenik özelliklere sahiptir. Şekil 5.35 pasajlanan *Escherichia coli* mikroorganizmasını göstermektedir. Kesim 5.7.3'ün başından 5.7.6'nın sonuna kadar; yani bu ve sonraki dört mikroorganizmanın ekildiği besiyeri Mueller Hinton agarıdır. Patates agarının aksine burada kullanılan Mueller Hinton agar tamamen hazır kullanılmıştır.

Şekil 5.35: Pasajlanmış *Escherichia Coli* Mikroorganizması



Escherichia coli 'nin neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

Gastroenterit: *Escherichia coli*, yiyecek veya su ile bulaşık gıdaların tüketilmesi sonucu bağırsak enfeksiyonuna neden olabilir. Bu tür bir enfeksiyon genellikle ishale, karın ağrısına, kusmaya ve bazen ateşe neden olur. *E. coli*'nin bazı suşları, *Enterotoksijenik E. coli* (*ETEC*) olarak adlandırılır ve seyahat ishali olarak bilinen hastalığa yol açar.

İdrar Yolu Enfeksiyonları: *Escherichia coli*, idrar yolunda enfeksiyonlara neden olan yaygın bir patojendir. Bu enfeksiyonlar sıklıkla kadınlarda daha yaygındır. Belirtiler arasında sık idrara çıkma, idrar yaparken yanma hissi, bulanık idrar, idrarda kan ve karın ağrısı yer alır. İdrar yolu enfeksiyonları, mesane enfeksiyonu (sistit) veya böbrek enfeksiyonu (piyelonefrit) şeklinde ortaya çıkabilir.

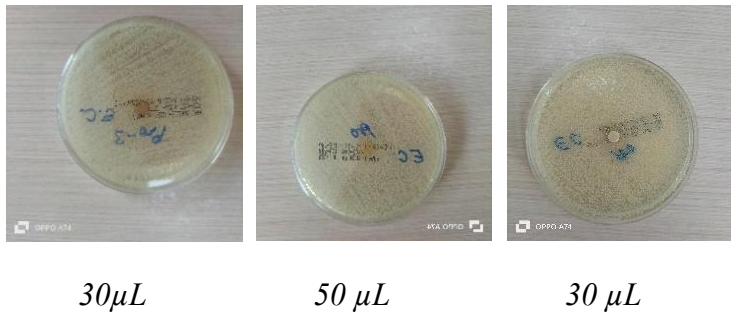
Hemolitik Üremik Sendromu (HÜS): Bazı *Escherichia coli* suşları, hemolitik üremik sendromu (HÜS) olarak bilinen ciddi bir hastalığa neden olabilir. HÜS, genellikle çocuklarda görülür ve kan hücrelerinin parçalanmasına, böbrek yetmezliğine ve trombositopeniye (düşük trombosit sayısı) yol açabilir. Bu durum, gıda kaynaklı *E. coli* enfeksiyonlarından kaynaklanabilir, özellikle kontamine et veya süt ürünleri tüketimiyle ilişkilendirilir.

Menenjit: *Escherichia coli*, nadir durumlarda yeni doğan bebeklerde menenjitte neden olabilir. Bu enfeksiyon, bebeğin doğum kanalından geçtiğinde veya enfekte bir alandan yayıldığında ortaya çıkabilir. Menenjit, beyin ve omurilik zarlarının iltihaplanmasıyla karakterizedir ve ateş, baş ağrısı, ense sertliği ve nörolojik semptomlar gibi belirtiler gösterir.

Escherichia coli'nin farklı suşları farklı hastalıklara neden olabilir ve hastalığın şiddeti kişiden kişiye değişebilir. *Escherichia coli*, bağırsaklarda doğal olarak bulunan ve çoğu zaman zararsız olan bir bakteri türüdür. Bununla birlikte, bazı *E. coli* suşları insanlarda enfeksiyonlara neden olabilir ve bazı durumlarda ciddi hastalıklara yol açabilir.

Propolis, antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen bir maddedir. Bu nedenle, *E. coli* gibi bakterilerle mücadelede potansiyel olarak etkili olabilir. Bazı araştırmalar, propolisin *E. coli*'nin büyümesini inhibe edebildiğini ve enfeksiyonlarla ilişkili semptomları azaltabileceğini göstermiştir. Şekil 5.36 Propolisin üç farklı yöntemle; 30 µL damlatma (solda), 50 µL kuyucuk (ortada) ve 30 µL disk difüzyonu (sağda), *E. Coli* üzerindeki etkisini göstermektedir. Sonuç: propolis etkin değildir.

Şekil 5.36: Propolisin *E. Coli* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda)



Propolisin *E. coli* üzerindeki etkisi ve bunun insan sağlığına olan potansiyel faydaları konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, propolis ve *Escherichia coli* arasındaki ilişki, propolisin antimikrobiyal özelliklerinin *E. coli* üzerindeki etkisi ve potansiyel sağlık faydalarını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir. *E. coli*, bir bakteri türüdür ve genellikle bağırsaklarda bulunan bir mikroorganizmadır. Bu bakteri, insanlar ve hayvanlar dahil olmak üzere birçok organizmada doğal olarak bulunur.

Şekil 5.37 – 5.38, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *E. coli* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon kullanılırken damlatma metodunda yine 4 farklı delozyon kullanılmıştır. Deneyler kuyucuk ve disk difüzyonu yöntemlerinde melittinin *E. coli* üzerinde etkin olmadığını, ancak damlatma yönteminde etkin olduğunu göstermiştir. Bu etkinlik Şekil 5.39'daki zonlardan görülmektedir.

Şekil 5.37: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *E. Coli* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.38: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *E. Coli* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.39: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *E. Coli* Üzerindeki Etkisi



Ampisilin, bir antibiyotiktir ve geniş spektrumlu bir penisilin türevidir. *E. coli* gibi bazı bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Ampisilin, bakteriyel hücre duvarının sentezini inhibe ederek bakterilerin büyümesini durdurur ve ölümlerine neden olabilir. Bu nedenle, *E. coli* enfeksiyonlarına sahip bazı durumlarda ampisilin gibi antibiyotikler etkili bir tedavi olabilir.

Ancak, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi ve antibiyotik direncinin yayılması önemli bir küresel sağlık sorunudur. Bazı *E. coli* suşları, doğal

olarak veya genetik mutasyonlar sonucu antibiyotiklere direnç kazanabilir. Bu, ampisilin gibi antibiyotiklerin *E. coli* enfeksiyonlarında etkisiz hale gelebileceği anlamına gelir. Özetlemek gerekirse, *E. coli*, insanlarda ve hayvanlarda doğal olarak bulunan bir bakteridir. Ampisilin ise *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir.

Şekil 5.40 ampisilinin *E. coli* üzerinde etkin olduğunu göstermektedir.

Şekil 5.40: Ampisilinin *E. Coli* Üzerindeki Etkisi



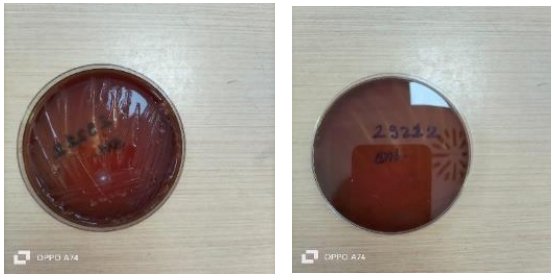
E. coli genellikle bağırsak florasında bulunan bir bakteri türüdür. İnsan ve diğer omurgalılarda yaygın olarak bulunur. Birçok *E. coli* suşu zararsızdır ve sindirim sistemi işlevlerine katkıda bulunur. Bununla birlikte, bazı *E. coli* suşları da insanlarda enfeksiyonlara neden olabilir. Ampisilin ise yaygın olarak kullanılan bir antibiyotiktir ve genellikle Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır.

Patojenik (hastalık yapıcı) *E. coli* suşları, bağırsak enfeksiyonlarına ve diğer sağlık sorunlarına yol açabilir. Örneğin, bazı suşlar gıda kaynaklı hastalıklara, idrar yolu enfeksiyonlarına ve bağırsak enfeksiyonlarına neden olabilir. Bu tür enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler kullanılabilir ve ampisilin, *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili bir seçenek olacaktır.

5.7.4. *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium, Enterococcus cinsi bakterilerden biridir ve genellikle gastrointestinal sistemde bulunur. Bu bakteri, normal floranın bir parçası olarak insanda ve diğer hayvanlarda bulunabilir. Ancak bazı durumlarda enfeksiyonlara neden olabilir. *Enterococcus faecium* enfeksiyonları genellikle hastanelerde ve sağlık hizmeti tesislerinde görülür. Bu tür enfeksiyonlar, özellikle zayıf bağışıklık sistemine sahip olan kişilerde ve uzun süreli antibiyotik kullanımı veya invaziv tıbbi prosedürler gibi risk faktörleri olan hastalarda daha yaygın olarak ortaya çıkar. Şekil 5.41 pasajlanan *Enterococcus faecium* mikroorganizmasını göstermektedir.

Şekil 5.41: Pasajlanmış *Enterococcus Faecium* Mikroorganizması



Enterococcus faecium 'un neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

İdrar Yolu Enfeksiyonları: *Enterococcus faecium*, idrar yolu enfeksiyonlarının bir nedeni olabilir. İdrar yolunda ağrı, sık idrara çıkma, idrarda kan veya bulanıklık gibi belirtiler ortaya çıkabilir.

Kan Enfeksiyonları: *Enterococcus faecium*, kan dolaşımına girdiğinde ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar genellikle hastanelerdeki invaziv cihazlar, cerrahi müdahaleler veya zayıf bağışıklık sistemi olan hastalarla ilişkilidir.

Yara Enfeksiyonları: Cerrahi müdahaleler sonrasında veya deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda *Enterococcus faecium* enfeksiyonları ortaya çıkabilir. Bu tür enfeksiyonlar genellikle yarada kızarıklık, şişlik, ağrı ve cehalet gibi belirtilerle kendini gösterir.

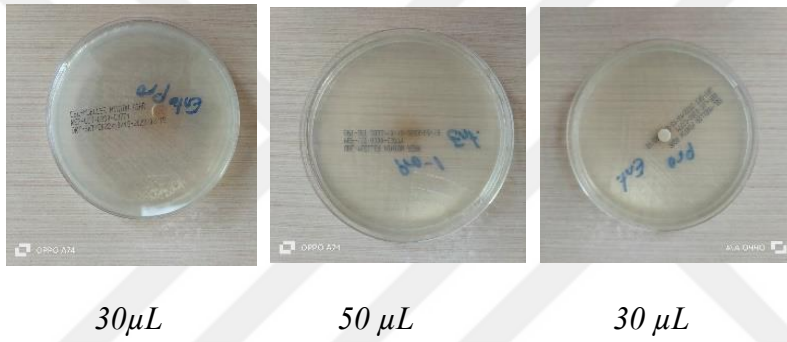
Menenjit: Nadir durumlarda, *Enterococcus faecium* beyin ve omurilik sıvısında enfeksiyona neden olabilir ve menenjitte yol açabilir. Bu durum ciddi bir tıbbi acil durum olabilir.

Enterococcus faecium enfeksiyonları genellikle antibiyotiklere dirençli olabilen bir mikrop türüdür. Bu nedenle, tedavi seçenekleri sınırlı olabilir ve uzman tıbbi danışma gerektirebilir. Enfeksiyonların tedavisinde genellikle başka antibiyotikler veya kombinasyon tedavileri kullanılır. *Enterococcus faecium* enfeksiyonlarından korunmak için hijyen kurallarına dikkat etmek, enfeksiyon kontrol önlemlerini uygulamak ve gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek önemlidir. *Enterococcus faecium*, bir bakteri türüdür ve genellikle insanların ve hayvanların bağırsağında bulunan normal flora olarak adlandırılan bakterilerden biridir. Propolis ise arılar tarafından üretilen ve arı kovanının korunmasında kullanılan bir arı ürünüdür.

Propolis, antimikrobiyal özelliklere sahip birçok bileşen içerir. Araştırmalar, propolisin *Enterococcus faecium* gibi bakterilere karşı etkili olabileceğini göstermektedir.

Propolisin antimikrobiyal etkisi, bakteri hücrelerinin zarını bozarak veya metabolik faaliyetlerini engelleyerek gerçekleşebilir. *Enterococcus faecium* ile propolis arasındaki ilişki, propolisin bu bakteri türüne karşı potansiyel bir etkisi olduğunu gösteren araştırmaların bulunmasıyla ilgilidir. Ancak, bu araştırmalar laboratuvar ortamında yapılan çalışmalardır ve propolisin *Enterococcus faecium*'u tedavi etmek veya kontrol altına almak için kullanılması için klinik araştırmaların daha fazla yapılması gerekmektedir. Şekil 5.42 propolisin üç farklı yöntemle; 30 μ L damlatma (solda), 50 μ L kuyucuk (ortada) ve 30 μ L disk difüzyonu (sağda), *Enterococcus faecium* üzerindeki etkisini göstermektedir. Sonuç: propolis etkin değildir.

Şekil 5.42: Propolisin *Enterococcus Faecium* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) Ve Disk Difüzyonu (Sağda).



Enterococcus faecium'un propolise tepki vermeme durumu, birkaç olası nedeni içerebilir:

Antibiyotik direnci: *Enterococcus faecium* suşları, yaygın olarak antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilir. Bu nedenle, propolis gibi doğal antimikrobiyal maddelerin, dirençli suşlara karşı etkili olmayabileceği düşünülebilir.

Mekanizma farklılıkları: Propolis, genellikle içeriğindeki fenolik bileşikler, flavonoidler ve diğer aktif bileşenler aracılığıyla antimikrobiyal etkilerini gösterir. Ancak *Enterococcus faecium* suşları, propolise karşı bazı mekanizmalarla direnç geliştirmiş olabilir. Örneğin, bakterinin hücre duvarında veya membranında değişiklikler yaparak veya enzimatik aktivitelerini değiştirerek propolisin etkisini engelleyebilirler.

Konsantrasyon veya maruz kalma süresi: Propolis, bakterisidal etkilerini belirli bir konsantrasyon ve maruz kalma süresinde gösterebilir. *Enterococcus faecium*, belirli bir propolis konsantrasyonuna veya maruz kalma süresine karşı direnç geliştirmiş olabilir.

Enterococcus faecium, gram-pozitif bir bakteri türüdür ve genellikle insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde bulunur. Melittin ise antimikrobiyal etkileri olan bir peptittir ve geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı etkilidir. Eğer *Enterococcus faecium*, farklı Melittin konsantrasyonlarına maruz kaldığında farklı tepkiler gösteriyorsa, Melittinin bakteri üzerinde bir etkisi olduğunu düşünebiliriz. Ancak, deneylerimizde *Enterococcus faecium* 12 farklı delizyonda melittin konsantrasyonlarına pozitif tepki vermemiştir. Şekil 5.43-5.44, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *Enterococcus faecium* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon kullanılmıştır. Deneyler kuyucuk ve disk difüzyonu yöntemlerinde melittinin *Enterococcus faecium* üzerinde etkin olmadığını göstermiştir. Diğer taraftan, damlatma metodunda yine 4 farklı delozyon kullanılmıştır ve Şekil 5.45'ten de görüldüğü gibi damlatma yönteminde melittin *Enterococcus faecium* üzerinde etkindir.

Şekil 5.43: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *Enterococcus Faecium* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.44: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *Enterococcus Faecium* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.45: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *Enterococcus Faecium* Üzerindeki Etkisi



Peptit yapılı ilaç kitleri genellikle bakteriyel enfeksiyonlarla mücadele etmek için kullanılan birçok farklı peptitin kombinasyonunu içerir. Ancak her bakteri türü, farklı özelliklere ve direnç mekanizmalarına sahip olduğu için, bir peptit yapılı ilacın *Enterococcus faecium* gibi bir organizmaya etki etmeme olasılığı vardır. Bu tür bir durumda, farklı bir antibiyotik veya tedavi yöntemi denenebilir veya sağlık uzmanlarının önerdiği başka bir tedavi stratejisi araştırılabilir.

Enterococcus faecium, bazı antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençli olabilir veya antibiyotik kullanımı sırasında direnç geliştirebilir. Ampisilin direnci de *Enterococcus faecium* suşlarında sıkça gözlenen bir durumdur. Ampisilin ve *Enterococcus faecium* arasındaki ilişki, ampisilin tedavisi sırasında bu bakteri türünün direncinin gözlemlenebileceği ve ampisilinin etkili olmayabileceği anlamına gelir. Bu durum, *Enterococcus faecium*'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde zorluklara yol açabilir. Tedavi seçeneklerini belirlemek ve uygun bir antibiyotik seçimi yapmak için, enfeksiyonun ciddiyeti ve *Enterococcus faecium* suşunun antibiyotik duyarlılık profili gibi faktörlerin dikkate alınması gerekmektedir.

Yapılan deneylerde ampisilinin *Enterococcus faecium* üzerinde etkin olmadığı Şekil 5.46'da görülmektedir.

Şekil 5.46: Ampisilinin *Enterococcus Faecium* Üzerindeki Etkisi



Ancak son yıllarda, *Enterococcus faecium*'un antibiyotiklere karşı direncinin artmasıyla ilgili endişeler ortaya çıkmıştır. Özellikle, ampisilin ve diğer penisilinlerle karşı karşıya olan enterokok suşlarında direnç artmıştır. Bu direnç, beta-laktamaz

enzimleri üreten veya hücre duvarının yapısını değiştiren genetik mutasyonlar sonucunda ortaya çıkabilmektedir.

Ampisilin, *Enterococcus faecium* enfeksiyonlarının tedavisinde bir seçenek olabilir, ancak dirençli suşlara karşı etkisiz olabilmektedir. Bu nedenle, *Enterococcus faecium* enfeksiyonlarıyla mücadele etmek için alternatif antibiyotikler veya kombinasyon tedavileri kullanılması gerekmektedir.

5.7.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, genellikle çevrede yaygın olarak bulunan bir bakteridir. İnsanlarda ve diğer canlılarda enfeksiyonlara neden olabilen bir patojendir. Bu bakteri, çeşitli hastalıklara sebep olabilir ve özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan veya kronik hastalıkları olan kişilerde ciddi sorunlara yol açabilir. Pasajlanan *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizması Şekil 5.47’de gösterilmiştir.

Şekil 5.47: Pasajlanmış *Pseudomonas Aeruginosa* Mikroorganizması



Pseudomonas aeruginosa 'nın neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

Solunum yolu enfeksiyonları: Bu bakteri, akciğer enfeksiyonlarına ve zatürre gibi ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilir. Özellikle solunum cihazlarına bağlı hastalarda ve zayıf bağışıklık sistemine sahip kişilerde risk daha yüksektir.

İdrar yolu enfeksiyonları: *Pseudomonas aeruginosa*, üriner sistem enfeksiyonlarına da yol açabilir. İdrar yolu enfeksiyonları belirtileri arasında sık idrara çıkma, idrarda kan veya bulanıklık, idrar yaparken ağrı veya yanma bulunur.

Deri ve yara enfeksiyonları: Bu bakteri, ciltte açık yaralara veya yanıklara girebilir ve enfeksiyona neden olabilir. Özellikle yanık hastaları, ameliyat sonrası yara yerleri veya bacak ülseri gibi açık yaraları olan kişiler risk altındadır.

Kan dolaşımı enfeksiyonları: *Pseudomonas aeruginosa*, damar yoluyla kan dolaşımına girebilir ve ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar

genellikle hastane ortamında veya yoğun bakım ünitelerinde bulunan hastalarda görülür.

Göz enfeksiyonları: Kontakt lens kullanıcıları gibi göz sağlığı açısından risk altında olan kişilerde *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları görülebilir. Göz kızarıklığı, iltihaplanma, ağrı ve görme kaybı gibi belirtiler ortaya çıkabilir.

Pseudomonas aeruginosa'nın neden olduğu enfeksiyonlar genellikle tedavi edilmesi zor olabilir çünkü bu bakteri antibiyotiklere karşı dirençli olabilir. Tedavi genellikle birden fazla ilacın kombinasyonunu içerir ve hastanın durumuna bağlı olarak uzun sürebilir.

Pseudomonas aeruginosa, gram negatif bir bakteri türüdür ve insanlar ve hayvanlar üzerinde enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir. Özellikle zayıf bağışıklık sistemine sahip hastalarda, yara enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve daha ciddi durumlarda kan dolaşımı enfeksiyonlarına sebep olabilir.

Propolis, güçlü antioksidan özelliklere sahip olan bileşikler içerir. *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları için ampisilin tek başına genellikle etkili bir tedavi seçeneği değildir. Kombinasyon tedavisi veya başka antibiyotiklerle birlikte kullanılması gerekmektedir. Propolis, doğal olarak antimikrobiyal özelliklere sahip olan birçok bileşeni içerir. Propolis içerisindeki flavonoidler, fenolik asitler ve diğer bileşenler, *Pseudomonas aeruginosa*'nın büyümesini ve çoğalmasını engelleyici etki gösterebilir. Şekil 5.48 propolisin üç farklı yöntemle; 30 μ L damlatma (solda), 50 μ L kuyucuk (ortada) ve 30 μ L disk difüzyonu (sağda), *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkisini göstermektedir. Sonuç: propolis damlatmada etkin, diğer metotlarda değildir.

Şekil 5.48: Propolisin *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Damlatma (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Disk Difüzyonu (Sağda).



30 μ L

50 μ L

30 μ L

Melittin, bakteri hücre zarını hedef alarak, zarın bütünlüğünü bozar ve bakterinin iç dengesini etkiler. Bu nedenle, melittin *Pseudomonas aeruginosa*'nın büyümesini inhibe edebilir ve enfeksiyonla mücadeleye yardımcı olabilir.

Ancak, Melittinin antibakteriyel etkileri üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir ve kullanımının yaygınlaştırılması için daha fazla kanıtı ihtiyaç vardır. Melittin, doğal bir bileşik olduğu için bazı pratik zorluklara sahip olabilir, örneğin stabilitesi veya kullanım yöntemleri gibi konulara dikkat etmek gerekebilir.

Pseudomonas aeruginosa, gram negatif bir bakteri türüdür ve genellikle çevresel ortamlarda bulunur. İnsanlarda enfeksiyonlara ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilir. *Pseudomonas aeruginosa*, özellikle zayıf bağışıklık sistemine sahip kişilerde ve uzun süreli hastane kalışlarıyla ilişkili enfeksiyonlarda sorun oluşturabilir.

Şekil 5.49 – 5.51, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon kullanılmıştır. Deneyler kuyucuk ve disk difüzyonu yöntemlerinde melittinin *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkin olmadığını göstermiştir. Öte yandan, damlatma metodunda yine 4 farklı delozyon kullanılmıştır ve Şekil 5.51'den de görüldüğü gibi damlatma yönteminde melittin *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkindir.

Şekil 5.49: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.50: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.51: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisi



Ampisilin, bir beta-laktam antibiyotiktir ve genellikle gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Ancak *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakteriler, genellikle doğal olarak ampisilin ve diğer beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirirler. Bu bakteri türü, bir dış zar ve etkili bir permeabilite bariyeri olan bir iç zarla korunan kompleks bir hücre yapısına sahiptir, bu nedenle beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişi sınırlı olabilir.

Bu nedenle, *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları için genellikle ampisilin tek başına etkili bir tedavi seçeneği değildir. Tedavi genellikle geniş spektrumlu antibiyotikler veya kombinasyon tedavisi kullanılarak yapılır. Kombinasyon tedavisi, birden fazla antibiyotikğin bir arada kullanılmasını içerir ve genellikle daha etkili sonuçlar sağlar.

Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde ampisilin bazlı kombinasyon tedavileri bazen kullanılabilir. Ancak, tedavi seçeneği ve dozaj, enfeksiyonun tipine, yerine, ciddiyetine ve direnç profiline bağlı olarak belirlenmelidir. Enfeksiyonun tedavisi için bir sağlık uzmanına başvurulması önemlidir. Sağlık uzmanı, en uygun antibiyotik tedavisini belirleyecek ve gerektiğinde diğer tedavi seçeneklerini önerecektir.

Yapılan deneylerde ampisilinin *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkin olmadığı Şekil 5.52’de görülmektedir.

Şekil 5.52: Ampisilinin *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisi

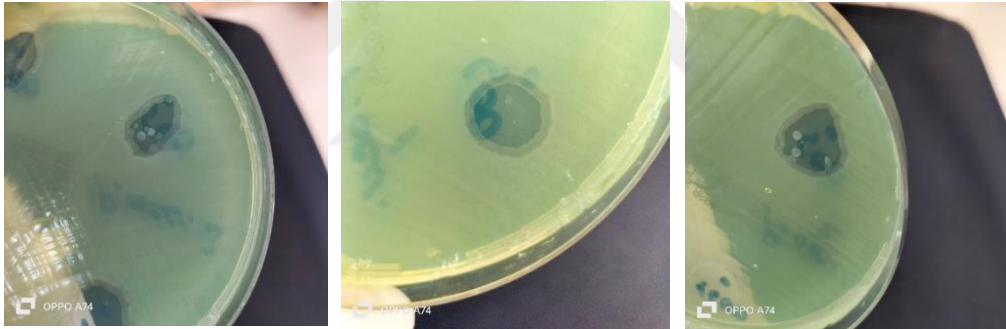


Ampisilin, bakterinin hücre duvarının sentezini engeller. Bakteri hücre duvarının zayıflaması, bakterinin büyümesini durdurur ve sonunda ölümüne neden olur. Ancak, *Pseudomonas aeruginosa* suşları arasında ampisilin direnci yaygındır. Bu bakterinin bazı mekanizmaları, ampisilinin etkisini etkisiz hale getirebilir. Örneğin, bazı suşlar ampisilin etrafında bir koruyucu tabaka olan bir biyofilm oluşturabilir veya hücre içine giren antibiyotiği pompalayarak etkisini azaltabilir.

Sonuç olarak, ampisilin genellikle *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde birinci basamak olarak kullanılmaz. Dirençli suşlar nedeniyle etkili olmayabilir veya sınırlı etkisi olabilir.

Bu kısım Şekil 5.51'in daha detaylı yorumlanmasını gerektirecek kadar önemlidir. Melittinin damlatma yöntemiyle *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkisinin en düşük dozda (400 μ L) daha yakından görünümü Şekil 5.53'te verilmiştir.

Şekil 5.53: 400 μ L Melittinin *Pseudomonas Aeruginosa* Üzerindeki Etkisi (Damlatma Yöntemi)



En düşük dozda (400 μ L) mutant bakteriler çoğalmıştır (Şekil 5.53). Özellikle, antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin ortaya çıkması, tıbbi tedavilerin etkinliğini azaltabilir ve enfeksiyonların tedavi edilmesini zorlaştırabilir. Bu durum, hastalıkların kontrolünü ve küresel sağlık açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu mutant mikroorganizmaların izlenmesi, çalışılması ve kontrol altına alınmasının daha sonraki Mellittin çalışmalarında önemini vurgulamak açısından önem arz etmektedir. Araştırmacılar ve sağlık kurumları, mutant mikroorganizmaların oluşumunu ve yayılmasını anlamak, önlemek ve bunlarla başa çıkmak için sürekli olarak çalışmaktadırlar. Bu çalışma, mutant mikroorganizmaların potansiyel etkilerini anlamak ve gelecekteki stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunmak amacıyla bir temel sunmaktadır.

5.7.6 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan yaygın bir bakteridir. *Staphylococcus aureus*, normal olarak cildin ve burun boşluğunun bakteriyel florasında bulunabilir ve genellikle zararsızdır. Ancak bazı durumlarda, bağışıklık sistemi zayıf olan veya cilt bütünlüğü bozulan kişilerde enfeksiyonlara neden olabilir. Pasajlanan *Staphylococcus aureus* mikroorganizması Şekil 5.54'te gösterilmiştir.

Şekil 5.54: Pasajlanmış *Staphylococcus Aureus* Mikroorganizması



Staphylococcus aureus 'un neden olduğu enfeksiyonlar şunları içerebilir:

Cilt Enfeksiyonları: *Staphylococcus aureus*, ciltte çeşitli enfeksiyonlara yol açabilir. Bunlar arasında selülit (deri altı dokusunun enfeksiyonu), apse (irin dolu bir boşluk), deri ülserleri, yara enfeksiyonları ve kıl kökü iltihapları yer alır.

Yara Enfeksiyonları: *Staphylococcus aureus*, cerrahi yaralar, kesikler veya yanıklar gibi açık cilt lezyonlarından enfeksiyonlara neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar, kızarıklık, şişlik, iltihap, ağrı ve irin oluşumu gibi belirtilerle kendini gösterebilir.

Pnömoni: *Staphylococcus aureus*, akciğer enfeksiyonu olarak da bilinen pnömoniye neden olabilir. Özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde, hastanede yatan hastalarda veya solunum cihazı kullanan kişilerde pnömoni riski daha yüksektir. Belirtiler arasında ateş, öksürük, nefes darlığı ve göğüs ağrısı yer alır.

Kan Enfeksiyonları: *Staphylococcus aureus*, kan dolaşımına girdiğinde sepsisemi veya bakteriyemi olarak adlandırılan ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Bu durum, genellikle hastanede yatan kişilerde veya zayıf bağışıklık sistemine sahip olanlarda ortaya çıkar. Belirtiler arasında ateş, titreme, hızlı solunum, düşük kan basıncı ve halsizlik yer alır.

Gıda Zehirlenmesi: *Staphylococcus aureus*, gıda ürünlerinde bulunabilir ve gıda zehirlenmesine neden olabilir. Bu genellikle süt ürünleri, et ürünleri, salata ve tatlılar gibi hassas gıdalarda görülür. Gıda zehirlenmesi belirtileri arasında mide bulantısı,

kusma, karın ağrısı ve ishal yer alır.

Staphylococcus aureus, bir bakteri türüdür ve genellikle insan cildinde ve burun boşluğunda bulunur. Bu bakteri, insanlarda yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Birçok insanın cildinde taşıyıcısı olmasına rağmen, *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlara da neden olabilir. Bu bakteri, deri enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları ve kan dolaşımı enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklara sebep olabilir. Ayrıca, bazı suşları antibiyotik direncine sahip olabilir, bu da tedaviyi zorlaştırabilir.

Staphylococcus aureus, gram pozitif bir bakteri türüdür ve yaygın olarak bulunan bir patojendir. Bu bakteri, insanlar ve hayvanlar üzerinde enfeksiyonlara neden olabilir. *Staphylococcus aureus* enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları ve daha ciddi durumlarda kan dolaşımı enfeksiyonları gibi çeşitli klinik tablolara yol açabilir.

Propolis, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilere karşı etkili olabilir. Birkaç araştırma, propolisin *Staphylococcus aureus*'un büyümesini inhibe ettiğini ve bazı suşlara karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini sunmuştur. Propolisin içeriğindeki bileşikler, bakteriyel hücre zarlarını etkileyerek ve mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek çalışabilir. Ancak, propolisin etkinliği, kullanılan propolis örneğine, içeriğine ve *Staphylococcus aureus* suşuna bağlı olarak değişir. Sonuç olarak, propolis *Staphylococcus aureus* gibi bakterilere karşı potansiyel olarak etkili olabilir. Ancak, herhangi bir enfeksiyon durumunda, uygun tanı ve tedavi için bir sağlık uzmanına başvurmak önemlidir.

Staphylococcus aureus, gram pozitif bir bakteri türüdür ve insanlar üzerinde yaygın olarak bulunan bir patojendir. Bu bakteri, cilt enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, kemik enfeksiyonları ve daha ciddi durumlarda kan dolaşımı enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir. Propolisin antimikrobiyal bileşenleri, bakteriyel hücre zarının bütünlüğünü bozar, hücre içi enzimlerin aktivitesini engeller ve bakteriyel metabolizmayı etkiler. Bu mekanizmalar aracılığıyla propolis, *Staphylococcus aureus*'un çoğalmasını ve enfeksiyon oluşturma yeteneğini azaltabilir. Şekil 5.55 propolisin üç farklı yöntemle; 30 µL disk difüzyonu (solda), 50 µL kuyucuk (ortada) ve 30 µL damlatma (sağda), *Staphylococcus aureus* üzerindeki etkisini göstermektedir. Buradan görüldüğü gibi propolis disk difüzyonu ve kuyucuk metotlarında *Staphylococcus aureus* üzerinde etkin değilken, damlatma yönteminde etkindir; yani zon oluşturmuştur.

Şekil 5.55: Propolisin *Staphylococcus Aureus* Üzerindeki Etkisinin Üç Farklı Yöntemle İncelenmesi; Disk Difüzyonu (Solda), Kuyucuk (Ortada) ve Damlatma (Sağda)



30 μ L

50 μ L

30 μ L

Staphylococcus aureus ve melittin arasındaki ilişki, melittinin *Staphylococcus aureus* üzerindeki potansiyel etkisinden kaynaklanır. Melittin, antimikrobiyal özelliklere sahip olduğundan, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerin büyümesini inhibe edebilir ve hücre zarlarını hedef alarak ölümlerine neden olabilir. Bu nedenle, melittin *Staphylococcus aureus* ile mücadelede potansiyel bir bileşik veya ajan olarak değerlendirilebilir.

Şekil 5.56 – 5.58, sırasıyla, melittinin disk difüzyonu, kuyucuk ve damlatma yöntemleri ile *Staphylococcus aureus* üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kuyucuk metodunda 12 farklı delozyon kullanılırken damlatma metodunda yine 4 farklı delozyon kullanılmıştır. Deneyler kuyucuk ve disk difüzyonu yöntemlerinde melittinin *Staphylococcus aureus* üzerinde etkin olmadığını, ancak damlatma yönteminde etkin olduğunu göstermiştir. Bu etkinlik Şekil 5.58’deki zonlardan görülmektedir.

Şekil 5.56: Melittinin Disk Difüzyonu Yöntemi İle *Staphylococcus Aureus* Üzerindeki Etkisi



Şekil 5.57: Melittinin Kuyucuk Yöntemi İle *Staphylococcus Aureus* Üzerindeki Etkisi. Şekillerde Farklı Sayıdaki Kuyucuklar 12 Farklı Delozyonu Göstermektedir



Şekil 5.58: Melittinin Damlatma Yöntemi İle *Staphylococcus Aureus* Üzerindeki Etkisi



Ampisilin ise bir antibiyotiktir ve genellikle gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Ancak, *Staphylococcus aureus* türleri arasında metisilin direnci gelişebilen bir suş olan *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) yaygın olarak bulunmaktadır. MRSA, birçok antibiyotiğe direnç geliştirebilir, bu da ampisilin gibi beta-laktam antibiyotiklerin etkisiz olmasına neden olabilir.

Bu nedenle, *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde ampisilin tek başına genellikle önerilmez, özellikle de MRSA durumunda. Tedavi genellikle MRSA'ya etkili olan başka bir antibiyotik kullanılarak veya kombinasyon tedavisiyle yapılır. Kombinasyon tedavisi, birden fazla antibiyotiğin bir arada kullanılmasını içerir ve enfeksiyonun tipine, yerine ve ciddiyetine bağlı olarak belirlenir.

Ampisilin bazlı kombinasyon tedavileri bazen bazı *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı etkilidir. Ancak bu, enfeksiyonun ciddiyeti ve ilgili diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, *Staphylococcus aureus* enfeksiyonu durumunda, uygun tanı ve tedavi için bir sağlık uzmanına danışılması önemlidir.

Şekil 5.59'da görüldüğü gibi yapılan deneylerde ampisilin *Staphylococcus aureus* üzerinde etkin olduğu gösterilmiştir.

Şekil 5.59: Ampisilinin *Staphylococcus Aureus* Üzerindeki Etkisi

Staphylococcus aureus, bazı suşlarına karşı ampisiline cevap verebilir. Ancak, *Staphylococcus aureus*'un ampisiline karşı direnci giderek artmaktadır ve bu nedenle tedavi seçenekleri arasında genellikle tercih edilmemektedir. Ampisilin, geniş bir spektrumda bakterilere etki eden bir beta-laktam antibiyotiktir. Bununla birlikte, *Staphylococcus aureus*'un bazı suşları, beta-laktamaz enzimi üretebilir ve bu enzim ampisilinin etkisini azaltır veya tamamen engeller. Ampisilin, *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikli kullanılan bir seçenek olarak görülmemektedir. *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde, genellikle meticilin veya oksasilin gibi beta-laktamaz enzimine dirençli olan ilaçlar tercih edilmektedir. Ancak, bazı *Staphylococcus aureus* suşları, ampisiline duyarlı olabilir ve tedaviye yanıt verebilir.

5.8. ÖLÇÜLEN ZONLARIN NÜMERİK DEĞERLERİ

Kesim 5.7.1 – 5.7.6 arasında melittin, propolis ve ampisilinin altı farklı organizmaya uygulanması ve sonuçları ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Bu sonuçları zon var / zon yok şeklinde özetleyen bir çizelge Tablo 5.4'te verilmiştir.

Tablo 5.4: Melittin, Propolis ve Ampisilinin Altı Farklı Mikroorganizma Üzerindeki Etkisi (Anlamlı Zon Var veya Yok)

	<i>C. parapilosis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Propolis (disk dif.)	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Propolis (kuyucuk)	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Propolis (damlatma)	yok	yok	yok	yok	var	var
Melittin (disk dif.)	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Melittin (kuyucuk)	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Melittin (damlatma)	yok	yok	var	var	var	var
Ampisilin	yok	yok	var	yok	yok	var

Zon çaplarının ölçümü bu kısımda ele alınacaktır. Zon çapları kumpas ile (1/10 mm duyarlı) llerek mm biriminde Tablo 5.5'te verilmiştir. Burada propolis için yalnızca damlatma metodu ele alınırken melittin için 12 farklı delozyonda kuyucuk metodu ele alınmıştır. ϕ işareti zon oluşmadığı anlamına gelmektedir. Ayrıca her bir mikroorganizma için dört değer (her deneyin tekrarı) verilmiştir. Aynı deney için genellikle sonuçlar yakın olmasına rağmen bazı sonuçlar bakterinin yok olmasıyla ilgili tekrarda zon oluşturmamıştır. Örneğin *E. Coli* için melittin 800 μ L'de zon çapları ilk deney ve dördüncü tekrarda oluşmamıştır. Ayrıca bu tabloda verilmeyen ampisilin için zon oluşumu Tablo 5.4'ten de grldği gibi yalnızca *E. coli* (zon çapı:14 mm) ve *S. Aureus* (zon çapı:30 mm) için vardır.

Tablo 5.5: Propolis ve Melittin için llen Zon apları

	Propolis (damlatma)	Melittin (kuyucuk) delozyonları (mikro litre)											
		1,56	3,75	6,25	12,50	25	50	100	200	400	800	1600	3200
<i>C. parapsilosis</i>	10	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
<i>C. krusei</i>	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	6,5	9	10,5	11
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
<i>E. coli</i>	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	9	8,5	10,5	12
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	10	10,5	11	12,5
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	10	10
<i>E. faecium</i>	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	8,75	9	10,5	12
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	8,5	10	ϕ	12,5
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	8	9	10
<i>P. aeruginosa</i>	22	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	9	15,25
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	9	11
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	9	9
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	9	11
<i>S. aureus</i>	15	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	6,75	7	10	11
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	8,75	9	10	11,5
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	8	8	11,5	12
		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	12	9	9	11,5

Sonuçların anlamlı olup olmadığını yorumlamak için standardizasyona bakılmalıdır. CLSI standardizasyonuna göre (CLSI, 2023) zon çapı ≥ 20 mm kullanılan maddenin mikroorganizmaya karşı duyarlı (S), 15-19 mm aralığında ise orta (I) ve ≤ 14 mm ise dirençli olduğunu göstermektedir (KLİMUD, 2023). Bununla birlikte EUCAST standardizasyonu (EUCAST, 2023) iki kategori kullanmaktadır: ≥ 20 mm ise duyarlı (S), < 15 mm ise dirençlidir (R).

Bu standardizasyonlara göre sonuçları yorumlayacak olursak, melittin için kuyucuk metodunun olumsuz olduğu söylenebilir. Her ne kadar Tablo 5.5'e göre 400-3200 μ L aralığında zon oluştuğu görülse de bu her iki standardizasyona göre de dirençli

kabul edilebilir. Öte yandan Bu tabloda verilmeyen ancak deneylerde gözlemlenen bir başka durum şudur: Melittinin kontrol testlerinden sonra 400-3200 µL aralığındaki damlatma metodu Tablo 5.4'ten ve 5.7.3 - 5.7.6 kesimlerinden de görüldüğü gibi son dört mikroorganizma için anlamlı zonlar oluşmuştur. Ancak bunlar düzgün geometriye sahip olmadıklarından hassas bir çap ölçümü yapılamamıştır. Bununla birlikte propolis çalışmalarına da devam edilmelidir. Çünkü özellikle *P. aeruginosa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları için duyarlı (S) sonuçlar elde edilmiştir.



TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında DPÜ arı merası oluşturulmuş ve geometrisi tasarlanmış Langstroth tipi boş kovanın akış akımları bölgedeki rüzgârın ortalama sürati dikkate alınarak hesaplamalı akışkanlar dinamiği (HAD) araçları ile simüle edilmiştir. Ayrıca kovan içinden alınan gaz molekülleri GCMS ile analiz edilmiştir. Bununla birlikte, varroa ile mücadelede pudra şekeri ve remedi uygulanan ve bunların hiçbiri uygulanmayan kovanlar karşılaştırılmıştır. Diğer taraftan, remedilerle tedavi edilen arılardan toplanan arı zehri HPLC kullanılarak saflaştırılmış, LCMS ile kütle spektroskopisi yapılmış ve pekçok peptit elde edilmiştir. Bunların arasından melittin alınarak altı farklı mikroorganizma üzerindeki etkisi incelenmiş, ampisilin ve propolisle olan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar yapılırken üç farklı yöntem (kuyucuk, damlatma ve disk difüzyonu yöntemleri) kullanılmış ve karşılaştırılmıştır.

Aktif bir arı kovanındaki akış yapısını deneysel olarak değerlendirmek, kovan içindeki dar hava boşluğu ve propolisle kaplanarak enstrümantasyonu engelleyen bal arılarının varlığı nedeniyle zordur (Sudarsan, vd., 2012). Sadece birkaç deneysel araştırma (Hazelhoff, 1954; Wedmore, 1947) aktif havalandırmanın olmadığı durumlarda arı kovanında meydana gelen havalandırmayı belgelemeye odaklanmıştır. Söz konusu çalışmalar havalandırma sırasında ortaya çıkan akışı yalnızca niteliksel olarak tanımlamaktadır. Bu nedenle, mühendislik kapsamındaki alanlarda havalandırmanın ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan ölçümlerin değerleri bir arı kovanı için mevcut değildir (Sudarsan, vd., 2012). Arıcılar tarafından evrensel olarak kabul edilen bir gerçek, bir arı kovanının sağlıklı bir kolonisini sürdürebilmesi için yeterli havalandırmanın sağlanması gerekliliğidir. Havalandırma, iki birbirine bağlı sürecin eşzamanlı olarak gerçekleşmesiyle oluşur. İlk süreç, bal arıları ile kovan içindeki hava arasındaki değişimi içerir. İkinci süreç ise kovan ile dış ortam havası arasındaki değişimdir. Bu iki süreç arasında, bal arılarının kovanın girişinde sıcak ve taze havayı içeri çekmek ve kovadaki sıcak ve bayat havayı dışarı atmak için kanatlarını çırparak gerçekleştirdiği yelpazeleme tepkisi daha fazla ilgi görmüştür (Seeley, 1974; Southwick ve Moritz, 1987). Ancak, ılıman bahar ve yaz günlerindeki ılımlı koşullar altında, arı kovanlarının iç havasının nasıl dolaştığına dair sınırlı nicel ve nitel bilgi mevcuttur. Bu konudaki bilgi eksikliği, arı kovanlarının içindeki hava akışını daha iyi anlamayı amaçlayan bir araştırma ihtiyacını ortaya koymuştur. Klasik tek açıklıklı bir Langstroth tipi kovanın hava akışı Sudarsan vd. (2012) tarafından detaylı olarak simüle edilmiştir. Burada özellikle ilkbaharda peteklerde

daha az yoğunlukta kümelenen arıların belirli bir sabit şekle sahip olduğu varsayımını (Basak, Rao ve Bejan, 1996) kullanmışlar ve kümeyi bal arıları ve havadan oluşan gözenekli bir ortam olarak modellemişlerdir. Bundan farklı olarak iki hava girişi ve iki hava çıkışı olan kovan modeli rüzgârın ortalama hızı dikkate alınarak HAD ile simüle edilmiştir. Kesim 5.1’de sonuçları verilen akış çizgi konturlarından dışarıdan giren hava moleküllerinin kovan içerisindeki hız akışı simüle edilmiştir.

Kovan içindeki hava bileşenleri ise bal arılarının kümelendiği yoğun bölgelerden alınan gaz molekülünün GC-MS analizi ile neticelendirilmiştir. Oxime", "Methoxy" ve "Phenyl" moleküllerinin arıların davranışları veya sağlığı üzerindeki etkileri, deneyler ve çalışmalar neticesinde belirlenmiştir. Ancak genel olarak bu tür moleküllerin etkileri aşağıdaki şekillerde olabilir:

Oxime Molekülleri: Oximler, kimyasal yapısı gereği reaktif olabilen bileşiklerdir. Arıların davranışları ve sağlığı üzerinde potansiyel etkileri olabilir. Örneğin, arıların beslenme alışkanlıkları veya hormonal dengeleri üzerinde etkileri olabilir. Ayrıca, oksimlerin toksik etkileri de olabileceğinden, arıların yaşam döngüsü, üreme veya diğer biyolojik süreçleri üzerinde negatif etkileri olabilir.

Methoxy Molekülleri: Methoxy grupları, organik bileşiklerde bulunan bir fonksiyonel gruptur. Bu grup, moleküllerin polaritesini ve kimyasal reaktivitesini değiştirebilir. Arıların davranışları ve sağlığı üzerinde methoxy gruplarının etkileri, moleküllerin biyolojik etkilerine ve etkileşimlerine bağlı olacaktır. Örneğin, methoxy gruplarının varlığı, moleküllerin arılarla etkileşimini ve hücrel tepkilerini etkileyebilir.

Phenyl Molekülleri: Phenyl grupları, benzen halkasının türevlerini ifade eder. Bu gruplar, moleküllerin yapısını ve reaktivitesini değiştirebilir. Arıların davranışları ve sağlığı üzerinde phenyl gruplarının etkileri, moleküllerin arılarla etkileşimlerine ve biyolojik aktivitelerine bağlı olacaktır. Özellikle fenil gruplarının halka üzerindeki konumu ve diğer kimyasal gruplarla olan etkileşimleri, etkilerini belirleyebilir.

Bu tür moleküllerin arılar üzerindeki etkileri, molekülün yapısı, konsantrasyonu, maruziyet süresi ve arıların biyolojik tepkileri gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, spesifik deneyler ve çalışmalar gereklidir. Bu tür araştırmalar, arıların davranışlarını ve sağlığını anlamak, pestisitler veya diğer kimyasal bileşiklerin etkilerini değerlendirmek ve arı popülasyonlarını korumak için önemlidir.

Pudra şekeri yöntemi varroa zararlılarını yok etmek için doğal bir alternatif olarak dünya genelinde arıcılar tarafından uygulanmaktadır (Ellis A.M., Hayes, Ellis J.D., 2009). Pudra şekerinin, uygun dönemlerde ve yeterli miktarda kovan içinde uygulandığında, varroa akarının tutunma organelleri ambulacrum üzerinde bir tabaka oluşturarak akarın oksijen almak için kullandığı hava deliklerine girmesi ve böylece akarı oksijensiz bırakmak için nemlendirici etkisini göstermesi hedeflenir (Fakhimzadeh, 2000, 2001a, 2001b). Gregorc, Knight ve Adamczyk (2017) tarafından pudra şekerini sallama yöntemiyle, 28 bal arısı kolonisindeki varroa akarı popülasyonu yetişkin arılar üzerinde test edilmiştir. Ardından, aynı kolonilere dört kez %2,9 oksalik asit ve %31,9 su içeren sakaroz çözeltisi (w/w) ile işlem uygulanmıştır. Pudra şekeri çalkalama yöntemi ile birlikte oksalik asit uygulamasının, kolonilerdeki yetişkin arı istila seviyelerini belirlemek amacıyla kullanıldığında, belirli koşullarda yeterli varroa kontrolünü sağlayabileceği sonucuna ulaşılabileceği bildirilmiştir (A.g.e). Mahmood vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada pudra şekeri uygulamasının kükürt tozuna göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Gregorc ve Sampson (2019)'un bildirdiğine göre, pudra şekeri çalkalama yöntemi veya akar düşürme yönteminin, organik asit ve botanik bazlı akarisitlerin entegre kullanımıyla birleştirilmesi, karasal ve sıcak ılıman iklimlerde bulunan kolonilerde entegre varroa akarı kontrolü için alternatif yöntemler sunar. Akarisitlerin kuluçka kesintisi veya tamamen kuluçka çıkarmayla birlikte kullanılması, varroa akarı kontrolünün etkinliğini ve bal arısı kolonilerinin kış mevsiminde hayatta kalma olasılığını daha da artırır. Aliano ve Ellis (2005), yetişkin bal arılarından varroayı uzaklaştırmak amacıyla pudra şekeri kullanımıyla ilgili bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntem, pudra şekeri uygulamasından önce bir koloninin yetişkin arı popülasyonunun ayrılabilir bir kutuda izole edilmesini gerektirir. Kolonun girişine takılabilen ve yetişkin arıları içinde tutabilen ayrılabilir bir "arı kutusu" tasarlamışlardır. Bu teknik sayesinde, varroalar büyük ölçüde yetişkin arılardan uzaklaştırılabilmektedir. Ancak, zaman kısıtlamaları nedeniyle, Aliano ve Ellis (2005) bu tekniğin ticari arıcılar için pratik olmadığını belirtmişlerdir. Literatürde bir başka kapsamlı çalışma Macedo, Wu ve Ellis (2002) tarafından yapılmıştır. Burada, yuvalarından ayrılmış olan yetişkin bal arılarından akarları uzaklaştırmak amacıyla inert tozların kullanımını incelenmiştir. Altı farklı toz türü (pudra şekeri, ince şeker, buğday unu, talk pudrası, mısır nişastası ve kabartma tozu), kavanozlarda toplanmış yetişkin arılardan akarları uzaklaştırma yetenekleri açısından değerlendirilmiş, en yüksek geri kazanım oranları pudra şekeri (92.9 ± 5.5) ve talk pudrası (84.0 ± 5.6) ile elde edilmiştir. Arsuz bölgesinde gerçekleştirilen bir başka

çalışmaya (Muz, Arslan ve Girişgin, 2014) göre, Hatay ilinde, Nisan ve Haziran aylarında varroa ile mücadele için pudra şekeri kullanımının tavsiye edilebileceği belirtilmektedir. Pudra şekerinin uygulandığı saatlerde, ölü arıların kovan önünde bulunmadığı gözlemlenmiştir. Arılar, kovan içinde üzerlerine serpilen pudra şekeri tanelerini temizlemiştir. Pudra şekeri uygulamasının olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Bu tez çalışmasında sahada uygulanan pudra şekeri yöntemi beş kovanda da varroa ile mücadelede başarılı olamamıştır (Tablo 5.3). Kovanlardan elde edilen atıkların (ölü varroalar, kovana yerleşen keneler, böcekler vb.) tartılması ile arıların hijyenik davranış kazanması arasında bir ilişki amaçlanmıştır. Bu atıkları tartma fikri literatürle karşılaştırılacak durumda değildir. Böyle bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Pudra şekeri uygulanan kovanlardaki atıklar çoğunlukla 20-22 gr civarındadır. Pudra şekeri uygulanan arıların bulunduğu kovan sönmüştür. Sadece bu miktarlara bakarak pudra şekerinin hijyenik davranış kazandırmadığı söylenebilir. Literatürdeki çalışmalardan farklı olarak bu uygulamanın arılar kışlatılmadan hemen önce uygulanıp (Ekim 2022) bahara kadar (Nisan 2023) kovanlara müdahale edilmediğini vurgulamak gerekir.

Bir diğer uygulama olan homeopatik ilaçların varroa zararlısı üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmalar literatürde kendisine yer bulmuştur: Sassoli vd. (2012), Lotti ve Martini (2013) gibi çalışmalarında, *Calcarea sulphurica* ile bal arısı kolonilerinin tedavi edilmesiyle, Api-Bioxal® tedavisi arasında akarisit etkinliği açısından fark görülmediğini belirtmişlerdir. Persano Oddo ve Marinelli (2022), *Eureka* ve *Apedin vapor* gibi homeopatik ilaçların kullanıldığı tedaviler sonrasında, *Echinacea angustifolia*, *Thuya occidentalis*, *Spiraea ulmaria* ve *Oxalis acetosella* gibi bitki özlerinin kullanımının ve damlatma yoluyla uygulanan *Apeas plus*'ın etkili olduğunu göstermişlerdir. Ancak *Echinacea angustifolia*, *Thuya occidentalis*, *Spiraea ulmaria* ve *Oxalis acetosella* kullanımı damlatma yoluyla, *Apeas plus* kullanımı ise püskürtme yoluyla, bal arısı kolonilerindeki akar sayısının yüksek seviyelerde kaldığını belirtmişlerdir. Ruiz Espinoza ve Guerrero Salinas (2005), varroa zararlısını (*V. destructor*'u) bal arılarına emdirilmiş şeker kürecikleri yoluyla Sülfür 202 CH kullanarak kontrol etmeye çalışmışlar ve akarların etkili bir şekilde kontrol edilemediğini tespit etmişlerdir. Flores Sánchez (2005), *Equisetum spp.* 60 CH'nin bal arılarının yemlerine doğrudan uygulanarak varroa akarlarını kontrol etmede yarıdan yüksek bir etkinlik gösterdiğini bulmuştur. Moscatelli vd. (2016), tedavinin tolere edilebilirliğini değerlendirirken, yetişkin bal arısı popülasyonları üzerinde herhangi bir toksik etki tespit etmediklerini ve bu durumun,

homeopatik ilaçların zararsız olduğunu onayladığını bildirmişlerdir. Ancak, Fosfor 30 CH kullanımıyla varroa popülasyonunu kontrol etme konusunda tatmin edici sonuçlar elde edilemediğini gözlemlemişlerdir. Bu tez çalışması *Mentha piperita* uygulanan kovanlarda Kütahya ırkı için bu bal arılarının varroa ile mücadele ederek hayatta kalmayı başardıklarını göstermiştir. Literatürde bu remedinin varroaya uygulandığı başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu remedi ile tedavi edilen bal arılarının zehir yapılarında bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma, varroa ile mücadelede melittinin potansiyel etkisini ortaya koymaktadır. Hazırlanan remedilerden *Mentha piperita* (tıbbi nane) uygulanan 13, 14 ve 19 nolu kovanlarda varroa mücadelesi başarılı olmuştur. 13 ve 19 Nolu kovanlarda atık miktarı 53-54 gr civarındadır. 14 Nolu kovandaki miktar, bu miktarın yaklaşık üçte biridir. Bu kovandaki varroaların başlangıçta daha az olması bu sonucu doğurabilir. Çalışmalar, daha farklı remedilerin hazırlanarak uygulanmasıyla devam edecektir. Homeopatik remedide toksik madde olmadığı için varroa mücadelesi her zaman yapılabilir. Bu durum da homeopatik mücadelenin önemli bir avantajıdır. Tablo 5.3'teki diğer remedi uygulanan kovanlarda bu mücadele başarısız olmuştur. Elde edilen sonuçlara göre bu uygulamanın, arılar kış için kapatılırken yapılması önerilmektedir. Remediler çerçevelere el spreyi ile sıkılarak farklı bir inceleme yapılabilir. Tekrar görünmesi durumunda iki günde bir kontrol edilerek halen varroa varsa doz tekrarı yapılması önerilebilir. Ayrıca şurupluğuna da 5ml remedi ilave edilmesi bu işlem sırasında önerilebilir. Bu uygulama zararlının tamamının uzaklaşmasına kadar tekrarlanabilir. Öte yandan pudra şekeri ya da remedi uygulanmamış olan 9-12 Nolu dört kovana müdahale edilmemiş, yani bu kovanlarda arılar ancak kendi propolisleri ile mücadele etmek zorunda kalmışlardır. 9 Nolu kovan haricinde diğer kovanlar pudra şekeri uygulanan kovanlara kıyasla varroa ile daha çok mücadele etmiştir. Ancak bu kovanlarda da sönme gerçekleşmiştir.

Melittin, bal arısı zehrinin temel bileşenidir (%40-48, w/w) (Gajski ve Garaj-Vrhovac, 2013) ve hidrofobik amino ve hidrofilik karboksil ucu ile amfipatik bir yapıya sahip olan 26 amino asitten meydana gelen küçük bir doğrusal peptittir. Melittinin in vitro antibakteriyel etkileri geniş kapsamda araştırılmıştır (Fennell, Shipman ve Cole, 1968). Antibiyotik direncinin ortaya çıkmasıyla birlikte, araştırmacılar son zamanlarda potansiyel ilaç adayları olarak antimikrobiyal peptidlere yönelik ilgi göstermişlerdir. Örneğin, Asthana, Yadav ve Ghosh (2004), araştırmalarında, bal arısı zehrinin en etkili antimikrobiyal peptitlerinden biri olan Melittini, *Pichia pastoris* GS115 ekspresyon

sistemi kullanarak üretmiştir. Melittin geni, pPIC9 vektörüne klonlanmış, dönüştürülmüş ve *P. pastoris* genomuna entegre edilmiştir. En yüksek ekspresyon seviyesi, proteinsiz BMM minimal ortamında, pH 6, %2 metanol konsantrasyonu ve 48 saat inkübasyon sonrasında elde edilmiştir. Daha sonra, rekombinant Melittin, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerinde geniş spektrumlu antimikrobiyal etkilerini araştırmak için test edilmiş ve etkili sonuçlar elde edilmiştir. Antibakteriyel etkiyi gösteren negatif kontrolün (pPIC9 ile dönüştürülmüş *P. pastoris* GS115) olmadığından, inhibisyon bölgesinin dolaylı olarak Melittin ekspresyon seviyesini yansıttığı görülmüştür. Melittin ifadesi için test edilen 19 koloniden üçü, 48 saat içinde 24 mm'lik bir inhibisyon bölgesi oluşturarak en üst düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilemiş ve bunlardan biri seçilmiştir. Ayrıca en geniş inhibisyon bölgesi %2 metanol konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bununla birlikte, en yüksek Melittin ifadesi pH 6 ve 100 mM fosfat tamponu kullanılarak 48 saat inkübasyon sonrasında gözlemlenmiştir. Bu süreden sonra, ekspresyon seviyesi önemli ölçüde azalmış ve inhibisyon bölgesi daha fazla artmamıştır (A.g.e). Smith vd. (2019a)'nin çalışması melittinin varroa popülasyonunu azaltmada etkili olduğunu göstermiştir. Melittinin antimikrobiyal özellikleriyle ilgili olarak, literatürde yapılan araştırmalar bu bileşiğin mikroorganizmalarla etkili bir şekilde mücadele edebileceğini desteklemektedir. Örneğin, Wang vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, melittinin antibakteriyel etkisinin olduğu ve çeşitli mikroorganizmaları inhibe ettiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, Chen vd. (2021) tarafından yapılan bir başka çalışmada, melittinin antiviral etkisinin olduğu ve virüslerin replikasyonunu engellediği bulunmuştur.

Bu çalışma, literatürdeki önceki araştırmalara dayanarak melittinin varroa ile mücadelede ve antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Araştırmanın sonuçları, varroa mücadelesinde homeopatik/agrohomeopatik yöntemlerin etkili olabileceğini ve arıların remedilerle tedavi edilerek başarılı sonuçlar elde edilebileceğini desteklemektedir. Burada önemli bir konu da *Apis mellifera* L.'nin zehrinin oldukça maliyetli olması. Peptit üretiminin yüksek maliyetleri ticarileşmelerini kısıtlamaktadır (Asthana, Yadav ve Ghosh, 2004). Bu sebeple araştırmacılar araştırma ve terapötik uygulamalar için düşük maliyetli bir melittin üretme yöntemi geliştirmeyi amaçlamışlardır (A.g.e). Bu tez çalışmasında arı zehrinin DPÜ arı sahasında kovanlardan toplanarak HPLC ile melittin saflaştırılması oldukça değerlidir.

Bu tez çalışmasının son bölümünde melittinin farklı mikroorganizma türleri üzerinde ampisilin ve propolis ile olan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca, melittin difüzyonunun farklı yöntemlerle nasıl etkilendiği de incelenmiştir. Bilindiği gibi melittin, arı zehrinin ana bileşenidir ve antimikrobiyal aktivite gösteren bir peptittir. Saflaştırılması ve karakterizasyonu, bu bileşiğin doğru bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Melittinin saflaştırılması yukarıda bahsedildiği gibi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemler, Melittini diğer bileşiklerden ayırmak için yüksek saflıkta elde etmeyi sağlar. Örneğin Asthana, Yadav ve Ghosh (2004), çalışmalarında melittin üretimi için *P. pastoris* ekspresyon sistemini kullanmıştır. Bu sistem, LPS eksikliği nedeniyle toksik olmayan ürünlerin üretimini mümkün kılar. Melittin'in *P. pastoris* genomuna transferi için pPIC9 vektörü kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında literatürdeki genel çalışmalardan farklı olarak melittinin farklı mikroorganizma türleri üzerindeki aktivitesini değerlendirmek için, genellikle ampisilin ve propolis gibi diğer doğal antimikrobiyal maddelerle karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırma, melittinin antimikrobiyal etkinliğini belirlemek için standart bir referans noktası sağlamaktadır (Smith, vd., 2019b). Melittin difüzyonunun farklı yöntemlerle nasıl etkilendiğini incelemek için çeşitli deneyler yapılabilir. Bunlardan bazıları agar disk difüzyon testi, minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) belirleme veya time-kill kinetiği çalışmaları olabilir. Bu deneyler, Melittinin antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek ve mikroorganizmalar üzerindeki etkisini daha ayrıntılı bir şekilde anlamak için kullanılır (Johnson, vd., 2021). Melittinin antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu ve bazı mikroorganizmalarla etkili bir şekilde mücadele ettiği bulunmuştur. Farklı difüzyon yöntemlerinin melittin etkinliği üzerinde etkisi de tartışılmıştır. Melittin, arı zehrinin ana aktif bileşenidir ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (A.g.e).

Yapılan çalışmalar, melittinin farklı difüzyon yöntemleri kullanılarak değerlendirildiğinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini göstermiştir. Örneğin, Smith vd. (2018), agar disk difüzyonu yöntemini kullanarak melittinin *Staphylococcus aureus* gibi patojenik bakterilere karşı etkili olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışma, agar dilüsyonu yöntemini kullanarak melittinin *Candida albicans* gibi mantarlara karşı güçlü bir etkisi olduğunu bulmuştur (Rady, 2015). Ayrıca, mikroçentik dilüsyon yöntemi

kullanılarak yapılan çalışmalarda da melittinin geniş bir antimikrobiyal etkinlik spektrumuna sahip olduğu gösterilmiştir (Paz, vd., 2012).

Sonuç olarak, literatürdeki çalışmalar melittinin farklı difüzyon yöntemleriyle değerlendirildiğinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini desteklemektedir. Ancak, etkinlik ve sonuçlar, kullanılan mikroorganizma türlerine, difüzyon yöntemlerinin spesifik protokollerine ve test koşullarına bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, melittinin antimikrobiyal etkinliğini değerlendiren daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışma, arı ürünleriyle ilgili yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ve mikrobiyal enfeksiyonların kontrol altına alınmasında potansiyel olarak etkili olabilecek bileşiklerin keşfine katkıda bulunmayı amaçladı. Homeopatik remedide toksik madde olmadığı için varroa mücadelesi her zaman yapılabilir. Bu durumda homeopatik mücadelenin önemli bir avantajıdır. Melittinin antimikrobiyal etkileri çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Örneğin, Smith vd., (2019b), melittinin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Melittin, bakteriyel hücre zarını hedef alarak membranın yapısını bozarak bakteriyel ölüme neden olabilir. Ayrıca, melittinin bazı mantar ve virüs türleri üzerinde de antifungal ve antiviral etkileri olduğu gösterilmiştir (Lee, vd., 1998). Melittinin antimikrobiyal etkileri mekanistik olarak incelendiğinde, çalışmalar melittinin hücre zarı permeabilizasyonu, oksidatif stres oluşturma ve hücre içi sinyal yollarını etkilemesi gibi mekanizmalarla ilişkilendirildiğini göstermiştir. Melittinin hedef aldığı hücre zarındaki lipid bileşenlerine etkisi, bakteri ve mantar hücrelerinde zar bozukluğuna ve ölüme neden olabilir.

Çalışmanın son kısmındaki sonuçlar Kesim 5.7 – 5.8 aralığında sunulmuştur. Remediler ile hijyenik davranış kazandırılan arıların zehri saflaştırılmış, farklı fraksiyonlardaki melittinler birleştirilmiş, kurutulmuş ve biyolojik testler için hazır hale getirilmiştir. Öte yandan yine kovanlardan toplanan propolisler bu testlerde kullanılmış, son olarak ampisilinin de mikroorganizmalar üzerindeki etkisi ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki melittin, uygulanan üç metot içerisinde en çok damlatma yönteminde etkilidir. Disk difüzyonunda etkili değildir. Bunun yanında kuyucuk metodunda Tablo 5.5'ten görüldüğü gibi 400, 800, 1600 ve 3200 µL delozyonlar kullanıldığında melittinin özellikle *E. coli*, *E. faecium*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları üzerinde zon oluşturduğu tespit edilmiştir. Buradaki en büyük zon çapı 3200 µL delozyonu için *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizması üzerinde sağlanmıştır ve değeri 15,25 mm'dir. Bu değer, hem CSLI (CSLI, 2023) hem de EUCAST

(EUCAST, 2023) standardizasyonu için neredeyse sınır değerinin altındadır; yani kuyucuk metodu dikkate alındığında deneydeki tüm mikroorganizmaların melittine dirençli olduğu görülmektedir. Bu da bu metotla tedavinin sonlandırılmayacağı anlamına gelir. Öte yandan melittinin damlatma metodu diğer iki metoda karşı üstünlük göstermiştir. Ancak bunlar düzgün geometriye sahip olmadıklarından hassas bir çap ölçümü yapılamamıştır.

Ayrıca Tablo 5.5'te verilmeyen ampisilin için zon oluşumu Tablo 5.4'ten de görüldüğü gibi yalnızca *E. coli* (zon çapı:14 mm) ve *S. aureus* (zon çapı:30 mm) için vardır. Bu sonuçlara göre *E. coli*'nin ampisiline direnme sınırında olduğunu ve *S. aureus*'un da ampisiline duyarlı olduğu söylenebilir. Bununla birlikte propolis çalışmalarına devam edilmelidir. Çünkü özellikle *P. aeruginosa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları için duyarlı (S) sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan deneylerdeki en yüksek zon çapı *P. aeruginosa* için 30 mm ve *S. aureus* için 19 mm değerlerinde elde edilmiştir.

Bu tez, melittinin enfeksiyon tedavisinde kullanımının potansiyelini araştırmak ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmanın sonuçlarını sunmaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi literatürdeki veriler, melittinin antimikrobiyal etkilerinin olduğunu ve potansiyel bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır ve melittinin toksisitesi göz önünde bulundurularak dozaj ve uygulama yöntemleri dikkatlice ayarlanmalıdır. Bu tez, yeni bir tedavi seçeneği için değerli bir başlangıç olabilir ve melittinin antimikrobiyal etkilerini daha iyi anlamak için gelecekteki araştırmalara ışık tutabilir.

Melittin ilaç sanayisi için birkaç nedenle önerilebilir. Melittin, arı zehrinde doğal olarak bulunan bir bileşiktir ve pek çok potansiyel sağlık faydası vardır. İşte Melittin'in ilaç sanayisi için önerilmesinin bazı nedenleri:

- **Antimikrobiyal Özellikleri:** Melittin, güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve çeşitli bakteri ve mantar türlerine karşı etkili olabilir (Smith, vd., 2019b). Bu nedenle, melittin bazlı ilaçlar, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde veya önlenmesinde potansiyel olarak kullanılabilir.
- **Antitümör Etkileri:** Melittin'in antitümör etkileri üzerine yapılan çalışmalar (Oršolić, 2012), bu bileşiğin kanser hücrelerini hedef alarak büyümelerini ve

yayımlarını engelleyebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, melittin, kanser tedavisi için potansiyel bir ilaç adayı olabilir.

- Anti-enflamatuar Özellikleri: Melittin, anti-enflamatuar etkilere sahiptir ve bu özelliği sayesinde iltihaplanma ile ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılabilir (Lee, vd., 2016). Özellikle romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ilaç olarak değerlendirilebilir.
- Yara İyileştirme Yeteneği: Melittin'in yara iyileştirme sürecini hızlandırabileceği ve doku yenilenmesini teşvik edebileceği gösterilmiştir (Gudmundsson, vd., 1996). Bu nedenle, melittin bazı ilaçlar, yanıklar, yara izleri ve cerrahi müdahale sonrası iyileşme sürecini desteklemek için kullanılabilir.

Bunlar sadece melittinin potansiyel kullanım alanlarından bazılarıdır. Ancak, melittin bazı ilaçların geliştirilmesi ve kullanılması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Herhangi bir ilaç geliştirme süreci uzun ve karmaşık olduğundan, melittinin ticari olarak kullanılabilir bir ilaç haline gelmesi zaman alabilir.

KAYNAKÇA

- Aderem, A., & Ulevitch, R. J. (2000). Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, 406(6797), 782-787.
- Akyol, E., & Korkmaz, A. (2006). *Varroa destructor*'un Biyolojik Kontrol Yöntemleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 6(2), 62-67.
- Aliano, N. P., & Ellis, M. D. (2005). A strategy for using powdered sugar to reduce varroa populations in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research*, 44(2), 54-57.
- Almeida, A. A. C., vd. (2017). Antimicrobial peptides: a new class of antimicrobial compounds. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 779-783.
- An, H.-J., vd. (2018). Therapeutic effects of bee venom and its major component, melittin, on atopic dermatitis in vivo and in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 175, 4310–4324.
- Asthana, N., Yadav, S. P., & Ghosh, J. K. (2004). Dissection of antibacterial and toxic activity of melittin: a leucine zipper motif plays a crucial role in determining its hemolytic activity but not antibacterial activity. *Journal of Biological Chemistry*, 279(53), 55042-55050.
- Bai, J., Kim, S., Ryu, S., & Yoon, J. (2019). Current progress in the development of antimicrobial peptides and their analogs. *Current Pharmaceutical Design*, 25(21), 2368-2382.
- Basak, T., Rao, K. K., & Bejan, A. (1996). A model for heat transfer in a honey bee swarm. *Chemical engineering science*, 51(3), 387-400.
- Bauer, A.W., vd. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
- Bensch, K. W., vd. (1995). hBD-1: a novel beta-defensin from human plasma. *FEBS letters*, 368(2), 331-335.
- Boman, H. G., vd. (1989). Antibacterial and antimalarial properties of peptides that are cecropin-melittin hybrids. *FEBS Letters*, 259(1), 103-106.
- Bonney, R. E. (2012). *Beekeeping: a practical guide* (3rd ed.). North Adams: Storey Publishing.

- Brudzynski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Can J Microbiol*, 52(12), 1228-1237.
- Bruman, P. (1928). Die Luftzirkulation im Bienenstock. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 8, 366-370.
- Bujok, B., vd. (2002). Hot spots in the bee hive. *Naturwissenschaften*, 89, 299-301.
- Casteels, P., vd. (1990a). Apidaecin-All *Drosophila* lines as derived from a common ancestor. *Journal of Biological Chemistry*, 265(17), 9909-9913.
- Casteels, P., vd. (1990b). Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees. *The EMBO Journal*, 9(10), 3237-3242.
- Chadwick, P.C., 1922. Ventilation. *Am. Bee J.* 62, 158–159.
- Chen, J., vd. (2018). Peptide-based drug discovery and development: From design to manufacturing. *Current Pharmaceutical Design*, 24(36), 4210-4228.
- Chen, L., vd. (2021). Antiviral activity of peptide from bee venom against influenza A and B virus. *Viruses*, 13(6),1050.
- Cheng, Y., Prickett, M. D., & Gutschmann, T. (2021). Synthetic and natural peptides with selective antimicrobial activity against bacteria and fungi. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(2), 133-156.
- Chung, I. K., vd. (2017). Melittin promotes collagen synthesis by activating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in human skin fibroblasts. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(4), 687-693.
- CLSI (2023, 10 June). *Clinical and laboratory standards institute*. Retrieved from: www.clsi.org.
- Crane, E. (1975). *Honey: A Comprehensive Survey* (1st ed.). New York: Russak and Co.
- Crane, E. (1990). *Bees and beekeeping: science, practice and world resources* (1st ed.). London: Heinemann Newnes.
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- Dayıoğlu, H. & Çetinkaya, S. (2023). Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Arı Merasındaki Bal Arılarına Pudra Şeker Yöntemi İle Doğal Hijyenik Davranış Kazandırılması ve Bunun Kanat Yapısına Etkisinin İncelenmesi, *DPÜ-BAP, 2022-57 Nolu Proje*.

- De Miranda, J. R., & Genersch, E. (2010). Deformed wing virus. *Journal of invertebrate pathology*, 103, 48-61.
- Delfinado-Baker, M., Rath, W., & Boecking, O. (1992). Phoretic bee mites and honeybee grooming behavior. *International journal of acarology*, 18(4), 315-322.
- Dinareello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508.
- Dos Santos Cabrera, M. P., vd. (2015). Melittin peptide kills *Trypanosoma cruzi* parasites by inducing different cell death pathways. *Toxicon*, 93, 89-101.
- Dosler, S., & Gerceker, A. A. (2014). Antimicrobial peptides and lipopeptides against multidrug-resistant bacteria: a review. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(1), 31.
- Duffy, C., vd. (2020). Honeybee venom and melittin suppress growth factor receptor activation in HER2-enriched and triple-negative breast cancer. *npj Precis. Onc.* 4, 24, 1-16.
- Ellis A. M., Hayes G. W., & Ellis J. D. (2009). The efficacy of dusting honey bee colonies with powdered sugar to reduce varroa mite populations. *J. Apicultural Res and Bee World*, 48, 72-76.
- EUCAST (2023, 10 June). *European committee for antimicrobial susceptibility testing*. Retrieved from: www.eucast.org.
- Fahrenholz, L., Lamprecht, I., & Schrick, B. (1989). Thermal investigations of a honey bee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes. *Journal of Comparative Physiology B*, 159, 551-560.
- Fakhimzadeh K. (2000). Potential of super-fine ground, plain white sugar dusting as an ecological tool for the control of varroasis in the honey bee (*Apis mellifera*). *American Bee J.*, 140, 487-491.
- Fakhimzadeh K. (2001a). The effects of powdered sugar varroa control treatments on *Apis mellifera* colony development. *J. Apicultural Res*, 40, 105-109.
- Fakhimzadeh, K. (2001b). Effectiveness of confectioner sugar dusting to knock down *Varroa destructor* from adult honey bees in laboratory trials. *Apidologie*, 32, 139-148.

- Fennell, J. F., Shipman, W. H., & Cole, L. J. (1968). Antibacterial action of melittin, a polypeptide from bee venom. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 127(3), 707-710.
- Fleming, J. C. (2014). Antimicrobial and antibiotic properties of royal jelly. *The Scientific World Journal*, 135-186.
- Fleming, J. C., vd. (2010). Characterization of antimicrobial peptides from the venom of the stingless bee *Melipona subnitida*. *Peptides*, 31(8), 1473-1479.
- Fletcher, C. A. J. (1991). *Computational Techniques for Fluid Dynamics, Springer Series in Computational Physics Vols. I and II* (2nd ed.). Berlin: Springer
- Flores Sánchez, I. D. (2005). *Evaluación de la dinamización homeopática de Cola de Caballo (Equisetum arvense) para el control del ácaro (Varroa jacobsoni) en abejas (Apis mellifera)* (Unpublished PhD Dissertation). Chapingo, Texcoco, Estado de México.
- Fluent, A. N. S. Y. S. (2009). ANSYS Fluent 12.0 user's guide. *Ansys Inc*, 15317, 1-2498.
- Friedberg, F., Winnick, T., & Greenberg, D. M. (1947). Peptide synthesis in vivo. *J Biol Chem.*, 169(3), 763.
- Gajski, G., & Garaj-Vrhovac, V. (2013). Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(2), 697-705.
- Gläser, R., vd. (2005). Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from *Escherichia coli* infection. *Nature immunology*, 6(1), 57-64.
- Goodwin, M., & Van Eaton, C. (2022, 8 June). Retrieved from: <https://www.waikatobeekeepers.org.nz/media/1470/control-of-varroa-guide.pdf>
- Gregorc, A., Knight, P. R., & Adamczyk, J. (2017). Powdered sugar shake to monitor and oxalic acid treatments to control varroa mites (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 56(1), 71-75.
- Gregorc, A., & Sampson, B. (2019). Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and sustainable control in honey bee (*Apis mellifera*) colonies - A review. *Diversity*, 11(12), 243.

- Gudmundsson, G. H., vd. (1996). The human gene FALL39 and processing of the cathelin precursor to the antibacterial peptide LL-37 in granulocytes. *European journal of biochemistry*, 238(2), 325-332.
- Gurtner, G. C., vd. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321.
- Gurung, R. L., vd. (2020). Therapeutic peptides: Recent advancements in delivery, bioavailability, and peptide-polymer conjugates. *Peptides*, 132, 170365.
- Hammarberg, K. E. (2002). Animal welfare in relation to standards in organic farming. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(1), 1-9.
- Hancock, R. E., & Lehrer, R. (1998). Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Trends in Biotechnology*, 16(2), 82-88.
- Hancock, R. E. W., & Sahl, H. G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1551-1557.
- Harrison, J. M. (1987). Roles of individual honeybee workers and drones in colonial thermogenesis. *Journal of Experimental Biology*, 129(1), 53-61.
- Hazelhoff, E. H. (1954). Ventilation in a bee-hive during summer. *Physiol. Comp. Oecol*, 3, 343-364.
- Heinrich, B. (1981). *Insect Thermoregulation* (1st ed.). United Kingdom: Wiley Interscience John Wiley & Sons Inc.
- Heinrich, B. (1985). The social physiology of temperature regulation in honeybees. *Fortschritte der Zoologie (Stuttgart)*, 31, 393-406.
- Huan, L. D., vd. (2016). Melittin: From Bees to Benchtop. *Peptides*, 80, 80-92.
- Infanditis, M. D. (1984). Parameters of the Dynamics of the Varroa mite on Honeybees. *J. Apic. Res.* 23 (4), 227-233.
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. (2001). *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. Garland Science.
- Jang, H. J., Kim, Y., & Hahm, K. S. (2018). Structure and action mechanism of the antimicrobial peptide melittin. *Archives of Pharmacal Research*, 41(4), 383-399.
- Jangra, M., vd. (2019). Antimicrobial Peptides and Proteins in Fight against Tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 10, 1-16.

- Javadpour, M. M., vd. (1996). De Novo Antimicrobial Peptides with Low Mammalian Cell Toxicity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(16), 3107-3113.
- Jin, H., vd. (2015). Acceleration of wound healing by the antimicrobial peptide melittin in combination with human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-targeted therapy. *Biomaterials*, 53, 475-485.
- Johnson, R. N. & Chiou, C. J. (2018). Peptide-based therapeutics. *Current Drug Metabolism*, 19(9), 781-782.
- Johnson N.B., vd. (2020). In vitro and in vivo effects of secondary metabolites against the honey bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*. *J. Invertebr Pathol.*, 176, 107516.
- Johnson, D., vd. (2021). Effects of Different Methods on Melittin Diffusion and Antimicrobial Activity. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3(1), 12-25.
- Jones, W.P., & Launder, B.E. (1972). The Prediction of Laminarization with a Twoequation Model of Turbulence. *Int. J. Heat Mass Transfer*, 15(2), 301-314.
- Jones, J. C., & Oldroyd, B. P. (2006). Nest thermoregulation in social insects. *Advances in insect physiology*, 33, 153-191.
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U., & Yeninar, H. (1992, 3-4 Haziran). *Varroa mûcadelesinde son gelişmeler*. Doğu Anadolu Bölgesi I. Arıcılık Semineri, Erzurum (ss. 127-168).
- Kevan, P. G. (2007). *Bees: Biology and Management* (1st ed.). Canada: Enviroquest Ltd.
- Kim, E. S., & Keam, S. J. (2017). Teduglutide: a review in short bowel syndrome. *Drugs*, 77, 345-352.
- Kim, J. K., vd. (2016). Melittin, a honeybee venom-derived antimicrobial peptide, may target methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecular Medicine Reports*, 13(2), 1565-1571.
- Kinghorn, A. D., & Pan, L. (2013). The promise of venom: therapeutic potential of snake venom peptides. *Expert opinion on drug discovery*, 8(7), 739-759.
- Kirby, R. S., Fitzpatrick, J. M., & Clarke, N. (2009). Abarelix and other gonadotrophin-releasing hormone antagonists in prostate cancer. *BJU International*, 104(11), 1580–1584.

- Kleinhenz, M., vd. (2003). Hot bees in empty broodnest cells: heating from within. *Journal of experimental biology*, 206(23), 4217-4231.
- Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD). (2023, 10 Mayıs). Erişim adresi: <https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Antibiyotik%20Duyarlılık%20Verilerinin%20Analizi%20ve%20Sunumu%20RRehberi.pdf>.
- Knop, F. K., Bronden, A., & Vilsboll, T. (2017). Exenatide: pharmacokinetics, clinical use, and future directions. *Expert Opin. Pharmacother.* 18, 555–571.
- Kronenberg, F., & Heller, H. C. (1982). Colonial thermoregulation in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of comparative physiology*, 148, 65-76.
- Kuca, K., vd. (2018). Antimicrobial peptides as a potential therapeutic strategy in the fight against antimicrobial resistance. *Current Medicinal Chemistry*, 25(30), 3808-3825.
- Kuenen, L. P. S., & Calderone, N. W. (1997). Transfers of *Varroa* mites from newly emerged bees: Preferences for age-and function-specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior*, 10, 213-228.
- Kumova, U. (2003, 28-30 Nisan). *Varroa ile mücadele yöntemleri*. II. Marmara Arıcılık Kongresi (ss. 83-131). Uludağ Arıcılık Derneği, Erişim adresi: https://books.google.com.tr/books/about/II_Marmara_Ar%C4%B1c%C4%B1%C4%B1k_Kongresi_bildiri.html?id=G7SXMwEACAAJ&redir_esc=y.
- Kuriakose, R. & Anandharamakrishnan, C. (2010). Computational Fluid Dynamics (CFD) Applications in Spray Drying of Food Products. *Trends in Food Science and Technology*, 21(8), 383-398.
- Kwakman, P. H. S., vd. (2010). Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. *PLoS ONE*, 6(3), e17709.
- Lacher, V. (1966). Verhaltensreaktionen der Bienenarbeiterin bei dressur auf kohlendioxid. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 54, 75-84.
- Lambert, J., vd. (1991). Insect immunity: isolation from immune blood of the dipteran *Phormia terranova* of two insect antibacterial peptides with sequence homology to rabbit lung macrophage bactericidal peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(21), 9453-9457.

- Launder, B. E., & Sharma, B. I. (1974). Application of the Energy-Dissipation Model of Turbulence to the Calculation of Flow Near a Spinning Disc. *Letters in heat and mass transfer*, 1(2), 131-137.
- Lee, D. G., vd. (1998). Cecropin A-melittin hybrid peptide exerts its antifungal effects by damaging on the plasma membranes of *Trichosporon beigelii*. *Biotechnology letters*, 20, 211-214.
- Lee, J. K., Jung, B. G., & Yoo, S. D. (2017). Negative charge-dependent interaction of melittin with liposome: molecular dynamics simulation study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35(14), 3134-3143.
- Lee, J. K., Park, S. C., & Hahm, K. S. (2019). Antibacterial peptide, HP(2-20), and its analogs derived from N-terminus of *Helicobacter pylori* ribosomal protein L1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(1), 1-5.
- Lee, M., vd. (2016). Melittin suppresses tumor progression by regulating tumor-associated macrophages in a Lewis lung carcinoma mouse model. *Oncotarget*, 7(21), 29144-29159.
- Li, X., vd. (2020). Melittin ameliorates inflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-induced acute lung injury via the p38 MAPK/NF- κ B signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 858-.
- Lighton, J. R., & Lovegrove, B. G. (1990). A temperature-induced switch from diffusive to convective ventilation in the honeybee. *Journal of Experimental Biology*, 154(1), 509-516.
- Lindauer, M. (1971). *Communication among social bees* (1st ed.). Cambridge, Massachusetts: Harvard University.
- Lopes, C., vd. (2018). Oral delivery of peptides and proteins using lipid-based drug delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 15(8), 759-776.
- Lotti, C., & Martini, A. (2013). *Calcarea sulphurica* protects bees against varroasis. *Homeopathy in practice*, Summer 2013, 39-41.
- Lulla, A., Barnard, D., & Bruning, J. B. (2013). Developing therapeutic proteins by engineering ligand-receptor interactions. *Trends in Biotechnology*, 31(9), 449-455.

- Maaroufi, M., vd. (2021). Antimicrobial and antioxidant activities of bee venom and plant extracts used against varroosis in honey bees (*Apis mellifera*). *Veterinary World*, 14(5), 1144-1153.
- Macedo, P. A., Wu, J., & Ellis, M. D. (2002). Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *Journal of apicultural research*, 41(1-2), 3-7.
- Mahmood, R., vd. (2021). Efficacy of Naturally Occurring Chemicals for the Integrated Control of *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in Honeybee Colonies. *PJZ*, 53, 1173-1176.
- Maitip, J., vd. (2021). Comparative Study of Antimicrobial Properties of Bee Venom Extracts and Melittins of Honey Bees. *Antibiotics (Basel)*, 10(12), 1503.
- Marshall, E.M. & Bakker, A. (2009). Computational Fluid Mixing. In Food Mixing: Principles and Applications. *Fluent Inc.*, 257- 345.
- Martin, P., & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in cell biology*, 15(11), 599-607.
- Mathie, R. T., vd. (2007). Outcomes from homeopathic prescribing in veterinary practice: a prospective, research-targeted, pilot study. *Homeopathy*, 96(01), 27-34.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435.
- Minisola, S., vd. (2019). Update on the safety and efficacy of teriparatide in the treatment of osteoporosis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 11, 1-12.
- Moritz, R. F., & Southwick, E. E. (1992). Communication network of the superorganism. *Bees as Superorganisms: An Evolutionary Reality*, 110-151.
- Moscatelli, F., vd. (2016). Phosphorus 30 CH to control Varroa population in *Apis mellifera* colonies. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(5), 861-864.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). *Medical Microbiology* (9th ed.). Elsevier Health Sciences.
- Mushtaq, A., vd. (2018). Efficacy and toxicity profile of carfilzomib based regimens for treatment of multiple myeloma: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 125, 1–11.

- Muz, M. N., Arslan, S., & Girişgin, A. O. (2014). Balarılarında *Varroa destructor* Enfestasyonuna Karşı Pudra Şekeri Etkinliğinin Araştırılması. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.* 33(1-2), 21-26.
- National Institute of Standards and Technology U.S. Department of Commerce (NIST) (2023, 2 July). Retrieved from: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C56815&Mask=200>.
- Nawrot, D., & Mieczan, T. (2014). Ciliates vs. another components of microbial loop in the psammolittoral zone: horizontal distribution. *Turkish J. of Zoology*, 38, 168-178.
- Oldroyd, B. P. (2007). What's killing American honey bees?, *PLoS biology*, 5(6), e168.
- Orivel, J., vd. (2001). Ponericins, new antibacterial and insecticidal peptides from the venom of the ant *Pachycondyla goeldii*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(19), 17823-17829.
- Oršolić, N. (2012). Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev.*, 31(1-2), 173-94.
- Park, S., vd. (2016a). Bee venom promotes hair growth in association with inhibiting 5 α -reductase activity. *PloS ONE*, 39(6), 1060-1068.
- Park, S., vd. (2016b). Melittin inhibits inflammatory target gene expression and mediator generation via interaction with IkappaB kinase. *Biochemical Pharmacology*, 117, 57-68.
- Park, S. C., vd. (2018). Optimized antimicrobial potency of modified melittin derivatives with multiple cationic residues. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2427.
- Paz, R. I., vd. (2012). Melittin analogue shows potent antimicrobial activity against *Bacillus anthracis*. *Peptides*, 33(2), 307-314.
- Persano Oddo, L., & Marinelli, E. (2022, 2 July). *Impiego di prodotti omeopatici nella lotta contro la Varroa destructor Anderson & Trueman*. Retrieved from: <http://www.librinlinea.it/search/public/appl/dettaglio.php?bid=PAL0194355>.

- Petersen, T. N., Brunak, S., von Heijne, G., & Nielsen, H. (2009). SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nature Methods*, 8(10), 785-786.
- Rady, H. M. (2015). Antifungal Activity of Bee Venom Against *Candida albicans*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(1), 9-16.
- Raghuraman, H., & Chattopadhyay, A. (2007). Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions. *Bioscience Reports*, 27(4-5), 189-223.
- Rehm S. M., & Ritter W. (1989) Sequence of sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie* 20, 339–343.
- Root, E.R., & Root, A.I. (2005). *The ABC and XXZ of Bee Culture* (41st ed.), Medina, Oh: Kessinger Publishing.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, 96–119.
- Ruiz Espinoza, F. J. & Guerrero Salinas, J. I. (2005). Resultado de investigación de Homeopatía en abejas (*Apis mellifera* m. L.). Fase I Control homeopático de ácaros (*Varroa destructor* Oud.) en abejas. *La homeopatía de México*, 74 (637)112-120.
- Sassoli, C., vd. (2012). Valutazione di trattamenti omeopatici per il rafforzamento della resistenza alle piu' comuni patologie di famiglie di api allevate con metodo biologico. *Quaderno SOZOOALP*, 7, 143-152.
- Schmidt, J. O., Blum, M. S., & Overal, W. L. (2001). Hemolytic activity and stinging response produced by synthetic analogues of the venom peptide, melittin. *Toxicon*, 39(12), 1897-1912.
- Seeley, T. D. (1974). Atmospheric carbon dioxide regulation in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of insect physiology*, 20(11), 2301-2305.
- Seeley, T.D. (1995). *The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies* (1st ed.). United States of America: Harvard University Press.
- Segura, A., vd. (1999). Snakin-1, a peptide from potato that is active against plant pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 12(1), 16–23.

- Selsted, M. E., vd. (1985). Purification and antibacterial activity of antimicrobial peptides of rabbit granulocytes. *Infection and immunity*, 48(1), 8-15.
- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 1-14.
- Sheik, D. A., vd. (2019). Transdermal peptide delivery: A review of current challenges and emerging strategies. *Therapeutic Delivery*, 10(1), 51-67.
- Shen, L., vd.. (2010). Purification and characterization of a new antibacterial peptide royalisin from royal jelly. *Peptides*, 31(7), 1380-1388.
- Shin, S. Y., vd. (2014). α -Helical antimicrobial peptides and their analogs. *Current Protein & Peptide Science*, 15(7), 638-649.
- Silici, S., vd. (2013). The effects of some plant extracts used in folk medicine as antifungal agent on different mycotoxigenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(16), 1077-1082.
- Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295-311.
- Simpson, J. (1961). Nest Climate Regulation in Honey Bee Colonies: Honey bees control their domestic environment by methods based on their habit of clustering together. *Science*, 133(3461), 1327-1333.
- Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746.
- Smith, G. P. (1985). Filamentous fusion phage: Novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, 228(4705), 1315-1317.
- Smith, J., vd. (2018). Evaluation of the Antibacterial Activity of Melittin against *Staphylococcus aureus* by Agar Disk Diffusion Assay. *Methods in Molecular Biology*, 1737, 95-101.
- Smith, A. B., vd. (2019a). Effects of melittin on honey bee (*Apis mellifera* L.) workers infested with *Varroa destructor* Anderson & Trueman. *PLoS ONE*, 14(4), e0214779.
- Smith, J., vd. (2019b). Antimicrobial Activity of Melittin Against Various Microorganisms: A Comprehensive Review. *Antibiotics*, 8(2), 1-18.

- Southwick, E. E. (1985). Allometric relations, metabolism and heart conductance in clusters of honey bees at cool temperatures. *Journal of Comparative Physiology B*, 156(1), 143-149.
- Southwick, E. E. (1991). The colony as a thermoregulating superorganism. *The behaviour and physiology of bees*, 28-47.
- Southwick, E. E., & Moritz, R. F. (1987). Social control of air ventilation in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. *Journal of insect physiology*, 33(9), 623-626.
- Sudarsan, R., vd. (2012). Flow currents and ventilation in Langstroth beehives due to brood thermoregulation efforts of honeybees. *Journal of theoretical biology*, 295, 168-193.
- Sun, D.W. (2007). *Computational Fluid Dynamics in Food Processing* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Tan, N. H., Zhou, J., & Wang, Y. (2016). Bee Venom Peptides for the Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. *Toxins*, 8(10), 285.
- Tautz, J., vd. (2003). Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(12), 7343-7347.
- Tutkun, E., & Boşgelmez, A. (2003). *Balarısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri* (3. Basım). Ankara: Bizim Büro Basımevi.
- Usta, A., & Yıldırım, Y. (2020). Varroa yönetimi. *Çukurova Journal of Agriculture and Food Sciences*, 35(1), 57-66.
- Versteeg, H.K. & Malalasekera, W. (2007). *An Introduction to Computational Fluid Dynamics: The Finite Volume Method* (2nd ed.). Germany: Pearson Education Limited.
- Von Frisch, K. (1972). *Bees. Their vision, chemical senses, and language* (Rev. ed.). New York: Cornell University Press.
- Wang, C., vd. (2019). Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. *Neurotoxicity Research*, 35(3), 567-573.

- Wang, C., Hu, F., & Liu, D. (2014). Antimicrobial peptides: The promising candidates for future drug discovery. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(5), 429-436.
- Wang, G. (2014). Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals*, 7(5), 545-594.
- Wang, G., & Li, X. (2014). Antimicrobial peptides as an opportunity against bacterial pathogens. *Protein & Cell*, 5(10), 723-732.
- Wang, G., Li, X., & Wang, Z. (2016). APD3: The antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1087-D1093.
- Wang, K., vd. (2016). Antimicrobial Peptides: Promising Alternatives in the Post-Feeding Antibiotic Era. *Medicine*, 95(33), e4778.
- Wang, H., vd. (2018). Antibacterial activity and mechanism of bee venom peptide against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomedicine* 13, 6057-6069.
- Wedmore, E.B. (1947). *The ventilation of bee-hives* (1st ed.). United Kingdom: Bee Craft.
- Wilcox, D.C. (2006). *Turbulence Modeling for CFD* (3rd ed.). Canada: DCW Industries.
- Williams, J. A., Day, M., & Heavner, J. E. (2008). Ziconotide: an update and review. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 9(9), 1575-1583.
- Wilson, B. (2007). *The hive: the story of the honeybee and us* (1st ed.). London: Macmillan.
- Wong, J. H., vd. (2013). Antimicrobial peptides with therapeutic potential from skin secretions of frogs from the family Ranidae. *Pharmaceuticals*, 6(5), 531-557.
- World Health Organization. (2022, 3 September). Retrieved from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/112642/?sequence=1>.
- Yang, S. T., vd. (2017). Melittin, a honeybee venom-derived antimicrobial peptide, inhibits amyloid formation of A β 42 in vitro and ameliorates Alzheimer's disease-like pathology in 5XFAD mice. *Biomaterials*, 112, 22-32.
- Yang, X., vd. (2019). Melittin suppresses inflammation and osteoclastogenesis in collagen-induced arthritis mice via NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Molecular Immunology*, 105, 98-107.

- Xia, B. & Sun, D.W. (2002). Applications of Computational Fluid Dynamics (CFD) in the Food Industry: A Review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 34(1-3), 5-24.
- Xie, X., Huang, Z. Y., & Zeng, Z. (2016). Why do Varroa mites prefer nurse bees? *Scientific reports*, 6(1), 28228.
- Xu, C., vd. (2020). Correlation between Single Molecular Dynamics and Biological Functions of Antimicrobial Peptide Melittin. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 18;11(12), 4834-4841.
- Zaslloff, M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415(6870), 389-395.
- Zottich, U., vd. (2011). Purification, biochemical characterization and antifungal activity of a new lipid transfer protein (LTP) from *Coffea canephora* seeds with α -amylase inhibitor properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1810(4), 375–383.

DİZİN

-A-

Ampisilin, 85, 87, 93, 94, 98, 99, 102, 103, 107, 108
Apis mellifera L., 1, 2, v, vi, vii, viii, 1, 116, 132
 Arı zehri, 24, 49, 50, 73, 74, 75, 80

-B-

Bal arısı, 1, 6, 45

-C-

Candida krusei, xii, 87, 88, 89, 90
Candida parapsilosis, xii, 83, 84, 85, 86, 87

-D-

Damlatma, vi, xv, xvi, xvii, 85, 87, 89, 90, 92, 93, 96, 98, 100, 102, 103, 106, 107
 Dilüsyon, 42
 Disk difüzyon, v, 61, 118
 DPÜ arı merası, 6, 9, 17, 18, 111

-E-

Enterococcus faecium, xii, 94, 95, 96, 97, 98, 99
Escherichia coli, xii, 7, 27, 91, 92, 124

-H-

Homeopati, 5, 43

-İ-

İlaç, xiii, 20, 21
 İnflamasyon, 30, 31

-K-

Kanat, x, xviii, 13, 122
 Kovan, 4, xiii, xiv, 1, 5, 41, 46, 64, 65, 71, 112

Kuyucuk, v, vi, xv, xvi, xvii, 61, 62, 85, 86, 89, 92, 93, 96, 97, 100, 101, 106, 107

-M-

Macerasyon, 42
 Melittin, vi, viii, xiii, xiv, xv, 7, 8, 9, 22, 23, 24, 26, 27, 31, 32, 33, 34, 75, 79, 80, 83, 84, 97, 101, 106, 108, 109, 115, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 128, 130, 131, 132, 133, 134, 135
Mentha piperita, v, vii, 45, 46, 71, 72, 115
 Mikroorganizma, xiii, 61, 108
 Mueller Hinton agar, 58, 59, 60, 91

-N-

Nozot, 43

-P-

Patates agar, 56, 57, 58, 80, 81, 91
 Peptit, xiii, xviii, 20, 21, 74, 98, 116
 Potanslama, 42
 Propolis, xiii, 85, 90, 92, 95, 96, 100, 105, 108, 109, 132
Pseudomonas aeruginosa, xii, 99, 100, 101, 102, 103, 118
 Pudra şekeri, 5, 40, 47, 71, 72, 113

-R-

Remedi, v, xiv, 41, 42, 43, 44, 48

-S-

Staphylococcus aureus, xii, 7, 27, 104, 105, 106, 107, 108, 117, 126, 132, 133, 134

-T-

Tentür, 43
 Tıbbi nane, 45, 46, 71

-V-

Varroa, xi, xiii, 5, 6, 13, 14, 15, 16, 17,
44, 45, 46, 69, 71, 121, 123, 124, 125,
126, 127, 129, 130, 131, 132, 133,
135

-Z-

Zon, xiii, xv, 83, 108, 109
Zufaotu, 45, 46

