



**AKARİSİTLERİN BAL ARISI GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİNDE YAŞAYAN  
BAZI BAKTERİ TÜRLERİNE ETKİSİ**

**BARIŞ TAŞEL**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Devrim OSKAY**

**İkinci Danışman: Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU**

**2023**

T.C.  
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



AKARİSİTLERİN BAL ARISI GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİNDE YAŞAYAN  
BAZI BAKTERİ TÜRLERİNE ETKİSİ

BARIŞ TAŞEL

ORCID: 0000-0003-3772-7716

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Devrim OSKAY

İkinci Danışman: Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

ŞUBAT-2023

Her hakkı saklıdır.

## ÖZET

### AKARİSİTLERİN BAL ARISI GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİNDE YAŞAYAN BAZI BAKTERİ TÜRLERİNE ETKİSİ

Barış TAŞEL

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Devrim OSKAY

İkinci Danışman: Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

Varroa akarı dünya üzerinde, arıcılık sektöründe önemli ekonomik kayıpların verilmesine neden olmaya devam etmektedir. Akarla mücadelede geliştirilen stratejilerden birisi de kolonilere sentetik akarasit kullanımınıdır. Bal arısı mikrobiyotası, patojenlere karşı savunmada, metabolizmanın çalışmasında, verimde, bağışıklık sisteminin, vücudun ve davranışın gelişmesinde önemli rol oynar. Bu tezde bal arısı gastrointestinal sisteminden izole edilen bakteri türlerinin genetik tanımlaması yapılmıştır ve üzerinde akarisitlerin disk difüzyon tekniği ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Bu amaçla piyasada bulunan amitraz, flumethrin ve tau-fluvalinate içeren akarisitlerin 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 dozlarının antimikrobiyal aktivitesi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmalar 3 tekerrür olarak uygulanmıştır. Amitraz, *Lactiplantibacillus spp.* üzerinde sırası ile 14,96 mm, 14,43 mm, 13,56 mm, 11,46 mm, 10,13 mm, 7,66 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. *Leuconostoc mesenteroides* üzerine sırası ile 17,83 mm, 16,56 mm, 12,93mm, 8,70 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. *Bifidobacterium spp.* üzerinde sırası ile 15,36 mm, 14,43 mm, 13,50 mm, 12,26mm, 10,23 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Amitrazın, *Klebsiella aerogenes* ve *Citrobacter freundii* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi görülmemiştir. Flumethrin ve tau-fluvalinate içeren akarisitlerin ise test edilen bakterilerin tümünde herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi saptanmamıştır. Bu çalışmada, amitraz etken maddeli akarisitlerin bal arısı gastrointestinal sistemindeki bazı laktik asit bakterilerine antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir. Gelecekte arıcılıkta varroa akarına karşı kullanılan akarisitlerin bal arısı mikrobiyotasındaki etkilerinin daha geniş kapsamda araştırılması, ortaya çıkan olumsuz etkilere karşı yeni stratejilerin geliştirilmesine ışık tutulması gerekliliği görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bal arıları, Bakteri, Amitaz, Flumethrin, Tau-fluvalinate, Disk difüzyon

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF ACARICIDES ON SOME BACTERIA SPECIES LIVE IN THE HONEY BEE GASTROINTESTINAL SYSTEM

Bariş TAŞEL

Department of Agricultural Biotechnology

MSc. Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Devrim OSKAY

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

Varroa mite continues to inflict substantial economic losses in the global beekeeping sector. In colonies, the use of synthetic acaricides is one of the strategies explored in the combat against mites. The microbiota of honeybees have a crucial role in pathogen protection, metabolism, efficiency, development of the immune system, body, and behavior. In this dissertation, the genetic identification of bacterial species isolated from the digestive tract of honey bees and the antibacterial activity of acaricides were examined using the disc diffusion method. The antibacterial activity of 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, and 1/32 dosages of acaricides including amitraz, flumethrin, and tau-fluvalinate was statistically tested for this purpose. There were three replications of the experiments. On *Lactiplantibacillus spp.*, the inhibition zone diameter of Amitraz was 14.96 mm, 14.43 mm, 13.56 mm, 11.46 mm, 10.13 mm, and 7.66 mm, respectively. On *Leuconostoc mesenteroides*, inhibition zone sizes of 17.83 mm, 16.56 mm, 12.93 mm, and 8.70 mm were generated, respectively. On *Bifidobacterium spp.*, the inhibition zone diameters were 15.36 mm, 14.43 mm, 13.50 mm, 12.26 mm, and 10.23 mm, respectively. *Klebsiella aerogenes* and *Citrobacter freundii* exhibited no antibacterial action against amitraz. Flumethrin and tau-fluvalinate-containing acaricides exhibited no antibacterial action against all tested microorganisms. In this research, it was discovered that acaricides containing amitraz had an antibacterial impact on some lactic acid bacteria in the honeybee digestive system. Future research must explore the impact of acaricides used against varroa mite in beekeeping on the honeybee microbiome in more detail and offer information on the creation of new strategies to combat the increasing negative effects.

**Keywords:** Honey bees, Bacteria, Amitraz, Flumethrin, Tau-fluvalinate, Disc diffusion

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
TEŞEKKÜR.....	ix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>10</b>
1.1. Literatür Özeti .....	10
1.2. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı .....	10
<b>2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>11</b>
2.1. Arıcılık Tarihi.....	11
2.2. Bal Arılarının Sınıflandırılması .....	12
2.3. Bal Arılarında Koloni Bireyleri .....	14
2.3.1. Ana Arı .....	15
2.3.2. Erkek Arı.....	15
2.3.3. İşçi Arı.....	16
2.4. Arıcılık Faaliyetlerinden Elde Edilen Ürünler.....	17
2.4.1. Bal.....	17
2.4.2. Polen.....	19
2.4.3. Propolis.....	19
2.4.4. Arı Zehri.....	20
2.4.5. Arı Ekmeği (Perga).....	21
2.4.6. Arı Sütü.....	21
2.4.7. Balmumu.....	23
2.4.8. Apilarnil.....	23
2.5. Bal Arısı Gastrointestinal Sistemi.....	24
2.6. Varroa Akarı.....	27
2.7. Akarisitler.....	29
2.7.1. Amitraz.....	30

2.7.2. Flumethrin.....	30
2.7.3. Tau Fluvalinate.....	31
2.8. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	31
2.8.1. Difüzyon Yöntemleri.....	31
2.8.2. Dilüsyon Yöntemleri.....	31
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>32</b>
3.1. Bal Arısı Örneklerinin Toplanması.....	32
3.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması.....	33
3.3. Gram Boyama.....	35
3.4. Moleküler Tanımlama.....	36
3.4.1. Bakteri DNA İzolasyonu.....	36
3.4.2. PCR Aşaması.....	36
3.4.3. PCR Sonrası Clean-up Aşaması.....	36
3.4.4. Sekans İşlemi Öncesi PCR Aşaması.....	37
3.5. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi.....	38
3.5.1. Saf Kültürlerin Canlandırılması.....	38
3.5.2. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	38
3.5.3. Disk Difüzyon Testi .....	39
3.5.4. İstatistiksel Analiz.....	42
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>43</b>
4.1. Saf Kültürlerin Petri Kaplarındaki Görüntüleri.....	43
4.2. Saf Kültürlerin Mikroskopik Görüntüleri.....	44
4.3. Sanger Dizileme Sonucu Belirlenen Bakteri Türleri.....	44
4.4. Disk Difüzyon Testi Sonuçları.....	45
4.5. İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	48
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>52</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>55</b>
<b>EK-1. SANGER DİZİLEME SONUÇLARI.....</b>	<b>65</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>67</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bal arılarının sınıflandırılması .....	13
Çizelge 2.2. Çiçek ve salgı ballarının bileşimi.....	18
Çizelge 2.3. Arı sütünün kimyasal yapısı.....	22
Çizelge 3.1. Sekans işlemi öncesi PCR için kurulacak reaksiyonun içeriği.....	37
Çizelge 3.2. Sekans işlemi öncesi PCR için kullanılacak protokol.....	37
Çizelge 4.1. NCBI veri tabanında benzerlik düzeyi en yüksek olan bakteri türleri.....	44
Çizelge 4.2. Amitraz inhibisyon zon değeri ortalamaları.....	47
Çizelge 4.3. Flumethrin inhibisyon zon değeri ortalamaları.....	47
Çizelge 4.4 . Tau-fluvalinate inhibisyon zon değeri ortalamaları.....	47

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bal arısı koloni bireyleri.....	14
Şekil 2.2. Bal arısı iğnesinin yapısı.....	20
Şekil 2.3. Bal arısı gastrointestinal sisteminin de bulunan bakterilerin kolonizasyonu.....	24
Şekil 2.4. Bal arısı bağırsak mikrobiyotasının metabolik aktivitelerini karakterize etmek için deneysel düzene genel bakış.....	25
Şekil 2.5. Varroa akarının gelişim evreleri ve cinsiyetlerine göre görünüşleri.....	28
Şekil 2.6. Varroa akarının yaşam döngüsü.....	29
Şekil 3.1. Diseksiyon öncesi bal arısı örnekleri.....	32
Şekil 3.2. Bal arısı gastrointestinal sistemi.....	33
Şekil 3.3. Anaerobik jar kullanarak bakterilerin inkübasyona bırakılması.....	34
Şekil 3.4. Bakteri süspansiyonlarının McFarland değerlerinin ayarlanması .....	39
Şekil 3.5. Bakteri süspansiyonlarının eküvyon çubuğu ile besiyerlerine inokülasyonu .....	40
Şekil 3.6. Steril boş diskler .....	41
Şekil 3.7. İnhibisyon zonlarının kumpas yardımıyla ölçülmesi .....	41
Şekil 4.1. MRSA ortamındaki saf kültürler.....	43
Şekil 4.2. TSA ortamındaki saf kültürler.....	43
Şekil 4.3. Elde edilen saf kültürlerin 400 kat büyütme ile mikroskopik görüntüleri.....	44
Şekil 4.4. Amitraz disk difüzyon sonuçları.....	45
Şekil 4.5. Flumethrin disk difüzyon sonuçları.....	46
Şekil 4.6. Tau-fluvalinate disk difüzyon sonuçları.....	46
Şekil 4.7. Amitraz 1/1 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği .....	48
Şekil 4.8. Amitraz 1/2 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği.....	49
Şekil.4.9. Amitraz 1/4 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği.....	49
Şekil 4.10. Amitraz 1/8 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği.....	50
Şekil 4.11. Amitraz 1/16 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği.....	50
Şekil 4.12. Amitraz 1/32 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği.....	51



## SİMGELER DİZİNİ

°C Santigrat Derece

% Yüzde



## KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	Varyans Analizi
bp	Baz Çifti
BLAST	Temel Yerel Hizalama Arama Aracı
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
gr	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
mm	Milimetre
M.Ö	Milattan Önce
MRD	Maksimum Geri Kazanım Seyreltici
MRSA	De Man, Rogosa ve Sharpe Agar
NBCI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qPCR	Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
TSA	Triptik Soy Agar
y.y	Yüzyıl
10-HDA	10-Hidroksi-2-Desenoik Asit
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

## TEŐEKKÖR

Bu tez çalışmasında desteklerini benden esirgemeyen sevgili danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Devrim OSKAY ve Doç. Dr. Hasan Murat VELİOğLU'na teőekkör ederim. Tez alıőması sırasında teknik ve manevi desteğini hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Yusuf SÖRMELİ ve Dr. Öğr. Üyesi Eyüp Erdem TEYKİN hocalarıma da ayrıca teőekkör etmek isterim. En önemlisi ise tez çalışması boyunca sürekli yanımda olan, bana moral ve destek olan sevgili eőim Ayőe TAŞEL ile bu süreçte hayata gelen canım oğlum Ege TAŞEL'e çok teőekkör ederim. İyi ki varsınız.

Barış TAŞEL

Ziraat Mühendisi

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Literatür Özeti

Bal arıları hem ürettikleri ürünler ile hem de dünya üzerinde polinasyona önemli katkı sağlaması nedeniyle tarım için kritik öneme sahip canlılardır. Bu kritik öneme sahip canlılarda mikrobiyotanın önemli işlevleri vardır. Dünya üzerinde son zamanlarda ciddi koloni kayıpları yaşanmış ve yaşanmaya devam etmektedir. Bu koloni kayıplarının ana nedeni olarak; akarlar, mikrobiyal patojenler ve tarımda kullanılan pestisitler görülmektedir (Blacquiére, Smagghe, Vangestel ve Mommaerts, 2012; Cornman ve ark, 2012; Vanengelsdorp ve ark, 2009). Bal arıları gastrointestinal sisteminde bulundurduğu bakterilerden dolayı mikrobiyota çalışmalarında model canlı olarak görülmektedir (Wang, Zhang, Zhang, Lang ve Zheng, 2018). Diğer tüm sosyal canlılarda olduğu gibi bal arısı mikrobiyotası da sosyal temas yoluyla gelişmektedir (Engel ve Moran, 2013; Powell, Martinson, Urban ve Moran, 2014). Bal arısı mikrobiyotasının antibiyotik gibi çeşitli etkenlere maruz kalması, fırsatçı patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların artmasına ve bal arılarının ömürlerinin kısalmasına neden olmaktadır (Raymann, Shaffer ve Moran, 2017). Antibiyotikler gibi pestisitlere maruz kalan bal arılarında bakteriyel topluluğun değiştiği fakat mantarların bu durumdan etkilenmediği görülmüştür (Kakumanu, Reeves, Anderson, Rodriques ve Williams, 2016). Sağlıklı bir mikrobiyotaya sahip bal arılarının; gıda sindirimi, koloni performansları, bağışıklık sistemleri, patojenlere karşı savunma ve tozlayıcı etkilerinin arttığı belirtilmektedir. Ayrıca bal arısı mikrobiyotası öğrenme ve hafıza yetenekleri üzerine etki ederek, sosyal davranışlar üzerinde etkili olmaktadır (Anderson ve Ricigliano, 2017; Khan ve ark, 2020; Zhang vd., 2022; Kwong, Mancenido ve Moran, 2017).

## 1.2. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışmanın amacı varroa akarı mücadelesinde kullanılan amitraz, flumethrin ve tau-fluvalinate etken maddelerine sahip akarisitlerin, bal arısı gastrointestinal sisteminde bulunan bazı bakteri türlerine in-vitro düzeyde etkilerini saptamaktır. Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışmada antimikrobiyal duyarlılık testi olarak disk difüzyon test yöntemi kullanılmıştır. Disk difüzyon test yöntemindeki hedef, akarisitlerin bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini saptamaktır. Akarisitlerin, bal arısı mikrobiyotasına karşı etkilerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu tez çalışmasından elde edilecek bilgilerin yapılacak olan diğer çalışmalara önemli katkılar sunacağı düşünülmektedir.

## 2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Arıcılık Tarihi

Arıcılık; bal arısı kolonilerinin kendi ihtiyaçlarından fazla olan bal, polen, propolis gibi ürünleri kovanlarında stoklamalarını sağlamaya ve böylelikle bal başta olmak üzere diğer arıcılık ürünlerini elde etmeye yönelik yapılan faaliyetler bütünüdür (Fıratlı, Karacaoğlu ve Gençler, 2004). Arıcılığın kökeni bal avcılığı denilen yöntemle dayanmaktadır. Bu yöntemde; doğada yaşayan bal arısı kolonilerinden bal fırsatçı bir şekilde alınır ve kullanılırdı. İspanya’da 7.000 – 8.000 yıl öncesine dayanan mağara resimlerinde bal avcıları figürleri bulunmuştur. Fakat bu resimlerden de eski kayıtlara ulaşmak mümkündür. Anadolu’da bulunan ve 9.000 yıl öncesine ait olduğu düşünülen bir çömlekte balmumu kalıntılarına rastlanmıştır. Uzun zaman boyunca süren bu avcılık yöntemi zamanla bal arısı kolonilerin kontrol altına alınabileceğinin keşfedilmesiyle yoğun olarak yerini yetiştiriciliğe bırakmıştır. Gerçek anlamda arıcılık ise işçi arıların, ana arının yumurtalarını bırakması için petekler yapabileceği ve doğadan toplanan nektarın bu peteklerde bala dönüşeceği yapay boşlukların bulunmasıyla başlamış oldu. M.Ö 2450 yılında Mısırlılar teknik arıcılık faaliyetlerine başladılar. Bu sürecin başlamasıyla birlikte yatak kovanlar oluşturulmuş ve iki bin yıl boyunca tüm Akdeniz’e yayılmıştır. Bal ve bal mumu ortaçağ boyunca Avrupa’da önemli bir ticaret ürünü haline gelmiş ve ihtiyacı karşılamak için yeni kovan tipleri geliştirilmiştir (Kritsky, 2017). M.Ö 384-322 yıllarında hayatını sürdürmüş olan ünlü filozof Aristoteles ‘‘Hayvanlar Tarihi’’ isimli kitabında bal arılarına yer vermiş ve ana arı, işçi arı ve erkek arılardan bahsetmiştir. Aristoteles ayrıca kitabında işçi arıların kovan içindeki görevlerinede değinmiştir (Sancak, Sancak ve Aygören, 2013).

Anadolu’da arıcılık antik çağlardan beri düzenli olarak yapıldığını M.Ö 1.300 yıllarında Hititlere ait yazıtlardan görülmektedir. Bu yazıtlarda 202 maddelik yasalarada rastlanmıştır. Yasalarda arıcılık ve bal üretim faaliyetleri ile bal fiyatları hakkındaki konularda ele alınmıştır. Modern arıcılığa dair ilk keşifler 19.yy’da Avrupa’da Johann Dzierzon’un bal arılarının üremesi olayını keşfetmesiyle ve hareketli çerçeve kovan sistemini geliştirmesiyle hız kazanmıştır. Yine aynı dönem de Amerika’da ise Langstroth çerçeveli kovan sistemini geliştirmiştir. Daha sonrasında da modern arıcılığın kurulmasına dair keşifler devam etmiştir. Bu keşifler sırasıyla; 1857’de temel petek kalıpları, 1865’te bal süzme makinası, 1882’de larva transfer yöntemi ve 1926 yılında ise ana arı yapay tohumla yönteminin bulunmasıyla daha da hızlanmıştır (Yurtoğlu, 2017).

Osmanlı devletinde de bal arıları ve bal yoğun ilgi görmüştür. Padişahların yaptırdığı imaretlerin mutfak giderleri hesaplandığında bu masrafların %5'inin bal olduğu görülmüştür. Buradan anlaşılacağı üzere bal, Osmanlı mutfağında önemli bir yer bulmuştur. 20. yy başlarına gelindiğinde ise ülkenin içinde bulunduğu olumsuz koşullara rağmen arıcılık faaliyetlerine devam edilmiştir. Bu tarihte Anadolu'da 1,3 milyon, Rumeli'de 0,3 milyon kovan bulunmakta ve kovan başına ortalama 4-6 kg bal ile 300-600 gr balmumu ürün alınmaktadır (Solak, 2013). Cumhuriyetin ilanından sonra Türkiye'de arıcılık faaliyetlerini arttırmak için aşar vergisi kaldırılarak arıcılık daha cazip hale getirilmeye çalışılmıştır. Sonrasında ise ülkenin tarım ile ilgili sorunlarını tartışmak üzere 5-11 Ocak 1931 tarihleri arasında I. Türkiye Ziraat Kongresi gerçekleştirilmiştir. Burada arıcılık sektörünün sorunları da ele alınmıştır. Bunun sonucunda arıcılık ile ilgili istasyonların kurulması ve kurslar düzenlenerek arıcılık eğitimi verecek öğretmenlerin yetiştirilmesi gibi konular gündeme alınmıştır (Yurtoğlu, 2017).

## 2.2 Bal Arılarının Sınıflandırılması

Bal arılarının anavatanını Avrupa, Afrika ve Asya kıtaları oluşturmaktadır. Dünya üzerinde bal arılarının varlığı milyonlarca yıl öncesine dayanmaktadır. Bal arılarını diğer böceklerden ayıran en önemli özellikleri; vücutlarının çatal biçimine tüyler ile kaplı olması, bitkilerin salgıladıkları nektarları toplayacak ağız yapılarına sahip olmaları ve vücutlarında polen taşımalarını sağlayan polen keselerini bulundurmalarıdır. Dünya üzerinde bal arılarının sınıflandırılması ilk olarak Carl Linnaeus tarafından 1758 yılında yapılmıştır. Buna göre bal arıları Hymenoptera takımında Apidae familyası içinde yer almaktadır. *Apis* cinsi içerisinde günümüzde tanımlanmış 10 farklı tür (*Apis florea*, *Apis dorsata*, *Apis cerana*, *Apis mellifera*, *Apis nuluensis*, *Apis laboriosa*, *Apis koshevnikovi*, *Apis nicrocineta*, *Apis andreniformis* ve *Apis binghami*) bulunmaktadır. Bu türler arasından *Apis mellifera* ekonomik açıdan önem kazanan ve en yaygın bal arısı türüdür. *Apis mellifera*'nın yeryüzünde bu seviyede yaygın olmasından dolayı birçok alttürü bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Bu alttürlerin de altında ekotipler oluşmuştur (Engel, 1999; Kaftanoğlu, 2001; Otis, 1996). Türkiye'de ise 5 farklı bal arısı ırkı bulunmaktadır. Bunlar; Kafkas bal arısı (*Apis mellifera caucasica*), Anadolu bal arısı (*Apis mellifera anatoliaca*), İran bal arısı (*Apis mellifera meda*), Suriye bal arısı (*Apis mellifera syriaca*) ve Karniyol bal arısı (*Apis mellifera carnica*) ırklarıdır. Dünya üzerinde Türkiye kadar hiçbir ülkede bu kadar fazla bal arısı genetik çeşitliliği görülmemektedir. Türkiye'deki bal arısı genetik çeşitliliğinin bu kadar fazla olması ekonomik, kültürel ve bilimsel açıdan büyük avantaj sağlamaktadır. Ülkemizdeki bal arısı genetik çeşitliliğinin zengin olması önceden yapılmış ıslah

çalışmalarında önemli kaynak oluşturmuştur (Köseoğlu vd, 2021; Oskay, Kükreer ve Kence, 2019; Whitfield ve ark, 2006). Bal arısı genetik çeşitliliğini korumak ileri zamanlarda yapılacak olan bal arısı ıslahı çalışmalarına da ciddi önemli kaynak oluşturacaktır (Kandemir, Kence ve Kence, 2000; Kence, 2006).

Çizelge 2.1. Bal arılarının sınıflandırılması (Engel, 1999)

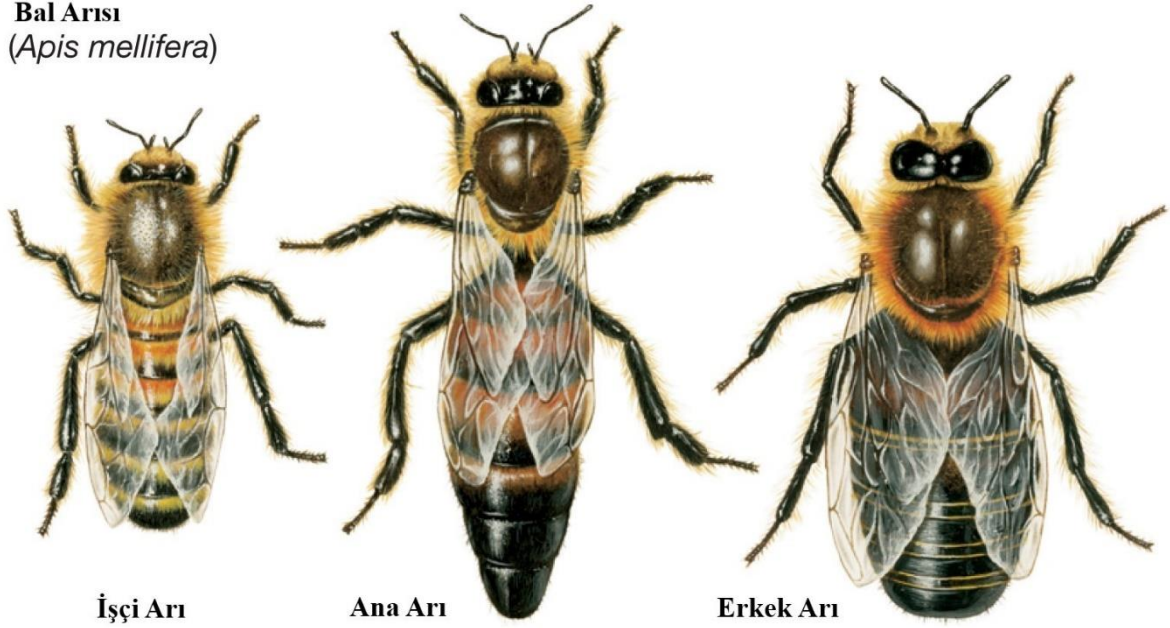
<b>Alem</b>	Animalia
<b>Şube</b>	Arthropoda
<b>Sınıf</b>	İnsecta
<b>Takım</b>	Hymenoptera
<b>Familya</b>	Apidae
<b>Cins</b>	<i>Apis</i>
<b>Türler</b>	<i>Apis andreniformis</i>
	<i>Apis binghami</i>
	<i>Apis cerena</i>
	<i>Apis dorsata</i>
	<i>Apis florea</i>
	<i>Apis koshevníkovi</i>
	<i>Apis laboriosa</i>
	<i>Apis mellifera</i>
	<i>Apis nigrocincta</i>
	<i>Apis nuluensis</i>

### 2.3 Bal Arılarında Koloni Bireyleri

Bir kovan içerisinde bir ana arı, on binlerce işçi arı ve yüzlerce erkek arıdan oluşan bal arısı topluluğuna koloni adı verilmektedir (Şekil 2.1). Bal arıları yumurta, larva, pupa ve yetişkin olmak üzere dört farklı gelişim aşamasından geçerler. Bal arısı kolonileri genel olarak dış koşullardan izole olan bir barınak içerisinde yaşamaya eğilimi gösterirler. Bu barınaklar doğal koşullarda bulunan kaya oyuğu, ağaç kovuğu, çatı ve duvar aralığı olabileceği gibi, insan eliyle çeşitli malzemeler kullanılarak imal edilen yapılarda olabilir (Doğaroğlu, 1999; Oertel, 1930).

Bal arısı kolonisi sıcaklığın 14°C'nin altına düşmesi ile kış salkımı denilen yapıyı oluştururlar. Bu dönemde ilkbahar ve yaz döneminde topladıkları besinler ile hayatlarını sürdürürler. Kış salkımı sürecinde tükettikleri besinleri ısı enerjisine dönüştürürler. Bu sayede dışarıdaki hava sıcaklığı düşük olsa bile oluşturdukları kış salkımının sıcaklığını 35°C'ye sabitleyebilirler. Dışarıdaki hava sıcaklığı düştükçe salkımın hacmini daraltırlar, hava sıcaklığının yükselmesi ile salkımın hacmi genişlemeye başlar (Crane, 1990).

**Bal Arısı**  
(*Apis mellifera*)



Şekil 2.1. Bal arısı koloni bireyleri (Britannica, 2022)



### 2.3.1 Ana Arı

Bal arıları koloniler halinde yaşayan sosyal böceklerdir. Bal arısı kolonisindeki tüm bireyler ana arının yumurtlamasıyla meydana gelir. Bu nedenle ana arının yaşı, genetik yapısı ve yetiştirilme yöntemleri koloninin sağlıklı ve verimli olması açısından ciddi öneme sahiptir. Ana arılar yumurta, larva ve pupa aşaması toplamda 16 gün sürmektedir. Bu sürenin sonunda ana arı petek gözünden çıkmaktadır. Fakat cinsel olgunluğa ulaşıp çiftleşme uçuşuna çıkması 7-10 gün kadar sürmektedir. Ana arı hayatı boyunca sadece bir dönem çiftleşme uçuşuna çıkmaktadır. Çiftleşme uçuşundan dönen ana arı 2-3 gün sonra yumurtlamaya başlar ve petek gözlerine bir günde 1500-2000 kadar yumurta bırakabilir. Ana arı yetiştiriciliğinde; doğal yöntemler kullanıldığı gibi çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilmiş yapay teknikler de kullanılabilir. Bu yapay tekniklerden en çok yaygın olanı ise larva transferi yöntemidir. Larva transferi yönteminin uygulanabilirliğinin kolay ve yüksek düzeyde üretime elverişli olması, ana arı yetiştiricileri tarafından sık tercih edilmesini sağlamıştır. Larva transferi yöntemi ile elde edilen arılarda yumurtlama öncesi süre ortalama olarak  $11.00 \pm 0.33$  gün olarak hesaplanmıştır (Dodoloğlu ve Genç, 1999; Doğaroğlu, 1978; Kaftanoğlu, Kumova ve Pekel, 1988; Kaftanoğlu ve Kumova, 1992). Doğal koşullarda çiftleşme uçuşuna çıkan ana arı ortalama olarak 8-10 erkek arı ile çiftleşmektedir. Bu çiftleşme işlemi kovanlardan 500-3000 metre uzakta ve havada, çiftleşme sahası ismi verilen alanda gerçekleşmektedir (Büchler, 1996; Woyke, 1962).

### 2.3.2 Erkek Arı

Erkek arılar döllenenmemiş yumurtadan oluşurlar. Bu nedenle erkek arılar haploid yapıdadır ve 16 kromozom taşırlar. Her bir erkek arı genetik olarak birbirinin aynısı olan 9-10 milyon arasında sperm hücresi üretirler (Collins, 1986; Rinderer, 1986). Erkek arıların vücutları işçi arılardan büyük, ana arıdan ise küçüktür. Bunun nedeni erkek arı petek gözlerinin (6,2 mm çap) işçi arı petek gözlerinden (5,2-5,8 mm çap) büyük olmasıdır. Erkek arıların kuluçka süreleri; yumurta aşaması 3 gün, larva aşaması 6 gün ve pupa aşaması ise 15 gün olarak toplamda 24 gündür (Dietz, 1992; Koeniger, 1970; Winston, 1987). Erkek arılar geç sonbahar ile erken ilkbahar arasındaki dönemde kovanda bulunmazlar. İlkbaharın başlaması ve havaların da ısınmasıyla beraber kovan içindeki sayıları da artmaya başlar (Koeniger, 2005; Seeley ve Mikheyev, 2003).

Erkek arıların kovan içinde belirli bir görevleri yoktur ve işçi arılar onları beslemeyi bırakıp kovan dışına attıklarında ölürlür. Fakat buna rağmen erkek arıların ana arılar ile çiftleşmek gibi hayati bir önemi vardır. Bu sayede genlerini diğer kolonilere aktarırlar. Erkek arıların çiftleşme olgunluğuna ulaşmaları, kuluçkadan çıktıktan iki hafta sonra gerçekleşir. Çiftleşme olgunluğuna ulaşan erkek arılar çiftleşme sahalarında ana arılar ile çiftleşirler (Suwannapong, Benbow ve Nieh, 2012). Yapılan çalışmalarda erkek arılarda yaş, sıcaklık, mevsim, genetik hat ve pestisitlere maruziyet gibi faktörlerin üreme sistemine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Özellikle varroa tedavisinde kullanılan akarisitlerin bal, bal mumu ve polen gibi maddelerde sürekli bulunmaları erkek arıların üreme sağlığını etkileyen bu olumsuz faktörlerin başında gelmektedir. Bu gibi faktörler erkek arıların sperm kalitesini düşürmekte ve bunun sonucunda, ana arının spermetakası da ölü spermleri yoğun olarak bulunmasına neden olmaktadır. Bu durum, ana arının daha az yumurtlamasına ve ana arının kalitesinin düşmesine neden olur. Ana arı kalitesinin düşmesiyle birlikte koloni yaşamını da olumsuz etkileyeceği için, işçi arılar ana arıyı değiştirme yoluna gideceklerdir. Sonuç olarak sadece ana arının değil erkek arılarında koloninin devamlılığı ve sağlığı açısından ciddi önemi vardır (Rangel ve Fisher, 2019).

### **2.3.3 İşçi Arı**

İşçi arılar kovanın en kalabalık grubunu oluştururlar. İşçi arıların kuluçka süreleri 21 gün sürer. Bu sürenin 3 günü yumurta, 6 günü larva ve 12 günü pupa aşamasında geçmektedir (Winston, 1991). İşçi arıların kalabalık olması bir anlamda kovanın gücü ve verimliliğinin bir göstergesi olarak kabul edilir. İşçi arılar kovanda neredeyse tüm görevleri üstlenirler. Bu görevler yaşlandıkça değişmekle birlikte başlıca; kuluçka yetiştirme, petek örme, kovan temizliği, yiyecek arama ve kovan savunmasıdır. İşçi arılar yaz mevsiminde 2-6 hafta, kış mevsiminde ise ortalama 20 hafta hayatta kalırlar (Remolina, Hafez, Robinson ve Hughes, 2007; Winstone, 1992; Wongsiri vd., 1996a, 1996b). İşçi arılar birkaç günlük olduklarında ilk görevleri petek gözlerini temizlemektir. Bu görevin ardından diğer yavru arıların beslenmesi ile ilgilenirler. Daha sonraki dönemlerde ise tarlacı arı olarak tabir edilen dışarıdan yiyecek arama görevini yerine getirirler (Hrassnigg ve Crailsheim, 1998). Yapılan bir çalışmada tarlacı arıların vücutlarındaki lipit oranının, bakıcı arılara oranla daha düşük olduğunu bulunmuştur (Toth ve Robinson, 2005). İşçi arılara beslenmesinde prebiyotik ve probiyotiklerin takviye edilmesi durumda bal mumu bezlerinde gelişimin arttığı gözlenmiştir (Patruica, Dumitrescu, Stancu, Bura ve Dunea, 2012). Pestisitlere maruz kalan işçi arı larvalarında hayatta kalma ve

sağlıklarına karşı olumsuz etkiler bildirilmiştir. Ayrıca pestisitlere maruz kalan larvalarda detoksifikasyon enzimlerinin gen ekspresyonlarında değişimler gözlenmiştir (Tome ve ark, 2020).

## 2.4 Arıcılık Faaliyetlerinden Elde Edilen Ürünler

Bal arıları koloniler halinde yaşayabilen sosyal yapıya sahip böceklerdir. Bitki tozlaşmasının yanı sıra ürettikleri birçok ürün ile de insanlığa faydalı olmaktadır. Bu ürünler; bal, bal mumu, polen, arı ekmeği (perga), propolis, arı zehri, arı sütü ve apilarnil olarak bilinmektedir (Karlıdağ ve Keskin, 2020).

### 2.4.1 Bal

Bal arılarının başlıca karbonhidrat ve enerji kaynağı baldır. Bal arıları tarafından üretilen ballar kaynağına göre çiçek ve salgı balı olmak üzere 2 gruba ayrılır. Çiçek balına örnek olarak narenciye, kekik, püren, kestane ve ayçiçeği gibi monofloral ballar verilebilir. Salgı balına ise çam balı örnek verilebilir. Bir balın monofloral olarak kabul görmesi için elde edilen bitki polenlerinin bal içindeki oranının %45 ve üzerinde olması gerekmektedir (Kambur, Kekeçoğlu ve Yıldız, 2015). Depolan bal özellikle kış ve erken ilkbaharda arıların hayatta kalabilmeleri için oldukça önemlidir. Taze nektar ise kolonin kuluçka varlığının artmasına ve doğal olarak daha fazla işçi sayısının oluşmasına neden olmaktadır. Bu da kovana taşınan nektar miktarının yükselmesini ve daha fazla bal üretimini sağlamaktadır (Somerville, 2000). Yetişkin bir bal arısının gün içerisinde hayatta kalabilmesi için 4 mg karbonhidrat ihtiyacı vardır (Barker ve Lehner, 1974). Bal temel olarak glukoz ve fruktozdan oluşur. Ayrıca içerisinde 25 farklı oligosakkarit bulunur (Bogdanov, Jurendic, Sieber ve Gallmann, 2008). Kuluçka gelişiminin ilk üç gününde %18 son iki gününde ise %45 oranında nektar kullanılır (Brodschneider ve Crailsheim, 2010). Bal yapısı gereği; antioksidan, antiinflamatuvar, bakteriyostatik ve antimikrobiyal etkiye sahip doğal bir üründür (Alvarez-Suarez, Giampieri ve Battino, 2013). Ayrıca balların antimikrobiyal özelliklerine karşı yapılan çalışmada multifloral balların, monofloral ballara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm ballar çeşitli oranlarda antibakteriyel etki gösterir. Ballara karşı en dirençli bakterinin *Bacillus cereus* olduğu, en duyarlı bakterilerin ise *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* türleri olduğu belirlenmiştir (Çınar, 2020). Balın bileşimi, tadı ve fizikokimyasal özellikleri, bal arılarının uğradığı çiçek türlerine göre değişiklik göstermektedir ve balda ortalama 600 farklı

bileşiminin bulunduğu tespit edilmiştir (Bogdanov, Haldimann ve Luginbühl, 2007; İsraili, 2014).  
Ballar çiçek ve salgı balları olarak iki kısma ayrılırlar (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Çiçek ve salgı ballarının bileşimi (Bogdanov vd., 2008).

	Çiçek Balı		Salgı Balı	
	<i>Ortalama</i>	<i>En az-En çok</i>	<i>Ortalama</i>	<i>En az-En çok</i>
<b>Su</b>	17,2	15-20	16,3	15-20
<b>Monosakkaritler</b>				
<i>Fruktoz</i>	38,2	30-45	31,8	28-40
<i>Glukoz</i>	31,3	24-40	26,1	19-32
<b>Dissakkaritler</b>				
<i>Sakkaroz</i>	0,7	0,1-4,8	0,5	0,1-4,7
<i>Diğerleri</i>	5,0	2-8	4,0	1-6
<b>Trisakkaritler</b>				
<i>Melezitoz</i>	<0,1		4,0	0,3-22,0
<i>Erloz</i>	0,8	0,5-6	1,0	0,1-6
<i>Diğerleri</i>	0,5	0,5-1	3,0	0,1-6
<b>Tanımlanamayan Oligosakkaritler</b>	3,1		10,1	
<b>Mineraller</b>	0,2	0,1-0,5	0,9	0,6-2,0
<b>Aminoasitler</b>	0,3	0,2-0,4	0,6	0,4-0,7
<b>Asitler</b>	0,5	0,2-0,8	1,1	0,8-1,5
<b>pH Değeri</b>	3,9	3,5-4,5	5,2	4,5-6,5

### 2.4.2 Polen

Polen bal arıları için önemli bir protein, lipit, mineral ve vitamin kaynağıdır. Polen ayrıca kuluçkaların beslenmesi, normal gelişim ve işçi arıların ömrü için gerekli bir besin maddesidir (Standifer, 1967). Polen besin içeriği bitki türlerine ve coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterebilmektedir (Brodschneider ve Crailsheim, 2010). Polenden yeterli besleyiciliği elde etmek için bal arılarının birçok bitki taksonunu ziyaret etmeleri ve bunlardan faydalanmaları gerekmektedir (Singh ve Singh, 1996). Özellikle monokültür tarım yapılan ve bu bitkileri tozlaştıran bal arılarında, yeterli besinleri alamadıklarından dolayı beslenme stresi gelişebilir (Alaux, Ducloz, Crauser ve Le Conte, 2010). Polenin kimyasal yapısı incelendiğinde %20-25 su, %1,8-3,7 kül, %13-17 karbonhidrat, %3-5 selüloz, %6-28 protein ve %1,2-3,7 yağdan oluşur. Güçlü bir bal arısı kolonisinin yıllık tükettiği polen miktarı 35 kg civarındadır. Bir bal arısının getirdiği polen topunun ağırlığı ise ortalama 12-29 mg arasındadır (Doğaroğlu, 1999). Bakıcılık çağındaki bir işçi arı ise ortalama 3,4-4,3 mg polen tüketir (Crailsheim vd., 1992). Yapay olarak hazırlanan protein diyetlerinde lipit oranının %2-4 oranında olmasının kuluçka verimini arttırdığı bulunmuştur (Herbert, Shimanuki ve Shasha, 1980). Polen ayrıca antimikrobiyal bir özelliğe sahiptir. Yapılan çalışmalarda polenin *Escherichia coli*, *Proteus pp*, *Salmonella spp* ve diğer *Koliform* türlerine karşı etkili oldukları gözlenmiştir (Bayrak, 2005).

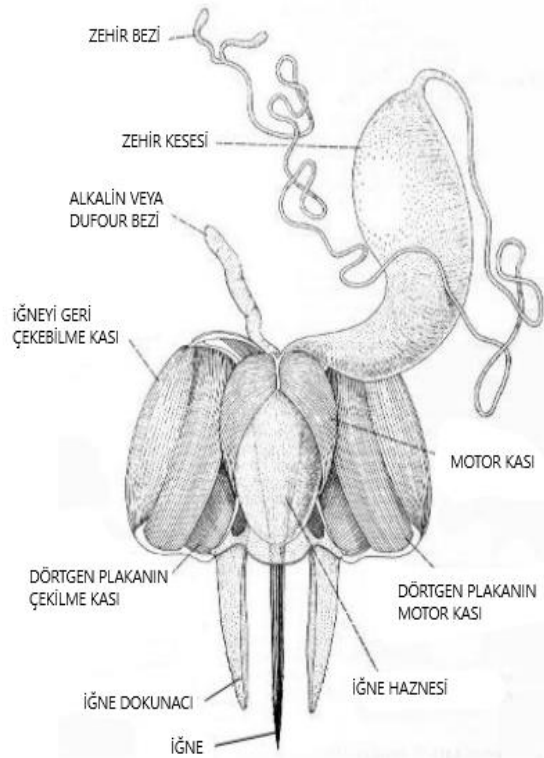
### 2.4.3 Propolis

Propolis kelimesi Yunanca kökenlidir, pro (ön, giriş) ve polis (şehir) anlamına gelmektedir. Propolis, bal arıların kovanlarını korumak için kullanılan maddelerin karışımından oluşmaktadır. Propolis kovanda bulunan çatlakların onarılmasında, soğuk günlerin yaklaşmasıyla kovan girişinin daraltılmasında, kovana giren yabancı canlıların mumyalanmasında ve bu sayede kovan içinde bu canlıların çürümesinin önlenmesinde kullanılır (Kedzia, 2008). Propolisin kimyasal bileşimi, toplandıkları bitki reçineleri ve balzamları ile bağlantılıdır. Propolisin içeriğinde 300'den fazla kimyasal bileşen tespit edilmiştir. Propoliste reçineler dışında bulunan ana kimyasal bileşikler ise mumlar, polifenoller ve terpenoidlerdir (Pimenta, Violante, Misis, Borges ve Aranha, 2015). Propolis yapısı gereği antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Bu özelliği mikroorganizmalar üzerinde doğrudan gösterebildiği gibi, organizmaların doğal savunma mekanizmalarını aktive ederek ve bağışıklık sistemlerini güçlendirerek gösterebilmektedir (Sforcin ve Bankova, 2015). Propolis gram pozitif bakterilere gram negatif bakterilerden daha fazla etki göstermektedir. Bunun nedeni

gram negatif bakterilerin hücre zarının yapısı ve gram negatif bakterilerin propolisin aktif bileşenlerini parçalayan hidrolitik enzimleri üretmesiyle açıklanmaktadır (Sforcin, 2016).

#### 2.4.4 Arı Zehri

Kovanda sadece ana arı ve işçi arılarda iğne bulunur, erkek arılarda ise iğne bulunmaz. İşçi arıların yumurtlama organı, savunma organı haline dönüşmüştür. Karın bölgesinde bulunan bu savunma organı iğne şeklinde sivri bir yapıya dönüşmüştür (Şekil 2.2). Aynı şekilde zehir bezleri ile zehir torbaları da işçi arıların karın bölgesinde bulunmaktadır. Bal arılarının iğneleri tırtıklı bir yapıya sahip olduklarından insan ve diğer memeli canlıları soktuklarında iğnelerini geri çıkarmaları mümkün olmamaktadır. Bu nedenle zehir torbasıyla beraber iğneleri de bal arısı vücudundan kopmakta ve bu durum ölümlerine neden olmaktadır. İşçi arılar üç günlük olduklarında zehir salgılayabilir seviyede olurlar. Bu seviye 2-3 haftalık olduklarında en yüksek düzeye ulaşır ve sonrasında düşmeye başlar. Ana arılarda ise durum tam tersidir. İşçi arıların tersine, ana arı ilk doğduğunda zehir düzeyi en yüksek seviyededir ve zamanla düşmeye başlar (Özbek, 1990).



Şekil 2.2. Bal arısı iğnesinin yapısı (Bogdanov, 2016).

Bal arısı zehri acı, renksiz bir sıvıdır (Zolfagharian, Mohaieri ve Babaie, 2015). Bal arıları tarafından sokulan çoğu insan zehrin vazoaaktif ve nörotoksik bileşenlerinden dolayı sokma yerinde kızarıklık, şişme, hassasiyet ve ağrıdan oluşan lokal bir reaksiyon yaşarlar. Yapılan çalışmalarda toplumun %20,7'sinin bal arısı sokmalarına karşı aşırı reaksiyon gösterdiği bulunmuştur. Bu reaksiyonlar derinin lokal bir şekilde ödemli şişmesinden ve insan hayatını tehlikeye atacak, sistemik anafilaktiğe kadar geniş klinik belirtiler gösterir (Nittner-Marszalska vd., 2004; Peiren vd., 2005). Bal arısı zehri aynı zamanda apiterapi de yoğun şekilde kullanılan ürünlerden birisidir. Hekimler Hipokrat'a kadar olan dönemde bile çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla bal arısı zehrinden faydalanmışlardır. Bal arısı zehri çeşitli romatizmal hastalıklar, kronik ağrılar, iltihap, bağ doku hasarlarında mücadele yöntemi olarak kullanılır. Bunun yanında ise migren, periferik nevrit ve kronik sırt ağrısı gibi nörolojik hastalıkları ise tedavi edici olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Kim, 2013).

#### **2.4.5 Arı Ekmeği (Perga)**

Bal arıları topladıkları polenleri petek gözlerine depolar. Daha sonra bu polenleri bal ve diğer salgularla karıştırmakta ve laktik asit fermantasyonuna bırakmaktadır. Bu karışım ortalama 14 gün içerisinde arı ekmeği denilen ürüne dönüşmektedir. Bu sayede polen kovanda fermantasyona uğramakta ve daha uzun süreler saklanabilmektedir (Bogdanov, 2011). Arı ekmeği arı sütü üretiminin hammaddesini oluşturmaktadır. Polen ve arı ekmeği içeriği benzer olabile de bazı farklılıklar görülmektedir. Arı ekmeği protein bakımından polene göre daha zayıftır fakat proteinin sindirim oranı polene göre daha yüksektir. Arı ekmeği polene göre 6 kat daha fazla laktik asit içermektedir. Bu sayede polene göre maya gelişimini engeller ve son tüketim tarihinin uzun olmasını sağlar (Mutsaers, Blitterswijk, Leven, Kerkvliet ve Waerd, 2005).

#### **2.4.6 Arı Sütü**

Arı sütü genç larvaların ve ana arının beslenmesinde kullanılan bal arıları için oldukça önemli bir maddedir ve kimyasal yapısı Çizelge 2.3'te verilmiştir. Ana arı ve işçi arılar yumurta dönemlerinde genetik olarak aynı yapıdadırlar. Fakat larva dönemine gelindiğinde farklı sürelerde ve miktarlarda arı sütü ile beslenen larvalar ise anatomik, fizyolojik, morfolojik olarak işçi arılardan farklılık gösterirler ve ana arı oluşur. Ana arılar ortalama 3-5 yıl kadar yaşarlar, işçi arılar ise ortalama 2-3 ay kadar hayatta kalırlar. Bu farklı yaşam sürelerinin ve yapısal farklılaşmanın nedeni ise ana arıların kuluçka süresinde, sadece 6 gün fazladan arı sütü ile

beslenmesidir (Kolaylı vd., 2016). Yapısı krem kıvamında, beyazımsı bir renkte, keskin kokulu ve tadı ise ekşi-acı yapıda bir bal arısı ürünüdür. Arı sütü 5-15 günlük işçi arıların baş kısmında bulunan boğaz bezleri veya alt çene bezlerinden salgılanır. İşçi arılar kullandıkları bal, polen ve suyu vücutlarında değişikliğe uğratarak arı sütüne dönüştürürler (Akyol ve Baran, 2015). Arı sütü üretimine birçok faktör etki etmektedir. Bunlar; bal arısı ırkı, kolonilerde ana arının bulunup bulunmaması, kolonilere ek beslemenin yapılması, üretim kolonilerine yerleştirilen ana arı göz sayıları, transfer edilen larvanın ve beslemeyi yapan işçi arının yaşı gibi etmenlerdir (Karlıdağ ve Genç, 2009). Arı sütünün kalitesini belirleyen en önemli etmenlerden birisi 10-HDA (10-hydroxy-2-deconoic acid) maddesidir. Uygun bir ortamda üretilen arı sütlerinin içeriğinde %1,40 oranında 10-HDA bulunması gerekmektedir (Vecchi, Sabatini, Grazia, Tini ve Zambonelli, 1988).

Çizelge 2.3. Arı sütünün kimyasal yapısı (Akyol ve Baran, 2015).

Arı Sütünün İçeriği	Miktarı (%)
Su	57-70
Protein	11-17
Yağ Asitleri	4-5
Şekerler	11-13
Mineraller	2.34-3.34
Fosfor	0.5
Sülfür	0.6
Na, K, Ca, Fe, Cu, Mg, Mn	Eser Miktarda
Bilinmeyen Maddeler	2-3

Arı sütü apiterapi uygulamalarında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Arı sütünün antibakteriyel, antitümoral, antioksidan özelliklerinin yanında yaşlanmayı geciktirmesi, solunum sistemine iyi gelmesi, saçların uzamasına yardım etmesi, afrodisyak etkisinin olması ve sperm kalitesini arttırması gibi özelliklerinden yararlanılmaktadır (Sorucu, 2019).



#### 2.4.7 Balmumu

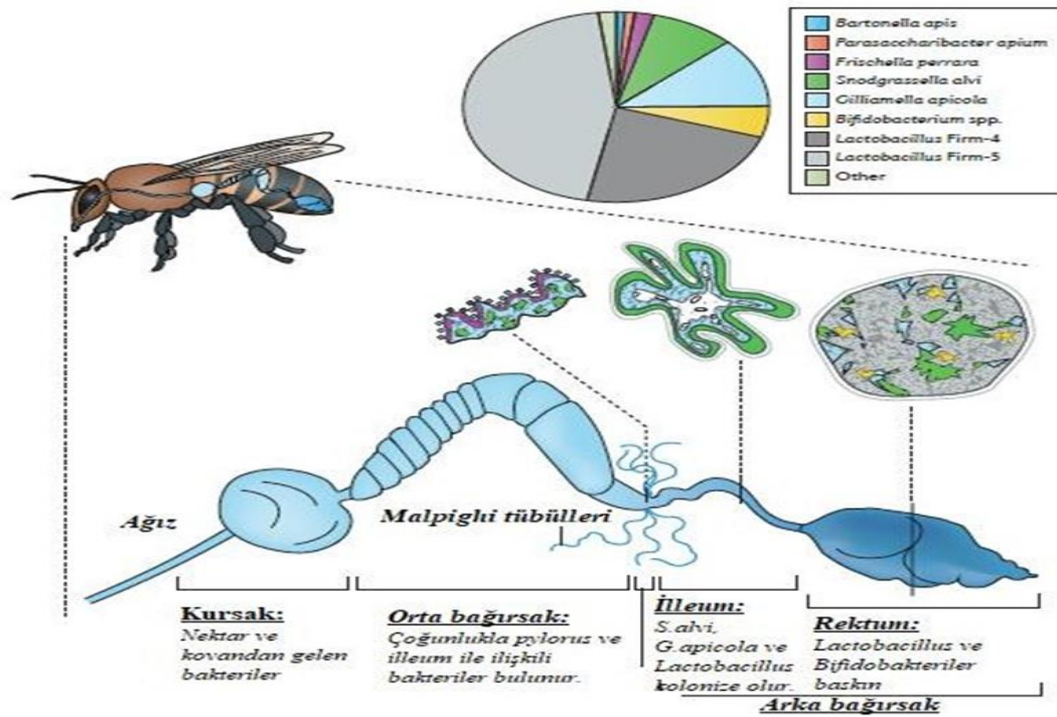
Balmumu bal arısı kolonisinin tüm üreme, depolama, termoregülasyon vb gibi faaliyetlerini üzerinde gerçekleştirdiği peteğin hammaddesini oluşturmaktadır. İşçi arılar 12-18 günlük olduklarında balmumu üretmeye başlar. İşçi arılar yaşlandıkça balmumu bezlerinin aktiviteleri düşmeye başlar, fakat zorunlu hallerde balmumu üretimine tekrardan başlayabilirler. Balmumu balında içeriğinde bulunan fruktoz, glukoz ve sakkaroz gibi karbonhidratlardan oluşmaktadır (Bogdanov,2004). Bal mumu arılar tarafından salgılandıklarında neredeyse beyaz bir renge sahiptir. Zamanla bal ve polen ile temas etmesiyle birlikte sarı bir renk almaya başlar. Kuluçka olarak kullanılmasıyla beraber dört yıl sonra ise kahverengi bir renge dönüşür (Hepburn vd., 1991). Ayrıca balmumunun farmasötik kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. Antik Roma'da birçok hekim yanık, yara, kesik, çürük ve kırıkların tedavisinde içinde bal mumunda bulunduğu, zeytinyağı ve gül suyundan oluşan özel bir krem uygulardı. Tıbbın önemli isimlerinden Hipokrat ise bademcik iltihaplanması durumunda tedavi amaçlı olarak balmumu önermiştir. Bal mumu yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi gösterdiği belirlenmiştir (Fratini, Cilia, Turchi ve Felicioli, 2016). Balmumu bal arısı kolonilerinde kimyasal iletişim için önemli bir maddedir. Karakteristik kimyasal yapısından kaynaklı olarak, bal arılarının kovan içindeki diğer bireyleri tanımasını sağlayan önemli ipuçlarından birini oluşturur. Balmumunun önemli rolü dikkate alındığında, balmumunun saf ve kirlenmemiş olması çok önemlidir. Fakat günümüzde balmumuna ticari amaçlı eklenen doğal ve sentetik maddeler ile pestisit kalıntıları, balmumunun ciddi oranda kirlenmesine neden olmaktadır (Svečnjak vd., 2019).

#### 2.4.8 Apilarnil

Apilarnil erkek arı larvalarından elde edilen doğal bir bal arısı ürünüdür. Yüksek besin değerine sahip olan apilarnil içeriğinde su, protein, karbonhidrat, yağ asitleri, lipitler, mineraller ve aminoasitler bulunur. Bunların yanı sıra testosteron, prolaktin, progesteron ve östradiol gibi belirli cinsiyet hormonlarını içerir (Erdem ve Özkök, 2018; Yücel, Şahin, Yıldız ve Kolaylı, 2019). Apilarnilin genel apiterapi uygulamalarındaki amacı erkek cinsel sağlığına, infertilitesine ve sperm sayısının artırılmasına yöneliktir. Ayrıca testosteron oranını yükseltmek isteyen sporcular tarafından takviye edici gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır (Parlakpınar ve Polat, 2021).

## 2.5 Bal Arısı Gastrointestinal Sistemi

Bal arılarının vücutları baş, göğüs ve karın olarak üç kısma ayrılmıştır. Karın bölgesinde bulunan sindirim (gastrointestinal) sistemi bal midesi, orta bağırsak, arka bağırsak olarak üç bölümden oluşmaktadır ve Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Lamei, 2018). Bal arıları buldukları nektarları uçuş sırasında bal midesinde geçici olarak sakkaroz, glikoz ve fruktoz olarak saklar. Sonrasında kovana götürülen nektar kovandaki arılar tarafından ağızdan ağıza aktarılabilir olarak depolanır. Nektarda ki su arılar tarafından uçurularak enzimler eklendikten sonrasında ise bal oluşur. Bu taşıma işleminde nektarın kirlenmemesi için bal midesinin son kısmında 'proventrikül' denen yapı bulunur (Olofsson ve Vásquez, 2008). Bal midesi yapı gereği mikroaerofilik (düşük oksijen) ve 35 °C sıcaklığa sahip olması sebebiyle laktik asit bakterilerinin üremesi için uygun bir ortama sahiptir (Jones, Myerscough, Graham ve Oldroyd, 2004).

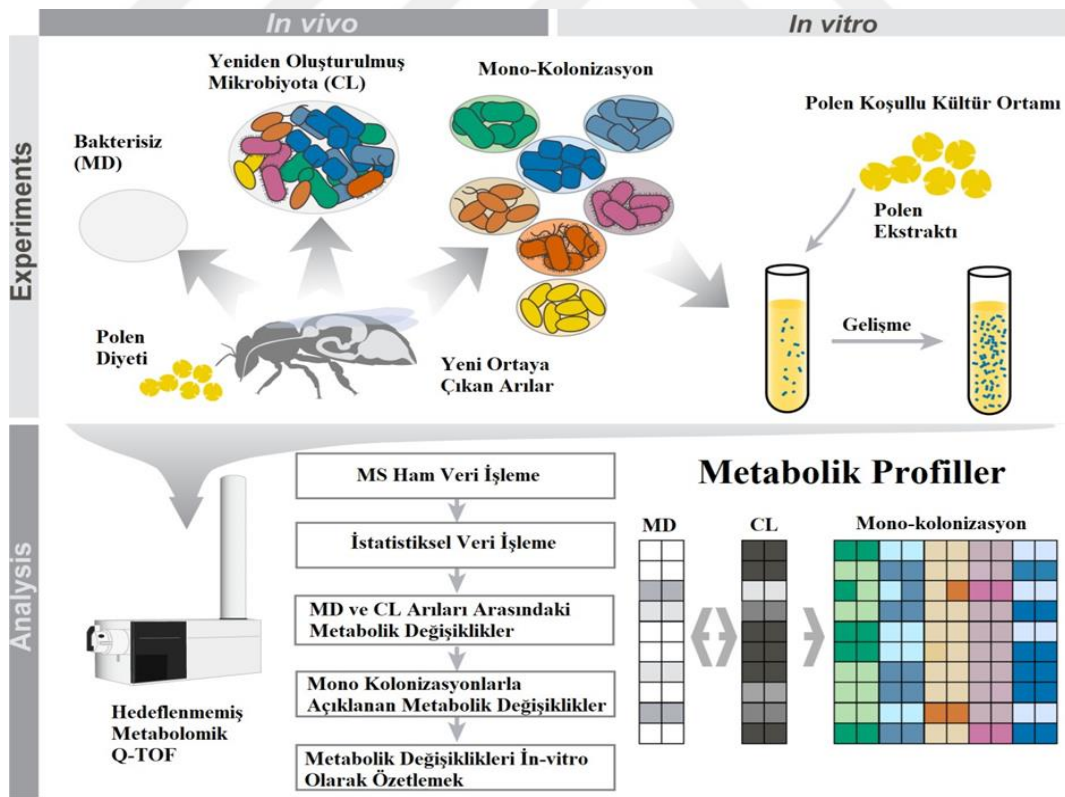


Şekil 2.3. Bal arısı gastrointestinal sisteminin de bulunan bakterilerin kolonizasyonu (Kwong ve Moran, 2016).

Orta bağırsak ise polen ve nektar için birincil sindirim işlemlerinin başladığı yerdir (Crailsheim, 1988). Bal arısı arka bağırsağı ise dışkıının toplandığı ve en yüksek bakteri yoğunluğunun olduğu yer olarak bilinir (Engel, Maritson ve Moran, 2012). Bal arılarının gastrointestinal sisteminde; *Bartonella apis*, *Snodgrassella alvi*, *Gilliamella apicola*,

*Frischella perrara*, *Lactobacillus Firm-4*, *Firm-5* ve *Bifidobacterium spp* türleri bulunur ve türler bal arısının temel bağırsak mikrobiyotasını oluşturur (Kwong ve Moran, 2016). Bal arıları bu temel bağırsak mikrobiyotasına sahip olsalar bile farklı çevresel ve peyzaj koşulların da yetişen kolonilerin mikrobiyal konsantrasyonunda farklılıklar olabilmektedir (Jones vd., 2018). Bu temel mikrobiyotasından yoksun bal arılarında kilo alımında azalma ve metabolizmalarında değişiklikler, artmış patojen duyarlılığı ve kovanlarda artmış ölüm sayıları görülmektedir (Koch ve Schmid-Hempel, 2011; Raymann, Shaffer ve Moran, 2017; Zheng, Powell, Steele, Dietrich ve Moran, 2017).

Bal arılarının gastrointestinal sisteminde bulunan bakteriler metabolik aktiviteler için önemli yer tutarlar. Yapılan bir çalışmada mikrobiyotadan yoksun arılar ve bağırsak mikrobiyotasının yedi farklı ana bakteri türünden oluşturulmuş bir topluluk ile kolonileşmiş arılar arasında güçlü metabolik farklılıklar bulunmuştur. Sonrasında bağırsak mikrobiyotasının genel metabolik çıktısına katkılarını denemek için ise her topluluk üyesiyle ayrı ayrı kolonize edilmiş arılar analiz edilmiştir. Son olarak ise sonuçlar polenle zenginleştirilmiş ortam kullanılarak in vitro olarak özetlenmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Bal arısı bağırsak mikrobiyotasının metabolik aktivitelerini karakterize etmek için deneysel düzene genel bakış (Kešnerová vd., 2017).

Bal arısı mikrobiyotası, bal arılarının öğrenme ve hafıza yeteneklerine de etki etmektedir. Bunu ise mikroorganizmaların bağışıklık sistemine etkili olmasıyla ve mikrobiyal metabolitlerin beyni direkt etkileyebilmesi ile yapmaktadır (Zhang vd., 2022). Aynı zamanda normal ve sağlıklı bağırsak florasına sahip bal arılarının viral etkenlere toleransının yüksek olduğu görülmektedir (Dosch, 2021). Bal arısı bağırsak florasından elde edilen *Lactobacillus plantarum* türünün güçlü bir probiyotik potansiyeli olduğu keşfedilmiştir (Tr, 2018). Sağlıklı ve sağlıklı bal arısı kolonilerinde mikrobiyal popülasyonun değiştiği bilinmektedir. Sağlıklı kolonilerde *Arsenophonus*, sağlık durumu iyi olan kolonilerde ise *Lactobacillus* ve *Leuconostoc spp* cinsi bakterilerin daha yoğun olduğu görülmektedir. Ayrıca *Leuconostoc mesenteroides* türünün bal arılarında potansiyeli yüksek bir probiyotik olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Budge vd., 2016; Huang vd., 2021). *Bifidobacterium* cinsi bakteriler bal arısı gastrointestinal sisteminde yoğun olarak bulunurlar. 1960 yılında *Apis mellifera*, *Apis cerana* ve *Apis dorsata* türlerinden *Bifidobacterium asteroides*, *Bifidobacterium coryneforme* ve *Bifidobacterium indicum* türleri izole edilmiştir (Biavati, 2001; Bottacini vd., 2012). İşçi bal arılarından probiyotik özellik gösteren bakteriler dışında *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella sp* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi türler bağırsak florasından tespit edilmiştir (Gilliam ve Valentine, 1974). Bal arısı gastrointestinal sisteminden en sık izole edilen patojen bakterilerin patojenitesi tespit edilmek istenilen bir çalışmada 150 kovan incelenmiş ve 19 bakteri türü tespit edilmiştir. Bunlardan en yaygın olarak bulunan bakteri türleri ise şunlardır; *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Citrobacter freundii* olmuştur (Dugalic-Vrindic, Vukovic ve Nedic, 2010). Bitki ve hayvanlar için fırsatçı bir patojen olarak bilinen *Serratia marcescens* varroa akarında ve bal arısı bağırsaklarından izole edilmiştir. İzole edilen *Serratia marcescens* türünün patojenitesinin tespiti için bal arılarına ağızdan uygulama yapılmış ve bal arılarını öldürdüğü görülmüştür. Ayrıca *Serratia marcescens* türlerinin bal arısı larva ve erişkinlerinde septisemiye neden olduğu bilinmektedir (Fünfhaus, Ebeling ve Genersch, 2018; Raymann, Coon, Shaffer, Salisbury ve Moran, 2018).

Pestisitler bal arısı gastrointestinal sistemde bulunan çekirdek mikrobiyotasına ciddi zararlar vermektedir. Dünya çapında en çok kullanılan pestisitlerden biri olan glifosata maruz kalan bal arısı mikrobiyotasının yoğunluğunda azalmalar görülmekte, mikrobiyotanın yapısı ve bileşimlerinde değişimler olmaktadır. Ayrıca glifosata maruz kalan bal arılarında bazı bağışıklık genlerinin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (Castelli vd., 2021). Tetrasiklinler ile tedavi edilen bal arılarının gastrointestinal sistemdeki çekirdek bakteri yoğunluğunda

azalmalar görülmüştür. Özellikle gram pozitif bakteriler gram negatif bakteri türlerine göre tetrasiklin tedavisinden daha çok etkilenmiştir (Raymann vd., 2017). Yine bir başka antibiyotik olan paromomisin'in bal arısı gastrointestinal sistemindeki bakterileri önemli ölçüde azaldığı yapılan qPCR analizi ile belirlenmiştir (Cho, Kogan, Elikan ve Snow, 2022).

## 2.6 Varroa Akarı

Bal arıları için önemli bir dış parazit hastalığı olan varroa akarı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde bulunan bal arıları için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu akarın oluşturduğu hastalığa ‘varroosis’ adı verilmektedir. Varroa akarının bilinen ve hastalığa neden olan dört farklı türü bulunmaktadır. Bu türler *Varroa jacobsoni*, *Varroa underwoodi*, *Varroa rindereri* ve *Varroa destructor* isimlerini alırlar. Bunlar arasında *Apis mellifera* üzerinde etkili olan tür *Varroa destructor* akarıdır. *Varroa destructor* akarı 2000 yılına kadar *Varroa jacobsoni* akarı olarak tanımlanmış ve sonrasında ayrı bir tür olduğu keşfedilmiştir (Rosenkranz, Aumeier ve Ziegelmann, 2010). *Varroa destructor*'un bal arılarının sadece hemolenfi ile beslendiğine inanılmaktaydı, fakat yapılan son çalışmalarda bal arılarına en büyük zararın lipit yolu ile olduğu görülmektedir. Bu nedenle bal arılarının bağışıklık sistemleri zayıflamakta ve viral ve bakteriyel etkenlere karşı savunmasız hale gelmektedirler (Ramsey vd., 2019). Varroanın deforme kanat virüsü ve akut arı felci virüsüne karşı bal arılarında bir vektör görevi gördüğü bilinmektedir (Chen ve Siede, 2007). Bal arılarını varroa vektörlüğü sayesinde enfekte eden bu virüslerin aynı zamanda varroa davranışını değiştirebileceği düşünülmekte ve varroa karşısında alternatif bir mücadele yöntemi olabileceği bildirilmektedir (Campbell, Budge, Watkins ve Bowman, 2016).

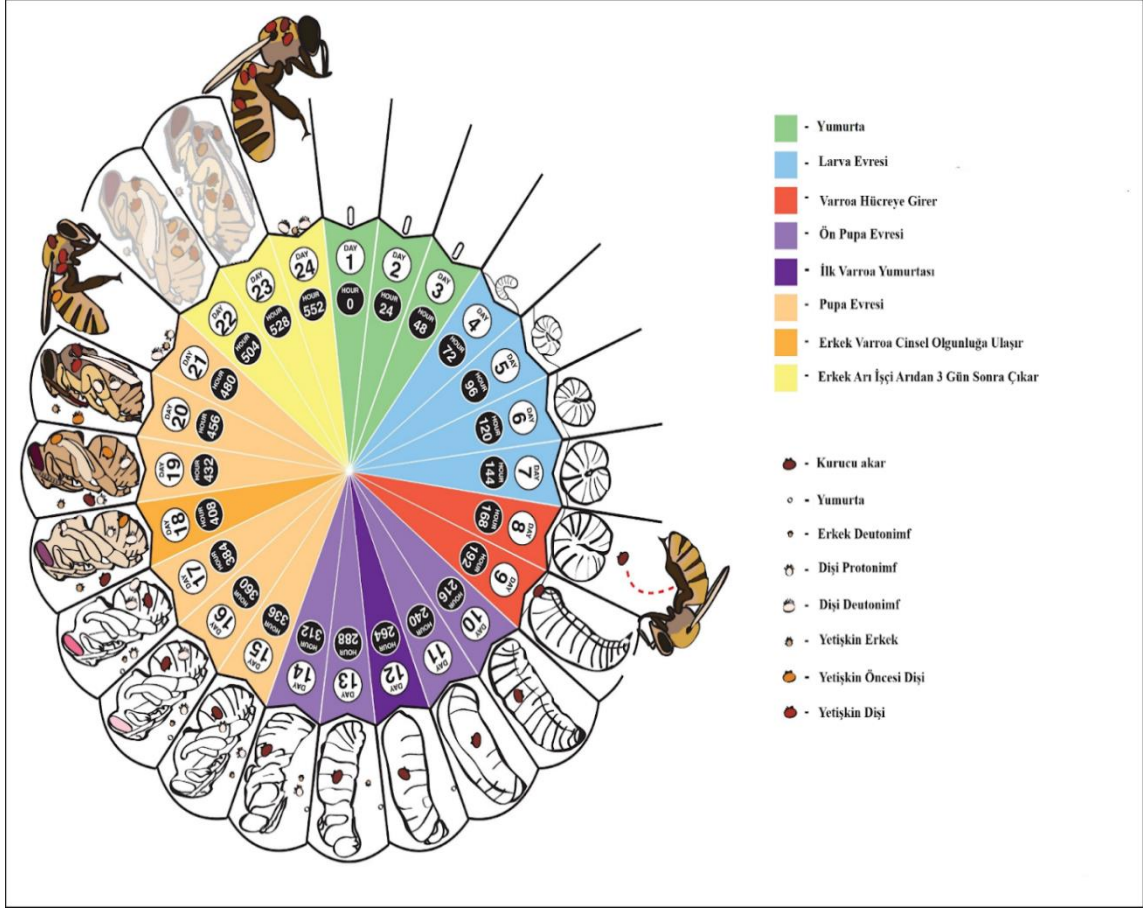
Varroa akarının yaşam döngüsü pupa aşamasına geçmemiş petek gözlerinde bulunan larvalara dişi akarların girmesi ile başlar. Birkaç günün sonunda akar yumurtalarını larvalarında içinde bulunduğu petek gözlerine bırakır. Böylece bir veya birkaç anne akardan meydana gelen yavrular petek gözlerinde çiftleşir ve işçi arılarla birlikte 21. günde, erkek arılarla ise 24. günde petek gözlerinden çıkar (Şekil 2.6). Varroa akarı cinsel özellikleri bakımından yapısal olarak farklı dimorfizm gösterirler. Erkek akarlar gelişimlerinin her aşamasında dişi akarlardan daha küçüktürler. Akarların bacak uzunlukları vücutlarına oranla erkeklerde daha uzundur. Erkek akarların vücut yapıları armutsu bir şekil almıştır (Şekil 2.5). Anne akarlar işçi arı yavru gözlerine altı, erkek arı yavru gözlerinde ise yedi adet yumurta bırakabilirler (Rehm ve Ritter, 1989). Varroa akarı ile mücadele yapılmazsa enfekte koloniler ılıman iklim gösteren yerlerde iki ya da üç yıl içerisinde çökmesi beklenir. Düzenli mücadelenin yapılması durumunda ise

arıcılık maliyetleri artmakta ve ürünlerde kalıntı miktarları sorun yaratmaktadır. Zarar gören bal arısı kolonileri ve mücadelede kullanılan yöntemler arıcılık işletmelerine maddi yük olarak geri dönmektedir (Rosenkranz vd., 2010). Varroa mücadelesinde kimyasal, biyolojik, fiziksel ve yasal olmak üzere dört ana mücadele yöntemi görülmektedir. Kimyasal mücadelede çeşitli sentetik ve organik kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Fakat akarların kullanılan kimyasallara karşı direnç mekanizması geliştirmesi, bal ve diğer ürünlerde kalıntı riski bu mücadele yönteminin olumsuz yönlerinin başında gelmektedir. Biyolojik mücadele yönteminde hedef erkek arı gözleridir. Erkek arı gözlerinin azaltılmasıyla kovadaki varroa akarı nüfusunda önemli bir düşüş hedeflenmektedir. Bunun nedeni ise varroa akarının yoğun olarak erkek arı gözlerini tercih etmesidir. Fiziksel mücadelede özel kovanlar kullanılmakta ve kovan içi ısı derecesinin artırılması esasına dayanmaktadır. Fakat uygulanmada yaşanan zorluklar bu mücadele yönteminin kısıtlı kalmasına neden olmuştur. Yasal mücadelede ise hastalıklı kovanların diğer bölgelere taşınmasının engellenerek hastalığın yayılmasının önüne geçilmesi esasına dayanmaktadır. Bu amaçla ülkemizde özel kanun ve tüzükler hazırlanmıştır (Akyol ve Özkök, 2005).



Şekil 2.5. Varroa akarının gelişim evreleri ve cinsiyetlerine göre görünüşleri (Rosenkranz vd., 2010).





Şekil 2.6. Varroa akarının yaşam döngüsü (Evans ve Cook, 2018).

## 2.7 Akarisitler

Varroa mücadelesinde bal arısı kolonisine uygulanan birçok akarisit bulunmaktadır. Bunlardan; amitraz, coumaphos, flumethrin, tau-fluvalinate gibi etken maddeler başta gelmektedir. Fakat bu sentetik kimyasalların uzun süreli ve yoğun miktarda kullanımı akarların bu etken maddelere karşı direnç oluşturmalarına neden olmuştur. Bunun yanında yoğun kimyasal kullanımı arı ürünlerinde kalıntı bırakma sorununa neden olmakta ve dolaylı olarak insan sağlığına olumsuz etkileri olmaktadır. Varroa mücadelesinde sentetik kimyasallara alternatif olarak ve balında doğal yapısında bulunan formik asit, laktik asit ve oksalik asit gibi organik asitlerde kullanılmaktadır. Ayrıca timol başta olmak üzere okaliptüs, nane, çördük otu ve karanfil gibi bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar da diğer alternatif maddeler olarak varroa mücadelesinde kullanılmaya devam etmektedir. Akarisitlerin kendisi kadar kullanım zamanları da önemlidir. En uygun kullanım zamanı etken maddelere göre değişmekte olup genel olarak arıların salkımında olmadığı, büyük nektar akımından en az bir ay önce, erken ilkbahar ve geç sonbahar dönemleridir (Cengiz, Emsen ve Genç, 2010; Demirel, Keskin ve Kumral, 2019).

### 2.7.1 Amitraz

Amitraz birçok alanda pestisit olarak kullanılmasına karşılık özellikle akarlarla olan etkisinden dolayı akarisit olarak kullanılmaktadır (Brown, 1977). Amitraz bal arılarında bir akarisit olarak kullanımının dışında sığır, koyun ve domuzlarda da kullanılan bir veteriner ilacıdır. İlk olarak 1969 yılında İngiltere’de sentezlenmiştir ve 1974 yılında piyasaya sürülmüştür. Amitraz memelilerde düşük toksik etkiye sahip olduğundan dolayı aynı zamanda köpeklerde kene tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapısı gereği kristal biçimde ve beyaz renktedir. Suda çözünmez. İnsektisit etkisini ise aşırı uyarılma, felç ve ölüm şeklinde gösterir (Bonsall ve Turnbull, 1983; Harrison vd., 1973).

Yapılan bir çalışmada yaygın bir şekilde akarisitlere maruz kalan bal arılarının (*Apis mellifera*) hayatta kalma başarıları, gelişim hızları ve larva ağırlıklarına etkisi araştırılmıştır. Amitraz ile tedavi edilen gruba 1,5 mg/L - 11 mg/L - 25 mg/L ve 46 mg/L dozları içeren bir diyet uygulanmıştır. Bu çalışmanın neticesinde 46 mg/L amitraz ile tedavi edilen grupta hayatta kalma başarılarının ve gelişim hızlarının azaldığı tespit edilmiştir (Dai, Jack, Mortensen, Bustamante ve Ellis, 2018). Ayrıca amitrazın sığır sperm hücrelerindeki toksik etkisini araştıran bir çalışmada, amitraza maruz kalan sperm hücrelerinin zarlarının fonksiyonel bütünlüğünü, akromozomal durumu, DNA fragmantasyonu ve canlılığın olumsuz etkilendiği görülmüştür. Bu olumsuz etkilere bağlı olarak, amitrazdan etkilenen sperm hücrelerinden elde edilen embriyolarda ise DNA hasarları oluştuğu belirlenmiştir (Carranza vd., 2023).

### 2.7.2 Flumethrin

Flumethrin bal arılarının dışında köpek, keçi, koyun, sığır ve atlarda parazitlere ve kenelere karşı kullanılan etkili bir piretroid insektisittir. Ölümcül olmayan dozlarda uygulanan flumethrin dozlarının yetişkin bal arılarında strese neden olduğu bulunmuştur (Qi vd., 2020). Bal arısı larvalarının gastrointestinal sisteminde bulunan mikroorganizmaların bir bariyer görevi görerek flumethrinin oluşturduğu stresi azalttığı görülmüştür (Yu vd., 2021).

Oral olarak uygulanan flumethrin dozlarının bal arılarında ciddi toksik etkilere neden olmaktadır. Oral yollar ile alınan flumethrin bal arılarında kısmi ya da tam felç durumunun oluşmasına ve motor koordinasyonun bozulmasına neden olur (Oruc vd., 2012). Flumethrin nöroblastoma hücrelerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada flumethrin maruziyetinin, DNA hasarına neden olabilecek oksidatif stres ve apoptozu indükleyici etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak bilinen reaktif oksijen türleri, nitrik oksit



oluşumu, malondialdehit konsantrasyonu ve kaspaz-3 aktivitesi gibi etkenlerde artış görülmüştür (Barrios vd., 2022).

### **2.7.3 Tau-fluvalinate**

Tau-fluvalinate Varroa akarlarına karşı oldukça güçlü bir etkiye sahip olan sentetik bir piretroiddir. 1988 yılından bu yana arıcılar tarafından varroosis mücadelesinde kullanılmaktadır (Tsigouri, Menkissoglu-Spiroudi ve Thrasyvoulou; 2001). Kışlayan bal arılarında tau-fluvalinate'ın olumsuz etkileri araştırılmış, bağışıklıkla ilgili gen ekspresyonlarında ölümcül olmayan değişiklikler ve DNA hasarı gözlenmiştir (Sabova vd., 2022). İşçi arılar üzerinde 13.700 mg/L tau-fluvalinate kullanımı, işçi arıların yarısını öldürmüş ve orta bağırsakta yırtıklar ve küçülmeler gözlenmiştir. Ayrıca illeumda şeffaflaşma ve ince çizgiler ile rektumda yırtılmış ve çok ince bir rektum duvarı gibi anatomik bozukluklar görülmüştür (Aljedani, 2022).

## **2.8 Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri**

Antimikrobiyal duyarlılık testleri bir etken maddenin bir mikroorganizma üzerindeki etkisini in-vitro koşullarda belirlemek için yapılan uygulamalardır. Bu yöntemler difüzyon ve dilüsyon olarak başlıca iki temel metoda dayandırılmaktadır (Demirpek, 2012).

### **2.8.1 Difüzyon Yöntemleri**

Disk difüzyon, agar well difüzyon ve e-test yöntemi olarak uygulanmaktadır. Bu yöntemlerde antimikrobiyal etkisi ölçülen maddelerin etkileri, agar plakları üzerinde inhibisyon zonları olarak görülmekte ve antimikrobiyal etki bu inhibisyon zonları üzerinden ölçülmektedir (Aytaç, Oryaşın, Başbülbul ve Bozdoğan, 2019; Brown ve Brown, 1991).

### **2.8.2 Dilüsyon Yöntemleri**

Tüp dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemi olarak uygulanmaktadır. Tüp dilüsyon yöntemi kendi içinde makro ve mikrodilüsyon yöntemi olarak ikiye ayrılır. Makrodilüsyonda deney tüpleri kullanılırken, mikrodilüsyonda küçük mikropate kuyucuklar kullanılır. Makro ve mikrodilüsyon testlerinde duyarlılık üreme olan ve olmayan tüplere göre belirlenir. Agar dilüsyon yönteminde ise antimikrobiyal etki göstermesi gereken madde direkt olarak agarlı besiyerinin içine eklenir ve petri kaplarına dökme plak yöntemi ile aktarılır. Bu yöntemde de duyarlılık makro ve mikrodilüsyon yöntemlerinde olduğu gibi üreme olan ve olmayan petri kaplarına göre belirlenir (Demirpek, 2012; Eşel, Sümerkan, Ayangil ve Telli, 2004).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Bal Arısı Örneklerinin Toplanması

Bal arısı örnekleri Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa ilçesine bağlı Nusratlı ve Seymenli mahallesinden uzun dönem akarisit uygulaması yapılmamış kovanlardan seçilmiştir. Toplamda 15 adet kovandan tarlacı işçi arı örnekleri alınmıştır. Toplanan tarlacı işçi arı örnekleri her kovandan 10 adet olacak şekilde steril bir falkon tüpüne aktarılmış ve uygun bir taşıma kabı ile laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen işçi arılar öncelikle CO<sub>2</sub> (karbondioksit) gazı ile bayıltılmıştır. Sonrasında ise %70 etanol ile dış yüzeyleri yıkanmış ve ardından ise steril serum fizyolojik su ile durulama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bal arısı örnekleri steril bir petri kabına alınarak bir pens yardımı ile sabitlendi ve bistüri kullanılarak abdomen kısmından dikey bir şekilde kesilmiştir. Başka bir pens yardımı ile gastroinestinal sistem çıkarıldı ve steril bir petri kabına aktarıldı. Diseksiyon işlemi öncesi ve sonrasında tüm işlemler aseptik koşullara uyularak gerçekleştirilmiştir (Carreck vd., 2013; Sanders, 2012). Bal arısı örneklerinin diseksiyon öncesi ve sonrası durumları Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Diseksiyon öncesi bal arısı örnekleri



Şekil 3.2. Bal arısı gastrointestinal sistemi

### 3.2 Saf Kültürlerin Hazırlanması

Diseksiyonu yapılan bal arısı gastrointestinal sistemi, steril tüplerde, 1 ml olarak bulunan ve izotonik bir çözelti olan steril MRD (Maximum Recovery Diluent) içerisine aktarılmıştır. Tüplerde bulunan gastrointestinal sistemin homojenizasyonu için steril öze kullanılarak parçalama işlemi yapılmıştır. Sonrasında ise voteks cihazı kullanılarak karıştırma işlemi gerçekleştirildi. İyi bir homojenizasyon sağlandıktan sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilen MRSA (de MAN, ROGOSA and SHARPE Agar) ve TSA (Tryptic Soy Agar) kullanılmak için hazırlanmıştır. Ayrıca *Bifidobacterium* türlerini izole etmek için ise MRSA 118 °C 15 dakika otoklav işlemine tabi tutulmuştur. Otoklav işleminden sonra hazırlanan tüm besiyerleri 90 mm çapındaki steril petri kaplarına dökülmüştür. Hazırlanan besiyerleri kullanılarak her örnekten farklı olacak şekilde 0,1 ml inokülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Steril bir drigalski spatülü kullanılarak yayma plak yöntemi ile örnekler homojen bir şekilde besiyeri ortamına yayılmıştır. İnokülasyonu yapılan örnekler inkübatöre kaldırılmadan önce anaerocult kullanılarak anaerobik bir jar içine yerleştirildi ve 37 °C’de 2 gün Şekil 3.3’te görüldüğü gibi inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.3. Anaerobik jar kullanarak bakterilerin inkübasyona bırakılması

İnkübasyondan sonra MRSA ortamında 3 farklı, TSA ortamında 2 farklı olmak üzere 5 farklı koloni tipi seçilmiştir. Tek koloni şeklinde alınarak saflaştırmak amacıyla tekrardan kendi besiyeri olan MRSA ve TSA ortamlarına inokülasyonu yapılmıştır. Elde edilen saf kültürlerin tanımlaması amacıyla identifikasyon işlemine başlanmıştır. Kültürlerin uzun süre muhafazası için her saf kültür ayrı ayrı olacak şekilde boncuklu bakteri saklama tüplerine aktarıldı ve -18 °C’de muhafaza edilmiştir.

MRD İçeriği ve Hazırlanışı:

- Pepton: 1 gr/l
- Sodyum Klorür: 8,5 gr/l

Damıtık su kullanılarak 9,5 gr/l olacak şekilde hazırlanmıştır. Kullanıma uygun şekilde kaplara ve deney tüplerine aktarılmıştır. Otoklavda 15 dakika 121 °C’de steril edilmiştir (Halkman ve Sağdaş, 2014).

MRSA İçeriği ve Hazırlanışı:

- Kazeinden elde edilen pepton: 10gr/l
- Et ekstraktı: 10 gr/l
- Maya ekstraktı: 4 gr/l
- D (+) Glikoz: 20 gr/l

- Dipotasyum hidrojen fosfat: 2 gr/l
- Tween 80: 1 gr/l
- di-Amonyum hidrojen sitrat: 2 gr/l
- Sodyum asetat: 5 gr/l
- Magnezyum sülfat: 0,2 gr/l
- Manganez sülfat: 0,04 gr/l
- Agar-agar: 14 gr/l

Dehidre besiyeri 68,2 gr/l olacak şekilde damıtık su içinde çözdürülmüştür. Otoklavda 15 dakika 121 °C’de sterilize edilmiştir. Besiyeri *Bifidobacterium* türleri için kullanılacak ise 15 dakika 118 °C’de sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası 45-50 °C’ye soğutulmuş ve steril petri kaplarına dökülmüştür (Halkman ve Sağdaş, 2014).

TSA İçeriği ve Hazırlanışı:

- Tripton: 15 gr/l
- Soya pepton: 5 gr/l
- Sodyum klorür: 5 gr/l
- Agar no.2: 12 gr/l

Dehidre besiyeri 37 gr/l olacak şekilde damıtık su içinde çözdürülmüştür. Otoklavda 15 dakika 121 °C’de sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası 45-50 °C’ye soğutulmuş ve steril petri kaplarına dökülmüştür (Halkman ve Sağdaş, 2014).

### 3.3 Gram Boyama

Hazırlanan saf kültürlerin gram özelliklerini belirlemek üzere gram boyama işlemi yapılmıştır. Saf kültürden alınan örneklerden fizyolojik tuzlu su kullanılarak preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatların kuruması beklenmiş ve buzen beki alevinden geçirilmiştir. Preparat kristal viyole ile 1 dakika boyanmış ve yıkanmıştır. Lugol çözeltisinde 2 dakika bekletilmiş ve sonrasında dekolorizasyon işlemi için alkol kullanılmıştır. Dekolorizasyon işleminin sayesinde gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki porlar iyice daralır ve boya dışarı çıkamaz. Gram negatif bakterilerde ise porlar iyice genişleyerek alkol boyayı çözer ve hücreden uzaklaştırır. Bu işlemden sonra ise preparat sulu fuksin ile 15-20 saniye boyanmıştır. Gram negatif bakteriler pembe-kırmızı renk alırken gram pozitif bakteriler mor renk almışlardır. (Tripathi ve Sapa, 2020).

### **3.4 Moleküler Tanımlama**

#### **3.4.1 Bakteri DNA İzolasyonu**

Saf kültürlerden alınan bakteriyel DNA izolasyonu, Nucleic Acid Extraction Kit – Gram Bacteria DNA Auto Tube Kit (TANBead, Taiwan) ile sağlanmıştır. Çalışma da Maelstrom 4810 otomatik nükleik asit izolasyon cihazı (TANBead, Taiwan) kullanılmıştır. İlk olarak izolasyon yapılacak petri kabından tek koloni alınıp distile su içeren mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelletin üzerine 200 µl inkübasyon buffer, 10 µl lizozim ve 10 µl proteinaz K eklenmiştir. Vorteks ile iyice karıştırılarak pelletin tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra 30 dakika boyunca 60 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen lizat otomatik izolasyon cihazına aktarılmaya hazır hale getirilmiştir. İzolasyonda kullanılacak Auto Tube’ün üzerindeki alüminyum folyo dikkatlice açılmıştır. İzole edilecek lizat kitin manualinde belirtilen şekilde Auto Tube’de ilgili kolonlara aktarılmıştır. Auto Plate cihaza yerleştirilmiştir. Cihazda amaca uygun olan program seçilerek izolasyon işlemi başlatılmıştır. İzolasyon işlemi tamamlandığında, izolat Auto Tube’den temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Elde edilen DNA miktarını belirlemek amacıyla, Qubit florometre cihazı (ThermoFisher, USA) kullanılmıştır. DNA izolasyonlarına göre DNA miktarları 11,1 ile 46,5 ng/µl arasında değişmiştir. İzolat, kısa süreli olarak 4 °C’de saklanmıştır.

#### **3.4.2 PCR Aşaması**

DNA izolasyonu sonrası dizilenecek örnekler, 16S rRNA geninin V3 ve V4 bölgelerini çoğaltacak şekilde ileri (F) ve geri (R) primerleri ile amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon sonrası elde edilen ürün yaklaşık 550 bp olmalıdır. Bu nedenle PCR aşamasının kontrolü için agaroz jel hazırlanmış ve 100-1000 bp içeren marker ile örnekler kontrol edilmiştir.

#### **3.4.3 PCR Sonrası Clean-up Aşaması**

Dizilemesi yapılacak olan PCR ürünleri için ilk olarak PCR Clean-up aşaması gerçekleştirilmelidir. Bu aşamada dizileme de kullanılacak olan örneklerin, PCR reaksiyonu sırasında kullanılan primerlerden ve dNTP’lerden arındırılması sağlanmıştır. Bu amaçla Exo-Alp PCR Clean-up Mix Kiti (AdvancedSeq, USA) kullanılmıştır. Çalışma için clean-up yapılacak örnekten 5 µl alınıp yeni bir PCR tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 2 µl Exo-Alp PCR

Clean-up Mix eklenilmiştir. Tüp kapatılıp vortekslenmiştir. Ardından termal cycler'a yerleştirilmiştir. 37 °C'de 15 dakika, ardından 80 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

#### 3.4.4 Sekans İşlemi Öncesi PCR Aşaması

Sekans işlemi öncesi PCR aşamasında SupreDye Cycle Sequencing Kit ve 5X Sequencing Buffer (AdvancedSeq, USA) kullanılmıştır. Kalıp DNA olarak Exo-Alp reaksiyonundan gelen ürün kullanılmıştır. Reaksiyonda kullanılacak primerin konsantrasyonu 1µM olmalıdır. Kurulacak reaksiyonun içeriği Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Sekans işlemi öncesi PCR için kurulacak reaksiyonun içeriği

Bileşen	Miktar (µl)
SupreDye	2
ADS 5X Sequencing Buffer	3
Primer (1 uM)	3.2
Distile Su	9.8
Template	2
<b>Toplam</b>	<b>20</b>

PCR tüpü içerisinde reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra termal cycler'a yerleştirilmiştir. Sekans işlemi öncesi PCR aşaması için kullanılacak protokol Çizelge 3.2'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Sekans işlemi öncesi PCR için kullanılacak protokol

Sıcaklık	Süre	Döngü
96 °C	1 dakika	1
96 °C	10 saniye	30
50 °C	5 saniye	
60 °C	4 dakika	
4 °C	∞	-

Sekans işleminin öncesi PCR aşaması tamamlandıktan sonra örnekler cihaza yüklenmeden önce son bir clean-up aşaması gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada sekans PCR reaksiyonundan kalan kontaminantların (florasan boyalar, tuzlar, dNTP, primer ve enzim) temizlenmesi sağlanmıştır. Bu çalışma için Sequencing Reaction Cleaning Beads (AdvancedSeq, USA) kullanılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında yıkama solüsyonu olarak %85 etanol hazırlanmıştır. Sekans PCR ürününden 10 µl alınıp, üzerine 10 µl manyetik boncuk eklenmiştir. Ardından 45 µl yıkama solüsyonu eklenmiştir. Karıştırıp 5 dakika oda sıcaklığında bırakılmıştır. Plate ise manyetik plate tutucuya yerleştirilip 2 dakika bırakıldı ve manyetik plateden ayırmadan ters çevrilip ekstra sıvı uzaklaştırılmıştır. Plate tutucuya iki kat kağıt havlu konulmuştur. Manyetik plate tutucu ile plate ters olarak tutulmuştur ve 250 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Sonrasında ise plate çıkarılıp kağıt havlular atılmış ve 100 µl yıkama solüsyonu eklenmiştir. Son olarak ise 45-65 µl deionize su veya elüsyon buffer (AdvancedSeq, USA) eklenmiş ve karıştırılıp 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu işlemler sonunda sekans cihazına yüklemeye hazır halde, yüksek saflıkta ürün elde edilmiştir. Elde edilen ürünün sanger sekans işlemi için Krogen Biyoteknoloji Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarından hizmet alımı yapılmıştır. Örnekler çift yönlü dizilenmiştir. Sonuçlar FinchTV uygulamasında görüntülendi. Görüntülenen sonuçlar Mega 11 programında düzenlendi ve NCBI veri tabanında BLAST programında taranarak benzerlik düzeyi en yüksek olan türler seçilmiştir.

### **3.5 Antimikrobiyal Duyalılık Testi**

#### **3.5.1 Saf Kültürlerin Canlandırılması**

Tanımlaması yapılan bakteri türleri boncuklu bakteri saklama tüplerinden birkaç boncuk alınarak peptonlu su içeren bir sıvı besi ortamında canlandırılmıştır. Canlandırılan kültürlerden 1,2 ve 3 numaralı kültürler MRSA, 4 ve 5 numaralı kültürler TSA ile inoküle edilmiştir. Kültürler anarobik ortam sağlamak amacıyla, anaerocult ve anaerobik jar kullanılarak 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır.

#### **3.5.2 Besiyerlerinin Hazırlanması**

MRSA ve TSA 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sadece *Bifidobacterium* türleri için MRSA ayrıca hazırlanarak 118 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril edilen besiyerleri 90 mm çapındaki petri kaplarına kalınlığı 4 mm ± 0,5 mm olacak şekilde 25 ml dökülmüştür. Dökülen besiyerleri hazır olduktan sonra uygun bir streç film ile sarılarak +4



°C’de buzdolabında 1 haftadan uzun olmayacak şekilde saklanmıştır (Halkman ve Sağdaş, 2014).

### 3.5.3 Disk Difüzyon Testi

Akarisitlerin antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilmesinde piyasada ruhsatlı olarak satılan 3 farklı akarisit kullanılmıştır. Bunlar; 125 mg/ml Amitraz, 10 mg/ml Flumethrin ve 240 mg/ml Tau-fluvalinate olarak temin edilmiştir. Sonrasında steril izotonik bir saf su ile 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, ve 1/32’lik olarak seyreltilmiştir. İyi bir emülsiyon oluşturulabilmesi için ortama %1,5 oranında Tween 20 katılmıştır. Negatif kontrol olarak içerisinde %1,5 Tween 20 bulunan steril izotonik saf su kullanılmıştır. Bu sayede seyrelticinin bakteriler üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediğinin tespiti amaçlanmıştır. Pozitif kontrol olarak *Klebsiella aerogenes* ve *Citrobacter freundii* için polimiksin B, *Lactiplantibacillus spp* ve *Leuconostoc mesenteroides* için dezenfektan madde, *Bifidobacterium spp* için vankomisin kullanılmıştır.

Petri kaplarında üretilen saf kültürlerden 4-5 koloni alınarak serum fizyolojik içerisinde doğrudan koloni süspansiyon yöntemiyle bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonları 0,5 McFarland olacak düzeyde yine serum fizyolojik kullanılarak Şekil 3.4’te görüldüğü gibi ayarlanmıştır. Hazırlanan inokülümler 30 dakika içerisinde kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Bakteri süspansiyonlarının McFarland değerlerinin ayarlanması

Hazırlanan bakteri süspansiyonuna steril bir eküvyon çubuğu daldırılıp karıştırılmıştır. Eküvyon çubuğunun emdiği fazla sıvıyı uzaklaştırmak için ise tüpün kenarına hafifçe bastırılarak rotator hareketi yapılmıştır. Sonra eküvyon çubuğu 60 derecelik açı ile döndürerek üç kez tekrarlı olacak şekilde ilgili besiyerlerine inokülasyon işlemi Şekil 3.5'te görüldüğü gibi yapılmıştır. Petri kapları 3-5 dakika oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra Şekil 3.6'da gösterilen, 6 mm çapında steril boş diskler petri kaplarına steril penset yardımı ile yerleştirilmiştir ve hafifçe bastırılarak sabitlenmiştir. Hazırlanan akarisit dilüsyonları 10 µl olacak şekilde disklerin üzerine aktarılmıştır. Sonrasında petri kapları anaerobik ortam sağlanarak 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kapları çıkarılarak, siyah tabanlı ve üstten ışıklandırılan bir ortamda kumpas yardımıyla Şekil 3.7'de gösterildiği gibi inhibisyon zonları ölçülmüştür (Kotan ve Tozlu, 2021; Rojo-Bezares ve ark., 2006; Wang ve ark., 2019).



Şekil 3.5. Bakteri süspansiyonlarının eküvyon çubuğu ile besiyerlerine inokülasyonu



Şekil 3.6. Steril boş diskler



Şekil 3.7. İnhibisyon zonlarının kumpas yardımıyla ölçülmesi

### 3.5.4 İstatistiksel Analiz

Bakteri türü içindeki uygulama dozlarının inhibisyon zon değerlerine etkisi ve uygulama dozlarının türler arasındaki inhibisyon zon değerlerine etkisi belirlemek amacıyla One-Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) testi uygulanmıştır. One-Way ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılıklar bulunan ( $p < 0,05$ ) gruplar için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde istatistik analiz programı olarak, JMP 8.0.2 versiyonu kullanılmıştır.

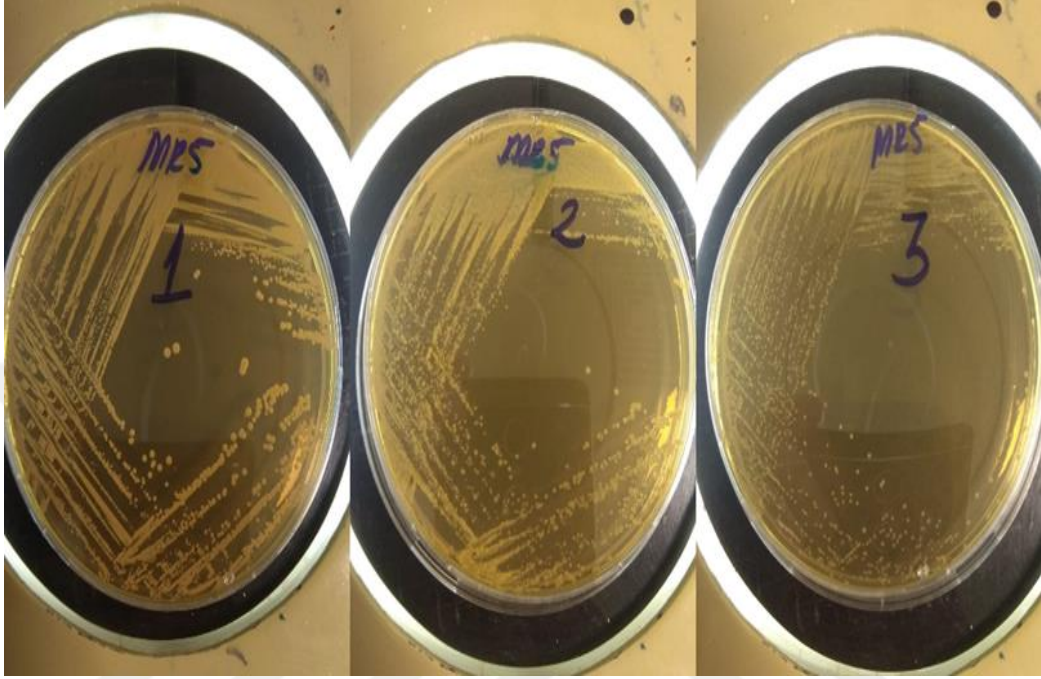




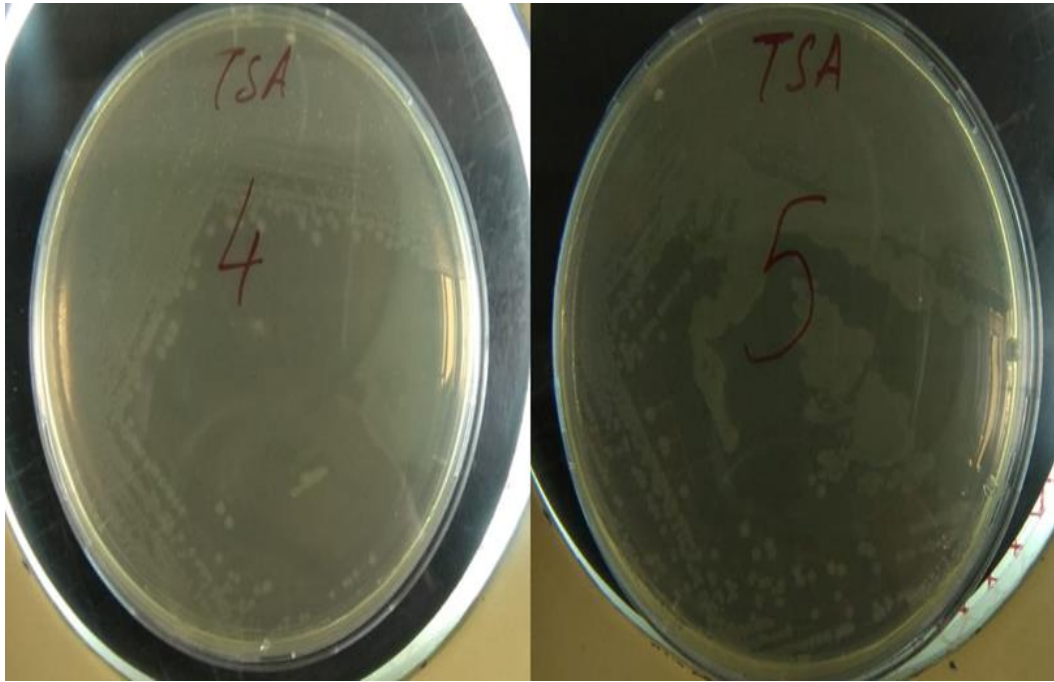
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1 Saf Kùltürlerin Petri Kaplarındaki Görüntüleri

MRSA ve TSA besiyerinde bulunan saf kùltür sonuçları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.



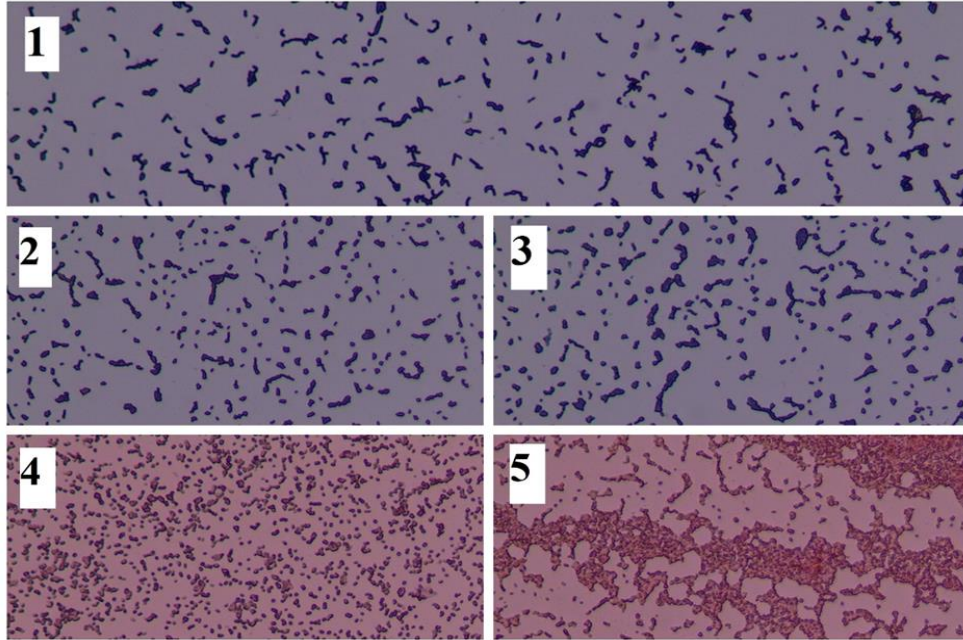
Şekil 4.1. MRSA ortamındaki saf kùltürler



Şekil 4.2. TSA ortamındaki saf kùltürler

## 4.2 Saf Kùltürlerin Mikroskopik Görüntüleri

Gram boyama sonucunda saf kùltürlerin mikroskop görüntüleri Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Elde edilen saf kùltürlerin 400 kat büyütme ile mikroskopik görüntüleri

## 4.3 Sanger Dizileme Sonucu Belirlenen Bakteri Türleri

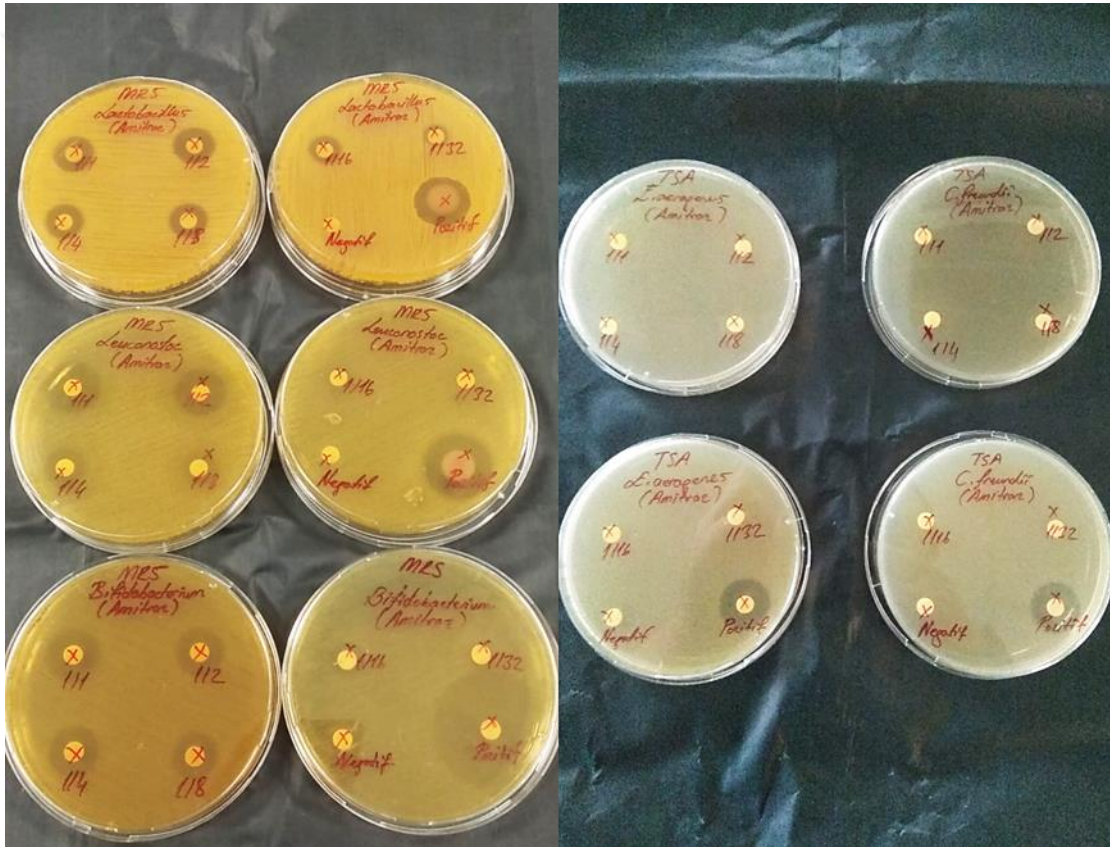
Sanger dizileme sonucunda, NCBI veri tabanında benzerlik düzeyi en yüksek olan bakteri türleri çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. NCBI veri tabanında benzerlik düzeyi en yüksek olan bakteri türleri

Bakteri Örneği Numarası	Benzerlik Düzeyi	Bakteri İsmi
1	%99,52	<i>Lactobacillus plantarum</i> - <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> - <i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
2	%98,38	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
3	%99,00	<i>Bifidobacterium asteroides</i> - <i>Bifidobacterium polysaccharolyticum</i>
4	%97,38	<i>Klebsiella aerogenes</i>
5	%94,94	<i>Citrobacter freundii</i>

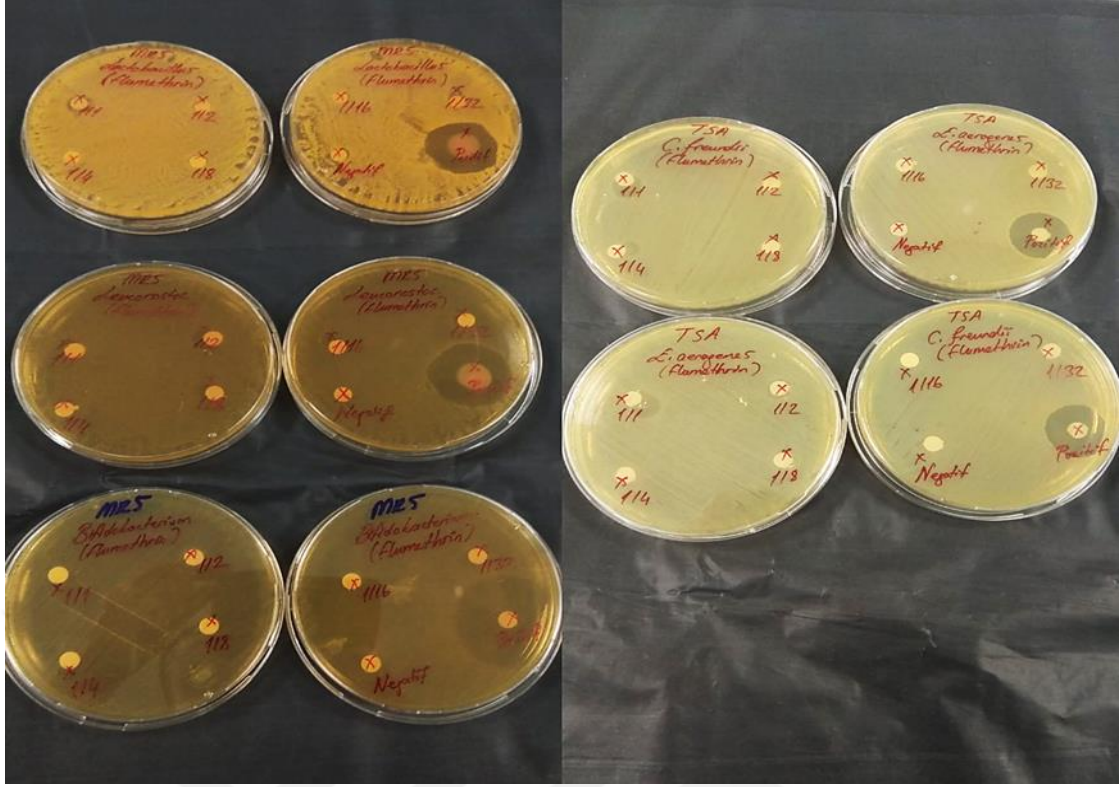
#### 4.4 Disk Difüzyon Testi Sonuçları

Akarisitlerin bal arılarının gastrointestinal sisteminden izole edilen bakteri türleri üzerindeki etkilerini belirlemek için akarisit oranları ve inhibisyon zon değerleri Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çalışma üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Flumethrin ve Tau-fluvalinate etken maddeli akarisitlerin bakteriler üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etki görülmemiştir. Sadece amitraz etken maddeli akarisitlerin bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisi görülmüştür. Çalışma sonucunda amitraz, flumethrin ve tau-fluvalinate etken maddeli akarisitlerin oluşturduğu disk difüzyon test sonucu görüntüleri Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

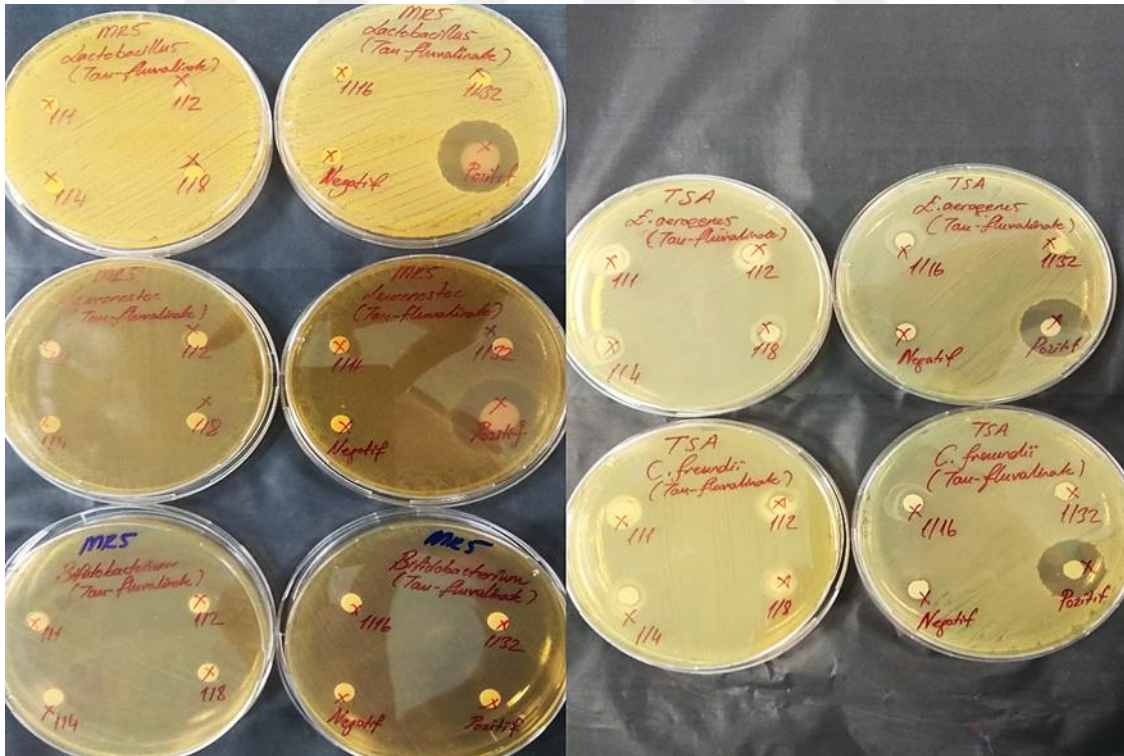


Şekil 4.4. Amitraz disk difüzyon sonuçları





Şekil 4.5. Flumethrin disk difüzyon sonuçları



Şekil 4.6. Tau-fluvalinate disk difüzyon sonuçları



Çizelge 4.2. Amitraz inhibisyon zon çap değerleri ortalamaları (mm)

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Negatif	Pozitif
<i>Lactiplantibacillus spp.</i>	14,96	14,43	13,56	11,46	10,13	7,66	-	26,03
<i>L.mesenteorides</i>	17,83	16,56	12,93	8,70	-	-	-	26,46
<i>Bifidobacterium spp.</i>	15,36	14,43	13,50	12,26	10,23	-	-	32,20
<i>K.aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,06
<i>C.freundii</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,06

(-) İnhibisyon zonu görülmedi

Çizelge 4.3. Flumethrin inhibisyon zon değerleri ortalamaları (mm)

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Negatif	Pozitif
<i>Lactiplantibacillus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	26,03
<i>L.mesenteorides</i>	-	-	-	-	-	-	-	26,46
<i>Bifidobacterium spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	32,13
<i>K.aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,03
<i>C.freundii</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,13

(-) İnhibisyon zonu görülmedi

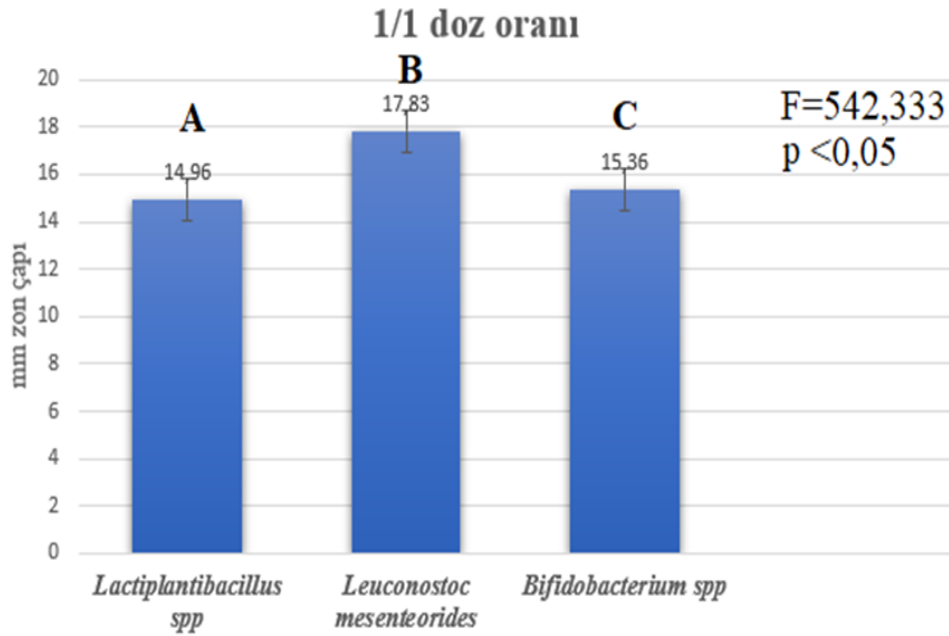
Çizelge 4.4. Tau-fluvalinate inhibisyon zon değerleri ortalamaları (mm)

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Negatif	Pozitif
<i>Lactiplantibacillus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	25,96
<i>L.mesenteorides</i>	-	-	-	-	-	-	-	26,46
<i>Bifidobacterium spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	32,23
<i>K.aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,06
<i>C.freundii</i>	-	-	-	-	-	-	-	21,13

(-) İnhibisyon zonu görülmedi

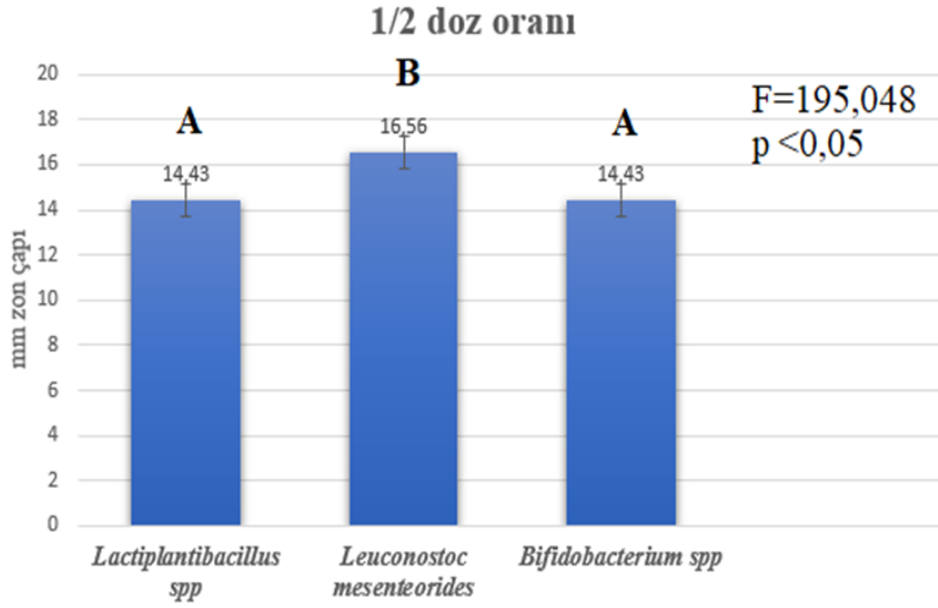
#### 4.5 İstatiksel Analiz Sonuçları

Amitraz uygulama doz oranlarının (1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) uygulanan bakteri türlerinin kendi içindeki inhibisyon zon çaplarına etkisine bakılmış ve *Lactiplantibacillus spp.* (F=1191,428; p <0,05), *Bifidobacterium spp.* (F=485,5676; p <0,05), *Leuconostoc mesenteorides* için (F=1554,145; p <0,05) bulunmuş ve türlerin kendi içinde amitraz uygulama dozları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Amitraz uygulama dozlarının *Lactiplantibacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* ve *Leuconostoc mesenteorides* bakterileri arasındaki etkisi yine istatistiksel olarak test edilmiştir. Varyans homojen olan oranlar için Tukey testi uygulanmıştır. Buna göre 1/1 doz oranında, *Lactiplantibacillus spp.* 14,96 mm, *Bifidobacterium spp.* 15,36 mm ve *Leuconostoc mesenteorides* 17,83 mm olan inhibisyon zon çapları ortalamaları gruplar arasında farklılık görülmüştür (F=542,333; p <0,05) ve Şekil 4.7'deki grafikte gösterilmiştir.



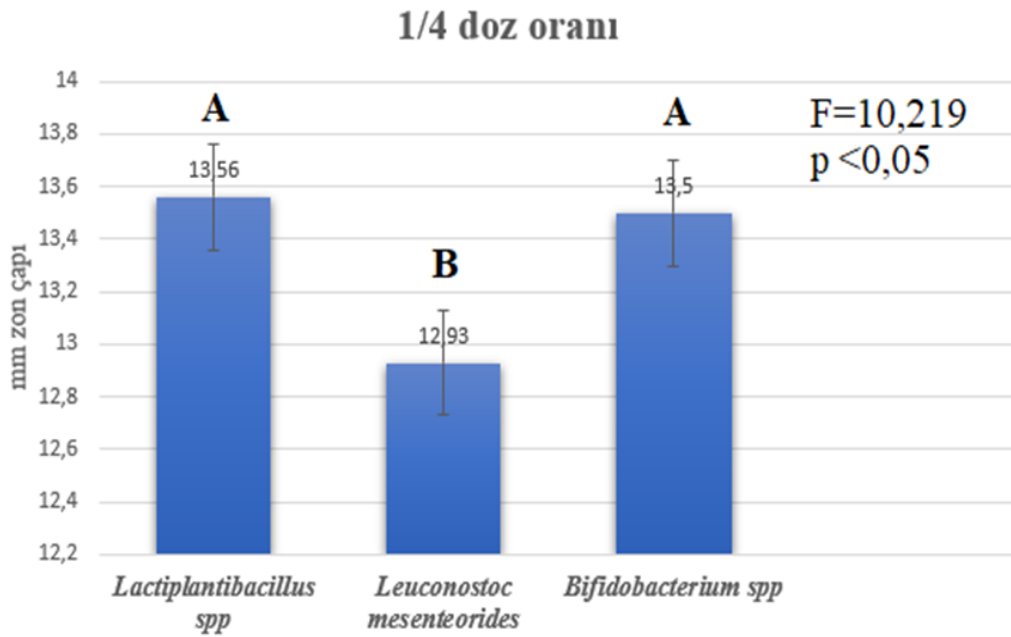
Şekil 4.7. Amitraz 1/1 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

Bunun yanı sıra 1/2 doz oranında zon çapları ortalamaları istatistiki olarak farklılık görülmüştür (F=195,048; p <0,05) ve Şekil 4.8'deki grafikte gösterilmiştir. 1/2 doz oranında *Lactiplantibacillus spp.* 14,43 mm ve *Bifidobacterium spp.* 14,43 mm olan zon çapları ortalaması arasında fark bulunmazken (p >0,05), bu iki bakteri türünün zon çapı ortalamaları ile *Leuconostoc mesenteorides* bakterisinin 16,56 mm olan inhibisyon zon çapı ortalaması arasında istatistiki olarak fark görülmüştür (p <0,05).



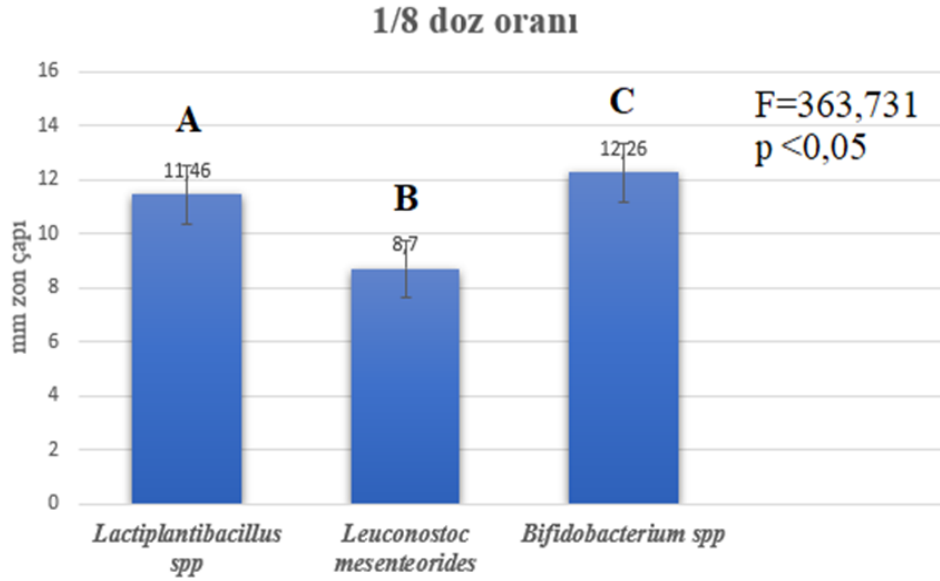
Şekil 4.8. Amitraz 1/2 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

1/4 doz oranında zon çapları ortalamaları istatistiki olarak farklılık görülmüştür (F=10,219; p < 0,05) ve Şekil 4.9'daki grafikte gösterilmiştir. 1/4 doz oranında *Lactiplantibacillus spp.* 13,56 mm ve *Bifidobacterium spp.* 13,50 mm olan zon çapları ortalaması arasında fark bulunmazken (p > 0,05), bu iki bakteri türünün zon çapı ortalamaları ile *Leuconostoc mesenteorides* bakterisinin 12,93 mm olan inhibisyon zon çapı ortalaması arasında istatistiki olarak fark görülmüştür (p < 0,05).



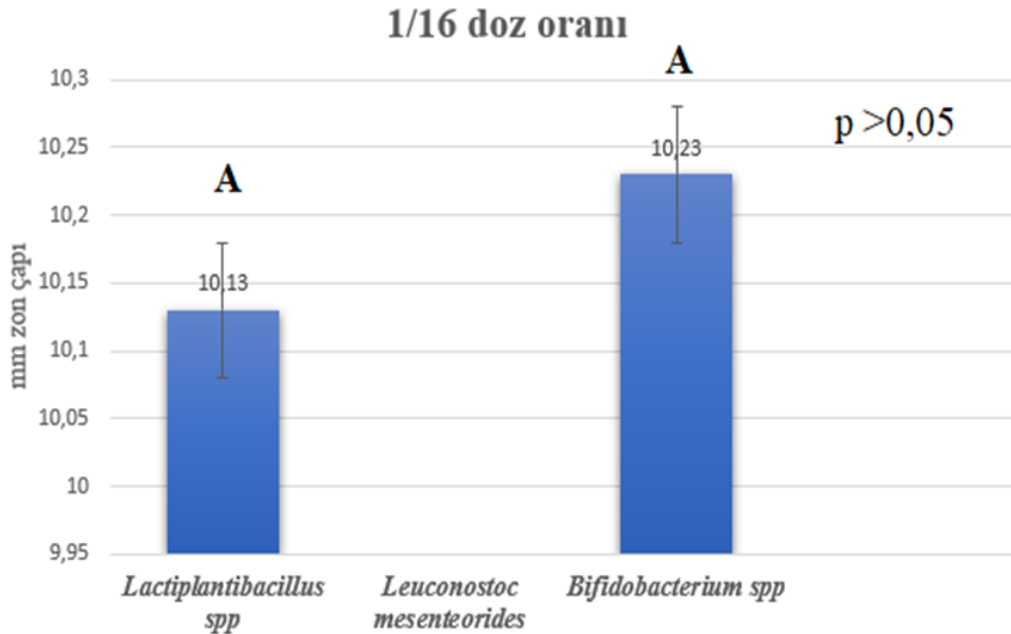
Şekil 4.9. Amitraz 1/4 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

1/8 doz oranında *Lactiplantibacillus spp.* 11,46 mm, *Bifidobacterium spp.* 12,26 mm ve *Leuconostoc mesenteorides* 8,70 mm olan inhibisyon zon çapları ortalamalarında istatistiki olarak fark görülmüştür ( $F=363,731$ ;  $p < 0,05$ ) ve Şekil 4.10'daki grafikte gösterilmiştir.



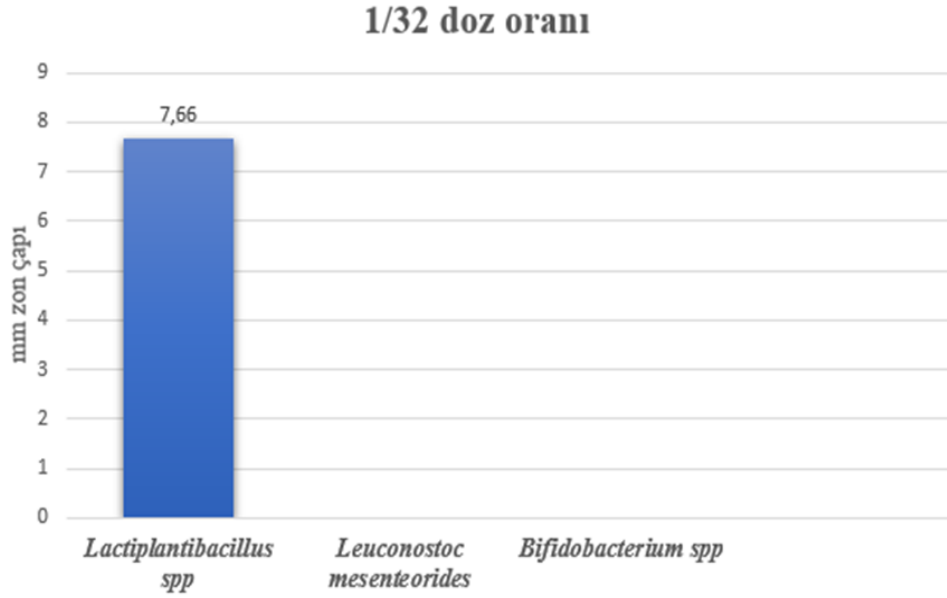
Şekil 4.10. Amitraz 1/8 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

1/16 doz oranında *Lactiplantibacillus spp.* 10,13 mm ve *Bifidobacterium spp.* 10,23 mm olan inhibisyon zon çapları ortalamasında istatistiki olarak fark görülmemiştir ( $F= 0,643$   $p > 0,05$ ) ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. *Leuconostoc mesenteorides* bakterisinde ise hiç inhibisyon zonu görülmemiştir.



Şekil 4.11. Amitraz 1/16 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

1/32 doz oranında ise sadece *Lactiplantibacillus spp.*'de 7,66 mm ortalama inhibisyon zon çapı görülmüştür, *Leuconostoc mesenteorides* ve *Bifidobacterium spp.*' de hiç inhibisyon zonu görülmemiştir. Bu nedenle 1/32 doz oranında istatistiki değerlendirmesi yapılmamıştır ve Şekil 4.12'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Amitraz 1/32 doz oranının inhibisyon zon çapları grafiği

Negatif kontrol ise dilüsyon sıvısının antimikrobiyal etkisini ölçmek için yapıldı ve hiçbir inhibisyon zon çapı görülmemiştir. Pozitif kontrol için kullanılan antimikrobiyal maddeler için kendi içlerinde One-Way ANOVA testi uygulanmıştır. *Lactiplantibacillus spp.*'de amitraz için 26,03 mm, flumethrin için 26,03 mm, tau-fluvalinate için 25,96 mm inhibisyon zon çapı görülmüş ve istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $F=1,3333$ ;  $p > 0,05$ ). *Leuconostoc mesenteorides*'te amitraz için 26,46 mm, flumethrin için 26,46 mm, tau-fluvalinate için 26,46 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüş ve istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $F=0$ ;  $p > 0,05$ ). *Bifidobacterium spp.*'de amitraz için 32,20 mm, flumethrin için 32,13 mm, tau-fluvalinate için 32,23 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüş ve istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $F=1,40$ ;  $p > 0,05$ ). *Klebsiella aerogenes*'te amitraz için 21,06 mm, flumethrin için 21,03 mm, tau-fluvalinate için 21,06 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüş ve istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $F=0,3333$ ;  $p > 0,05$ ). *Citrobacter freundii*'de amitraz için 21,06 mm, flumethrin için 21,13 mm, tau-fluvalinate için 21,13 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüş ve istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $F=1,3333$ ;  $p > 0,05$ ).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda bal arısı mikrobiyotasının, bal arısı sağlığına ve buna bağlı olarak verime olan etkisinin önemi daha fazla anlaşılmıştır. Bu nedenle bal arısı mikrobiyotasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmada ise bal arılarından beş farklı bakteri türü izole edilip tanımlanmıştır. Tanımlaması yapılan bakterilerden iki türün gram negatif, üç türün ise gram pozitif ve probiyotik özelliğe sahip bakteriler olduğu tespit edilmiştir. Tanımlaması yapılan bakteri türlerine, piyasada satılan ve içerisinde oransal olarak %12,5 amitraz, %1 flumethrin ve %24 tau-fluvalinate etken maddesi bulunan akarisitlerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda içerisinde flumethrin ve tau-fluvainate bulunan akarisitlerin bakteriler üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi tespit edilememiştir. Amitraz etken maddesinin bulunduğu akarisitlerin ise gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğu, gram negatif bakteriler üzerinde ise herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Amitraz etken maddesine sahip akarisit *Lactiplantibacillus spp.* üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 1/1 oranında, en düşük antimikrobiyal aktiviteyi ise 1/32 oranında göstermiştir. *Leuconostoc mesenteroides* üzerinde en yüksek antimikrobiyal etki 1/1 oranında, en düşük antimikrobiyal etki ise 1/8 oranında olmuştur. *Leuconostoc mesenteroides* üzerine 1/16 ve 1/32 oranlarının herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi görülmemiştir. *Bifidobacterium spp.* üzerine en yüksek antimikrobiyal aktivitesi ise 1/1 oranında en düşük antimikrobiyal aktivitesi ise 1/16 oranında görülürken, 1/32 oranında herhangi bir antimikrobiyal aktivite görülmemiştir. İnhibisyon zon çaplarına bakıldığında, *Lactiplantibacillus spp.* 14,96 mm, 14,43 mm, 13,56 mm, 11,46 mm, 10,13 mm, 7,66 mm olarak ölçüldü, *Leuconostoc mesenteroides* 17,83 mm, 16,56 mm, 12,93 mm, 8,70 mm olarak ölçülürken, *Bifidobacterium spp.* ise 15,36 mm, 14,43 mm, 13,50 mm, 12,26 mm, 10,23 mm olarak ölçülmüştür. *Leuconostoc mesenteroides* bakterisinde 1/1 ve 1/2 oranlarında diğer bakterilerden daha fazla inhibisyon zon çapı oluşurken, en düşük antimikrobiyal aktivite oranı 1/8 oranında gözlenmiştir. Bu da amitraz etken maddeli akarisitlerin, *Leuconostoc mesenteroides* ve diğer laktik asit bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin, biyokimyasal olarak hangi yollarla ve nasıl olduğunun öğrenilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Pozitif kontrol ise disk difüzyon tekniğinin uygulanışındaki hataları (besiyeri kalınlığı, bakteri yoğunluğu, inkübasyon ısısı, inkübasyon süresi ve anaerobik ortam etkinliği vb.) değerlendirmek için uygulanmıştır. Pozitif kontrollerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmaması disk difüzyon tekniğinin uygulanışı ve tekerrür çalışmalarında bir hata olmadığını göstergesi olmuştur.

Yapılan bu çalışma sonucunda amitraz etken maddeli akarisit gram pozitif ve probiyotik özelliğe sahip bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivitesi görülmektedir. Probiyotiklerin bal arısı sağlığı üzerinde önemli faydalı etkileri vardır. Probiyotikler ile takviye edilen bal arılarının *Paenibacillus larvae* enfeksiyonlarına karşı bağışıklık gen ekspresyonunu arttırdığı, patojen yükünü engellediği ve hayatta kalma başarısını yükselttiği görülmüştür (Daisley vd., 2020). *Lactobacillus spp.* ile tedavi edilen bal arılarında ise kireç hastalığının ciddi oranda engellendiği görülmüştür (Tejerina, Cabana ve Benitez, 2021). Laktik asit bakterilerinin bal arılarında verimi arttırdığı, sağ kalım oranlarını yükselttiği, ana arı yumurtlamasını teşvik ettiği ve koloni gücünü arttırdığı bildirilmiştir (Iorizzo vd., 2022). Amitraz etken maddeli akarisit *Lactiplantibacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* ve *Leuconostoc mesenteroides* 'e olan antimikrobiyal aktivitesi düşünüldüğünde, bal arılarında bulunan laktik asit bakterilerine zarar verebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle artan patojen duyarlılığı, bal arısı sağlığını olumsuz yönte etkilenmesi ve bal arısı verim düzeylerinin düşmesi gibi olumsuz etkilere neden olabileceği görülmektedir. Ayrıca amitraz etken maddeli akarisit gram negatif bakterilere etkili olmaması patojen duyarlılığının daha fazla olacağını düşündürmektedir. Bu olumsuz etkilerin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Amitraz etken maddeli akarisit üç farklı bakteri türünde de farklı oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermesi bal arısı probiyotik besleme çalışmalarında destek olabilecek veriler sunmaktadır. Özellikle sağlıklı bal arısı kolonileriyle ilişkilendirilen ve bu kolonilerde yoğun olarak bulunan *Lactobacillus* ve *Leuconostoc spp.* türlerinin olduğu bilinmektedir (Budge vd., 2016). Bal arısı kolonileri için *Leuconostoc mesenteroides* yüksek potansiyele sahip bir probiyotik olarak görülmektedir (Huang vd., 2021). Bu çalışmada akarisite oransal olarak en dirençli tür olan *Leuconostoc mesenteroides* olduğu görülmektedir. Bunun da yeni yapılacak probiyotik çalışmaları için önemli bir kaynak olacağı düşünülmektedir. Bal arısı kolonilerinde probiyotik özellik gösteren laktik asit bakterileri sadece gastrointestinal sistemde bulunmaz. Polen petek gözlerinde arı ekmeği olarak daha uzun saklanabilmesi için laktik asit bakterilerine ihtiyaç vardır (Ispirli ve Dertli, 2021). Bu nedenle amitraz etken maddeli akarisitlerin, arıların uzun süreli protein kaynağı olarak kullandığı arı ekmeğinin kalitesini etkileyebileceği düşünülmektedir.

Amitraz piyasada saf halde kullanılmamaktadır. Başta ksilen olmak üzere diğer petrol türevi maddeler amitraz ile birlikte çözücü olarak kullanılmaktadır (Tunçok ve Kalyoncu, 2007). Bu çalışmadaki amitraz etken maddeli akarisitte çözücü olarak ksilenin kullanıldığı bilinmektedir. Bu nedenle çözücü olarak kullanılan maddelerin de antimikrobiyal aktivitesine bakılması tavsiye edilmektedir. Arıcılıkta amitraz kullanımı körükle yakılarak ya da şeritler şeklinde kovanlara uygulanmaktadır. Gereğinden fazla akarisit kullanılmamalı ve akarisit

kullanımından sonra probiyotik takviyesinin bal arıları için faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışma akarisitlerin, bal arıları gastrointestinal sistemindeki bakterilere etkisini belirlemedeki nadir çalışmalardan biridir. Bu nedenle akarisitlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde daha fazla in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın diğer yapılacak olan çalışmalara da faydalı olması düşünülmektedir.





## KAYNAKLAR

- Akyol, E., & Özkök, D. (2005). Varroa (*Varroa destructor*) mücadelesinde organik asitlerin kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5(4), 167-174.
- Akyol, E., & Baran, Y. (2015). Arı sütünün yapısı, insanlar ve arılar için önemi. Structure of Royal Jelly, Importance for Humans and Bees. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 15(1), 16-21.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology letters*, 6(4), 562-565.
- Aljedani, D. M. (2022). Evaluation of the potential toxicity of tau-fluvalinate on adult honeybees *Apis mellifera*, under laboratory conditions. *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(1), 55-67.
- Alvarez-Suarez, J.M., Giampieri, F., & Battino, M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current medicinal chemistry*, 20(5), 621-638.
- Anderson, K. E., & Ricigliano, V. A. (2017). Honey bee gut dysbiosis: a novel context of disease ecology. *Current opinion in insect science*, 22, 125-132.
- Aytar, M., Oryaşın, E., Başbülbul, G., & Bozdoğan, B. (2019). Agar Well Difüzyon Yönteminde Standardizasyon Çalışması. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*, 2(2), 138-145.
- Barker, R. J., & Lehner, Y. (1974). Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 187(2), 277-285.
- Barrios-Arpi, L., Arias, Y., Lopez-Torres, B., Ramos-Gonzalez, M., Ticli, G., Prospero, E., & Rodríguez, J. L. (2022). In Vitro Neurotoxicity of Flumethrin Pyrethroid on SH-SY5Y Neuroblastoma Cells: Apoptosis Associated with Oxidative Stress. *Toxics*, 10(3), 131.
- Bayrak, N. (2005). Arı ürünlerinin (bal, arı sütü, polen ve propolis) mikrofloralarının ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi/The study of bee products (honey, royal jelly, polen and propolis) microphlora and antimicrobial activities.
- Biavati, B. (2001). The family bifidobacteriaceae. *The Prokaryote*, 1-70.
- Blacquiere, T., Smaghe, G., Van Gestel, C. A., & Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 973-992.
- Bogdanov, S. (2004). Beeswax: quality issues today. *Bee world*, 85(3), 46-50.
- Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbühl, W., & Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 269-275.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *Journal of the American college of Nutrition*, 27(6), 677-689.

- Bogdanov, S. (2011). The bee pollen book. *Bulgaria: Bee Product Science*.
- Bogdanov, S. (2016). Beeswax: History, uses and trade. *Bee Product Science*, 1-18.
- Bonsall, J. L., & Turnbull, G. J. (1983). Extrapolation from safety data to management of poisoning with reference to amitraz (a formamidine pesticide) and xylene. *Human toxicology*, 2(4), 587-592.
- Bottacini, F., Milani, C., Turrone, F., Sanchez, B., Foroni, E., Duranti, S., ... & Ventura, M. (2012). Bifidobacterium asteroides PRL2011 genome analysis reveals clues for colonization of the insect gut.
- Brodschneider, R., & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41(3), 278-294.
- Brown, P. M. (1977). Toxicological problems associated with the manufacture of triazapentadienes.
- Brown, D. F., & Brown, L. (1991). Evaluation of the E test, a novel method of quantifying antimicrobial activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27(2), 185-190.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2022, August 30). honeybee. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/animal/honeybee>
- Buchler, R. (1996). Specific combination of carnica lines to improve productivity and varroatolerance. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe (Poland)*.
- Budge, G. E., Adams, I., Thwaites, R., Pietravalle, S., Drew, G. C., Hurst, G. D., ... & Brown, M. (2016). Identifying bacterial predictors of honey bee health. *Journal of Invertebrate Pathology*, 141, 41-44.
- Campbell, E. M., Budge, G. E., Watkins, M., & Bowman, A. S. (2016). Transcriptome analysis of the synganglion from the honey bee mite, Varroa destructor and RNAi knockdown of neural peptide targets. *Insect biochemistry and molecular biology*, 70, 116-126.
- Castelli, L., Balbuena, S., Branchiccela, B., Zunino, P., Liberti, J., Engel, P., & Antúnez, K. (2021). Impact of chronic exposure to sublethal doses of glyphosate on honey bee immunity, gut microbiota and infection by pathogens. *Microorganisms*, 9(4), 845.
- Carreck, N. L., Andree, M., Brent, C. S., Cox-Foster, D., Dade, H. A., Ellis, J. D., ... & Van Englesdorp, D. (2013). Standard methods for Apis mellifera anatomy and dissection. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-40.
- Carranza-Martin, A. C., Fabra, M. C., Luna, N. U., Farnetano, N., Anchordoquy, J. P., Anchordoquy, J. M., ... & Nikoloff, N. (2023). In vitro adverse effects of amitraz on semen quality: Consequences in bovine embryo development. *Theriogenology*.
- Cengiz, M., Emsen, B., & Genç, F. (2010). Bal Arısı (Apis mellifera L.) Kolonilerinde Varroa (Varroa destructor Anderson&Trueman) Paraziti İle Mücadelede Organik Asitlerin Kullanımı. *Türkiye IV. Organik Tarım Sempozyumu*, 28, 50-53.
- Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in virus research*, 70, 33-80.

- Cho, R. M., Kogan, H. V., Elikan, A. B., & Snow, J. W. (2022). Paromomycin Reduces Vairimorpha (Nosema) ceranae Infection in Honey Bees but Perturbs Microbiome Levels and Midgut Cell Function. *Microorganisms*, 10(6), 1107.
- Collins, A. M. (1986). Quantitative genetics. *Bee genetics and breeding*, 283, 304.
- Cornman, R. S., Tarpy, D. R., Chen, Y., Jeffrey, L., Lopez, D., Pettis, J. S., ... & Evans, J. D. (2012). Pathogen webs in collapsing honey bee colonies.
- Crane, E. (1990). Bees and beekeeping: science, practice, and world resources. Comstock Pub. Associates, Ithaca, NY, 1.
- Crailsheim, K. (1988). Intestinal transport of sugars in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of insect physiology*, 34(9), 839-845.
- Crailsheim, K., Schneider, L. H. W., Hrassnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., & Schöffmann, B. (1992). Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *Journal of insect Physiology*, 38(6), 409-419.
- Çınar, A. (2020). Farklı Çiçek Ballarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 20(1), 38-50.
- Dai, P., Jack, C. J., Mortensen, A. N., Bustamante, T. A., & Ellis, J. D. (2018). Chronic toxicity of amitraz, coumaphos and fluvalinate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Daisley, B. A., Pitek, A. P., Chmiel, J. A., Al, K. F., Chernyshova, A. M., Faragalla, K. M., ... & Reid, G. (2020). Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus* larvae infection in honey bees. *The ISME journal*, 14(2), 476-491.
- Demirel, M., Keskin, G., & Kumral, N. A. (2019). Varroa mücadelesinde sentetik ve organik akarisitlerin kullanım olanakları.
- Demirpek, U. (2012). Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri. Şubat 2012, Erişim adresi: <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>
- Dietz A. (1992) *Honey bees of the world*, in: Graham J.M. (Ed.), The hive and the honeybee, Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, pp. 23–71.
- Dodoloğlu, A., F. Genç, 1999. Doolittle yöntemi ve doğal yüksükler kullanılarak yetiştirilen ana arıların (*Apis mellifera*, L.) bazı özelliklerinin karşılaştırılması. *Hayvancılık'96, Ulusal Kongresi*. Cilt:1.
- Doğaroğlu, M., 1978. Ana Arı Yetiştiriciliği. *Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Hayvan Yetiştirme Bölümü* (Bölüm İçi Seminerleri).
- Doğaroğlu, M. *Modern Arıcılık Teknikleri*, Tekirdağ: Anadolu Matbaa ve Ambalaj San.Tic.Ltd.Şti, 1999.
- Dosch, C., Manigk, A., Streicher, T., Tehel, A., Paxton, R. J., & Tragust, S. (2021). The gut microbiota can provide viral tolerance in the honey bee. *Microorganisms*, 9(4), 871.

- Dugalić-Vrندیć, N., Vuković, V., & Nedić, N. (2010). Pathogenicity of some bacterial species isolated from the bee digestive tract. *Acta veterinaria*, 60(1), 49-57.
- Engel MS (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*. *Journal of Hymenoptera Research*, 8(2): 165-196.
- Engel, P., Martinson, V. G., & Moran, N. A. (2012). Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(27), 11002-11007.
- Engel, P., & Moran, N. A. (2013). The gut microbiota of insects—diversity in structure and function. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 699-735.
- Erdem, B., & Özkök, A. (2018). Can Food Supplement Produced from Apilarnil be an Alternative to Testosterone Replacement Therapy?. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 45(4), 635-638.
- Eşel, D., Sümerkan, B., Ayangil, D., & Telli, M. (2004). *Brucella melitensis* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde agar dilüsyon ve e-test yöntemlerinin karşılaştırılması. *Ankem Derg*, 18(4), 196-199.
- Evans, J. D., & Cook, S. C. (2018). Genetics and physiology of Varroa mites. *Current opinion in insect science*, 26, 130-135.
- Fıratlı, Ç., Karacaoğlu, M., & Gençer, H. V. (2004). Türkiye’de paket arıcılık sisteminin geliştirilmesi olanakları. *Proje resmi sonuç raporu. Proje no: TOGTAG/TARP-1819. Ankara*.
- Fratini, F., Cilia, G., Turchi, B., & Felicioli, A. (2016). Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(9), 839-843.
- Fünfhaus, A., Ebeling, J., & Genersch, E. (2018). Bacterial pathogens of bees. *Current opinion in insect science*, 26, 89-96.
- Gilliam, M., & Valentine, D. K. (1974). Enterobacteriaceae isolated from foraging worker honey bees, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 23(1), 38-41.
- Halkman, A. K., and E. Ö. Sağdaş. "*Mikrobiyoloji el kitabı*" 3. Baskı, 2014.
- Harrison, I. R., Kozlik, A., McCarthy, J. F., Palmer, B. H., Wakerley, S. B., Watkins, T. I., & Weighton, D. M. (1973). 1, 3, 5-Triazapenta-1, 4-dienes: Chemical aspects of a new group of pesticides. *Pesticide Science*, 4(6), 901-910.
- Hepburn, H. R., Bernard, R. T. F., Davidson, B. C., Muller, W. J., Lloyd, P., Kurstjens, S. P., & Vincent, S. L. (1991). Synthesis and secretion of beeswax in honeybees. *Apidologie*, 22(1), 21-36.
- Herbert Jr, E. W., Shimanuki, H., & Shasha, B. S. (1980). Brood rearing and food consumption by honeybee colonies fed pollen substitutes supplemented with starch-encapsulated pollen extracts. *Journal of Apicultural Research*, 19(2), 115-118.

- Hrassnigg, N., & Crailsheim, K. (1998). The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 44(5-6), 393-404.
- Huang, Y. H., Chen, Y. H., Chen, J. H., Hsu, P. S., Wu, T. H., Lin, C. F., ... & Wu, M. C. (2021). A potential probiotic *Leuconostoc mesenteroides* TBE-8 for honey bee. *Scientific reports*, 11(1), 1-13.
- Iorizzo, M., Letizia\*, F., Ganassi, S., Testa, B., Albanese, G., Criscio, D.D., & Cristofaro, A.D. (2022, April 12). Lactic Acid Bacteria and Honey Bees. In *Encyclopedia*. <https://encyclopedia.pub/entry/21628>
- Ispirli, H., & Dertli, E. (2021). Detection of fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) in bee bread and bee pollen samples and determination of their functional roles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5), e15414.
- Israili, Z. H. (2014). Antimicrobial properties of honey. *American journal of therapeutics*, 21(4), 304-323.
- Jones, J. C., Myerscough, M. R., Graham, S., & Oldroyd, B. P. (2004). Honey bee nest thermoregulation: diversity promotes stability. *Science*, 305(5682), 402-404.
- Jones, J. C., Fruciano, C., Hildebrand, F., Al Toufalilia, H., Balfour, N. J., Bork, P., ... & Hughes, W. O. (2018). Gut microbiota composition is associated with environmental landscape in honey bees. *Ecology and evolution*, 8(1), 441-451.
- Kaftanoğlu, P. D. O. (2001). Bal Arılarında Irk Kavramı ve Irk Seçimi . *Uludağ Arıcılık Dergisi* , 01 (3) , 11-20 .
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U., & Pekel, E. (1988). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümünde yetiştirilen Ana arıların (*Apis mellifera* L.) Performansları ve Yetiştirme Yöntemlerinin Koloni Gelişimine Olan Etkileri Üzerinde Araştırmalar. *ÇÜ Araştırma Fonu, I. Bilim Kongresi,(28-30 Kasım 1988), Çukurova Basımevi, Adana, 1*, 91-100.
- Kaftanoğlu, O., U. Kumova, 1992. Çukurova bölgesi koşullarında ana arı (*Apis mellifera* L.) yetiştirme mevsiminin, ana arıların kalitesine olan etkileri üzerine bir araştırma. *TÜBİTAK Doğa*, 16, 569-577.
- Kakumanu, M. L., Reeves, A. M., Anderson, T. D., Rodrigues, R. R., & Williams, M. A. (2016). Honey bee gut microbiome is altered by in-hive pesticide exposures. *Frontiers in microbiology*, 7, 1255.
- Kambur, M., Kekeçoğlu, M., & Yıldız, İ. (2015). Assesment of the honey samples produced in Yığılca district of Düzce city by using chemical and palynological analysis. *Uludag Bee Journal*, 15(2), 67-79.
- Kandemir, I., Kence, M., & Kence, A. (2000). Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey. *Apidologie*, 31(3), 343-356.
- Karlıdağ, S., & Genç, F. (2009). Arı Sütü Verimine Etki Eden Faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1), 127-132.

- Karlıdağ, S., & Keskin, M. (2020). Arı ürünlerine genel bir bakış. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(1), 58-63.
- Keřzia, B. O. G. D. A. N. (2008). Pochodzenie propolisu w świetle teorii i badań naukowych. *Herba Polonica*, 54(4), 179-186.
- Kence, A. (2006). Türkiye balarılarında genetik çeşitlilik ve korunmasının önemi. *Uludağ arıcılık dergisi*, 6(1), 25-32.
- Keřnerová, L., Mars, R. A., Ellegaard, K. M., Troilo, M., Sauer, U., & Engel, P. (2017). Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut. *PLoS biology*, 15(12), e2003467.
- Khan, K. A., Al-Ghamdi, A. A., Ghramh, H. A., Ansari, M. J., Ali, H., Alamri, S. A., ... & Hafeez, M. (2020). Structural diversity and functional variability of gut microbial communities associated with honey bees. *Microbial pathogenesis*, 138, 103793.
- Kim, C. M. (2013). Apitherapy—bee venom therapy. In *Biotherapy-History, Principles and Practice* (pp. 77-112). Springer, Dordrecht.
- Koch, H., & Schmid-Hempel, P. (2011). Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(48), 19288-19292.
- Koeniger, N. (1970). Factors determining the laying of drone and worker eggs by the queen honeybee. *Bee World*, 51(4), 166-169.
- Koeniger, G. (2005). The neglected gender—males in bees. *Apidologie*, 36(2), 143-144.
- Kolayli, S., Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Malkoc, M., & Asadov, A. (2016). A member of complementary medicinal food: anatolian royal jellies, their chemical compositions, and antioxidant properties. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 21(4), NP43-NP48.
- Kotan, R. ve Tozlu, E. (2021). Bazı Pestisitlerin Faydalı Bakteriler ve Patojen Bakteriler Üzerine Bakterisidal Etkilerinin Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakóltesi Dergisi*, 18 (2), 197-212.
- Kösođlu, M., Oskay, D., Yücel, B., Savaş, T., Topal, E., & Doğaroğlu, M. (2021). Bal Arısı Islahı ve Bazı Temel Yaklaşımlar. *MAS Journal of Applied Sciences*, 6(3).
- Kritsky, G. (2017). Beekeeping from antiquity through the middle ages. *Annual Review of Entomology*, 62, 249-264.
- Kwong, W. K., & Moran, N. A. (2016). Gut microbial communities of social bees. *Nature reviews microbiology*, 14(6), 374-384.
- Kwong, W. K., Mancenido, A. L., & Moran, N. A. (2017). Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *Royal Society open science*, 4(2), 170003.
- Lamei, S. (2018). *The effect of honeybee-specific Lactic Acid Bacteria on American foulbrood disease of honeybees* (Vol. 2018, No. 2018: 23).

- Mutsaers, M., Blitterswijk, H. V., Leven, L., Kerkvliet, J., & Waerdt, J. (2005). Bee products. *Agrodok*.
- Nittner-Marszalska, M., Liebhart, J., Liebhart, E., Dor, A., Dobek, R., Obojski, A., & Medrala, W. (2004). Prevalence of Hymenoptera venom allergy and its immunological markers current in adults in Poland. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 10(7), CR324-9.
- Oertel, E. (1930). Metamorphosis in the honeybee. *Journal of Morphology*, 50(2), 295-339.
- Olofsson, T. C., & Vásquez, A. (2008). Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Current microbiology*, 57(4), 356-363.
- Oruc, H. H., Hranitz, J. M., Sorucu, A., Duell, M., Cakmak, I., Aydin, L., & Orman, A. (2012). Determination of acute oral toxicity of flumethrin in honey bees. *Journal of economic entomology*, 105(6), 1890-1894.
- Oskay, D., Kükrer, M., & Kence, A. (2019). Muğla bal arısında (*Apis mellifera anatoliaca*) Amerikan yavru çürüklüğü hastalığına karşı direnç geliştirilmesi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 11(1), 8-20.
- Otis, G. W. (1996). Distributions of recently recognized species of honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*) in Asia. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 311-333.
- Özbek, H. (1990). Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Zehiri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2).
- Parlakpınar H, Polat S. (2021). Apiterapi ürünlerinin biyokimyasal içeriği. *Apiterapi* (1. Baskı). içinde (38-48).Ankara: Türkiye Klinikleri.
- Pătruică, S., Dumitrescu, G., Stancu, A., Bura, M., & Dunea, I. B. (2012). The effect of prebiotic and probiotic feed supplementation on the wax glands of worker bees (*Apis mellifera*). *Animal Sciences and Biotechnologies*, 45(2), 267-271.
- Peiren, N., Vanrobaeys, F., de Graaf, D. C., Devreese, B., Van Beeumen, J., & Jacobs, F. J. (2005). The protein composition of honeybee venom reconsidered by a proteomic approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1752(1), 1-5.
- Pimenta, H. C., Violante, I. M. P., Musis, C. R. D., Borges, A. H., & Aranha, A. M. F. (2015). In vitro effectiveness of Brazilian brown propolis against *Enterococcus faecalis*. *Brazilian oral research*, 29, 1-6.
- Powell, J. E., Martinson, V. G., Urban-Mead, K., & Moran, N. A. (2014). Routes of acquisition of the gut microbiota of the honey bee *Apis mellifera*. *Applied and environmental microbiology*, 80(23), 7378-7387.
- Qi, S., Niu, X., hui Wang, D., Wang, C., Zhu, L., Xue, X., ... & Wu, L. (2020). Flumethrin at sublethal concentrations induces stresses in adult honey bees (*Apis mellifera* L.). *Science of the Total Environment*, 700, 134500.

- Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., ... & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(5), 1792-1801.
- Rangel, J., & Fisher, A. (2019). Factors affecting the reproductive health of honey bee (*Apis mellifera*) drones—A review. *Apidologie*, *50*(6), 759-778.
- Raymann, K., Shaffer, Z., & Moran, N. A. (2017). Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLoS biology*, *15*(3), e2001861.
- Raymann, K., Coon, K. L., Shaffer, Z., Salisbury, S., & Moran, N. A. (2018). Pathogenicity of *Serratia marcescens* strains in honey bees. *MBio*, *9*(5), e01649-18.
- Rehm, S. M., & Ritter, W. (1989). Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie*, *20*(4), 339-343.
- Remolina, S. C., Hafez, D. M., Robinson, G. E., & Hughes, K. A. (2007). Senescence in the worker honey bee *Apis mellifera*. *Journal of insect physiology*, *53*(10), 1027-1033.
- Rinderer, T. E. (1986). *Bee Genetics and Breeding*. Academic Pres. Inc. Ltd. London. 425p.
- Rojo-Bezares, B., Sáenz, Y., Poeta, P., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. (2006). Assessment of antibiotic susceptibility within lactic acid bacteria strains isolated from wine. *International journal of food microbiology*, *111*(3), 234-240.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology*, *103*, S96-S119.
- Sabová, L., Maruščáková, I. C., Koleničová, S., Mudroňová, D., Holečková, B., Sabo, R., ... & Ratvaj, M. (2022). The adverse effects of synthetic acaricide tau-fluvalinate (tech.) on winter adult honey bees. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *92*, 103861.
- Sancak, K., Sancak, A., & Aygören, E. (2013). Dünya ve Türkiye'de arıcılık. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, *5*(10), 7-13.
- Sanders, E. R. (2012). Aseptic laboratory techniques: plating methods. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (63), e3064.
- Seeley, T. D., & Mikheyev, A. S. (2003). Reproductive decisions by honey bee colonies: tuning investment in male production in relation to success in energy acquisition. *Insectes sociaux*, *50*(2), 134-138.
- Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of ethnopharmacology*, *133*(2), 253-260.
- Sforcin, J. M. (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy research*, *30*(6), 894-905.
- Singh, R. P., & Singh, P. N. (1996). Amino acid and lipid spectra of larvae of honey bee (*Apis cerana* Fabr) feeding on mustard pollen. *Apidologie*, *27*(1), 21-28.



- Solak, İ. (2013). Osmanlı İmparatorluğu Döneminde Anadolu'da Arıcılık. *Prof. Dr. Nejat Göyünç Armağanı. Selçuk Üniversitesi Matbaası*, 347-364.
- Somerville, D. (2000). Honey bee nutrition and supplementary feeding. *Agnote DAI/178, NSW Agriculture*, 1-8.
- Sorucu, A. (2019). Arı Ürünleri ve Apiterapi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 10(1), 1-15.
- Standifer, L. N. (1967). A comparison of the protein quality of pollens for growth-stimulation of the hypopharyngeal glands and longevity of honey bees, *Apis mellifera* L.(Hymenoptera: Apidae). *Insectes Sociaux*, 14(4), 415-425.
- Suwannapong, G., Benbow, M. E., & Nieh, J. C. (2012). *Biology of Thai honeybees: natural history and threats*.
- Svečnjak, L., Chesson, L. A., Gallina, A., Maia, M., Martinello, M., Mutinelli, F., ... & Waters, T. A. (2019). Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research. *Journal of apicultural research*, 58(2), 1-108.
- Tejerina, M. R., Cabana, M. J., & Benitez-Ahrendts, M. R. (2021). Strains of *Lactobacillus* spp. reduce chalkbrood in *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 178, 107521.
- Tome, H. V., Schmehl, D. R., Wedde, A. E., Godoy, R. S., Ravaiano, S. V., Guedes, R. N., ... & Ellis, J. D. (2020). Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees. *Environmental Pollution*, 256, 113420.
- Toth, A. L., & Robinson, G. E. (2005). Worker nutrition and division of labour in honeybees. *Animal behaviour*, 69(2), 427-435.
- Tr, K. (2018). Probiotic potency of *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 isolated from honey bee gut. *FEMS microbiology letters*, 365(4), fnx285.
- Tripathi, N., & Sapra, A. (2020). Gram staining. Erişim adresi: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk562156>
- Tsigouri, A. D., Menkissoglu-Spiroudi, U., & Thrasyvoulou, A. (2001). Study of tau-fluvalinate persistence in honey. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 57(5), 467-471.
- Tunçok, Y., & Kalyoncu, N. İ. (2007). TC Sağlık Bakanlığı birinci basamağa yönelik zehirlenmeler tanı ve tedavi rehberleri. SB, RSHMB, Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü, 14, 35-8.
- Vanengelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., ... & Pettis, J. S. (2009). Colony collapse disorder: a descriptive study. *PloS one*, 4(8), e6481.
- Vecchi, M. A., Sabatini, A. G., Grazia, L., Tini, V., & Zambonelli, C. (1988). Il contenuto in vitamine come possibile elemento di caratterizzazione della gelatina reale.
- Wang, X., Zhang, X., Zhang, Z., Lang, H., & Zheng, H. (2018). Honey bee as a model organism to study gut microbiota and diseases. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 28, 35-42.

- Wang, K., Zhang, H., Feng, J., Ma, L., de la Fuente-Núñez, C., Wang, S., & Lu, X. (2019). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dairy products in Tianjin, China. *Journal of Agriculture and Food Research*, 1, 100006.
- Whitfield, C. W., Behura, S. K., Berlocher, S. H., Clark, A. G., Johnston, J. S., Sheppard, W. S., ... & Tsutsui, N. D. (2006). Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314(5799), 642-645.
- Winston, M. L. (1987). *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press.
- Winston, M. L. (1991). *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press.
- Winston, M. L. (1992). The honeybee colony: life history; The hive and the honeybee Michigan: *Dadant & Sons*. pp. 73-101.
- Wongsiri, S., Lekprayoon, C., Thapa, R., Thirakupt, K., Rinderer, T., Sylvester, H. and Oldroyd, B. (1996a). Comparative biology of *Apis andreniformis* and *Apis florea* in Thailand. *Bee World* 77(4): 25 - 35.
- Wongsiri, S. Thapa, R. Oldroyd, B. and Burgett, D. M. (1996b). A magic bee tree: home to *Apis dorsata*. *American Bee Journal* 136: 796 - 799.
- Woyke, J. (1962). Natural and artificial insemination of queen honeybees. *Bee World*, 43(1), 21-25.
- Yu, L., Yang, H., Cheng, F., Wu, Z., Huang, Q., He, X., ... & Wu, X. (2021). Honey bee *Apis mellifera* larvae gut microbial and immune, detoxication responses towards flumethrin stress. *Environmental Pollution*, 290, 118107.
- Yurtoğlu, N. (2017). Cumhuriyet Türkiye'sinde Arıcılık Faaliyetleri (1923-1960). *Tarih Okulu Dergisi*, 10(30), 187-219.
- Yucel, B., Sahin, H., Yıldız, O., & Kolaylı, S. (2019). Bioactive components and effect mechanism of Apilarnil. *Hayvansal Üretim*, 60(2), 125-130.
- Zhang, Z., Mu, X., Cao, Q., Shi, Y., Hu, X., & Zheng, H. (2022). Honeybee gut *Lactobacillus* modulates host learning and memory behaviors via regulating tryptophan metabolism. *Nature communications*, 13(1), 1-13.
- Zheng, H., Powell, J. E., Steele, M. I., Dietrich, C., & Moran, N. A. (2017). Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(18), 4775-4780.
- Zolfagharian, H., Mohajeri, M., & Babaie, M. (2015). Honey bee venom (*Apis mellifera*) contains anticoagulation factors and increases the blood-clotting time. *Journal of pharmacopuncture*, 18(4), 7.

## **EK-1. SANGER DİZİLEME SONUÇLARI**

### **1. Numaralı Bakteri Örneği**

GGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAG  
AAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAAC  
TGTTACAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA  
GCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGA  
GCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTG  
CATCGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAAGTCCATGTGTA  
GCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTG  
GTACATGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAAGTATGG 418bp

### **2. Numaralı Bakteri Örneği**

TAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGA  
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGAATAG  
GAAATGATTTTAGTTTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCC  
AGCAGCCGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAA  
GCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGA  
ATGGCATTGGAAACTGGTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGGAACTCCATGT  
GTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTA  
CTGGTACGTAACAAGTACGTTGAGGCTCGAAAGTTGTGGGGTTAGCAAAAAC  
A 432bp

### **3. Numaralı Bakteri Örneği**

GGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGCGGG  
ATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCGCTTTTGATTGGGAGCAAGCGAGAGTGAGTG  
TACCTTTCGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG  
GGTGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTCGTCTG  
CGTCTGGTGTGAAAGTCCATCGCTTAACGGTGGATCGGCGCCGGGTACGGGCGGA  
CTGGAGTGCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAAACGGTGGAAATGTGTAGA  
TATCGGGAAGAACACCGGATGGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCACAGTACACTGAC  
GCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGG 404bp

#### 4. Numaralı Bakteri Örneği

GATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGGGGCTGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
GGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCTGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTGTA  
AAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTAAGGTAAATAACCTCAGTGATTGACGT  
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGA  
GGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGT  
CAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCA  
GGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG  
AGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTCTGTTACAAAGAACTGAC  
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAG 459bp

#### 5. Numaralı Bakteri Örneği

TTTGTGGTGGGTCGGAGATGGTTATAGAGACAGGACTACCGGGTATCTAAGCTT  
TTTGGCTCCCCACGTCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGAGAGCCG  
CCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAAT  
TCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCCTGCCAGTTTCGGATGCAGTTCCAGGTTG  
GAGCCCGGGGATTTACATCCGACTTGACAGACCGCCTGCGGTGCGCTTTACGC  
CCAGTAAATTCCGAATTAACGCCTTGGCACCTCCGGTATTACCGCGGCTGCTGGC  
ACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCCTGCGAGTAACGTCAATCGCTGCGGTTATTAA  
CCACAACGCCTTCCTCCTCGCTGAAAGTACTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCATA  
CACAATGCGCGCATGGCTGCAT 466 bp