

PROPOLİSİN KİREÇ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

The Effects Of Propolis On Chalkbrood (*Ascospheara apis*) Disease In Honey Bee ColoniesNuray SAHİNLER¹ Şener KURT² Osman KAFTANOĞLU³¹M.K.Ü. Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü. Tayfur Ata SÖKMEN kampüsü. Antakya / Hatay. Mail: nsahinler@mku.edu.tr.²M.KÜ. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. Tayfur Ata SÖKMEN kampüsü. Antakya / Hatay. Mail: kurt@mku.edu.tr³Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü. Adana. Mail: kaftan@mail.cu.edu.tr

Özet: Bu çalışma popolisin Kireç hastalığı etmeni (*Ascospheara apis*) üzerine etkilerini belirlemek üzere yapılmıştır. Propolis ekstratı 1900 ml % 70 lik etil alkol ve 100 g propolis ile hazırlanmıştır. İzole edilmiş olana *A.apis* patojeni PDA (patates Dekstroa Agar)da kültüre alınmıştır. 5 mm2 çapındaki *A.apis* kültür diskleri içinde PDA ve 50,25, 12.5, 6.25, 3.125 ppm % 5lik proplis ekstratı bulunan petri kutuları içinde 31 ± 1 °C inkübasyona bırakılmıştır. Bir aylık inkübasyon periyodundan sonra patojenin gelişimi değerlendirilmiştir. Propolis ekstratının in vitro koşullarda *A.apis* patojenine karşı yüksek bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, propolis, *Ascospheara apis*.

Abstract: The effectiveness of Turkish propolis on the pathogen of chalkbrood disease (*Ascospheara apis*) was studied. The extract was prepared by mixing 1900 ml 70% ethanol and 100 g propolis. Isolated *A.apis* pathogen were cultured in PDA (Potato Dextrose Agar). Five mm in diameter *A.apis* culture discs were placed in the petri dishes containing PDA and 50 ppm, 25ppm, 12.5 ppm, 6.25 ppm, 3.125 ppm and 1.56 ppm of 5% propolis extract and incubated at 31 ± 1 °C. The growth of the pathogen was evaluated after the 1 month of incubation period. Propolis extracts was found to be highly effective against to *A.apis* pathogen in vitro conditions.

Keywords: Honeybee, propolis, *Ascospheara apis*.

GİRİŞ

Bal arıları bitki tomurcuklarından topladıkları reçinemsı bir madde olan propolisi kovandaki yarık ve çatlakları onarmada, kovan içinde ölen ancak kovan dışına taşınamayan arı veya diğer canlıların vücutlarının mumyalanmasında kullanırlar. Böylece bunların çürüyüp, mikroorganizma üretmeleri engellenmiş olur. Ayrıca yavru yetiştirme döneminde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşıp kaybolması engellenir. Böylece kovan içi gerekli olan nem korunmuş olur. Bunların yanında olumsuz çevre koşullarından kovayı korumak, kovan giriş deliğini küçültmek amacıyla da kullanılmaktadır (Schmidt, 1997; Greenaway at al; 1990 Krell, 1996; Şahinler, 1999). Propolisin antibakteriyel, antifugal, antiviral, anti inflamatuvar, anti tümör, lokal anestezi aktiviteyi bulunmaktadır (Bankova at all 2000; Ghisalberti, 1979).

Kireç hastalığına neden olan patojen *A. apis* Türkiye’de ilk kez 1988 yılında görülmüştür, iki yıl içerisinde kontamine olmuş balmumu aracılığı ile ülkeye bir baştan diğer başa kadar hızlı bir şekilde yayılmıştır. Ülke arıcılığının en önemli problemlerinde biri olmuş ve bu konuda 1986-1993 yılları arasında yoğun çalışmalar yapılmıştır (Yeninar, 1992; Kaftanoğlu, et al. 1992, 1995, 1997). Bu hastalık aynı zamanda hemen hemen tüm Akdeniz ülkelerinde (Bradbear, 1988), ve dünyada hızlı bir şekilde yayılmıştır (Puerta et al., 1997).

Bu çalışma propolisin Kireç hastalığı etmeni (*Ascospheara apis*) üzerine etkilerini belirlemek için yapılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. % 5’lik Propolis Hazırlanması

%5 lik propolis ekstratı, 1900 ml % 70 lik etil alkol ve 100 g propolis ile Krell (1996) bildirişine göre hazırlanmış ve kullanılıncaya kadar 4 °C de koyu renkli cam şişede muhafaza edilmiştir.

2.2. Bioassay Çalışmaları:

Propolisin kireç hastalığı etmeni *A.apis* üzerine etkilerini belirlemek üzere biyoesey çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla propolisin etanolik ekstratı 3 farklı uygulama ile 3 deneme halinde yürütülmüştür. Birinci denemede *A.apis* kültürleri PDA içeren petri kaplarına transfer edilmiştir. Daha sonra *A.apis* plaklarından 5 mm²lik diskler içinde PDA diskler PDA içine değişik konsantrasyonlarda karıştırılmış propolis ekstratı bulunan petri kutularına ve 50 ppm, 25 ppm 12.5 ppm, 6.25 ppm 3.125 ppm ve 1.56 ppm % 5 propolis ekstratı bulunan petri kutularına transfer edilmiştir. Her grup 4 kez terar edilmiştir. 31 ± 1 ° C de 1 ay inkübe edildikten sonra fungusun gelişimi kontrol edilmiştir. Daha sonra 5 mm² *A. apis* diskleri propolis uygulaması yapılan petri kutulardan alınmış ve propolis içermeyen petri kutularında 31 ± 1°C de inkübasyona bırakılmış ve *A.apis*

üzerine propolisin etkisini belirlemek üzere fungusun gelişimi kontrol edilmiştir.

İkinci denemede 50 ppm, 25 ppm 12.5 ppm, 6.25 ppm 3.125 ppm ve 1.56 ppm oranlarında % 5lik propolis ekstraktından steril filtre kağıdına emdirilmiş ve içinde PDA bulunan petri kutularının üzerine bırakılmıştır. Aynı ölçülerdeki steril filtre kağıdına 0.5 ml steril distile su emdirilerek kontrol grubu olarak PDA içeren petri kutularının içine yerleştirilmiştir. Daha sonra içinde PDA bulunan her bir petri kutusuna sporlanmış olan 5 mm² lik *A.apis* diskleri inoküle (transfer) edilmiş ve inkübasyon için 31 ±1° C de bir ay tutulmuştur. İnkübasyon periyodundan sonra herhangi bir gelişmenin olmadığı diskler, içinde propolis bulunmayan PDA içeren yeni petri kutularına transfer edilmiş ve tekrar inkübe edilmiştir.

Üçüncü denemede 50 ppm, 25 ppm 12.5 ppm, 6.25 ppm 3.125 ppm ve 1.56 ppm oranlarındaki %5lik propolis ekstratı içinde PDA bulunan petri kutularının yüzeyine yaydırılmış ve ilk denemede biyoeseysel çalışmaların aynı yapılmıştır. Fungus kolonisinin çapının ölçülmesiyle *A.apis* in gelişimi belirlenmiş ve propolisin etkinliği Abott formülüyle tespit edilmiştir.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Propolisin *A. apis* in gelişimini istatistiksel (P<0.01) açıdan önemli olarak engellediği belirlenmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar çizelge 1 ve şekil 1 de özetlenmiştir.

Yüksek dozlarda (50 ppm, 25 ppm and 12.5 ppm) etkinliğin % 94.4'e ulaştığı ve patojenin gelişimini engellediği, düşük dozlarda fungustatik etkinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1: Farklı konantrasyonlardaki Propolis Etanolik ekstraktının *A.apis* üzerine ortalama etkinliği.

Konsantrasyonlar	Propolisin Ortalama Etkinliği (%)			Ortalama
	PDA ile karıştırılmış propolis uygulaması	Filtre kağıdına emdirilmiş propolis uygulaması	Besi yüzeyine yaydırılmış Propolis uygulaması	
50.00 ppm	94.44	65.41	94.44	84.76 d*
25.00 ppm	94.44	52.91	94.44	80.60 d
12.50 ppm	82.91	36.94	94.44	71.43 d
6.25 ppm	73.19	34.30	80.83	62.60 c
3.125 ppm	45.69	23.58	63.70	44.32 b
1.56 ppm	48.88	21.29	41.94	37.37 b
Ortalama	73.24b	39.06a	78.29c	63.54
Kontrol (0) ppm	0.0	0.0	1.38	1.38 a

* P<0.01

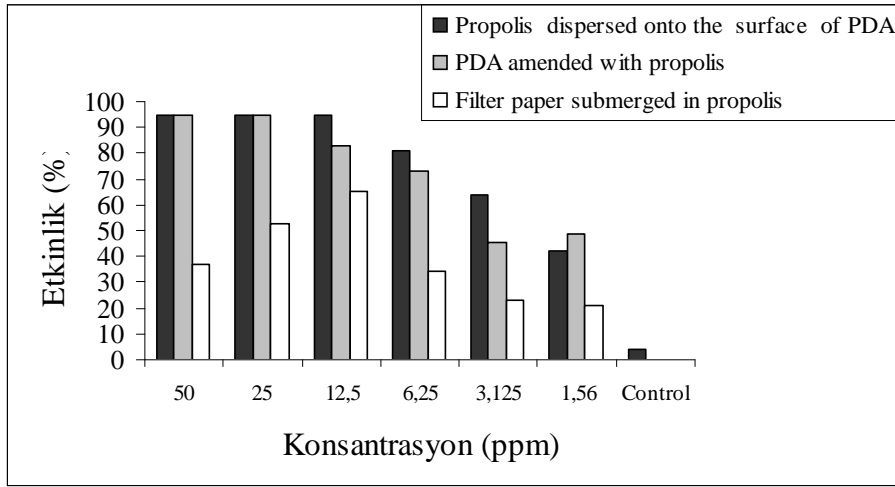
En yüksek etkinliğin propolisin besi (PDA) ortamına karıştırılmış (%94.44) ve besi yüzeyine yaydırılmış (% 94.44) olan gruplarda olduğu, propolisin filtre kağıdına emdirildiği (%65.41) grupta ise daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Propolisin etanolik ekstraktının (0-800 ppm) 10 farklı toprak fungusu üzerine etkili olduğuna dair benzer bir çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmada, test edilen bütün funguslara karşı popolisin etanolik ekstraktının etkinliğinin yüksek konantrasyonlarında (800 ppm) düşük konantrasyonlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Abdulsalam, 1995).

Sonuç olarak PDA üzerine yaydırılmış veya PDA içine karıştırılmış propolisin etanolik ekstraktının kireç

hastalığı fungusun gelişimini in vitro koşullarda engellediği belirlenmiştir. Bu çalışmanın bal arısı kolonileri üzerindeki aşamaları halen devam etmektedir.

Kireç hastalığının etmeni olan bu fungusu karşı formik asit, nystatine ve benomyl gibi etkili bazı kimyasallar bulunmaktadır (Samsinokova, et al. 1977; Liu, 1991; Kaftanoğlu et al, 1992, 1995, 1997). Bunlar, arılar ve yavrular üzerine olumsuz etkiler ve arı ürünlerinde kalıntı bırakmaktadırlar. Arı ürünlerinin apiterapide kullanılması gibi propolisin arı hasatlık ve parazitlerine karşı kullanılması ile ilgili çalışmaların geliştirilmesi gereklidir.



Şekil 1: Propolisin farklı konsantrasyonlarının *A.apis* üzerine etkinliği.

KAYNAKLAR

- Abdulsalam, K.S. 1995. Bioactivity of propolis extract against certain soil borne fungi. Alexandria. Journal of Agricultural Research 40:3, 305-313.
- Bankova, V.S.; Castro, S.L.; Marcucci, M.C.(2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 31 P:3-15.
- Bradbeare, N.1988. The world distribution of major honeybee diseases and pests. Bee World, 69:15-39.
- Ghisalberti, E.L., (1979). Propolis: A review. Bee World 60(2):P: 59-84.
- Giauffret, A.,Taliercio, Y. 1967. Les mycoses de l'abeille (*Apis mellifera*) etude de quelques antimycosiques. Bull. Apic. Doc. Scie. Tech. Inf. 10(2): 163-174
- Greenaway, W., Scaysbrook,T., Whatley,F.R., (1990). The Composition and Plant Origins of Propolis: A Report of Work at Oxford. Bee World. 71(3). 107-118.
- Kaftanoglu, O., Bicici, M., Yeninar, H., Toker, S., Guler, A.(1992) The effects of formic acid on *Varroa jacobsoni* and chalkbrood (*Ascospaera apis*) disease in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. Doga-Tr.J.of Veterinary and Animal Science 16(415-425) (In Turkish with Eng. summary).
- Kaftanoglu, O. Yeninar, H., Ozkok, D. (1995) Controlling chalkbrood disease (*Ascospaera apis*) in honeybee colonies by using nystatine. Proceedings of Apimondia XXXIVth International Apicultural Congress, pp. 180-181, Lousanne Switzerland.
- Kaftanoglu, O., Yeninar, H., Kumova U., Ozkok, D. (1997) Epidemiology and control of honeybee (*Apis mellifera* L.) diseases in Turkey. Final Report. 93 pp. TUBİTAK Project No: VHAG-925, TUBİTAK Publication No: 92-0054, Ankara.
- Krell .R. 1996. Value-Added Products From Beekeeping. FAO Agricultural ServicesBulletin No. 124 Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Liu, T.P. 1991. A possible chalkbrood control. Amer. Bee J. 131(8):511
- Puerta, F., Flores, J.M., Ruiz, J.A., Ruz, J.M., and Campano, F. 1997. Fungal diseases of the honeybee (*Apis mellifera* L.). in: Bee disease diagnosis, eds. M.E. Colin, B.V. Ball, M. Kılan. Serie B. CIHEAM, Zaragoza.
- Samsinokova, A., Kalolova, S., Haragsim, O. 1977. Effects of some antimycotics and disinfectants on the *Ascospaera apis* fungus in vitro. Z. angev. Ent. 84(3): 225-232
- Schmidt, J.O. 1997. Bee Products, Chemical Composition and Application. International Conference on: Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy P: 15. Israel.
- Yeninar, H. 1992. The effects of some chemicals on the development of chalkbrood disease (*Ascospaera apis*) and the possible control methods. Ms Thesis. 53 pp. C.U. Fen Bilimleri Enst., Adana, Turkey.