



20.yıl  63. sayı

# ULUDAĞ ARICILIK DERGİSİ ULUDAG BEE JOURNAL

U. Arı D. - U. Bee J.

e-ISSN 2687-5594

Cilt: 20 | Sayı: 2 | Kasım 2020  
Volume: 20 | Number: 2 | November 2020

Uludağ Arıcılık Dergisi altı ayda bir Türkçe ve İngilizce olarak Mayıs ve Kasım aylarında yayınlanan hakemli bir dergidir.

Uludag Bee Journal is peer reviewed and published in Turkish and English in May - November



Bursa Uludağ Üniversitesi AGAM yayın organıdır.

This is a publication BDRC of Bursa Uludag University

E-Posta: [agam@uludag.edu.tr](mailto:agam@uludag.edu.tr)  
[editoruad@gmail.com](mailto:editoruad@gmail.com)

Web Adresi: [www.uludag.edu.tr/agam](http://www.uludag.edu.tr/agam)



## İÇİNDEKİLER

## CONTENTS

### ARAŞTIRMA MAKALELERİ

### RESEARCH ARTICLES

<b>Bal Çeşidinin Parazitoit <i>Bracon Hebetor</i> Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae) Erginlerinin Ömür Uzunluğuna Etkileri</b> Adnan SARIKAYA	114	<b>The Effects of Honey Variety on Longevity of the Adult Parasitoid, <i>Bracon hebetor</i> Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae)</b> Adnan SARIKAYA
<b>Türkiye'nin Erzincan Yöresinden Temin Edilen Geven (<i>Astragalus Microcephalus</i> Willd.) Balının Coğrafi Parmak İzi</b> Yakup KARA, Hüseyin ŞAHİN, Sevgi KOLAYLI	123	<b>Geographical Fingerprint of <i>Astragalus (Astragalus Microcephalus</i> Willd.) Honey Supplied from Erzincan Region of Turkey</b> Yakup KARA, Hüseyin ŞAHİN, Sevgi KOLAYLI
<b>Gıda Zenginliği ve Deneyiminden Etkilenen Bal Anısının (<i>Apis mellifera</i>) Yayılma Performansı</b> Muhammad Zahid Sharif, Renjie Xue, Sabah Mushtaq Puswal	132	<b>Foraging Performance of Honeybee (<i>Apis Mellifera</i>) Affected by Food Richness and Experience</b> Muhammad Zahid Sharif, Renjie Xue, Sabah Mushtaq Puswal
<b>Propolisin Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi, Bireysel Fenolik Bileşik İçeriği ve Element Konsantrasyonu Üzerine Bir Çalışma</b> Nesrin ECEM BAYRAM	145	<b>A Study on Free-Radical Scavenging Activity, Individual Phenolic Compounds and Element Concentration of Propolis</b> Nesrin ECEM BAYRAM
<b>Pediatric Hemşirelerinin Apiterapi Hakkındaki Bilgi, Tutum ve Deneyimlerinin Belirlenmesi: Kesitsel Çok Merkezli Bir Çalışma</b> Vildan APAYDIN CIRIK, Bahar AKSOY	157	<b>Determination Of Pediatric Nurses' Knowledge, Attitudes, And Experiences On Apitherapy: A Cross-Sectional Multicenter Study</b> Vildan APAYDIN CIRIK, Bahar AKSOY
<b>Rize İli Üniversite Öğrencilerinin An Ürünlerini Tanıma Durumu Ve Kullanım Alışkanlıklarının Belirlenmesi</b> Özlem SARAL, Ayten YILMAZ YAVUZ	172	<b>Identification of University Students of Recognition Status and Usage Habits of Bee Products in Rize City</b> Özlem SARAL, Ayten YILMAZ YAVUZ
<b>Bal Anısı Kolonilerinde (<i>Apis mellifera</i> L.) Sodyum Humat Katkılı Beslemenin Performans Üzerine Etkileri</b> Muhammet Ali TUNÇ, Mahir Murat CENGİZ, Kemal YAZICI, Metin TURAN	181	<b>The Effects Of Supplemental Feeding With Sodium Humate on the Performance of Honey Bee Colonies (<i>Apis Mellifera</i> L.)</b> Muhammet Ali TUNÇ, Mahir Murat CENGİZ, Kemal YAZICI, Metin TURAN
<b>Fonksiyonel Bir Ürün Olan Propolisin Sağlık Üzerine Etkisi</b> Sultan ACUN, Hulya GUL	189	<b>The Effect of Propolis as a Functional Product on Health</b> Sultan ACUN, Hulya GUL
<b>Bal Mumunun Yapısı, Kullanım Alanları Ve Bazı Temel Sorunları</b> Erkan TOPAL, Özgür CEYLAN, Mustafa KÖSOĞLU, Rodica MARGĂOAN, Mihaiela CORNEA-CIPCIGAN	209	<b>Structure, Usage Areas and Main Problems of Bees Wax</b> Erkan TOPAL, Özgür CEYLAN, Mustafa KÖSOĞLU, Rodica MARGĂOAN, Mihaiela CORNEA-CIPCIGAN
<b>Melittin ve Kanser Tedavisi: Nanoteknolojik Bakış Açısı</b> Aydan Fülden AĞAN, Meral KEKEÇOĞLU	221	<b>Melittin and Cancer Treatment: Nanotechnological Perspective</b> Aydan Fülden AĞAN, Meral KEKEÇOĞLU
<b>Bal Anılarında Sosyal ve Bireysel Bağışıklık</b> A.Ebru BORUM	232	<b>Social Immunity and Individual Immunity in Honey Bees</b> A.Ebru BORUM

### DERLEME MAKALELERİ

### REVIEW ARTICLES

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# BAL ÇEŞİDİNİN PARAZİTOİT *Bracon hebetor* Say, 1836 (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) ERGİNLERİNİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİLERİ

The Effects of Honey Variety on Longevity of the Adult Parasitoid, *Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae)

Adnan SARIKAYA

Amasya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 05100, İpekköy, Amasya, TÜRKİYE, ORCID No:0000-0002-6131-9002, Yazışma Yazarı / Corresponding Author: E-posta: adnansarikaya@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received: 18.04.2020

Kabul Tarihi / Accepted:18.05.2020

DOI: 10.31467/uluaricilik.718805

### ÖZ

Türkiye’de üretilen çeşitli balların lepidopter parazitoit *Bracon hebetor*’un erginlerinin ömür uzunluğuna etkileri araştırıldı. Denemeler  $25\pm 1^\circ\text{C}$  sıcaklık ve  $\%60\pm 5$  bağıl nem koşullarındaki laboratuvar ortamında yapıldı. Denemeler süresince herhangi bir fotoperiyot uygulanmadı. Parazitoit erginlerinin yetiştirilmesi için konak olarak *Galleria mellonella* larvaları kullanıldı. Yeni çıkmış parazitoit erkek ve dişileri cinsiyetlerine göre ayrıldıktan sonra, ayrı ayrı sadece su, çiçek balı, ayçiçeği balı, kestane balı, lavanta balı ve meşe balı ile beslendiler. Gözlemler bütün parazitoitler ölünceye kadar günlük olarak devam etti ve ölü bireyler üzerinden cinsiyet ayırımı yapıldı. Bütün denemeler farklı parazitoit erginleriyle farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi. En yüksek dişi parazitoit ömür uzunluğu lavanta balında elde edilirken, en yüksek erkek parazitoit ömür uzunluğu ayçiçeği balında elde edildi. Bütün deney gruplarında dişi parazitoitler erkeklerden daha uzun yaşadılar. Farklı balla beslenme hem erkek hem de dişi parazitoitlerin ömür uzunluğunu sadece suyla beslenenlere göre önemli ölçüde arttırdı. Bütün deney gruplarındaki parazitoitlerin ömür uzunlukları arasındaki farklılıklar, muhtemelen her bir balın besinsel bileşenlerinin kompozisyonunun farklı olmasıyla ve parazitoitin metabolik ihtiyaçlarıyla açıklanabilir.

Anahtar kelimeler: Hymenoptera, *Bracon hebetor*, parazitoit, ömür uzunluğu, bal çeşidi.

### ABSTRACT

The effects of various honey produced in Turkey on the longevity of the adult lepidopteran parasitoid, *Bracon hebetor* was investigated. Experiments were carried out in laboratory conditions,  $25\pm 1^\circ\text{C}$  and relative humidity of  $60\pm 5\%$ . There was no photoperiodic regimen used during the experiments. Larvae of *Galleria mellonella* were used as a host to rear the parasitoid adults. After the newly emerged adult parasitoid males and females were separated according to sexes, they were fed individually with only water, flower-honey, sunflower-honey, chesnut-honey, lavender-honey, and oak-honey. Observations continued daily until all parasitoids died and sex discrimination was made on the dead parasitoids. All experiments were repeated three times with different adult parasitoids and at different times. The longevity of male parasitoids obtained from sunflower-honey fed adults was the highest, while the highest longevity of female parasitoids was obtained from lavender-honey fed adults. Female parasitoids lived longer than male parasitoids in all experimental groups. Feeding with different honey types significantly increased the longevity of both male and female parasitoids compared to those that were fed only water. Differences between the longevity of parasitoids in all experimental groups can probably be explained by the different composition of the nutritional components of each honey and how this corresponds to the metabolic requirements of the parasitoid.

Key words: Hymenoptera, *Bracon hebetor*, parasitoid, longevity, honey variety.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

### EXTENDED ABSTRACT

**Aim:** Carnivorous insects, parasitoids, are commonly used as biological control agent. Parasitoids utilize sugar-containing foods to achieve maximum longevity. Floral nectar, homopteran honey and honey can be main sources of carbohydrates if they are present in the environment around the parasitoids. In this study, the effects of the various honey types produced in Turkey on the longevity of the adult lepidopteran parasitoid, *Bracon hebetor* was investigated.

**Materials and Methods:** Experiments were carried out in laboratory conditions  $25\pm 1^\circ\text{C}$  and relative humidity of  $60\pm 5\%$ . There was no any specific photoperiodic regimen used during the experiments. Larvae of *Galleria mellonella* were used as a host to rear the parasitoid adults. After the newly emerged adult parasitoids were separated according to sexes, they were divided into six experimental groups. While only water-soaked cotton balls were given to male and female parasitoids in as a control group, flower-honey soaked cotton balls were given to the second group, sunflower-honey soaked balls were given in third group, chestnut-honey soaked cotton balls were given in fourth group, lavender-honey soaked cotton balls were given in fifth group, and oak-honey soaked cotton balls were given in sixth group. All honey extracts were prepared by diluting them with sterile water at a 1:4 (w:v) ratio and these were administered using a soaked cotton balls. Experimental groups were observed every day until all parasitoids were dead, and the dead parasitoids were removed and recorded according to their sexes. All experiments were repeated three times with different adult parasitoids and at different times.

**Result:** Male parasitoids fed with only water lived a mean of 8.53 days, flower-honey treated ones lived on average of 29.48 days, with sunflower-honey they lived on average of 34.59 days, with fed chestnut-honey they lived on average of 23.42 days, with lavender-honey they lived on average of 30.52 days and with oak-honey they lived on average of 33.58 days. Female parasitoids fed with only water lived a mean of 14.06 days, with flower-honey they lived on average of 42.48 days, with sunflower-honey they lived on average of 64.63 days, with fed chestnut-honey they lived on average of 53.62 days, with lavender-honey they lived on average of 69.94 days and with oak-honey they lived on average of 59.83 days. Female parasitoids in all experimental groups lived longer than male parasitoids. Feeding with the

various honey types increased the longevity of both female and male parasitoids.

**Conclusion:** Differences between the longevity of parasitoids in all experimental groups might be due to the different amounts of sugar in each honey. According to our results, *Bracon hebetor* can be used as an effective biological control agent in agroecosystems if the proper nutrition is provided. According to our results, during the mass production of the parasitoid in the laboratory and the release of it into field as biological control agent, the lavender-honey soaked cotton balls can be given as food for the parasitoid. Using this treatment may increase the effectiveness of *Bracon hebetor* as biological control agent.

### GİRİŞ

Doğal olarak üretilen en karmaşık gıda maddelerinden biri olan bal; bitkilerin canlı kısımlarının, salgılarının, çiçeklerindeki nektarlarının veya üzerinde beslenen bazı böceklerin salgılarının bal arıları tarafından toplanarak, vücutlarındaki özel maddelerle karıştırılıp bileşimi değiştirildikten sonra olgunlaşması için petek gözlerinde depolanması sonucunda meydana gelen tatlı bir üründür (Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği 2012, Gündüz 2015, Abeshu ve Geleta 2016). Konsantrasyonunu düşürerek bir indirgen şeker çözeltisi olan bal; diğer bazı şekerleri, enzimleri, aminoasitleri, organik asitleri, fenolik maddeleri, Maillard reaksiyon enzimlerini, vitaminleri ve mineral maddeleri de içeren çok kompleks bir karışımdır (Gündüz 2015, Abeshu ve Geleta 2016). Yüksek bir beslenme değerine sahip olması (303 kal/180 g) ve barındırdığı karbohidratların vücut tarafından hızlı bir şekilde emilebilmesi nedeniyle her yaştaki insana (özellikle çocuklar ve sporculara) önerilen ve hiçbir işlem yapılmadan tüketilebilen tek gıda maddesidir (Gündüz 2015). Balın kalitesi, bitkinin kaynağına ve kompozisyonuna göre belirlenir. Farklı bölgelerde üretilen ve farklı bitkisel orijinli balların bileşimi farklıdır ve balın kalitesini ve fiyatını belirlemektedir (Abeshu ve Geleta 2016).

Arıcılık ülkemizin zengin bitki örtüsü nedeniyle hemen her bölgesinde yapılabilen ve yapanlar tarafından son derece onurlu bir iş olarak kabul edilen bir meslektir. Ülkemiz, toplam kovan sayısı ve üretilen bal miktarı açısından dünyanın önde gelen ülkelerinden bir tanesidir, fakat kovan başına düşen bal verimi açısından daha gerilerde yer almaktadır (Köseoğlu v.d. 2008, Semerci 2017). Ayılar, arı

kuşları, kirpiller, *Varroa* paraziti, *Nosema*, (eşek arıları, karıncalar ve güveler gibi) diğer böcek türleri; bal arılarının başlıca doğal düşmanlarıdır. Bunların bir kısmı, arıların ürettikleri yüksek besin değerine sahip olan balı ve diğer arı ürünlerini besin kaynağı olarak kullanmaktadırlar. Bu durum, kovan başına düşen bal verimini de azaltmaktadır. Fiziksel ve kimyasal mücadele yöntemleri de yeterince etkili olamamaktadırlar (Tutkun ve Boşgelmez 2003). Kovan (bal mumu) güveleri, kovan başına bal üretimini etkileyen en önemli zararlıların başında gelmektedir. Büyük kovan (bal mumu) güvesi, *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) ve küçük kovan (bal mumu) güvesi *Achroia grisella* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) erginlerinin kovan içerisine bıraktıkları yumurtaların açılmasıyla, larvalar kovan içerisinde galeriler açarak arı kolonisinin o kovana bal bırakmasını engellemekte, böylece ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Allan 2000). Kovan (bal mumu) güvelerinin kontrolünde bugüne kadar çeşitli nematodlar, bakteriler, funguslar ve çeşitli predatör böcekler kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında başarılı olan bu uygulamalar, kovanda ve depolanmış peteklerde istenilen başarıyı verememiştir. Bal arılarında ve insanda olumsuz bir etkisi olmayan *Bacillus thuringiensis* bakterisinin sporları, kovan (balmumu) güvesi larvaları tarafından alındığında toksik etki göstermekte ve onları öldürmektedir, biyolojik mücadele amacıyla kullanılan ve başarılı olan en önemli bakteridir (Krieg 1974). Son zamanlarda, biyolojik kontrol ajanı olarak parazitoitlerin kullanılması popüler hale gelmiştir. Parazitoitlerin laboratuvarda yetiştirilmesi sırasında konak olarak kovan (bal mumu) güvelerinin larvaları yaygın olarak kullanılmaktadır (Sarıkaya 2003, Sarıkaya ve Gülel 2011, Akbaş 2019, Akbaş ve Sarıkaya 2019). Bu durum, *B. thuringiensis* bakterisi dışında bir başka biyolojik mücadele ajanının kovan zararlılarına karşı güvenli bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Parazitoitler, bir başka canlının (konak) vücudunda ergin öncesi gelişim dönemlerini tamamlayan ve sonunda onu öldüren vampir (karnivor) böceklerdir (Godfray 1994, Quicke 1997). Parazitoitler, çoğunlukla tarımsal ekosistemlerdeki kelebek zararlılarını konak olarak kullanırlar (Akbaş ve Sarıkaya 2019) ve bu özellikleri sayesinde biyolojik mücadelede 'ajan' olarak yaygın şekilde kullanılan yararlı böceklerdir (Liyong 1986, Hokkanen ve Lynch 2003). Erkek parazitoitler, genellikle dişilerden daha önce erginleşirler ve konakların başında beklerler:

dişiler erginleştikten sonra hemen çiftleşirler. Çiftleşmiş dişi parazitoitler, kitlesel olarak laboratuvarda yetiştirildikten sonra biyolojik kontrol ajanı olarak araziye salınabilirler. Bu ergin dişilerin temel görevi, konak aramak ve yumurtalarını konaklara bırakarak kendi türünün devamını sağlamaktır. Ergin dişiler, zamanlarının büyük bir kısmını yabancı olduğu bu çevrede konağını arayarak geçirir ve çevredeki şeker içeren besin kaynaklarını tüketir. Şayet dişi besinsiz kalırsa, sahip olduğu yumurtaları besin olarak tüketir. Buna yumurta rezorpsiyonu adı verilir (Doutt 1959, Godfray 1994). Bu durum parazitoit dişilerine evrimsel olarak verilmiş bir şans olmasına rağmen, biyolojik kontrolde hiç de istenilen bir durum değildir (Liyong 1986, Godfray 1994, Quicke 1997, Shaw 1997, Hokkanen ve Lynch 2003).

*Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae), çoğunlukla depo zararlısı güve türlerinin son evre larvalarını konak olarak kullanan bir larva ektoparazitoididir (Alam v.d. 2014, Akbaş 2019). Bu çalışmanın amacı, ülkemizde üretilmiş olan çeşitli balların parazitoit *B. hebetor*'un ömür uzunluğuna etkilerini araştırmak ve kovan (bal mumu) güvelerine karşı biyolojik kontrol ajanı olarak uygunluğunu incelemektir.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Denemelerde kullanılan ballar, 2014 yılı içerisinde Ordu ili ve civarında üretilen ve analiz için Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü'ne getirilen numunelerden temin edildi. Bu çalışma sırasında; salgı balı olarak meşe balı, multifloral bal olarak çiçek balı, monofloral bal olarak ayçiçek balı, lavanta balı ve kestane balı kullanıldı. Denemelerde parazitoit olarak *Bracon hebetor*, konak olarak da *Galleria mellonella*'nın son evre larvaları kullanıldı. Denemeler, 25±1°C ve 60±5 bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında yapıldı ve denemeler süresince herhangi bir fotoperiyodik rejim uygulanmadı (Sarıkaya 2003, Sarıkaya ve Gülel 2011, Akbaş 2019).

### Konak ve parazitoit kültürlerinin kurulması

Amasya Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Zooloji Laboratuvarı'nda sürekli olarak üretilen *G. mellonella* erginleri, konak kültürlerinin kurulmasında kullanıldı. Üç-beş gün yaşlı 5 erkek ve 5 dişi, içinde yarısına kadar sterile edilmiş, balsız petek bulunan 5

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

L'lik cam kavanozlara yerleştirildiler. Kavanozların ağız bir tülbent ile kapatıldıktan sonra, 25±1°C ve 60±5 bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında tutuldular. Böylelikle toplam beş adet konak kültürü kuruldu. Kültür kaplarına peteklerin tüketilme durumuna göre, sterile edilmiş balsız petek ilave edildi. Böylece istenildiğinde ve gerektiği miktarda konak erginleri ve son evre larvalar temin edildi. Konak son evre larvaları, parazitoit kültürlerinin kurulmasında ve denemelerde kullanıldılar (Sarıkaya 2003, Sarıkaya ve Gülel 2011).

Bir petri kabına (10 cm x 2 cm), 4-5 adet son evre *G. mellonella* larvası ve 0-3 gün yaşlı 5 dişi ve iki erkek parazitoit konuldu. Parazitoitlerin beslenebilmesi için %20'lik sükröz çözeltisi emdirilmiş pamuk topçuklar da petri kabına ilave edildi. Her petri kabının üzerine tarih ve numarası yazıldı. Böylece 15-20 kadar deney seti hazırlandı. Hazırlanan setler, 25±1°C ve 60±5 bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında tutuldular. Bütün setler her gün kontrol edildi, iki günde bir besin topçukları yenisiyle değiştirildi ve böylece ergin parazitoitlerin besin ihtiyaçları temin edildi. Bundan 5-6 gün sonra, bütün setlerdeki parazitoit erginleri çıkarıldı. Yaklaşık 10 gün sonra, yumurtadan çıkan parazitoit pupaları renk değiştirmeye başlayınca, setlerdeki konak larvalarının atıkları ve besin topçukları da çıkarıldı. Böylelikle deney setlerinde sadece parazitoit pupaları bırakıldı. Bu sayede yeni çıkan parazitoit erginlerinin konak artıkları ve parazitoit erginlerinin besiniyle beslenmesi önlenildi. Birkaç gün sonra setlerden elde edilen parazitoit erginleri toplandı ve cinsiyetlerine göre ayrıldı. Bu erginlerin bir kısmı parazitoit kültürlerinin kurulmasında kullanılırken, bir kısmı da ömür uzunluğu denemelerinde kullanıldı (Akbaş 2019).

### Bal Çeşidinin *Bracon hebetor*'un ömür uzunluğuna etkileri

Deney setlerinden elde edilen ergin parazitoitlerin ergin çıkışı devam ettiği sürece (3-4 gün süresince), günün aynı saatlerinde toplanmasına dikkat edildi. Böylece yaklaşık aynı gün yaşlı ergin parazitoitlerin elde edilmesi sağlandı. Daha sonra, ergin parazitoitler cinsiyetlerine göre ayrıldı. Bir deney tüpüne (16 cm x 2 cm) en fazla 25 tane olacak şekilde yerleştirildi. Tüpün ağız, parazitoit erginlerinin kaçmasını önlemek için bir pamuk ile kapatıldı. Toplanan tüm parazitoit tüpleri, altı eşit deney grubuna ayrıldı. Daha sonra altı ayrı deney grubu oluşturuldu. İlk gruptaki erkek ve dişilere

sadece su emdirilmiş pamuk topçuğu verilirken (kontrol grubu), ikinci gruptakilere çiçek balı, üçüncü gruptakilere ayçiçeği balı, dördüncü gruptakilere kestane balı, beşinci gruptakilere lavanta balı ve altıncı gruptakilere meşe balı emdirilmiş pamuk topçukları, *ad libitum* besin olarak verildi. Bütün ballar, 1:4 (w/v) oranında steril suyla sulandırılarak hazırlandı ve pamuk topçuklara emdirildi. Tüplerin üzerine toplandıkları tarih, cinsiyeti ve beslenme grubu yazılarak, 25±1°C ve 60±5 bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında tutuldular. Deney setleri, bütün parazitoitler ölünceye kadar her gün kontrol edildi, ölen parazitoitler tüplerde alındı, beslenme grubu ve cinsiyetlerine göre kaydedildi. Denemeler, farklı parazitoit erginleriyle farklı zamanlarda üç defa tekrar edildi.

### İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS (ver.25) paket programı kullanıldı (IBM Corp. Released 2017). Çeşitli bal özütlerinin parazitoit erginlerinin ortalama ömür uzunluğu verilerinin değerlendirilmesinde 'Tek yönlü varyans analizi' kullanıldı. Ortalamalar arasındaki farkın önem kontrolü için de 'Tukey HSD testi' yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde p=0,05 güven sınırı esas alındı.

### BULGULAR

Farklı balla beslemenin parazitoit, *B. hebetor* erginlerinin ömür uzunluğuna etkileri Tablo 1'de gösterildi. Sadece su verilen erkek parazitoitler (kontrol grubu), ortalama 8,53 gün yaşarken, dişi parazitoitler ortalama 14,06 gün yaşadılar (Tablo 1). Erkek parazitoitlerde en yüksek ömür uzunluğu, ayçiçeği balıyla beslenen grupta ortalama 34,59 gün olarak bulundu. En düşük ömür uzunluğu ise, kestane balıyla beslenen grupta ortalama 23,42 gün olarak bulundu. Çiçek balıyla beslenen gruptakiler ortalama 29,48 gün, lavanta balıyla beslenen gruptakiler ortalama 30,52 gün ve meşe balıyla beslenen gruptakiler de ortalama 33,58 gün yaşadılar (Tablo 1). Dişi parazitoitlerde en yüksek ömür uzunluğu, lavanta balıyla beslenen grupta ortalama 69,94 gün olarak bulundu. En düşük ömür uzunluğu ise çiçek balıyla beslenen grupta ortalama 42,48 gün olarak bulundu. Kestane balıyla beslenen gruptakiler, ortalama 53,62 gün, meşe balıyla beslenen gruptakiler ortalama 59,83 gün, ayçiçeği balıyla beslenen gruptakilerde ortalama 64,63 gün yaşadılar (Tablo 1).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Farklı ballarla beslenme, kontrol grubuna göre hem erkek ( $F=418,860$ ,  $df=804$ ,  $p<0,01$ ) hem de dişi parazitoitlerin ortalama ömür uzunluğunu önemli ölçüde arttırdı ( $F=487,064$ ,  $df=758$ ,  $p<0,01$ ), (Tablo 1). Bütün deney gruplarında dişi parazitoitler, erkek parazitoitlerden daha uzun yaşadılar (Tablo 1 ve Şekil 1).

Erkek parazitoitlerde çiçek balıyla beslenenlerin ömür uzunluğu, kontrol grubuna (su) göre yaklaşık 3,45 kat artarken, ayçiçeği balıyla beslenenlerinki 4,05 kat, kestane balıyla beslenenlerinki yaklaşık 2,75 kat, lavanta balıyla beslenenlerinki yaklaşık 3,58 kat ve meşe balıyla beslenenlerinki de yaklaşık 3,94 kat arttı (Tablo 1).

Dişi parazitoitlerde çiçek balıyla beslenenlerin ömür uzunluğu, kontrol grubuna (su) göre yaklaşık 3,02 kat artarken, ayçiçeği balıyla beslenenlerinki 4,60 kat, kestane balıyla beslenenlerinki yaklaşık 3,81 kat, lavanta balıyla beslenenlerinki yaklaşık 4,97 kat ve meşe balıyla beslenenlerinki de yaklaşık 4,25 kat arttı (Tablo 1).

Balla besleme, bütün beslenme gruplarındaki parazitoit erginlerinin hayatta kalma yüzdelerini de etkiledi. Hayatta kalma yüzdeleri, dişi parazitoitlerde erkek parazitoitlerden belirgin şekilde fazla oldu (Şekil 1).

### TARTIŞMA

Parazitoit erginleri, maksimum ömür uzunluğuna erişmek için içinde buldukları ortamdaki şeker içeren besin maddelerini bulmak ve tüketmek zorundadırlar (Bianchi ve Wackers 2008, Wu v.d. 2008). Parazitoitlerin içinde buldukları ortamdaki şeker içeren başlıca besin kaynakları; (floral) nektar, homoptera balı ve baldır (Fadamiro ve Heimpel 2001, Sood ve Pajni 2006, Wyckhuys v.d. 2008). Shaw (1997), şekerlerin yanında protein ve vitaminleri de içerdiği için balın parazitoitler için mükemmel bir besin kaynağı olduğunu ve bu sayede parazitoit dişilerinin yaşamları boyunca yumurtalarını olgunlaştırabileceğini bildirmiştir.

Bugüne kadar değişik konsantrasyondaki bal çözeltilerinin parazitoitlerin ömür uzunluğuna etkilerine dair yapılmış çok sayıda çalışma olmasına rağmen (Temerak 1983, Leatemia v.d. 1995, Mitsunaga v.d. 2004, Sood ve Pajni 2006, Salman v.d. 2012, Benelli v.d. 2017), aynı konsantrasyondaki farklı balların parazitoitlerin ömür uzunluğuna etkilerine dair yapılmış çalışmaya literatürde rastlanmadı. Bu çalışmada, salgı balı olarak meşe balı, multifloral bal olarak çiçek balı, monofloral bal olarak ayçiçeği balı, lavanta balı ve kestane balı kullanıldı. Bu ballarla beslenen parazitoit erginlerinin ömür uzunluklarının (Tablo 1) ve hayatta kalma yüzdelerinin (Şekil 1) belirgin şekilde arttığı görüldü. Bu durum diğer araştırmacıların bulgularına da benzerlik göstermektedir (Sood ve Pajni 2006, Salman vd. 2012, Benelli v.d. 2017).

**Tablo 1.** Bal çeşidinin parazitoit *Bracon hebetor* erkek ve dişilerinin ergin ömür uzunluğuna (gün) etkileri.

Bal çeşidi	Ergin ömür uzunluğu (gün)	
	Erkek (ort±S.H.)* (n)	Dişi (ort±S.H.)* (n)
Su	8,53±0,16a (n=127)	14,06±0,23a (n=170)
Çiçek balı	29,48±1,37b (n=128)	42,48±2,74b (n=101)
Ayçiçeği balı	34,59±2,08c (n=140)	64,63±3,04c (n=120)
Kestane balı	23,42±1,04d (n=135)	53,62±2,88d (n=101)
Lavanta balı	30,52±1,98b (n=133)	69,94±3,56e (n=138)
Meşe balı	33,58±2,01c (n=144)	59,83±2,98f (n=132)

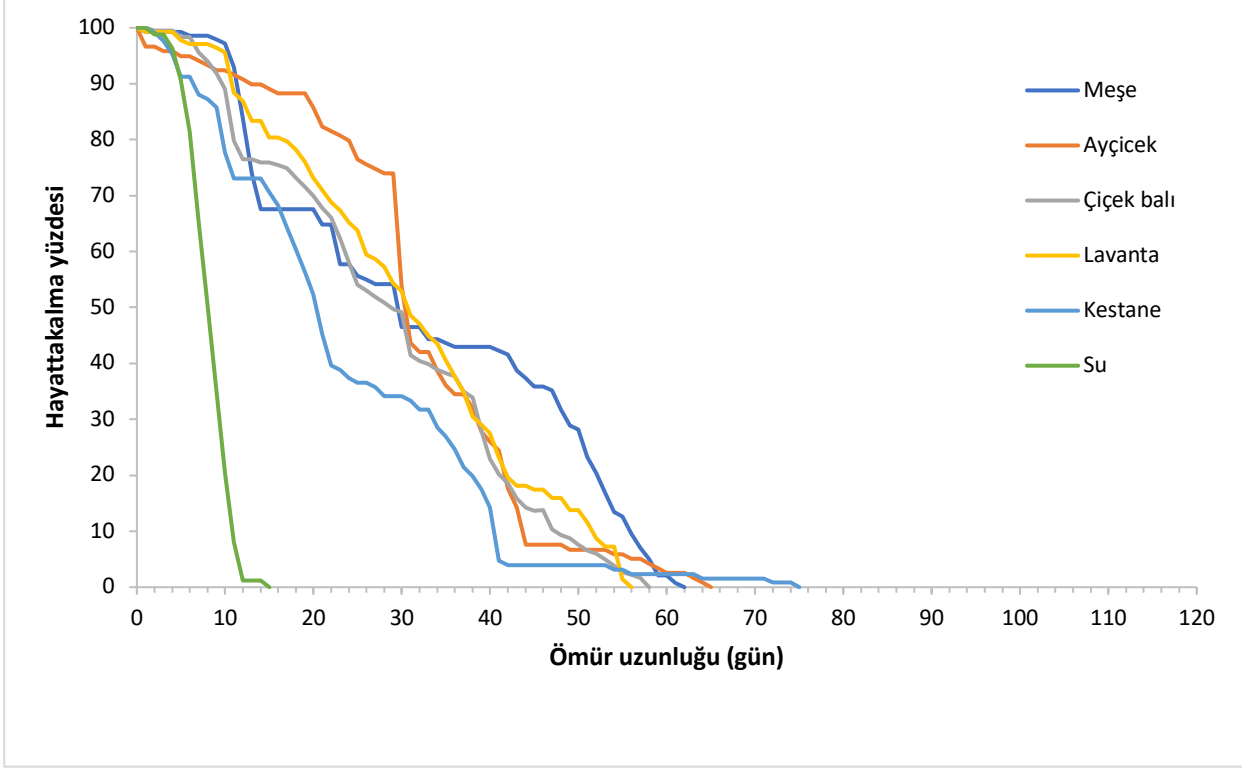
\*Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsizdir,  $p>0,05$ .

n: Parazitoit sayısı

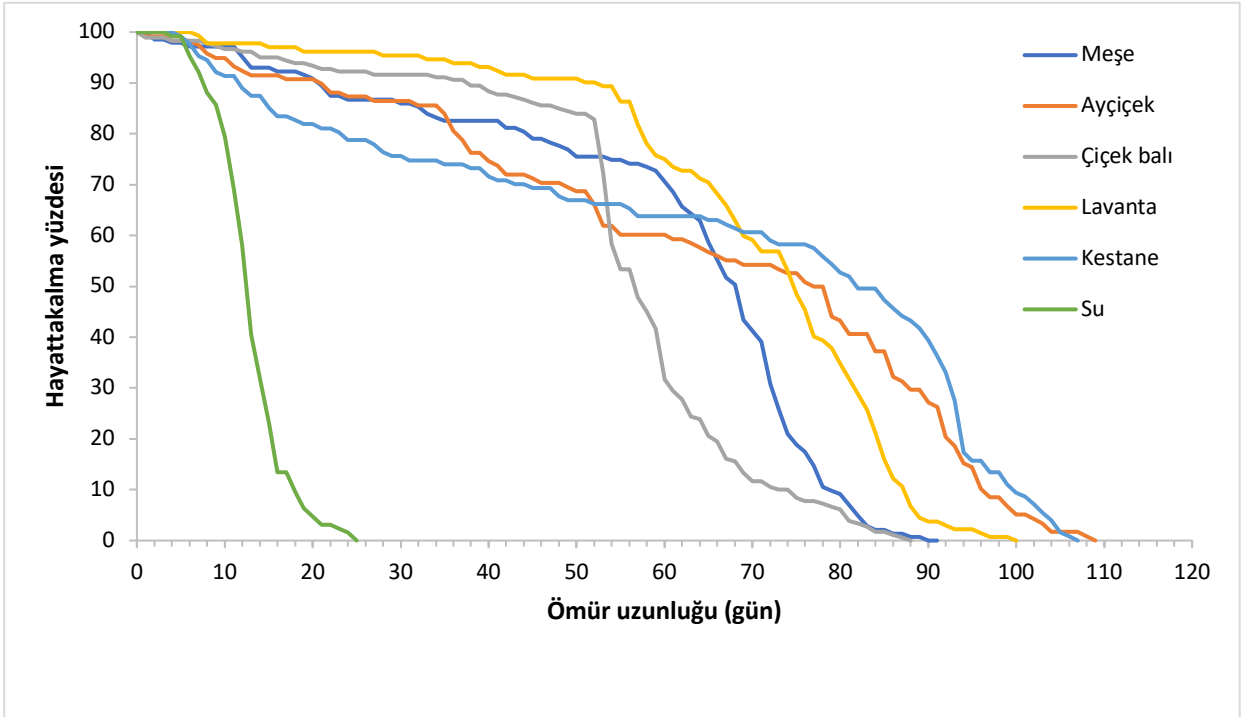
## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Şekil 1. Farklı balla beslenen parazitoid *Bracon hebetor* erkek (a) ve dişilerinin (b) hayatta kalma yüzdesine etkileri.

a) Erkek



b) Dişi





Parazitoitler temel enerji kaynağı olarak daha çok basit şekerleri, özellikle sükröz ve glikozu kullanmaktadır (Olson v.d. 2000, Fadamiro ve Heimpel 2001, Chen ve Fadamiro 2006, Wu v.d. 2008, Wyckhuys v.d. 2008, Benelli v.d. 2017). Chen ve Fadamiro (2006), doğal olarak meydana gelen beş şekerin *Pseudacteon tricuspis* (Hymenoptera: Formicadae)'nin ömür uzunluğuna etkilerini incelemişler ve glikoz ile beslenmenin fruktoza göre ömür uzunluğunu daha çok artırdığını saptamışlardır. Leatemia v.d. (1995) sükrözün basit bir şeker olduğu için parazitoit sindirim sistemi tarafından daha kolay absorbe edildiğini göstermiştir. Hagen v.d. (1984) ise karbohidrat ihtiyacının karşılanmasında parazitoidin sindirim enzimlerin de etkili olabileceğini ve kendi sindirim sistemine uygun basit şekerleri ve/veya bu şekerleri içeren besinleri tercih edeceğini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, bal ile beslenen parazitoit türlerinin sükrözle beslenenlerden daha uzun yaşadıklarını göstermişlerdir (Salman vd. 2012). Leatemia v.d. (1995) balla beslenen *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)'nin ömür uzunluğunun (26,4 gün), %50'lik sükröz çözeltisiyle beslenenlerden (23 gün) ve %20'lik sükröz çözeltisiyle beslenenlerden (21 gün) daha uzun olduğunu bulmuşlardır. Başka bir çalışmada, *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) dişilerinin %50'lik balla beslendiğinde %20'lik sükrözle beslenenlerden daha uzun yaşadıkları, fakat erkeklerinin ömür uzunluğunda önemli bir fark görülmediği bildirilmiştir (Mitsunaga v.d. 2004). Temerak (1983), balın parazitoidin ömür uzunluğunu artıran en iyi besin olduğunu ileri sürmüştür. Balı sükröze tercih eden parazitoit, şekerin yanında metabolik faaliyetleri için gerekli olan diğer maddeleri de temin eder. Bu durum parazitoide daha uzun süre yaşama ve daha çok oğul döl üretme imkanı da tanır (Salman v.d. 2012).

Bu çalışmada, balla beslenen hem dişi hem de erkek parazitoitler, her beslenme grubunda suyla beslenenlerden daha uzun süre yaşadılar ve hayatta kalma yüzdeleri daha yüksek oldu (Tablo 1 ve Şekil 1). Dişi parazitoitlerde en uzun ömür uzunluğu lavanta balıyla beslenenlerde, erkeklerde ise ayçiçeği balıyla beslenen parazitoitlerde elde edildi (Tablo 1). Gerek cinsiyetler arasında gerekse de aynı cinsiyet arasındaki ömür uzunluklarında ve hayatta kalma yüzdelerinde görülen bu farklılıklar, muhtemelen balların besin kompozisyonunun farklı olmasının yanında, parazitoidin metabolik ihtiyaçlarından kaynaklanmaktadır (Tablo 1 ve Şekil

1). Dişi parazitoitler metabolik olarak erkeklerden çok daha aktiftirler. Yumurta üretme ve ovipozisyon gibi yoğun metabolik faaliyet gerektiren aktiviteler, dişi parazitoitler tarafından yerine getirilir (Godfray 1994, Quicke 1997). Bu nedenle, erkek parazitoitlerden besinsel olarak daha donanımlı olarak ergin hale gelirler (Doutt 1959, Godfray 1994, Quicke 1997, Sarıkaya 2003). Bu da onların hayatta kalma şansını artırır ve erkeklerden daha uzun yaşamalarına neden olur (Olson v.d. 2000, Chen ve Fadamiro 2006, Benelli v.d. 2017, Akbaş 2019).

Bu çalışmada, kullanılan balların kimyasal kompozisyonlarını tayin imkanımız olmadı. Fakat, Haroun (2006), Türkiye'de üretilen bazı balların kimyasal analizini yapmış ve 3 adet ayçiçeği balı numunesinin ortalama %40,01 fruktoz, %33,40 glikoz, %0,49 sükröz (sakkaroz) ve %0,90 galaktoz içerdiğini; 4 adet çiçek balı numunesinin ortalama %39,19 fruktoz, %29,11 glikoz, %1,31 sükröz ve %1,18 galaktoz içerdiğini; 4 adet kestane balı numunesinin ortalama %36,88 fruktoz, %21,89 glikoz, %2,86 sükröz, %2,33 galaktoz içerdiğini; 1 adet meşe balı numunesinin de % 30,87 fruktoz, %29,65 glikoz, %4,29 sükröz ve %2,52 galaktoz içerdiğini tespit etmiştir. Haroun (2006) çalışmasında lavanta balını analiz etmeyip Devillers v.d. (2004)'ün verilerini kullanmıştır. Buna göre, 57 adet lavanta balı numunesinde ortalama %35,51 fruktoz, %31,37 glikoz, %2,69 sükröz tespit edilmiştir (Haroun 2006). Ayrıca protein içeriği açısından meşe balının fakir, ayçiçeği ve çiçek ballarının oldukça yüksek protein içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırmacı meşe balı gibi salgı ballarının diğer ballarla mukayese edildiğinde daha düşük fruktoz ve glikoz, buna karşılık daha yüksek sükröz ve galaktoz içerdiklerini göstermiştir. Bunun yanında fenolik madde içeriği bakımından genellikle koyu renkli olan meşe balının en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğunu belirlemiştir (Haroun 2006).

Balın üretildiği yer, mevsim, yükseklik, bölgenin florası gibi faktörler, balın içeriğini ve kalitesini etkilemektedir. Ama Haroun (2006)'nın verileri bizim sonuçlarımızı kısmen açıklamamızda yardımcı olabilir. Örneğin erkek parazitoitlerin ayçiçeği balındaki ortalama ömür uzunluğu meşe balındakine çok yakındır (Tablo 1). Bunu balın içerisindeki glikoz miktarına gibi tek bir faktöre göre açıklamaya çalışırsak, en yüksek glikoz yüzdesi (%33,40), ayçiçeği balında bulunmuştur (Haroun 2006). En yüksek ikinci glikoz konsantrasyonu olan bal ise, %31,37 ile lavanta balıdır (Haroun 2006). Ancak, erkek parazitoitlerde en yüksek ikinci ömür uzunluğu

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

ortalama 33,58 gün ile meşe balıyla beslenen grupta elde edildi (Tablo 1). Aynı durum dişi parazitoidler için de geçerlidir. En yüksek glikoz konsantrasyonuna sahip olan ayçiçeği balı, dişi parazitoidlerin ancak ikinci en yüksek ömür uzunluğuna sahip olan grubu oldu (Tablo 1). Parazitoid erginlerine ait ömür uzunluğu verileri; diğer şekerler, protein ve fenolik madde içerikleriyle karşılaştırıldığında da benzer sonuçlar elde edilecektir. Besinin kompozisyonu dışında parazitoidin metabolik ihtiyacı, mide hacmi, bağırsaktaki enzimler ve yumurta olgunlaşması gibi faktörler de besin tercihinde etkili olmaktadır (Hagen v.d. 1984, Godfray 1994, Leatemia v.d. 1995, Quicke 1997, Benelli v.d. 2017).

Bu sonuçlar, parazitoid erginlerinin besin kaynağının değerlendirmesini ve besin tercihini tek bir faktöre göre değil, metabolik ihtiyaçlarına göre, bir bütün halinde yaptığını göstermektedir.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Sinovijenik bir parazitoid olan *B. hebetor*, hayatta kaldığı ve beslenmesini devam ettirebildiği sürece yumurta üretimine devam edebilir (Akbaş 2019). Parazitoidin salındığı çevreye uyum sağlaması ve iyi beslenmesi, o çevrede uzun süre yaşamını sürdürebilmesine olanak tanır. Bu durum, ajan olarak kullanıldığında, biyolojik mücadele yapılan arazide konak olarak daha fazla zararlıyı elimine etmesine neden olabilecektir. Laboratuvarında kısa sürede, kolay, hızlı, çok sayıda üretilebilmesi ve üretilen *B. hebetor* erginlerinin bırakılan ortama kolay uyum sağlayabilmesi biyolojik kontrol ajanı olarak değerini artırmaktadır.

Biyolojik kontrol amacıyla, hem laboratuvarında kitlesel üretimi yapılacağı zaman hem de ortama kitlesel parazitoid salınımı yapılacağı zaman, parazitoidlerle birlikte hedef alana şeker oranı yüksek besin maddelerinin, özellikle lavanta balı emdirilmiş pamuk topçuklarının bırakılması ve birkaç gün arayla bu besin maddelerinin tazelenmesi, *B. hebetor* ile yapılacak biyolojik kontrolün etkinliğini arttırabilir.

### TEŞEKKÜR

Balların teminindeki yardımları için Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e ve Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkür ederim.

### KAYNAKLAR

- Abeshu, MA., Geleta, M. 2016. Medicinal uses of honey. *Biology and Medicine* 8: 279-281.
- Akbaş, D. 2019. Kuersetinin parazitoid *Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae)'nin ömür uzunluğu ve yumurta yüküne etkileri. Yüksek Lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi, 61 sayfa.
- Akbaş, D., Sarıkaya, A. 2019. Egg load of insects in agroecosystems. In H. Sert, HK. Kiraz (Ed). 9th International symposium on Ecology and Environmental problems, Antalya, Turkey, pp: 61.
- Alam, MS., Alam, MZ., Alam, SN., Miah, MDU., Mian, MIH., Hossain, MM. 2014. Biology of *Bracon hebetor* reared on wax moth (*Galleria mellonella*) larvae. *Persian Gulf Crop Protection* 3: 54-62.
- Allan, L. 2000. Wax moth and its control. Department of Agriculture, Western Australia. <http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/2000/f00697.htm>.
- Benelli, G., Giunti, G., Tena, A., Desneux, N., Caselli, A., Canale, A. 2017. The impact of adult diet on parasitoid reproduction performance. *Journal of Pest Science* 90: 807-823.
- Bianchi, FJJA., Wackers, FL. 2008. Effects of flower attractiveness and nectar availability in field margins on biological control by parasitoids. *Biological Control* 46: 400-408.
- Chen, L., Fadamiro, Y. 2006. Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*. *Physiological Entomology* 31: 46-56.
- Devillers, J., Morlot, M., Pharm-Delegue, MH., Dore, JC. 2004. Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chemistry*, 86: 305-312.
- Doutt, RL. 1959. The biology of parasitic hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 4: 161-182.
- Fadamiro, HY., Heimpel, GE. 2001. Effects of partial sugar deprivation on lifespan and carbohydrate mobilization in the parasitoid *Macrocentrus grandii* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America* 94: 909-916.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Godfray, HCJ. 1994. Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. Princeton, USA.
- Gündüz, A. 2015. Bal ve Deli bal, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 162 sayfa.
- Hagen, KS., Dadd, RH., Reese, J. 1984. The food of insects. In *Ecological Entomology*, edited by Huffaker, CB. and Rabb, RL. New York: John Wiley and Sons.
- Haroun, MI. 2006. Türkiye’de üretilen bazı çiçek ve salgı ballarının fenolik asit ve flavonoid profilinin belirlenmesi. Doktora tezi. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi, 120 sayfa.
- Hokkanen, HMT., Lynch, JM. 2003. Biological control: Benefits and risks. Cambridge University Press, London, UK.
- IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Köseoğlu, M., Yücel, B., Saner, G., Doğaroğlu, M. 2008. Türkiye’de arıcılığın güncel durum analizi. *Hasad Hayvancılık Dergisi* 201: 52-61.
- Krieg, A. 1974. Possibilities of microbiological control of the greater wax moth *Galleria mellonella* L. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 74: 337-343.
- Leatemia, JA., Laing, JE., Corrigan, JE. 1995. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Canadian Entomologist*, 127: 245-254.
- Liyang, L. 1986. Mass production of natural enemies (Parasites and predators). *Natural Enemies of Insects* 8: 52-62.
- Mitsunaga, T., Shimoda, T., Yano, E. 2004. Influence of food supply on longevity and parasitization ability of a larval endoparasitoid, *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology*, 39: 691-697.
- Olson, DM., Fadamiro, H., Lundgren, JG., Heimpel, GE. 2000. Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology* 25: 17-26.
- Quicke, DLJ. 1997. Parasitic wasps. Chapman and Hill, London, UK.
- Salman, M., Basri, MW., Idris, AB. 2012. Effects of honey and sucrose on longevity and fecundity of *Apanteles metesae* (Nixon), a major parasitoid of the oil palm bagworm, *Metisa plana* (Walker). *Sains Malaysiana*, 41: 1543-1548.
- Sarıkaya, A. 2003. Konaktaki toplam lipit, glikojen ve protein miktarlarının parazitoid *Dibrachys boarmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae)’nin ergin öncesi gelişim süresi, verim ve ergin yaşam süresine etkileri. Doktora tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 50 sayfa.
- Sarıkaya, A., Gülel, A. 2011. Effects of host species, stages and size on the sex ratio and clutch size of the parasitoid, *Dibrachys boarmiae* (Walker, 1863) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bulletin of Entomological Research* 101: 325-331.
- Semerçi, A. 2017. Türkiye’de arıcılığın genel durumu ve geleceğe yönelik beklentiler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 22: 107-118.
- Shaw, MR. 1997. Rearing parasitic hymenoptera. *The Amateur Entomologist*, 25: 1-46.
- Sood, S., Pajni, HR. 2006. Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscaana mukerjii* (Mani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of bruchids attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Product Research* 42: 438-444.
- Temerak, SA. 1983. Longevity of *Bracon brevicornis* (Hym: Braconidae) adults as influenced by nourishment on artificial and natural foods. *Entomophaga*, 28: 145-150.
- Tutkun, E., Boşgelmez, A. 2003. Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri. Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Türk Gıda kodeksi Bal Tebliği, 2012. (Tebliğ no: 2012/58).
- Wu, H., Merg, L., Li, B. 2008. Effects of feeding frequency and sugar concentrations on lifetime reproductive success of *Meteorus pulchricornis* (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 45: 353-359.
- Wyckhuys, KAG., Rtrange-George, JE., Kulhanek, CA., Wackers, FL., Heimpel, GE. 2008. Sugar feeding by the aphid parasitoid *Binodoxys communis*: How does honeydew compare with other sugar sources? *Journal of Insect Physiology* 54: 481-491.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# GEOGRAPHICAL FINGERPRINT OF *ASTRAGALUS (ASTRAGALUS MICROCEPHALUS* WILLD.) HONEY SUPPLIED FROM ERZINCAN REGION OF TURKEY

Türkiye'nin Erzincan Yöresinden Temin Edilen Geven (*Astragalus Microcephalus* Willd.) Balının Coğrafi Parmak Izi

Yakup KARA<sup>1</sup>, Hüseyin ŞAHİN<sup>2</sup>, Sevgi KOLAYLI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Karadeniz Teknik University, Department of Chemistry, Trabzon, TURKEY, ORCID No: 0000-0003-3121-5023, Yazışma Yazarı / Corresponding Author: E-posta: yakupkara@gmail.com.

<sup>2</sup> Giresun University, Espiye Vocational School, Espiye 28600, Giresun, TURKEY, ORCID No: 0000-0002-6018-1494, E-posta: huseyinsahin84@gmail.com.

<sup>3</sup> Karadeniz Teknik University, Department of Chemistry, Trabzon, TURKEY, ORCID No: 0000-0003-0437-6139, E-posta: skolayli61@yahoo.com.

Geliş Tarihi / Received: 18.04.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 06.05.2020

DOI: 10.31467/uluaricilik.722696

### ABSTRACT

The composition and biological value of honey vary depending on its producing flora. The botanical, chemical and biological active properties of honey determine the geographical authenticity of the honey. In this study, geographic fingerprints of thirty *Astragalus (Astragalus microcephalus* Willd.) honeys from Erzincan region were investigated. The honey consists of *Astragalus* pollen more than 65% and others were *Salix* spp., *Cistaceae*, *Trifolium* spp., *Thymus* spp, *Rosaceae*, *Papaveraceae*, *Onobrychis* spp. etc. The characteristic color of the analyzed honeys was bright/light yellow, Hunter color values (L, a, b) were found to be as L: 72-78, a: 7-16 and b: 58-78, respectively. Total polyphenol content of the honeys was 38.20±4.60 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g, it was found to be rich in some phenolics such as chrysin, caffeic acid phenyl ester, myricetin, pinocembrin, luteolin, and gallic acid.

**Key words:** Honey, *Astragalus*, geographical fingerprint, Anatolia

### ÖZ

Balın bileşimi ve biyolojik değeri üretilen floraya bağlı olarak değişir. Balın botanik, kimyasal ve biyolojik aktif özellikleri, balın coğrafik özgünlüğünü (işaretini) belirlemektedir. Bu çalışmada Erzincan yöresine ait 30 adet geven (*Astragalus microcephalus* Willd.) balının coğrafi parmak izleri araştırıldı. Balın botanik içeriğinde%65'ten fazla *Astragalus* poleni ve azalan değerlerde *Salix* türleri, *Cistaceae*, *Trifolium* türleri, *Thymus* türleri, *Rosaceae*, *Papaveraceae*, *Onobrychis* türleri vb. bulunmaktadır. Çalışılan balların karakteristik rengi parlak/açık sarı, Hunter renk değerleri (L, a, b) sırasıyla L: 72-78, a: 7-16 ve b: 58-78 olarak tespit edildi. Balların toplam polifenol içeriği 36,50±4,60 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g olup temel olarak krisin, kafeik asit fenil ester, mirisetin, pinosembrin, luteolin ve gallik asit gibi bazı fenoliklerce zengin olduğu bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Bal, geven, coğrafi parmakizi, Anadolu



**GENİŞLETİLMİŞ ÖZET**

**Amaç:** Bal bileşimi ve biyolojik özellikleri ile toplandığı bölge florasına göre sınıflandırılan bir doğal şeker oranı yüksek üründür. Kuru ağırlığının %98 şekerlerden oluşan bu doğal ürünün yapısında %2'nin altında bulunan çeşitli fenolik asitler, flavanoller, flavanonlar, stilbenler, kalkonlar ve tanenler gibi polifenoller ile vitamin ve mineraller balın kimliğini oluşturan önemli ajanlardır. Balın tadı, rengi, kokusu, aromasını oluşturan bu sekonder metabolit ajanlar aynı zamanda balın coğrafik işaretinden de sorumludurlar. Bileşimi itibarıyla kompleks bir yapıya sahip bulunan bal, çok kolay tağşiş edilebilen bir doğal üründür. Balın coğrafik özelliklerini balın kompozisyonu belirler ve balın tağşiş önüne geçilmesi amacıyla son zamanlarda balda coğrafik işaret kavramı gündeme gelmiştir. Yapılan çalışmalar belli bir bölgeye ait balların fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktif özelliklerinin belirlenerek balın etiketlenmesi ile balda tağşiş azaltılmaktadır. Geven türleri (*Astragalus* spp.) Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da yaygın olarak bulunur ve bal verimi oldukça yüksektir. Bu çalışma, unifloral (yüksek oranlı tek bitki kaynaklı) *Astragalus* (geven) ballarının özgün yapısını aydınlatmak ve coğrafi parmak izini bulmak için yapılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Ağustos 2018'de Erzincan Arı Yetiştiriciler Birliği tarafından Erzincan bölgesinde (39° 34'46.8 "N39° 45'33.6" E) 30 adet *Astragalus* (geven) bal örneği toplanmış ve laboratuvara gönderilmiştir. Numunelerin botanik kökenini belirlemek için melissopalinolojik analizler yapılmış ve çalışılan balların geven balı olduğu tespit edilmiştir. Balların renk değerlerini ölçmek için Hunter spektrofotometre kullanılmış, buradaki değerler L,a,b (L, karanlık/aydınlık (0 siyah-100 beyaz); a, yeşillik/kızarıklık; b, mavilik/sarıklık) ile ifade edilmiştir. Nem ölçümü, kırılma indisinden faydalanarak refraktometre ile, balın iletkenlik analizi kondüktometre ile ve optik çevirme ise polarimetre ile gerçekleştirildi. Prolin içeriği de spektrofotometrik olarak tayin edildi. Balın antioksidan kapasitesini belirlemek için toplam polifenol, toplam flavonoid, FRAP ve DPPH radikal temizle analizleri yapıldı. İvertaz, glikoz oksidaz ve diastaz aktiviteleri spektrofotometrik tayinlerle ölçüldü. Herhangi bir ısıl işleme tabi tutulmayan ve ham bal olarak ifade edilen bu örneklerin invertaz aktivitesi, bir substrat olarak p-nitrofenil-a-D-glikopiranosit (p-NPG) kullanılarak belirlenirken, glikoz oksidaz aktivitesi, peroksidaz/o-dianisidin ile olan reaksiyonu temelinde göre belirlendi. Ayrıca diastaz aktiviteleri, 40°C'de inkübe

edilen çözünür nişasta ve bal tampon çözeltisi kullanılarak ölçüldü. Geven balı fenolik profili HPLC-UV'de 19 fenolik standart kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Fenolik standartlar olarak kateşin, epikateşin, rutin, daidzein, mirisetin, luteolin, hesperetin, krisin, pinosembrin, protokatekuik asit, şiringik asit, gallik asit, p-OH benzoik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, t-sinnamik asit, kafeik asit fenetil ester, resveratrol kullanılmıştır.

**Bulgular:** Balların palinolojik analizi sonucu %60'ın üzerinde geven polenine sahip olduğu tespit edildi. L değeri balın koyuluğunu gösteren bir parametredir ve edinilen çalışma sonuçları bu değeri ortalama 73,40 olarak ortaya koymuştur. Ayrıca balların HMF seviyelerinin en fazla 1,5 mg/kg ve prolin değerinin ise 640±54,50 mg/kg olduğu gözlenmiştir. Diastaz, invertaz ve glikoz oksidaz enzimlerinin aktivite değerleri sırasıyla 18±3,80 DU, 152±12,30 U/kg, 3,36±1,22 µg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg'dır. Numunelerin toplam polifenol değeri 31 ve 41 mg GAE/100 g arasında değişmektedir ve ortalama değer 36,50 mg GAE/100 g olarak bulunmuşken; toplam flavonoid miktarı ise 0,72 mg QE/100 g olarak bulunmuştur. Balın DPPH ve FRAP analiz sonuçları sırasıyla 146±38 mg/ml (SC50), 204±64 umol FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O/100 g olarak bulunmuştur. Fenolik içerik analizi sonucunda geven ballarında belirlenen ana bileşenler krisin, myrisetin ve kafeik asit fenetil ester ve luteolindir. Pinosembrin, sinnamik asit, gallik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit ana bileşenleri belirli değer aralıklarıyla izlenmiştir.

**Sonuç:** Erzincan bölgesine ait geven ballarının fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal özellikleri ile geven poleni bakımından yüksek monofloral değere sahip ve ham bal niteliğinde bir bal olduğu tespit edilen bu balın çok sayıda çiçek balından daha yüksek antioksidan nitelik taşıdığı tespit edildi. Kısaca çalışma verilerinin Erzincan yöresi *Astragalus* (geven) balının coğrafi parmak izi haritasının ortaya çıkardığı görülmektedir. Bir ürünün coğrafi parmak izini belirleyerek bölgenin jeolojik, fitocoğrafik ve iklim gibi farklı özelliklerine ulaşılabilir.

**INTRODUCTION**

The most produced honey species are blossom honeys in the world, these are produced as monofloral and/or polyfloral. Although their compositions vary according to the flora of the

collected area, these consist of 98% sugars of dry weight. Fructose and glucose are two main sugars of honey and it contains a small portion different sugars like sucrose, maltose, arabinose, melezitose, melibiose, trehalose, e.g. (Kamal and Klein 2011). The agents that responsible for the honey color, taste, smell and aroma are herbal oils and volatile compounds and different polyphenols and pigments. Polyphenols that are found in honey nearly 0.02–0.20% with depending on honey species also responsible for its biological activities (Can et al. 2015). In general, the dark-colored honey contains high polyphenols. Chestnut, heather, oak and pine honeys are dark colored and these have also high antioxidant capacities (Cavrar et al. 2013, Kaygusuz et al. 2016).

In recent years, the characteristic features of honey have been classified according to the flora of the region (Wang et al. 2009, Dinca et al. 2015). The flora of the area is determined geographic fingerprints of the honey. In the recent studies, geographic origins or authenticity of some honeys can be measured with different specific biomolecules, while some honeys require a wide of discriminant analysis (Wang et al. 2009, Cavazza et al. 2013, Dinca et al. 2015). For example, the geographic origin of Manuka honey is determined with methylglyoxal, while the chestnut honey is determined by the presence of *p*-aminoacetophenone (Bonaga et al. 1986, Adams et al. 2009, Cavazza et al. 2013). But anyway, if any honey types have received a geographical sign, it should define its all properties. Turkey has many different honey plants and honey species. *Astragalus* species (*Astragalus* spp.) are found widespread in eastern and southeastern Anatolia and has a high honey yield (Pinar et al. 2009). Erzincan meadow is in eastern Anatolia and has become prominent with apicultural activities. One of the dominant honey plants in the region is *Astragalus*. Geographical indication applications in Turkey's honey production was evaluated and demonstrated the necessity of this kind of work (Alparslan and Demirbaş 2019). In this context, it is seen that geographic fingerprint studies belonging to different types of honey have been carried out (Gürbüz and Çelikel 2018). This study was carried out to illuminate the authentic structure of the *Astragalus* monofloral honey and to find the geographic fingerprint.

## MATERIALS AND METHODS

Thirty *Astragalus* honey samples were harvested in the Erzincan area (39°34'46.8"N 39°45'33.6"E) by the Erzincan Beekeepers Association in August 2018 and sent to the laboratory for determination geographical fingerprints. Honeys were obtained from different beekeepers producing *Astragalus* honey in Erzincan. For determination of botanical origin of the samples melissopalynological analyses were carried out by microscopic assay (Louveaux et al. 1978). According to the counting results, the pollen rates were determined, and the rates were dominant pollen (45% and more), secondary pollen (16–44%), minor pollen (3–15%), trace pollen (3% and less).

For determination of antioxidant tests and phenolic analysis in honey, 10 g honey sample was weighed and shaken with 50 ml 70% ethanol into the falcon tube (Heidolph Promax 2020, Schwabach, Germany) for 24 hours at the room temperature. After shaking, the extracts were filtered with a filter paper (Heidolph Promax 2020, Schwabach, Germany) and finally, these were kept in the refrigerator at +4°C until future analysis. Besides phenolic content analysis, all prepared extracts were used to the other antioxidant tests and phenolic analysis.

## Physicochemical Properties

Honeys supplied from different floral origins possess different color parameters. A Hunter spectrophotometer was used to measure the color values of the honeys (C400, Minolta, Osaka, Japan). Hunter L is darkness/lightness (0 black-100 white), *a* is greenness/redness, and *b* is *b* blueness/yellowness (Anupama et al. 2003).

The moisture refractometric values that come from the refractive index were identified by a refractometer (Atago, Tokyo, Japan). The conductivities and optic rotations of the honeys were measured by a conductivity meter (Hanna Instrument, HI 2030-02, Romania) and a polarimeter (BetaPPP7, England), respectively. Proline content was determined with the reaction spectrophotometrically based on ninhydrin (Ough 1969) (Thermo Scientific Evolution™ 201, UV-VIS spectrophotometer, USA).

## Raw Honey Enzymes

Honey enzymes activities of invertase, glucose oxidase and diastase were measured with

spectrophotometric assays (Sahin et al. 2020). Invertase activity of the raw honey samples was determined by using p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (p-NPG) as a substrate in Bogdanov's method (Bogdanov et al. 2002). Glucose oxidase activity was determined by the horseradish peroxidase/o-dianisidine method as previously described by Flanjak et al. (2016). Finally, diastase activity was measured according to Bogdanov et al., (1999)'s protocol.

#### Total Phenolic Content

Total amount of phenolic substance was measured by Folin Ciocalteu method (Singleton and Rossi. 1965, Singleton et al. 1999). This method gives the response to all phenolics including phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, and tannins etc. in the solution. The results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) / 100g by using the intensity of the blue color at 760 nm readings.

#### Total Flavonoid Determination

Determination of total flavonoid substance was applied according to Fukumoto and Mazza (2000)'s procedure. The graph of different concentration of quercetin was performed to express the unit as mg quercetin equivalent (QE)/100 g honey.

#### FRAP Test

This method is based on the reduction of the Fe (III)-TPTZ complex to Fe (II)-TPTZ complex in the presence of the antioxidant substance (Benzie and Strain 1996). Variable concentrations of FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (from 31.25 to 1.000  $\mu$ M) were used as standard. Blue form product was measured at 593 nm.

#### DPPH Radical Cleaning Activity Determination

This test is based on the investigation of the change in absorbance by reducing the purple DPPH radical by an oxidizing antioxidant. Antioxidant activity was given as 50% reduction of initial DPPH concentration expressing the amount of antioxidants spent for the SC<sub>50</sub> (mg/mL) (Molyneux, 2004).

#### Analysis of Phenolic Components by HPLC-UV

The phenolic profile of *Astragalus* honeys was determined by HPLC-UV. For this purpose, an individual calibration curve for each 19 phenolic standards was prepared. Also, the number of samples was determined according to these curve values. Catechin, epicatechin, rutin, daidzein, myricetin, luteolin, hesperetin, chrysin, pinocembrin,

protocatechuic acid, syringic acid, gallic acid, p-OH benzoic acid, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, t-cinnamic acid, caffeic acid phenethyl ester, and resveratrol were used as phenolic standards.

The ethanolic extract was evaporated until dryness with a rotary evaporator at 40°C. The residue was dissolved in 15 mL acidified distilled water (pH 2). Liquid-liquid extraction was carried out with 5 $\times$ 3 mL diethyl ether and 5 $\times$ 3 mL ethyl acetate, consecutively (Kim et al. 2006). Both diethyl ether and ethyl acetate phases were pooled and dried by rotary evaporation (IKA-Werke, Staufen, Germany) at 40°C. The pellet was suspended in 2 mL ethanol, filtered with syringe filters (RC membrane, 0.45  $\mu$ m), and injected to HPLC.

HPLC (EliteLaChrom Hitachi, Japan) with UV detector was used analyzes and conducted reverse phase C<sub>18</sub> column (150 mm x4.6 mm, 5  $\mu$ m; Fortis) and acetonitrile, water and by applying a gradient program with acetic acid was carried out (Malkoç et al. 2019b).

For HPLC analyses, the mobile phase consisted of (A) 2% acetic acid in water and (B) acetonitrile: water (70:30). The sample injection volume was 20  $\mu$ L, the column temperature 30°C and the flow rate 0.75 mL/min. The programmed solvent used began with a linear gradient held at 95% A for 3 min, decreasing to 80% A at 10 min, 60% A at 20 min, 20% A at 30 min and finally 95% A at 50 min. Three injections were used for each sample. All calibration values for phenolic components are between 0.998 and 0.999 (Çakır et al., 2018).

## RESULTS

Physicochemical parameters and melissopalynological analysis of the studied honeys are summarized in Table 1. According to the Hunter Lab values, the average of L value known as the darkness of the honey was determined as 73.40. While the range of "a" value changed from 6.95 to 15.55 (that's meaning was almost greenness degree), "b" value changed from 58 to 78 (that's meaning was almost yellowness degree). Optical rotation values of the honeys were negative; actually, these values could be as the evidence for the blossom honeys. The maximum of HMF level of honeys was observed to be 1.5 mg / kg. The proline values of the studied honeys were 585.5, 694.5 and 640  $\pm$  54.50 mg / kg, respectively (min, max, mean).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 1. Physicochemical analyses of the *Astragalus* honey from Erzincan region.

Tablo 1. Erzincan yöresinin *Astragalus* ballarının fizikokimyasal analizleri.

	min	max	mean	Recommended (IHC / <a href="http://www.ihc-platform.net/publications.html">http://www.ihc-platform.net/publications.html</a> )
pH	4.05	5.30	4.60±0.60	
Moisture	14.20	18.30	16.40±1.36	Max.20
Conductivity (mS/cm)	0.28	0.46	0.34±0.15	Min.0.30
Optic rotation [ $\alpha$ ] <sup>20</sup>	-2,302	-2,88	-2,40	-blossom + dew
Color (Hunter Lab)				
L	71.98	78.80	73.40±3.20	
a	6.94	15.55	8.55±3.08	
b	58	78	64.40±8.60	
HMF (mg/kg)	Not detected	1.50	-	40 mg/kg
Proline (mg/kg)	585.5	694.5	640±54.50	

Table 2 gives the activity of diastase, invertase and glucose oxidase enzymes. The average values of these enzymes were 18±3.80 DU, 152±12.30 U/kg, 3.36±1.22  $\mu$ g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg, respectively.

Table 2. Enzyme activities of the *Astragalus* honey from Erzincan region.

Tablo 2. Erzincan yöresinin *Astragalus* ballarının enzim aktiviteleri.

	min	max	mean
Diastase Unite (DU)	16	24	18±3.80
Invertase (U/kg)	145	164	152±12.30
Glucose oxidase ( $\mu$ g. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /h.g)	3.60	5.40	3.36±1.22

The results of total polyphenol content, total flavonoid content, DPPH and FRAP are given in Table 3. Total polyphenol value was found between 31 and 41 mg GAE/100 g and the mean value was 36.50 mg GAE/100g. Total amount of flavonoid

substance of honey was found as 0.72 mg QE/100 g. DPPH and FRAP analysis results of honey were 146 ± 38 mg / ml (SC50), 204 ± 64  $\mu$ mol FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O / 100 g, respectively.

Table 3. Antioxidant capacity and activity of the *Astragalus* honey from Erzincan region.

Tablo 3. Erzincan yöresinin *Astragalus* ballarının antioksidan kapasitesi ve aktivitesi.

	min	max	mean
Total Phenolic Content, TPC (mg GAE/100 g)	31	41	36.50±4.60
Total Flavonoid, TF (mg QE/100 g)	0.69	0.75	0.72±0.03
Ferric reducing antioxidant power, FRAP ( $\mu$ mol FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O/100 g)	140	268	204±64
DPPH radical scavenging activity (mg/ml)	108	184	146±38



## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Phenolic profile of the honey samples was determined according to the 19 phenolic standards with HPLC-UV method (Malkoç et al., 2019b). The results are given in Table 4. As a result of the phenolic analysis, the major components were chrysin, myricetin, and caffeic acid phenethyl ester.

Luteolin, pinocembrin, cinnamic acid, gallic acid, ferulic acid, and p-coumaric acid followed the major compounds. Besides these current ones, there were some compounds which were below the limits of detection such as catechin, caffeic acid, protocatechuic acid, and rutin.

Table 4. Phenolic profiles analyses with HPLC-UV of the *Astragalus* honey from Erzincan region ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )

Tablo 4. Erzincan yöresinin *Astragalus* ballarının HPLC-UV ile fenolik profil analizleri ( $\mu\text{g} /100\text{g}$ )

<b>Standards</b>		
Detected	Gallic acid	42.20±20.30
	p-Coumaric acid	15.20±3.40
	Ferulic acid	24.30±4.50
	Cinnamic acid	24.00±3.50
	Chrysin	790±240
	Luteolin	465±159
	Myricetin	670±370
	Pinocembrin	320±48
	Caffeic acid phenethyl ester	680±64
	Un detected	Syringic acid
Catechin		-
Epicatechin		-
Caffeic acid		-
Protocatechuic acid		-
Rutin		-
Daidzein		-
Resveratrol		-
Hesperetin		-
p-OH benzoic acid		-

### DISCUSSION

Moisture, pH and conductivity values were found similar to the type of blossom honeys and these were also explained as acceptable limits of the honey codex (Can et al. 2015, Malkoç et al. 2019a). There is a generalization about a light-colored honey class that L value is 50 or higher than 50. Hence *Astragalus* honey is light-colored honey in terms of the L results. When compared with the literature, it was seen that the L value was 88 in acacia honey, 78.5 in lime honey, and 78 in highland honey (Can

et al. 2015). In the same study, the L value of *Astragalus* honey was reported as 74. The color of the honey is an important parameter in the geographical marking of honey, the color, odor, and aroma are the characteristic sensory identity for honey, as well. The *Astragalus* honeys are a relatively light color, actually, have greenness and yellowness.

Many studies have been shown that the optical rotation of honeydew honey such as pine honey, oak honey was positive (Can et al. 2015, Serrano et al.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

2019, Degirmenci et al. 2020). There are many reasons such as the color of honey, the amount of HMF, and the amount of mineral content that are formed by various pigments, polyphenols, and non-enzymatic Maillard reactions (Marcucci, et al. 2019).

There are studies showing the relationship between the polyphenol content and the darkness of the honey (Can et al. 2015). Chestnut honey, heather honey, and oak honey are dark honeys, their total polyphenol contents are approximately 100 mg GAE/100 g and their Hunter L values are below 50. The proline value of honey is a crucial quality parameter for honey, and it expresses its purity. The average proline value in *Astragalus* honeys was 680 mg/kg, and it was found to be higher than many honeys.

HMF is a Maillard reaction product, responsible for the freshness of honey and whether it is subjected to heat treatment. The low HMF value indicates that honey is a raw and/or a fresh honey (Turkut et al. 2018).

HMF is low in fresh honey. Prolonged storage or exposure to high temperatures increases the level of HMF. Studies have shown that the half-life of diastase activity decreases while the HMF level increases (Korkmaz and Küplülü 2017). The number of diastase enzyme that responsible for the hydrolysis of sugar in honey is at least 8 (Türk Gıda Kodeksi 2020). During the transfer of nectar from bee to bee, enzyme content increases. For this reason, diastasis level may change depending on the nectar source and colony (Can et al. 2015). Compared with different honeys, the diastase activity of *Astragalus* honey is significantly high and the HMF value is low, revealing the value of honey.

Some of the important properties to distinguish honey from other sweet products (jam syrup, etc.) are some enzymes in the honey. Diastase, invertase, and glucose oxidase are the main honey enzymes for honey. These values can be different in fresh and old honeys and these can affect with heating treatment. Especially, pasteurized honeys have almost low activity of diastase and invertase due to having heating treatment. Briefly, the high diastase and invertase activities imply that honey is raw honey that does not heat (Sahin et al. 2020). Unlike invertase and diastase activities, low glucose oxidase activity indicates high-quality raw honey (Bankar et al. 2009, Kamboj et al. 2019).

When compared with dark-colored flower honeys, *Astragalus* honey that does not have high polyphenol content and flavonoid content is a light-colored blossom species (Can et al. 2015, Heidari et al. 2013). Moreover, antioxidant capacity analyzes also show that *Astragalus* honeys have a moderate degree with comparison to other flower honeys. It cannot be inferred the means that *Astragalus* honey is worthless. (Marcucci et al. 2019, Degirmenci et al. 2020). Phenolics may vary depending on the geography of honey from which is obtained and type. Researchers say that honey is a valuable product for geographical markings (Sautier et al. 2018). *Astragalus* honey can have a strong potential to reveal its geographic fingerprint thanks to its characteristic phenolic components just like our investigation.

Gallic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, cinnamic acid, chrysin, luteolin, myricetin, pinocembrin, caffeic acid phenethyl ester were observed in the examined *Astragalus* honeys. Chrysin, myricetin, caffeic acid phenethyl ester phenolics have been found to be major components. Syringic acid, catechin, epicatechin, caffeic acid, protocatechuic acid, rutin, daidzein, resveratrol, hesperetin and p-OH benzoic acid components were not found in *Astragalus* honey. The phenolic content of a honey is not only dependent on vegetation, but also importantly on the geographical location where honey is produced (Can et al. 2015, Mendes et al. 1998). The quality of honey cannot be fully understood by looking at the honey communiqué. In addition, the amount and composition of polyphenols are important in determining the quality.

### CONCLUSION

Depending on the flora types, some differentiation in antioxidant capacity, physical properties, and enzyme inhibition properties of honey can be seen. Our study gives information about the geographic fingerprint of *Astragalus* honey obtained from Erzincan region. By determining the geographic fingerprint of a product, different features of the region such as geological, phytogeographical and climate can be emphasized. Having some different phenolic compounds and strong enzymatic capacity, *Astragalus* honeys supplied from Erzincan region have a claim to take a geographical fingerprint.

**ACKNOWLEDGMENTS**

We would like to thank the Erzincan Beekeepers Association Union and its head, Dear Rahmi ÖZENDİ, for leading this study and contributing to the collection of honey samples.

**REFERENCES**

- Adams, C.J., Manley-Harris, M., Molan, P.C. (2009). The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate Research*, 344(8), 1050-1053.
- Alparslan, Ö.S., Demirbaş, N. (2019) Avrupa Birliği ve Türkiye'de Bal Üretim ve Ticareti Açısından Coğrafi İşaret Uygulamalarının Değerlendirilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(3), 526-538.
- Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003). Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food research international*, 36(2), 183-191.
- Bankar, S.B., Bule, M.V., Singhal, R.S., Ananthanarayan, L. (2009). Glucose oxidase—an overview. *Biotechnology Advances*, 27(4), 489-501.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., et al. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lüllmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld*.
- Bonaga, G., Giumanini, A. G., & Gliozzi, G. (1986). Chemical composition of chestnut honey: analysis of the hydrocarbon fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(2), 319-326.
- Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Akyuz Turumtay, E., Silici, S., Kolaylı, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133-141.
- Cavazza, A., Corradini, C., Musci, M., Salvadeo, P. (2013). High-performance liquid chromatographic phenolic compound fingerprint for authenticity assessment of honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5), 1169-1175.
- Cavrar, S., Yıldız, O., Şahin, H., Karahalil, F., Kolaylı, S. (2013). Comparison of physical and biochemical characteristics of different quality of Turkish honey. *Uludağ Bee Journal*, 13(2).
- Çakir, H.E., Şirin, Y., Kolaylı, S., Can, Z. (2018). Validation methods for phenolic components with RP-HPLC-UV in various bee products. *Apiterapi ve Doğa Dergisi*, 1(1), 13-19.
- Degirmenci, A., Can, Z., Boyracı, G.M., Yıldız, O., Asadov, E., Kolaylı, S. (2020). Honeys from some different regions of Azerbaijan: bioactive characteristics based on phenolic profile and antioxidant activity. *Journal of Apicultural Research*, 1-8.
- Dinca, O.R., Ionete, R.E., Popescu, R., Costinel, D., Radu, G.L. (2015). Geographical and botanical origin discrimination of Romanian honey using complex stable isotope data and chemometrics. *Food analytical methods*, 8(2), 401-412.
- Flanjak, I., Strelec, I., Kenjerić, D., Primorac, L. (2016). Croatian produced unifloral honey characterized according to the protein and proline content and enzyme activities. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 39-48.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- Gazete, T. R. (2020). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği. Tebliğ no: 2020, 7.
- Gürbüz, S., Çelikel Güngör, A. (2018). Coğrafi İşaret Tescil Belgesi Almış Balların Genel ve ayırt Edici Özellikleri, Anadolu I. Uluslararası Multidisipliner Çalışmalar Kongresi, 28-29 Aralık 2018, Diyarbakır, 686-690.
- Heidari, T., Roozbahani, N., Farahani, L. A., Attarha, M., Torkestani, N. A., Jamilian, M., Bekhradi, R. (2013). Does Iranian *Astragalus gossypinus* honey assist in healing caesarean wounds and scars? *European Journal of Integrative Medicine*, 5(3), 226-233.
- Kamal, M.A., Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(1), 17-21.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Kamboj, R., Sandhu, R.S., Kaler, R.S.S., Bera, M. B., Nanda, V. (2019). Optimization of process parameters on hydroxymethylfurfural content, diastase and invertase activity of coriander honey. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3205-3214.
- Kaygusuz, H., Tezcan, F., Erim, F.B., Yildiz, O., Sahin, H., Can, Z., Kolayli, S. (2016). Characterization of Anatolian honeys based on minerals, bioactive components and principal component analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 273-279.
- Kim, K. H., Tsao, R., Yang, R., & Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95(3), 466-473.
- Korkmaz, S.D., Küplülü, Ö. (2017). Effects of storage temperature on HMF and diastase activity of strained honeys. *Ankara Üniversitesi Veteriner Dergisi*, 64:281-287
- Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee world*, 59(4), 139-157.
- Malkoç, M., Çakır, H., Kara, Y., Can, Z., Kolaylı, S. (2019b). Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer honey from black sea region of Turkey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(2): 143-151.
- Malkoç, M., Kara, Y., Özkök, A., Ertürk, Ö., Kolaylı, S. (2019a). Karaçalı (Paliurus spina-christi Mill.) balının karakteristik özellikleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(1), 69-81.
- Marcucci, M. C., Toledo, D. B., Christine, A. et al. (2019). Quality control parameters, antioxidant activity and chemometrics of Brazilian honey. *Electronic Journal of Biology*, 15(1), 010-19.
- Mendes, E., Brojo Proença, E., Ferreira, IMPLVO., Ferreira, MA. (1998). Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydrate Polymers*, 37(3), 219-223.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Ough, C.S. (1969). Rapid determination of proline in grapes and wines. *Journal of Food Science*, 34(3), 228-230.
- Pinar, M., Ekici, M., Aytaç, Z., Akan, H., Çeter, T., Alan, Ş. (2009). Pollen morphology of *Astragalus L. sect. Onobrychoidei DC.* (Fabaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 33(4), 291-303.
- Sahin, H., Kolayli, S., Beykaya, M. (2020). Investigation of Variations of Invertase and Glucose Oxidase Degrees against Heating and Timing Options in Raw Honeys. *Journal of Chemistry*, 2020.
- Sautier, D., Mengistie Alemu, G., Tibebe Degefie, D. (2018). Honey and geographical indications: Why is honey a good pilot product for the implementation of Geographical Indications labeling in Ethiopia? Apimondia Symposium, Addis-Ababa. Ethiopia. Nov 30-Dec 4 2018.
- Serrano, S., Rodríguez, I., Moreno, R., Rincón, F. (2019). Detection of key factors affecting specific optical rotation determination in honey. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 574-580.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- Turkut, G.M., Degirmenci, A., Yildiz, O., Can, Z., Cavarar, S., Karahalil, F.Y., Kolayli, S. (2018). Investigating 5-hydroxymethylfurfural formation kinetic and antioxidant activity in heat treated honey from different floral sources. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2358-2365.
- Wang, J., Kliks, M.M., Qu, W., Jun, S., Shi, G., Li, Q.X. (2009). Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(21), 10081-10088.



## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# FORAGING PERFORMANCE OF HONEYBEE (*APIS MELLIFERA*) AFFECTED BY FOOD RICHNESS AND EXPERIENCE

## Gıda Zenginliği ve Deneyiminden Etkilenen Bal Arısının (*Apis mellifera*) Yayılma Performansı

Muhammad Zahid SHARIF<sup>1</sup>, Renjie XUE<sup>2</sup>, Sabah Mushtaq PUSWAL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Technical Biology and Agriculture Engineering, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei, 230031, P.R. CHINA; University of Science and Technology of China, Hefei, 230026, P.R. CHINA, ORCID No: 0000-0002-8980-8713, E-mail: zahident@mail.ustc.edu.cn

<sup>2</sup>Institute of Technical Biology and Agriculture Engineering, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei, 230031, P.R. CHINA; University of Science and Technology of China, Hefei, 230026, P.R. CHINA, ORCID No: 0000-0002-6548-0793, E-mail: baidatu124@gmail.com

<sup>3</sup>Institute of Technical Biology and Agriculture Engineering, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei, 230031, P.R. CHINA; University of Science and Technology of China, Hefei, 230026, P.R. CHINA, ORCID No:0000-0002-9552-344X, E-mail: sabah@mail.ustc.edu.cn

Geliş Tarihi / Received: 05.07.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 29.08.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.764307

### ABSTRACT

For honeybees (*Apis mellifera*), food richness and experience have significant impacts on making foraging decisions. Bees that trace food-rich source they start establishing spatiotemporal memories, which assist them in revisit the particular site on following days. The present study explored whether different levels of food richness (10%, 30%, and 50% sugar solution, and unrewarding situation) at a feeding source affect the number of forager bees for their visitation and how the previous experiences affect bees for their foraging duration. More bees persist visiting food-rich sources. However, the diminution in food richness consequence a gradual decline in the number of bees, but they persistently visiting feeding sites for several days, even if unrewarded with food-rich sources. Regardless of comparison with the bees visiting a low sugar solution, the number of bees visiting higher sugar solution decreases with the time. The foraging efficiency of bees in terms of trip duration also increased with the experiences of previous visits. In conclusion, bees exhibit considerable attachment with experienced feeding sites that stop providing food anymore, and the duration of the foraging trip decreases with the experience (19 to 2 min one-way trip for 251 m distance). We, in our current findings, confer the implications for future investigation on the research gap concerning the altering foraging situations.

**Keywords:** *Apis mellifera*, Population Dynamics, Foraging Behavior, Food and Experience

### ÖZ

Bal arıları (*Apis mellifera*) için, besin zenginliği ve deneyimi, yiyecek arama kararlarında önemli etkilere sahiptir. Besin açısından zengin kaynağın izini süren arılar, sonraki günlerde belirli bölgeyi yeniden ziyaret etmelerine yardımcı olan mekansal-zamansal anılar oluşturmaya başlarlar. Bu çalışma, bir besleme kaynağındaki farklı seviyelerde gıda zenginliğinin (%10, %30 ve %50 şeker çözeltisi ve ödüksüz durum) ziyaretleri için yayılmacı arı sayısını etkileyip etkilemediğini ve önceki deneyimlerin arıları yiyecek aramaları için nasıl etkilediğini araştırıldı. Daha fazla arı, besin açısından zengin kaynakları ziyaret etmeye devam etmektedir. Bununla birlikte, besin zenginliğindeki azalma, arı sayısında kademeli bir düşüşe neden olur, ancak onlar, besin açısından zengin kaynaklarla

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

ödüllendirilmemiş olsalar bile, birkaç gün boyunca beslenme alanlarını ısrarla ziyaret ederler. Düşük şekerli bir solüsyonu ziyaret eden arılarla karşılaştırılmasa da daha yüksek şekerli solüsyonu ziyaret eden arıların sayısı zamanla azalır. Arıların gezi süresi açısından yiyecek arama etkinliği de önceki ziyaretlerin deneyimleriyle artmıştır. Sonuç olarak, arılar artık yiyecek sağlamayı bırakan deneyimli beslenme alanları ile hatırı sayılır bir bağlanma sergilerler ve besin arama gezisinin süresi deneyimle birlikte azalır (251 m mesafe için 19 ila 2 dakika tek yön yolculuk). Mevcut bulgularımızda, değişen besin arama durumlarıyla ilgili araştırma boşluğuna ilişkin gelecekteki araştırmalar için çıkarımlar sunmaktayız.

**Anahtar kelimeler:** *Apis mellifera*, Populasyon Dinamiği, Yayılma Davranışı, Gıda ve Deneyim

### GENİŞLETİLMİŞ ÖZET:

**Çalışmanın amacı:** Araştırmamızın temel amacı, bir beslenme kaynağındaki farklı gıda zenginliği düzeylerinin veya ödüllerin, koşullar ödüksüz duruma geçtikten sonra bu yeri ziyaret edecek yayılmacı arıların sayısını etkileyip etkilemediğini araştırmaktır.

### Gereç ve Yöntemler

Yeni çıkan arılar göğüs kısmında kırmızı, beyaz ve yeşil renkli organik etiketleme reçenesi kullanılarak işaretlendi ve sabitlendi (Honig Müngersdorff; Scheiner v.d. 2013). Etiketleri doğru bir şekilde ayarlamak için, her arının kovana girmeden önce kısa bir süre serbestçe hareket etmesine izin verildi.

Etiketlemeden sonra, etiketli arılar bir şişeye toplandı, şeker solüsyonu püskürtüldü ve video ile izlenen bir arı kovanına sokuldu. Arılara şeker solüsyonu yaymanın amacı, yeni arıları istilacı olarak düşündükleri için koloninin saldırısına uğramalarını önlemektir. Arılar vücutlarında şeker solüsyonu içeriyorsa, yaşlı arılar yeni arıların besin kaynağı hakkında bilgi sahibi olduğunu varsayarlar, dolayısıyla onlara saldırmazlar; bunun yerine yapılan sallanma danslarını izler ve besin alış veriş etkileşimini artırır (Diaz v.d. 2007).

Başlangıçta, arılar kovandan besleyici A [FA] 'ya yaklaşık bir hafta boyunca eğitildi (yaklaşık 30-50 arı). Güneş istikamet açısı dikkate alınarak FA, kovandan 251 metre uzaklıkta konumlandırıldı. Arılara besleyicide %30-50 şeker solüsyonu verildi. Eğitim tamamlandıktan sonra, belirli bir süre içindeki yiyecek arama gezileri sayısı için etiketli arıları kaydedildi. Besleyicilere eşit, farklı şekillerde şeker solüsyonları veya şekerli su verildi yayılmacı arılar test edilerek ve ziyaretleri kaydedildi.

Yukarıda belirtilen durumların sağlanması sırasında, etiketli arılar tespit edildi (kimlik numaraları aracılığıyla). Belli bir besleyiciyi belirli bir dönemde (her 10 dakikada bir) ziyaret eden arıların sayısını ve

her iki besleyicide de geliş zamanlarını not edildi. Ayrıca, her iki besleyicideki her koşul için veriler 1 saatlik bir süre boyunca toplandı.

FA ve FB'nin yanı sıra, izleme sisteminden ve arı kovanının çıkış-giriş kapısından arı verileri not edildi. (a) etiketli arıların kimliği, (b) arının kovana kapısına geliş zamanı ve (c) arının kovandan ayrılış saati gibi bilgileri kaydedildi. Tüm veriler sabah ve akşam saatlerinde toplandı.

### Sonuç

Bu çalışmada bir beslenme kaynağındaki farklı seviyelerde besin zenginliğinin (%10, %30 ve %50 şeker çözeltisi ve ödüksüz durum) ziyaretleri için yayılmacı arı sayısını etkileyip etkilemediğini ve önceki deneyimlerin arıların yiyecek aramaları için nasıl etkilediğini araştırıldı. Daha fazla arı, besin açısından zengin kaynakları ziyaret etmeye devam etti. Ancak düşük şekerli bir solüsyonu ziyaret eden arılarla karşılaştırılmasa da, daha yüksek şekerli solüsyonu ziyaret eden arıların sayısı zamanla azaldı. Bununla birlikte, besin zenginliğindeki azalma, arıların sayısında kademeli bir düşüşe neden oldu, ancak gıda bakımından zengin kaynaklarla ödüllendirilmese bile, birkaç gün boyunca beslenme alanlarını ısrarla ziyaret ettiler. Arıların gezi süresi açısından yiyecek arama etkinliği de önceki ziyaretlerin deneyimleriyle arttı. Sonuç olarak, arılar artık besin sağlamayı bırakan deneyimli beslenme alanları ile hatırı sayılır bir bağlanma sergilediler ve bu deneyimle birlikte yiyecek arama gezisinin süresi azaldı.

Yayılmacı arılar besin açısından zengin kaynaklar sunan beslenme alanlarını ziyaret etmeye devam ettiler. Aynı zamanda, gıda zenginliğinin azalmasıyla, o beslenme alanını ziyaret eden yayılmacı arı sayısı da azaldı. Yine de dikkate değer olan şey, yayılmacı arılar yiyecek bakımından zengin kaynaklarla ödüllendirilmese bile, yiyecek arama gezilerine birkaç gün devam etmeleridir.

Bu çalışma, arıcılara, arı kovanlarının maksimum bal verimi elde etmek için artırılmış bir nektar seviyesine göre bölge değiştirmede karar vermelerini ve aynı zamanda daha etkili tozlaşma için bölgede bitki örtüsü modelini belirlemeye karar vermelerini önermektedir. Ayrıca sonuçlar, seyahat süresi açısından arıların yiyecek arama etkinliğinin önceki ziyaretlerin deneyimleriyle artacağını ortaya koymaktadır. Son olarak, mevcut çalışma, günün saati ile arı kovani dışında (yiyecek arama) harcanan zaman oranını karşılaştırıp karşılaştıramayacağımız konusunda gelecekte bir araştırma yapılmasını önermektedir.

### INTRODUCTION

Foraging in animals is performed in a dynamic environment where accessibility of food is neither exclusively predictable nor random in time or space (Mobus and Fisher 1999). It is eminent that animals usually revisit the previous food sources (i.e., experienced food sources) and give up those who become unrewarding (Van Gils et al. 2003). For example, bumblebees (*Bombus impatiens*) stop visiting depleted food sources to search for the alternative rich food sources, and they do it more rapidly than honeybees (Townsend-Mehler et al. 2011). Social insects do not attach blindly to merely one approach. If experienced insect foragers are unrewarded from their known food sources, they continue following social location information for unknown but rewarding food sources and quit tracking the private location information (Grüter and Ratnieks 2011, Smolla et al. 2016).

The dynamics in the bee population at a particular floral cover depend on richness at the feeding site (Seeley 1995). The handling period of the flowers varied among the Turkish honeybee subspecies (i.e., *Apis mellifera caucasica*, *A. m. carnica*, and *A.m. syriaca*) and amplified with the presence of a particular quantity of the reward. Moreover, foragers of the subspecies mentioned above had a more significant net gain when looking in on flowers with consistent rewards (Cakmak et al. 2010, 2001). That is why honeybee colonies make decisions for their rates of recruitments as well as abandonment to feeding sites relying on the energy input (i.e., richness level) found at feeding source (Seeley et al. 1991). Similar information was described by Fernández et al. (2003) that the activation in the proportion of honeybee foragers depends on the rate of reward offered to them. Those honeybee foragers

that trace a rich food source they rapidly learn spatiotemporal memories, which permit them to trip back to this particular site on the following days. Bees also exhibit significant persistence at the feeding site that quit proving rewards. Moreover, the decision to stop visiting that feeding site relies on the food richness the forager experienced while the site was rewarding (Toufailla et al. 2013). There is also another view by some researchers that honeybees again return to previously experienced food sites even after these having no reward anymore (Grüter and Ratnieks 2011, Moore et al. 2011). Similarly, another research finding articulates that experienced honeybees (*A. mellifera* L.) can retreat to previous profitable food sites after the time of short-term scarcity caused by unfavorable weather. According to these findings, activation of the experienced foragers to revisit the past-profitable food sites were performed due to the food scents brought back to the colony by other foragers (Beekman 2005).

Foraging performance and the frequency of trips enhance through the experience (Klein et al., 2019). Dukas (2008) and Schippers and M.-P. (2006) also endorsed the view which describes that the progress in the performance of honeybee foraging results with the experience. No doubt, the animals that travel to multiple foraging sites they have to face some hurdles in finding an exact route. But as they (i.e., bumble bees) learn about the shortcut paths with experience, their flight duration and distance become reduced (Woodgate et al. 2017). Studies mentioned above have stated that the foraging efficiency of bees enhances with the foraging experience. Still, no literature is found anywhere about the exact duration required for each trip with enhancing experience in honeybees (*A. mellifera*). That is why we tested how the trip duration changes with different days of experience. We reconfirmed it in *A. mellifera* along with the exact period of the foraging trips for a particular distance and remained successful in obtaining similar results (decrease in trip duration with experience) in our current investigation.

One of the primary aims of this study was to explore whether or not the different levels of food richness or rewards at a feeding source affect the number of *Apis mellifera* foragers to visit food source site once the conditions are switched to unrewarding. Moreover, another aim was to see how the previous foraging trip experiences affect foragers in their foraging duration and number of foraging trips. Regarding our first aim, we hypothesized that the

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

switching of conditions from high to low level of food richness at an experienced feeding site would result in a gradual reduction in the number of visits performed by forager bees. Moreover, concerning our second aim, we predicted that the foraging efficiency of bees would increase (i.e., decrease in trip duration) with the experiences of the previous visits.

### MATERIALS AND METHODS

#### Obtaining newly emerged bees, and their labeling

Honeybee brood frame was obtained from the apiary of the Silkworm & Bee Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences. Newly emerged bees were collected in a bowl/container. After that, we started labeling bees with number tags on their thoracic part. Note that the number tags were in three different colors: red, white, and green, and were fixed on bees by using organic tagging resin designated as Shellac (Honig Müngersdorff; Scheiner et al. 2013). To correctly set the tags, each bee was allowed to move freely for a short time before their introduction within the beehive.

#### Introduction of tagged bees within the beehive

After tagging, the bees were collected in a bottle that was widely opened from its back and had a narrow circular hole where it can be screwed up with its lid. The sugar solution was sprayed on the bees collected in that bottle via its opened portion. Later, bees were introduced within a video-monitored beehive. The introduction of bees was done through a pipe connected between a bottle's holes and the central beehive monitoring system (Fig. 1). The purpose of spreading sugar solution on bees was to prevent them from being attacked by the colony as they think new bees as invaders. If bees contain sugar solution on their body, then old bees assume that the new bees have information about the food source, hence don't attack them; instead, follow waggle dances and increase trophallaxes interaction (Diaz et al. 2007).

#### Training and feeding of bees on Feeder A

In the beginning, bees were trained (about 30-50 bees) from beehive (N: 23.52608°; E: 103.39670°) to the feeder A [FA] (N: 23.525457°; E: 103.39908°) for about a week. Considering the effect of solar azimuth, FA was positioned (Fig.1) at a distance of

251 meters from the beehive. Bees were provided with a 30-50% sugar solution on the feeder. To allow the colony's bees to feed on solutions, firstly, we put the feeder close to the main hive. Some of the forager bees from the colony were picked and fed them sitting close to the feeder. Subsequently, we went on relocating the feeder from one point to another for training the bees to a distance of 251 meters. Once the training was accomplished, we started registering tagged bees for their number of foraging trips within a particular time.

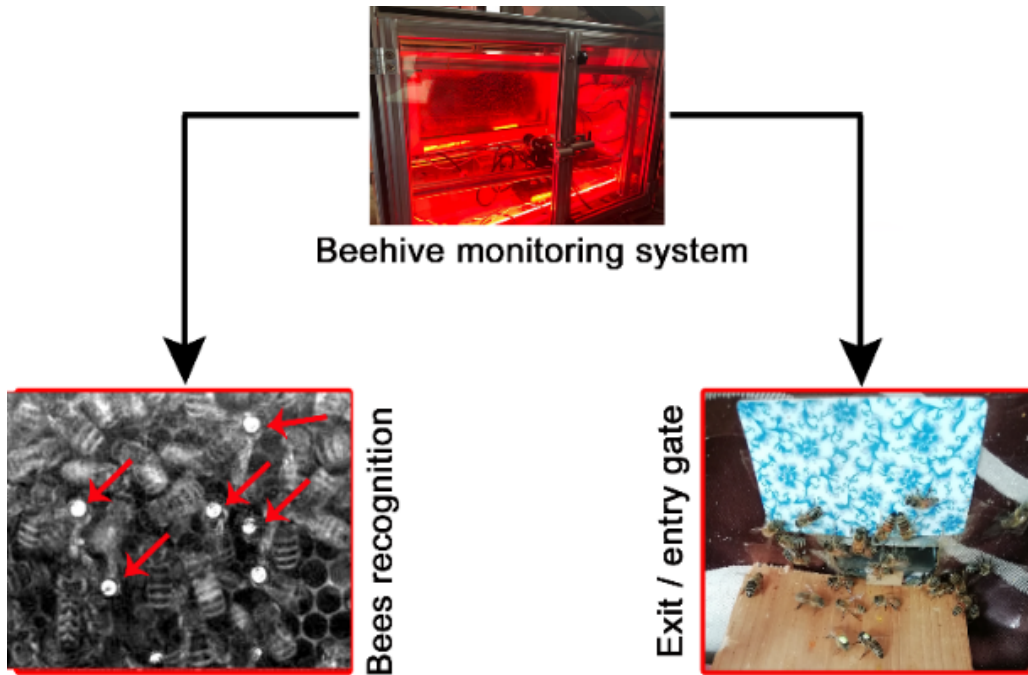
#### Installation of Feeder B, and data collection

Feeder B was installed (N: 23.525295°; E: 103.39903°) (Fig. 2) nearby FA. Multiple situations on both feeders were provided. For the first situation, FA was supplied with a 30% sugar solution at the first session. In comparison, 50% of this solution at another session. For the second situation, both the feeders (FA & FB) were provided with 50% of the sugar solution at the same time. For the third situation, FA & FB were supplied with 30% and 50% of the sugar solutions, respectively. Moreover, for the fourth situation, FA was provided with a 30% sugar solution, and FB was supplied with a 50% sugar solution + 100% pure anise seed essential oil scent (Phutawan: Thailand). In the case of the fifth situation, FA was provided with a 10% sugar solution, and FB was supplied with a 50% sugar solution. Lastly, in the sixth situation, FA was unrewarded with a sugar solution (containing merely pure water), while FB was provided with the same concentration (50%) of the sugar solution.

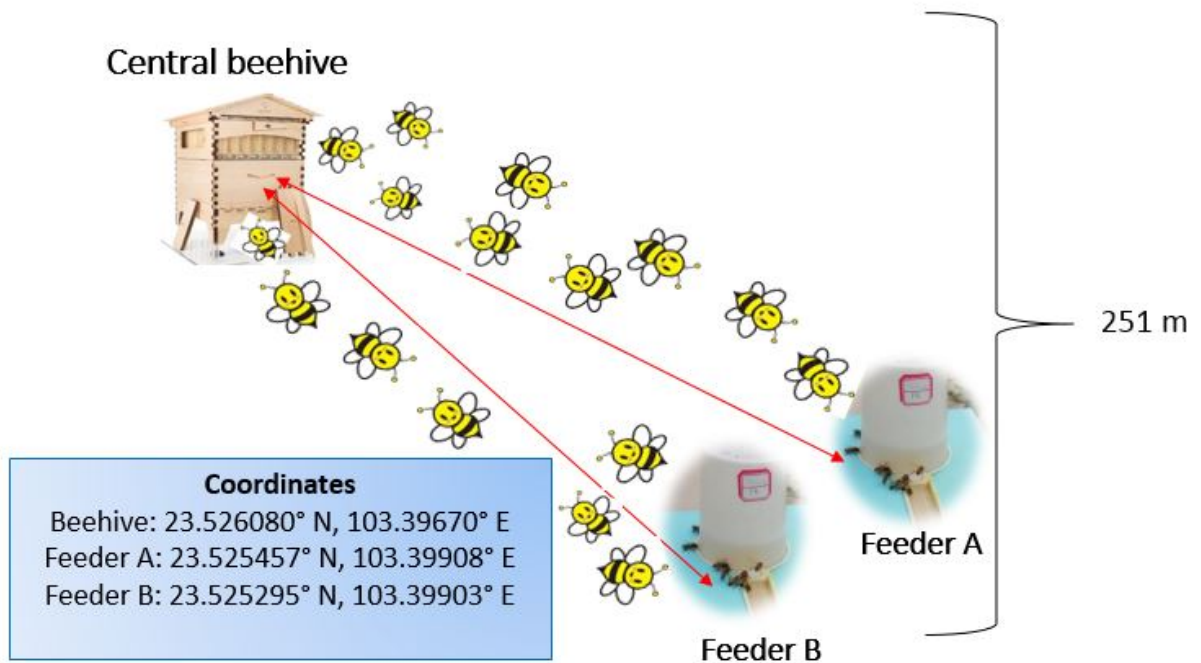
During the provision of situations mentioned above, labeled bees were identified (via their ID numbers). We noted the number of bees visited a particular feeder at a certain period (within every 10 min.) and their time of arrival on both the feeders. Note that data with three replications of each situation, as mentioned earlier, were determined. Moreover, data for each condition on both feeders were collected for a 1-hour duration.

#### Data collection from the central beehive

Besides FA and FB, data of bees were noted from the monitoring system and on the exit-entry gate (Fig. 1) of the beehive. We registered the information like (a) identification of tagged bees, (b) time of the bee's arrival on the beehive gate, and (c) time of the bee's departure from the beehive. All the data were collected for an hour duration for morning and evening time.



**Figure 1: Monitoring system for recognition of labeled bees.** Red arrows are directing toward the tagged bees that were video recorded within the beehive. In contrast, the departure and arrival of forager bees were noted on the exit/entry gate of the beehive.



**Figure 2:** Schematic illustration presenting the directional arrangement of beehive and feeding sites (FA and FB).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

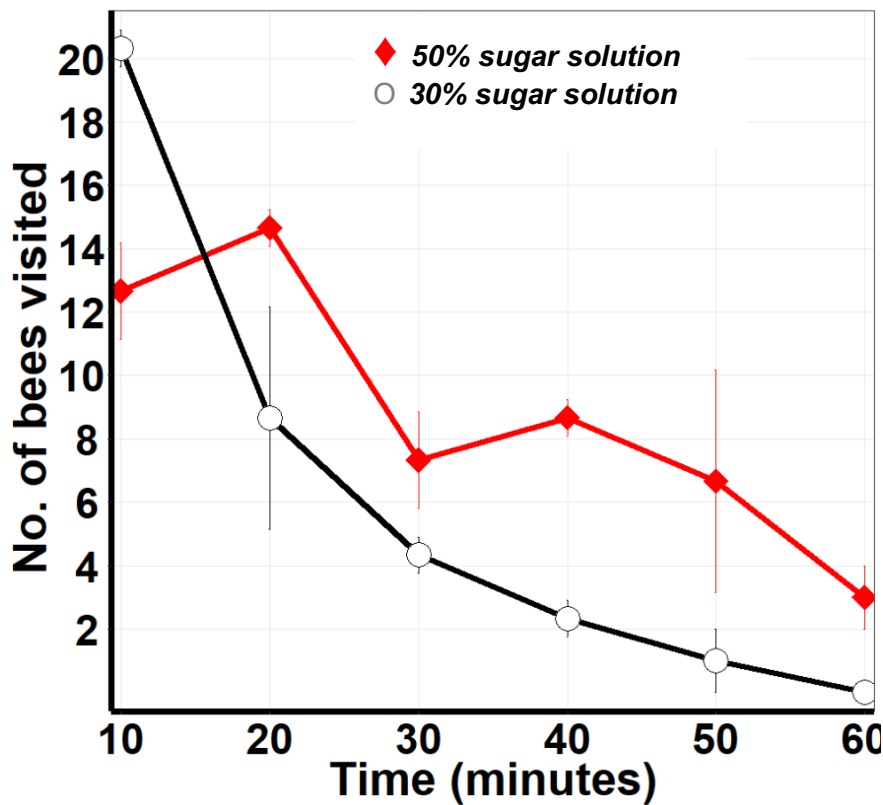
### Data analysis

Data were analyzed to check the foraging behavior of bees against the effect of food richness (10-50%) by using One-Way Repeated Measure ANOVA. While the comparisons were tested using the Generalized Linear Model (GLM). Besides, to test the effect of experience on honeybee foraging trips (i.e., duration), we calculated the time difference of bee trips between the feeders and the central beehive. All the statistical data were analyzed by R version 3.5.3 (R Development Core Team 2003).

### RESULTS

#### Levels of food-richness effect on bee's foraging

In the first experiment, even with little variability in the first 15 minutes, the activity of forager bees fed on a 50% sugar solution remained higher than bees fed on a 30% sugar solution (Fig. 3). Foraging action was found increasing with an increased level of food richness. ANOVA showed a significant overall treatment effect on foragers fed on levels of food richness ( $df = 1$ ;  $F = 7.07$ ; bees with food richness ( $F = p = 0.0120$ ). Moreover, the number of foragers bees with time also shown significant effect (bees with time ( $T = F = 89.1$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.01$ ; Fig. 3). Regardless of comparison with the number of bees visiting a 30% sugar solution, the bees visiting a 50% sugar solution decreased with the time (Fig. 3).



**Figure 3: Variations in the number of bees visiting FA (containing different levels of food richness) at different time intervals:** Redline in the graph is showing variation in the number of bees at 50% sugar solution, while the black line is showing this variation at 30% sugar solution.

In the second experiment, the data we took from both the feeders with the same concentration of sugar solution (50%) showed that the number of bees visiting FA versus those visiting FB increased in the first half an hour but then started decreasing from about 35 to 60 min. The overall effect of food richness on bees was highly significant ( $df = 1$ ;  $F = 14.6$ ;  $p = 0.00$ ; Fig. 4a). Regarding our third experiment, the overall treatment effect of food richness on forager bees was highly significant ( $df = 1$ ;  $F = 84.4$ ;  $p < 0.001$ ; Fig. 4b). The variation in the number of bees with the time was also calculated as highly significant ( $df = 1$ ;  $F = 7.59$ ;  $p < 0.01$ ; Fig. 4b). But, with both the food-richness and the time, this variation was calculated as non-significant ( $df = 32$ ;  $F = 1.90$ ;  $F: T = p = 0.18$ ; Fig. 4b).

In our fourth experiment, it was interesting to observe that more number of forager bees visited less experienced feeder "FB" for the first 15 minutes. But, after this duration, a gradual increase in the number of bees at FA was noticed, which may be due to the effect of anise seed oil scent, which was added with sugar solution offered at feeder B. Moreover, statistical calculations for bees exhibited a highly significant impact with the levels of food richness ( $df = 1$ ;  $F = 3.40$ ;  $p = 0.00$ ; Fig. 4c), while non-significant effect with the time ( $df = 1$ ;  $F = 3.40$ ;  $p = 0.08$ ; Fig. 4c).

The situation we provided in our fifth experiment (10% sugar solution at FA, and 50% at the FB) yielded different results. Overall results of the given situation exhibited that even a decrease in the concentration of sugar solution could not decrease the number of bees at FA as compare to FB, offering a more concentrated sugar solution. Analysis showed non-significant overall effects on foragers with the food richness ( $df = 1$ ;  $F = 0.00$ ;  $p = 0.95$ ; Fig. 4d), time ( $df = 1$ ;  $F = 0.60$ ;  $p = 0.40$ ; Fig. 4d) as well as between both ( $df = 1$ ;  $F = 1.80$ ;  $F: T = p = 0.20$ ; Fig. 4d).

In the sixth and last experiment, it was the first time when we observed that there were significantly fewer bees visiting FA. Still, a significant upsurge in the number of bees was noted at FB during the whole period of the experiment. Hopefully, this shift was due to non-rewarding situations at FA with the fact that when the bees face such cases, they start looking for other profitable food options. Also, the statistical values for the number of bees concerning food richness and time presented higher significance ( $df = 1$ ;  $F = 13.10$ ;  $p < 0.001$ ; Fig. 4e).

#### **Foraging performance increases with experience**

Regarding the effect of experience on honeybee foraging duration, we found exciting results (Table 1). In the initial days of the experiment, foragers exhibited a long period to complete a one-way trip between hive to feeders. But with the time (as they got some experience of food source locations: i.e., FA & FB), the duration of one-way foraging trip of forager bees were started decreasing gradually (Fig. 5). For example, trips of a forager bee (ID no. Red82) were noted on days 1, 5, and 6, the probable duration of each one-way trip for this forager was 19, 5, and 3 minutes respectively. Moreover, the gradual decrease in time of foraging trips was also noticed in another active forager (ID no. Red 53), the probable duration of each trip for day 1-, 2-, and 3- were 19 & 12, 11, and 2 minutes respectively. Some other foragers that visited feeders multiple times in different days also showed a similar decreasing pattern in foraging duration (Table 1). And those foragers that we could recognize merely one time on a feeder they also covered their trips within less time as compare to those foragers that visited in previous days. Statistical analysis confirmed that the decrease in trip time with the experience is highly significant ( $df$  (between days) = 4;  $df$  (within days) = 25;  $F = 6.24$ ;  $p = 0.001$ ; Fig. 5).



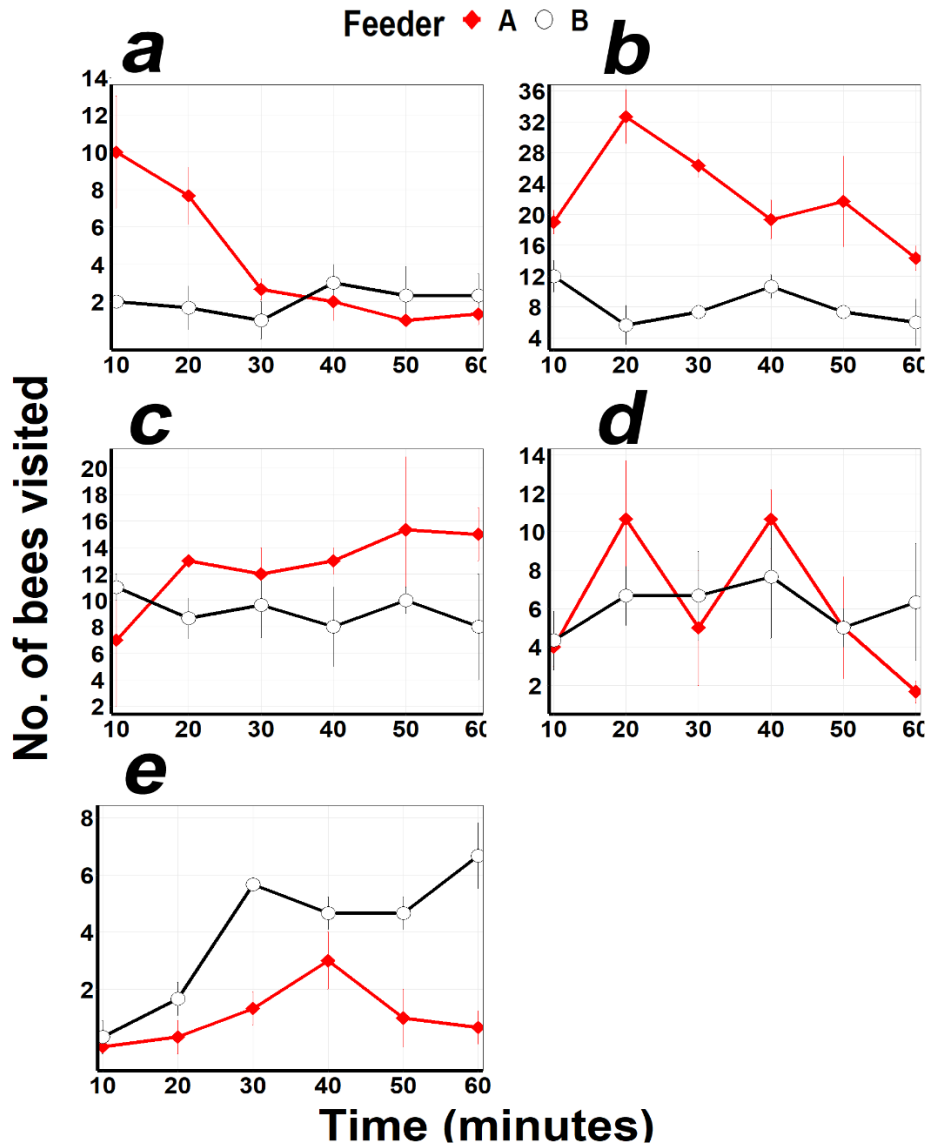
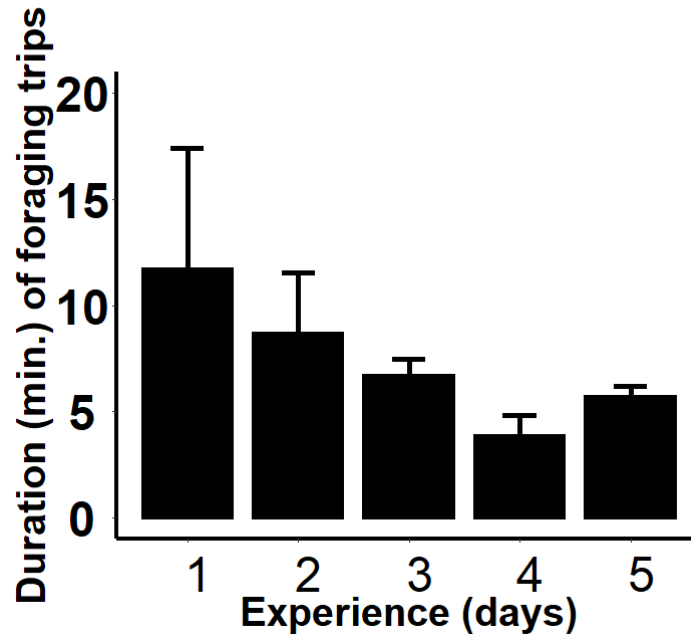


Figure 4: Graphs exhibiting variations in the number of bee foragers visiting FA ( ♦ ) and FB ( ○ ) (containing multiple levels of food richness) at different time intervals: a) FA and FB both offering 50% sugar solution. b) FA and FB are offering 30% and 50% sugar solutions, respectively. c) FA offering 30% sugar solution, while FB is offering a 50% sugar solution + anise seed oil scent. d) FA and FB are offering 10% and 50% sugar solutions, respectively. e) FA and FB are offering unrewarding conditions (merely water) and a 50% sugar solution, respectively.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

**Table 1:** Fluctuations in foraging of bees with the experience: data exhibit the duration of one-way foraging trip (between hive and feeders) of some bees in different days

Days	Bee IDs	Time of arrival on FA (00:00 am/pm)	Time of arrival on FB (00:00 am/pm)	Depart from hive's exit/entry gate	Arrival on hive's exit/entry gate	Probable duration (min.) for a one-way foraging trip
1	Red 82	10:33 am			10:52 am	19
1	Red 57	10:31 am			10:40 am	9
1	Red 53	10:30 am			10:44 am	14
1	Red 29	11:03 am		11:01 am		2
1	Yellow 10	2:56 pm			3:10 pm	14
1	Red 53	3:40 pm		3:52 pm		12
2	Red 73	10:00 am		9:57 am		3
2	Red 53	9:56 am			10:07 am	11
3	Red 60	4:46 pm		4:38 pm		8
3	Red 19	4:41 pm		4:34 pm		7
4	Red 82		10:25 am	10:20 am		5
4	Red 53		10:19 am	10:17 am		2
4	Red 43	10:04 am		9:59 am		5
4	Red 46	4:40 pm			4:27 pm	13
5	White 96	10:25 am		10:19 am		6
5	Red 53	10:51 am		10:46 am		5
5	Red 99		4:36 pm	4:34 pm		2
5	Red 82		4:37 pm	4:34 pm		3



**Figure 5:** Duration of one-way foraging trips of *A. mellifera* affected by the experience

### DISCUSSION

As animals travel through different environmental conditions to seek resources, they have to face multiple challenges of how best to deal with their time as well as energy among accessible opportunities. In the case of the natural environment, animals must frequently select among a group of behavioral choices available to them to react efficiently to changes in food resources (Townsendmehler 2010). Because of different assumptions regarding bee foraging to recently unrewarding conditions (i.e., with depleted food sources) at the food source, we raised a question to find its answer. The primary purpose of our inquiry was to explore whether or not the different levels of food richness or rewards at a feeding source affect the number of forager bees to visit this location once the conditions are switched to unrewarding.

The behavior of honeybee foragers largely depends on the level of food richness they find at their feeding locations (Frisch 1965). The results revealed that the persistence in honeybee foraging to the depleted sources is considerably affected by their previous experience of that particular site as well as its high level of food richness. Toufailia et al. (2013) describe that the bees continue their visits to unrewarding or empty feeders up to a week after merely a short duration of training access. Although the overall number of forager bees in our experiment decreased with depleted level of food richness at the training site (FA), even then, according to the result as mentioned earlier, some bees did not quit visiting that particular site for certain days. More number of bees inevitably visited high rewarded feeders (Fig. 3 & 4) as compare to low rewarding feeders. According to the results of Cakmak et al. (1999), the action of forager bees altered when they were presented with different reward frequencies associated. But, regardless of comparison, the number of bees visiting high rewarding sites (i.e., 50% sugar solution) decreased in relation with the time (Fig. 2) which may be due to the fact that highly concentrated sugar solutions are viscous, and crop loads are negatively correlated with the viscosity of the solution (Nicolson et al. 2013). It also may be since honeybees do not persistently behave as projected via simple energy maximization principles; instead, uniqueness in choice rises at the time when visiting obstacle becomes more strenuous due to the enhanced complexity of the problem (Cakmak et al. 2009)

In a series of variant experiments, it was determined that the time course of extinction of currently unrewarding sources is mainly reliant on the amount of experience gained at a particular food source (Moore et al. 2011). That is why, in our current experiment, we observed more number of bees with a gradually decreased level of food richness at the experienced feeder (FA) versus less experienced feeder (FB) with a high level of food richness. It is a general assumption that time memory in honeybees promptly loss if not reinforce daily. Hence, it permits foragers to shift rapidly from non-rich to rich food sources. Therefore, a characteristic in an animal is also reported, which describes that they may alter their behavior according to their understanding of risk, including predators (Sharif et al. 2020) or unprofitable food source conditions (Tan et al. 2015). We observed a sudden decrease in the number of bees at FA, which switched offering depleted food source, while a relative increase in the number of bees was observed at FB switched offering rich food source. Variant levels of food richness exploited by a single active forager have an impact on the performance (frequency and intensity) of its recruitment-linked behaviors. Within the beehive, such variation defines a distinctive inspiration of hive-mates having diverse thresholds to depart from the hive (Fernández et al. 2003). From an example of a field plant (i.e., *Brassica campestris* var. *toria*), the results propose that cultivars offering rich caloric rewards to bees have a competitive advantage over others in terms of appealing bee foragers and, subsequently, in pollination (Abrol 2007).

Multiple factors have been reported that affects foraging efforts as well as foraging distance in bees. These factors include experience, wing damage, environmental factors, and internal condition of colonies (Klein et al. 2019, Higginson et al. 2011, do Nascimento and Nascimento 2012, Barbosa et al. 2016). It had been expressed that individual honeybees increase their foraging performance with experience. Those studies verified the foraging behavior of bees in their career, but it focused merely on individual bee level (Schippers et al., 2006, Dukas 2008). Recently, Klein et al. (2019) explored foraging activity and the foraging performance of a massive number of honeybee foragers (*A. mellifera*) by using an automated behavioral tracking system. They concluded with the remarks that bees at the colony level also improve their foraging performance and frequency of their foraging trips via experience. According to Durisko et al. (2011), in the natural

environment, honeybees exhibit gradual improvement in their foraging performance parallel to the typical pattern of performance found in the lifespan of various animals, including humans. They also stated that the longstanding improvement in the performance of bees under the natural environment might be instigated by certain factors like spatial orientation, locating the best rewarding plant species, flower patches, etc. Peat and Goulson (2005) explored *Bombus terrestris* for the rate of foraging trips. They ensured that the rate of foraging trips varies with the experience. In the first few trips, they observed a low foraging rate but later increased with the experience. That increase in foraging rate was smaller initially, but after nearly 30 trips from the nest, they observed further improvement in foraging rates. As in our current experiment, the duration of every one-way foraging trip gradually decreased with the following days; therefore, we also affirm the results of previous studies that the performance of honeybees in foraging increases with the experience. Which extent of a high level of sugar concentration (viscosity) causes total foraging avoidance? Besides food richness and experience, can we compare the time of the day with the rate of time spent outside (foraging) the beehive? These are the essential questions that can be explored in future investigations.

## CONCLUSION

Bee foragers keep on visiting that feeding sites offering food-rich source. But, regardless of comparison with the number of bees visiting a low food-rich source, the bees foraging towards a highly food-rich source decrease with the time. Simultaneously, with the reduction in food richness, the number of foragers visiting that feeding site also reduced. Still, the notable thing is they continue their foraging trips for several days, even if they are unrewarded with food-rich sources. It is a fantastic behavior in bees that help re-allocation of colony's foragers in altering natural settings. This study suggests beekeepers for their decision about the replacement of their apiaries to the fields with an augmented level of nectars for getting maximum honey yield, and also help to decide setting vegetation pattern in the area for providing full opportunities for pollination. Furthermore, results utter that our prediction: foraging efficiency of bees in terms of trip duration will increase with the experiences of previous visits, proved correct.

Depending on the level of expertise, the *A. mellifera* requires a 19 to 2 minutes duration for a one-way foraging trip to 251 meters. Lastly, the current study confers the implications for future investigation on whether we can compare the time of the day with the rate of time spent outside (foraging) the beehive. Which extent of a high level of sugar concentration (viscosity) causes total foraging avoidance by honeybees? These are suggested questions for further exploration in upcoming studies by the researchers.

## ACKNOWLEDGMENTS

Firstly, we are highly thankful to the Silkworm & Bee Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences for allowing us to conduct our experiments, providing services of beekeepers, availability of bee colony, and some other materials. Secondly, we highly acknowledge the contribution of Mr. Hu Zongwen in providing bee tags and help to mark bees. Lastly, I (the corresponding author) say special thanks to the Chinese Academy of Sciences for providing me the "CAS-TWAS Scholarship" for my doctoral study. The results of the current study are expected to be a part of Muhammad Zahid Sharif's doctoral thesis.

## REFERENCES

- Abrol, D.P. 2007. Foraging behaviour of *Apis mellifera* and *Apis cerana* as determined by the energetics of nectar production in different cultivars of *Brassica campestris* var. *toria*. *J Apicult Sci*. 51: 19-24.
- Barbosa, F.M., Campos, L.A.D.O., Paixão, J.F.D., Alves, R.M.D.O. 2016. Foraging pattern and harvesting of resources of subterranean stingless bee *Geotrigona subterranea* (Friese, 1901)(Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 56(12):151-157. doi.org/10.11606/0031-1049.2016.56.12
- Beekman, M. 2005. How long will honey bees (*Apis mellifera* L.) be stimulated by scent to revisit past-profitable forage sites? *J. Comp. Physiol. A*. 191(12): 1115-1120, doi.org/10.1007/s00359-005-0033-1
- Cakmak, I., Song, D.S., Mixson, T.A., Serrano, E., Clement, M.L., Savitski, A., Giray, T., Abramson, C.I., Barthell, J.F., Wells, H.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

2010. Foraging response of Turkish honey bee subspecies to flower color choices and reward consistency. *J insect behav.* 23(2):100-116.  
doi.org/10.1007/s10905-009-9199-7
- Cakmak, I., Sanderson, C., Blocker, T.D., Pham, L.L., Checotah, S., Norman, A.A., Harader-Pate, B.K., Reidenbaugh, R.T., Nenchev, P., Barthell, J.F., Wells, H. 2009. Different solutions by bees to a foraging problem. *Anim Behav.* 77(5): 1273-1280.  
doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.01.032
- Cakmak, I., Cook, P., Hollis, J., Shah, N., Huntley, D., van Valkenburg, D., Wells, H. 1999. Africanized honey bee response to differences in reward frequency. *J Apicult Res.* 38(3-4): 125-136.  
doi.org/10.1080/00218839.1999.11101003
- Cakmak, İ., Wells, H. 2001. Reward frequency: effects on flower choices made by different honeybee races in Turkey. *Turk J Zool.* 25(3): 169-176.
- Diaz, P.C., Gruter, C., Farina, W.M. 2007. Floral scents affect the distribution of hive bees around dancers. *Behav Ecol Sociobiol.* 61: 1589-1597, doi.org/10.1007/s00265-007-0391-5
- do Nascimento, D.L., Nascimento, F.S. 2012. Extreme effects of season on the foraging activities and colony productivity of a stingless bee (*Melipona asilvai* Moure, 1971) in Northeast Brazil. *Psyche-J Entomol*, doi.org/10.1155/2012/267361
- Dukas, R. 2008. Life history of learning: performance curves of honeybees in the wild. *Ethol.* 114 (12): 1195-1200, doi.org/10.1111/j.1439-0310.2008.01565.x
- Durisko, Z., Shipp, L., Dukas, R. 2011. Effects of experience on short- and long-term foraging performance in bumblebees. *Ethol.* 117: 49-55, doi.org/10.1111/j.1439-0310.2010.01842.x
- Fernández, P.C., Gil, M., Farina, W.M. 2003. Reward rate and forager activation in honeybees: recruiting mechanisms and temporal distribution of arrivals. *Behav Ecol and Sociobiol.* 54: 80-87.  
doi.org/10.1007/s00265-003-0607-2
- Frisch, K.V. 1965. *Tanzsprache und orientierung der bienen.* Berlin/Heidelberg/New York: Springer Verlag.
- Grüter, C., Ratnieks, F.L.W. 2011. Honeybee foragers increase the use of waggle dance information when private information becomes unrewarding. *Anim Behav.* 81 (5): 949-954,  
doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.01.014
- Higginson, A.D., Barnard, C.J., Tofilski, A., Medina, L., Ratnieks, F., León Contrera, F.A. 2011. Experimental wing damage affects foraging effort and foraging distance in honeybees *Apis mellifera*. *Psyche-J Entomol*, 2011: 32,  
doi.org/10.1155/2011/419793
- Klein, S., Pasquaretta C, Perry, C., Søvik, E., Devaud J.M., Barron, A.B., Lihoreau, M. 2019. Honey bees increase their foraging performance and frequency of pollen trips through experience. *Sci Rep.* 9: 6778,  
doi.org/10.1038/s41598-019-42677-x
- Mobus, G., Fisher, P. 1999. Foraging search at the edge of chaos. *Oscillations in Neural Networks*, 309-325.
- Moore, D., Nest, B.N.V., Seier E. 2011. Diminishing returns: the influence of experience and environment on time-memory extinction in honey bee foragers. *J Comp Physiol A.* 197: 641-651, doi.org/10.1007/s00359-011-00624-y
- Nicolson, S.W., De Veer, L., Köhler, A. Pirk, C.W. 2013. Honeybees prefer warmer nectar and less viscous nectar, regardless of sugar concentration. *P Roy Soc B-Biol Sci*, 280(1767): 20131597.  
doi.org/10.1098/rspb.2013.1597
- Peat, J., Goulson, D. 2005. Effects of experience and weather on foraging rate and pollen versus nectar collection in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Behav Ecol Sociobiol*, 58(2): 152-156.  
doi.org/10.1007/s00265-005-0916-8
- R Development Core Team. 2003. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Schippers, M.P., Dukas, R., Smith, R.W., Wang, J., Smolen, K., McClelland, G.B. 2006. Lifetime performance in foraging honeybees: behaviour and physiology. *J Exp Biol.* 209: 3828-3836, doi.org/10.1242/jeb.02450
- Scheiner, R., Abramson, C.I., Brodschneider, R., Crailsheim, K., Farina, W.M., Fuchs, S., Gruenewald, B., Hahshold, S., Karrer, M.,

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Koeniger, G. Koeniger, N. 2013. Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. *J. Apicult. Res.* 52(4): 1-58, doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.04
- Seeley, T. 1995. *The Wisdom of the hive: the social physiology of honey bee colonies*. Cambridge: Harvard University Press.
- Seeley, T.D., Camazine, S., Sneyd, J.J. 1991. Collective decision-making in honey bees: How colonies choose among nectar sources. *Behav Ecol Sociobiol.* 28 (4): 277-290, doi.org/10.1007/BF00175101
- Sharif, M.Z., Jiang, X., Puswal, S.M. 2020. Pests, parasitoids, and predators: Can they degrade the sociality of a honeybee colony, and be assessed via acoustically monitored systems? *J Entomol Zool Stud.* 8 (3): 1248-1260.
- Smolla, M., Alem, S., Chittka, L., Shultz, S. 2016. Copy-when-uncertain: bumblebees rely on social information when rewards are highly variable. *Biol Lett.* 12 (6): 20160188, doi.org/10.1098/rsbl.2016.0188
- Tan, K., Latty, T., Dong, S., Liu, X., Wang, C., Oldroyd, B.P. 2015. Individual honey bee (*Apis cerana*) foragers adjust their fuel load to match variability in forage reward. *Sci Rep.* 5: 16418, doi.org/10.1038/srep16418
- Toufalia, H.A., Gruter, C., Ratnieks, F.L.W. 2013. Persistence to unrewarding feeding locations by honeybee foragers (*Apis mellifera*): the effects of experience, resource profitability and season. *Ethol*, doi.org/10.1111/eth.12170
- Townsend-mehler, J.M., Dyer, F.C., Maida, K. 2011. Deciding when to explore and when to persist: a comparison of honeybees and bumblebees in their response to downshifts in reward. *Behav Ecol Sociobiol.* 65: 305-312, doi.org/10.1007/s00265-010-1047-4
- Townsendmehler, J.M. 2010. Decision-making in a changing environment: A look at the foraging behavior of honeybees and bumblebees as they respond to shifts in resource availability. PhD, Michigan State University.
- Van Gils, J., Piersma, T., Dekinga, A. 2003. Cost-benefit analysis of mollusc-eating in a shorebird. II. Optimizing gizzard size in the face of seasonal demands. *J Exp Biol.* 206 (19): 3369–3380, doi.org/10.1242/jeb.00546
- Woodgate, J.L., Makinson, J.C., Lim, K.S., Reynolds, A.M., Chittka, L. 2017. Continuous radar tracking illustrates the development of multi-destination routes of bumblebees. *Sci Rep.* 7: 17323, doi.org/10.1038/s41598-017-17553-1.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# A STUDY ON FREE-RADICAL SCAVENGING ACTIVITY, INDIVIDUAL PHENOLIC COMPOUNDS AND ELEMENT CONCENTRATION OF PROPOLIS

## Propolisin Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi, Bireysel Fenolik Bileşik İçeriği ve Element Konsantrasyonu Üzerine Bir Çalışma

Nesrin ECEM BAYRAM

Bayburt University, Aydıntepe Vocational School, Department of Food Processin, Bayburt, TURKEY, ORCID No: 0000-0002-5496-8194, Yazışma Yazarı / Corresponding Author: e-mail: ecem.nesrin@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 10.08.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 29.09.2020

DOI: 10.31467/uluaricilik.778751

### ABSTRACT

The aim of this study was to assess the quality of five propolis samples obtained from Turkey (TP), China (CP), Brazil (BP1, BP2), and Ethiopia (EP). The phenolic compounds of the propolis were identified and quantified using the liquid chromatography-tandem mass spectrometry technique (LC-MS/MS). In addition, quality parameters such as total flavonoid content, total phenolic content, free-radical scavenging activity and element contents were investigated. As a result of LC-MS/MS analysis, the extracts were sorted as TP> BP1> BP2> CP> EP in terms of the total concentration of individual phenolic compounds. Chlorogenic acid was determined as the dominant compound in BP1 and EP, *p*-coumaric acid as the dominant compound in the BP2 and trans-ferulic acid as the dominant compound in the samples from CP and TP. The concentration of DPPH was higher in TP whereas the ABTS concentration was almost similar to other propolis extracts. The contents of potassium (K), calcium (Ca), iron (Fe), magnesium (Mg) and sodium (Na) in the propolis samples were in the range of 2416.75-14416.02 mg/kg, 8.52-613.25 mg/kg, 102.66-1425.82 mg/kg, 523.84-7336.74 mg/kg and 57.65-191.15 mg/kg, respectively. Consequently, it is again supported that chemical characteristics and activity of propolis varies according to its geographical origin with this study.

**Keywords:** Chinese propolis, Ethiopia propolis, Brazilian propolis, Turkish propolis, Element composition, Mineral content, Phenolic compounds.

### ÖZ

Bu çalışmada, Türkiye (TP), Çin (CP), Brezilya (BP1, BP2) ve Etiyopya'dan (EP) elde edilen beş propolis örneğinin kalitesi değerlendirildi. Propolisin fenolik bileşikleri sıvı kromatografi kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile kantitatif olarak tespit edildi. Buna ilave olarak, total flavonoid içerik, total fenolik içerik, antioksidan aktivite ve element içeriği (ICP-MS ile) gibi kalite parametreleri de araştırıldı. LC-MS/MS analizinin sonuçlarına göre propolis ekstraktları 24 adet bireysel fenolik bileşiğin toplam konsantrasyonu açısından TP> BP1> BP2> CP> EP olarak sıralandı. BP1 ve EP için klorojenik asit, BP2 için *p*-kumarik asit, CP ve TP için ise trans-ferulik asit baskın bileşikler olarak tespit edildi. TP'de DPPH konsantrasyonu en yüksek iken, ABTS konsantrasyonu ise diğer propolis örnekleri ile benzerlik gösterdi. Propolis numunelerindeki potasyum (K), kalsiyum (Ca), demir (Fe), magnezyum (Mg) ve sodyum (Na) içeriklerinin sırasıyla 2416.75-14416.02 mg/kg, 8.52-613.25 mg/kg, 102.66-1425.82 mg/kg, 523.84-7336.74 mg/kg and 57.65-191.15 mg/kg arasında değişiklik gösterdiği belirlendi. Sonuç olarak bu çalışma ile propolisin kimyasal bileşimi ve aktivitesinin coğrafi kökenine göre değiştiği tekrar desteklendi.

**Anahtar kelimeler:** Çin propolisi, Etiyopya propolisi, Brezilya propolisi, Türkiye propolisi, Element içerik, Mineral içerik, Fenolik bileşikler.



## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

**Amaç:** Propolis bal arıları tarafından bitkilerin farklı kısımlardan toplanan reçine benzeri yapışkan koyu renki bir maddedir. Bu ürün arılar tarafından kovan savunması, koloni sağlığının korunması, yapı malzemesi vb. bir çok amaç doğrultusunda kullanılmaktadır. Bununla birlikte insanlar tarafından bu ürün yüzyıllardır kovandan toplanarak sağlık koruyucu/destekleyici ve tedavi edici gibi özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Bu çalışmada farklı ülkelerden (Türkiye, Çin, Brezilya, Etiyopya) elde edilen propolis örneklerinin, total flavonoid içerik, total fenolik içerik ve serbest radikal temizleme aktiviteye ek olarak elemental içerik ve bireysel fenolik bileşik konsantrasyonu bakımından değerlendirilmesi amaçlandı.

**Materyal ve Metot** Propolis örneklerinin serbest radikal temizleme aktivitelerinin tespit edilmesi için DDPH ve ABTS testleri kullanıldı. Propolis örneklerinin total flavonoid içeriği alüminyum klorür ve toplam fenolik madde içeriği ise Folin-Ciocalteu metodu ile tespit edildi. Propolis örneklerinde Li, B, Be, Mg, Na, Al, Cu, Ca, Zn, Cr, K, V, Mn, Co, Fe, Ga, Ni, Sr, In, Rb, Ru, Ag, Cs, Pd, Cd, Pt, Ba, Hg, Tl ve Au olmak üzere toplamda 29 element indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) ile tespit edildi. Bununla birlikte 24 adet fenolik bileşiğin (2,5-dihidroksibenzoik asit, 2-hidroksi transsinnamik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, etil gallat, gallik asit, isorhamnetin, kamferol, luteolin, mirisetin, naringin, P-kumarik asit, phlorizin, propil gallat, protokateşik asit, kuersetin, resveratrol, rutin, salisilik asit ve sinapik asit, siringik asit, trans ferulik asit) kalitatif ve kantitatif olarak tespiti, sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) kullanılarak gerçekleştirildi.

**Sonuç ve Tartışma:** LC-MS/MS analizi sonucunda ekstraktlar, incelenen 24 adet bireysel fenolik bileşiğin toplam konsantrasyonu bakımından Türkiye > Brezilya 1> Brezilya 2> Çin > Etiyopya propolisi olarak sıralandı. Brezilya 1 ve Etiyopya propolisinde major bileşik olarak klorojenik asit, Brezilya 2 propolisinde major bileşik olarak p-kumarik asit tespit edilirken, Çin ve Türkiye orijinli propolis örneğinde major bileşik olarak trans-ferulik asit tespit edildi. Bununla birlikte Türkiye propolisinde Çin propolisinden farklı olarak kafeik asit miktarı oldukça yüksek olarak belirlendi. Propolis numunelerinde makroelementlerden potasyum (K), kalsiyum (Ca), demir (Fe),

magnezyum (Mg) ve sodyum (Na) içerikleri sırasıyla 2416,75-14416,02 mg/kg, 8,52-613,25 mg/kg, 102,66-1425,82 mg/kg, 523,84-7336,74 mg/kg ve 57,65-191,15 mg/kg arasında tespit edildi. Genel olarak, bu çalışma propolisin kimyasal içeriğinin üretildiği coğrafi bölgeye bağlı olarak benzerlik ve farklılıklara sahip olduğunu gösterdi. Bu durum, farklı coğrafi bölgelerdeki arıların propolis yapmak için kullandığı bitkisel kaynaklardan ileri gelebilir. Ayrıca elde edilen sonuçlar propolis örneklerinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve propolisin diyetlerde bir antioksidan kaynağı olarak takviye gıda şeklinde kullanılabileceği destekledi. Bununla birlikte, propolisin kimyasal içeriğindeki bileşiklerin katkılarını anlamak için daha fazla araştırma yapılmalıdır.

## INTRODUCTION

Propolis is a resinous substance collected by bees and used in their hives as a protective agent and a building material. This resin is gathered from different types of plants by honey bees (*Apis mellifera* L.) that form it into pellets with their mandibles, probably mixing it with secretions of their salivary glands and beeswax (Alamyel et al. 2018). Until 2018, more than 850 compounds have been identified in the chemical content of propolis (Šturm and Ulrich 2019). Propolis is usually composed of 50% resin, 30% wax, 10% essential oils, 5% pollen and 5% other substances, however, the chemical content of propolis varies depending on factors such as botanical and geographical origin (Wang et al. 2016)

Several different types of propolis have been defined with respect to their chemical profile, plant and geographical origin. In the tropics, where poplars are not abundant, bees seek different floral sources for the production of resin (Coelho et al. 2017). There are various different types of propolis that are available, such as poplar propolis which is most often produced from *Populus nigra* L. in Europe, North America, non-tropic regions of Asia, New Zealand, Green; Brazilian propolis predominantly produced from *Baccharis dracunculifolia* DC. in Brazil; Birch propolis produced from *Betula verrucosa* Ehrh. in Russia; Red propolis produced from *Dalbergia* spp. in Cuba, Brazil and Mexico; Mediterranean propolis produced from Cupressaceae in Sicily, Greece, Crete and Malta; Clusia propolis produced from *Clusia* spp. in Venezuela and Cuba; and Pacific propolis produced

from *Macaranga tanarius* in the Pacific region. The major components of these different types of propolis are flavanones, flavones, cinnamic acids and esters for poplar propolis; diterpenic acids and prenylated *p*-coumaric acids for Brazilian propolis; flavones and flavonols for Birch propolis; isoflavonoids for Red propolis; diterpenes for Mediterranean propolis; polyprenylated benzophenones for Clusia propolis; c-prenylflavanones for Pacific propolis (Sforcin and Bankova 2011).

Propolis is well known for its diverse and beneficial biological effects such as antibacterial (Bayram et al., 2017, Temiz et al. 2011), antifungal (Silici et al. 2005), anti-inflammatory (Kolaylı et al. 2016), and antioxidant (Temizer et al., 2017). It is also known to stimulate wound healing, reduce tumefaction and suppresses pain (Zilius et al. 2016). Phenolic compounds are essential bioactive components of propolis (Vargas-Sanchez et al. 2015). Phenolics, aromatic alcohols, terpenes, and aldehydes are principal components of propolis and their existence in propolis defines the quality of the propolis as well as its pharmacological property and possible application areas (Zilius et al. 2016). However, there is limited information about the presence/level of elements that can significantly affect the quality of propolis (González-Martín et al. 2015). Therefore, it is extremely important to provide detailed information on the element content of propolis in order to ensure its safe usage in different areas.

As natural products that contain propolis are rich in bioactive components such as minerals, vitamins, polyphenols, amino acids, many efforts have been made recently to use these products in commercial products. Products rich in minerals and polyphenols are of great interest in many fields such as food, cosmetics and medicine, as some of the mineral elements listed as bioactive compounds act as cofactors in most enzymatic events in plants, animals and humans (Kuppusamy et al. 2016). The aim of the present study was to assess the total polyphenol and flavonoid contents, antioxidant activities and elemental composition of the ethanol extracts of propolis obtained from four different countries.

## MATERIAL AND METHODS

### Propolis samples

Five propolis samples used in the study were obtained commercially from Turkey (TP), Brazil (BP1, BP2), China (CP) and Ethiopia (EP) in 2017.

### Preparation of propolis extracts

Extracts were prepared according to Zhou et al. (2015) with some modification. 1.5 g raw propolis sample was pulverized and then added in 10 mL ethanol (95%). Then, ultrasonic assisted extraction was performed in an ultrasonic cleaning bath for 60 min at 40 °C. The mixture was centrifuged for 30 min. The supernatant was transferred in a pear-shaped flask and this procedure was repeated twice. Supernatants were combined and the total volume adjusted to 25 mL with ethanol (95%). The final mixture was filtrated through a 0.45 µm membrane.

### Total phenolic assay

The content of total phenolic compounds was performed according to the Folin-Ciocalteu method proposed by Magalhaes et al. (2010) with some modification. 50 µL extract, 50 µL Folin-Ciocalteu reagent (1:5, v/v) and 100 µL sodium hydroxide solution (0.35 M) were added in each well, respectively. After 3 minutes, absorbance was recorded at 760 nm. The results were expressed as gallic acid equivalent (mg GAE/g).

### Total flavonoid assay

Total flavonoid analysis of the extracts was performed as Zhishen et al. (1999) with some modification. Accordingly, 1 mL extract was mixed with 0.3 mL  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (10%) after the addition of 0.3 mL  $\text{NaNO}_2$  (5%). 2 mL NaOH (1 M) and 2.4 mL distilled water were added then mixture was stirred with vortex. The absorbance was measured at 510 nm. Total flavonoid content was expressed as mg quercetin equivalent (mg QE/g).

### Determination of free-radical scavenging activity

#### 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

The DPPH assay was based on the 96-well plate assay described by Herald et al. (2012) with some modifications. 15 µL extract and 185 µL of DPPH solution ( $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) were mixed, and vortexed for 10 s. Absorbance was measured at 517 nm after being stored in the dark for 45 minutes at room temperature. The results were expressed as mg

Trolox equivalent antioxidant capacity per g of samples (mg TE/g).

#### **2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical scavenging assay**

The ABTS radical cation was reacted with 2.45 mM potassium persulfate and left in the dark at room temperature for 12-16 h before use. ABTS solution was diluted with ethanol to an absorbance of 0.70 at 734 nm and equilibrated at 30 °C. The extracts were first diluted with 1 mL sample and 1 mL of ABTS solution, then with methanol to a total volume of 4 mL. The tubes were stored at room temperature for 6 min. Then, absorbance was measured at 734 nm. The results were expressed as mg Trolox equivalent antioxidant capacity per g of samples (mg TE/g) (Re et al. 1999).

#### **Determination of individual phenolic compounds**

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used for detection individual phenolic compounds (2,5-dihydroxybenzoic acid, 2-hydroxytranscinnamic acid, caffeic acid, catechin, epicatechin, chlorogenic acid, ethyl gallate, gallic acid, isorhamnetin, kaempferol, luteolin, myricetin, naringin, *p*-coumaric acid, phlorizin, propyl gallate, protocatechuic acid, quercetin, resveratrol, rutin, salicylic acid, sinapic acid, syringic acid, trans ferulic acid). LC was performed using an Agilent 6460 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) LC system. Chromatographic separation was carried out with an Agilent Zorbax SB-C8 column (150 × 3.0 mm, 3.5 µm particle size). MS/MS analyses were accomplished on an Agilent LC-MS (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) 6460 triple quadrupole mass spectrometer equipped with an electrospray ionization (ESI) interface.

#### **Determination of element profiles of propolis samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)**

ICP-MS analysis was performed at the Central Research Laboratory of Bayburt University. In this study all reagents used for the elemental analysis of samples were of analytical grade. The element standard solutions were prepared by diluting a stock solution of 1000 mg/L of lithium (Li), boron (B), beryllium (Be), magnesium (Mg), sodium (Na), copper (Cu), calcium (Ca), zinc (Zn), chromium (Cr),

potassium (K), vanadium (V), manganese (Mn), cobalt (Co), iron (Fe), gallium (Ga), nickel (Ni), strontium (Sr), indium (In), rubidium (Rb), ruthenium (Ru), silver (Ag), cesium (Cs), palladium (Pd), cadmium (Cd), platinum (Pt), barium (Ba), mercury (Hg), thallium (Tl) and gold (Au). 0.5 g of propolis sample, 9 mL of nitric acid (Sigma Aldrich, Germany) and 1 mL of hydrogen peroxide (Sigma Aldrich, Germany) were mixed. Then, the digestion procedures were carried out in a microwave digestion system. The final volume was completed to 50 mL with ultrapure water. Analysis of 30 elements was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry ICP-MS (7800 Series from Agilent) (Oroian et al. 2015).

#### **Statistical analysis**

Analysis of variance (ANOVA) and post hoc Tukey's test tests were utilized for analysis of total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity data.

## **RESULTS**

In this study, 24 compounds were identified from different propolis extracts and the quantitative value of each compound was determined. BP1 had a higher concentration of chlorogenic acid (791.69 mg/100g) and *p*-coumaric acid (495.67 mg/100 g). In the same way, the sample obtained from Turkey (TP) had a higher concentration of kaempferol (156.28 mg/100 g) and quercetin (428.9 mg/100 g) compared to the other propolis samples.

The highest total concentration (1808.65 mg/100 g) of screened 24 individual phenolics was found to be in the TP sample (Table 1). While caffeic acid was a major component in the TP sample, at a concentration of 238.52 mg/100 g, it was a minor component in the propolis sample obtained from China (CP), at a concentration of 0.76 mg/100 g. In addition, the concentration of isorhamnetin in the CP sample was higher (110.33 mg/100 g) compared to that in the TP sample, which was found at concentration of 90.58 mg/100g. The component resveratrol, which was lacking in TP, BP1, BP2 and EP was present in CP (23.27 mg/100 g). Trans ferulic acid and quercetin as major component were both presents in the CP and TP samples in important concentrations when compared to the BP1, BP2 and EP samples.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

**Table 1.** Phenolic composition (mg/100g) of propolis extracts

COMPOUNDS	BP1	BP2	EP	CP	TP
2,5-dihydroxybenzoic acid	7.76	2.70	5.18	12.57	1.76
2-hydroxytranscinnamic acid	nd	nd	nd	nd	nd
Caffeic acid	243.13	34.99	36.59	0.76	238.52
Catechin	nd	nd	nd	2.28	5.80
Epicatechin	nd	nd	nd	2.52	6.41
Chlorogenic acid	791.69	226.2	619.15	3.94	2.18
Ethyl gallate	0.004	1.44	0.08	0.14	0.07
Gallic acid	14.48	180.63	37.69	7.35	10.88
Isorhamnetin	2.91	23.25	1.42	110.33	90.58
Kaempferol	74.54	80.79	12.79	66.60	156.28
Luteolin	2.45	93.17	11.95	42.80	90.94
Myricetin	0.66	32.54	3.70	7.49	2.47
Naringin	nd	nd	nd	nd	nd
<i>p</i> -coumaric acid	495.67	279.20	6.13	8.07	84.01
Phlorizin	nd	0.38	nd	0.62	0.41
Propyl gallate	nd	nd	nd	nd	nd
Protocatechuic acid	172.39	88.53	254.10	37.95	60.67
Quercetin	62.21	165.80	27.42	201.38	428.90
Resveratrol	nd	nd	nd	23.27	nd
Rutin	1.67	72.54	1.36	1.05	7.32
Salicylic acid	12.98	4.55	3.10	27.23	0.61
Sinapic acid	nd	nd	nd	11.59	nd
Syringic acid	nd	nd	nd	nd	nd
Trans ferulic acid	23.70	10.29	0.20	701.60	620.84
<b>TOTAL</b>	<b>1655.35</b>	<b>1296.62</b>	<b>1020.86</b>	<b>1241.26</b>	<b>1808.65</b>

nd: not detected

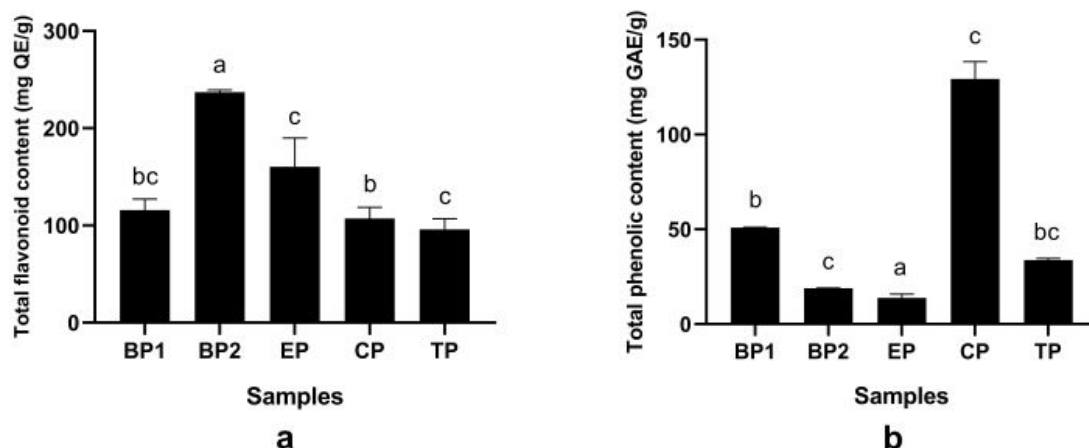
The TP sample differed with the EP sample in many ways. Firstly, the main components of the EP sample were determined as chlorogenic acid (619.2 mg/100 g) and protocatechuic acid (254.1 mg/100 g), while these components were available in much smaller concentration in the TP sample. Conversely, the TP sample contained greater concentrations of trans ferulic acid (620.84 mg/100 g), quercetin (428.9

mg/100 g) and caffeic acid (238.52 mg/100 g) compared to the EP sample, which contained these compounds in minor concentrations. In addition, the TP sample included catechin, epicatechin and phlorizin, which were absent in the EP sample. It was determined that the EP and CP samples were completely different in many aspects. The CP sample had trans ferulic acid (701.6 mg/100 g),

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

quercetin (201.38 mg/100 g) and isorhamnetin (110.33 mg/100 g) constituting the largest percentage of its component. These components were also present in the EP sample, however, they

were considered as a minor component owing to their low concentrations (0.2, 27.42 and 1.42 mg/100 g, respectively).



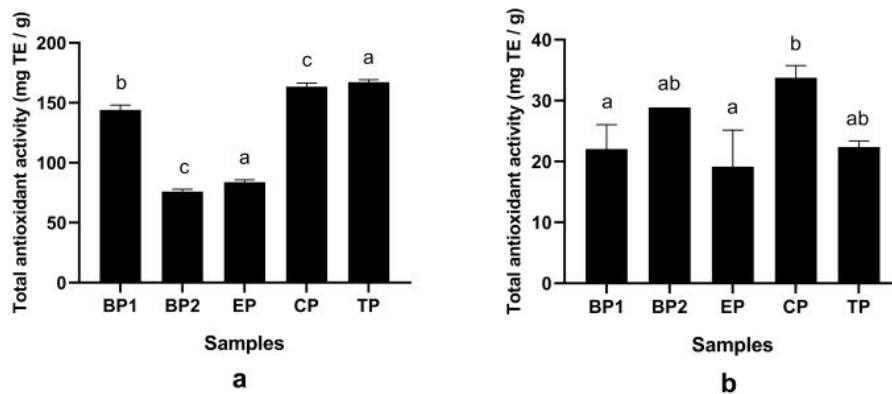
**Figure 1.** (a) Total flavonoid content of propolis extracts (mg QE/g). (b) Total phenolic content of propolis extracts (mg GAE/g)

The highest total phenolic levels were detected in the CP, BP1 and TP samples, while the lowest levels were found in the BP2 and EP samples, respectively (Figure 1b). The flavonoid content of the propolis extracts varied from 95.966 to 237.201 mg QE/g (Figure 1a). Among all the samples, the BP2 sample had the highest flavonoid content at 237.17 mg QE/g, which was followed by the EP sample at 160.471 mg/QE g, the BP1 sample at 115.834 mg/QE g, the CP sample at 107.244 mg/QE g and the TP sample at 95.966 mg/QE g. The descriptive statistics and comparison results for the DPPH assay are given in Figure 2a. The TP sample showed higher DPPH value compared to the other samples. The DPPH value for the BP2 sample was 75.907 mg TE/g, which made it the lowest among all

of the samples. The ABTS value of the EP sample was determined as the lowest (Figure 2b).

As seen in Table 2, the main elements in propolis samples were found to be potassium (K), calcium (Ca), iron (Fe), magnesium (Mg), and sodium (Na). The two most significant elements in the propolis samples were the K macro element with a concentration of 2416.75-14416.02 mg/kg followed by the Mg macro element with a concentration of 523.84-7336.74 mg/kg. The highest levels of K were found in the BP1 and EP samples. The highest concentrations of Na, Zn, and Fe were found to be 191.15, 74.95 and 1425.82 mg/kg, respectively in the TP sample.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



**Figure 2.** (a) Results of DPPH assay of propolis extracts (mg TE/g). (b) Results of ABTS assay of propolis extracts (mg TE/g)

**Table 2.** Elemental compositions of propolis samples (mg/kg)

Elements	BP1	BP2	EP	CP	TP
Li	0.0147	0.06	0.18	0.16	0.64
Be	nd	0.004	0.01	0.008	0.01
B	20.16	14.16	27.62	5.07	13.81
Na	57.65	115.14	159.68	182.91	191.15
Mg	1024.64	820.33	7336.74	523.84	1008.47
K	14416.02	6011.08	6087.20	2416.75	2607.41
Ca	293.61	219.66	613.25	8.52	415.24
V	0.05	0.55	2.14	0.39	4.35
Cr	0.16	0.80	2.26	0.56	3.08
Mn	28.18	60.69	52.52	2.50	35.66
Fe	102.66	347.75	861.97	287.01	1425.82
Co	0.03	0.07	0.68	0.14	1.10
Ni	3.51	3.11	1.36	2.18	2.59
Cu	9.01	5.11	3.68	1.47	4.29
Zn	33.21	25.01	14.10	8.00	74.95
Ga	0.02	0.15	0.36	0.05	0.46
Rb	73.89	23.81	5.79	1.72	3.09
Sr	9.25	6.32	27.79	0.09	9.004
Ru	nd	nd	nd	nd	nd
Pd	nd	nd	0.004	nd	nd
Ag	nd	nd	0.006	nd	0.004
Cd	0.66	0.65	1.97	1.07	1.53
In	0.04	0.05	0.01	0.08	0.03
Cs	0.07	0.27	0.04	nd	0.10
Ba	10.68	8.79	18.69	0.006	22.63
Pt	nd	nd	nd	nd	nd
Au	nd	nd	nd	nd	nd
Hg	nd	nd	nd	nd	nd
Tl	nd	nd	nd	nd	nd

\*nd: not detected (<0.000)

## DISCUSSION

The potent chemical components associated with propolis are the phenolic compounds, which differ in concentration and structure depending on factors including the geographical location of production, the season of production, the sources of flora used. Propolis, which shows powerful antioxidant activity, contains antioxidative compounds such as caffeic acid, chlorogenic acid, gallic acid, *p*-coumaric acid, kaempferol, quercetin, protocatechuic acid, and trans-ferulic acid. Flavonoids and phenolic acid esters, especially caffeic acid, are known for their antioxidant, antiviral and antibacterial activity (Pietta 2000; Rao et al. 1992; Tapia et al. 2004, Ahn et al. 2007). The findings of this study showed that regional origin greatly affects the phenols of the propolis (Table 1). The propolis samples obtained from Brazil (BP1 and BP2) were found to be different in terms of their constituents. The BP1 and BP2 samples had two major components, however the concentration levels of these components differed. Correspondingly, the outcomes of this study were in line with the results of Salatino et al. (2005) who found that the components of propolis also differ among the propolis obtained from the same location. The BP and TP samples differed in regard to the concentration of trans ferulic acid, quercetin, kaempferol, luteolin and isorhamnetin, which was particularly found at a significant concentration in the TP sample compared to the BP1 and BP2 samples, in which it was found only in minute concentrations. Overall, these findings are in agreement with the findings of Teixeira et al. (2010) who determined that Brazilian propolis is rich in phenolics. Components of ethanolic extract of Brazilian green propolis are artepillin C, *p*-coumaric acid, ferulic acid, 4-Hydroxy 3-prenylcinnamic acid, kaempferide, caffeic acid, kaempferol, hesperitin sakuranetin, isorhamnetin, and pinocembrin (Szliszka et al. 2013). Quercetin, benzoic acid, ferulic acid, caffeic acid and coumaric acid were determined in high concentrations in the Turkish propolis samples, while chlorogenic acid, vanillic acid, syringic acid, epicatechin, rutin, and *o*-coumaric acid were found to be in small amounts and catechin was not found at all (Aliyazıcıoğlu et al. 2013).

Propolis is a natural source of phenolic compounds, which are associated with important health benefits. The total content of phenols provides an index of various measurable properties of propolis such as antioxidant capacity, antibacterial activity and ability to scavenge free radicals (Gardini et al. 2018). The

variation of total phenolic and flavonoid content for propolis samples from different locations was quite large. The total phenolic and total flavonoid content in the extracts showed statistically significant differences in accordance with the regions and ranged from 13.764 to 129.368 mg GAE/g. Similar to the present study, Wang et al. (2016) found the total phenolic content of propolis extract obtained from China to be  $132.1 \pm 3.28$  mg/GAE g. They also revealed that the total phenolic content of a propolis extract obtained from Brazil was higher ( $126.8 \pm 4.12$  mg GAE/g) than the value obtained in the present study. Furthermore, they determined that the total flavonoid content of Chinese ( $32.5 \pm 0.53$  mg/QE g) and Brazilian ( $53.0 \pm 0.22$  mg QE/g) propolis samples were lower than the values determined in the present study. The total phenolic data, presented in Figure 1b, were in agreement with the data obtained for the propolis samples obtained in China ( $42.9 \pm 0.8$ -  $302 \pm 8.3$  mg GAE/g) (Ahn et al. 2007) and Turkey ( $0.1038$ - $86.807$  mg GAE/g), but lower than those obtained for the propolis samples obtained in Brazil ( $307.63 \pm 0.92$ - $398.31 \pm 11.15$  mg GAE/g) (De Oliveira Reis 2019). On the other hand, the total phenolic content of the EP sample used in the present study was higher than the content determined by Liben et al. (2018). Similarly, the results of the present study suggested that the total phenolic and flavonoid contents of the propolis samples varied by region. This indicates that the phenolic compounds present in the chemical structure of the different plant sources, most likely in flora, are included in the chemical structure of propolis and consequently are an important factor in determining the quality of propolis.

The DPPH values for the samples evaluated in this study were between 75.907 and 167.225 mg TE/g. Similarly, Banskota et al. (2000) reported that the DPPH activity of propolis obtained from China was higher than that of the propolis obtained in Brazil. The ABTS values of the samples ranged from 19.163 to 33.747 mg TE/g. The results of the present study are compatible with the results put forward by Yang et al. (2011), who studied the high antioxidant activity in propolis obtained from China. It is possible that in regions where climatic conditions vary, there are sources of phenolic compounds with bioactive properties that vary accordingly. Therefore, propolis samples produced in different regions of the World cannot be expected to be the same in terms of chemical content and thus biological capacity. These differences may be reflected in the antioxidant



## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

activity of the propolis and may cause the biological spectra to vary, as supported by the results of this study.

Mineral diversity is reflected in the composition of propolis through the transfer of the mineral composition of the soil to the plants from which the propolis is obtained. For this reason, plant sources affect the elemental composition of propolis to a great extent (Lovaković et al. 2018). As a result, the elemental content of propolis is used to develop distinctive features and reliable traceability methods of the geographical areas where it was produced as an indicator of environmental pollution (Golubkina et al. 2016). In the present study, when the elemental composition of the propolis samples were examined, it was observed that although there were quantitative differences, they had qualitatively similar content. All of the samples lacked ruthenium (Ru), platinum (Pt), gold (Au), mercury (Hg) and thallium (Tl). Moreover, minor concentrations of lithium (Li), beryllium (Be), vanadium (V), chromium (Cr), cobalt (Co), nickel (Ni), copper (Cu), gallium (Ga), strontium (Sr), cadmium (Cd), indium (In), cesium (Cs), palladium (Pd), silver (Ag) were determined in the propolis samples. Overall, the concentrations of many elements in the TP sample were generally higher than those in the other samples. There are limited reports on the mineral content of propolis. Gong et al. (2012) determined that Ca, Mg, K, Fe, Na and Zn levels in the propolis samples obtained from Brazil were higher than 160 mg/kg, which is accordance with the results of the present study. In contrast, the present study also found lower concentrations of Zn and Na in the BP2 sample and a lower concentration of Fe in the BP1 sample. Dogan et al. (2006) investigated the content of Na, K, Ca, Mg, N, Cu and Zn in propolis samples from Turkey and found that the highest element rate in all of the samples to be Na. However, the present study found that the highest element rate in the TP sample was K. Dogan et al. (2006) also determined the Ca content of the propolis samples at a lower concentration than those obtained in the present study. Cantarelli et al. (2011) reported that trace element level provides sufficient information for the identification of propolis. Similarly, in this study, although differences in the trace element contents of the propolis samples were observed, more samples were required to make a clear geographic distinction. The elemental composition of the propolis samples may vary depending on many factors such as vegetation, environmental factors (pollution, industrialization,

etc.), beekeeping equipment, beehive production material (plastic, wood, etc.) and differences in sample collection methods (scraping or trapping method, etc.).

### CONCLUSION

In this study, the major components of the propolis samples were detected as trans ferulic acid and quercetin for the TP and CP samples, chlorogenic acid for the EP and BP1 samples and *p*-coumaric acid for the BP2 sample. Caffeic acid, which is an important component for the quality determination of propolis, was found to be the highest in the BP1 and TP samples, respectively. In addition, the results confirmed that the individual phenolics of propolis contribute to antioxidant activity in particular, and that propolis can also be used as a supplement in diets as an antioxidant source. It is thought that the elemental compositions of propolis samples can be important in distinguishing their regional origin and also providing an idea of the quality of the product and where it should be used. Overall, this study confirmed that the chemical content of propolis has significant differences depending on the geographical location it was produced. The reason for this could be that bees in different geographical locations use different flowers and trees to make the propolis. However, further research must be conducted to understand the contributions of the valuable compounds of propolis.

### Acknowledgment

Thank you to Assist. Prof. Yeliz Kaşko Arıcı conducted the statistical analysis of this study and Trakya University, Technology Research and Development Application and Research Center.

### REFERENCES

- Ahn, MR., Kumazawa. S., Usui, Y., Nakamura. J., Matsuka, M., Zhu, F., Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 2007, pp. 1383-1392. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.03.045
- Alamyel, F. B., Ali Abushaala, F., Abshwigir, R.M., Alwoshesh, M. M., Hussain, M. S. (2018). Antibacterial and antifungal activity of the propolis growing in the basin of mediterranean city Misurata, Libya. *The Pharmaceutical and Chemical Journal*, 5, 2018, pp. 63-70.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., Kolaylı, S. 2013. Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International Journal of Food Properties* 16(2), 277-287. DOI: 10.1080/10942912.2010.551312.
- Banskota, AH., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Alfredo, AGH., Kadota, S. 2000. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 239-246. DOI: doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00252-x.
- Bayram, S., Bayram, NE., Gerçek, YC., Aydoğan, MN., Oz, GC. (2017). Chemical analysis and antimicrobial effect of propolis from Hakkari province of Turkey against some pathogenic microorganisms. *Eur. J. Biol*, 76, 74-78.
- Cantarelli, MÁ., Camiña, JM., Pettenati, EM., Marchevsky, EJ., Pellerano, RG. 2011. Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics. *LWT-Food Science and Technology* 44(1), 256-260. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.06.031.
- Coelho, J., Falcao, S., Vale, N., Almeida-Muradian L., Vilas-Boas M. 2017. Phenolic composition and antioxidant activity assessment of southeastern and south Brazilian propolis. *Journal of Apicultural Research*, 56, 21-31. DOI: 10.1080/00218839.2016.1277602.
- de Oliveira Reis, JH., de Abreu Barreto, G., Cerqueira, JC., dos Anjos, JP., Andrade, LN., Padilha, FF. 2019. Machado, B. A. S.: Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. *PLoS one*, 14(7), 2019, pp.1-27. DOI: 10.1371/journal.pone.0219063.
- Dogan, M., Silici, S., Saraymen, R., Ihan, IO. 2006. Element content of propolis from different regions of Turkey. *Acta Alimentaria* 35(1), 127-130. DOI: 10.1556/aalim.35.2006.1.14
- Fischer, UA., Carle, R., Kammerer, DR. (2011). Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry* 127(2), 2011, pp. 807-821. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.156.
- Gardini, S., Bertelli, D., Marchetti, L., Graziosi, R., Pinetti, D., Plessi, M., Marazzan, GL. 2018. Chemical composition of Italian propolis of different ecoregional origin. *Journal of Apicultural Research* 57(5), 2018, pp. 639-647. DOI: 10.1080/00218839.2018.1494911.
- Golubkina, NA., Sheshnitsan, SS., Kapitalchuk, MV., Erdenotsogt, E. 2016. Variations of chemical element composition of bee and beekeeping products in different taxons of the biosphere. *Ecological Indicators* 66, 452-457. DOI: 10.1016/j.jtemb.2017.09.022.
- Gong, S., Luo, L., Gong, W., Gao, Y., Xie, M. (2012). Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China. *Food Chemistry* 134(1): 583-588 (2012). DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.127.
- González-Martín, M., Escuredo, O., Revilla, I., Vivar-Quintana, A., Coello, M., Riocerezo, C., Moncada, G. (2015). Determination of the mineral composition and toxic element contents of propolis by near infrared spectroscopy. *Sensors*, 15(11), 2015, pp. 27854-27868. DOI: 10.3390/s151127854
- Herald, TJ., Gadgil, P., Tilley, M. 2012. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *J. Sci. Food Agric* 92(11), 2326-2331. DOI: 10.1002/jsfa.5633.
- Kolaylı, S., Ebru Cakir, H., Sahin, H. 2016. Anti-Inflammatory Activities of Some Bee Products by Inhibition of Bovine Testes Hyaluronidase. *Current Enzyme Inhibition*, 12(2), 183-187. <https://doi.org/10.2174/1573408012666160229224038>.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Naidu, R. 2015. Bioremediation potential of natural polyphenol rich green wastes: a review of current research and recommendations for future directions. *Environmental Technology & Innovation* 4, 17-28. DOI: 10.1016/j.eti.2015.04.001.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. 2016. Agronomic and remedial benefits and risks of applying biochar to soil: current knowledge and future research directions. *Environment International* 87, 2016, pp. 1-12.
- Liben, T., Atlabachew, M., Abebe, A. 2018. Total phenolic, flavonoids and some selected metal content in honey and propolis samples from South Wolo zone, Amhara region, Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture* 4(1), 2018, pp. 1-12. DOI: 10.1080/23311932.2018.1475925.
- Lovaković, BT., Lazarus, M., Karačonji, IB., Jurica, K., Semren, TŽ., Lušić D., Pizent, A. 2018. Multi-elemental composition and antioxidant properties of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey from the coastal region of Croatia: Risk-benefit analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 45, 2018, pp. 85-92.
- Magalhaes, L., Santos, F., Segundo, M., Reis, S., Lima, J. 2010. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83, 441-447. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.09.042.
- Oroian, M., Amariei, S., Leahu, A., Gutt, G. 2015. Multi-element composition of honey as a suitable tool for its authenticity analysis. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 65(2), 2015, pp. 93-100. DOI: 10.1515/pjfn-2015-0018.
- Pietta, PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* 63(7), 1035-1042. DOI:
- Popova, M., Trusheva, B., Bankova, V. 2017. Content of biologically active compounds in Bulgarian propolis: a basis for its standardization. *Bulg. Chem. Commun* 49, 2017, pp. 115-120.
- Rao, CV., Desai, D., Kaul, B., Amin, S., Reddy, BS. 1992. Effect of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth. *Chemico-Biological Interactions* 84(3), 277-290. DOI: 10.1016/0009-2797(92)90129-9.
- Re, R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* 26(9-10), 1231-1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Salatino, A., Teixeira, ÉW., Negri, G. 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2(1), 33-38. DOI: 10.1093/ecam/neh060.
- Sforcin, J., Bankova, V. 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 133, 253-260.
- Silici, S., Koç, NA., Ayangil, D., Çankaya, S. (2005). Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *Journal of pharmacological sciences*, 99(1), 39-44. <https://doi.org/10.1254/jphs.fpe05002x>.
- Šturm L, Ulrich NP. 2019. Advances in the Propolis Chemical Composition between 2013 and 2018: A Review. *eFood*. 1: 24–37.
- Szliszka, E., Kucharska, AZ., Sokół-Łętowska, A., Mertas, A., Czuba, ZP., Król, W. 2013. Chemical composition and anti-inflammatory effect of ethanolic extract of Brazilian green propolis on activated J774A. 1 macrophages. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-13. DOI: 10.1155/2013/976415.
- Tapia, A., Rodriguez, J., Theoduloz, C., Lopez, S., Feresin, GE., Schmeda-Hirschmann, G. 2004. Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. *Journal of Ethnopharmacology* 95(2-3), 155-161. DOI: 10.1016/j.jep.2004.06.035.
- Teixeira EW, Negri G, Salatino A, Stringheta PC. 2010. Seasonal variation, chemical composition and antioxidant activity of Brazilian propolis samples. *Comput Theor Chem* 7: 307-315.
- Temiz, A., Şener, A., Tüylü, AÖ., Sorkun, K., Salih, B. (2011). Antibacterial activity of bee propolis samples from different geographical regions of Turkey against two foodborne pathogens, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. *Turkish Journal of Biology*, 35(4), 503-511.
- Temizer, İK., Güder, A., Çelemlı, ÖG. (2017). Botanical origin and antioxidant activities of

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- propolis from the Irano-Turanian region. *Istanbul J. Pharm*, 47, 107-111. <https://doi.org/10.5152/istanbuljpharm.2017.0017>.
- Vargas-Sanchez, R., Mendoza-Wilson, A., Torrescano Urrutia, G., Sanchez Escalante, A. 2015. Antiradical potential of phenolic compounds fingerprints of propolis extracts: DFT approach. *Computational and Theoretical Chemistry* 1066, 7-13. DOI: 10.1016/j.comptc.2015.05.003.
- Wang, X., Sankarapandian, K., Cheng, Y., Woo, S., Kwon, H., Perumalsamy, H., Ahn, Y. 2016. Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. *Bmc Complementary and Alternative Medicine* 16(1), 2016. DOI: 10.1186/s12906-016-1043-y.
- Yang, H., Dong, Y., Du, H., Shi, H., Peng, Y., Li, X. 2011. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules* 16,3444-3455. DOI: 10.3390/molecules16043444.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4), 555-559. DOI: 10.1016/s0308-8146(98)00102-2.
- Zhou, J., Qi, Y., Ritho, J., Zhang, Y., Zheng, X., Wu, L 2015. Flavonoid glycosides as floral origin markers to discriminate of unifloral bee pollen by LC–MS/MS. *Food Control* 57, 54-61. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.03.035.
- Zilius, M., Ramanauskiene, K., Juskaite, V., Briedis, V. 2016. Formulation of Propolis Phenolic Acids Containing Microemulsions and Their Biopharmaceutical Characterization. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-7. DOI: 10.1155/2016/8175265.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# DETERMINATION OF PEDIATRIC NURSES' KNOWLEDGE, ATTITUDES, AND EXPERIENCES ON APITHERAPY: A CROSS-SECTIONAL MULTICENTER STUDY

Pediatri Hemşirelerinin Apiterapi Hakkındaki Bilgi, Tutum ve Deneyimlerinin Belirlenmesi: Kesitsel Çok Merkezli Bir Çalışma

Vildan APAYDIN CIRIK<sup>1</sup>, Bahar AKSOY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Ana Bilim Dalı, Karaman, TURKEY, ORCID No: 0000-0002-9494-7283, Yazışma yazarı/Corresponding author: E-mail: vildan.isil42@gmail.com

<sup>2</sup>Gümüşhane Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Gümüşhane, TURKEY, ORCID No: 0000-0003-0466-5918, E-mail: baharaksoy6161@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 28.08.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 29.09.2020

DOI: 10.31467/uluaricilik.787299

### ABSTRACT

Honey production and beekeeping practices are more common in the Eastern Black Sea region. This study was conducted to determine the knowledge, experience and attitudes the use of personal and professional apitherapy of pediatric nurses working in the pediatric clinics of the largest hospitals in the Eastern Black Sea region. The study was conducted with 227 pediatric nurses who volunteered to participate in the study, working in six hospitals in Turkey's Eastern Black Sea region. In this study, there is a correlation between gender, having child, clinical experience, and the use of apitherapy. Honey is the most common apitherapeutic product used by nurses both for personal (40,4%) and clinical use (39,1%). Nurses stated that they do not know bee venom, and they know very little about propolis and royal jelly. The nurses listed their positive experiences concerning honey's capacity to "alleviate cough symptoms, treat gastritis, strengthen immune system, effectively heal wounds and burns" and their negative experiences concerning its side effects, such as allergy, dizziness, headache, and itching". It is important that nurses take responsibility for the apitherapy method included in complementary and alternative medicine methods and that nurses can use evidence-based apitherapy methods. It was recommended that nurses should be knowledgeable and careful about the benefits and side effects of apitherapy.

**Keywords:** Apitherapy, Attitude, Knowledge, Nurses, Pediatric

### ÖZET

Bal üretimi ve arıcılık uygulamaları Doğu Karadeniz bölgesinde daha fazla yapılmaktadır. Bu araştırma, Doğu Karadeniz bölgesinde bulunan hasta kapasitesi en büyük hastanelerinin pediatri kliniklerinde çalışan pediatri hemşirelerinin kişisel ve profesyonel apiterapi kullanımına ilişkin bilgi, deneyim ve tutumlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırma, Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki altı hastanede çalışan, çalışmaya katılmaya gönüllü 227 pediatri hemşiresi ile gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmada, cinsiyet, çocuk sahibi olma ve klinik deneyim ile apiterapi kullanımı arasında korelasyon bulunmaktadır. Bal hemşirelerin hem kişisel (%40,4) hem de klinik kullanımda (%39,1) kullandığı en yaygın apiterapötik bir üründür. Hemşireler arı zehirini bilmediklerini, propolis ve arı sütü hakkında ise çok az şey bildiklerini ifade etmişlerdir. Hemşireler, balın "öksürük semptomlarını hafifletme, gastriti tedavi etme, bağışıklık sistemini güçlendirme, yaraları ve yanıkları etkili bir şekilde iyileştirme" gibi olumlu deneyimlerini ve "alerji, baş dönmesi, baş ağrısı ve kaşıntı" gibi yan etkileriyle ilgili olumsuz

deneyimlerini belirtmişlerdir. Tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerinde yer alan apiterapi yöntemi hakkında hemşirelerin sorumluluk alması ve kanıta dayalı apiterapi yöntemlerini kullanabilmeleri oldukça önemlidir. Hemşirelerin apiterapinin yararları ve yan etkileri konusunda bilgili ve dikkatli olmaları önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Apiterapi, Tutum, Bilgi, Hemşireler, Pediatrik

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

**Amaç:** Apitherapy (*Apis* arı anlamına gelen Latince bir kelimedir) bal, polen, propolis, arı sütü ve arı zehiri gibi arı ürünlerini hastalık önleme ya da tedavi önerileri için kullanma pratiğidir. Apiterapi ürünleri, yüzyıllardır farklı kültürlerde sağlığı sürdürme ve birçok sağlık problemi için kullanılmaktadır (Cherbuliez, 2013, Özkan and Bancar 2015). Apiterapi ürünlerinin sıklıkla kullanılması nedeniyle, toplumun ihtiyaçlarını karşılamakla sorumlu olan sağlık profesyonellerinin bu konudaki bilgi düzeylerini artırmaları bir zorunluluk haline geldiği düşünülmektedir. Doğu Karadeniz’de bal üretiminin ve arıcılık uygulamalarının fazla olması nedeniyle bu araştırma Doğu Karadeniz bölgesinde bulunan hasta kapasitesi en büyük hastanelerinin pediatri kliniklerinde çalışan pediatri hemşirelerinin kişisel ve profesyonel apiterapi yöntemlerini kullanımına ilişkin bilgi, deneyim ve tutumlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

**Yöntem:** Araştırmada, kesitsel ve korelasyonel bir tasarım kullanılmıştır. Araştırma, Türkiye’nin Doğu Karadeniz Bölgesi’ndeki Rize Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Giresun Üniversitesi Prof.Dr. A. İlhan Özdemir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi, Ordu Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bayburt Devlet Hastanesi, Gümüşhane Devlet Hastanesi ve Artvin Devlet Hastanesi’nde gerçekleştirilmiştir. Veriler, Temmuz 2019-Mart 2020 tarihleri arasında araştırmacılar tarafından geliştirilen bir anket formu kullanılarak toplanmıştır. Çalışmaya katılan hemşirelerden bir hafta içerisinde anketi iade etmeleri ve diğer hemşirelerle anket hakkında görüşmemeleri istenilmiştir. Anket sırasında bölgedeki hastanelerde 251 çalışan hemşire bulunmaktadır. Araştırmanın örneklemini ise 227 hemşire (%90) oluşturmuştur.

**Bulgular:** Cinsiyet, çocuk sahibi olma ve klinik deneyim ile apiterapi kullanımı arasında korelasyon bulunmaktadır. Apiterapi yönteminin kişisel kullanma durumunun hemşirelerin cinsiyetinden etkilendiğini, cinsiyeti kadın olan hemşirelerin önemli düzeyde

kişisel olarak apiterapi yöntemini kullandığı saptanmıştır ( $p<0.01$ ). Çocuğu olan pediatri hemşirelerinin %62,2’si kişisel olarak apiterapi yöntemini kullanırken, %65’i profesyonel olarak apiterapi yöntemini kullanmaktadır. Apiterapi yönteminin kişisel kullanımı ile çocuğu olma değişkeni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ( $p<0.05$ ). 6-10 yıl klinik deneyime sahip pediatri hemşirelerinin kişisel olarak apiterapi yöntemini daha fazla kullandığını ve bu durumda istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bal, hemşirelerin hem kişisel (%40,4) hem de klinik ortamda (%39,1) kullandığı en yaygın apiterapötik bir üründür. Hemşireler arı zehirini bilmediklerini, propolis ve arı sütü hakkında ise çok az şey bildiklerini ifade etmişlerdir. Pediatri hemşirelerinin %75,3’ü solunum yolu enfeksiyonlarını önlemek, %49,3’ü bağışıklık sistemini güçlendirmek, %40,1’i anemiyi önlemek ve %37’si zihinsel aktiviteyi artırmak için apiterapi ürünlerinden biri olan balı kişisel olarak kullanmaktadır. Pediatri hemşireleri apiterapi ürünlerinden balı; %83,7’si solunum yolu enfeksiyonlarını önlemek, %69,8’i bağışıklık sistemini güçlendirmek, %18,6’sı anemiyi önlemek ve %11,6’sı zihinsel aktiviteyi artırmak için klinikte profesyonel olarak kullanmaktadır. Hemşireler, balın “öksürük semptomlarını hafifletme, gastriti tedavi etme, bağışıklık sistemini güçlendirme, yaraları ve yanıkları etkili bir şekilde iyileştirme” gibi olumlu deneyimlerini ve “alerji, baş dönmesi, baş ağrısı ve kaşıntı” gibi yan etkileriyle ilgili olumsuz deneyimlerini belirtmişlerdir.

**Sonuç:** Türkiye’de Apiterapötik merkezlerin ve yönetmeliklerin varlığına rağmen, az sayıda pediatri hemşiresi apiterapi yöntemlerinin farkındadır. Tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerinde yer alan apiterapi yöntemi hakkında hemşirelerin sorumluluk alması ve kanıta dayalı apiterapi yöntemlerini kullanabilmeleri oldukça önemlidir. Hemşirelerin apiterapinin yararları ve yan etkileri konusunda bilgili ve dikkatli olmaları önerilmektedir.

### INTRODUCTION

An alternative medicine branch, called apitherapy, has developed in recent years, offering treatments based on honey and the other bee products against many diseases (Bogdanov et al., 2008). Apitherapy is *the science (and art) of the use of honey, pollen, propolis, royal jelly and bee venom*” (Bogdanov et al., 2008, Fratellone et al., 2016). In addition, apitherapy are used to help protect health (Cherbuliez, 2013). In most ancient cultures, honey and other bee products were used for both nutritional and medical purposes. Therefore, it can be said that apitherapeutic products are used for a long time as a nutritional supplement in addition to its medical use. The favorable climate conditions and abundance of honey plants essential to apiculture and apicultural products are notable advantages of Turkey. Turkey's hosting 75% of the honey plants species and types in the world is considered to signify its remarkably diverse nature (Semerci, 2017). According to the General Directorate of Agricultural Research and Policies (2019), Turkey in the second with 115 thousand tons, and Argentina in the third with 76 thousand tons (General Directorate of Agricultural Research and Policies, 2019).

Apitherapy has been described in Turkey under *the Decree-Law, which was enacted by the Ministry of Health on October 27, 2014*” (Resmi Gazete, 27 October 2014). In Turkey, the use of apitherapeutic products for the treatment of diseases is not common (Bölüktepe and Yilmaz 2008, Tunca et al., 2015). The earliest information on the use of honey in children's nutrition dates back to about the ninth century. In a study, 29% of parents with children under the age of five spontaneously give their children honey, which is a product of apitherapy, without a disease (Kumar et al., 2011). In a randomized controlled experimental study, honey, which is a product of apitherapy, has been found to reduce upper respiratory tract infections, cough and regulate children's sleep comfort (Cohen et al., 2012). Although some types of honey are innocuous to bees, they can be toxic to humans (especially under 12 months of age) (Cohen et al., 2012; Cherbuliez, 2013, Godart et al., 2014). For this reason, it is important to use honey in children very carefully and to inform parents of its potential harms. In this regard, it is thought that pediatric nurses, who are in constant communication with parents, have a great role.

Parents often prefer apitherapeutic products, especially for their children, as they think they are traditional, accessible, natural, safer, and more effective than medicines (Özkan and Bancar 2015). Pharmacological agents (dextromethorphan and codeine) used in the treatment of cough, especially in young children, can cause life-threatening side effects with serious potential. Therefore, their use in young children is not recommended and other alternatives are needed for the prevention or treatment of upper respiratory infections (Shadkam et al. 2010). Royal jelly, as another apitherapeutic product, is a honeybee product that contains basic cell elements (Park et al. 2011). Especially pollens are known for their antiseptic, diuretic, menstrual, laxative, myocardial, and sedative effects (Cherbuliez, 2013). Bee venom treatment is an apitherapy method that gives the opportunity to observe various effects in each sting and has effects in reducing pain (Cherbuliez, 2013). Despite the effectiveness of the other apitherapeutic products, these products are not used frequently and information on these methods is insufficient in Turkey (Kavurmaci and Tan 2019). The apitherapeutic product most frequently used by nurses using apitherapeutic products is honey in Turkey. It has been found that the other apitherapeutic products used by nurses are pollen, propolis, and royal jelly. On the other hand, bee bread and bee venom are not used by nurses (Kavurmaci and Tan 2019).

Due to the frequent use of apitherapeutic products, it is thought that health professionals who are responsible for meeting the needs of the society should increase their level of knowledge on this issue. Physicians who are certified in Turkey are allowed to practice apitherapy. However, nurses have not been given legal responsibility and enforcement permission in this regard (Resmi Gazete, 27 October 2014). Although pediatric nurses are not given a legal responsibility, the level of knowledge and attitudes of nurses are very important since they are in constant communication with child patients and their parent. For this reason, together with the changing roles of pediatric nursing, there is a great responsibility for nurses who provide 24-hour care to patients, work focused on care, and apply evidence-based methods. Nursing plays a notable role in complementary treatment practices as an independent, research-based field in health care (Khorshid and Yapucu 2005). Nevertheless, in a study carried out in Turkey, pediatric nurses have



expressed that health care professionals are not responsible about these products (Cırık et al 2017). In another study, almost half (40%) of the primary healthcare practitioners have mentioned that honey is used for children, but few perceive it as a treatment. In addition, some practitioners have stated that they have difficulty communicating the risks of these methods to parents (Kumar et al., 2011). It is more important than ever to train pediatric nurses for the use of apitherapy in children, raise awareness of, promote the use of evidence-based practices, and provide holistic approaches with other team members. However, there has been no research on pediatric nurses' knowledge of and attitudes to apitherapy and their experience of apitherapy. Pediatric nurses' knowledge, attitudes and experiences may affect the level of children's exposure to apitherapy. The aim of this study was to define the knowledge, experiences and attitudes of pediatric nurses working at multicenter hospitals related to personal/professional use of apitherapy.

### **MATERIAL and METHODS**

#### **Research Design**

Cross-sectional and descriptive design was used in this study. We conducted descriptive correlation analyses to investigate the relationships among nurses' socio-demographic variables and use of apitherapy.

In the research, pediatric nurses;

1. What are the knowledge levels and attitudes regarding apitherapy methods?
2. What are the personnel and professional uses of apitherapy methods?
3. What are the personnel and professional experiences of apitherapy methods?
4. Which variables affect the use of apitherapy methods? Questions were evaluated.

#### **Setting and Participants**

Honey production and beekeeping due to more research in the Eastern Black Sea Region of Turkey are widely practiced in this region. In Turkey, the region occupies the first place in honey production, accounting for 21% of the national production. The region's geographical location, climate conditions, and highly diverse vegetation make it favorable for apicultural activities. There are seven provinces in

the Eastern Black Sea Region, namely Ordu, Giresun, Trabzon, Rize, Gümüşhane, Bayburt and Artvin, known for apiculture.

The pediatric nurses working at the hospitals with the highest patient/bed capacity in these provinces constitute the population of the study. All the nurses who volunteered to participate in the study were included in the sample of the study without being subjected to a sample selection method. The necessary institution permit could not be obtained from one of the seven hospitals. Therefore, the multicenter study was carried out in six. The population of the study consists of 251 pediatric nurses working in six hospitals. The study was conducted with 227 (90%) pediatric nurses who agreed to participate in the study between July 2019 and March 2020.

#### **Data Collection Tools**

After detailed literature review (Bölüktepe and Yılmaz 2008; Kumar et al., 2011; Cohen et al., 2012; Cherbuliez, 2013; Özkan and Bancar 2015; Cırık et al 2017, Kavurmaci et al. 2019) it was decided to perform a new questionnaire. The questionnaire consisted of three parts and a total of 21 items. The first section included the items about descriptive characteristics of the nurses (gender, age, educational status, having children, identity of clinic in which the nurse worked, and working time of work unit). The second section included the items regarding the nurses' level of knowledge about apitherapy, their knowledge source, apitherapeutic products used by them (for them, their family members, and their patients), and their intended use of these products. In addition, there was a table with 15 statements in this section. In this table, the nurses were asked to respond to the items about apitherapeutic products and their application as "I agree", "I am neutral" and "I disagree". In the third part, they were also asked to evaluate whether the methods they used were "effective" or "ineffective" based on their experiences. First of all, the questionnaire was finalized by making a pilot application. After making the necessary explanation about the research, the questionnaire was distributed to the nurses by the researchers and asked to fill it in a week. In the process of filling the questionnaire, the nurses were asked not to communicate with each other about the questionnaire in this process in order not to affect each other.

### Statistical Analysis

The data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences software for Windows (version 25.0). The descriptive statistics were produced using totals and percentages for the categorical variables. The nominal data were evaluated in view of frequencies and percentages. Pearson's chi square test was performed to determine the correlation between the personal and professional use of apitherapy and socio-demographic characteristics. Binary logistic regression analysis was conducted to create a prediction model based on the cause-effect relationship between the socio-demographic characteristics of pediatric nurses and their personal apitherapy method use cases. In the logistic model in this study, the independent variables are the socio-demographic characteristics of pediatric nurses. The predicted dependent variable has two categories: (0) Using the personal apitherapy method, (1) not using the personal apitherapy method. Variables that differ significantly from the socio-demographic characteristics of pediatric nurses according to the use and non-use of personal apitherapy method were included in the model as a predictor variable. The p value was set at .05, the confidence intervals (CIs) surrounding odd ratios (ORs) of 95% were reported.

### Ethical Considerations

The study was approved by the respective hospitals and a university ethics committee (Date: 2019, Number: 95674917-108.99-E.25355). The participants were also assured of their right to refuse participation and that all the information obtained would be used for research purposes only. The study was carried out in accordance with the Helsinki Declaration Principles.

## RESULTS

### Socio-Demographic Characteristics of Pediatric Nurses According to Apitherapy Use

The relationship between the socio-demographic characteristics of the pediatric nurses and the personal and professional use of apitherapy methods is given in Table 1.

When the pediatric nurses participating in the study were examined according to age variable, it was found that 53,6% of the pediatric nurses in the 30-39 age group used the apitherapy method personally, while 53,5% of the nurses in the same age group used the apitherapy method in the professional. It was also revealed that the pediatric nurses of 30-39 years of age personally used apitherapy more frequently than the other age groups and that this difference was considerably significant ( $p < 0.01$ ). However, no statistically significant difference was found between professional use of apitherapy method and age ( $p > 0.05$ ). When the pediatric nurses participating in the study were examined by gender variable, 87.6% of female pediatric nurses personally use the apitherapy method, while 90,7% of the same sex nurses use the apitherapy method professionally. Moreover, the female nurses were found to resort to apitherapy methods more frequently than the male ones, which refers to a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). There is no statistically significant difference between professional use of the apitherapy method and gender ( $X^2 = 1.007$ ,  $p = 0.316$ ).

When the personal and professional use of apitherapy method is compared according to the educational status of pediatric nurses; 58,9% of the nurses with undergraduate and above education use apitherapy method personally and 55,8% professionally. There is no statistically significant difference between educational status and personal and professional use of apitherapy [ $(X^2 = .123$ ,  $p = 0.940$ ), ( $X^2 = .237$ ,  $p = 0.888$ )]. The higher educational levels of the nurses were revealed to signify increased use of apitherapy. When pediatric nurses are examined according to the variable of having a child, 62,2% of the nurses with children use the apitherapy method personally, while 65% use the apitherapy method professionally. It was found that the nurses with children personally adopted apitherapy methods more frequently and this difference was calculated to be considerably statistically significant ( $p < 0.01$ ). However, there was no statistically significant difference between professional use of apitherapy and having a child ( $p > 0.05$ ).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

**Table 1:** Socio-demographic characteristics of pediatric nurses according to personal and professional apitherapy use

Variable	Personal use*		$\chi^2$ p	Professional use**		$\chi^2$ p
	Used n(%)	Not used n(%)		Used n(%)	Not used n(%)	
<b>Age, years</b>						
18-29	65 (%31.1)	14 (%77.8)	15.920 p<0.01	14 (%32.6)	65 (%35.3)	.173 0.917
30-39	112 (%53.6)	3 (%16.7)		23 (%53.5)	92 (%50.0)	
40-59	32 (%15.3)	1 (%5.6)		6 (%14.0)	27 (%14.7)	
<b>Gender</b>						
Female	183 (%87.6)	12 (%66.7)	5.974 0.015	39 (%90.7)	156 (%84.8)	1.007 0.316
Male	26 (%12.4)	6 (%33.3)		4 (%9.3)	28 (%15.2)	
<b>Educational attainment</b>						
Vocational school of health	44 (%21.1)	4 (%22.2)	.123 0.940	10 (%23.3)	38 (%20.7)	.237 0.888
Associate degree	42 (%20.0)	3 (%16.7)		9 (%20.9)	36 (%19.6)	
Bachelor's degree and Postgraduate qualification	123 (%58.9)	11 (%61.1)		24 (%55.8)	110 (%59.8)	
<b>Having children</b>						
Yes	130 (%62.2)	5 (%27.8)	8.148 p<0.01	28 (%65.1)	107 (%58.2)	.701 0.402
No	79 (%37.8)	13 (%72.2)		15 (%34.9)	77 (%41.8)	
<b>Service</b>						
Emergency	34 (%16.3)	9 (%50.0)	3.265 0.195	22 (%51.2)	73 (%39.7)	3.042 0.218
Intensive Care Unit	89 (%42.6)	5 (%27.8)		4 (%9.3)	35 (%19.0)	
Pediatric service	86 (%41.1)	4 (%22.2)		17 (%39.5)	76 (%41.3)	
<b>Experience as a nurse, years</b>						
1-5	75 (%35.9)	13 (%72.2)	9.537 p<0.01	20 (%46.5)	68 (%37.0)	1.730 0.421
6-10	83 (%39.7)	4 (%22.2)		13 (%30.2)	74 (%40.2)	
11 ≥	51 (%24.4)	1 (%5.6)		10 (%23.3)	42 (%22.8)	
<b>Knowing about apitherapy methods</b>						
Honey	209 (%40.4)	18 (%43.9)	1.534 0.821	43 (%39.1)	184 (%41.1)	2.498 0.645
Pollen	178 (%34.4)	15 (%36.6)		36 (%32.7)	157 (%35.0)	
Propolis	107 (%20.7)	7 (%17.1)		24 (%21.8)	90 (%20.1)	
Royal jelly	23 (%4.4)	1 (%2.4)		7 (%6.4)	17 (%3.8)	
<b>Learning about apitherapy method</b>						
Family	160 (%27.1)	17 (%34.7)	6.801 0.236	33 (%25.6)	144 (%28.2)	7.549 0.183
Doctor	161 (%27.3)	15 (%30.6)		37 (%28.7)	139 (%27.3)	
Nurse	114 (%19.3)	8 (%16.3)		26 (%20.2)	96 (%18.8)	
Television	84 (%14.2)	7 (%14.3)		18 (%14.0)	73 (%14.3)	
Internet	71 (%12.0)	2 (%4)		15 (%11.6)	58 (%11.4)	

Variable	Personal use*		$\chi^2$ p	Professional use**		$\chi^2$ p
	Used n(%)	Not used n(%)		Used n(%)	Not used n(%)	
<b>Age, years</b>						
18-29	65(%31,1)	14(%77,8)	15,920 p<0.01	14(%32,6)	65(%35,3)	.173 0.917
30-39	112(%53,6)	3(%16,7)		23(%53,5)	92(%50,0)	
40-59	32(%15,3)	1(%5,6)		6(%14,0)	27(%14,7)	
<b>Gender</b>						
Female	183(%87,6)	12(%66,7)	5,974 0,015	39(%90,7)	156(%84,8)	1.007 0,316
Male	26(%12,4)	6(%33,3)		4(%9,3)	28(%15,2)	
<b>Educational attainment</b>						

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Vocational school of health	44(%21,1)	4(%22,2)	.123 0.940	10(%23,3)	38(%20,7)	.237 0,888
Associate degree	42(%20,0)	3(%16,7)		9(%20,9)	36(%19,6)	
Bachelor's degree and Postgraduate qualification	123(%58,9)	11(%61,1)		24(%55,8)	110(%59,8)	
<b>Having children</b>						
Yes	130(%62,2)	5(%27,8)	8.148	28(%65,1)	107(%58,2)	.701
No	79(%37,8)	13(%72,2)	p<0.01	15(%34,9)	77(%41,8)	0.402
<b>Service</b>						
Emergency	34(%16,3)	9(%50,0)	3.265	22(%51,2)	73(%39,7)	3.042
Intensive Care Unit	89(%42,6)	5(%27,8)	0,195	4(%9,3)	35(%19,0)	0,218
Pediatric service	86(%41,1)	4(%22,2)		17(%39,5)	76(%41,3)	
<b>Experience as a nurse, years</b>						
1-5	75(%35,9)	13(%72,2)	9.537	20(%46,5)	68(%37,0)	1.730
6-10	83(%39,7)	4(%22,2)	p<0.01	13(%30,2)	74(%40,2)	0,421
11 ≥	51(%24,4)	1(%5,6)		10(%23,3)	42(%22,8)	
<b>Knowing about apitherapy methods</b>						
Honey	209(%40,4)	18(%43,9)	1.534	43(%39,1)	184(%41,1)	2.498
Pollen	178(%34,4)	15(%36,6)	0,821	36(%32,7)	157(%35,0)	0,645
Propolis	107(%20,7)	7(%17,1)		24(%21,8)	90(%20,1)	
Royal jelly	23(%4,4)	1(%2,4)		7(%6,4)	17(%3,8)	
<b>Learning about apitherapy method</b>						
Family	160(%27,1)	17(%34,7)	6.801	33(%25,6)	144(%28,2)	7.549
Doctor	161(%27,3)	15(%30,6)	0,236	37(%28,7)	139(%27,3)	0,183
Nurse	114(%19,3)	8(%16,3)		26(%20,2)	96(%18,8)	
Television	84(%14,2)	7(%14,3)		18(%14,0)	73(%14,3)	
Internet	71(%12,0)	2(%4,1)		15(%11,6)	58(%11,4)	

\* **Personal use:** It includes nurses themselves and their family members.

\*\* **Professional use:** It covers the clinics and patients of the nurses.

When the personal and professional use of apitherapy method is compared according to the service status of the pediatric nurses; it was determined that 42.6% of the nurses who used the apitherapy method personally worked in the intensive care unit, and 51.2% of the nurses using professional work in the emergency department. There is no statistically significant difference between the service worked and the use of apitherapy method personally and professionally [(X<sup>2</sup>=3.265, p=0.195), (X<sup>2</sup>=3.042, p=0.218)]. When the pediatric nurses are examined according to the working time variable, 39.7% of the nurses working for 6-10 years use the apitherapy method personally, while 46.5% of the nurses working for 1-5 years use the apitherapy method professionally. However, there was no statistically significant difference between the professional use of the apitherapy method and the duration of study (p> 0.05). Besides, the pediatric nurses with clinical experience of 6-10

years were revealed to personally employ apitherapy methods more frequently, which referred to a considerably statistically significant difference (p<0.01). When examined by pediatric nurses' knowledge of apitherapy products; 40.4% of the nurses who use the apitherapy method personally know honey, 34.4% pollen, 20.7% propolis and 4.4% royal jelly. 39.1% of the nurses who use apitherapy professionally know honey, 32.7% pollen, 21.8% propolis and 6.4% royal jelly as apitherapy product. None were observed to know about bee venom as an apitherapeutic product. The participants knowing of honey as an apitherapeutic product were revealed to use apitherapy method more frequently. There is no statistically significant difference between knowing apitherapy products and using apitherapy method personally and professionally [(X<sup>2</sup>=1.534, p=0.821), (X<sup>2</sup>=2.498, p=0.645)].

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

It was understood that the pediatric nurses personally and professionally using apitherapy methods learned about these methods from doctors, their family members, nurses, television, and internet. There is no statistically significant difference between learning the apitherapy method and using the apitherapy method personally and professionally [( $X^2=6.801$ ,  $p=0.236$ ), ( $X^2=7.549$ ,  $p=0.183$ )]. The data showed that 91,6% of the pediatric nurses did not receive training on

apitherapy methods, whereas 81,5% wished to be trained.

### Factors Affecting The Use of Personal Apitherapy Method

The logistic regression analysis findings made to determine the factors affecting the use of personal apitherapy method are shown in Table 2.

**Table 2:** Factors affecting the use of personal apitherapy method

Variable	Using Personal Apitherapy Method	
	OR	95% CI
<b>Age, years</b>		
18-29	3.42*	0.11-106.22
30-39	0.38*	0.02-7.01
40-59	Referent	
<b>Gender</b>		
Female	0.25*	0.07-0.87
Male	Referent	
<b>Having children</b>		
Yes	0.58*	0.14-2.30
No	Referent	
<b>Experience as a nurse, years</b>	0.97*	0.78-2.30

\*  $p > 0.05$

As a result of the analysis, it was found that the binary logistic regression model established was statistically significant ( $-2 \log L=96.70$ ,  $X^2=24.11$ ,  $p<0.05$ ). The Hosmer-Lemeshow test findings indicate that the model has an acceptable fit and the model-data fit is sufficient ( $X^2=15.335$ ,  $p>0.05$ ). The Nagelkerke  $R^2$  value is shows that all of the independent variables explain 24% of the variance in the dependent variable. When the classification table is examined; It is seen that the total correct classification rate for the intended model is 92,5%. Whereas the logistic regression model was statistically significant, excluding the socio-demographic characteristics of the pediatric nurses from the logistic regression model did not cause a significant change. This implies that the predictor variables were highly correlated. The fact that the initial values of confidence intervals are below 1 and do not show statistical significance can be shown as evidence. This finding shows that the socio-demographic characteristics of the pediatric nurses

do not have a significant predictive power in predicting whether to use the personal apitherapy method.

### The Reasons of Pediatric Nurses to Use Apitherapy Methods

Among the reasons why the pediatric nurses personally and professionally use apitherapy methods are to prevent respiratory tract infection, to increase mental activity, to strengthen the immune system, and to prevent anemia. Moreover, to strengthen immune system, to prevent anemia, and to promote mental activity were found to be among the reasons why the nurses used propolis for personal purposes (Table 3).

The pediatric nurses were observed not to use propolis in their respective clinics. Furthermore, it was revealed that the pediatric nurses did not use royal jelly, pollen grain, bee bread, and bee venom for personal and professional purposes.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

**Table 3:** The reasons of pediatric nurses to use apitherapy methods

Reasons	Personal use	Professional use
	n(%)	n(%)
<b>Honey</b>		
Preventing respiratory infections / Cough	171 (%75.3)	36 (%83.7)
Strengthening the immune system	112 (%49.3)	30 (%69.8)
Preventing anemia	91 (%40.1)	8 (%18.6)
Increasing mental activity	84 (%37.0)	5 (%11.6)
<b>Propolis</b>		
Strengthening the immune system	23 (%10.1)	-
Preventing anemia	16 (%7.0)	-
Increasing mental activity	11 (%4.8)	-

### Pediatric Nurses' Knowledge on Apitherapy Methods

The data on the pediatric nurses' knowledge regarding the apitherapy methods are presented in Table 4.

78,9%, 65,2%, 63%, and 23,8% of the pediatric nurses were found to present the right answer by agreeing with "In Turkey, apitherapeutic products, such as honey, pollen, and propolis, are available at drug stores", "If used in the recommended doses, apitherapy exhibits fewer counter indications than medical drugs/therapies", "Intake of honey under a certain age is known to be harmful", and "Apitherapy is described in the Turkish regulations", respectively.

Moreover, 61,2%, 54,2%, and 35,2% gave the wrong answer by agreeing with "There are apitherapy centers in Turkey", "It is known that all apicultural products have positive effects on healing wounds and burns", and "Nurses are certified to practice apitherapy at medical centers", respectively.

### Personal and Professional Experiences of Pediatric Nurses Regarding Apitherapy Methods

183 pediatric nurses personally using apitherapy methods stated that they benefited from them. 56 of these nurses expressed their experiences as follows: "I used honey to ameliorate diarrhea in my child" (n=4), "I applied honey to my face, and the acnes decreased in number" (n=6), "I used honey for

my gastritis and it was relieved. I feel much better" (n=4), "I strengthened my and my child's immune system by using honey" (n=10), "I used honey for such conditions as cough and cold and I easily recovered from them" (n=12), "Honey reduced the occurrence of respiratory system diseases in my child" (n=12), "Honey helped my child put on weight" (n=8).

34,9% (15) of the nurses professionally applying apitherapy in their respective clinics stated that they benefited from apitherapy. 14 commented as follows: "I used honey in the occurrence of oral mucositis in cancer patients and it helped ameliorate and treat the mucositis (n=8) and "I used it to treat wounds and burns and it was quite effective" (n=6). 71,4% of the pediatric nurses recommended apitherapy method for personal and professional use.

22 pediatric nurses personally using apitherapy methods remarked that they did not observe positive effects. 14 of them commented as follows: "My child was one-year-old. It caused rashes after he/she ate honey and started to itch" (n=5), "One day I ate too much honey, which gave me dizziness and headache" (n=2), "I gave propolis to my two-year-old and he/she developed allergy and suffered from rashes" (n=2), and "I used honey to treat cold in my child and it proved no good" (n=5).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

**Table 4:** Knowledge of pediatric nurses on apitherapy methods

Item	Agree n(%)	Neutral n(%)	Disagree n(%)
1 There are apitherapy centers in Turkey. (T)*	41 (%18.1)	47 (%20.7)	139 (%61.2)
2 Apitherapy is described in the Turkish regulations. (T)	54 (%23.8)	80 (%35.2)	93 (%41.0)
3 Nurses are certified to practice apitherapy at medical centers. (F)**	80 (%35.2)	78 (%34.4)	69 (%30.4)
4 The use of honey has been introduced into the modern medicine. (T)	54 (%23.8)	44 (%19.4)	129 (%56.8)
5 The recommended daily intake of honey is 0.8-1.2 grams per liter for adults and children. (T)	84 (%37.0)	54 (%23.8)	89 (%39.2)
6 The limited use of honey for the pediatric population is known to result from botulism, honey intoxication, and allergic reactions. (T)	106 (%46.7)	91 (%40.1)	30 (%13.2)
7 Royal jelly is used as an antibacterial and antifungal agent. (F)	91 (%40.1)	54 (%23.8)	82 (%36.1)
8 Bee venom is administered intradermally and subcutaneously. (T)	68 (%30.0)	47 (%20.7)	112 (%49.3)
9 Bee venom is used to treat musculoskeletal pains. (T)	34 (%15.0)	52 (%22.9)	141 (%62.1)
10 It is known that all apicultural products have positive effects on healing wounds and burns. (F)	123 (%54.2)	51 (%22.5)	53 (%23.3)
11 In Turkey, apitherapeutic products, such as honey, pollen, and propolis, are available at drug stores (T)	179 (%78.9)	32 (%14.1)	16 (%7.0)
12 In Turkey, apitherapeutic products, such as royal jelly, bee poison, and bee bread, are available at drug stores. (F)	76 (%33.5)	107 (%47.1)	44 (%19.4)
13 At pediatric clinics, parents should be encouraged to use apitherapeutic products. (F)	126 (%55.5)	55 (%24.2)	46 (%20.3)
14 If used in the recommended doses, apitherapy exhibits fewer counter indications than medical drugs/therapies. (T)	148 (%65.2)	41 (%18.1)	38 (%16.7)
15 Intake of honey under a certain age is known to be harmful. (T)	143 (%63.0)	37 (%16.3)	47 (%20.7)

\*T: True

\*\*F: False

### DISCUSSION

This study investigated what the pediatric nurses in the Eastern Black Sea Region, which is listed, in the first place of honey production and consumption, know about apitherapy methods, whether and how they use them, and what their attitudes and experiences concerning these methods are.

Honey is the best known bee product among apitherapy products (Marangoz and Dolu 2019). Turkey is a study of bee products in the consumer, it was found that 39,6% of participants consume honey on a monthly basis between 0-500 grams. In addition, when asked which product is the first to associate with bee products in the study, 64% of the respondents stated only honey (Tunca et al., 2015).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Honey is the most common apitherapeutic product personally and professionally used by the nurses. A study on consumers of apitherapeutic products has revealed the most commonly known product to be honey (99,4%) (Bölüktepe and Yılmaz 2008). In a study conducted with consumers, they stated that among apitherapy products, the bee products they know best are “Petek Honey”, “Filtered Honey” and “Polen”, while the least known bee product is “Bee Venom” (Marangoz and Dolu 2019). In a study, almost half (40%) of primary healthcare practitioners have mentioned the use of honey for children (Kumar et al., 2011). In another study, the apitherapeutic product most commonly used by nurses has been detected to be honey (Kavurmaci and Tan 2019). Honey is one of the most commonly used traditional complementary approaches, which is similarly perceived as a ‘natural’, ‘safe’ and ‘traditional’ remedy (Kumar et al., 2011; Godart et al., 2014; Özkan and Bancar 2015; Münstedt et al., 2019). Honey is very important because it has high nutritive components and is a sweet food ingredient (Pasupuleti et al., 2017). Another reason for the predominant use of honey may be the fact that the other apitherapeutic products have come to be known and used in Turkey over the last years. Additionally, the structure of Turkish society based on culture and tradition may have caused mothers to prefer solutions commonly used in Turkish society over Western medicine (Sener and Karaca 2020). Since honey contains numerous nutritional and biological effects (antimicrobial, antioxidant, antiviral, antiparasitic, antiinflammatory, antimutagenic, anticancer and immunosuppressive activities), it is especially important for children (Bogdanov et al., 2008). As found in the present study, among the reasons why the pediatric nurses personally and professionally used apitherapy methods were to prevent respiratory tract infection, to strengthen the immune system, and to prevent anemia. Honey remain important as a healing product, e.g. to prevent radiation induced mucositis (Song et al., 2012) and to heal wounds in bacteria-contaminated full-thickness (Sukur et al., 2011). The findings by Badet and Quero (2011) suggest that manuka honey might be able to reduce oral pathogens within dental plaque (Badet and Quero 2011). Since honey, one of the bee products, is used as a medicine against various diseases outside of human nutrition, it has gained an increasing value (Albayrak and Albayrak, 2008). The nurses herein positively elaborated that honey “ameliorates diarrhea and coughs, reduces acnes, treats gastritis

and respiratory system diseases, strengthens immune system, and helps put on weight”. Further, some of the nurses shared their positive experiences pertaining to honey’s “help to treat and prevent oral mucositis and effectiveness in healing wounds and burns”. Contrary to these positive attitudes and experiences, 22 pediatric nurses listed such negative experiences as “allergy, dizziness, headache, itching, and rashes”. Despite honey’s popularity, honey should not be fed to infants because of botulism risk (Kumar et al., 2011; Özkan and Bancar 2015). Almost half the pediatric nurses in this study did not know about the harms associated with honey intake under one year of age. In addition, almost half is not knowledgeable about the recommended doses of apitherapeutic products. Therefore, its use should be acknowledged in order to investigate potential adverse effects (Kumar et al., 2011). Although honey obtained from various plant species generally gains importance as a health and energy source in human body due to its content (Doğaroğlu, 2009; Alvarez-Suarez et al., 2013), it is extremely important to use apitherapy very carefully.

The nurses in the current study did not know of bee venom and knew very little about propolis and royal jelly. It was also found that the pediatric nurses did not use propolis, royal jelly, pollen, bee bread, and bee venom for clinical purposes. A study has revealed that bee venom (16,3%) and propolis (8,9%) are less commonly known than the other apitherapeutic products (Bölüktepe and Yılmaz 2008). In another study, they found that among Apitherapy products, honey, pollen, beeswax and royal jelly are the most known, while propolis and bee venom are the least known (Niyaz and Demirbaş, 2017). In a study about apitherapy, 78% of the consumers stated that they did not know heard of propolis, 76,7% of royal jelly, 56,8% of bee venom (Tunca et al., 2015). Although propolis and royal jelly have important benefits on human health, it should be used with caution to allergen effects and daily doses (Pasupuleti et al., 2017). Bee venom is a product used traditionally in the treatment of back pain, skin diseases and rheumatism, anti-carcinogenic activity against prostate, and liver and breast cancer (Park et al., 2011; Jo et al., 2012). However, bee venom treatment should be employed very carefully due to its allergic reaction. Similarly, although pollen does not have a toxic effect even in long-term application and high dosage, it may cause diarrhea and gastric pain in the first uses (Cherbuliez, 2013). In a randomized controlled



study, it was found that the use of royal jelly developed erythropoiesis, glucose tolerance, and mental health (Morita et al., 2012). Despite the positive effects of bee venom, pollen, and royal jelly products, they are apitherapeutic products that should be used with caution. Although every apitherapy method exhibits varying degrees of efficacy, more than half the nurses in this research claimed that “all apicultural products exert positive effects on recovery from wounds and burns”. Therefore, pediatric nurses must reinforce the useful apitherapy approaches. Especially, informing the public about bee products other than honey and the health benefits of these products seems to be important in terms of bee economy and health (Niyaz and Demirbaş, 2017). Health professionals, particularly nurses, have a great role and responsibility in informing the public.

Another reason why the pediatric nurses do not employ apitherapy methods may be the absence of legal responsibilities. Although nurses are not legally held responsible for the administration of apitherapy methods, 35,2% of the participating nurses thought of being certified. The nurses' being knowledgeable about the apitherapy methods although they are not legally responsible is greatly important considering that they are responsible for the care of pediatric patients. It was revealed that the pediatric nurses learned about the apitherapy methods from doctors, their families, nurses, television, and the internet and 81,5% wished to receive training on these methods. Sener and Karaca (2020) have determined that the information sources affecting complementary and alternative medicine use were family members, and friends/neighbors (Sener and Karaca 2020). Marangoz and Dolu have stated that while purchasing the apitherapy products, the consumers were affected mostly by “Friends/Relatives/Neighbors”, “Promotional Sales”, “Discount Days”, and least “Newspaper/Magazine Ads” (Marangoz and Dolu 2019). In another study, although half the participants had experience using complementary medicine methods, they stated that they did not consult nurses (Jeon et al., 2019). In this study, the higher educational levels of the nurses were considered to signify increased use of apitherapy. In a study involving 1112 people, a significant relationship was found between the honey consumption and education levels of the participants (Tunca et al., 2015). In a study, it was determined that the level of education is important in using the complementary alternative medicine (Ince

et al., 2020). It is important that nurses take responsibility for the apitherapy method included in complementary and alternative medicine methods and that nurses can use evidence-based apitherapy methods. Additionally, Since bee products have been used in many fields, especially in nutrition, the evidence-based studies in this field are very important. It may be recommended to follow up the results of these evidence-based studies and to inform the public about the recommended apitherapy products by the nurses.

### Limitations

The study has three limitations. One limitation of this study was that it was conducted in the pediatric clinics of only six hospitals. Therefore, the results of the study cannot be generalized to all pediatric nurses in Turkey.

### CONCLUSION

Variables such as gender, having child, and clinical experience did correlate with apitherapy use. The logistic regression finding shows that the socio-demographic characteristics of the pediatric nurses do not have a significant predictive power in predicting whether to use the personal apitherapy method. Therefore, the socio-demographic characteristics may be recommended for future studies to be examined in large sample groups.

The educational levels among the nurses using apitherapy methods were high. The most common type of apitherapy methods was honey. The nurses did not know of bee venom and knew very little about propolis and royal jelly. The nurses noted as their positive experiences that honey ameliorated diarrhea, treated gastritis, respiratory system diseases, and oral mucositis, strengthened immune system, and helped heal wounds and burns. Contrary to these positive experiences, pediatric nurses reported such negative experiences as “allergy, dizziness, headache, itching, and rashes”. Almost half the nurses did not know that intake of honey products under one year of age was harmful and were not knowledgeable about the recommended doses of apitherapeutic products. It was determined that nurses learned apitherapy from doctors, family members, nurses, television and internet.

Turkey incorporates a diverse culture of the production and consumption of honey and the other

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

apicultural products thanks to its natural climate conditions. Despite the presence of apitherapeutic centers and regulations, a small number of pediatric nurses are aware of the current condition. The most important result is that although nurses are not legally held responsible for the administration of apitherapy methods, 35,2% of the participating nurses thought of being certified. Furthermore, 81,5% of the pediatric nurses expressed their interest in receiving training on apitherapy methods.

Since apitherapy products are produced naturally by bees, the benefit to children's health has been proven by many studies. Pediatric nurses play an important role in the protection and development of child health. Therefore, the knowledge, attitude and experience of pediatric nurses about apitherapy methods are very important. Pediatric nurses have a great role in helping parents to obtain information about apitherapy products, the use of the products and the beneficial and harmful side effects that may occur due to the use of the product. The results of this study provide valuable baseline information for pediatric nurses to refer to and use for apitherapy. In conclusion, the effectiveness of apitherapeutic products should be proved by conducting more experimental research studies, certificate programs should be offered, and nurses should be given roles/responsibilities and encouraged to employ apitherapy methods for personal and professional use.

### Source of Finance

During this study, no financial or spiritual support was received neither from any pharmaceutical company that has a direct connection with the research subject, nor from a company that provides or produces medical instruments and materials which may negatively affect the evaluation process of this study.

### Conflict of Interest

No conflicts of interest between the authors and / or family members of the scientific and medical committee members or members of the potential conflicts of interest, counseling, expertise, working conditions, shareholding and similar situations in any firm.

### Authorship Contributions

**Idea/Concept:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Design:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Control/Supervision:** Vildan Apaydın Cırık; **Data**

**Collection and/or Processing:** Bahar Aksoy; **Analysis and/or Interpretation:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Literature Review:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Writing the Article:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Critical Review:** Vildan Apaydın Cırık; **References and Fundings:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy; **Materials:** Vildan Apaydın Cırık, Bahar Aksoy.

## REFERENCES

- Albayrak, S., Albayrak, S. 2008. Propolis: Doğal antimikrobiyal madde. Ankara J. Fac. Pharm. 37(3): 201- 15.
- Alvarez-Suarez, JM., Giampieri, F., Battino, M. 2013. Honey as a source of dietary antioxidants: Structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Curr Med Chem.* 20(5): 621-38., DOI: 10.2174/092986713804999358.
- Badet, C., Quero, F. 2011. The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. *Anaerobe.* 17(1): 19-22., DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.12.007.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. 2008. Honey for nutrition and health: A review. *J Am Coll Nutr.* 27(6): 677-89., DOI: 10.1080/07315724.2008.10719745.
- Bölüktepe, FE., Yilmaz, S. 2008. Familiarity and purchase frequency of bee products. *Uludag Bee J.* 8(2): 53-62.
- Cherbuliez, T. 2013. Apitherapy-The use of honeybee products. In: Grassberger, M., Sherman, R.A., Gileva, O.S., Kim, C.M.H., Mumcuoglu, K.Y., (editors). *Biotherapy-History, Principles and Practice: A Practical Guide to the Diagnosis and Treatment of Disease using Living Organisms.* London: Springer Science & Business Media: 113-146.
- Cırık, V., Efe, E., Öncel, S., Gözüm, S. 2017. Experiences and attitudes of nurses regarding complementary health approaches used by themselves and their patients. *J Transcult Nurs.* 28(4): 381-90., DOI: 10.1177/1043659616651672.
- Cohen, HA., Rozen, J., Kristal, H., Laks, Y., Berkovitch, M., Uziel, Y., Kozer, E., Pomeranz, A., Efratet, H. 2012. Effect of

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- honey on nocturnal cough and sleep quality: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pediatrics*. 130(3): 465-71., DOI: 10.1542/peds.2011-3075.
- Doğaroğlu, M. 2009. Modern Arıcılık Teknikleri, Türkmenler Matbaacılık, Tekirdağ, 290-310.
- Fratellone, PM., Tsimis, F., Fratellone, G. 2016. Apitherapy products for medicinal use. *J Altern Complement Med*. 22(12): 1020-2. DOI: 10.1089/acm.2015.0346.
- General Directorate of Agricultural Research and Policies. Agricultural products markets. Beekeeping. July, 2019. Retrieved from [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF,\(01.04.2020\)](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF,(01.04.2020)).
- Godart, V., Dan, B., Mascart, G., Fikri, Y., Dierick, K., Lepage, P. 2014. Botulisme infantile après exposition à du miel. *Arch Pediatr*. 21(6): 628-31., DOI: 10.1016/j.arcped.2014.03.009.
- Ince, N., Kaya, Ş., Esen, Yİ., Parlak, E., Bayar, B. 2020. Use of complementary and alternative medicine in patients with chronic viral hepatitis in Turkey. *Complement Ther Med*. 48(November 2019): 1-4., DOI: 10.1016/j.ctim.2019.102229.
- Jeon, HO., Kim, BH., Kim, O. 2019. Illness uncertainty and complementary and alternative medicine use in patients undergoing hemodialysis. *Nurs Heal Sci*. 21(3): 375-81., DOI: 10.1111/nhs.12609.
- Jo, M., Hee, M., Saranya, P., Jun, B., Sueb, H., Bae, S. 2012. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2 /STAT3 pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*. 258(1): 72-81., DOI:10.1016/j.taap.2011.10.009.
- Kavurmaci, M., Tan, M. 2019. Determination of knowledge and attitudes of nurses about apitherapy. *Complement Ther Clin Pract*. 36(May): 39-42., DOI: 10.1016/j.ctcp.2019.05.001.
- Khorshid, L., Yapucu, Ü. 2005. The Nurse's Role in Complementary Therapies. *J Anatolia Nurs Heal Sci*. 8(2): 124-30.
- Kumar, R., Lorenc, A., Robinson, N., Blair, M. 2011. Parents' and primary healthcare practitioners' perspectives on the safety of honey and other traditional paediatric healthcare approaches. *Child Care Health Dev*. 37(5): 734-43., DOI: 10.1111/j.1365-2214.2010.01186.x.
- Marangoz, M., Dolu, TZ. 2019. Investigation of purchase behavior and knowledge and confidence levels of bee products of consumers. *Uludag Bee Journal*. 19 (2): 110-125., DOI: 10.31467/uluaricilik.537602.
- Morita, H., Ikeda, T., Kajita, K., Fujioka, K., Mori, I., Okada, H. 2012. Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutr J*. 11(1): 77-77., DOI: 10.1186/1475-2891-11-77.
- Münstedt, K., Momm, F., Hübner, J. 2019. Honey in the management of side effects of radiotherapy- or radio/chemotherapy-induced oral mucositis. A systematic review. *Complement Ther Clin Pract*. 34: 145-52., DOI: 10.1016/j.ctcp.2018.11.016.
- Niyaz, CÖ., Demirbaş, N. 2017. General characteristics and consumption preferences of bee products consumers: Case study of Canakkale. *Turkish Journal of Agricultural Economics*. 23(2): 255-62., DOI: 10.24181/tarekoder.369470.
- Özkan, S., Bancar, K. 2015. Apitherapy and child health. *Dokuz Eylül Univ Fac Nurs Electron J*. 8(4): 247-51.
- Park, MH., Choi, MS., Kwak, DH., Oh, K., Yoon, DY., Han, SB. 2011. Anti-Cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF- k B. *Prostate*. 71(8): 801-12., DOI: 10.1002/pros.21296.
- Pasupuleti, VR., Sannugam, L., Ramesh, N., Gan, SH. 2017. Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid Med Cell Longev*., DOI: 10.1155/2017/1259510.
- Resmi Gazete. (2014, October 27). Organization and duties of the ministry of health and affiliates. Retrieved from [http://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/3981,apiterapi-sertifikali-egitim-standartlaripdf.pdf\(01.05.2020\)](http://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/3981,apiterapi-sertifikali-egitim-standartlaripdf.pdf(01.05.2020)).
- Semerci, A. 2017. Overall situation of beekeeping in Turkey and future prospects. *J Agric Fac Mustafa Kemal Univ*. 22(2) :107-18.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Sener, DK., Karaca, A. 2020. The use of complementary and alternative medicine treatments by mothers of children with developmental disabilities. *Nurs Health Sci.* 22(2):328-338., DOI: 10.1111/nhs.12733.
- Shadkam, MN., Mozaffari, KH., Mozayan, MR. 2010. A comparison of the effect of honey, dextromethorphan, and diphenhydramine on nightly cough and sleep quality in children and their parents. *J Altern Complement Med.* 16(7): 787-93., DOI: 10.1089/acm.2009.0311.
- Song, JJ., Twumasi, AP., Salcido, R. 2012. Systematic review and meta-analysis on the use of honey to protect from the effects of radiation-induced oral mucositis. *Adv Ski Wound Care.* 25(1):23-8., DOI: 10.1097/01.ASW.0000410687.14363.a3.
- Sukur, SM., Halim, AS., Singh, KKB. 2011. Evaluations of bacterial contaminated full thickness burn wound healing in Sprague Dawley rats Treated with Tualang honey. *Indian J Plast Surg.* 44(1):112-7., DOI: 10.4103/0970-0358.81459.
- Tunca, Rİ., Taskin, A., Karadavut, U. 2015. Determination of bee products consumption habits and awareness level in some provinces in Turkey. *Turkish J Agric-Food Sci Technol.* 3(7): 556-61., DOI: 10.24925/turjaf.v3i7.556-561.324.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# RİZE İLİ ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN ARI ÜRÜNLERİNİ TANIMA DURUMU VE KULLANIM ALIŞKANLIKLARININ BELİRLENMESİ

## Identification of University Students of Recognition Status and Usage Habits of Bee Products in Rize City

Özlem SARAL<sup>1</sup>, Ayten YILMAZ YAVUZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Rize, TÜRKİYE, ORCID no: 0000-0002-5283-7000, Yazışma Yazarı / Corresponding Author: e-mail:kimya061@hotmail.com

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Rize, Türkiye, ORCID No: 0000-0002-5861-4254, e-mail:Ayten.yilmaz@erdogan.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 03.09.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 11.10.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.789926

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı, üniversite öğrencilerinin arı ürünlerini (bal, polen, propolis, arı sütü, arı zehri ve bal mumu) tanıma durumu ve kullanım alışkanlıklarını belirlemektir. Çalışma Rize'deki bir üniversitede 2018-2019 Akademik yılında öğrenime devam eden ve çalışmaya katılmayı kabul eden 641 öğrenci ile yapılmıştır. Araştırmanın verileri e-posta yöntemi ile anket yoluyla toplanmıştır. Katılımcıların yaş ortalamasının 20.32 olduğu, %63.5'inin kadın, %49.6'sının Karadeniz Bölgesi'nden, %65.7'sinin lisans eğitim seviyesinden, %66.1'inin öğrenci yurdunda kalan öğrencilerden oluştuğu bulunmuştur. Arı ürünlerinden en fazla balın (%30.0) tanındığı, sağlık için öneminden dolayı tüketmeyi tercih ettikleri (%48.4), aile/ arkadaş/komşu/yakınların önerisi ile tükettikleri (%61.1) ve arı ürünlerini satın alırken arı yetiştiricilerinden almayı tercih ettikleri (%39.8) belirlenmiştir. Üniversite öğrencileri arasında bal dışındaki diğer arı ürünlerinin bilinirliğinin artırılması ve sadece sağlık için önemi değil besleyici yönünün de anlatılması için daha fazla tanıtıma yer verilmelidir.

Anahtar kelimeler: Arı ürünleri, Beslenme, Sağlık, Öğrenci.

### ABSTRACT

The aim of this study is to determine recognition status and usage habits of the university students for bee products (honey, pollen, propolis, royal jelly, bee venom and beeswax). The study was conducted with 641 students who attended a university in Rize in 2018-2019 academic year and agreed to participate in the study. The data of the study was collected by e-mail method through a survey. It was found that the average age of the participants was 20.32%; 63.5% were women; 49.6% were from the Black Sea Region, 65.7% were from the undergraduate education level, and 66.1% were students staying in the dormitory. It was determined honey among bee products (30.0%) is known, they prefer to consume honey (48.4%) due to its importance for health, consume it with the suggestion of family / friends / neighbors / relatives (61.1%), and prefer to buy bee products from bee breeders (39.8%). It should be promoted more to increase the awareness of university students about bee products except honey and to explain that they are not only importance for health but also nutritious.

Key words: Bee products, Nutrition, Health, Student.

### EXTENDED ABSRACT

**Introduction:** University years are known as a period in which a significant part of the youth period passes, physical growth and development is completed and psychological maturity is reached. Although the eating habits start in family, lifestyle that differs with the university life and food culture of the city where the university is located can change the nutritional behavior of students. Bee products are extremely important products for human life and health. In our country, there is limited information about use of honey and other bee products among young people.

Most of the studies on the use and recognition of bee products have been conducted with adult consumers. We planned this study on university students due to the scarcity of studies and the fact that most of them were conducted with adult consumers.

**Material and Method:** The population of the research consists of 16807 students at the associate and undergraduate level who continue their education in the 2018-2019 academic year of a university in Rize. The sample size was calculated to be at least 641 students with 99% confidence interval at an, error level of 0.05 and the ability to represent the population was calculated to be 80%. The data was obtained by sending the survey form created by the researchers on the Google survey to the students of e-mail.

**Results and Discussion:** It was found that the average age of the participants was 20.32%, 63.5% were women, 49.6% were from the Black Sea Region, 65.7% were from the undergraduate education level, and 66.1% were students staying in dormitory. It was determined that honey among bee products (30.0%) is known, they prefer to consume honey (48.4%) due to its importance for health, consume with the suggestion of family / friends / neighbors / relatives (61.1%), and prefer to buy bee products from bee breeders (39.8%). It was found that 80.2% of the participants thought that bee products were liked and 26.6% thought that they were not loved because of the unconsciousness of the bee products consumer. It was determined that the participants consumed flower honey at a rate of 38.4%, albeit rarely, from bee products. It was determined that the bee product that is not consumed at all is bee venom with a rate of 87.1%. When the meal preferred by the participants in consuming bee products was examined, it was

determined that 57.9% of the participants consumed flower honey at breakfast.

**Conclusion:** More promotions should be included in order to increase the awareness of other bee products other than honey among university students and to explain not only their importance for health but also their nutritional aspect. With these promotions, the nutritional use of these bee products by young people and adults can be increased. Thus, it contributes to the beekeeping industry.

### GİRİŞ

Üniversite yılları gençlik döneminin önemli bir bölümünün geçtiği, fiziksel büyüme ve gelişmenin tamamlandığı ve psikolojik olgunluğa erişildiği bir dönemdir. Her ne kadar beslenme alışkanlığı ailede başlasa da üniversite hayatıyla birlikte farklılaşan yaşam şekli, üniversitenin olduğu şehrin yemek kültürü öğrencilerin beslenme davranışlarını değiştirebilmektedir (Kartal v.d. 2017).

Arı ürünleri insan yaşamı ve sağlığı açısından son derece önemli ürünlerdir. Özellikle bal insanlar arasında en çok tanınan ve sofralarımızda tatlandırıcı olarak ta kullanılan bir üründür. Balın içeriği coğrafi ve botanik kaynağına göre farklılık göstermekle birlikte genel olarak karbonhidrat, mineral, vitamin, organik asit, enzim ve fenolik bileşikler içermektedir (Mutlu v.d. 2017). Bal antifungal, antimikrobiyal (İsla v.d. 2011), antioksidan (Saral v.d. 2016) aktivite göstermesinin yanı sıra yara iyileşmesi (Molan ve Betts, 2004) ve ülser tedavisinde (Ajibola v.d. 2012) kullanılmaktadır. Polen zengin bir protein kaynağı olmasının yanı sıra karbohidrat, lipid, vitamin ve mineral içermektedir (Campos v.d. 2003). Polenin antibakteriyel, antifungal (Garcia v.d. 2001) ve antioksidan (Saral v.d. 2016) özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Propolis arıların topladıkları bitki sızıntılarını bal mumu ve kendi tükürük salgıları ile karıştırarak elde ettikleri reçinemi bir üründür (Bankova v.d. 2002). Genel olarak propolis reçine, bal mumu, uçucu yağ ve diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır (Gomez-Caravaca v.d. 2006). Propolis diğer arı ürünlerine göre daha yüksek antioksidan ve antimikrobiyal etki göstermektedir (Banskota v.d. 2001). Ayrıca yapılan araştırmalarda kanserli hücre gelişimlerini engellediği, tümör hücrelerinin çoğalmasını azalttığı ve karaciğer hasarını önlediği bildirilmiştir (Inoue v.d. 2008; Saral v.d. 2016). Arı sütü 5-15 günlük işçi arıların hipofaringeal ve

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

mandibular bezlerinde salgılanan ve ana arı ile larvalarının beslenmesinde kullanılan bir üründür. Yapısında protein, şeker, lipid vitamin, serbest amino asitler ve biyoaktif bileşenler gibi pek çok madde içermektedir (Zong ve Wu, 2014). Arı zehiri apamin, mellitin, fosfolipaz A2 gibi farmakolojik olarak önemli bileşenlere sahiptir. Geleneksel tıpta romatoid artirit, MS (Multiple Sclerosis), ağrı ve kanser gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Son v.d. 2007). Bal mumu yüksek oranda alkali esterler, serbest yağ asitleri ve hidrokarbonlar ile az miktarda serbest alkoller ve bilinmeyen maddeler içerir (Doğaroğlu, 2008). Çürükleri, iltihapları ve yanıkları iyileştirmede etkili olduğu ve antimikrobiyal ekiye sahip olduğu düşünülmektedir (Fratini v.d. 2016).

Ülkemizde gençlerde bal ve diğer arı ürünleri kullanım tercihleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Çalışmaların geneli yetişkin tüketiciler ile gerçekleştirilmiştir (Şahinler v.d. 2004; Bölüktepe ve Yılmaz, 2008; Sayılı, 2013; Niyaz ve Demirbaş, 2017). Soylu ve Silici (2018) ise yapılan çalışmanın araştırma grubu olan üniversite öğrencilerinde bal tüketimi hakkında Kayseri ilinde anket çalışması yapmışlardır. Buradan elde edilen sonuçlara göre öğrencilerin %12.1'i balı hiç tüketmezken %47.9'sinin tüketimi seyrek olarak bulunmuştur. Ayrıca üniversite öğrencileri arasında balın tercih edilmesinin en önemli sebebi ise besleyici özelliğinin olmasıdır (%54.8).

Yapılan çalışmaların azlığı ve genelinin yetişkin tüketiciler ile gerçekleştirilmiş olması nedeni ile bu

çalışma planladı. Amacımız üniversite öğrencilerinin arı ürünlerini tanıma durumları, kullanım alışkanlıkları ve satın alma tercihleri belirlemek ve elde edilen sonuçları literatüre kazandırarak arıcılık sektörüne katkıda bulunmaktır.

### MATERYAL ve METOT

#### Çalışma Tasarımı

Bu araştırma, üniversite öğrencilerinin arı ürünleri tanıma durumu ve kullanım alışkanlıklarını belirlemek amacıyla tanımlayıcı niteliktedir. Araştırmanın evrenini; Rize'deki bir üniversitenin 2018-2019 akademik yılında öğrenime devam eden önlisans ve lisans eğitim seviyesindeki 16807 öğrenci oluşturmaktadır. Örneklem büyüklüğü; %99 güven aralığı, 0.05 yanılğı düzeyi ve %80 evreni temsil etme yeteneği ile en az 639 öğrenci olarak hesaplanmıştır ve çalışma 641 kişi ile tamamlanmıştır. Katılımcılar öğrenim düzeyine göre önlisans ve lisans tabakalara ayrıldı ve her tabakanın temsil oranını benzer kılmak için orantılı seçim Tabakalı Rastgele Örnekleme yöntemi kullanıldı. Tabakalarda yer alan öğrenci sayısına göre, tabaka büyüklüğüne uygun olarak her tabakadan örnekleme girecek öğrenci sayıları belirlenmiş ve tabakalardaki öğrenciler basit rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiştir (Tablo 1) (Erdoğan v.d. 2015).

**Tablo 1.** Çalışmada yapılan tabakalı rastgele örnekleme işlemleri

Tabaka no	Tabaka adı	Öğrenci sayısı	Tabaka ağırlığı	Örnekleme giren öğrenci sayısı	Örnek sayısı
1	Önlisans	5735	$16807/5735=0.341$	$0.341 \times 639=218$	220
2	Lisans	11072	$16807/11072=0.658$	$0.658 \times 639=420$	421
<b>Toplam</b>	2	16807	1.00	639	641

#### Verilerin Toplanması

Veriler, araştırmacılar tarafından Google anket üzerinde oluşturulan anket formunun öğrencilerin e-postasına gönderilmesiyle elde edilmiştir. Araştırmaya alınma kriterleri; Rize'deki bir üniversitenin 2018-2019 akademik yılında aktif

öğrenime devam eden önlisans ve lisans öğrencisi ve çalışmaya katılmayı kabul ediyor olmaktadır.

#### Veri Toplama Araçları

Anket formu katılımcıların yaş, cinsiyet, memleket, öğrenim gördüğü programı, sürekli yaşadığı yeri, gelir durumunu, medeni durumunu, düzenli ilaç

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

kullanımı ve kronik hastalık durumunu sorgulayıcı sosyo-demografik sorulardan ve arı ürünlerine yönelik hangi arı ürünlerini tanıdıkları, tüketim sıklıkları, en sık tüketilen ara öğün, tüketim amacı, tüketimine yönelik bilginin nereden alındığı, nereden satın alınmasının tercih edildiği, satın alınırken nelere dikkat edildiği ve arı ürünlerinin tüketiminin nasıl artırılabilmesine yönelik görüşlerini sorgulayıcı 20 sorudan oluşmaktadır.

### Verilerin Analizi

Araştırmanın verileri, SPSS 23.0 Windows yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile değerlendirildi. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler (yüzde, frekans, ortalama) kullanıldı (Erdoğan v.d. 2015).

### Araştırmanın Etik İlkeleri

Çalışmaya etik kurul izni (02.11.2018 tarih ve 2018/147 nolu karar) ve üniversite yönetiminden gerekli izinler alındıktan sonra başlanmıştır. Ayrıca öğrencilerden gönüllü katılım esas alınmıştır.

### Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırma, çalışmaya alınan Rize'deki bir üniversitede aktif öğrenime devam etmekte olan öğrenciler ile sınırlıdır.

### BULGULAR

Örneklem büyüklüğü 639 öğrenci olarak hesaplanmış olup çalışmaya toplam 641 öğrenci katılmıştır. Öğrencilerin sosyo-demografik özelliklerine Tablo 2'de yer verilmiştir. Yaş ortalaması  $20.32 \pm 1.77$  olan öğrencilerin %63.5'i kadın, %36.5'i erkek ve %98.3'ü bekadır. Öğrencilerin memleketlerine bakıldığında en fazla Karadeniz Bölgesinden (%49.6), en az Ege Bölgesinden (%3.3) oldukları görülmektedir. Öğrencilerin %65.7'sinin lisans eğitim seviyesinden olduğu, %66.1'inin öğrenci yurdunda kaldığı, %51.4'ü gelir kaynağının ailesi olduğu ve %54.4'ü gelir durumunda geliri giderine eşit olduğu belirlendi. %89.5'u kronik bir hastalığa sahip olmadığını beyan etmiştir.

Tablo 2- Öğrencilerin sosyo-demografik özelliklerin dağılımı

	Ort±SS	n	%
Yaş	20.32±1.77		
Cinsiyet			
	Kadın	407	63.5
	Erkek	234	36.5
Memleket			
	İç Anadolu Bölgesi	85	13.3
	Karadeniz Bölgesi	318	49.6
	Akdeniz Bölgesi	72	11.2
	Ege Bölgesi	21	3.3
	Doğu Anadolu Bölgesi	64	10.0
	Güneydoğu Anadolu Bölgesi	53	8.3
	Marmara Bölgesi	28	4.4
Öğrenim görülen program			
	Önlisans	220	34.3
	Lisans	421	65.7
Sürekli yaşanılan yer			
	Öğrenci yurdu	424	66.1
	Evde yalnız	19	3.0
	Evde arkadaş ile	60	9.4
	Aile/ akraba ile	138	21.5
Gelir kaynağı*			
	Aile	393	51.4
	Burs/ kredi	330	43.2
	Çalışarak	41	5.4
Ailenin aylık gelir durumu			
	Geliri giderinden fazla	129	20.1
	Geliri giderine eşit	349	54.4
	Geliri giderinden az	163	25.4
Medeni durum			
	Evli	11	1.7
	Bekar	630	98.3
Kronik hastalık durumu			
	Var	67	10.5
	Yok	574	89.5

\*Çoklu yanıt üzerinden hesaplandı



## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Öğrencilerin arı ürünlerinin bilinirliği ve satın alma davranışlarının dağılımı incelendiğinde; arı ürünlerinden %30.0 oranında en fazla balın tanındığı bulunmuştur. En az bilinen arı ürünü %5.4 oranı ile propolis olarak görülmektedir. Öğrenciler arı ürünlerini %48.4 oranında sağlık için öneminden dolayı tüketmeyi tercih ettikleri, %61.1 oranında tüketimine yönelik aile/ arkadaş/komşu/yakınların önerisi ile tükettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca arı ürünlerini satın alırken %39.8 oranında arı yetiştiricilerinden almayı tercih ettikleri ve %17.9

oranında arı ürünlerinin tat hususuna dikkat ettiklerini de bildirmişlerdir. Öğrencilerin %80.2 gibi büyük bir kısmı arı ürünlerinin sevildiğini düşündükleri ve sevilmediğini düşünenlerin ise sevilme nedenlerinin arı ürünleri tüketicisinin bilinçsiz olmasından kaynaklı (%26.6) olduğunu düşündükleri bulunmuştur. Öğrencilere arı ürünlerinin tüketiminin artırılabilmesine yönelik görüşleri sorulduğunda ise arı ürünlerinin sağlık desteğinde kullanılması ile kullanım oranının artırılabilceği cevabı öne çıkmıştır (Tablo 3).

**Tablo 3.** Öğrencilerin arı ürünlerinin bilinirliği ve satın alma davranışlarının dağılımı

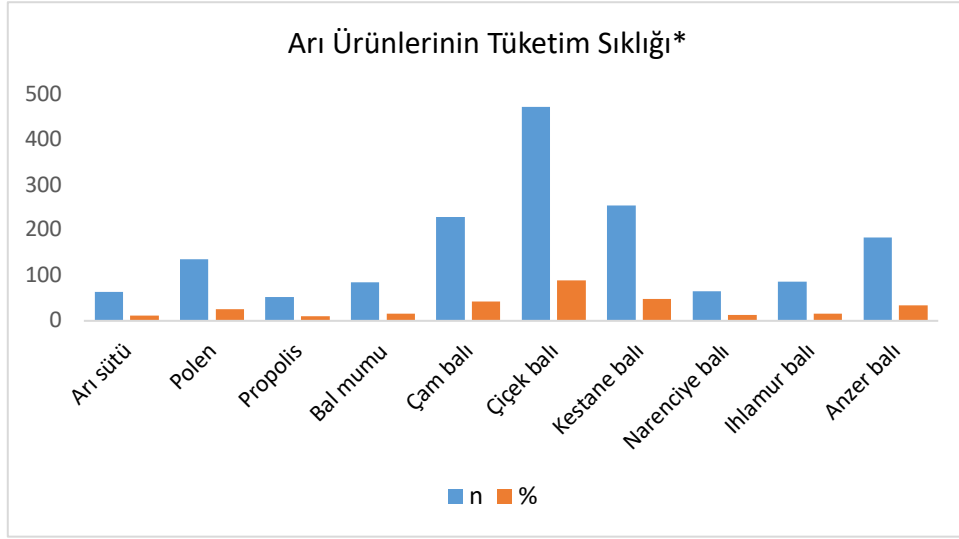
Arı ürünlerini tanıma*	n	%	Satın alırken tercih edilen yerler*	n	%
Arı sütü	334	15.9	Arı yetiştiricisi	314	39.8
Polen	514	24.5	Market	215	27.4
Propolis	114	5.4	Arıcılıkla uğraşan kooperatif	76	9.7
Bal	628	30.0	Arı ürünleri satan dükkan	113	14.4
Arı zehri	136	6.5	Kendi üretimi	68	8.7
Bal mumu	369	17.6			
Arı ürünleri tüketim amacı*			Satın alırken dikkat edilen hususlar*		
Sağlık için önemi	399	48.4	Herhangi bir özelliğe dikkat edilmiyor	77	4.1
Besleyici	186	22.5	Kıvam	277	14.8
Tadını beğenmek	235	28.5	Görüntü ve renk	302	16.1
Diğer	5	0.6	Tat	336	17.9
Tüketime yönelik bilgi alınan kaynaklar*			Fiyat	195	10.4
Sağlık çalışanları (Doktor, hemşire vb)	75	9.4	Marka/satıcıya güvenme	58	3.1
Aile/ arkadaş/komşu/yakınların önerisi	488	61.1	Katkı maddesi varlığı	279	14.9
Yazılı ve görsel basın (TV, gazete vb)	216	27.0	Üretim yeri	191	10.2
Diğer (Aktar vb)	20	2.5	Üretim tarihi/ Son kullanma tarihi	162	8.6
Arı ürünlerinin sevildiğini düşünme durumu*					
Evet	514	80.2			
Hayır	127	19.8			
Arı ürünlerinin sevilmediğini düşünme nedenleri*			Tüketicinin artırılabilmesi ile ilgili görüşler*		
Üreticisi bilinçli olmadığı için	26	15.0	Herhangi bir fikrim yok	47	5.3
Piyasada denetimi yapılmadığı için	21	12.1	Pazarlama ve tanıtım organizasyonu	251	28.5
Piyasada standart olmadığı için	9	5.2	Sahada aktif çalışacak teknik eleman yetiştirilmesi	190	21.5
Sertifikalı ürün olmadığı için	9	5.2	Arı ürünleriyle sağlık desteği	373	42.3
Tüketicisi bilinçsiz olduğu için	46	26.6	Üretim artırılmalı	21	2.4
Fiyatı yüksek olduğu için	44	25.4			
Alerji olduğu için	5	2.9			
Sevilme	13	7.5			

\*Çoklu yanıt üzerinden hesaplandı

Öğrencilerin arı ürünlerinden en fazla %28.5 oranı ile çiçek balını, en az %3.1 oranı ile propolis tükettikleri belirlenmiştir (Şekil 1). Arı ürünleri tüketiminde tercih ettikleri öğün incelendiğinde %57.9 oranında sabah kahvaltısında tükettikleri belirlenmiştir. Bu soruda arı

ürünleri ayırımı yapılmamıştır. Bal mumu tüketimi petekli bal tercihini yansıtmaktadır. Arı ürünlerini hiç tüketmediğini belirtenlerin oranı ise %26.7 dir (Şekil 2).

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



Şekil 1. Arı ürünlerinin tüketim sıklığı (\*Çoklu yanıt üzerinden hesaplandı)



Şekil 2. Arı ürünlerinin tüketiminde tercih edilen öğün

### TARTIŞMA

Türkiye coğrafik konumu ve zengin floraya sahip olmasından ötürü arıcılık için uygun bir konumdur. 2018 Dünya arıcılık verilerine bakıldığında bal üretiminde üçüncü sıradadır (Anonim, 2020). Ülke genelindeki arı ürünleri tüketim tercihlerinin belirlenmesi arıcılık sektörüne katkı sağlaması açısından önemlidir.

Beslenme alışkanlığının belirlenmesinde ilk etken ailenin yeme alışkanlığıdır. Üniversite yaşamı ile birlikte öğrencinin ekonomik durumu, bulunduğu şehrin yemek kültürü ve arkadaş çevresi beslenme alışkanlıklarının değişmesine yol açabilir (Kartal v.d. 2017). Üniversite dönemi ileriye yönelik beslenme alışkanlıklarının yerleştiği kritik bir dönemdir (Mazicioğlu ve Öztürk, 2003; Ermiş v.d. 2015).

Ülkemizde yetersiz ve dengesiz beslenme önemli bir sorun olmakla birlikte, üniversite öğrencileri beslenme sorunlarının en fazla görüldüğü gruplardan biridir (Ermış v.d. 2015). Arı ürünlerinin besleyici ve enerji verici özelliğinin yanı sıra içerdikleri biyolojik aktif maddeleri nedeniyle de sağlık açısından önemli bir yere sahiptir (Karlıdağ ve Keskin, 2020). Bu nedenle yapılan çalışmada üniversite öğrencilerinin arı ürünleri tanıma ve kullanım tercihleri araştırıldı.

Yapılan araştırmada en çok bilinen arı ürününün bal olduğu görülmektedir. Bal çok eski zamanlardan beri gıda ve ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bal en eski tatlandırıcıdır (Ajibola v.d. 2012). En az bilinen arı ürünleri ise propolis ve arı zehiri olarak bulunmuştur. Bal dışındaki diğer arı ürünlerinin de sağlık açısından önemli faydaları vardır (Mutlu v.d. 2017). Bu nedenle bal dışındaki arı ürünlerinin tanınırlığının ve talebin artırılabilmesi gerekmektedir. Bu durum tüketici özellikleri ve tercihlerinin bilinmesi ile doğrudan ilişkilidir. Yapılan diğer çalışmalarda Türkiye’de en çok bilinen arı ürününün bal olduğunu göstermektedir (Şahinler v.d. 2004; Bölüktepe ve Yılmaz, 2008; Sayılı, 2013; Tunca v.d. 2015; Niyaz ve Demirbaş, 2017). Niyaz ve Demirbaş, 2017 ve Bölüktepe ve Yılmaz, 2008’de propolis ve arı zehiri bilinirliğinin az olduğunu tespit etmiştir. Ülkemizdeki 11 ilde yapılan farklı bir çalışma da ise arı zehirinin bilinirliğinin az olduğu bildirilmiştir (Tunca v.d. 2015).

Arı ürünlerini temin konusunda katılımcılara sorulan sorulara genellikle verilen cevaplar arı yetiştiricisi (Sayılı, 2013; Niyaz ve Demirbaş, 2017; Soylu ve Silici, 2018) ve market (Şahinler v.d. 2004; Baki v.d. 2017) olarak bildirilmiştir. Mevcut çalışmada da arı yetiştiricileri ve marketten satın alma cevabı oranı yüksek bulunmuştur. Televizyonlarda çıkan sahte bal haberlerinin satın alma tercihlerini etkilediğini düşünmekteyiz. Tunca v.d. 2015 yaptıkları çalışmada tüketicilerin %94.1’lik kısmının televizyondan arı ürünleri sipariş etmenin iyi bir fikir olmadığı sonucuna varmıştır. Farklı bir çalışmada ise bu oran %98.3’tür (Niyaz ve Demirbaş, 2017).

Satın alırken dikkat edilen hususlara bakıldığında öğrenciler tada, görüntü ve renge önem verdiğini bildirmiştir. Diğer çalışmalarda bu sonuçlardan farklı olarak balın orijini (Baki v.d. 2017), üretim tarihi (Soylu ve Silici, 2018), kalite (Şahinler v.d. 2004), sağlık açısından güvenebilme (Sayılı, 2013) ve marka (Tunca v.d. 2015) cevapları öne çıkmaktadır.

Öğrencilerin arı ürünlerini tüketim sıklığına bakıldığında tercihlerinin baldan yana olduğu

görülmektedir. Ballar arasında ise çiçek balının (%89.1) diğer ballara oranla daha çok tercih edildiği tespit edildi. Çiçek balını sırası ile kestane (%48.0) ve çam balı (%43.1) takip etmektedir. Anzer balının tercih edilebilirliği de %34.7’dir. Balın duyuşsal niteliğini yani tat, renk koku gibi özelliklerini üretildiği bölgenin bitki çeşitliliği, rakımı, iklim şartları ve arıcının üretim tekniği etkilemektedir (Güler, 2005). Bu sonuçlar hafif ve aromatik tada sahip balların (çiçek, anzer, narenciye) yakıcı tada sahip olan ballara (çam ve kestane) göre daha çok tercih edildiğini göstermektedir (Şekil 1). Aynı zamanda öğrencilere arı ürünü tüketip tüketmedikleri sorulduğunda hiç tüketmiyorum diyenlerin oranı %26.7’dir. Tüketiyorum cevabı verenler ise tüketilen öğün olarak sabah kahvaltısını tercih etmektedir (Şekil 2). Farklı çalışmalarda da arı ürünlerini en çok sabah kahvaltısında tüketmeyi tercih edenlerin sayısı yüksek bulunmuştur (Baki v.d. 2017; Soylu ve Silici, 2018).

Literatürden farklı olarak arı ürünlerinin sevilip sevilmemeye durumu ve tüketimi artırmaya yönelik görüşlerde alınmıştır. Öğrencilerin çoğunluğu arı ürünlerinin sevildiğini, sevilmediğini düşünenlerin neden olarak fiyat yüksekliği ve tüketici bilinçsizliği cevabını vermiştir. Arı ürününü tüketim amaçlarının sağlık için önemini bildirmişlerdir. Tüketimi artırma yönünde %47’lik bir kısım fikir beyan etmezken %37’lik kısım arı ürünleri ile sağlık desteğinin öne çıkarılmasını önermiştir. Yapılan çalışmalarda ürünlerin tanıtımlarının inandırıcılığı araştırılmış ve TV ve internette satılan ürünlere güvenmedikleri sonucu ortaya çıkmıştır (Sayılı, 2013; Tunca v.d. 2015; Niyaz ve Demirbaş, 2017).

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde yapılan arı ürünlerini tanıma ve tüketim alışkanlıkları tespit çalışmalarında ortak sonuç balın en çok bilinen ürün olmasıdır. Diğer arı ürünlerinin de tanıtımı yapılarak hem arıcılık sektörüne katkıda bulunulabilir hem de gençlerin ve yetişkinlerin bu arı ürünlerini beslenme amaçlı kullanımı artırılabilir. Bu tanıtımlarda da tüketiciye güven verilmelidir. Çünkü sahte bal haberleri tüketiciyi olumsuz etkilemektedir.

Arı ürünleri biyoaktif içeriğinden dolayı sağlık açısından önemli bir yere sahiptir. Son günlerde yaşanan ve tüm dünyayı etkisi altına alan COVID-19 salgınının arı ürünlerine talebi artırabileceği düşüncesindeyiz. Bu nedenle çalışmanın devamı olarak yaşanan süreçte arı ürünleri tanınırlığı ve

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

tüketimi tespit çalışması yapılarak önceki sonuçlarla karşılaştırılma yapılması yararlı olacaktır.

### KAYNAKLAR

Anonim2020.URL1:https://arastirma.tarimorman.gov.tr/aricilik/Belgeler/istatistik/2018%20YILI%20D%03%9CNYA%20ARICILIK%20VER%04%0B0LER%04%0B0%2002.03.2020.pdf

Ajibola, A., Chamunorwa, J.P., Erlwanger, K.H. 2012. Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutr Metabol* 9, 1-13.

Baki, F., Saner, G., Adanacıoğlu, H., Güler, D. 2017. Türkiye'de Süzme Çam Balına Yönelik Tüketici Tercihlerinin Konjoint Analizi: İzmir İli Örneği. *Balkan ve Yakın Doğu Sos Bilim Der.* 3(2): 50-57.

Bankova, V., Popova, M., Bodganov, S. ve Sabatini, A.G., 2002. Chemical Composition of European Propolis: Expected and Unexpected Results. *Z. Naturforsch.* 57, 530–533.

Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, Sh. 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res.* 15, 561-571.

Bölüktepe, F.E. ve Yılmaz, S., (2008). Arı ürünlerinin bilinirliği ve satın alma sıklığı. *U. Arı D.* 8, 53-62.

Campos, M.G., Webby, R.F., Markham, K.R., Mitchell, K.A., Da Cunha, A.P. 2003. Age-induced Diminution of Free Radical Scavenging Capacity in Bee Pollens and The Contribution of Constituent Flavonoids. *J Agric Food Chem.* 51: 742–745.

Doğaroğlu, M. 2008. Modern Arıcılık Teknikleri, *Doğa Arıcılık Tic. Ltd. Şti.*, Tekirdağ.

Erdoğan, S., Nahcivan, N., Esin, N. 2015. Hemşirelikte Araştırma Süreç, Uygulama ve Kritik (2.bs.). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.

Ermış, E., Doğan, E., Erilli, N.A., Satıcı, A. 2015. Üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıklarının incelenmesi: Ondokuz Mayıs Üniversitesi örneği. *J Sports Perform Res.* 6, 30-40.

Fratini, F., Cilia, G., Turchi, B., Felicioli, A. 2016. Beeswax: A minireview of its antimicrobial

activity and its application in medicine. *Asian Pacific J Trop Med.* 9,839:843

Garcia, M., Perez-arquillue, C., Juan, T., Juan, M.I. ve Herrera, A. 2001. Pollen Analysis and Antibacterial Activity of Spanish Honeys. *Food Sci Tech Int.* 7, 155-158.

Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. ve Fernandez-Gutierrez, A. 2006. Advances in the Analysis of Phenolic Compounds in Products Derived From Bees. *J Pharmac Bio Anal.* 41, 1220–1234.

Güler, Z. 2005. Doğu Karadeniz Bölgesinde üretilen balların kimyasal ve duyuşsal nitelikleri. *Gıda.* 30, 379-384.

Inoue, K., Saito, M., Kanai, T., Kawata, T., Shigematsu, N., Uno, T., Isobe, K., Liu, C. H., Ito, H. 2008. Anti-Tumor Effects of Water-Soluble Propolis on a Mouse Sarcoma Cell Line In Vivo and In Vitro. *American J Chinese Med.* 36, 625-634.

Isla, M.I., Craig, A., Ordonez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasabure, E., Alvarez, A., Salomon, V., Maldonado, M. 2011. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT-Food Sci Tech.* 44,1922-1930.

Karlıdağ, S., Keskin, M. 2020. Arı ürünlerine genel bir bakış. *OKÜ Fen Bil. Enst. Dergisi.* 3, 58-63.

Kartal, M., Kabalcıoğlu Bucak, F., Balcı, E. 2017. Üniversite öğrencilerinin beslenme kültürleri. *Sağ Aka Der.* 4, 332-338.

Mazıcıoğlu, M.M., Öztürk A. 2003. Üniversite 3 ve 4. Sınıf Öğrencilerinde Beslenme Alışkanlıkları ve Bunu Etkileyen Faktörler. *Erciyes Tıp Dergisi.* 25, 172-178.

Molan, P.C., Betts, J.A. 2004. Clinical usage of honey as a wound dressing:an update. *J Wound Care.* 13, 353-356.

Mutlu, C., Erbaş, M., Arslan Tontul, S. 2017. Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda* 15, 75-83.

Niyaz, Ö C., Demirbaş, N. 2017. Arı Ürünleri Tüketicilerinin Genel Özellikleri ve Tüketim

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Tercihleri: Çanakkale İli Örneği. *Tar Eko Der*, 23 (2):255-262.
- Saral, Ö., Yıldız, O., Aliyazıcıoğlu, R., Yuluğ, E., Canpolat, S., Öztürk, F., Kolaylı, S. 2016. Apitherapy products enhances the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats. *Turk J Med Sci*. 46, 194–202.
- Sayılı, M. 2013. Tokat İlinde Tüketicilerin Arı Ürünleri Tüketim Durumları Ve Alışkanlıkları, *U. Arı D.* 13, 16-22.
- Son, D.J., Lee, J.W., Lee, Y.H., Song, H.S., Lee, C.K., Hong, J.T. 2007. Therapeutic Application of Anti-Arthritis, Pain-Releasing, and Anti-Cancer Effects of Bee Venom and Its Constituent Compounds. *Pharmacol Ther.* 115, 246–270.
- Soylu, M., Silici, S. 2018. Üniversite öğrencilerinin bal tüketim tercihleri. *J Human Sci.* 15(1): 386-398.
- Şahinler, N., Şahinler, S., Gül, A., Görgülü, Ö. 2004. Arı ürünleri tüketici özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir çalışma. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Isparta, 53-57.
- Tunca, R.İ., Taşkın, A., Karadavut, U., 2015. Determination of bee products consumption habits and awareness level in some provinces in Turkey. *Turk J Agricult Food Sci Tech* 3, 556-561.
- Zong, Q.S., Wu, J.Y., 2014. A new approach to the synthesis of royal jelly acid. *Chem Natur Comp* 50, 399-401.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

# THE EFFECTS OF SUPPLEMENTAL FEEDING WITH SODIUM HUMATE ON THE PERFORMANCE OF HONEY BEE COLONIES (*Apis Mellifera* L.)

## Bal Arısı Kolonilerinde (*Apis mellifera* L.) Sodyum Humat Katkılı Beslemenin Performans Üzerine Etkileri

Muhammet Ali TUNÇ<sup>1</sup>, Mahir Murat CENGİZ<sup>2\*</sup>, Kemal YAZICI<sup>3</sup>,  
Metin TURAN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ataturk University, Narman Vocational School, Department of Veterinary, Narman, Erzurum, TURKEY. ORCID No: 0000-0002-6631-7700 e-mail: matunc@atauni.edu.tr

<sup>2</sup>Ataturk University, Erzurum Vocational School, Department of Plant and Animal Production, Yakutiye, Erzurum, TURKEY. ORCID No: 0000-0002-9844-4229 Yazışma Yazarı / Corresponding Author e-mail: mcengiz@atauni.edu.tr

<sup>3</sup>Ardahan University, Posof Vocational School, Department of Plant and Animal Production, Posof, Ardahan, TURKEY. ORCID No: 0000-0002-1369-5994 e-mail: kemalyazici@ardahan.edu.tr

<sup>4</sup>Yeditepe University Engineering Faculty, Genetics and Bioengineering Department, İstanbul, TURKEY, ORCID No: 0000-0002-4849-7680 e-mail: metin.turan@yeditepe.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 11.09.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 29.09.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.793952

### ABSTRACT

In plant and animal production, sodium or potassium compounds which are soluble forms of humic substances are used. Sodium humates are used because of the sodium content which is important for animals in animal production. This study was carried out to investigate the effects of sodium humate added to sugar syrup in the development of adult honey bees, brood production and honey yield. Experimental colonies were randomly selected, and 5 study groups were formed with 6 colonies in each group. In the study, 4 different doses of sodium humate (5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc/L and control 0 cc/L) were added to 1 liter 1:1 ratio of sucrose syrup and given to the experimental colonies. The highest brood production was obtained at a dose of 10 cc. In addition to, high dose (50 cc) negatively affected brood production. The average honey yield for the 5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc and control groups was determined as 19.15±1.48, 26.35±1,83, 22.50±1.86, 8.75±1.29 and, 18.50±1.57 kg/colony, respectively. The highest honey yield was obtained from the group of 10 cc. For this group, the honey yield was 29.79 % higher than the control group.

**Keywords:** Brood area, colony development, honey bee, honey yield, sodium humate

### ÖZ

Bitkisel ve hayvansal üretimde, humik maddelerin çözünür formları olan sodyum veya potasyum bileşikleri kullanılır. Hayvansal üretimde hayvanlar için önemli olan sodyum içeriği nedeniyle sodyum humatlar kullanılmaktadır. Bu çalışma, şeker şurubuna eklenen sodyum humatın ergin bal arılarının gelişimi, kuluçka üretimi ve bal verimindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Deney kolonileri rastgele seçilmiş ve her grupta 6 tekerürlü koloni ile 5 çalışma grubu oluşturulmuştur. Çalışmada 1 litre 1:1 oranında süzkroz şurubuna 4 farklı doz sodyum humat (5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc/L ve kontrol 0 cc/L) ilave edilerek deney kolonilerine verilmiştir. En yüksek kuluçka üretimi 10 cc'lik dozda elde edilmiştir. Ayrıca yüksek doz (50 cc) kuluçka üretimini olumsuz etkilemiştir. Ortalama bal verimi 5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc ve kontrol grupları için sırasıyla 19.15±1.48, 26.35±1,83, 22.50±1.86, 8.75±1.29 ve 18.50±1.57 kg / koloni olarak belirlendi. En yüksek bal verimi 10 cc grubundan elde edildi. Bu grup için bal verimi, kontrol grubuna göre %29.79 daha yüksekti.

**Anahtar kelimeler:** Bal Arısı, Bal Verimi, Kuluçka Alanı, Koloni Gelişimi, Sodyum Humat

**GENİŞLETİLMİŞ ÖZET**

**Amaç:** Bal arılarının temel gıda ürünleri nektar, polen ve baldır. Bitki kaynakları yeterli olduğunda arılar kendi ihtiyaçlarını karşılayabilir. Ancak arı kolonileri doğada yeterli nektar ve polen bulamadıklarında, bal akış dönemine kadar kolonilere ek yemleme yapılmalıdır. Arı kolonileri için ek yem genellikle polen, bal, soya unu, süt tozu, vitaminler ve mineral katkılı arı keki veya şeker şurubu ile yapılır. Beslenme bal arılarının (*Apis mellifera L.*) gelişiminde olduğu kadar bal veriminde de önemlidir. Bu sebepten dolayı beslenmenin etkinliğini artırmak amacıyla verim artırıcı yem katkı maddeleri kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, arı beslenmesinde verimi artırıcı yem katkı maddeleri daha önce araştırılmamıştır. Humatlar birçok hayvanda verim artırıcı yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, sodyum humat katkısının ergin arı gelişimi, kuluçka üretimi ve bal verimi üzerine etkileri araştırılmıştır.

**Yöntem:** Araştırma, Mart-Haziran 2018 tarihleri arasında Artvin ili Ardanuç ilçesinde, Haziran-Eylül ayları arasında Ardahan Üniversitesi arıcılık ve araştırma merkezinde gerçekleştirildi. Denemede, eşit güçte arıların bulunduğu 10 çerçevesi standart Langstroth tipi kovanlar kullanılmıştır. Bu çalışma, 24 test ve 6 kontrol olarak rastgele seçilen 30 Kafkas bal arısı (*Apis mellifera caucasica*) kolonisinde gerçekleştirildi. Her grup 6 tekrardan (alt gruplar) oluşmuştur. Deneyde 1 litre 1: 1 sükröz şurubuna (1 birim şeker +1 birim su) 5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc/L oranlarında 4 farklı doz sodyum humat katkılı gruplar ile kontrol (0 cc/L) grubu kullanılmıştır. Nisan'dan Ekim'e kadar olan dönemde arılar ile kaplı petek sayısı 21 günlük aralıklarla belirlendi. Elde edilen değerler yetişkin arı gelişiminin bir ölçüsü olarak kullanılmıştır. Kuluçka alanı Nisan'dan Ekim'e kadar 21 gün aralıklarla PUCHTA yöntemi ( $S=3.14 \times A/2 \times a/2$ ) ile cm cinsinden ölçülmüştür. Alınan veriler, kuluçka alanının gelişiminin bir ölçüsü olarak kullanılmıştır. Bal verimi, kış ihtiyaçları için bal dışında kolonilerin bal haznelerinde depoladıkları bal miktarına göre belirlenir. Bu amaçla her koloninin bal odası numaralandırılmış ve toplu olarak hasat edilmiştir. Kolonilerin tam bal odası ağırlıkları belirlendi. Boş çerçeveler kendi bal haznelerine yerleştirildi ve boş çerçevesi ağırlıklar bulundu. Ortalama bal verimi, iki tartım arasındaki farka göre belirlendi

**Sonuç:** Belirli dozlarda (5 cc, 10 cc ve 20 cc) sodyum humat, bal arılarında yetişkin arıların gelişimini, kuluçka üretimini ve toplam bal üretimini artırır. Ancak yüksek doz sodyum humat (50 cc) bal arılarının fizyolojik özellikleri üzerinde olumsuz bir etkiye neden olur. Arıcılar, ilkbaharın başlarında bal arısı kolonilerini güçlendirmek için şurup içinde ideal dozda (10 cc) humat kullanabilirler, bu da önemli bir maliyet artışı olmadan bal üretimini artırabilir (1 litre sodyum hümat yaklaşık 1 \$'dır).

**INTRODUCTION**

Nutrition is important in the development of honey bees (*Apis mellifera L.*) as well as in honey yields. The main food products of honey bees are nectar, pollen and honey (Silva et al. 2017). Bees can meet their own needs when plant resources are sufficient. However, when the bee colonies do not find enough nectar and pollen in nature, supplemental feeding should be done to the colonies until the honey flow period (Bonoan et al. 2018). Supplemental feed for bee colonies is usually made with pollen, honey, soy flour, milk powder, vitamins and mineral added bee cake or sugar syrup (Akyol et al. 2006; Genç and Dodoloğlu 2017). In one study (Kumova 2000), antibiotics were added to the cake or syrup used in the supplemental feeding of bee colonies because of their ability to kill pathogenic bacteria or to prevent their growth. As a result of the use of antibiotics as a feed additive, antibiotic residues have been found in animal products and some microorganisms have been found to be cross-resistant against antibiotics in humans (Moudgil et al. 2018). The use of antibiotics as feed additives in bees is prohibited in Europe due to their risks to human health (Higes et al. 2014; Suwannapong et al. 2018). For this reason, organic feed additives that have no negative effect on human and animal health have been used. One of these organic feed additives is humates, which are organic matter of high molecular weight; they are also hydrophilic, black or dark brown in color and originate from certain substances such as phenol, carbohydrate and amino acid, which are formed by the decomposition and decomposition of organic matter in the soil over time (Islam et al. 2005). It is reported that humates increase cell membrane permeability and increase the absorption of nutrients as a result of changes in the metabolism of some nutrients such as carbohydrates (De Melo et al. 2016). Soluble sodium humates are generally used in animal production since they increase the use of

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

animal feed and stabilize intestinal flora. Humic acids have anti-bacterial properties (Tunç and Yörük 2017) as well as anti-inflammatory ones (Van Rensburg 2015). In a study conducted in chickens, humic acid has a positive effect on the immune system (Sanmiguel and Rondón 2016). Due to these characteristics, humates have been used as a feed additive for many livestock. However, no feed additives have been studied that are an important source for bees and are necessary for crop production. In this study, the effects of the sodium humate additive on the adult bee development, the brood production, and the honey yield were investigated.

### MATERIALS and METHODS

#### Creation of experiment groups

The research was carried out between March and June 2018 in the Ardanuç district of Artvin province and between June and September at the beekeeping and research center in Ardahan University, Turkey. In the study, 10-frame standard Langstroth type hives with the presence of bees of equal strength were used. Experimental colonies were formed with sister bees who were reared from the same breeder colony in 2017. This study was conducted on 30 Caucasian honey bee (*Apis mellifera caucasia*) colonies, which were randomly selected as 24 tests and 6 controls. Each group consisted of 6 replicates (subgroups). The experiment started on 15 March 2018 and ended on 6 October 2018. At the beginning of the experiment (15 March) the colonies were equalized in terms of food stock, the number of comb with bees and the brood areas.

#### Feeding program

In the experiment, 4 different doses of sodium humate (5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc/L and control 0 cc/L) were added to 1 litre 1:1 sucrose syrup (1 unit sugar +1 unit water). The spring feeding program was applied to colonies during 6 weeks (between 21 March and 4 May). In addition, periodic maintenance and control of all colonies were conducted during the research. The sodium humate preparation used in the study was taken from Humat Chemistry Pharmaceutical Industry Trade Limited Company Limited Company. The specification of the preparation is given in the table below;

**Table 1.** Specification of sodium humate

**Tablo 1.** Sodyum humatın spesifikasyonu

Sodium humate	12%
Organic C	8.5%
pH	11–12
Density	1.12 kg/L
The size of the colloid particles	<100 µm
Color	Dark brown -black
Product type	Sodium suspension
Energy	195 kcal/100 g
Protein	2,6 g/100 g
Fat	none
Carbohydrate	46,1 mg/kg
Ferrous (Fe)	6776 mg/kg
Zinc (Zn)	40,2 mg/kg
Magnesium (Mg)	2017 mg/kg
Selenium (Se)	18587 µg /kg
Molybdenum (Mo)	2300 µg /kg

#### Taking data from experimental colonies

During the period from April to October, the number of combs covered with bees was determined at 21-day intervals. The obtained values were used as a measure of adult bee development (Akyol et al., 2014). The brood area was measured by PUCHTA method ( $S = 3.14 \times A / 2 \times a / 2$ ) in cm at 21 days intervals from April to October (Yücel & Kösoğlu, 2011; Akyol et al., 2014; Cengiz & Erdoğan, 2017). The obtained values were used as a measurement of the development of the brood area. Approximately 15-16 kg of honey is left to each colony for winter needs. Honey yield is determined by the amount of honey that colonies store in their honey chamber, except the honey for their winter needs. For this purpose, the honey chamber of each colony was numbered and mass harvested. The full honey chamber weights of the colonies were determined. Empty frames were placed in their own honey chamber and empty framed weights were found. Average honey yields were determined by the difference between the two weighings (Akyol et al. 2014; Cengiz and Dülger 2018).



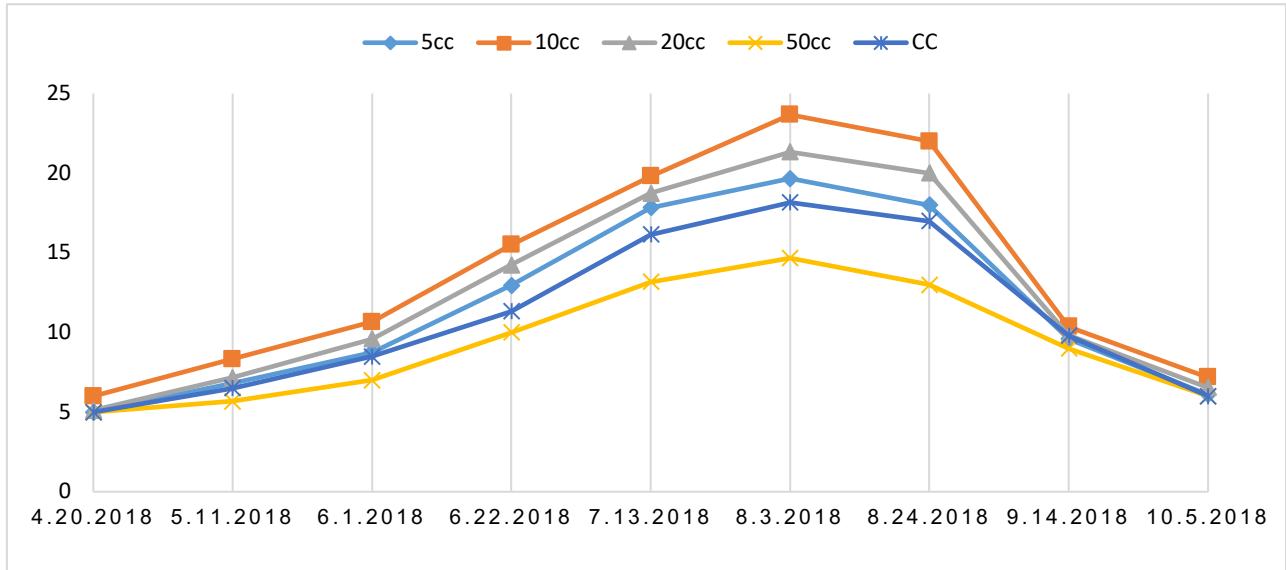
### Statistical analysis

SPSS 17.0 package program was used in the statistical calculations. The data about the development of adult bee and brood production were analyzed by univariate analysis of variance and one-way ANOVA was used for analyzing the honey yield. Duncan multiple comparison test was performed for the features with a significant effect (Ergün and Aktaş 2009; Mendeş and Akkartal 2010).

### RESULT

#### Development of Adult Bee

According to the amount of sodium humate applied to colonies; the average number of combs covered with bees for 5cc, 10 cc, 20 cc, 50 and control groups was determined as  $11.71 \pm 0.75$ ,  $13.74 \pm 0.88$ ,  $12.61 \pm 0.82$ ,  $9.34 \pm 0.43$  and  $10.95 \pm 0.66$  number/colony, respectively. The difference between groups was statistically significant ( $F_{4, 265} = 119.67$ ;  $p < 0.01$ ), according to applied sodium humate amount. Among the groups, the best result was observed in colonies fed with 10 cc of sodium humate (Fig 1).



**Figure 1.** The average number of combs covered with bees of the groups

**Figür 1.** Grupların ortalama arı ile kaplı çerçeve sayısı

#### Development of Brood Area

The average brood areas for 5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc and the control group was determined as  $2009.5 \pm 189.7$ ,  $2417.4 \pm 240.3$ ,  $2207.3 \pm 222.3$ ,  $1604.14 \pm 147.1$  and,  $1806.56 \pm 164.1 \text{ cm}^2/\text{colony}$ , respectively. The differences in the brood production

between the groups according to the applied sodium humate doses were also statistically significant ( $F_{4, 265} = 34.58$ ;  $P < 0.01$ ). The highest brood production was obtained at a dose of 10 cc, followed by 20 cc and 5 cc doses (Fig. 2). High dose (50 cc) negatively affected brood production.

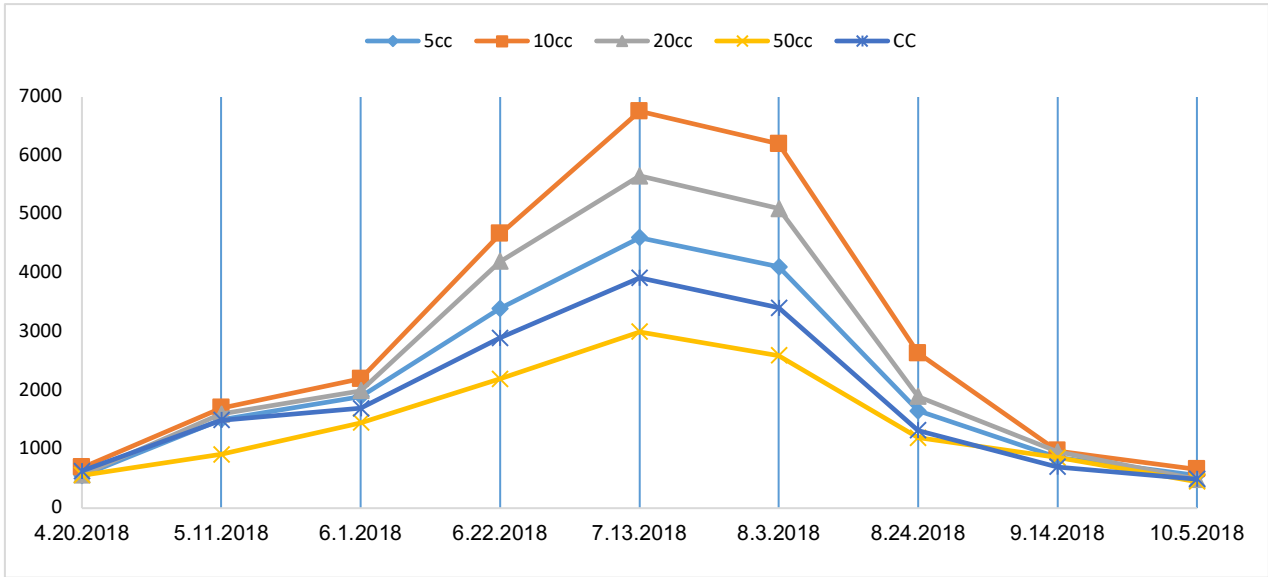


Figure 2. The average brood areas (cm<sup>2</sup>/colony) of the groups

Figür 2. Grupların ortalama kuluçka alanları (cm<sup>2</sup>/koloni)

### Honey Yield

Figure 3 shows the average honey yields of the groups. The average honey yields for 5 cc, 10 cc, 20 cc, 50 cc, and the control group were determined as 19.15±1.48, 26.35±1.83, 22.50±1.86, 8.75±1.29 and, 18.50±1.57 kg/colony, respectively. The effect

of applied sodium humate on honey yield was statistically significant ( $F_{4,25} = 16.24$ ;  $P < 0.01$ ). The optimum dose for honey production was determined as 10 cc, and the 5 cc and 20 cc groups also increased honey production compared to the control group (Fig.3).

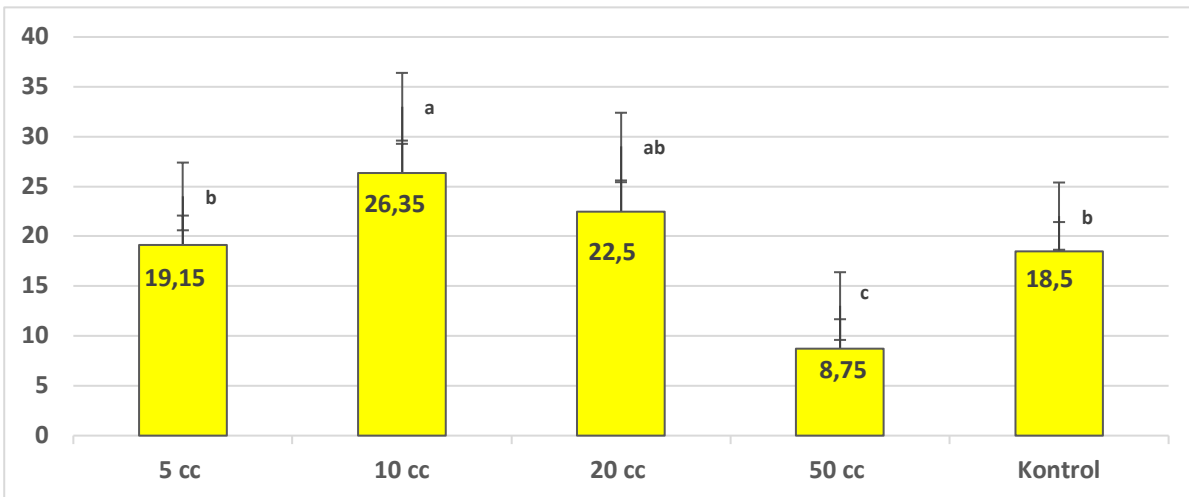


Figure 3. Average honey yield (kg/colony) of the groups

Figür 3. Grupların ortalama bal verimi (kg/koloni)

## DISCUSSION

In this study, the average number of combs covered with bees for the control group was found to be  $10.95 \pm 0.66$  number/colony. However, this finding was found to be lower than the one reported by Genç et al. (1999) for Caucasian honey bees ( $15.62$  number/colony). The average number of combs of Caucasian honey bees in our research was consistent with the previous studies reported by Arslan (2003) and Yeninar et al. (2009) (informed as  $10.40$  and,  $11.06$  number/colony). In addition, in previous studies, sugar syrup and feed additives were reported to increase the development of adult bees (Güler 2000; Şahinler and Kaya 2001). These findings were consistent with our study. The results show that the optimal dose of sodium humate for honey bees is  $10$  cc. On the other hand, a high dose of sodium humate ( $50$  cc) has a negative effect on the development of adult bees. According to these results, the addition of  $10$  cc humate to the sugar syrup will increase the development of adult bee in the spring feeding.

In the study, the average brood area for the control group was determined as  $1806.56 \pm 164.1$  cm<sup>2</sup>/colony. This finding was found to be higher than the average value ( $1184.8$  cm<sup>2</sup>/colony) reported for Caucasian honey bees by Güler and Kaftanoğlu (1999). The average brood area of Caucasian honey bees in our research was consistent with the previous results reported by Akyol et al. (2014) (informed as  $1701.9$  cm<sup>2</sup>/colony). In this study, the highest brood area was obtained in the  $10$  cc sodium humate group. In this case, it can be said that adding  $10$  cc of humate to sugar syrup increases the brood production activity in colonies in the spring feeding. The results obtained in this study are parallel with the findings of previous studies: supplementary feeding increased brood production in honey bees (Kumova 2000; Karacaoğlu et al. 2003; Mortensen et al. 2018).

The average honey yield in the control group was  $18.50 \pm 1.57$  kg/colony. The honey production of Caucasian honey bees was found to be lower than the findings by Genç et al. (1999), and Yeninar et al. (2009) (reported as  $30.6$  and  $36.3$  kg/colony, respectively), but they were consistent with the previous results reported by Kutluca (2003), Cengiz and Erdoğan (2017) (informed as  $18.13$  and  $19.28$  kg/colony, respectively). In addition, it has been reported that supplementary feeding increased the total honey yield in previous studies (Karacaoğlu et al. 2003; Dodoloğlu et al. 2004). The average honey

yield in the dose of  $10$  cc of the sodium humate was  $29.79\%$  higher compared to the control group. According to these results, it can be said that certain doses of sodium humate ( $5$  cc,  $10$  cc and  $20$  cc) increase the total honey yield but high dose ( $50$  cc) has the opposite effect.

## CONCLUSIONS

As a result, certain doses ( $5$  cc,  $10$  cc and  $20$  cc) of sodium humate increase the development of adult bees, the brood production and total honey production in honey bees. However, a high dose of sodium humate ( $50$  cc) causes a negative effect on the physiological properties of honey bees. Beekeepers can use the ideal dose ( $10$  cc) of humate in syrup to strengthen their honey bee colonies in the early spring, which could increase honey production without a significant cost increase ( $1$  liter of sodium humate is approximately \$  $0.97$ ).

## REFERENCES

- Akyol, E., Ünal, A., Yeninar, H., Özkök, D., Öztürk, C. (2014). Comparison of colony performances of Anatolian, Caucasian and Carniolan honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes in temperate climate conditions. *Ital J Anim Sci* 13(3): 637-640. DOI: 10.4081/ijas.2014.3409.
- Akyol, E., Yeninar, H., Sahinler, N., Guler, A. (2006). The effects of additive feeding and feed additives before wintering on honey bee colony performances, wintering abilities and survival rates at the East Mediterranean region. *Pak J Biol Sci*. 9(4): 589-592. DOI: 10.3923/pjbs.2006.589.592.
- Arslan, S. (2003). Çukurova Koşullarında Doğal Olarak çiftleştirilen Farklı Genotipli Ana Arılar (*Apis mellifera* L.) İle Oluşturulan Kolonilerin Tokat İli ve Çevresindeki Performanslarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Gazi Osman Paşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
- Bonoan, R.E., O'Connor, L.D., Starks, P.T. (2018). Seasonality of honey bee (*Apis mellifera*) micronutrient supplementation and environmental limitation. *J Insect Physiol*. 107: 23-28. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2018.02.002.
- Cengiz, M.M., Erdoğan, Y. (2017). Comparison of wintering ability and colony performances of different honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes in Eastern Anatolian/Turkey conditions. *Kafkas*

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Univ Vet Fak Derg.* 23(6): 865-870. DOI: 10.9775/kvfd.2017.17667.
- Cengiz, M.M., Dülger, C. (2018). Determining the some physiological characteristic of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies established by controlled reared queens in migratory and stationary beekeeping conditions. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg.* 13(1): 19-27. DOI: 10.17094/ataunivbd.309110.
- De Melo, B.A.G., Motta, F.L., Santana, M.H.A. (2016). Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 62: 967-974. DOI: 10.1016/j.msec.2015.12.001.
- Dodoloğlu, A., Dülger, C., Genc, F. (2004). Colony condition and bee behaviour in honey bees (*Apis mellifera*) housed in wooden or polystyrene hives and fed 'bee cake' or syrup. *Journal of Apicultural Research.* 43(1): 3-8. DOI: 10.1080/00218839.2004.11101100.
- Ergün, G., Aktaş, S. (2009). Comparisons of Sum of Squares Methods in ANOVA Models. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 15(3): 481-484. DOI: 10.9775/kvfd.2009.055-A.
- Genç, F., Dülger, C., Dodoloğlu, A., Kutluca, S. (1999). Comparison of Some Physiological Characters of Caucasian, Central Anatolian and Erzurum Honeybee (*Apis mellifera* L.) Genotypes in the Conditions of Erzurum. *Turk J Vet Anim Sci.* 23(Ek4): 645-650.
- Genç, F., Dodoloğlu, A. (2017). Arıcılığın Temel İlkeleri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 341. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, Türkiye, s. 467.
- Güler, A., Kaftanoğlu, O. (1999). Türkiye'deki önemli balınsı (*Apis mellifera* L.) ırk ve ekotiplerinin göçer arıcılık koşullarında performanslarının karşılaştırılması. *Turk J Vet Anim Sci.* 23(Ek4): 577-581.
- Güler, A. (2000). The Effects of Cake and Saccharose Syrup Feeding on The Performances of Honey Bee (*Apis Mellifera* L.) Colonies. *Hayvansal Üretim.* 41: 65-75.
- Higes, M., Gómez-Moracho, T., Rodríguez-García, C., Botias, C., Martín-Hernández, R. (2014). Preliminary effect of an experimental treatment with "Nozevit®", (a phyto-pharmacological preparation) for Nosema ceranae control. *Journal of Apicultural Research.* 53(4): 472-474. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.4.03
- Islam, K.M.S., Schuhmacher, A., Gropp, J.M. (2005). Humic acid substances in animal agriculture. *Pak J Nutr* 4(3): 126-134.
- Karacaoğlu, M., Gençer, H.V., Koç, A.U. (2003). Effects of Supplemental Feeding on Brood Production and Honey Yield of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Colonies in the Conditions of Aegean Region. *Hayvansal Üretim.* 44: 47-54.
- Kumova, U. (2000). Feeding Effect on Colony Development and Honey Production of Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies. *Hayvansal Üretim.* 41: 55-64.
- Kutluca, S. (2003). Propolis Üretim Yöntemlerinin Koloni Performansı ve Propolisin Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
- Mendeş, M., Akkartal, E. (2010). Comparison of ANOVA F and WELCH tests with their respective permutation versions in terms of type 1 error rates and test power. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 16(5): 711-716. DOI: 10.9775/kvfd.2009.1507.
- Mortensen, A.N., Jack, C.J., Bustamante, T.A., Schmehl, D.R., Ellis, J.D. (2018). Effects of Supplemental Pollen Feeding on Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colony Strength and Nosema spp. Infection. *J Econ Entomol.* 112(1): 60-66. DOI: 10.1093/jee/toy341.
- Moudgil, P., Bedi, J.S., Moudgil, A.D., Gill, J.P.S., Aulakh, R.S. (2018). Emerging issue of antibiotic resistance from food producing animals in India: Perspective and legal framework. *Food Reviews International.* 34(5): 447-462. DOI: 10.1080/87559129.2017.1326934.
- Sanmiguel, P., Rondón, B. (2016). Supplementation with humic substances affects the innate immunity in layer hens in postfasting phase. *Rev MVZ Córdoba.* 21(1): 5198-5210.
- Silva, L.R., Sousa, A., Taveira, M. (2017). Characterization of Portuguese honey from Castelo Branco region according to their pollen spectrum, physicochemical characteristics and mineral contents. *J Food Sci Technol.* 54(8): 2551-2561. DOI: 10.1007/s13197-017-2700-y.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Suwannapong, G., Maksong, S., Phainchajoen, M., Benbow, M.E., Mayack, C. (2018). Survival and health improvement of Nosema infected *Apis florea* (*Hymenoptera: Apidae*) bees after treatment with propolis extract. *Journal of Asia Pacific Entomology* 21(2): 437-444. DOI: 10.1016/j.aspen.2018.02.006.
- Şahinler, N., Kaya, Ş. (2001). The Effects of Supplementary Feeding on Honeybee (*Apis mellifera* L.) in Çukurova Region. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 6: 83-92.
- Tunç, M.A., Yörük, M.A. (2017). Effects of Humate and Probiotic on the Number of *Escherichia coli*, Blood and Antioxidant Parameters in Suckling Period of Calves. *Asian J Anim Vet Adv.* 12: 169-176. DOI: 10.3923/ajava.2017.169.176.
- Van Rensburg, C.E.J. (2015). The antiinflammatory properties of humic substances: A mini review. *Phytother Res.* 29(6): 791-795. DOI: 10.1002/ptr.5319
- Yeninar, H., Akyol, E., Sahinler, N. (2009). Determining the performances of honeybees, pure bred Caucasian, Anatolian and their reciprocal crosses under nomad beekeeping conditions. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8(5): 995-999.
- Yücel, B., Kösoğlu, M. (2011). Comparisons of Mugla Ecotype and Italian Cross Honey Bees for Some Performances in Aegean Region (Turkey). *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 17(6): 1025-1029. DOI: 10.9775/kvfd.2011.5092.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

# FONKSİYONEL BİR ÜRÜN OLAN PROPOLİSİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ

## The Effect of Propolis as a Functional Product on Health

Sultan ACUN<sup>1</sup>, Hülya GÜL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Amasya Üniversitesi, Suluova MYO, Gıda İşleme Bölümü, Amasya, TÜRKİYE. E-posta: sultan.acun@amasya.edu.tr, ORCID No: 0000-0003-1954-6102

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, TÜRKİYE. E-posta: hulyagul@sdu.edu.tr, ORCID No: 0000-0002-6791-817X

Geliş Tarihi / Received: 16.07.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 15.09.2020

DOI : 10.31467/uluaricilik.770477

### ÖZ

Propolis bal arıları tarafından çam, okaliptüs, akçaağaç, kavak, kestane, erik gibi ağaçların tomurcuk, yaprak ya da kabuk çatlaklarından toplanan bitki reçinelerinin, mum, arıların çeşitli salgıları ve kısmen polen ile karıştırılmasıyla üretilen ve kovanda çeşitli amaçlarla kullanılan bir arı ürünüdür. Yapısında bulunan bileşenler propolise antimikrobiyal, antitümoral, antifungal, antiseptik özellikler kazandırmıştır. Bu nedenle çok eski çağlardan beri yaraların iyileştirilmesi, diş çürüklerinin tedavisi ya da dezenfeksiyon amacıyla kullanılmaktadır. Günümüzde de yapılan çalışmalar ile immün sistemi desteklediği belirlenen propolisin kullanımı daha çok yaygınlaşmıştır. Propolis kullanılarak üretilen birçok ürünün olması kullanılabilirliğini de kolaylaştırmıştır. Son yıllarda üretilen propolis katkılı krem, losyon, diş macunu gibi ürünler çeşitli hastalıkların tedavisinde olumlu yönde katkı sağlamaktadır. Özellikle son yıllarda her altı kişiden birinin ölümüne sebep olan kanserin tedavisi ve iyileştirilmesinde propolisin kullanımı dikkat çekmiş ve bu konuda birçok araştırma yapılmıştır. Yaraların iyileştirilmesi, dermatolojik sorunların giderilmesi, ağız ve diş sağlığının korunması gibi farklı alanlarda da propolisten faydalanılmaktadır. Bu derlemede propolisin iyileştirici ve önleyici etkilerinden bahsedilmiştir.

Anahtar kelimeler: Propolis, Kanser, Apiterapi, Antimikrobiyal, Antifungal

### ABSTRACT

Propolis is used plant resins collected by honey bees from the buds, leaves or shell cracks of trees such as pine, eucalyptus, maple, poplar, chestnut, plum; wax is a bee product produced by mixing bees with various secretions and partially with pollen and used for various purposes in the hive. The components in its structure gave the propolis antimicrobial, antitumoral, antifungal and antiseptic properties. For this reason, it has been used for the healing of wounds, the treatment of dental caries or disinfection since ancient times. Today, the use of propolis, which is determined to support the immune system, has become more common. The availability of many products produced using propolis has also facilitated its usability. Products such as cream, lotion, and toothpaste produced in recent years contribute positively to the treatment of various diseases. Especially in recent years, the use of propolis in the treatment and recovery of cancer that causes the death of one out of every six people has drawn attention and many studies have been conducted on this subject. Propolis is also used in different areas such as healing wounds, eliminating dermatological problems, protecting oral and dental health. In this review, the healing and preventive effects of propolis are mentioned.

Keywords: Propolis, Cancer, Apitherapy, Antimicrobial, Antifungal

**EXTENDED ABSTRACT**

**Goal:** Propolis is a functional product produced by honey bees (*Apis mellifera L.*) by mixing resins of various trees with enzymes and other secretions of bees. In recent years, propolis, which has attracted the attention of researchers and stands out among bee products, has been widely used in many sectors. It contains minerals such as Mg, Ca, Fe besides vitamin B, C, A and E in the propolis structure that bees produce to protect their hives. In addition to its various vitamins and minerals, it contains bioactive components such as luteolin, galangin and caffeic acid. Propolis has been found to prevent dental caries in studies on oral and dental health. In the light of this useful information, the use of toothpastes produced by adding propolis is becoming widespread. In this study, nowadays the effect of propolis on health has been tried to be discussed.

**Discussion:** It is used in food industry, cosmetics industry and pharmaceutical industry due to its antimicrobial, antifungal, antitumoral and anti-carcinogenic bioactive components. It can be used to prevent the degradation of beverages such as fruit juices or meat products such as salami by microorganisms as well as to add functional properties to other food products. The presence of a stopping effect on cancer, which is a disease of our age, caused by various factors, has been a source of hope for these patients. Positive effects have been determined in studies on breast, colon, lung, pancreatic cancer. It has been determined that bioactive components such as caffeic acid phenyl ester (CAPE), galangin, luteolin, caffeic acid, artemisinin C have a stopping effect on cancer cells. It has also been reported that it helps to heal mouth microflora by reducing tooth sensitivity. It is also used safely in cosmetic products such as skin creams and lip protectors, since it has a benefit on skin health, has no toxic effect and does not show an allergic reaction.

**Conclusion:** With the introduction of supportive treatments such as apitherapy, the use of natural products in treatment has gained great importance. Propolis, which has been used for years in the treatment of diseases and prevention of inflammation due to its antimicrobial effect, is of great importance in terms of supporting modern medicine. It can be discovered by researches on the components of propolis, in which the bioactive components in its structure can contribute to many diseases other than cancer. Ensuring its

standardization with the studies conducted will make it possible to use a natural and effective substance in the pharmaceutical industry. With the expansion of the usage area, it will be collected by the beekeepers more consciously and this valuable product will be brought to the industry.

**GİRİŞ**

Gıdanın duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesi, faydalılığının artırılması amacıyla katkılandırılması ya da yararlı özelliklerinin artırılması, fizyolojik özelliklerinin iyileştirilmesi gibi amaçlarla üretilen ürünlere ilk kez 1984 yılında Japonya'da "fonksiyonel gıda" adı verilmiştir (Bigliardi ve Galati 2013). Bal, arı sütü, polen, propolis gibi arı ürünleri, insanlığın ilk çağlarından beri beslenme, sağlığın korunması ve hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle bir çok arı ürünü hem fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmekte hem de son yıllarda ön plana çıkan apiterapinin temelini oluşturmaktadır (Kumova v.d. 2002, Doğan ve Hayoğlu 2012, Mehmetoğlu v.d. 2017). Sağlık Bakanlığı tarafından 2014 yılında yayınlanan "Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları" yönetmeliğinde apiterapi alanında sekonder immün yetmezliklerinde immün destekleyici olarak değerlendirilen propolisin yapılan çalışmalarda antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümoral ve antioksidan aktivite gibi biyolojik özellikleri belirlenmiştir (Doğan ve Hayoğlu 2012, Anonim 2014, Mollahaliloğlu v.d. 2015). (Doğan ve Hayoğlu 2012., Anonim 2014, Mollahaliloğlu v.d. 2015). Ayrıca propolisin sahip olduğu faydalı özellikleri nedeniyle 21. yy'ın başlangıcından günümüze kadar uygulamalı bilimlerle ilgilenen akademisyenlerin başvurduğu "Web of Science"da yaklaşık 5200 makale hazırlanmış ve bunların %18,8'i farmakoloji alanında olmak üzere birinci sırada yer alırken; %13,6 ile gıda alanında yapılan çalışmalar ikinci sırada bulunmaktadır. Sağlık ile ilgilenen akademisyenlerin taramalar için başvurduğu "Pubmed"e göre ise 2001'den günümüze propolis ile ilgili yaklaşık 2900 makale hazırlanmıştır.

Propolis bal arıları (*Apis mellifera L.*) tarafından bitkilerin yaprak, gövde, tomurcuk gibi farklı kısımlarından toplanan salgıların enzimler ve bal mumu gibi maddeler ile birleştirilmesi sonucunda ürettikleri reçinemsî maddedir (Bayram 2015, Chen v.d. 2018, Olegario v.d. 2019).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

Yunanca bir kelime olan propolis; “pro” (ön, savunma) ve “polis” (şehir) kelimelerin birleşmesiyle oluşmuş olup, arı kolonileri için şehrin savunulması anlamına gelmektedir. Aynı zamanda propolis Yunanca’da “arı zımkı” anlamına da gelmekte ve kovanın açıklıklarının kapatılması için kullanılmaktadır (Bogdanov 2017). Kovan girişini daraltarak kovan içerisine yağmacı canlıların girişini önlemek, kovan sıcaklığını sabitlemek, kovan içinde ölen ve taşınamayacak özellikteki canlıların mumyalanması gibi amaçlarla kullanılan propolisin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile üretim miktarı elde edildiği bölgenin ekolojik koşullarına, koloni özelliklerine, yıla, mevsime ve tuzak tipine göre farklılık gösterebilmektedir (Usman v.d. 2016, Bogdanov 2017, Popova v.d. 2017).

Bal arılarının kovan güvenliği için ürettiği propolis eski çağlardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda kullanımı hakkında birçok araştırmanın yapıldığı propolis günümüzde gittikçe önem kazanan doğal bir üründür. Yapısında bulunan bileşenler nedeniyle gıda, ilaç, kozmetik sanayi gibi farklı alanların ilgisini çekmiş olup farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda antikanserojen, antitümoral etkisinin keşfedilmesiyle de günümüzde en çok ölüme sebep olan hastalıklardan biri olan kanser için bir umut ışığı olmuştur. Bunun yanında biyoaktif bileşenleri nedeniyle farklı hastalıkların tedavisinde ve destekleyici tıp uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu derlemede propolisin sağlık üzerine etkisi hakkında bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

### Propolisin Yapısı

Propolisin fiziksel özellikleri sıcaklığa bağlı olarak değişmekle birlikte 10 °C'nin altında kırılğan ve sert bir özelliğe sahipken, 15-25 °C'de yumuşak, mum kıvamında bir özellik kazanmaktadır, 60-80 °C'de kısmen erimekle birlikte bu bazı örneklerde 100 °C'yi bulabilmektedir (Kumova v.d. 2002). Yapışkan özelliği nedeniyle propolis bazı arıcılar tarafından sorun olarak görülmekte ve kovandan kazınarak atılmaktadır (Kumova v.d. 2002, Doğan ve Hayoğlu 2012). Şekil 1'de toplanan propolisin yapısı görülmektedir.

Propolis metanol, etanol, hegzan, etil asetat gibi çözücülerde büyük ölçüde çözünmektedir. Suda ya hiç çözünmemekte ya da çok az çözünmektedir. Bunun yanında metilen klorür, dikolormetan, aseton, zeytinyağı, kloroform, propilen glikol, polietilen glikol, dimetilsülfoksit, çeşitli mineral tuzlar gibi çözücüler ile ekstraksiyonu yapılabilmektedir (Arslan v.d. 2010,

Bakkaloğlu ve Arıcı 2019, Keskin ve Kolaylı 2019). Metanol, hegzan, kloroform gibi çözücüler sağlık için zararlı olması nedeniyle kimyasal analizlerde tercih edilmektedir.



Şekil 1: Propolis

Propolis elde edildiği kaynağa bağlı olarak %40-70 reçine; %3-5 uçucu yağ; %25-30 balmumu; %5 mineral madde, protein ve vitamin gibi diğer maddeler bulunabilmektedir (Albayrak ve Albayrak 2008, Bogdanov 2017, Keskin v.d. 2020). Bileşenlerin oranını ve çeşidini bitkilerin çeşidi, arı ırkı, toplandığı mevsim gibi faktörler etkilemektedir. Bu faktörlere bağlı olarak ham propoliste 300'den fazla bileşen tespit edilmiş olup bunların 180'den fazlası polifenoller, 20'den fazlası mineral madde ve farklı miktarlarda vitamin, protein, aminoasit, karbohidrat gibi bileşenlerden meydana gelmektedir (Kumova v.d. 2002, Doğan ve Hayoğlu 2012, Bogdanov 2017, Mehmetoğlu v.d. 2017, Kamatou v.d. 2019). Bu bileşenlerin farklılığı propolisin renginin ve kokusunun da değişmesine neden olmaktadır (Keskin 2018).

Yapısında B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, A ve E vitamini gibi vitaminlerin yanında Mg, Ca, Mn, K, Na, Fe, I ve Zn vb. yararlı mineraller gibi vücuda alınması gereken 22 besin bulunduran propoliste; polifenoller, aminoasitler, steroidler ve kumarinler bulunmaktadır (Doğan ve Hayoğlu 2012, Bayram v.d. 2015, Mehmetoğlu v.d. 2017). Türkiye'den toplanan propolislerde ağırlıklı olarak naringenin, kuarsetin, kumarik asit, galangin, ferulik asit gibi fenolik maddelere rastlanmakla birlikte (Popova v.d. 2005, Katırcıoğlu ve Mercan 2006, Keskin v.d. 2020) Türk propolisi ve farklı ülkelerden toplanan propolislerinin yapısında krisin, rutin, luteolin, mirisetin, pinosembrin, sinnamik asit gibi fenolik maddeler



## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

tespit edilmiştir (Zabaiou v.d. 2017, Gargouri v.d. 2019, Santos v.d. 2019).

Propolis ve ekstraktlarının biyolojik aktivitesinde etkili olan pinosembrin, galangin, kafeik asit, kafeik asit fenil ester, kuersetin, luteolin, kamferol gibi flavonoidler, aromatik asitler ve bunların esterleri

farklı biyolojik akitiviteye sahiptirler. Bu bileşenler içerisinde propoliste 38 farklı bileşeni bulunan flavonoidler, farmakolojik olarak daha yüksek etkiye sahip olup yüksek anti mikrobiyal etkiye sahiptir ve propoliste bu bileşenlerin bir arada bulunması etkisinin artmasını sağlamaktadır (Yücel v.d. 2014). Tablo 1’de propolisin biyolojik aktiviteleri verilmiştir.

Tablo 1: Propolisin biyolojik aktiviteleri

Table 1: Biological activities of propolis

Biyolojik Aktivite	Kaynaklar
Antimikrobiyal	Albayrak ve Albayrak 2008, Çelik 2016, Yang v.d. 2017, Escriche ve Juan-Borras 2018
Antifungal	Moreno v.d. 2020
Antialerjik	Walgrave v.d. 2005, Naz v.d. 2019
Antikanserojen	Padmavathi v.d. 2006, Kouidhi v.d. 2010, Catchpole v.d. 2018, Vukovic v.d. 2018
Antitümoral	Sforcin 2016, Silva Frozza 2017
Antimikotik	Kumova v.d. 2002, Hochheim v.d. 2019
Antiviral	Kumova v.d. 2002, Hochheim v.d. 2019
Yara iyileştirici ve Hücre yenileyici	Doğan ve Hayoğlu 2012

Propolis daha çok *Streptococcus*, ve *Staphylococcus* gibi Gram (+) bakteriler üzerine antibakteriyel etki gösterdiği araştırmalarda belirlenmiş olsa da *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram (-) bakteriler üzerine de Gram (+)'e göre az da olsa aktivite göstermiştir (Albayrak ve Albayrak 2008, Chen v.d. 2018). Başka bir çalışmada ise *Fusarium oxysporium f. sp. malonis* ve *Alternaria alternata* (Moreno v.d. 2020), *Candida albicans* (Katırcıoğlu ve Mercan 2006) üzerine antifungal; *Influenza*, HIV-1 (Anjum v.d. 2019, Mojarab v.d. 2020) gibi virüsler üzerine de antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca SARS ve Cov-2 virüsleri üzerine etkisi hakkında çalışmalar devam etmektedir (Kumar v.d. 2020). SARS-Cov-2 tedavisinde propolisi etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Maaroufi 2020) yüzey koronavirüs spike (S) proteininin reseptör tanıma ve membran füzyonuna aracılık etmesi nedeniyle konakçı özgüllüğünde faktör kabul edildiği bildirilmiştir. SARS-Cov-2 spike proteininin analizi sırasında iyileşmeye yardımcı olan fosfotaz 2 A (PP2A)'yı hedef aldığı ve konakçıda sürekli enfeksiyona neden olduğu belirtilmiştir. Akut enflamasyonunun kontrol

altına alınmasının konakçıda meydana gelebilecek tehlikelerin ortadan kaldırılabileceği açıklanmıştır. Çalışmada Brezilya yeşil propolisi kullanılarak propolisin yapısında bulunan artepilin C maddesinin anti-enflamatuar etkiye sahip olduğunu bildirilmiştir. Konakçı hücrenin tanınmasında spike proteininin (1300 aminoasit) yanı sıra aminopeptidaz N, ısı şok proteini A 5 (HSPA 5), furin, heperan sülfat proteoglikanlar gibi farklı koronavirüslerde bulunmaktadır. Propolisin yapısında bulunan bileşenler yardımıyla yaşlılar, kanser hastaları ya da ön saflarda bulunan sağlık personeli için riski azaltmak amacıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Elfiky 2020).

### Apiterapi

Ruhsal ve fiziksel olarak hastalıklardan korunma, tanı koyma, tedavi etmede farklı kültürlerin inançları, teorileri ya da tecrübeleri barındıran bilgi, beceri ve uygulamalarına “geleneksel tıp” adı verilirken yapılan tedavi ülke geleneklerinin parçası değilse ve hakim sağlık sistemi ile birlikte yürütülmeyen bir işlem içeriyorsa “tamamlayıcı tıp” olarak adlandırılmaktadır. Akupunktur, apiterapi, hipnoz,

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

masaj gibi yöntemler “alternatif/tamamlayıcı tıp” yöntemlerindedir (Aydın ve Tekeoğlu 2018). Eski çağlardan beri tıbbi amaçla kullanılan propolis tedavi edilecek hastalığa bağlı olarak krem, damla, kapsül, macun, gargara, losyon, sprey, sakız, şampuan gibi çeşitli şekillerde kullanılabilir (Yücel v.d. 2014, Çağlayan v.d. 2017). Yapılan çalışmalar ile propolisin kalp hastalıkları, şeker hastalığı, nörolojik hastalıklar, deri hastalıkları, kanser, çeşitli enfeksiyonlar, çürüklerin ve yaraların iyileştirilmesi üzerine olumlu yönde katkısının bulunduğunu bildirilmektedir ve bu hastalıklar üzerine etkisi bu derlemede özetlenmeye çalışılmıştır.

### Propolisin Kullanım Alanları ve Etkileri

Önemi her geçen gün anlaşılan propolis hastalıkların tedavisinde, vücut direncini artırmada; fonksiyonel özellik kazandırması ve muhafaza süresinin uzatılması amacıyla gıdalarda; yumru bitkilerin çimlenmesini önlemesi nedeniyle bitkilerin saklanması; kozmetik sanayinde, mobilyaların cilalanmasında ve hayvanların beslenmesinde kullanılabilir (Atik ve Gümüş 2017).

### Propolisin Çeşitli Sektörlerde Kullanımı ve Etkisi

Propolis yukarıda belirtilen faydaları ve insanların eğitim seviyesinin artmasıyla birlikte daha sağlıklı gıda tüketmek istemeleri üzerine birçok araştırmacı propolisin gıdalarda kullanılabilirliğini araştırmıştır. Belirlenen biyoaktif özellikleri nedeniyle propolis ve ekstraktları da fonksiyonel gıda olarak günümüzde de kullanılmaktadır.

Ghebleh (2019) tarafından propolis ilave edilmiş kitosanla kaplanan tavuk etinin kalitesinin ve raf ömrünün araştırıldığı çalışmada bakteriyel üremenin, lipid oksidasyonunun ve pH değişiminin azaldığı bildirilmiştir. Brezilya’da salama katılan propolisin etkisinin incelendiği çalışmalarda depolama ve fermantasyon süresi boyunca oksidasyonun azaldığı bildirilmiştir (Kunrath v.d. 2017).

Yoğurt ve ayran (Çelik 2016); meyveli yoğurt (Güney 2016) gibi propolis katkısı yapılarak üretilen süt ürünlerinde antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite ve depolama süresi incelenmiştir. Yapılan

çalışmalarda depolama süresinin, fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitenin propolis katkısı yapılarak üretilen ürünlerde arttığı kimyasal ve duyuşsal olarak önemli bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir.

Portakal suyuna (Yang v.d. 2017) propolis ilave edilerek koruyucu etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda propolisin portakal sularında yüksek antifungal ve antibakteriyel etkisi olduğu saptanmıştır. Propolisin çeşitli ürünlerde kullanım limitlerinin ve etkileri Tablo 2’de verilmiştir.

Propolis ekstraktı ve enkapsüle edilmiş propolisin muffin üretiminde kullanıldığı çalışmada (Bağdatlı 2019) enkapsüle edilen örneklerin antioksidan ve fenolik madde içeriğinin depolama sırasında daha yüksek çıktığı belirlenmiştir.

Propolis gıda sanayinde kullanılabilirdiği gibi losyon, şampuan, diş macunu ve sabun üretimi olmak üzere kozmetik sanayinde; yanık tedavisi, diş sağlığı ve deri sağlığı gibi sorunların tedavisinde kullanılması amacıyla da ilaç sanayinde de ön plana çıkmaktadır (Doğan ve Hayoğlu 2012).

İnsan sağlığı ve beslenmesi üzerine kullanılan propolis hayvan beslenmesi ve sağlığı üzerine de etkisi araştırılmıştır. 1,2-Dimetilhidrazin (DMH), 7,12 dimetilbenz[ $\alpha$ ]antrasen (DMBA) and N-butil-N-(4-hidroksibütül) nitrozamin (BBN) 2,2 -Dihidroksi-di-n-propilnitrozamin (DHPN) dişi ratların içme suyuna 3 hafta eklenerek meme kanseri oluşturulmuştur. Sonraki 33 hafta boyunca hayvanların diyetlerine %0,1-0.01 oranında propolis ilavesi yapılmış ve beslenme sonucunda propolisin etkisi incelenmiştir. Yüksek dozda kullanılan propolisin idrar kesesinde tümör olmayan hücre büyümesini arttırdığı ancak düşük dozda kullanımının meme karsinomlarının önlenildiği belirlenmiştir (Kimoto v.d. 1999).

Hayvan beslenmesinde yem katkısının kullanılması neredeyse zorunlu hale geldiğinden, rasyonlarda kimyasal katkı maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda hayvansal üretimde organik ürünlere olan talebin artmasıyla çeşitli doğal kaynak arayışına gidilmiş ve toksik özelliği olmayan propolis alternatif olarak ön plana çıkmıştır (Arslan v.d. 2017, Silici ve Güçlü 2018).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

Tablo 2: Propolisin farklı ürünlerde kullanım oranları ve etkisi

Table 2: Usage rates and effect of propolis in different products

Kullanılan örnek	Katkı limiti ve çözücü çeşidi	Etkisi	Kaynak
Hazır çorba (Domates, Ezogelin, İşkembe, Tarhana, Kremalı tavuk, Yayla)	%0,1 etanol ekstraktı	<i>Staphylococcus aureus</i> inhibisyonu	Apaydın 2015
Ahududu	0,5 mg/ml etanolla ekstakte edilmiş zein ile enkapsüle edilmiş propolis	<i>P. digitatum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. italicum</i> , <i>A. alternata</i> , <i>A. carbonarius</i> , ve <i>B. cinerea</i> inhibisyonu	Moreno v.d. 2020
Ras peyniri	250, 500, 1000 ppm etanol ekstraktı	<i>Aspergillus versicolor</i> inhibisyonu	Aly ve Elewa 2007
Yoğurt	1000 ppm etanol ekstraktı	<i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Escherichia coli</i> inhibisyonu	Gao v.d. 2011
Patates püresi	400 ppm etanol ekstraktı	Yüksek antimikrobiyal aktivite	Bahtiti 2013
Dondurma	%0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 etanol ekstraktı	Antioksidan aktivitesinde artış	Mehmetoğlu 2019
Kıyma (Dana eti)	%1,5, 2, 2,5 su ekstraktı	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> ve <i>Saccharomyces cerevisia</i> inhibisyonu.	El-Demery v.d. 2016
Portakal suyu	0,6 mg/ml etanol ekstraktı	<i>Bacillus</i> inhibisyonu	Yang v.d. 2017
Balık köftesi (burger)	%5 mikrokapsüle etanolik propolis ekstraktı	Toplam fenolik madde miktarında ve antioksidan aktivitede artış	Spinelli v.d. 2015

### Propolisin Sağlık Üzerine Etkisi

#### Propolisin Kronik Hastalıklar Üzerine Etkisi

WHO ve CDC (Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi) tarafından kronik hastalık; bulaşıcı olmayan, genel olarak bir yıl ve daha uzun süren ve sürekli tıbbi müdahale gerektiren günlük yaşamı ve aktiviteleri

sınırlandıran durumlar olarak tanımlamaktadır. En yaygın görülen kronik rahatsızlıklar ise kalp hastalıkları, kanser, Tip 2 diyabet ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olarak sıralamıştır. Bunların haricinde astım, felç, böbrek yetmezliği, hipertansiyon, obezite, alzheimer gibi hastalıklarında dünya çapında yaygın görülen ve ölüme sebep olan

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

kronik hastalıklar arasında olduğu bildirilmiştir. Dünyada 17,7 milyon kişi yıl<sup>-1</sup> kardiyovasküler hastalıklar, 3,9 milyon kişi yıl<sup>-1</sup> solunum hastalıkları ve 1,6 milyon kişi yıl<sup>-1</sup> de diyabet nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Türkiye’de ise diyabet, kalp damar hastalıkları, kanser, kronik solunum yolu hastalıkları nedeni ile meydana gelen ölümler ölüm oranının %86’ sını oluşturmaktadır (Anonim, 2019).

Su ve etanol kullanılarak ekstrakte edilen propolisin şeker hastalığı olan sıçanlarda kan şekerini, toplam kolesterolü, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü (LDL-C) ve trigliserit seviyesini azalttığı, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) ve süperoksit dismutaz (SOD) serum seviyesini arttırdığı bildirilmiştir (Fuliang v.d. 2005). CAPE tedavisinin diyabet kaynaklı körlüğün önlenmesinde retinadaki stresi azalttığı bildirilmiştir (Durmuş v.d. 2008).

Kardiyovasküler hastalıklarda yaygın görülen hastalıklardan biridir ve vücut yağ oranının artması kardiyovasküler hastalıklara neden olur. Oral yolla propolisin etanolik ekstraksiyonu (50 mg kg<sup>-1</sup> 30 gün<sup>-1</sup>) verilen farelerin ağırlıklarında ve karaciğerde lipit birikiminde azalma belirlenmiş, kardiyovasküler sistem üzerinde ise propolis ekstraktının koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Bu bilgilere dayanarak propolisin hiperlipidemik bozukluklara yardımcı gıda takviyesi olarak kullanılabilmesi mümkündür (Orsolice v.d. 2019).

Dünya çapında giderek daha yaygın görülen astım bir başka kronik hastalıktır ve astım hastaları günümüzde medikal yöntemlerin yanında alternatif tedavi yöntemlerine başvurmaktadır. Bir ay boyunca günde 3 defa 75 mg kg<sup>-1</sup> gün<sup>-1</sup> propolis tableti verilen on beş yaşından büyük elli iki astım hastasının orta derecede inatçı astımının klinik ve fizyolojik olarak iyileştiği belirlenmiştir (Mirsadraee v.d. 2019). Yine alerjik astımın T2 hücreleri üzerinde etkisinin incelendiği başka bir çalışmada propolisin vücudun kendi bağışıklık sisteminin arttırıldığı bildirilmiştir (Pineros v.d. 2020). Astımlı fareler üzerinde %70’lik etanolik propolis ekstraktının on dört gün boyunca günde 50 mg/ kg ve 200 mg kg<sup>-1</sup> olarak uygulandığı çalışmada her iki dozun murin astımla bağlantılı patolojiyi azalttığını tespit etmişlerdir (Cavalcante de Farias v.d. 2014). Yapılan çalışmalarda bulunan histolojik kanıtlar propolisin bronşiyal astım için alternatif terapötik ajan olarak kullanılabilceğini göstermiştir (Abdelrazeg v.d. 2020).

Oksidatif stres beyin hücrelerinde zarara yol açmakta ve bunun sonucunda oluşan iskemi

nedeniyle felç ve serebral enfarktüs gibi yaygın görülen veya ölümcül olabilen hastalıklar meydana gelmektedir. Propolis ve yapısında bulunan etken maddeler beyindeki hücrelerin nöroproktif etkisini arttırarak beyin hasarını azaltmaktadır (Lotfy 2006, Kakoolaki v.d. 2013, Sun v.d., 2016, Bazmandegan v.d. 2017, Bazmandegan v.d. 2020). On mikromol kg<sup>-1</sup> CAPE verilen farelerin terapötik olarak beyin hasarına karşı tokoferol gibi farklı antioksidan maddelere göre avantaj sağladığı bildirilmiştir (Ilhan v.d. 1999, Lotfy 2006). Spermetin kullanılarak balıkların beyinde oluşturulan hasarın tedavi edilmesi amacıyla %30 etanolde çözündürülmüş 10 ppm propolis 96 saat süreyle uygulanmış ve hasar oluşturulan hücrelerin propolis kullanımından sonra oksidatif strese bağlı biyokimyasal belirteçleri iyileştirdiği ifade edilmiştir (Kakoolaki v.d. 2013).

Felce sebep olan oksidatif strese bağlı hücre zararlanmalarının azaltılması için propolisin farklı çözücü konsantrasyonları ve bileşenlerinin etkisinin incelendiği çalışmada önce propolisin ekstraksiyonu için %40, %70 ve %95 etanol konsantrasyonları kullanılmıştır. En yüksek etkiyi %70 etanol ile ekstrakte edilen propolisin gösterdiği belirlenmiş ve daha sonra %70 etanol ile ekstrakte edilen propolisten diklorometan ile pinosembriin, pinobanksin, pinobanksin-3-asetat, krisin ve galangin saflaştırılmıştır. Saflaştırılan bileşenler strese maruz kalan hücrelere uygulanmış ve tüm monomerlerin koruyucu etkisi olduğu ancak pinosembriinin daha yüksek koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Sun v.d. 2016).

Farklı bölgelerden elde edilen propolisin sulu çözeltisi 30, 100 ve 200 mg kg<sup>-1</sup> olarak üç farklı dozda iskemiden 48, 24 ve 1 saat önce ve iskemiden 4 saat sonra farelere uygulanmıştır. Deneme sonunda propolis uygulanan farelerde kilo kaybı, beyin ödeminde azalma ve nörolojik testlerde iyileşme belirlenmiştir. 100 ve 200 mg kg<sup>-1</sup> seviyesinde uygulanan propolisin daha yüksek etki gösterdiği bildirilmiştir. Yapısında kuarsetin, propanoik asit, naringenin bulunan propolisin, yapısında pinobanksin, 3,7 dihidroksil metoksi flavanon, pinobanksin 3 asetat, pinobanksin 3 büteonat belirlenen propolise göre daha yüksek etki gösterdiği belirtilmiştir (Bazmandegan v.d. 2020).

Propolis ve propolisin etken maddeleri birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde kullanılan etken maddeler ve çalışmalarda kullanılan dozlar Tablo 3’ te verilmiştir.

Tablo 3: Propolisin sağlık üzerine etkisi

Table 3: Effects on health of propolis

Sağlık Üzerine Etkisi	Etken Maddesi	Uygulama dozu	Kaynak
Kanser tedavisi (Kolon)	CAPE ve kemrefol	1000 µmol	Budisan v.d. 2019
Kanser tedavisi (Meme)	Kafeik asit ve CAPE	100 µmol	Kabala-Dzik v.d. 2017
Kanser (Ağız)	Krisin, Kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit	Krisin: 5, 25, 50, 80 µg mL <sup>-1</sup> Ferulik acid: 50, 100, 150 µg mL <sup>-1</sup> Kafeik acid: 65, 130, 190 µg mL <sup>-1</sup> p-kumarik asit: 70, 140, 210 µg mL <sup>-1</sup>	Celinska-Janowicz v.d. 2018
Felç	Pinosembrin	10 µg ml <sup>-1</sup>	Ma v.d. 2018
Diabetik Nefropati	Pinosembrin	10 mg kg <sup>-1</sup>	Granados-Pineda v.d. 2018
Tip 2 diyabet	Galangin ve pinosembrin	80 µmol	Liu v.d. 2018
Beyin hasarı	CAPE	10 mg kg <sup>-1</sup>	Palaz ve Akçay 2020
Karaciğer ve Böbrek doku hasarı	Propolis	100 mg kg <sup>-1</sup>	Seven v.d. 2018

### Kanser ve Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler Üzerine Etkisi

WHO (Dünya Sağlık Örgütü)'ya göre 2018 yılında 9,6 milyon kişinin kanserden öldüğü ve dünyadaki altı ölümden birinin kanser nedeniyle gerçekleştiği bildirilmektedir. Ölüme sebep olan ve en yaygın görülen kanserler sırasıyla akciğer, kolon, mide, karaciğer ve göğüs kanseridir. Kansere sebep olan beş faktör arasında ise yüksek vücut kitle indeksi, düşük meyve-sebze tüketimi, fiziksel aktivite eksikliği, tütün kullanımı ve alkol kullanımı sayılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar ile antikanserojen, antitümoral etkisi tespit edilen, kanser tedavisinde umut vaat eden ve doğal fonksiyonel bir ürün olan propolisin günlük diyetle alınmasının faydalı olacağı araştırmacılar tarafından ortaya konulmaktadır (Onur v.d. 2018).

Yapılan çalışmalarda propolisin tütünden kaynaklanan hastalıkların veya kanserin giderilmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Putra v.d. 2015, Barroso v.d. 2017, Koo v.d. 2019). Yine yapılan başka bir çalışma; propolisin etken maddelerinden biri olan CAPE (kafeik asit fenil ester)'in normal hücrelerde düşük toksisiteye sahip

olması ve antimetastatik ve antianjiyonik ajan olarak değer taşıması nedeniyle akut lenfoblastik lösemi tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir (Biray v.d. 2006).

Elli beş gün boyunca dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) verilerek göğüs kanseri oluşturulan farelerde kansere karşı kullanılan bir ilaç olan paksitaksel ve propolisin etkisi araştırılmış ve 30 gün boyunca "50 mg kg<sup>-1</sup> vücut ağırlığı" verilen farelerin kanser tedavisine olumlu yanıt verdiği belirlenmiştir. Ayrıca paksitaksel ile birlikte propolisin kullanılması ilacının etkisinin artmasına neden olmuştur (Padmavathi v.d. 2006).

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile saflaştırılan propolis bileşenlerinin kansere karşı etkisinin incelendiği çalışmada, ekstrakt propolisin biyolojik aktif bir bileşeni olan artepilin C bakımından zenginleştirilerek kolon ve göğüs kanser hücrelerinin büyümesi üzerine etkisi incelenmiştir. Belirlenen kanser hücrelerinin ekstraktın kullanılmasıyla büyümesinin azaldığı bildirilmiştir (Wu v.d. 2009).

Günde 20'den fazla sigara içen 20-28 yaş arası kişilerin tütün kanserojenlerinin idrarla atılmasının (BaP ve kotin gibi bağımlılık yapan uyarıcıların)

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

incelendiği çalışmada aloe vera polisakkaritleri, propolis ve ikisinin birlikte etkisi incelenmiştir. Diyetin takviye edilmesiyle zamana bağlı olarak propolis kullanan kişilerde BaP atımı kontrol grubuna göre 1,30 kat, kotin atımı 2,08 kat artmıştır (Koo v.d. 2019).

Kolon ve göğüs kanseri hücrelerine karşı propolisten izole edilmiş flavonoidlerin sitotoksik, proapoptik ve antioksidatif özelliklerinin incelendiği çalışmada seçilen flavonoidlerden luteolin, galangin ve mirisetinin kanserin önlenmesinde antikanserojen etkisi gösteren ilaç için iyi bir aday olduğu belirlenmiştir (Vukovic v.d. 2018).

Keskin kokusu ve tadı nedeniyle siklodekstrin ile enkapsüle edilerek kullanılan propolisin anti-gastrointestinal kanser aktivitesinin incelendiği çalışmada 4 insan gastrointestinal hücresi (DLD-1: kalın bağırsak kanser hücresi; HTC-116: kolon kanser hücresi; KYSE-30: yemek borusu kanser hücresi; NCI-N87: mide kanser hücresi) test edilmiştir.  $\alpha$ - $\beta$ - ve  $\delta$ -siklodekstrin kullanılarak enkapsüle edilen propolisin kanserli hücreler üzerine etkisinin faydalı olduğu bulunmuştur (Catchpole v.d. 2018).

Propolisten elde edilen pinobanksin ve türevlerinin lenfoma hücreleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada pinobanksin ve türevlerinin ayrıca galangin ve krisinin apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (Alday v.d. 2015). Hep-2 kanser hücresine karşı propolisin fraksiyonlarının antitümör aktivitesinin incelendiği çalışmada da propolisin kanser tedavisini olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir (Silva Frozza v.d. 2017).

Kafeik asit fenil ester, krisin, artepilin C, galangin gibi propolis bileşenlerinin antidiyabetik, antialerjik, laksatif etkilerinin yanında beyin, deri, göğüs, pankreas, böbrek, karaciğer, prostat, kolon ve kan kanserine karşı koruyucu ve iyileştirici etkisinin olduğu bildirilmiştir (Patel 2016).

Radyoterapi uygulanan göğüs kanseri hastalarına propolis desteği uygulanarak radyasyona karşı koruyucu etkisinin incelendiği çalışmada, kemoterapi almış bir gruba ise radyasyon tedavisine ek olarak propolis takviyesi yapılmıştır. Propolis desteği alan hastalarda radyasyonun sebep olduğu DNA hasarının azaldığı; demir, hemoglobin, trombosit ve beyaz hücre sayısının arttığı belirlenmiştir (Ebeid v.d. 2016).

Propolisin kan zehirlenmesi geçiren hastaların akut kalp rahatsızlığı, organ yetmezliği, beslenme özelliği ve oksidatif stres faktörleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, propolisin enfeksiyon ve iltihabı azaltıp iyileşmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir (Pahlavani v.d. 2019).

Androjene bağlı olarak insan prostat tümör hücresi olan LNCaP hücrelerinin azaltılması üzerine yapılan çalışmada 0,005-0,1-0,05-0,1 mg ml<sup>-1</sup> seviyesinde propolis ekstraktı uygulanmış ve 24-48-72. saatlerde hücre indirgenmesi takip edilmiştir. Konsantrasyon seviyesi arttıkça indirgenme hızının arttığı, 24 saatte hücrelerin yarıya inmesi için gerekli konsantrasyon seviyesinin ise 0,04 mg ml<sup>-1</sup> olduğu belirlenmiştir (Zabaiou v.d. 2017).

### Ağız ve Diş Sağlığı Hastalıkları Üzerine Etkisi

Propolisin diş sağlığı ve oral kanserler üzerine etkisi ile ilgili çok fazla çalışma yapılmış olup aşırı hassasiyet, diş geçirgenliği, tübüllerin tıkanması, kemoterapi sonucu azalan oral mukozanın arttırılması, diş eti hastalıkları ve plak oluşumunun önlenmesine olumlu yönde katkı sağladığı bildirilmiştir (Vagish Kumar 2014).

Propolis ekstraktının kanser hücrelerinin çoğalmasına karşı potansiyel koruyucu etkisi ve çürük önleyici ve antibiyofilik aktivitesinin belirlendiği çalışmada *Streptokok* ve *Enterokoklar* dahil olmak üzere 33 oral patojen incelenmiştir. Araştırma sonucunda kanser hücrelerinin çoğalmasının ve çürük yapan bakterilerin önlediği bildirilmiştir (Kouidhi v.d. 2010).

Normal koşullarda iki saatte oluşan ağız mikroflorasının diş macununa %1-10 oranında propolis çözeltisinin eklenmesi sonucunda sürenin altı saate çıktığı bildirilmiştir (Kumova v.d. 2002). Sağlıklı 30 +diş hekimliği öğrencisine bir hafta süreyle 1 dakika boyunca dişlerini ticari bir diş macunu ile fırçalamış sonrasında 1 dakika da test edilen ürün ile fırçalama yapmıştır. Süre sonunda propolisin ticari diş macunu ve misvaklı diş macununa göre daha güvenli ve plak oluşumunu azaltan bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Bhat v.d. 2015).

%5 oranında propolis tozu eklenerek üretilen ksilitollü sakızların demineralize olmuş lezyonlarda remineralizasyon özellikleri incelenmiş ve sonuçta propolisin demineralize diş kemiği biyomineralizasyonunu arttığı belirlenmiştir (Gargouri v.d. 2020).

### Nörolojik Hastalıklar Üzerine Etkisi

Nörolojik hastalıklar felç, kaslarda zayıflama, bilişsel ve motor gerileme, hafıza kaybı, nöbetler, değişen bilinç seviyesi gibi semptomlarla sonuçlanan sinir sistemi anormallikleri göstermektedir. Polifenol kaynakları bakımından zengin içeriğe sahip olan propolis geriatrik ve nörolojik birçok hastalıkta olumlu sonuç göstermektedir. Çünkü polifenollerin yaşlanmayı önleyici oksidatif stresini azaltan ve sinir hücrelerini koruyan etkisi bulunmaktadır (Farooqui ve Farooqui 2012, Yücel v.d 2014).

Antioksidan, nöromodülatör ve nöroprotektif özelliği nedeniyle parkinson, prion, alzheimer, huntington gibi nörodejenaratif hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde propolis ve izole edilen bileşenlerinin olumlu katkısının olduğu belirlenmiştir. Giderek daha yaşlı bir nüfusa sahip olan dünyada bu hastalıkların önlenmesi için propolis iyi bir katkı olduğu düşünülmektedir (Çağlayan v.d. 2017, El-Seedi v.d. 2020).

Omurilik yaralanmaları üzerine propolisin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada propolisin aktif bileşenlerinden biri olan kafeik asit fenil esterinin ( $10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ) omurilik travmasında apoptozu önlediği belirlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada kafeik asit fenil esterinin, glutamat seviyesini azalttığı için omurilik yaralanmasından sonra glutamat kaynaklı sekonder hasar ve nörotoksititeyi azaltacağı öngörülmüştür (Ayдын 2013).

### Dermatolojik Hastalıklar Üzerine Etkisi

Akne çoğunlukla ergenlik döneminde ortaya çıkan, psikolojik strese neden olan ve pilosebasöz üniteyi etkileyen yaygın bir cilt hastalığıdır ve nodüller, kistler ya da iltihaplar barındırabilmektedir. Propolisin akne tedavisinde kullanılabilirliğinin incelendiği çalışmada (Mohammad Ali v.d. 2015) yüz aknesi bulunan 40 hasta üzerinde inceleme yapılmıştır. İki gruba ayrılan hastaların bir grubuna propolis ekstraktı uygulanırken, kontrol grubu olarak belirlenen diğer gruba yalnızca etanol uygulaması yapılmıştır. Çalışmanın öncesinde ve sonrasında bakteriyolojik inceleme yapılmış olup propolis ekstraktının uygulandığı hastalarda *Staphylococcus epidermidis* ve *Propionibacterium acnes* bakterileri üzerine önemli düzeyde bakteriyolojik etkisi olduğu bildirilmiştir.

Deri hastalıklarında propolisin harici kullanımının diğer tedavi yöntemleri ya da ilaçlarla birlikte uygulandığında hastalığın iyileşmesinde önemli farklılıklar meydana getirdiği ifade edilmiştir. Aynı

şekilde propolisin genital hastalıklarda harici kullanımının plaseboya karşı önemli düzeyde olumlu fark oluşturduğu tespit edilmiştir (Sung v.d. 2017).

### Sindirim Sistemi Hastalıkları Üzerine Etkisi

*Helicobacter pylori* sindirim kanalında yaşayan ve üreaz üreten bir bakteridir. Bakterinin aside alışmasında etkili olan iki enzimden biri üreaz diğeri karbonik anhidrazdır. Bu enzimler bakteri için pH değerini nötrler ve bakterinin gastrik epitelde kolonize olması için ortam sağlar. Bu nedenle bakteri ve ürettiği üreaz enzimi kronik gastrit, peptik ülser, gastrik kanser, mide adenokarsinomu, üniner katater, lenfoma oluşumundan sorumludur. Bu amaçla *Helicobacter pylori* tedavisinde üreaz aktivitesini durdurucu yöntemler tercih edilmektedir ve tedavi amacıyla antibiyotik ve toksit ve stabilitesi zayıf olan üreaz inhibitörleri fosfordiamidatlar, hidrosamik asit türevleri kullanılmaktadır. Ayrıca *Helicobacter pylori* antibiyotik direnci geliştirdiği için tedavi edilmesi zorlaşmaktadır. Hatta Dünya Sağlık Örgütü tarafından antibiyotiğe dirençli bakterilerin küresel öncelik listesinde ikinci sırada yer almaktadır. Bu nedenle, propolis içerisinde var olan kafeik asit fenil ester, krisin, artepilin C, daidzain gibi antioksidan, antimikrobiyal özelliğe sahip bileşenler yardımıyla iyi bir farmasotik ajan olarak görülmektedir (Baltaş v.d. 2016, Tacconelli v.d. 2017, Romeo v.d. 2019).

*Helicobacter pylori* ve onun üreaz üretimi üzerine propolisin etkisinin araştırıldığı çalışmada, 15 farklı bölgeden toplanan propolisin %70 etanol ile ekstraksiyonu yapılmış ve etkisinin incelenmesi amacıyla  $75 \text{ mg ml}^{-1}$  ekstrakt kullanılmıştır. Çalışma sonunda tüm propolislerin *Helicobacter pylori* tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Baltaş v.d. 2016). *Helicobacter pylori*'nin canlılığını ve yapısını etkileyen propolis fenoliklerinin incelendiği bir diğer çalışmada pinosembrin, krisin, galangin ve kafeik asit fenil ester tanımlanarak etkisi incelenmiştir. Bileşenlerin  $256-1024 \mu\text{g ml}^{-1}$  seviyesinde minimum inhibe edici etkisinin olduğu bildirilmiştir. Propolisin belirtilen ana bileşenlerinin tek tek ve kombine edilerek kullanıldığında *Helicobacter pylori* üzerine bakteriosidal etkisinin olduğu belirtilmiştir (Romeo v.d. 2019).

*Helicobacter pylori* peptid deformilaz (HpPDF), *Helicobacter pylori*'nin hayatta kalmasını sağlayan yeni oluşan polipeptid zincirinin N terminalinden formil grubunun çıkarılmasını katalize eder. Yapılan bir çalışmada bu durumdan faydalanılarak hastalıkların tedavisinde propolisin kullanılabilirliği

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

araştırılmıştır. Bu amaçla propolisin önemli bileşenlerinden biri olan kafeik asit fenil esterinin *Helicobacter pylori* peptid deformilazı durdurucu etkisi incelenmiş ve kafeik asit fenil esterinin HpPDF üzerine etkisinin olduğu belirlenmiş ve IC<sub>50</sub> değerinin 4,02 µM olduğu bildirilmiştir (Chu v.d. 2013).

### Üriner Sistem Hastalıkları Üzerine Etkisi

Üriner sistem hastalıkları, özellikle kadınlarda tekrarlayan yaygın bir hastalıktır ve morbidite oranının yanı sıra çoklu antibiyotik kullanımı ve masraflarının artmasına neden olmaktadır. Temel patojen olarak görülen üropatolojik *Escherichia coli* tedavide kullanılan β-laktam ve florokinonlara karşı direnç mekanizması geliştirmesi nedeniyle alternatif yöntemlerin kullanımına ihtiyaç duyulmuştur. Propolisin antibakteriyel etkisi nedeniyle üriner sistem enfeksiyonlarında kullanımı tedavide olumlu yönde etki göstermiştir (Lavigne v.d. 2011, Yücel v.d. 2014).

Kadınlarda ağrı ve kaşıntıya neden olan vajinitis, iltihaplanma ve tekrarlama eğilimindedir. Tekrarlayan vajinitisin tedavisinde propolisin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 54 hastaya yedi gün boyunca 500 ml %5 sulu propolis solüsyonu uygulaması yaptırılmıştır. Tedaviden altı ay sonra 33 hastanın başka bir tedavi görmeden durumlarından memnun olduğu bildirilmiştir (Imhof v.d. 2005).

Tıkanıklık şiddeti ve süresine bağlı olarak böbrek hasarlanmasıyla sonuçlanan üriner sistem obstrüktif hastalığı üzerine propolisin fenolik maddelerinden biri olan kafeik asit fenil esterinin etkisi incelenmiş ve denek tavşanlara 10 µmol kg<sup>-1</sup> düzeyinde kafeik asit fenil ester verilmiştir. Çalışma sonucunda kafeik asit fenil esterinin doku ve organ hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Akçora v.d. 2010).

Yine fareler üzerine yapılan bir çalışmada siklofosamid etkisiyle oluşturulan hemorajik sistitisin tedavisinde propolisin etkisi incelenmiş ve hemorajik sistitis oluşturulan farelere günde gavaj yoluyla 200 mg kg<sup>-1</sup> propolis 7 gün süreyle verilmiştir. Sonuçta propolisin kemotöröpik bir ilaç olan siklofosamid tedavisinden kaynaklanan toksisiteyi iyileştirmede etkili olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve Kaya 2018).

### Solunum Sistemi Hastalıkları Üzerine Etkisi

Üst solunum yolu enfeksiyonu toplumda yaygın olarak görülmekte ve antitüssif ilaçlar kullanılmaktadır. Beş-12 yaş arasındaki 104 çocuk hasta üzerinde arı ürünlerinin üst solunum yolu enfeksiyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada

arı ürünlerinin tedavide etkili olduğu belirlenmiştir. Tedavide kullanılan kimyasal ilaçların alerjen etkisine karşılık propolisin alerjik reaksiyon göstermemesi nedeniyle iyi bir alternatif olduğu bildirilmiştir (Seçilmiş ve Silici 2020).

Geniz eti büyümesi olan çocuklarda tekrarlayan kronik orta kulak enfeksiyonu ve üst solunum yoluna eğilim gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada geniz eti büyümesi olan çocukların tedavisinde toplam polifenol içeriğini arttırmak için N-asetilsistein ile birlikte propolis ekstraktı, bal, hatmi ve kuşburnu ekstresi içeren bir oral sprey kullanmaları istenmiş ve tedavi süresince takip edilmişlerdir. İşitme kaybı, mikrobiyolojik analiz, burun ve farinks incelemesi yapılmış ve propolis kullanımının burun tıkanıklığı, hapşırma ve burun akıntısına olumlu yönde etkisi olduğu bildirilmiştir (Folic v.d. 2020).

### Dolaşım Sistemi Hastalıkları Üzerine Etkisi

Kardiyovasküler, immün ve sinir sisteminde etkili bir rol oynayan nitrik oksit (NO) vasküler sistemde antiinflamatuvar ve antiaterojenik etkisi bulunmaktadır. NO sentezi Nω-nitro-L-arginine metil ester (L-NAME) ile inhibe edilmektedir. NO seviyesinin değişimi hipertansiyon, septik şok, diyabet gibi sorunlara sebep olmaktadır. Bu nedenle NO'nun biyoyararlılığının artırılması önemlidir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada farelere 15 gün süreyle L-NAME (40mg kg<sup>-1</sup>) verilmiş ve son 5 gün 200 mg kg<sup>-1</sup> etanolü propolis ekstraktı verilmiştir. Süre sonunda propolis verilen farelerin katalaz ve malonaldehit seviyelerinde azalma olduğu ve propolisin endotelial NO üretimini etkilediği bildirilmiştir (Talaş v.d. 20014).

Antitümör antibiyotik olarak kullanılan Doksorubisin konjeksi kalp yetmezliği ve mikrokardiyopatiye sebep olmaktadır (Kaldır v.d. 2002). Serbest radikaller ve oksidatif stres sonucunda ortaya çıkan Doksorubisin kaynaklı mikrokardiyopatinin önlenmesi için propolisin etkisinin incelendiği çalışmada 10 mg kg<sup>-1</sup> Dokrorubisin verilerek kardiyomikropati oluşturulan sıçanlara 50 ve 100 mg kg<sup>-1</sup> propolis verilmiştir. Çalışmada propolis verilen sıçanlarda Doksorubisin kan serumunda yükselttiği kreatin fosfokinaz, aspartat aminotransferaz, kan ve doku glutasyonu ve tiyobarbitürik asit seviyelerini azalttığı tespit edilmiş ve propolisin kardiyoprotektif etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Chopra v.d. 1995).

Propolisin fenolik ekstraktının kullanıldığı başka bir çalışmada kalp uyarıcı ve astım ataklarında



kullanılan izoproteranol kaynaklı patolojik hipertrofik kardiyomyopati (kalp kasının anormal kalınlaşması) ve kalp yetmezliğini azaltabileceği bildirilmiştir (Sun v.d. 2016).

### Propolis Kullanım Dozu ve Toksisitesi

İn vivo ve klinik çalışmalar ile propolisin insan ve sıçanlarda alerjik reaksiyon göstermeden güvenle kullanılabilirliğini ya da yüksek miktarlarda uygulanmadıkça toksik etkisinin görülmeceğini belirlenmiştir (Cao v.d. 2015, Cornara v.d. 2017, Braakhuis 2019).

Ham propolis ve ekstraktlarının standartlaştırılmamış olması nedeniyle toksisitesinde farklılıklar görülmektedir. Bunun yanında farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen veriler bulunmaktadır (Burdock 1998). Propolisin günde 15 gramdan fazla kullanılması cilt tahrişi ve alerjilere neden olacağı bildirilirken, astım ve egzama rahatsızlığı bulunan kişilerde kullanımına dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Castaldo ve Capasso 2002). Yine kolanjiyokarsinomu bulunan ve böbrek yetmezliği nedeniyle diyalize ihtiyaç duyan bir hastanın propolis kullanımı ile böbrek fonksiyonlarının bozulduğu ve kullanımının durdurulmasından sonra düzeldiği ve buna propolisin yapısında bulunan CAPE'in sebep olabileceği bildirilmiştir (Li v.d. 2005). Propolisin ekstraksiyonu ile elde edilen pinosebrin kullanımında ise günde 120 mg kullanılması tavsiye edilmiştir (Cao v.d. 2015).

Antiseptik, iltihap giderici ve anestezi etkisi bulunan, kozmetik ve medikal hazırlık ürünlerinde kullanılan propolise karşı kişilerin alerjik reaksiyon özelliği incelenmiş ve alerjik reaksiyon gösteren hastaların 3-metil-2-bütenil kafeat ve feniletik kafeat bileşenlerine karşı %1,2-6,6 oranında alerjik reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir. Araştırma sonucunda dudak koruyucu, kozmetik losyon, şampuan, saç kremi ve diş macununda propolis en iyi doğal ürün olduğu bildirilmiştir (Walgrave v.d. 2005, Kuropatnicki v.d. 2013). Genel olarak kullanımının güvenli olduğu bildirilen propolisin çeşitli araştırmalarda belirlenen toksik etkileri nedeniyle kullanımında tıbbi tavsiye alması gerekmektedir (Braakhuis 2019).

### SONUÇ

Fonksiyonel gıdalar günümüzde önem taşıdığı için tüketiciler doğal ürünlerinin tüketimine

yönelmektedir. Bu noktada tamamlayıcı tıp yöntemlerinden biri olan apiterapide de kullanılan arı ürünlerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Propolis günümüzde doğal iyileştirici olarak dikkat çekmektedir. Birçok hastalık üzerinde yapılan çalışmalarda hastalıkların iyileştirilmesi ya da önlenmesi yönünde olumlu yönde katkıda bulunduğu belirlenmiştir. İltihaplı yaraların iyileştirilmesi, diş hassasiyetinin giderilmesi ya da çürüklerin önlenmesinde, kalp-damar sağlığının desteklenmesinde propolis doğal tedavi ilacıdır. Yapılan çalışmaların çoğu propolisin alerjik etkisinin olmadığını bildirirse de aksi durumların bildirildiği çalışmalarda mevcuttur. Bu nedenle 2014 yılında yürürlüğe giren yönetmelik gereği tedavi amacıyla kullanımında sertifikalı hekim/diş hekimi gözetimi önem taşımaktadır. Konu hakkında ayrıntılı bilgi sahibi kişilerin yönlendirmesiyle profesyonel bir ortamda arı ürünlerinden faydalanılabilmesi için yasal sınırları belirlenen alternatif tıp merkezlerinin kurulması ve yaygınlaşması önemlidir.

### Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SDÜ-BAP) Koordinasyon Birimi tarafından FDK-2019-6924 No'lu proje ile doktora tez çalışması kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı SDÜ-BAP birimine teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

- Abdelrazeg, S., Hussin, H., Salih, M., Shaharuddin, B. 2020. Propolis composition and applications in medicine and health, *International Medical Journal*, 25(3), 1505-1542.
- Akçora, B., Altuğ, ME., Hakverdi, S., Konaş, S., Öztürk, A., Bayraktar S. 2010. Kısmi üreter obstrüksiyonu oluşturulan tavşanlara kafeik asit fenil ester'in böbrek hasarlanması üzerine etkileri. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 26, 163-168.
- Albayrak, S., Albayrak, S. 2008. Propolis: doğal antimikrobiyal madde. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37(3), 201-215.
- Alday, E., Valencia, D., Carreno, AL., Picerno, P., Piccinelli, AL., Rastrelli, L., Roblez-zepeda, R., Hernandez, J., Velazquez, C. 2015.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Apoptotic induction by pinobanksin and some of its ester derivatives from Sonoran propolis in a-B-Cell lymphoma cell line. *Chemico-Biological Interactions*, 242, 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.09.013>
- Aly, SA., Elewa, NA. 2007. The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *The Journal of dairy research*, 74(1), 74.
- Anjum, SI., Ullah, A., Khan, K., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, MA., Tahir, M., Ansari, MJ., Ghramh, HA., Adgaba, N., Dash. C. K. 2019. Composition and functional properties of propolis (Bee Glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695-1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Anonim, 2014. Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği. TC Resmi Gazete. 29158. 27 Ekim 2014.
- Anonim, 2019. Türkiye’de kalp ve damar hastalıkları. *TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Bilgi Notu*. 21 Haziran 2019.
- Apaydın, H. 2015. Propolisin Hazır çorbalardan elde edilen *Staphylococcus aureus* üzerine inhibisyon etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 67s. Tekirdağ.
- Arslan, AS., Birben, N., Seven, PT., Seven, İ. 2017. Arı ürünleri ve hayvan beslemede kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 17(2),93-104. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.372898>
- Arslan, S., Perçin, D., Silici, S., Koç, AN., Er, Ö. 2010. Farklı çözücülerde hazırlanan propolis özütlerinin mutans streptokoklar üzerine *in vitro* antimikrobiyal etkisi, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(1), 68-73.
- Atik, A., Gümüş, T. 2017. Propolisin gıda endüstrisinde kullanım olanakları. *Akademik Gıda*, 15(1), 60-65. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.306066>
- Aydın, HE. 2013. Deneysel omurilik yaralanmasında metilprednizolon ve propolis etkinliğinin karşılaştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, 65s. Eskişehir.
- Aydın, Y., Tekeoğlu, İ. 2018. Tamamlayıcı tıp ve güncel apiterapi uygulamaları. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 2(2), 64-73.
- Bağdatlı, MN. 2019. Enkapsüle propolis fonksiyonel gıda üretiminde kullanılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi*. 76s. Malatya.
- Bahtiti, NH. 2013. Study of preservative effect of "propolis" on the storage quality of mashed potatoes. *Food Science and Technology*, 1(2), 17-20.
- Bakkaloğlu, Z., Arıcı, M. 2019. Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(4), 538-545. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.667272>
- Baltaş, N., Karaoğlu, AA., Tarakçı, C., Kolaylı S. 2016. Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of *Helicobacter pylori* and production of its urease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry*, 31(2), 46-50. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1186023>
- Barroso, MV., Cattani-Cavaliere, I., Brito-Gtirana, L., Fautel, A., Lagente, V., Schmidt, M., Porto, LC., Romana-Souza, B., Valença, SS., Lanzetti, M. 2017. Propolis reserved cigarette smoke-induced emphysema through macrophage alternative activation independent of Nrf2. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25,5557-5568. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.08.026>
- Bayram, NE. 2015. Hakkari Bölgesi propolislerinin botanik orijininin ve kimyasal içeriğinin saptanması, *Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 222 s., İstanbul.
- Bayram, R., Benek, BS., Gümüştekin, K., Yavuz, MZ., Benek, Ü., Kaya, E. 2015. Propolis tıbbi tedaviye destek olabilir mi? *European Journal of Health Sciences*, 1(3), 92-95.
- Bazmandegan, G., Boroushaki, MT., Shamsizadeh, A., Ayoobi, F., Hakimzadeh, E., Allahtavakoli, M. 2017. Brown propolis attenuates cerebral ischemia-induced oxidative damage via affecting antioxidant enzyme system in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 85(2017), 503-510.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.057>
- Bazmandegan, G., Shamsizadeh, A., FathiNajafi, M., Assadollahi, Z., Allahtavakoli, M., Kamiab, Z., Vakilian, A., Moghadam-Ahmadi, A., Amirteimoury, M., Boroushaki, MT. 2020. Iranian Brown propolis possesses neuroprotective effect against ischemic neuronal damage in mice. *Journal of Hermed Pharmacology*, 9(2), 121-129. <http://dx.doi.org/10.34172/jhp.2020.16>
- Bhat, N., Bapat, S., Asawa, K., Tak, M., Chaturvedi, P., Gupta, VV., George, PP. 2015. The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. *Journal of Nature Science, Biology and Medicine*, 6(2), 364. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.160007>
- Bigliardi, B., Galati, F. 2013. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 31(2), 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>
- Biray, Ç., Gündüz, C., Yılmaz, B., Şahin, F., Topçuoğlu, N. 2006. Propolis ve etken maddeleri olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) ve Sinamik Asitin, insan T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (CCRF-CEM)'de sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin değerlendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 45(2), 83-92.
- Bogdanov, S. 2017. Propolis. Composition, health, medicine. A Review. *Bee Product Science*. Chapter 1.
- Braakhuis, A. 2019. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705. <https://doi.org/10.3390/nu11112705>
- Budisan, L., Gulei, D., Jurj, A., Braicu, C., Zanoaga, O., Cojocneanu, R., Pop, L., Raduly, L., Barbat, A., Moldovan, A., Moldovan, C., Tigu, AB., Ionescu, C., Atanasov, AG., Irimie, A., Berindan-Neagoe, I. 2019. Inhibitory effects of CAPE and Kaempferol in colon cancer cell lines-possible implications in new therapeutic strategies. *International Journal of Molecular Science*, 20(5), 1199. <https://doi.org/10.3390/ijms20051199>
- Burdock, GA, 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347-363. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2)
- Cao, G., Ying, P., Yan, B., Xue, W., Li, K., Shi, A., Sun, T., Yan, J., Hu, X., 2015. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of single and multiple doses of pinocembrin injection administered intravenous in healthy subjects. *Journal of Ethnopharmacology*, 168, 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.041>
- Castaldo, S., Capasso, F. 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73 (1), 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00185-5)
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., Suddes, A. 2018. Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *Journal of Functional Foods*, 41,1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.023>
- Cavacante de Farias, JH., Reis, AS., Araujo, AR., Araujo, MJAM., Assunção, AKM., Cavacante de Farias, J., Fialho, EMS., Silva, LA., Costa, GC., Guerra, RNM., Riberio, MNS., Fernandes do Nascimento, FR. 2014. Effects of stigless bee propolis on experimental asthma. *Evidence -Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 951478. <https://doi.org/10.1155/2014/951478>
- Celinska-Janowicz, K., Zareba, I., Lazarek, U., Teul, J., Tomczyk, M., Palka, J., Mityk, W. 2018. Constituents of propolis: chrysin, caffeic acid, p-coumaric acid, and ferulic acid induce PRODH/POX dependent apoptosis in human tongue squamous cell carcinoma cell (CAL-27). *Frontiers in Pharmacology*, 9, 336. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00336>
- Chen, YW., Ye, SR., Ting, C., Yu, YH. 2018. Antibacterial activity of propolis from Taiwanese green propolis. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 761-768. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.10.002>
- Chopra, S., Pillai, KK., Husain, SZ., Gird, DK. 1995. Propolis protects against Doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Experimental and Molecular Pathology*, 62(3), 190-198. <https://doi.org/10.1006/exmp.1995.1021>

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Chu, K., Lu, W., Zhu, L., Shen, X., Huang, J. 2013. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), an active component of propolis, inhibits *Helicobacter pylori* prptide deformylase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 435, 289-294 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.026>
- Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., Burlando, B. 2017. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00412>
- Çağlayan, HZB., Ataoğlu, EE., Kibaroglu, S. 2017. Nörolojide geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarının etkinliğinin değerlendirilmesi. *Turkish Journal Neurology*, 24, 111-116. <https://doi.org/10.4274/tnd.83357>
- Çelik, G. 2016. Fonksiyonel yeni süt ürünleri; Propolis katkılı yoğurt ve ayran. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 75s. Tunceli.
- Doğan, N., Hayoğlu, İ. 2012. Propolis ve kullanım alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16(3), 39-48.
- Durmuş, M., Yılmaz, HR., Uz, E., Özçelik, N. 2008. The Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) treatment on levels of MDA, NO and antioxidant enzyme activities in retinas of Streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Medical Science*, 38(6), 525-530.
- Ebeid, SA., El Moneim, NAA., El Benhawry, SA., Hussain, NG., Hussein, MI. 2016. Assessment of the radioprotective effect of propolis in breast cancer patients undergoing radiotherapy. New perspective for an old honey bee product. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9, 431-440. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2016.06.001>
- El-Demery, M., Elsebaie, EM., Zidan, N., Essa, R. 2016. Efficiency of propolis and turmeric powders as natural preservatives in minced beef. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 7(1), 45-50.
- Elfiky, AA. 2020. Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-10.
- El-Seedi, HR., Khalifa, SAM., El-Wahed, AA., Gao, R., Guo, Z., Elrasheid, T., Zhao, C., Du, M., Farag, MA., Musharraf, SG., Abbas, G. 2020. Honeybee products: An updated review of neurological actions. *Trends in Food Science and Technology*, 101,17-27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.026>
- Escriche, I., Juan-Borrás, M. 2018. Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis. *Food Research International*, 106, 834-841. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.055>
- Farooqui, T., Farooqui, AA. 2012. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Front Biosci (Elite Ed)*, 4, 779-793.
- Folic, M., Nestic, V., Arsovic, N. 2020. Efficiency of propolis N-acetylsistein on reduction on symptom severity of respiratory infection in children with adenoid hypertrophy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8, 91-98. <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2020.04.001>
- Fuliang, HU., Hepburn, HR., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., Radloff, SE. 2005. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research*, 51(2), 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2004.06.011>
- Gao, JX., Chen, HY., Lu, ZY. 2011. The Influence of Propolis on Bifidobacteria And Lactobacillus in Yogurt. *Chinese Journal of Disinfection*, (2), 21.
- Gargouri, W., Oses, SM., Fernandez-Muino, MA., Sancho, MT. 2019. Evaluation of bioactive compounds and biological activities of Tunisian propolis. *Food Science and Technology*, 111, 328-336. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.044>
- Gargouri, W., Kammiun, R., Elleuche, M., Tlili, M., Kechaou, N., Ghoul-Mazgar, S. 2020. Effect of xylitol chewing gum enriched with propolis on dentin remineralization in vitro. *Archives of Oral Biology*, 112. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104684>
- Ghebleh, F. 2019. Propolis ve kekik yağı katkılı kitosan kaplamanın tavuk göğüs eti kalitesi üzerine etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 65s. Erzurum.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Granados-Pineda, J., Uribe-Uribe, N., Garcia-Lopez, P., Ramos-Godinez, MDP., Rivero-Cruz, JF., Perez-Rojas, JM. 2018. Effects of pinocembrin isolated from Mexican Brown propolis on diabetic nephropathy. *Molecules*, 23(4), 852. <https://doi.org/10.3390/molecules23040852>
- Güney, F. 2016. Bazı propolis özütlerinin meyveli yoğurtların biyokimyasal, fizikokimyasal ve raf ömrü üzerine etkilerinin araştırılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü*, 85s, Ordu.
- Hochheim, S., Guedes, A., Faccin-Galhardi, L., Rechenchoski, DZ., Nozowa, C., Linhares, RE., da Silva Filho, HH., Rau, M., Siebert, DA., Micke, G., Cordova, CMM. 2019. Determination of phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS, antioxidant activity, in vitro cytotoxicity and anti-herpetic activity of propolis from the Brazilian native bee *Melipona quadrifasciata*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy, Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29,339-350. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.12.010>
- Imhof, M., Lipovac, M., Kurz, CH., Barta, J., Verhoeven, HC., Huber, JC. 2005. Propolis solution for the treatment of chronic vaginitis. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 89, 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2005.01.033>
- İlhan, A., Koltuksuz, U, Özen, Uz, S., Ciralik, H., Akyol, O. 1999. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 16(4), 458-463. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(99\)00246-8](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(99)00246-8).
- Kabala-Dzik, A., Rzepecka-Stojko, A., Kubina, R., Jastrzebska-Stojko, Z., Stojko, R., Wojtyczka, RD., Stojko, J. 2017. Comparison of two components of propolis: caffeic acid (CA) and Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) induce apoptosis and cell cycle arrest of breast cancer cells MDA-MB-231. *Molecules*, 22(9), 1554. <https://doi.org/10.3390/molecules22091554>
- Kakoolaki, S., Talaş, ZS., Çakır, O., Çiftçi, O., Özdemir, İ. 2013. Role of propolis on oxidative stress in fish brain. *Basic and Clinical Neuroscience*, 4(2), 153-158.
- Kaldır, HM., Tatlı, E., Turgut, B., Vural, Ö. 2002. Dokсорubisin'e bağlı kardiyotoksisite. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji*. 15 (6), 416-421.
- Kamatou, G., Sandasi, M., Tankeu, S., Vuuren, SV., Viljoen, A. 2019. Headspace analysis and characterisation of South African propolis volatile compounds using GCxGC-ToF-MS. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(3), 351-357. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.12.002>
- Katırcıoğlu, H., Mercan, N. 2006. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1151-1153.
- Keskin, M. 2018. Propolis ve özütlerinin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve enkapsülasyonu, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 100s, Trabzon.
- Keskin, M., Kolaylı, S. 2019. Propolis ekstraktlarının kalite parametreleri açısından karşılaştırılması. *Uludağ Bee Journal*, 19(1), 43-49. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.568302>
- Keskin, Ş., Yatanaslan, L., Karlıdağ, S. 2020. Anadolu'nun farklı illerinden toplanan propolis örneklerinin kimyasal karakterizasyonu. *Uludağ Bee Journal*, 20(1). 81-88. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.714317>
- Kimoto, N., Hirose, M., Kawabe, M., Satot, T., Miyataka, H., Shirai, T. 1999. Post-initiation effects of a super critical extract of propolis in a rat two-stage carcinogenesis model in female F344 rats. *Cancer Letters*, 147(1-2), 221-227.
- Koo, HJ., Lee, KR., Kim, HS., Lee, BM. 2019. Detoxification effects of aloe polysaccharide and propolis on the urinary excretion of metabolites in smokers. *Food and Chemical Technology*, 130, 99-108. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.029>
- Kouidhi, B., Zmantar, T., Bakhrouf, A. 2010. Anticariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation. *Anaerobe*, 16, 566-571. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.09.005>

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Kumar, V., Dhanjal, JK., Kaul, SC., Wadhwa, R., Sundar, D. 2020. Withanone and caffeic acid phenethyl ester are predicted to interact with main protease (Mpro) of SARS-CoV-2 and inhibit its activity. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, (just-accepted), 1-17.  
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1772108>
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avci, BC., Ceyran, G. 2002. Önemli bir arı ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2(2), 10-24.
- Kunrath, CA., Savoldi, DC., Mileski, JPF., Novello, CR., Alfaro, AT., Marchi, JF., Tonial, IB. 2017. Application and evaluation of propolis, the natural antioxidant in italian type salami. *Brazilian Journal Food Technology*, 20.  
<http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.3516>
- Kuropatnicki, AK., Szliszka, E., Krol, W. 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence -Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 964149. <https://doi.org/> <https://doi.org/>
- Lavigne, JP., Vitrac, X., Bernard, L., Bruyere, F., Sotto, A. 2011. Propolis can potentialise the anti-adhesion activity of proanthocyanidins on uropathogenic *Escherichia coli* in the prevention of recurrent urinary tract infections. *Biomed Central Research Notes*, 4(1), 522.
- Li, YJ., Lin, L., Yang, CW., Yu, CC. 2005. Acute renal failure induced by a Brazilian variety of propolis. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(6), 125-129.  
<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.08.028>
- Liu, Y., Liang, X., Zhang, G., Kong, L., Peng, W., Zhang, H. 2018. Galangin and pinocembrin from propolis ameliorate insulin resistance in HepG2 cells via regulating Akt/mTOR signaling. *Evidence -Based Complementary and Alternative Medicine*, 7971842.  
<https://doi.org/10.1155/2018/7971842>
- Lotfy, M. 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7, 22-31.
- Ma, YZ., Li, L., Kong, LL., Zhu, ZM., Zhang, W., Song, JK., Chang, J., Du, GH. 2018. Pinocembrin protects blood-brain barrier function and expands the therapeutic time window for tissue-type plasminogen activator treatment in a rat thromboembolic stroke model. *BioMed Research International*, 2018, 8943210.  
<https://doi.org/10.1155/2018/8943210>
- Maaroufi, H. 2020. LxxlxE-like Motif in Spike Protein of SARS-CoV-2 that is Known to Recruit the Host PP2A-B56 Phosphatase Mimics Artepillin C, an Immunomodulator, of Brazilian Green Propolis. *Biorewiev*.  
<https://doi.org/10.1101/2020.04.01.020941>
- Mehmetoğlu, S. 2019. Propolis katkılı dondurmaların depolama süresince fizikokimyasal yapısının incelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s. Ordu.
- Mehmetoğlu, S., Tarakçı, Z., Demirkol, M., Çakıcı, N., Güney, F. 2017. Gıda katkı maddesi olarak propolis. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 32-39.
- Mirsadraee, M., Azmoon, B., Ghaffari, S., Abdolsamadi, A., Khazdair, MR. 2019. Effects of propolis on moderate persistent asthma: a phase two randomized, double blind, controlled clinical trial. *Avicenna Journal of Phytoedicine*.  
<https://doi.org/10.22038/AJP.2020.15777>
- Mohammad Ali, BM., Ghoname, NF., Hodeib, AA., Elbadawy, MA. 2015. Significance of topical propolis in the treatment of facial acne vulgaris. *Egyptian Journal of Dermatology and Venereology*, 35, 29-36.  
<https://doi.org/10.4103/1110-6530.162468>
- Mojarab, S., Shahbazzadeh, D., Moghbeli, M., Eshraghi, Y., Bagheri, KP., Rahimi, Savoji, MA., Mahdavi, M. 2020. Immune responses to HIV-1 polytope vaccine candidate formulated in aqueous and alcoholic extracts of Propolis: Comparable immune responses to Alum and Freund adjuvants. *Microbial Pathogenesis*, 140, 103932.  
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103932>
- Mollahaliloğlu, S., Uğurlu, FG., Kalaycı, M., Öztaş, D. 2015. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında yeni dönem. *Ankara Medikal Journal*, 15(2), 102-105.  
<https://doi.org/10.17098/amj.44789>

- Moreno, MA., Vallejo, AM., Ballester, AR., Zampini, C., Isla, MI., López-Rubio, A., Fabra, MJ. 2020. Antifungal edible coatings containing Argentinian propolis extract and their application in raspberries. *Food Hydrocolloids*, 105973. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105973>
- Naz, S., Imran, M., Rauf, A., Orhan, IE., Shariati, MA., Ul-Haq, I., Yasmin, I., Shahbaz, M., Qaisrani, TB., Shah, ZA., Plygun, S., Heydari, M. 2019. Chrysin: Pharmacological and therapeutic properties. *Life Sciences*, 235, 116797. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116797>
- Olegario, LS., Andrade, JKS., Andrade, GRS., Denadal, M., Cavalcanti, RL., Silva, MAAP., Narain, N. 2019. Chemical characterization of four brazilian brown propolis: an insight in tracking of its geographical location of production and quality control. *Food Research International*, 123, 481-502. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.004>
- Onur, E., Nalbantsoy, A., Kışla, D. 2018. İmmünoterapi ve propolisin kanser immünoterapisinde kullanım potansiyeli. *Food and Health*, 4(4), 231-246. <https://doi.org/10.3153/FH18023>
- Orsolich, N., Jurcevic, IL., Dikic, D., Rogic, DD., Odeh, D., Balta, V., Junakovic, EP., Terzic, S., Jutric, D. 2019. Effects of propolis on diet-induced hyperlipidemia and atherogenic indices in mice. *Antioxidants*, 8(6), 156. <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Padmavathi, R., Senthilnathan, P., Sakthisekaran, D. 2006. Therapeutic effect of propolis and paclitaxel on hepatic phase I and II enzymes and marker enzymes in Dimethylbenz(a)anthracene-Induced breast cancer in female rats. *Comperative Biochemistry and Psysiology*, 143, 349-354. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.03.009>
- Pahlavani, N., Sedaghat, A., Moghaddam, AB., Shabnam, S., Kiapay, M., Navashenaq, JG., Jarahi, L., Reazvani, R., Norouzy, A., Nematy, M., Safarian, M., Ghayour-Mobarhan, M. 2019. Effect of propolis and melatonin on oxidative stress, inflammation, and clinical status in patients with primary sepsis: study protocol and review on previous studies. *Clinical Nutrition ESPEN*, 33, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.06.007>
- Palaz, MN., Akçay, E., 2020. The impact of propolis factor caffeic acid phenethyl-ester on the cerebral vasospasm and early brain damage in the experimental induced subarachnoid hemorrhage on rats. *World Neurosurgery*, 138, 736-742. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.03.058>
- Patel, S. 2016. Emerging adjuvant therapy for cancer: Propolis and its constituents. *Journal of Dietary Supplements*, 13(3), 245-268. <https://doi.org/10.3109/19390211.2015.1008614>
- Pineros, AR., Lima, MHF., Rodrigues, T., Gembre, AF., Bertolini, TB., Fonseca, MD., Bernetta, AA., Ramalho LNZ., Cunha, FQ., Hori, JI., Bonato, VLD. 2020. Green propolis increases myeloid suppressor cells and CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> cells and reduces Th2 inflammation in the lungs after allergen exposure. *Journal of Ethnopharmacology*, 252, 112496. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112496>
- Popova, M., Giannopoulou, E., Skalicka-Woźniak, K., Graikou, K., Widelski, J., Bankova, V., Kalofonos, H., Sivolapenko, G., Gawe-Beben, K., Antosiewicz, B., Chinou, I. 2017. Characterization and biological evaluation of propolis from Poland. *Molecules*, 22, 1159. <https://doi.org/10.3390/molecules22071159>
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoğlu, O., Bankova, V. 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine*, 12, 221-228. <https://doi:10.1016/j.phymed.2003.09.007>
- Putra, RA., Prasetyo, DH., Pesik, RN. 2015. The effect of propolis' ethanolic extract on serum malondialdehyde level of mice Balb/c induced by cigarette smoke. *Nexus Biomedika*, 4(1).
- Romeo, M., Freire, J., Pastene, E., Garcia, A., Aranda, M., Gonzales, C. 2019. Propolis phyphenolic compounds affect the viability and structure of *Helicobacter pylori* in vitro. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 29(3), 325-332. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.03.002>
- Santos, DA., Munari, FM., Silva Frozza, CO., Moura, S., Barcellos, T., Henriques, JAP., Roesch-

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Ely, M. 2019. Brazilian red propolis extracts: study of chemical composition by ESI-MS/MS(ESI+) and cytotoxic profiles against colon cancer cell lines. *Biotechnology Research and Innovation*, 3, 120-130. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.02.001>
- Seçilmiş Y., Silici, S. 2020. Bee product efficacy in children with upper respiratory tract infection. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 62, 634-640. <https://doi.org/10.24953/turkjpmed.2020.04.013>
- Seven, PT., Baykalır, BG., Ak, TP., Seven, İ., Başak, N., Yaman, M. 2018. The protective effects of propolis and flunixin meglumine on feed intake, antioxidant status and histological parameters in liver and kidney tissues against excess copper in rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 65, 395-406.
- Sforcin, JM. 2016. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy Research*, 30, 894-905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>
- Silici, S., Güçlü, BK. 2018. Yumurtacı tavuk rasyonlarına propolis ve kafeik asit ilavesinin performans, yumurta kalitesi ve serum değişkenleri üzerine etkileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 27(3), 221-227.
- Silva Frozza, CO., Santos, DA., Rufatto, LC., Minetto, L., Scariot, FJ., Echeverrigaray, S., Pich, CT., Moura, S., Padilha, FF., Borsuk, S., Savegnago, L., Collares, T., Seixas, FK., Dellagostin, O., Roesch-Ely, M., Henriques, JAP. 2017. Antitumor activity of Brazilian red propolis fractions on hep-2 cancer cell line. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 91, 951-963. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.027>
- Spinelli, S., Conte, A., Lecce, L., Incoronato, L., Del Nobile, MA. 2015. Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. *Journal of Food Process Engineering*, 38(6), 527-535. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12183>
- Sun, G., Qiu, Z., Wang, W., Sui, X., Sui, D., 2016. Flavonoids extraction from propolis attenuates pathological cardiac hypertrophy through PI3K/AKT signaling pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2016/6281376>
- Sun, LP., Xu, X., Hwang, HH., Wang, X., Su, KY., Chen, YLS. 2016. Dichromethane extracts of propolis protect cell from oxygen-glucose deprivation-induced oxidative stress via reducing apoptosis. *Food and Nutrition Research*, 60(1), 1-10. <https://doi.org/10.3402/fnr.v60.30081>
- Sung, SH., Choi, GH., Lee, NW., Shin, BC 2017. External use of propolis oral, skin, and genital diseases: a systematic review and meta-analysis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 8025752. <https://doi.org/10.1155/2017/8025752>
- Tacconelli, E., Magrini, N., Singh, N. 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria. *World Health Organization*, Geneva, 7s.
- Talaş, ZS., Özdemir, İ., Çiftçi, O., Çakır, O., Gülhan, MF., Paşaoğlu, OM. 2014. Role of propolis on biochemical parameters in kidney and heart tissues against L-NAME induced oxidative injury in rats. *Clinical and Experimental Hypertension*. 36 (7), 492-496. <https://doi.org/10.3109/10641963.2013.863322>
- Usman, ZU., Bakar, ABA., Mohamed, M. 2016. Phytochemical screening and comparison of antioxidant activity of water and ethanol extract propolis from Malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(5), 413-415.
- Vagish Kumar, LS. 2014. Propolis in Dentistry and oral cancer management. *North American Journal of Medical Science*. 6(6), 250-259. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.134369>
- Vukovic, NL., Obradovic, AD., Vukic, MD., Jovanovic, D. 2018. Cytotoxic proapoptotic and antioxidative potential of flavonoids isolated from propolis against colon (HTC-116) and breast (MDA-MB-231) cancer cell lines. *Food Research International*. 106, 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.056>
- Walgrave, SE., Warshaw, EM., Glesne, LA. 2005. Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis*, 16 (4), 209-215.
- Wu, JJ., Shen, CT., Jong, TT., Young, Chiu-Chung, Y., Yang, HL., Hsu, SL., Chang, CM., Shieh, U. Arı D. – U. Bee J. 2020, 20 (2): 189-208



## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- CJ. 2009. Supercritical carbon dioxide anti-solvent process for purification of micronized propolis particules and associated anti-cancer activity. *Seperation and Purification Technology*, 70, 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.09.015>
- Yang, W., Wu, Z., Huang, ZY., Miao, X. 2017. Preservation of orange juice using propolis. *Journal of Food Science and Technology - Mysore* 54(11),1-9. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2754-x>
- Yılmaz, S., Kaya, E. 2018. Ratlarda siklofosamid ile oluşturulmuş hemorajik sistitte propolis ve enginarın koruyucu etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*. 32(2), 93-98
- Yücel, B., Topal, E., Akçiçek, E., Köseoğlu, M. 2014. Propolisin insan sağlığına etkisi. *Anadolu Journal of Agean Agriculture Reserarch Institute*, 24(2), 41-49.
- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., Lobaccaro, JMA. 2017. Biological propoerties of propolis extrats: something new from an ancient product. *Chemistry and Physics of Lipids*, 207, 214-222. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005>

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

# BAL MUMUNUN YAPISI, KULLANIM ALANLARI ve BAZI TEMEL SORUNLARI

## Structure, Usage Areas and Main Problems of Bees Wax

Erkan TOPAL<sup>1\*</sup>, Özgür CEYLAN<sup>2</sup>, Mustafa KÖSOĞLU<sup>3</sup>, Rodica MĂRGĂOAN<sup>4</sup>,  
Mihaiela CORNEA-CIPCIGAN<sup>5</sup>

<sup>1\*</sup>Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Arıcılık Ar-Ge İnovasyon Merkezi, İzmir, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0002-1398-4390, Yazışma Yazarı: email: topalerkan@tarimorman.gov.tr

<sup>2</sup>Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Kalite Kontrolü ve Analizi Programı, Muğla, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0002-1865-1093

<sup>3</sup>Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Arıcılık Ar-Ge İnovasyon Merkezi, İzmir, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0001-6616-089X

<sup>4</sup>University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Advanced Horticultural Research Institute of Transylvania, Department of Microbiology and Biotechnologies, Cluj-Napoca, ROMANIA, ORCID No: 0000-0002-9246-1677

<sup>5</sup>University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Faculty of Horticulture, Department of Horticulture and Landscaping, Cluj-Napoca, ROMANIA, ORCID No: 0000-0003-3313-2416

Geliş Tarihi / Received:16.08.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 29.09.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.781259

### ÖZ

Bal mumu arı kolonisinin yaşamsal faaliyetlerini üzerinde yürüttüğü peteğin ham maddesidir. Arıcılık işletmeleri için bal, polen, arı sütü ve arı ekmeği gibi bal mumu da bir arı ürünüdür. Bal mumu absorbe etme yeteneği kaynaklı kovan içi ve dışı kirleticileri bünyesinde biriktirebilmektedir. Bu şekilde kalıntı içeren peteklerden üretilen arı ürünleri insan ve arı sağlığı için risk oluşturmaktadır. Aynı zamanda eski petekler patojen mikroorganizmalar için konak işlevi görebilmektedir. Özellikle petek işleme tesisleri eski peteklerin hijyenik hale gelmesi açısından oldukça önemli bir sorumluluk taşımaktadır. Bal mumunun çok geniş bir kullanım alanı içermesi dikkatleri de üzerine çekmiştir. Gıda sektöründe kaplayıcı ajan olarak, kozmetikte sabun ve kremlerde geniş kullanımının yanısıra, tekstil, boya, kâğıt sanayinde ve sağlık sektöründe birçok alanda kullanılan bir üründür. Bal mumundan yapılan birçok süs eşyası da bulunmaktadır. Bu çalışmada bal mumu ile ilgili son çalışmalar ışığında ilgili sektörlerinde faydalanabilecekleri yeni bakış açıları sunulması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bal mumu, arı sağlığı, kalıntı, gıda kaplama,

### ABSTRACT

Beeswax is the raw material of the honeycomb that the bee colony carries out in its vital activities. Beeswax is also a bee product, such as honey, pollen, royal jelly and bee bread for beekeeping. Because beeswax is an absorbent, it can collect pollutants inside and outside the hive. The bee products produced from this honeycomb pose a risk to human and bee health. Older combs can also provide shelter from pathogenic microorganisms. In particular, honeycomb processing equipments have a very important responsibility for the hygiene of old honeycombs. Beeswax attracts attention with its wide usage area. As a coating agent in the food industry, it is a product used in cosmetics, soap, candle, cream, textile, paint, paper industry, health and many other fields, such as wax sculptures. This study aims to present new perspectives that can be used in relevant fields in the light of recent studies.

**Keywords:** Beeswax, Bee health, Residues, Food coatings.

**EXTENDED ABSTRACT**

**Introduction:** Beeswax is the component of the honeycomb, in which the honeybee keeps its vital needs (honey, pollen) in order to maintain the colony, to regulate vital activities and maintain its hatching activity. The strength of the colony is demonstrated by the number of honeycomb frames in the hive. Beeswax is used as a raw material in many fields. There are many factors, both during production and in the environment, that might threaten the natural state of wax. Honeycombs, the center of many activities in the hive, are exposed to veterinary drug residues and external pollutants applied by beekeepers. In some accommodation areas, the time that bee colonies remain on pollutants and the usage period of old honeycombs can reach levels that threaten sustainable beekeeping and a healthy product production.

**Methods and results:** In this review, the composition of wax, its usage areas, national and international studies that reveal basic issues are examined. The results are presented in a way to emphasize the importance of beeswax in multiple fields of study.

Beeswax is a component produced by the wax glands in the stomach of young worker bees and created by adding saliva secretions when chewing wax scales. The structure and composition of the wax varies depending on the feeding pattern of the bees, the environment in which they live (flora+pollutants) and the lifespan of the basic combs. Natural wax is a health-promoting product, used in cosmetics, food and many other sectors. It is used as a cream in cosmetics, skin problems, burn treatments and toothpaste in the health sector, in the production of antibacterial fabrics, the textile industry and as a coating base in animal and herbal production. Particularly in the food sector, intensive research has been carried out in order to extend the storage period of fruits and vegetables and increase their shelf life. It has also been used in many products such as eggs, cheddar cheese, salami to improve quality and preserve food.

Beeswax, with its wide usage area, faces multiple negative factors in the production stages and factories where old honeycombs are processed. In particular, the remains of veterinary medicines used for bee diseases/pests and external pollutants are trapped in the wax and appear as residues in products such as honey, pollen, propolis. If old honeycombs collected from beekeepers do not

undergo the correct treatment, the risk of spreading diseases and causing many problems in the honeycombs increases.

**Conclusion:** The most important problems of sustainable beekeeping are insufficient floral resources and pollutants. The original and outsourced pollution by beekeepers contaminates flower and water sources, eventually becoming an environmental crisis. This situation disrupts the continuity of beekeeping and causes the production of residual products. The risk of drug residues should be minimized through accurate diagnosis and timely application of products against pests and diseases. The use of authorized medicines according to the usage instructions and unnecessary use of medicines should be avoided. Instead of saving our day, we should use solutions that save our future. Preventive medicine, which is an important health problem, should also be applied in beekeeping. Therefore, beeswax is a product with a wide usage area and can provide a continuous profit in a residue-free production.

**GİRİŞ**

Bal mumu, bal arısı kolonisi için gıda depolama, kuluçka yetiştirme, termoregülasyon alanı olması yanısıra, arıların iletişimine arabuluculuk eden ve birçok kirletici (patojen, toksin ve atık) için absorban olan çok bileşenli bir malzemedir (Svečnjak v.d. 2019, Buchwald v.d. 2006). Bal mumu birçok farklı özelliği nedeniyle değişik sektörlerde farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Tekstil, boya, sağlık, kozmetik, gıda endüstrisi gibi sektörlerin yanında, ağaç kalıp işlemlerinde, ahşap koruyucu olarak, kağıt sanayinde, mum ve balmumundan heykellerin yapımında kullanılmaktadır (Szulc v.d. 2020, Márquez v.d. 2019, Kurtuldu ve Yıldırım 2019, Zhang v.d. 2019, Şen 2019; Eshete ve Eshete 2018, Souza v.d. 2017, Teker 2015, Khanzadi v.d. 2015, Zhang v.d. 2014, El Sakka v.d. 2013, Tezel 2009, Attam ve Adikwu 2007, Petric v.d. 2004).

Bal mumu ile ilgili tarihi dönemlere ait birçok ize rastlanılmıştır. Antik Mısır kültürü içindeki en büyük kullanım alanlarından biri de mumyalamadır. Ölümlerin içine konduğu lahid kapaklarının hava almasını önlemek için bal mumunun yoğun olarak kullanıldığı bilinmektedir (Benson v.d. 1978). Çin'de yapılan kazılarda M.Ö. 6 yüzyılda turkuaz kakmalı bronz kılınc sapında bağlayıcı ajan olarak saf bal mumu kullanıldığı tespit edilmiştir (Luo v.d. 2012).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

Yine Almanya'da buzul döneminde yapıştırıcı ajan olarak bal mumu kullanıldığı tespit edilmiştir (Baales v.d. 2017).

Bal mumu, bal ve diğer arı ürünleri gibi ekonomik değeri olan bir üründür. Bir kilogram bal mumundan üretilen petek bir kilogram baldan daha değerlidir (Eshete ve Eshetie 2018). Bal gibi bal mumu da büyük ilgi gören birkaç terapötik özellik taşımaktadır. Özellikle diş çürükleri ile iltihap ve yanıkların iyileştirilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda bal mumu ve bal mumu/zeytinyağı ve bal mumu/bal kombinasyonları halinde antimikrobiyal ve antifungal etkileri açığa çıkarılmıştır (Fratini v.d. 2016).

Bal mumunda ana kirlenme kaynağı arıcılıkta kullanılan akarisitlerdir (Bogdanov 2004). Bal mumundan temel petek eldesi sürecinde 2 önemli nokta bulunmaktadır. Birincisi bal mumunun, arı hastalıklarının bulaşması açısından yüksek riskli taşıyıcı olması ve buna bağlı olarak, bal mumundaki patojenlerin saptanması önemlidir (Svečnjak v.d. 2019). Farklı arı işletmelerinden toplanan kullanılmış petekler doğru işlemlerden geçmezse patojenlerin diğer arı işletmelerine yayılmasına neden olabilir. İkincisi ise doğal ürün olarak nitelendirilen bal mumunda çevresel kirlenmeler ve arı yetiştiricilerinin bilinçsiz ve gelişmiş ilaç kullanımı sonucu kalıntı birikmesidir (Valdovinos-Flores v.d. 2017, Karazafiris v.d. 2011).

### BAL MUMUNUN BİLEŞİMİ

Bal mumu, genç işçi arıların karnında (12 ila 18 gün arasında, yani arıların hemşire olarak hareket ettiği sürenin sonunda) özel bal mumu bezleri tarafından sentezlenir. Bal arılarının ön ayakları ile alt çenelerine aktardığı bal mumu pulları çiğnendiğinde tükürük salgıları da inşa edilecek temel peteğe eklenir (Hepburn v.d. 2014, Chauvin 1968). Arılar tarafından salgılandığında, saf bal mumu büyük oranda beyazdır. Sadece bal ve polen ile temas ettikten sonra yoğun sarımsı renk alır ve birkaç yıl sonra kahverengiye dönüşmektedir (Hepburn v.d. 1991). Renk değişikliğinde kuluçka faaliyeti etkili olmaktadır. Çok kullanılan petekler kısa sürede kahverengi renk almaktadır. Absorbe özelliğinden dolayı kalıntı riskinin artması ve kullanıldıkça yavru gözlerinde görülen küçülmeler nedeniyle peteklerin 2 yıl kullanılması önerilmektedir.

Dört bal arısı türüne ait (*Apis mellifera* L., *Apis andreniformis* L., *Apis dorsata* L. ve *Apis cerana*

L'nin iki alt türü) bal mumlarının mekanik özellikleri karakterize edilmiştir. *Apis dorsata* bal mumu daha sert ve oransal sınırdaki diğer bal mumlarının hepsinden daha yüksek akma gerilimi ve stresine sahipken *A. cerana* ve *A. mellifera* mumları ara mukavemet ve sertliğe sahip bulunmuştur. *A. Andreniformis* bal mumu ise en az güçlü, sert ve dirence sahip bal mumudur. Mumların tümü, oransal sınır ve akma noktasında benzer gerilim değerleri göstermiştir. Bal mumunun mekanik özelliklerinde gözlenen farklılıkların, bu türlerin yuvalama ekolojisi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. *A. mellifera* ve *A. cerana*, yuvayı çevresel streslerden koruyan boşluklarda yuva yaparken, en güçlü ve sert bal mumu olan türler *A. dorsata*, uzun ağaçların dallarına bağlı nispeten ağır yuvalar inşa ederek, onları büyük ölçüde daha büyük mekanik kuvvetlere maruz bırakmaktadır. (Buchwald v.d. 2006).

Asya ve Avrupa bal arılarından elde edilen bal mumlarının fiziksel özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, karbon zinciri uzunluğunun ortalama olarak Asya bal mumlarında *A. mellifera*'dan daha kısa olduğu ve daha düşük erime noktalarına sahip oldukları görülürken, Avrupa mumları *A. mellifera*'ya daha benzer bulunmuştur. Bal mumundaki ana bileşik grupları alkanlar, alkenler, serbest yağ asitleri, monoesterler, diesterler ve hidrosimonesterler iken, yağ alkoller ve hidrosodiesterler minör bileşenlerdir. Bal arısı türleri arasında bal mumu türlerinde belirgin türlere özgü farklılıklar bulunsa da hepsi homolog nötr lipidlerin kompleks bir karışımıdır (Hepburn v.d. 2014).

Bal mumu, hidrokarbonlar (%14), monoesterler (%35), diesterler (14-0), triesterler (%3), hidroksi monoesterler (%4), hidroksipoliesterler (%8), serbest asitler (%12), asit monoesterler (%1), asit polyesterler (%2) ve tanımlanmamış maddelerden (%7) oluşmaktadır (Tulloch 1971). Bal mumunda bulunan flavonoidler ilk defa Tomás-Barberán v.d. (1993) tarafından pinokembrin, pinobanksin, pinobanksin 3-asetat, chrysin, galangin ve techtochrysin ana flavonoid bileşenleri olarak tespit edilmiştir. Aynı flavonoid bileşiklerinin genellikle aynı coğrafi bölgeden toplanan bal, propolis ve bitkilerde de bulunduğu bildirilmiştir.

İşçi bal arıları, öğrenilen bir petek ile genetik benzerlik temelinde petekler arasında ayırım yapabilir. Petekten (bal mumundan) aldıkları yuva arkadaşı tanıma ipuçlarının da genetik olarak ilişkili bir bileşeni vardır. İşaretler petekte çok kısa maruz

kalma sürelerinde (5 dakika veya daha az) alınır ve fiziksel temasta olan arılar arasında aktarılabilmektedir. Bu sonuçlar bal arısı kovan arkadaşı tanımada petekten türetilmiş tanıma ipuçlarının oldukça önemli olduğu hipotezini desteklemektedir. Bu ipuçları, bal mumu tarafından emilen çiçek kokularından ziyade, en azından kısmen bal mumunun kendisinden kaynaklanmaktadır (Breed v.d. 1995). Bal mumundaki yağ asitleri de sosyal sinyaller olarak hizmet ettiğinden, yağ asitlerinin fonksiyonel önemi bulunmaktadır. Yağ asitlerinin bal mumundan çıkarılması, bal mumu örneklerinin verim stresi, esnekliği, sertliği ve oransal limit stresinde azalma ile sonuçlanmaktadır. Bal mumuna stearik asit eklenmesi, esneklik hariç tüm bu özellikleri arttırmaktadır. Yapay bal mumu karışımları, bal mumu karışımındaki stearik asit miktarı ile akma gerilimi arasında pozitif bir korelasyon göstermektedir. Bal mumunda bulunan doymamış yağ asitleri, yapay balmumu karışımlarının mekanik özellikleri üzerindeki etkileri açısından benzerdir. Yağ asidi konsantrasyonu koloniler arasında önemli farklılıklar göstermektedir (Buchwald v.d. 2009).

Farklı enerji besleme türlerinin T1 (şeker kamışı suyu), T2 (şeker şurubu) ve T3 (ters şeker-invert şeker) bal mumu üretimi ve ekonomik fizibilitesine etkisinin değerlendirildiği çalışmada; ortalama ters şeker tüketimi, diğer gruplardan önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. En yüksek bal mumu üretim ortalaması şeker şurubu grubunda elde edilmiştir. Şeker kamışı suyunda, ters şeker ve şeker şurubunda sırasıyla en yüksek kül, kuru madde ve indirgeyici şeker ortaya çıkmıştır. Şeker kamışı suyu daha kârlı olmasına rağmen, bal mumu üretimi için alternatif bir enerji kaynağı olabileceği bildirilmiştir (Carrillo v.d. 2015).

## BAL MUMUNUN KULLANIM ALANLARI

### Gıda Sektöründe Kullanım

Biyopolimerik kaplamalar, meyve ve sebzelerin kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin uzun süreli depolanmalarda korunma açısından etkilidir. Bal mumunun (BW), çalışmada kullanılan diğer biyopolimerlere kıyasla hidrofobik bir ajan olarak %10 oranında ilave edildiğinde su buharı iletim hızında en iyi sonuçları verdiği tespit edilmiştir. Yine kontrollü ortamda 15 gün boyunca meyvelerin yeterli olgunlaşmasını gösteren kilo kaybını en aza indirdiği görülmüştür (Oliveira v.d. 2018). Tayvan'da %2 bal

mumu ile kaplanmış yeşil hünnap meyvesinin su kaybını önemli ölçüde azaltabildiğini ve solunum yoğunluğunu önleyebildiğini, ayrıca brix ve titre edilebilir asit içeriğini etkili bir şekilde koruduğu ifade edilmiştir (Zhao v.d. 2011). Nektarin meyvelerinin raf ömrünün arttırılmasında %4.5 CaCl<sub>2</sub> ile %3 bal mumu karışımının kullanılabileceği bildirilmiştir (Seleshi v.d. 2019). Papaya solunum hızının, karides kabuğu atıklarından elde edilen kitosan veya bal mumundan türetilmiş bir polisakkaritin meyvelerin yüzeyinde kaplanması sayesinde inhibe edildiği rapor edilmiştir. Yapılan çalışma sonuçları, kitosan ve bal mumu ile meyve kaplamasının *Papaya callina*'nın raf ömrünü, depolama sırasında papaya meyvelerinin solunum hızını inhibisyonuna kıyasla dört ila beş gün uzatabildiği belirlenmiştir (Mukdisari v.d. 2016).

Bir başka çalışmada ise hindistan cevizi yağı ve bal mumu kaplaması ile modifiye atmosferik ambalajın (MAP), ortam depolamasında limonun hasat sonrası depolama kalitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçları yalnızca hindistan cevizi yağının ve özellikle MAP ile bal mumu hindistan cevizi karışimli (10:90 veya 20:80) kaplamaların limonlarda, yeşil renk tutulması, solunum azaltılması, etilen üretimi, kilo kaybı ve büzülme, depolama boyunca limonun sıklığını ve nem içeriğinin korunmasında faydalı etkiler gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Nasrin v.d. 2020).

Gliserol içeren filmler hazırlamak için jelatin içine farklı oranlarda balmumu veya karnauba mumu ilave edilmiştir. Bal mumu ilavesi ile jelatin filmlerin opaklığı ve sarılığı artmış, hem UV / görünür ışık hem de su buharı bariyerleri, artan bal mumu seviyeleri ile kademeli olarak başarılı bir şekilde iyileşmiştir. Bal mumu seviyesi arttıkça, filmler daha kırılğan, sert ve daha az gerilebilir hale gelmiştir. Tüm filmlerin DPPH ve demir indirgeme testleri antioksidan aktivite içerdiklerini göstermiştir. Jelatin bal mumu filmlerinin gelişmiş bariyer özellikleri ve termal stabilite açısından gıdaların bozulmasına karşı kullanılabileceğini ve jelatin filmlere ilave edildiğinde bal mumunun karnauba mumundan daha etkili olduğu bulunmuştur (Zhang v.d. 2018).

Fıstıkta bal mumu kullanımının halen kullanımda olan hidrojene veya tropikal yağlar gibi mevcut stabilizatörlerin değiştirilmesine yol açabileceği, böylece doymuş yağların azaltılması sonucu ürünlerin daha sağlıklı olacağı bildirilmiştir (Winkler-Moser v.d. 2019).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

Tavuk yumurtalarının sağlıklı ve uzun raf ömrü için bal mumunun jelatine göre daha iyi bir kaplama malzemesi olduğu ve bu yumurtaların 6 hafta boyunca 30 °C'de başarılı bir şekilde saklanabileceği rapor edilmiştir (Mudannayaka v.d. 2016).

Yapılan bir çalışmada kaşar peyniri olgunlaştırılması sırasında (120 gün) bal mumu ile kaplamanın mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyusal özelliklere etkileri araştırılmıştır. Kaşar peyniri örnekleri iki farklı kalınlıkta bal mumu (tek katmanlı kaplama -BW1 ve çift katmanlı kaplama- BW2) ile kaplanmıştır. Karşılaştırma amacıyla vakumla ambalajlanmış (VP) ve ambalaj malzemesi olmadan (kontrol) kaşar peyniri örnekleri kullanılmıştır. Çalışma sonuçları bal mumu ile kaplanmış ve vakumla ambalajlanmış kaşar peynirleri arasında, toplam aerobik mezofilik bakteriler, laktobasiller, koli form bakteriler ve *S. aureus* sayılarında herhangi bir farklılık olmadığını göstermiştir. Mikrobiyolojik analizler ayrıca bal mumu kaplı peynirlerin 120. günde kontrole kıyasla mikrobiyal yükte 2.5 logaritmik birim azalma sağladığını ortaya çıkarmıştır. Kontrol kaşar peynirinde önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) yüksek kuru madde, yağ ve protein içeriği tespit edilirken bal mumu (BW1) uygulaması nem kaybını geciktirerek kalın bir kabuk tabakasının oluşumunu azaltmıştır. Diğer uygulama örneklerine kıyasla, kontrol ve BW1 kaşar peynirlerinin depolama sonunda daha yüksek suda çözünür azot (WSN) ve olgunlaşma indeksine sahip olduğu belirlenmiştir. Duyusal analiz sonucunda, BW1 kaşar peyniri ve kontrol uygulaması panelistler tarafından daha çok tercih edilirken, vakum uygulaması yapılan örnek en düşük puanı almıştır (Yılmaz ve Dagdemir 2012).

Farklı bir çalışmada ise bal mumunun farklı gliserol molekülleri içeren soya protein filmlerinin fonksiyonel ve yapısal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Kaplama yapısında balmumu arttığında elastikiyetin, su buharı geçirgenliğinin ve saydamlığın azaldığını, ancak gerilme mukavemeti ve oksijen geçirgenliğinin arttığı tespit edilmiştir. Gliserol miktarının artması filmde su buharı geçirgenliğini, oksijen geçirgenliğini ve şeffaflığı arttırmaktadır. Diferansiyel tarama kolorimetrisi ve Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi sonuçları bal mumunun film matrisini oluşturmak için gliserol ile bağlanıp soya proteini ile çapraz bağlar yaptığını göstermiştir (Li v.d. 2011).

Gıdaların bal mumu ile kaplanması, yağ ve pigmentlerin oksidasyonunu ve su kaybını önlemeye yardımcı olacak oksijen, ışık ve buhara karşı bir

engel oluşturmaktadır. İtalyan salamında bal mumu ile kaplamanın 2-tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) ve su aktivitesi ( $A_w$ ) miktarları üzerinde 55 günlük olgunlaşma süresince etkilerini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Ayrıca 5, 6 ve 7 aylık raf ömründeki kontrollerle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar duyusal kalite çalışmaları ile doğrulanmıştır. Bal mumu kaplı salamda 6 aylık olgunlaşmaya kadar (medyan 0.697, max 0.795) TBARS seviyeleri  $0.8 \text{ mg kg}^{-1}$  altında iken kaplanmamış salamda (medyan 1.176, max 1.227) gibi önemli ölçüde daha yüksek değerler tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda bal mumu kaplamanın İtalyan salamının sertleşmesini önlediği ve soyulmayı kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Trevisani v.d. 2017).

Elmanın soğuk hava depolarında saklanması için yenilebilir bir kaplama karışımı (% 5 propolis ve % 95 bal mumu) hazırlanmış ve bu kaplamaya *Drosophila melanogaster* Meigen (1830) larvaları aşılansak yaşama gelişimi takip edilmiştir. Yeni kaplama karışımının larvaların gelişim sürelerini yaklaşık bir gün geciktirmiştir. Diğer kaplama materyali ile beslenen ergin bireyler deney grubunda bulunanlara oranla daha sert tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre kaplama olarak bal mumunun kullanılmasının, beslenme sonrası ürünün doğaya atıldığında diğer canlılara da zarar vermeyeceğinden uygun olacağı bildirilmiştir (Güneş v.d. 2019).

### Hayvancılıkta Kullanım

Hayvancılıkta besin maddelerin yararlılığını arttırmak amacıyla çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Özellikle besin maddesinin istenilen yerde sindirimin yapılması ve emilimin sağlanması amaçlanmaktadır. Yetişkin koyunların beslenmesinde bal mumuna mikro kapsüllenmiş yavaş salınan üre dahil edilmesinin alım, sindirilebilirlik ve azot (N) dengesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için bir çalışma yürütülmüştür. Çekirdek (üre) ve enkapsülen (bal mumu) arasında 1:2 ( $U_{ME} 1:2$ ) ve 1:2+kükürt ( $U_{ME} 1:2+S$ ) oranları ile iki mikro kapsüllenmiş sistem formülasyonu geliştirilmiştir.  $U_{ME} 1:2$  formülasyonunun,  $U_{ME} 1:2+S$ 'den daha yüksek verim değerlerine, mikro kapsülleme verimliliğine ve termal kararlılığa sahip olduğu bildirilmiştir. En verimli formülasyon ( $U_{ME} 1:2$ ) ortalama vücut ağırlığı  $28.2 \text{ kg} \pm 0.6 \text{ kg}$  olan yirmi dört adet yetişkin erkek koyun diyetine eklenmiştir. Bal mumuna mikro kapsüllenmiş üre dahil edilmesi kurumadde, ham protein, eter özütü, kül, toplam karbonhidrat, ham

enerji alımı veya sindirilebilirliği etkilenmediği bildirilmiştir ( $P>0.05$ ). Kapsüllenmiş üre içerme seviyesi %0'dan 4.5'e yükseldiğinden nötr deterjan lifi (NDF) ( $P= 0.031$ ) ve asit deterjan lifi (ADF) ( $P= 0.004$ ) sindirilebilirlikte doğrusal bir artış olmuştur. Lifsiz karbonhidrat (NFC) sindirilebilirliği ikinci dereceden bir artış göstermiştir ( $P<0.001$ ). %3.0 mikro kapsüllü üre ile en büyük sindirilebilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Bal mumunun üre içeren mikro partiküller elde etmek için etkili bir mikro kapsülleyici olduğu gösterilmiş ve S ilave edilmeden  $U_{ME}$  1:2 formülasyonu, S ile yapılan formülasyondan daha iyi verim gösterdiğinden %4.5'e kadar dahil edilmesi önerilmiştir. Bal mumu lipit matrisinde mikro kapsüllenmiş üre, alım ve N dengesini etkilemeden NDF ve ADF sindirilebilirliğini artırmak için tavsiye edilmiştir (Carvalho v.d. 2019).

Başka bir çalışmada taze polen topraklarının (köfte) ve polen topraklarının bal mumu ile kaplanmasının bombus arılarının yaşam parametreleri ve polen tüketimleri üzerine olası etkileri ele alınmıştır. Koloni başlangıç aşamasında balmumu ile kaplı polenleri kullanmamış ancak sonraki iki aşamada yani koloni temel aşaması ve koloni olgunlaşma evresinde, bir kat bal mumu içeren polen köftesini tercih etmiştir. Çalışma sonucunda iki aşamada, yaban arısı yetiştiriciliği için en iyi kaplama materyalinin bal mumu olduğu rapor edilmiştir (Imran v.d. 2015).

Yanıklar, dünyada küresel bir halk sağlığı sorunu olup ve tedavi maliyeti yanık sargılarının pahalı olması nedeniyle yüksektir. Özellikle ikinci derece yanıkların tedavisi çok acı verici olmakla birlikte bu yanıklar için ideal pansuman materyali tespit edilememiştir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, gümüş sülfadiazin (SSD) ve bal ile balmumu ve zeytinyağı (MHBO) karışımlarının ikinci derece yanıklarda etkisi deney hayvanları üzerinde denenmiştir. Deney hayvanları üzerinde MHBO, SSD %1 krem ve kontrol grubu (topikal tedavi yoktur) oluşturulmuştur. Tedavinin etkinliği yaranın iyileşme yüzdesi, yara iyileşmesini tamamlama süresine ve iltihaplanma ve eksüdasyon derecesine göre değerlendirilmiştir. Yaranın tam olarak kapanması için ortalama süreler MHBO ve SSD için sırasıyla  $21.9\pm 2.23$  ve  $24.7\pm 2.39$  gün olarak bulunmuştur. Klinik olarak, inflamatuvar reaksiyon ve eksüdasyon MHBO grubunda SSD ve kontrol grubuna göre daha azdır. Topikal MHBO kullanımı, hem kontrol hem de SSD gruplarına kıyasla yanık yara iyileşme sürecini hızlandırmış ve gelecekte yardımcı veya alternatif bir ajan olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (Moustafa ve Atiba 2015). Bir başka çalışmada diyabetik

tavşanların yaralarında balmumu merhemi kullanımının pozitif bir iyileşmeye (terapötik etki) yardımcı olduğu tespit edilmiştir (Fu v.d. 2005).

### Bitkisel Üretimde Kullanım

Boylu maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* L.)'in özellikle üretilmesinde hormon ve ortamın etkisinin tespit edildiği bir çalışmada çelik uçlarının su kaybını önlemek için bal mumu kullanılmıştır (Turna v.d. 2013).

### Sağlıkta Kullanım

Bal mumunun sağlık amaçlı kullanımı çeşitlilik göstermektedir. Slovenya'da tespit edilen insan çene fosillerinde 6500 yıl önce diş dolgusu olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Bernardini v.d. 2012).

Bal mumu-zeytinyağı-tereyağı karışımının deney sıçanlarında oluşturulan ikinci derece yanık dokularında yanık yara iyileşmesini geliştirdiğini ve TGF- $\beta$ 1(Dönüştürücü büyüme faktörü) ve VEGF- $\alpha$  (Vasküler endotelial büyüme faktörü-alfa) modüle edici doku yoluyla cilt yenilenmesini teşvik ettiğini bildirilmiştir (Bayir v.d. 2019). Yine bal mumu, zeytinyağı ve *A.tinctoria* (L.) Tausch karışımı ikinci derece yanık vakalarında epitel doku gelişimini hızlandırmış, pansuman değişiklikleri sırasında yaşanan ağrıyı azaltmış ve hastaların daha kısa sürede taburcu olmasını sağlamıştır (Gümüş ve Özlü 2017). Bal mumu ve bitkisel yağ kreminin, yanık sonrası kaşıntı semptomlarında tıbbi kremlerden daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bal mumu ve bitkisel yağ kreminin etkinliğini inceleyen daha geniş bir çalışma yapılmasının gerekli olduğu ifade edilmiştir (Lewis v.d. 2012).

Bal, bal mumu ve zeytinyağı karışımının (1:1:1, v/v) bebek bezi dermatiti, sedef hastalığı ve egzama tedavisinde faydalı olduğu (Al-Waili 2005) mantar enfeksiyonlarının tedavisinde bal, zeytinyağı ve bal mumu (1:1:1) kullanıldığında; *Pitriyazis versikolor*'lu (PV) hastaların %86'sında, *Tinea cruris*'li hastaların %78'inde ve *Tinea corporis*'li hastaların %75'inde klinik yanıt alındığı bildirilmiştir (Al-Waili 2004). Hemoroit ve anal fissür tedavisinde bal, zeytinyağı ve bal mumu karışımının güvenli ve klinik olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Al-Waili v.d. 2006). Yine bal, propolis, zeytinyağı ve bal mumu karışımının kemoterapideki hastaların oral mukozit tedavisinde kullanılabilirliği rapor edilmiştir (Abdulrhman v.d. 2012).

Bal mumu geri dönüşüm işleminden elde edilen iki yan ürünün (MUD 1 ve MUD 2 kodlu) fitokimyasal

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

içerikleri, antioksidan etkileri ile kanser hücreleri ve sitotoksik etkilerinin incelendiği çalışmada MUD 1'in en yüksek ( $P < .05$ ) lif, protein, karbonhidrat, polifenol ve flavonoid konsantrasyonuna sahip olduğu, doza bağlı bir şekilde mitokondriyal işlevselliği etkileyerek HepG2 hücreleri üzerinde antikanser aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Giampieri v.d. 2018).

Bal mumu ilk kez polyester / pamuk / viskon ve polyester kumaşa uygulanmış ve bu kumaşların antimikrobiyal etkinlik olarak düşük biyostatik aktivite içerdikleri bildirilmiştir. İstisna olarak, *Aspergillus niger* küfü ve *Bacillus subtilis* bakterisine karşı polyester kumaş biyostatik etki göstermiştir. Elde edilen sonuçlar bal mumu içeren kumaşların sağlık ve sosyal bakım kurumlarında ve özellikle sporcuların ve hassas cilt enfeksiyonları olan kişiler için üretilecek tekstil ürünlerde kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Szulc v.d. 2020).

### BAL MUMUNUN TEMEL SORUNLARI

Arı hastalık ve zararlılarına karşı arıcıların kullandığı veteriner ilaçlar iç kaynaklı ve çiftçiler tarafından kullanılan bitki koruma ilaçları da dış kaynaklı olarak balmumuna geçmekte ve kalıntı sorunlarına yol açmaktadır.

#### Çiftçi Kaynaklı Kirleticiler

İspanya'da farklı çevre koşullarında yapılan üretimlerde alınan polen ve bal mumu örneklerinde ilaç kalıntı düzeyleri incelenmiş, pestisitlerin yoğun olarak polen örneklerinde olduğu ve bitki çeşitlerine göre tespit edilen ilacın değiştiği belirlenmiştir. Bal mumu örneklerinin %75'inden fazlasında ise yoğunlukla kumaphos, klorfenvinfos, fluvalinat ve akrinatriin gibi yüksek seviyelerde mitisitleri saptanmıştır. Bal mumunun en kirliliği ve bal arıları için en yüksek ortalama tehlike skorlarını ( $HQ > 5000$ ) sahip olduğu belirlenirken polen numuneleri en fazla sayıda pestisit kalıntısı ve arılar için tehlike ( $HQ > 50$ ) içerdikleri belirlenmiştir. Bal mumu ve polen örneklerinde tehlike katsayısı puanlarına en önemli katkıyı akrinatriin yapmıştır (Calatayud-Vernich v.d. 2018).

2013-2015 yılları arasında İtalyan kovanlarından elde edilen balmumunda kalıntı miktarı belirlenmesi amacıyla toplanan 178 bal mumu örneğinde 247 pestisit aranmıştır. Örneklerin %73.6'sında bir veya daha fazla pestisit bulunmuş olup numunelerde ortalama olarak Avrupa'da yasaklanmış veya İtalya'da izin verilmeyen on dört bileşik içeren

ortalama üç farklı pestisit tespit edilmiştir. Bu tespitler kumaphos (numunelerin %60.7'si), *tau-fluvalinat* (% 50) ve klorfenvinfos (%35.4) ile ilişkilendirilmiştir (Perugini v.d. 2018).

Bal ve bal mumunda eser elementlerin ve pestisitlerin bulunması tüketiciler için sağlık açısından tehlike oluşturabilmektedir. İsrail'de bir çalışmada bal ve bal mumu örneklerindeki pestisitlerin ve eser elementlerin insanlar için risk değerlendirmesi amaçlanmıştır. Bulgular en az iki pestisit, bal ve bal mumu örneklerini aynı anda kontamine ettiğini, amitraz metabolitleri ve coumaphos'ında sıklıkla tespit edildiği bildirilmiştir. Neonikotinoid insektisitler ve 2,4-diklorofenoksiasetik asit sadece bal örneklerinde bulunurken, daha fazla lipofilik böcek ilacı ağırlıklı olarak bal mumunda tespit edilmiştir. Balda krom ve çinko metalleri en yüksek konsantrasyonda iken bal mumunda sadece kurşun ve molibden belirlenmiştir. Sonuç olarak günlük bal ve bal mumu tüketiminin birlikte çocuk sağlığını tehlikeye atabileceği bildirilmiştir (Bommuraj v.d. 2019).

Kırklareli İli civarında arıcılık yapan 57 üreticiden petek örneklerinde streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol antibiyotikleri ile imidacloprid, tribenuron metil, propargit ve pendimethalin pestisit kalıntı varlığı izlenmiştir. Analiz sonuçları bölgeden toplanan peteklerde herhangi bir antibiyotik kalıntısının bulunmadığını göstermiştir. Pestisitler açısından bakıldığında ise imidacloprid ve tribenuron metil analizine göre 57 örneğin 4 tanesinde pendimethalin seviyesi maksimum kalıntı seviyesi (MRL) düzeyi olan 50 ppb'nin üzerinde tespit edilmiştir. Propargit Avrupa Komisyonu tarafından yasaklanmış bir akarisitir. Analizi yapılan 57 örneğin 11 tanesinde bu akarite sınır değerinin üzerinde rastlanmıştır (Saygılı 2017).

#### Arcı Kaynaklı Kirleticiler

Temel balmumu tabakalarının işlenmiş temel peteğe göre daha yüksek kirlitici konsantrasyonları ve daha fazla bileşik çeşitliliği içerdikleri bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada kirlitici ile eklenmiş saflaştırılmış bal mumunun kaynar suyunda tekrarlanan erime, amitraz ve klordimeform hariç, bal mumundaki kirlitici maddelerin çoğunun içeriğini önemli ölçüde değiştirmediği ve bu da kirliticilerin kararlı olduğunu ve saflaştırılmış bal mumunda bulunduğunu göstermektedir (Jiménez v.d. 2005).

İspanya'da bal mumu örneklerinden fizikokimyasal parametrelerin parafin, stearik asit, karnauba mumu



ve donyağı ile karışımları tespit etmek için yürütülen çalışmada %5 veya daha yüksek düzeyde karıştırma olduğu belirlenmiştir. Arılar tarafından reddedilen veya kötü kabul gören temel peteklerde 27 bal mumu örneğinden 25'i en az bir parametre için anormal değerler göstermiştir (Bernal v.d. 2005). Yine İspanya'da 2016 yılı boyunca toplanan temel petek, eski petek, doğal peteklerde pestisit içerikleri incelenmiştir. Doğal petekler en az kirlenmeye maruz kalmıştır. En yoğun kalıntı eski petek mumunda tespit edilmiştir. Kovan içine uygulanan mitesitlerin ortalama pestisit yüküne %95'in üzerinde bir katkısı olduğu bildirilmiştir. Akarisit olarak yaygın olarak kullanılan kumaphos (%100), fluvalinat (%86) ve amitraz (%83) en sık saptanan böcek ilaçlarıdır. Klorfenvinfos %77, akrinatrin %71 ve flumetrin %54 ve ayrıca akarisitler tespit edilmiştir. Bitkilerde kullanılan pestisitlerin frekansları klorpirifos için %40, diklofenthion için %29, malathion için %9, fenthion-sülfoksit için %6 ve azinfos-metil, karbendazim, etion, hexythiazox, imazalil ve priproksifen için %3 düzeylerde olduğu bildirilmiştir (Calatayud-Vernich v.d. 2017).

Bal mumunda coumaphos kalıntısı özellikle kraliçe arıların gelişimini olumsuz etkilemektedir. Bu konuda yapılan bir çalışma bir kraliçe hariç tüm kraliçe arıların 1000 mg/kg coumaphos'un gelişme ve pupa dönemi ağırlığını olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Kraliçe yetiştirme hücrelerinde coumaphos'un varlığı, altı ayda kolonilerde hala işlev gören kraliçe sayısını %75'e kadar azaltabilmiştir (Collins v.d. 2004). Bal mumunda akarisitlerin varlığının, yavruların hayatta kalmasını olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Pestisit konsantrasyonu azaldığında, hayatta kalma oranında bir iyileşme olmaktadır. Parafin mumu içermeyen bal mumu temelinde geliştirilen, daha yüksek kirlenici kalıntı konsantrasyonunda maruz kalan larvalar, akarisitlerin toksik etkilerine karşı daha savunmasız olmaktadır (Medici v.d. 2012).

Belçika'da rastgele 124 bal mumu örneğinde flumetrin kalıntısının sağlık riski açısından analiz edilmiştir. Bal mumu sağlığında flumetrin kalıntılarının maruz kaldığı risk bir tehlike oranının hesaplanmasıyla değerlendirilmiştir. Bireysel tüketim verilerinin eksikliği nedeniyle bal mumu tüketimi için olasılıksal yaklaşım mümkün olmadığı ve tahmin edilen en yüksek maruziyet, teorik maksimum günlük alım miktarının %0.1'inden az olduğu bununda insan sağlığı için hiçbir risk oluşturmayacağı ifade edilmiştir (El Agrebi v.d. 2019).

Bal mumu güvesi (*Galleria mellonella* L.) larva evrelerinde ballı, polenli ve yavrulu petekler üzerinde beslenirken, bal mumunda da zarara neden olur. Yapılan bir çalışmada, eski kabartılmış peteklerden, temel petek üreten 4 işletmeden alınan temel peteklerin, başlangıç düzeyleri kalıntı miktarlarındaki değişim havalandırılma sonucundaki kalıntı miktarları belirlenmiştir. Başlangıçta ortalama kalıntı miktarı,  $21.48 \pm 3.657$  ppb iken, 60 gün havalandırma sonrasında  $7.97 \pm 0.764$  ppb, 120 gün sonra  $6.22 \pm 0.290$  ppb ve 180 gün sonra da  $5.41 \pm 0.332$  ppb olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, temel peteklerin 60 gün havalandırma ile kalıntı miktarının önemli düzeyde ( $P < 0,05$ ) azaldığı belirlenmiştir (Bağçe 2008).

## SONUÇ

Tarım ve hayvancılıkta verimi arttırmak ve üst düzeye çıkarmak için son zamanlarda yoğun kullanılan insektisit, herbisit, fungusit ve bakterisitler kullanıldığı bitkiyi korusa da çevrede yarattığı büyük kirlilik tüketilecek olan gıda ürünlerinde kalıntı olarak geri dönmektedir. Kirleticiler (pestisit, toksinler, ağır metaller, organik kirleticiler) insan sağlığı için büyük bir sorun haline gelmiştir.

Avrupa ülkelerinde, arıcılıkta kullanılabilecek izinli kimyasallar ve aşılması gereken limitler (MRL) bulunmaktadır. Ülkemizde de özellikle varroaya karşı bilinçsizce ilaç kullanımı kalıntı riskini arttırmaktadır. Bu riskin kontrol altına alınması yetkisiz ürünlerin kullanımına son verilmesi ve bilinçli kullanılması ile en aza indirilebilir. Arı ürünlerinde bir diğer sorun arıcıların eski petekleri bal mumu güvesi larvalarından korumak için depolarda kullanılan uçucu böcek ilaçları ve diğer kimyasalları kullanmalıdır. Depolama sırasında kullanılan birkaç kimyasal fumigant risk kaynağıdır. Arıcılar bu bileşikler kullanmayı bıraksalar da, kalıntılar yıllarca hala eski peteklerde bulunmakta ve gelecek yıllarda üretilecek ürünlerde kalıntı riskinin devamına neden olabilmektedir.

Kirleticiler ve arıcıların ruhsatsız ilaçları kuralsız ve keyfi uygulamaları kovanda mevcut arı ürünlerinin absorbe etme özelliği nedeniyle sağlık açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle arıcıların üretimlerini kimyasal ilaçlama alanlarından uzak bölgelerde yapmaları teknik arıcılık uygulamalarını kullanmaları kalıntı riskini en çok barındıran bal mumu için kritik bir önemdedir. Geniş kullanım alanları olan bal mumu kalıntı riski bulundurmamalı ve kullanılanlar

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

için risk ve şüphe taşımamalıdır. Kısacası kovanın geleceği ve sağlığımız için temiz bal mumu üretimi ve temiz çevre şarttır.

### KAYNAKLAR

- Abdulrhman, M., Samir Elbarbary, N., Ahmed Amin, D., Saeid Ebrahim, R. 2012. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil–propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. *Pediatric hematology and oncology*, 29(3): 285-292.
- Al-Waili, NS., Saloom, K. S., Al-Waili, TN., Al-Waili, AN. 2006. The safety and efficacy of a mixture of honey, olive oil, and beeswax for the management of hemorrhoids and anal fissure: a pilot study. *The Scientific World Journal*, (6): 1998-2005.
- Al-Waili, NS. 2005. Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Archives of medical research*, 36(1): 10-13.
- Al-Waili, NS. 2004. An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study. *Complementary therapies in medicine*, 12(1): 45-47.
- Attama, AA., Adikwu, MU. 2007. Use of trona as a permeation enhancer for ointments prepared with beeswax extracted from native honeycombs. *Journal of Pharmaceutical and Allied Sciences*, 4(2).
- Baales, M., Birker, S., Mucha, F. 2017. Hafting with beeswax in the Final Palaeolithic: a barbed point from Bergkamen. *antiquity*, 91(359): 1155-1170.
- Bağçe, A. 2008. Arıcılıkta kullanılan temel peteklerde naftalin kalıntısının belirlenmesi üzerinde bir araştırma (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü). 54 sayfa. Aydın.
- Bayir, Y., Un, H., Ugan, RA., Akpınar, E., Cadirci, E., Calik, I., Halici, Z. 2019. The effects of Beeswax, Olive oil and Butter impregnated bandage on burn wound healing. *Burns*, 45(6): 1410-1417.
- Benson, GG., Hemingway, SR., Leach, FN. 1978. Composition of the wrappings of an ancient Egyptian mummy. *J.Pharmacy and Pharmacol.* 30:78.
- Bernal, JL., Jiménez, JJ., del Nozal, MJ., Toribio, L., Martín, MT. 2005. Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations. *European journal of lipid science and technology*, 107(3): 158-166.
- Bernardini, F., Tuniz, C., Coppa, A., Mancini, L., Dreossi, D., Eichert, D., Hua, Q. 2012. Beeswax as dental filling on a Neolithic human tooth. *Plos one*, 7(9), e44904.
- Breed, MD., Garry, MF., Pearce, AN., Hibbard, BE., Bjostad, LB., Page Jr, RE. 1995. The role of wax comb in honey bee nestmate recognition. *Animal Behaviour*, 50 (2): 489-496.
- Bommuraj, V., Chen, Y., Klein, H., Sperling, R., Barel, S., Shimshoni, JA. 2019. Pesticide and trace element residues in honey and beeswax combs from Israel in association with human risk assessment and honey adulteration. *Food chemistry*, 299, 125123.
- Bogdanov, S. 2004. Quality and standards of pollen and beeswax. *Apiacta*, 38:334-341.
- Buchwald, R., Breed, MD., Greenberg, AR., Otis, G. 2006. Interspecific variation in beeswax as a biological construction material. *Journal of experimental biology*, 209 (20): 3984-3989.
- Buchwald, R., Breed, MD., Bjostad, L., Hibbard, BE., Greenberg, AR. 2009. The role of fatty acids in the mechanical properties of beeswax. *Apidologie*, 40(5): 585-594.
- Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E., Picó, Y. 2017. Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Science of The Total Environment*, 605: 745-754.
- Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E., Picó, Y. 2018. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environmental Pollution*, 241: 106-114.
- Carrillo, MP., Kadri, SM., Veiga, N., Orsi, RDO. 2015. Energetic feedings influence beeswax production by *Apis mellifera* L. honeybees. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37(1): 73-76.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Carvalho, ADB., da Silva, AL., Silva, ADA., Netto, AJ., de Medeiros, TTB., Araújo Filho, JM., Oliveira, JR. 2019. Effect of slow-release urea microencapsulated in beeswax and its inclusion in ruminant diets. *Small Ruminant Research*, 179: 56-63.
- Chauvin R. 1968. *Traite' de biologie de l'abeille*. Paris: Masson et Cie.
- Collins, AM., Pettis, JS., Wilbanks, R., Feldlaufer, MF. 2004. Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos. *Journal of Apicultural Research*, 43(3): 128-134.
- El Agrebi, N., Wilmart, O., Urbain, B., Danneels, EL., de Graaf, DC., Saegerman, C. 2019. Belgian case study on flumethrin residues in beeswax: Possible impact on honeybee and prediction of the maximum daily intake for consumers. *Science of the total environment*, 687: 712-719.
- El Sakka, A., Abdulrhman, M., Shehata, IH. 2013. Comparison between topical application of honey, bees wax and olive oil propolis extract and nystatin for treatment of diaper dermatitis in infants. *International Journal of Pediatrics and Child Health*, 1(4): 39-42.
- Eshete, Y., Eshete, T. 2018. A Review on Crude Beeswax Mismanagement and Lose: Opportunities for Collection, Processing and Marketing in Ethiopia. *Research Journal of Food and Nutrition*, 2(4): 4-12.
- 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.
- Fu, H., Wang, XJ., Lu, HF., Xu, QW. 2007. Experimental study on beeswax ointment in diabetic rabbit's model of wound healing [J]. *Journal of Dalian Medical University*, 4.
- Giampieri, F., Quiles, JL., Orantes-Bermejo, FJ., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, TY., Sánchez-González, C., Cianciosi, D. 2018. Are by-products from beeswax recycling process a new promising source of bioactive compounds with biomedical properties? *Food and Chemical Toxicology*, 112: 126-133.
- Güneş, E., Sert, D., Kübra Erçetin, H. 2019. Bal mumu ve propolis gibi kaplama ürünlerinin böcekteki etkisinin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(4): 2133-2139.
- Gümüş, K., Özlü, ZK. 2017. The effect of a beeswax, olive oil and *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch mixture on burn injuries: an experimental study with a control group. *Complementary Therapies in Medicine*, 34: 66-73.
- Hepburn, HR., Bernard, RTF., Davidson, BC., Muller, WJ., Lloyd, P., Kurstjens, SP., Vincent, SL. 1991. Synthesis and secretion of beeswax in honeybees. *Apidologie*, 22(1): 21-36.
- Hepburn, HR., Pirk, CWW., Duangphakdee, O. 2014. The chemistry of beeswax. In *Honeybee Nests* (pp. 319-339). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Imran, M., Ahmad, M., Naeem, M., Saeed, S., Nasir, MF., Ahmad, A., Aslam, UA. 2015. Effect of fresh pollen pellets and pollen balls coated with and without beeswax on the life history parameter of bumblebee. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* Vol. 6, No. 5, p. 144-153,
- Jiménez, JJ., Bernal, JL., del Nozal, MJ., Martín, MT. 2005. Residues of organic contaminants in beeswax. *European journal of lipid science and technology*, 107(12): 896-902.
- Karazafiris, E., Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Menkissoglu-Spiroudi, U. 2011. Pesticide residues in bee products. *Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits*, 89-126.
- Khanzadi, M., Jafari, SM., Mirzaei, H., Chegini, FK., Maghsoudlou, Y., Dehnad, D. 2015. Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate-pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate Polymers*, 118: 24-29.
- Kurtuldu, E., Yıldırım, L. 2019. Farklı Kültürlerdeki Rezerve Boya/Baskı Teknikleri Üzerine Kavram ve Terimler. *Yedi*, (21): 93-103.
- Lewis, PA., Wright, K., Webster, A., Steer, M., Rudd, M., Doubrovsky, A., Gardner, G. 2012. A randomized controlled pilot study comparing aqueous cream with a beeswax and herbal oil cream in the provision of relief from postburn

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- pruritis. *Journal of Burn Care & Research*, 33(4): e195-e200.
- Li, XH., Guo, K., Zhao, XY. 2011. Effect of beeswax on functional and structural properties of soy protein isolate films. In *Advanced Materials Research* (Vol. 150, pp. 1396-1399). Trans Tech Publications Ltd.
- Luo, W., Li, T., Wang, C., Huang, F. 2012. Discovery of Beeswax as binding agent on a 6th-century BC Chinese Turquoise-inlaid Bronze sword. *Journal of Archaeological Science*, 39(5): 1227-1237.
- Márquez, R., Bálsamo, S., Morales, F., Ruiz, N., García, A., León, R., ... Zambrano, J. 2019. Technological use of beeswax for obtaining organic products, non-toxic for the human being Aprovechamiento tecnológico de la cera de abeja para la obtención de productos orgánicos, no tóxicos para el ser humano. *Revista Ciencia e Ingeniería*. Vol, 40(1).
- Medici, SK., Castro, A., Sarlo, EG., Marioli, JM., Eguaras, MJ. 2012. The concentration effect of selected acaricides present in beeswax foundation on the survival of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*, 51(2):164-168.
- Mukdisari, Y., Suketi, K., Widodo, WD. 2016. Fruit Coating with Chitosan and Beeswax to Extend Papaya Shelf Life. *Journal of Tropical Crop Science Vol*, 3(3).
- Mudannayaka, Al., Rajapaksha, DSW., Kodithuwakku, KAHT. 2016. Effect of Beeswax, Gelatin and Aloe vera Gel Coatings on Physical Properties and Shelf Life of Chicken Eggs Stored at 30 C. *J. World Poultry Res.* 6(1): 06-13.
- Moustafa, A., Atiba, A. 2015. The effectiveness of a mixture of honey, beeswax and olive oil in treatment of canine deep second-degree burn. *Global Veterinaria*, 14(2): 244-250.
- Nasrin, TAA., Rahman, MA., Arfin, MS., Islam, MN., Ullah, MA. 2020. Effect of novel coconut oil and beeswax edible coating on postharvest quality of lemon at ambient storage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100019.
- Petric, M., Kricej, B., Humar, M., Pavlic, M., Tomazic, M. 2004. Patination of cherry wood and spruce wood with ethanolamine and surface finishes. *Surface Coatings International Part B: Coatings Transactions*, 87(3):195.
- Perugini, M., Tulini, SM., Zezza, D., Fenucci, S., Conte, A., Amorena, M. 2018. Occurrence of agrochemical residues in beeswax samples collected in Italy during 2013–2015. *Science of the total environment*, 625: 470-476.
- Saygılı, M. 2017. Kırklareli ilinde arıcılık faaliyeti yapan üreticilerden toplanan peteklerde antibiyotik ve pestisit kalıntısı aranması (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
- Seleshi, G., Woldetsadik, K., Azene, M. 2019. Effect of Calcium Chloride Dipping and Beeswax Coating on the Shelf Life and Quality of Nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch var. nucipersica) Fruits. *Agriculture and Food Sciences Research*, 6(1): 71-78.
- Souza, C., de Freitas, LAP., Campos, PMBGM. 2017. Topical formulation containing beeswax-based nanoparticles improved in vivo skin barrier function. *Aaps Pharmscitech*, 18(7): 2505-2516.
- Svečnjak, L., Chesson, LA., Gallina, A., Maia, M., Martinello, M., Mutinelli, F., Wallner, K. 2019. Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research. *Journal of Apicultural Research*, 58(2): 1-108.
- Szulc, J., Machnowski, W., Kowalska, S., Jachowicz, A., Ruman, T., Steglińska, A., Gutarowska, B. 2020. Beeswax-Modified Textiles: Method of Preparation and Assessment of Antimicrobial Properties. *Polymers*, 12(2): 344.
- Şen, B. 2019. Yılmaz Büyükerşen Balmumu Heykeller Müzesi Ziyaretçilerinin Taşıma Kapasitesi Ve Memnuniyet Algılarının Değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Sosyal Bilimler Enstitüsü. Turizm İşletmeciliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans. 103 sayfa.
- Oliveira, VRL., Santos, FKG., Leite, RHL., Aroucha, EMM., Silva, KNO. 2018. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. *Food chemistry*, 259: 55-64.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Teker, MS. 2015. Kapatma Maddesi ile Rezerve Boyama Teknikleri. *Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi*, Yıl, 3: 478-493.
- Tezel, Z. 2009. Yazmacılık Sanatında Desenleme Teknikleri (Kalıp Tekniğiyle Ağaç Baskı Uygulama Örneği). *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi*, 25: 27-40.
- Trevisani, M., Cecchini, M., Siconolfi, D., Mancusi, R., Rosmini, R. 2017. Effects of beeswax coating on the oxidative stability of long-ripened Italian salami. *Journal of Food Quality*, <https://doi.org/10.1155/2017/8089135>
- Tulloch, AP. 1971. Beeswax: structure of the esters and their component hydroxy acids and diols. *Chemistry and Physics of Lipids*, 6(3): 235-265.
- Turna, İ., Kulaç, Ş., Güney, D., Seyis, E. (2013). Boylu maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* L.)'in çelikle üretilmesinde hormon ve ortamın etkisi. *Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi*, 9(2): 93-104.
- Tomás-Barberán, FA., Ferreres, F., Tomás-Lorente, F., Ortiz, A. 1993. Flavonoids from *Apis mellifera* beeswax. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 48(1-2): 68-72.
- Winkler-Moser, JK., Anderson, J., Byars, JA., Singh, M., Hwang, HS. 2019. Evaluation of Beeswax, Candelilla Wax, Rice Bran Wax, and Sunflower Wax as Alternative Stabilizers for Peanut Butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(11): 1235-1248.
- Valdovinos-Flores, C., Alcantar-Rosales, VM., Gaspar-Ramírez, O., Saldaña-Loza, LM., Dorantes-Ugalde, J. A. 2017. Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*, 56(5): 667-679.
- Yılmaz, F., Dagdemir, E. 2012. The effects of beeswax coating on quality of Kashar cheese during ripening. *International journal of food science & technology*, 47(12): 2582-2589.
- Zhang, Y., Bi, J., Wang, S., Cao, Q., Li, Y., Zhou, J., Zhu, BW. 2019. Functional food packaging for reducing residual liquid food: thermo-resistant edible super-hydrophobic coating from coffee and beeswax. *Journal of colloid and interface science*, 533: 742-749.
- Zhang, Y., Simpson, BK., Dumont, MJ. 2018. Effect of beeswax and carnauba wax addition on properties of gelatin films: A comparative study. *Food bioscience*, 26: 88-95.
- Zhang, W., Lu, P., Qian, L., Xiao, H. 2014. Fabrication of superhydrophobic paper surface via wax mixture coating. *Chemical Engineering Journal*, 250: 431-436.
- Zhao, K., Cao, XD., Zhu, SX. 2011. Effects of different concentrations of beeswax coating agent on Taiwan green jujube during storage. *Storage & Process*, 4(7).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

# MELİTTİN VE KANSER TEDAVİSİ: NANOTEKNOLOJİK BAKIş AÇIşI

## Melittin and Cancer Treatment: Nanotechnological Perspective

Aydan Fülđen AĞAN<sup>1</sup>, Meral KEKEÇOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Düzce Üniversitesi, Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi (DAGEM), Düzce, TÜRKİYE,

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, TÜRKİYE, Aydan Fülđen AĞAN, ORCID No: 0000-0002-4319-6264  
Yazışma Yazarı / Corresponding Author: E-mail: aydanagan@gmail.com

<sup>2</sup>Düzce Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konuralp, Düzce, TÜRKİYE,

<sup>2</sup>Düzce Üniversitesi, Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi (DAGEM), Düzce, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0002-2564-8343, E-mail: meralkekecoglu@gmail.com.

Geliş Tarihi / Received: 23.08.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 13.09.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.784365

### ÖZ

Kanser, insan sağlığını tehdit eden en önemli sağlık sorunlarından birisi olmaya devam etmektedir. Günümüzde kanser hastalığını tedavilerinde cerrahi yöntemler, kemoterapi, radyoterapi, immunoterapi, kanser aşıları gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak başta kemoterapi olmak üzere bu tedavi yöntemlerinin bazı yan etkilere neden olması, doğal ürünlere olan ilgiyi arttırmıştır. Arı zehrinin peptit bileşenlerinden biri olan melittin, kanser tedavisinde kullanılan en önemli etken maddelerinin başında gelir. Melittinin anti-kanser etkinliği daha önce yapılan araştırmalarla çeşitli kanser türlerinin tedavisinde pre-klinik olarak test edilmiştir. Ancak bu pre-klinik sonuçların kliniğe uygulanabilmesi için, başta melittinin neden olduğu hemolitik aktivite, spesifik olmayan toksisite ve bozunma gibi sorunların üstesinden gelinmelidir. Bu amaçla melittinin çeşitli nanopartiküller ile bir araya getirilerek, melittinin kanserli hücreyi hedefleyebileceği platformlar sunulmuştur. Bu derlemede, henüz çok güncel ve halen geliştirilmekte olan arı zehri bileşenlerinin çeşitli kanser türlerinin tedavisine yönelik in-vitro ve in-vivo uygulamalarına dair mevcut literatür, nanoteknolojik uygulamalar ačířından bir araya getirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kanser, Arı Zehri, Melittin, Nanoteknoloji.

### ABSTRACT

Cancer continues to be one of the most important health problems threatening human health. Recently, methods such as surgical methods, chemotherapy, radiotherapy, immunotherapy, cancer vaccines are used in the treatment of cancer. However, the fact that these treatment methods, especially chemotherapy, cause some side effects, the interest in natural products has increased. Melittin, one of the peptide components of bee venom, is one of the most important active ingredients used in cancer treatment. The anti-cancer efficacy of Melittin has been pre-clinically tested in treatment of various types of cancer with previous research. However, in order for these pre-clinical results to be applied to the clinic, problems such as hemolytic activity caused by melittin primarily, nonspecific toxicity and degradation should be overcome. In this review, the current literature on the in-vitro and in-vivo applications of bee venom components for the treatment of various cancer types, which are very current and still under development, are brought together in terms of nanotechnological applications.

**Key words:** Cancer, Bee Venom, Melittin, Nanotechnology.

**EXTENDED ABSTRACT**

**Goal:** Anti-cancer activity of bee venom has been revealed in many different studies from past to present. Bee venom contains more than 15 different peptides, among them, the anti-cancer potential of melittin has been revealed. Due to the lytic structure of melittin, it affects the healthy cell structure with its release to the body. In this review, where the cancer cell-focused release of melittin is targeted, it is focused on targeting cancer cells by combining melittin with different nanotechnological platforms.

**Discussion:** Although the subject of nanotechnology is still developing and new materials are discovered in the world, it is quite an innovative approach to combine such materials with natural components known to have anti-cancer activity. In addition, it can be quite difficult to synthesize nanoparticles and synthesize them together with melittin, a natural peptide. The research that melittin-nanoparticle complexes synthesized by overcoming such difficulties target cancer tissue has been the subject of this review. Nanoparticles, which are very current in biomedical use in recent years, have been brought together with melittin and anti-cancer activities have been tried to be revealed.

**Conclusion:** Besides the use of natural products, the use of active ingredients obtained from natural products is quite common in chemotherapeutic drug development researches. Combining these components with the nanoparticle is a highly innovative approach, but the synthesis of these nanoparticle complexes requires knowledge and experience. Therefore, multidisciplinary work in academia and industry is expected to yield much more productive results in cancer research.

**GİRİŞ**

Kanser, dünya çapında en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Sağlıklı hücrelerin kontrolsüz bir şekilde farklılaşp çoğalması sonucu, farklı dokulara yayılabilen (metastaz) ölümcül bir hastalıktır. Kanser vakalarına sebep olabilecek pek çok farklı etken olabilmekle beraber, bunların başında genetik faktörler gelmektedir. Bu faktörleri sağlıklı beslenme ve çevresel kirlenmeler izlemektedir (Frankish, 2003). Bu etkenler tek başına kanser sebebi olabileceği gibi çoğunlukla farklı etkenlerin bir araya gelmesiyle ortaya çıkarlar (Siegel, Miller, ve Jemal, 2016). Her yıl 10 milyondan fazla yeni hastaya kanser teşhisi konulmaktadır.

Dünya çapında ölümlerin yaklaşık %12'lik bir kısmını ise kanser vakaları oluşturmaktadır (Frankish, 2003). 2030 yılına kadar yaklaşık 21,7 milyon kişinin kanser dolayısıyla ölebileceği tahmin edilmektedir (Torre vd., 2015). Dolayısıyla her geçen gün daha az yan etkiye sahip olan ve daha etkili tedavi protokolleri araştırılmaktadır. Kanser hastalarında radyasyon tedavisi, cerrahi, kemoterapi, immunoterapi ve hormon tedavileri kullanılmaktadır. Bu tedaviler içerisinde kemoterapi halen en etkin kullanılan tedavi yöntemidir. Kemoterapi uygulamalarında kullanılan kemoterapötikler hastanın immün sistemini baskılaması nedeniyle çok ciddi yan etkilere sebep olabilmektedir (Ferlay vd., 2015; Lai, Visser-Grieve, ve Yang, 2012; Siegel vd., 2016). Bu durum kanser tedavisinde alternatif tedavilere yönelimi arttırmıştır (Aliyazicioglu, 2019; Kim, Park, ve Lee, 2019; C. C. Liu vd., 2014; Phan, 2014). Bu anlamda; doğal ürünlerden elde edilen bir takım etkin bileşikler kanser tedavisinde umut vadecici olmuştur.

Çeşitli canlı organizmaların genellikle kendini savunmak amacıyla kullanmış olduğu toksinler; diğer organizmaları öldürebilen veya yaralayabilen protein ve peptitleri içerir. Bu bileşenlerin kanser üzerindeki etkisi anti-kanser aktivite olabiliyorken bazı bileşenleri anjiyogenezi ve tümör gelişimini inhibe edebilmektedir (Oršolić, 2012). Bu bağlamda özellikle arı zehri anti-kanser etkinliği açısından ciddi bir potansiyele sahiptir (Aliyazicioglu, 2019; Gajski ve Garaj-Vrhovac, 2013; Le, Suh, ve Oh, 2019; Moga, Dimienescu, Arvătescu, Ifteni, ve Pleş, 2018; Oršolić, 2012). Bu anti-kanser etki çeşitli patolojik fizyolojik durumlarda ortaya çıkan apoptoza bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Wong, 2011). Bu süreç çeşitli hücrel sinyal mekanizmalarının etkisi altında ortaya çıkmaktadır. Arı zehrinin NCI-H1299 akciğer kanseri üzerinde etkisinin araştırıldığı çalışmada kanserli hücrelerin apoptoza uğradığı, COX-2 mRNA ekspresyonunun ve PGE2 sentezinin arı zehri tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir (Jang vd., 2003). Diğer bir akciğer kanseri hücreleri üzerine gerçekleştirilen çalışmada, ölüm reseptörü 3 (DR3) ekspresyonu artması NF-κB yolağının inhibisyonu ile apoptotik hücre ölümünü indüklenmiştir (Kollipara vd., 2014). Arı zehrinin prostat kanseri üzerinde etkileri in-vitro ve in-vivo koşullarda araştırılması sonucu NF-κB yolağının inaktivasyonu yoluyla kanserli hücre ölümünün gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Choi vd., 2014). Arı zehri ve melittinin SKOV3 ve PA-1 yumurtalık kanseri hücrelerinde ölüm reseptörlerinin

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

indüksiyonu ve JAK2/STAT3 yolağının inhibisyonu yoluyla apoptotik hücre ölümünü indüklediğini tespit edilmiştir (Jo vd., 2012a).

### Arı Zehri

Arı zehri, arıların kendilerini korumak için kullandıkları kimyasal bir savunma maddesidir. Arı zehri, arının karın boşluğunda bulunan zehir bezinden salgılanır. Oldukça etkili ve karmaşık bir karışım olan bu toksin içeriğinde melittin (zehir içeriğinin en büyük bileşeni), apamin, adolapin, mast hücresi degranüle edici (MCD) peptit, enzimler (fosfolipaz A<sub>2</sub> ve hiyalüronidaz) ve ayrıca çeşitli farmasötik özelliklere sahip olan histamin, dopamin ve norepinefrin gibi peptit olmayan bileşenleri içermektedir (Habermann, 1972; Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007).

Melittin arı zehri içerisinde en fazla bulunan 26 aminoasitten oluşan bir peptittir. Melittinin aminoasit dizisi Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Gly-Leu-Pro-Ala-Leu-Ile-Ser-Trp-Ile-Lys-Arg-Lys-Arg-Gln-Gln olarak tanımlanmıştır (Gevod, 1984). Fosfolipaz A<sub>2</sub>, kuru zehrin %10-12'lik bir kısmını oluşturan yüksek alerjen özelliğe sahip olması dolayısıyla canlı hücre membranını harap etmektedir (Lad ve Thomas Shier, 1979). Apamin ise en küçük nörotoksik bileşeni olmakla beraber en iyi bilinen özelliği Ca<sup>2+</sup> ile aktive olan K<sup>+</sup> kanallarını inhibe etmektedir (Banks vd., 1979). Adolapin anti-inflamatuar, ağrı kesici ve COX inhibitör olmasıyla bilinmektedir. Aynı zamanda fosfolipaz A<sub>2</sub> inhibitörüdür (K. Koburova, S. Michailova, 1985). MCD peptit ise çok düşük oranda histamin salgılamaktadır. Öte yandan mast hücrelerini inhibe etmektedir (Billingham, Morley, Hanson, Shipolini, ve Vernon, 1973; Habermann, 1972; Hanson, Morley, ve Soria-Herrera, 1974).

Arı zehri; geleneksel tıpta romatoid artrit, multiple skleroz gibi kronik rahatsızlıklarının yanı sıra tümör ve cilt hastalıkları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır (J. Chen ve Lariviere, 2010; S. Y. Chen, Zhou, ve Qin, 2018; Senel, Kuyucu, ve Süslü, 2014). Arı zehrinin kanserin önlenmesinde etkili olan hücre ölüm mekanizmalarını (apoptozu ve nekroz) tetiklediği tespit edilmiştir (Park vd., 2011). Arı zehrinin in-vitro ve in-vivo ortamda gerçekleştirilmiş olan araştırmalarda kanser hücrelerinin çoğalmasını ve tümör büyümesini inhibe ettiği ortaya konmuştur (Huh vd., 2010; Ip vd., 2008; Li vd., 2006; Ling vd., 2005; Moon vd., 2006; Moreno ve Giralt, 2015; Oršolić, Šver, Verstovšek, Terzić, ve Bašić, 2003;

Russell vd., 2004; Soman vd., 2009; Tu, Wu, Hsieh, Chen, ve Hsu, 2008). Arı zehrinin kendisi nosiseptif ve nörotoksik olarak etki ederken, güncel çalışmalarla beraber arı zehrinin anti-mutajenik, anti-inflamatuar ve anti-nosiseptif ve anti-kanser etkileri ortaya konmuştur (Huh vd., 2010; Ip vd., 2008; Li vd., 2006; Ling vd., 2005; Moon vd., 2006; Moreno ve Giralt, 2015; Oršolić vd., 2003; Russell vd., 2004; Soman vd., 2009; Tu vd., 2008; Varanda, Monti, ve Tavares, 1999).

### Arı Zehrinin Anti Kanser Etkisi

Son dönemde kanser araştırmalarında alternatif ve doğal ürünlerin rolü oldukça artmıştır. Arı zehri tümör hücresi büyümesini inhibe etmekle beraber, apoptozu indükleyerek hücre ölümüne sebep olabilmektedirler. Bu doğal bileşiklerin insan tümörlerinde alternatif bir ilaç olarak kullanımı üzerine araştırmalar günden güne artmaktadır (Gajski, Domijan, ve Garaj-Vrhovac, 2010; Gajski ve Garaj-vrhovac, 2015; Gajski ve Garaj-Vrhovac, 2008, 2010, 2011; X. Liu, Chen, Xie, ve Zhang, 2002; Oršolić, 2012; Orsolice vd., 2003; Oršolić vd., 2003; Orsolice v.d. 2003a, Orsolice v.d. 2003b , Son vd., 2007). Arı zehrinin apoptozu indüklemesiyle kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği öne sürülmüş ve bu alanda etkinliğinin ortaya konulmasını amaçlayan araştırmalar, meme (Jeong vd., 2014), hepatosellüler karsinom (X. Wang vd., 2015), yumurtalık (Jo vd., 2012b), prostat (Park vd., 2011), melanom (Tu vd., 2008), akciğer (Choi vd., 2014), lösemi (Moon vd., 2006) ve servikal (Oršolić, 2009) kanser türlerinde ortaya konmuştur.

Arı zehrinin anti-kanser özelliği bilinmesine rağmen nano-platformlar ile buluşturularak doku ya da organ spesifik kullanımına yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Biniecka vd., 2017; Daniluk vd., 2019; H. Liu vd., 2019; Qi vd., 2019; Rady vd., 2017).

### Anti Kanser Tedavi ve Nanomalzeme

Birçok canlının kendini korumak amacıyla üretmiş olduğu, farmakolojik olarak aktif peptit ve proteinler biyoteknoloji ve genetik mühendisliğinin gelişmesiyle, terapötik ilaç tedavisi için iyi bir aday olmuştur. Bu ilaçların oral yolla uygulanmasında ilacın bir kısmı sindirim sisteminde parçalanarak elimine olduğundan beklenen etki sağlanamamaktadır. Bu etkiyi azaltabilmek ya da ortadan kaldırabilmek amacıyla lipozom, mikroemülsiyonlar, mikropartikül taşıyıcılar ve nanopartiküller kullanılmaktadır. Diğer yandan nanopartiküllerin polimer yapısı ilacı dış etkenlerden



koruyarak salınımını kolaylaştırmaktadır (Yang, Cui, Shi, Cun, ve Wang, 2009). Nanopartiküller aracılığıyla; ilaç salınımında ilacın bozunması, çeşitli toksik olabilecek etkileri ya da düşük terapötik etkinlik gibi bir takım sorunlar aşılabilecektir (McClements, 2018; Muhamad, Plengsuriyakarn, ve Na-Bangchang, 2018; Riley ve Vermerris, 2017; L. Wang, Zheng, ve Xie, 2018).

Nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı pek çok farklı yaklaşımla araştırılmaktadır (Peer vd., 2007; Yezhelyev vd., 2006). İdeal bir nanotaşıyıcı, melittin gibi sitolitik özellik gösteren peptitlerin sitotoksitesini güvenli bir şekilde iletmek için koruma yeteneğine sahip olmakla kalmayacak, aynı zamanda nanopartikülün kullanım oranını ve anti-kanser verimliliğini artırmak için fizikokimyasal özellikleri optimize edecektir (Huang vd., 2013).

Bal arısı zehrinden elde edilen melittin, membran yapısını fiziksel ve kimyasal olarak bozar ve hücre membranının geçirgenliğini artırır (Soman vd., 2009). Melittin hücre zarının fosfolid yapısını eriterek, hızlıca hücre içerisine taşınır, organel zarlarını deforme eder ve biyokimyasal değişikliklere sebep olabilir (Soman vd., 2009). Melittinin lipofilikliğini arttırmak için sodyum dodesil sülfat (SDS) ile birleştirilmiş ve melittin/SDS kompleksinin fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri meme kanseri hücreleri MCF-7 üzerinde MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difenil tetrazolium bromür) yöntemi ile test edilmiştir. Bu çalışmada melittin ve Mel/SDS arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Yang vd., 2009).

Diğer bir yandan farklı bir nanopartikülden faydalanan çalışmada; sitolitik peptitler ve standart kemoterapötik ilaçlarla kombine terapinin sinerjik etkili olabileceği nanoemülsiyon-peptit kompleksi araştırılmıştır. Bu kompleks spesifik olmayan amfiyotik peptit melittini bir perflorokarbon nanoparçacığının dış lipid tek tabakasına dahil edilerek sitolitik peptitler için bir nano ölçekli salınım aracı geliştirilmesi amaçlanmıştır. Perflorokarbon nanopartikülleri gibi sentetik nano ölçekli araçların, hem yerleşik katı tümörleri hem de prekanseröz lezyonları öldürmek için esnek, pasif ve aktif moleküler hedefleme ile güçlü bir sitolitik peptit (melittin) modeli sağlayabildiği gösterilmiştir (Soman vd., 2009).

Kanser tedavilerinde yeni yaklaşımlardan birisi olan tam (complete) ya da parçalanmış (fragmentated) antikörlerin lipozomlara konjuge edilmesi aracılığıyla ilaçların neden olduğu yan etkiler azaltılabilmektedir.

Bu amaçla; kötü prognozlu meme ve yumurtalık kanserlerinde kullanılan ilaçlardan birisi olan transtuzumab, insan epidermal büyüme faktörünü (HER2) hedeflemektedir. Transtuzumab taşıyan ve melittin içeren pegile immünolipozomlar insan epidermal büyüme faktörünü (HER2) hedefleyerek, HER2 ekspresyon seviyelerinde korelasyon halinde azalma tespit edilmiştir (Barrajón-Catalán vd., 2010).

Melittin bazı kanser tedavilerinde özellikle in-vivo uygulamalarda hücre zarını parçalayıcı (sitolitik) etkisinden ötürü kan hücrelerinde hemolize sebep olabilmektedir. Hemolitik etkiyi azaltabilmek amacıyla hedef proteine odaklanan antikörler ile konjuge edilen melittin formülasyonu çözümlü olmuştur. Bu konjugasyonların lipozom ile oluşturulması fosfolipid iki tabakalı membranlar melittin tarafından bozulabileceği için uygun olmamıştır. Araştırma verilerine göre R-melittin pozitif yükünün ve sitotoksitesinin çok küçük lipid nanopartiküller içinde başarılı bir şekilde korunduğunu ortaya koymuştur. R-melittin damar içi enjeksiyon yoluyla uygulanmasıyla tümör büyümesini inhibe ettiği ortaya konmuştur (Huang vd., 2013).

Kanser dokusunun hedeflendiği çalışmalarda dolaşıma verilen etken maddenin etkin bir şekilde ulaştırılabilmesi için araştırmalar devam etmektedir. Bu araştırmalardan nano ölçekli düzeyde, sert çekirdekli misel (RCM) sistemleri amfilik PS67-b-PAA27 (polistiren-b-poliakrilik asit) (PRCM) veya fosfolipidler (lesitin PC) (LRPM) ile kapsülleme yapılmıştır. In-vitro deneylerde meme kanseri hücre hatları MDA-MB-231 ve MCF7 kullanılmıştır. Melittinin lipid kapsüllenmiş (Lipobee) ve polimerik kapsüllenmiş (Polybee) formülasyonları hücre sitotoksitesine deneyleri MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difenil tetrazolium bromür) testi ile gerçekleştirilmiş ve sonuçta Lipobee, kapsüle edilmemiş melittine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek anti-kanser etkinlik göstermiştir (Misra, Ye, Kim, ve Pan, 2015).

Jallouk'un 2015 yılında gerçekleştirdiği araştırmasında tümör dokusunda aşırı eksprese edilen önemli bir proteaz matris metalloproteinaz-9 (MMP-9) tarafından aktive edilebilen bir melittin türevi sentezlemiştir, bu melittinin perflorokarbon nanopartiküller üzerinde yüklenmesi sağlanmıştır. Bu sayede daha önceki araştırmalarda karşılaşılan sistemik uygulama zorlukları ve zayıf farmakokinetik özelliklerinin sebep olduğu olumsuzluklar ortadan kaldırılabilecektir. In-vivo denemelerinde melanom

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

fare modelinde damar içi uygulanmış ve tümör büyüme oranını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Nanopartiküllere bağlı ilaç dört kat daha hızlı bir şekilde MMP-9 aktivasyonunu sağlamıştır (Jallouk 2015).

Mellitinin hemolitik etkisini dolaşımda da göstermiş olduğu için bu sorunun üstesinden gelebilmek ve aynı zamanda da etkisini kaybetmeden kanserli dokuya ulaşabilmesini sağlamak amacıyla araştırmalar devam etmektedir. Bei ve ark. 2015, bu ikilemi ortadan kaldırmaya yönelik önemli bir gelişme kaydetmişlerdir. Zitteriyonik glikol kitosanı disülfür bağı ile bir araya getirerek mellittin taşınımı sağlamaya çalışmıştır. Zitteriyonik özelliği dolayısıyla süksinik anhidrid modifiye glikol kitosan (SA-GCS) fizyolojik pH'da negatif yüklenirken, mellittin pozitif yüklenir ve birlikte kompleks bir yapı oluşturabilirler. Bu yapı hava oksidasyonu ile daha da stabil bir hal alır. Bu formülasyonlar HCT-116 kolon kanseri hücresi, MCF-7 meme kanseri hücreleri, SKOV-3 yumurtalık kanseri hücrelerinde uygulanmış ve özellikle kolon kanseri hücrelerinde (HCT-116) 5 uM'lik konsantrasyonu %100 etkili bulunmuştur. Bu araştırma sonucu mellittinin dolaşımda neden olduğu hemolitik etki büyük oranda ortadan kaldırılmıştır (Bei, Bindu, Remant, ve Peisheng, 2015).

İran bal arısı zehrinden mellittin saflaştırılmış ve akım sitometri analizi sonuçlarına göre, mellittinin 1 ug/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda servikal kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği tespit edilmiştir (Zarrinnahad vd., 2018).

İlaç salınımindaki zorlukları aşmak amacıyla pek çok farklı nanopartikül kullanılmakla birlikte son zamanlarda iki boyutlu nanopartiküllerin ilaç salınımindaki kullanımı gündeme gelmiştir. Karbon nanopartiküllerinin biyoyumluluğu ve küçük boyutları sayesinde biyomedikal alanda kullanımı artmaktadır. Grafen oksitli nano taşıyıcılar, kanser ilacı, doksorubisini doğrudan hücrenin çekirdeğine iletmek için kullanılmıştır (Zhou, Zhou, ve Xing, 2014). Nanodiamond aracılı doksorubisinin meme kanserinin akciğer metastazını inhibe ettiği tespit edilmiştir (Xiao vd., 2013). Diğer taraftan karbon nanopartiküllerinin, in-vitro hücre kültüründe glioma hücreleri üzerinde litik ajan olan mellittin ile nanopartiküller aracılı salınımı araştırılmıştır. Mellittinin U87 insan glial tümör hücresi hedefleyebilmesi amacıyla saf grafen (GN), nanografen oksit (nGO), grafit (G), nanodiamond (UDD) ve hiyerarşik nanoporöz karbonlar (HNC'ler)

kullanılmıştır. Bu araştırma sonucunda UDD, GN ve nGO nanopartikülleri mellittine kıyasla çok daha öldürücü olmakla beraber karbon nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı için umut verici olduğu tespit edilmiştir (Biniecka vd., 2017).

Meme kanseri hücre hattı (MCF-7 ve MDA-MB-231) üzerinde gerçekleştirilen araştırmada nano partiküllerin kanser hücreleri üzerindeki etkileri ortaya konmuştur. Bu amaçla grafen oksit, saf grafen ve elmas kullanılmıştır. Araştırmada geçirimli elektron mikroskopisi, zeta potansiyeli ölçümleri ve hücre canlılığı ve membran bütünlüğü değerlendirilmiştir. Sonuçta nano grafen oksit ile mellittin kompleksinin mellittine göre daha güçlü toksik etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Grafen oksit, saf grafen ve elmas ve mellittin kompleksleri mellittine kıyasla nekroz seviyesini azaltmış fakat tamamen ortadan kaldırmamıştır (Daniluk vd., 2019).

Diğer bir güncel araştırmada ise grafen oksit (GO) bazlı manyetik nanokompozitlerin (PEG-GO-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) ve PEG-GO-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MEL kompleksleri insan rahim ağzı kanseri HeLa hücrelerinde incelenmiştir. Sonuçta PEG-GO-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MEL'in HeLa hücreleri üzerindeki toksik etkisini belirgin bir şekilde artırmakla kalmayıp aynı zamanda hücre zarında hücre lizisi yaparak por oluşumuna neden olmuştur (Qi vd., 2019).

Nanopartikül aracılığı ile kanser tedavisinde farklı bir yaklaşım olan fototermal terapi (FTT), nanomateriyallerin fotosensitizatör olarak kullanılarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi aracılığıyla immunojenik hücre ölümüdür. Glioblastoma tedavisine yönelik düşük toksisite ve yüksek biyoyumluluğu olan, fototermal kanser tedavisin hedeflendiği araştırmada, Mellittin-RADA<sub>32</sub>-Indocyanine green (ICG) hidrojel (MRI hidrojel) sentezlenmiştir. Bu çalışmada, glioblastomaların FTT'si için peptid hidrojel omurgasında mellittin ve hidrojel matrisinde ICG içeren yeni bir Mellittin-RADA<sub>32</sub>-Indosiyanın yeşili (ICG) hidrojel ("MRI hidrojel") sentezlenmiştir. C6 glioma hücresinde in-vitro ve in-vivo analizleri gerçekleştirilen araştırmada sitotoksik özellikleri karşılaştırıldığında yakın özellik göstermiştir. In-vivo analizlerinde MRI hidrojel uygulanan hayvanlarda biyodağılımı, tümör büyüklüğü, PAT görüntüleri analiz edilmiştir. Sonuçta MRI hidrojel grupları kontrol gruplarına kıyasla tümör boyutunu ve tümör rekürrens oranını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Jin vd., 2017). Aljinat, biyoyumluluk, düşük immunojenite

ve suda çözünürlük gibi önemli biyolojik özellikleri nedeniyle kanser tedavisinde alternatif bir taşıyıcı olarak önem kazanmıştır. Bu çalışma aljinattan bir oligopeptid-yan zincirinin türetilmesinin melittin için spesifik bir bağlanma yeri sunduğunu ve kanser kemoterapisinde daha etkin rol alabildiğini göstermiştir (Wattanukul vd., 2019a). Bu alanda geliştirilen oligopeptit-aljinat nano partiküllerine, melittinin yüklenmesi ile doksorubisin yükleme etkinliği iki kattan fazla artırabilmiştir. Bunu test etmek amacıyla Caco-2 hücresinde 2.5 uM serbest melittin uygulanmış ve neredeyse hiçbir etkinlik göstermemiştir. Bu oligopeptit-aljinat nanopartiküllerine melittinin yüklenmesi ile hücrelerin %80'inden fazlası ölmüştür. (Wattanukul vd., 2019)

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanser biyolojisi araştırmalarındaki ilerlemelere rağmen kanser halen yaygın ve ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir. Güncel tedavilerde karşılaşılan sorunların başında ise tedavi yöntemlerinin kanser hücresinin yanında normal sağlıklı hücreyi de olumsuz etkilemesidir. Bu nedenle de kanser tedavilerinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Nanopartiküllerin biyomedikal anlamda kullanımı son günlerde kanser tedavisinde umut vadeden bir yaklaşımdır. Teknolojik yöntemlerin yanı sıra doğal ürünlerin kullanımı da kanser hastalarının tercih ettiği yaklaşımlardır.

Melittin bal arısı zehrinden elde edilen doğal bir üründür. Ayrıca yapılan çalışmalara göre potansiyel bir anti-kanser ajandır. Ancak melittinin in-vivo ve in-vitro olarak doğrudan uygulaması bazı olumsuz sonuçları doğurmuştur. Bunu ortadan kaldırmak için melittin lipozoma konjuge edilmiş ya da lipozom içerisine gömülmüştür. Bu araştırmalar sonucu melittinin anti-kanser etkinliği artırılırken melittinin lipofilikliğinin artırılmasının hedeflendiği araştırmada herhangi bir değişiklik tespit edilememiştir. Öte yandan melittin, grafen ve türevleri gibi iki boyutlu nanopartiküllere tutturularak oluşturulan komplekslerinde anti-kanser etkinliği oldukça fazla artmıştır. Kanser tedavisinde kullanılacak melittin iki boyutlu nanopartiküller ile birlikte uygulandığında terapötik etkinliği artırılabilir hatta kemoterapötik ajan olarak kullanımı önerilebilecektir. Pek çok kemoterapötik ajan gibi melittin hücre ölümünde etkili olup kanser metastazının durdurulması ve invazyonunun önlenmesinde etkili olmuştur. Nanopartiküllerin belli dalga boylarında

fotosensitizatör özelliğinden faydalanılarak kanserli hücreleri hedeflemesi ve reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek hücre ölümüne sebep olduğu bilinmektedir. Bu araştırmalara en güncel yaklaşım ise nanopartikülün etkinliğini arttırmak üzere melittin ile iki boyutlu fototermal özellik gösteren iki boyutlu nanopartikülün bir araya getirilerek hem spesifik ışımaya alanının oluşturulduğu hem de hemolizin önlenemediği konjugasyonlar oluşturulmuştur. Bu konudaki araştırmalar yenilikçi iki boyutlu nanopartiküllerin kullanımı ile terapötik etkinliği artırılabilir hatta kemoterapötik ajan olarak kullanımı önerilebilecektir. Sonuç olarak, bu derlemede melittin ve nanopartikül kombinasyonları kullanımının, sağlıklı hücreye zarar vermeden kanser hücresini hedefleyebileceği böylece melittinin terapötik etkinliği artırılacağı ortaya konmuştur. Arı zehrinin bütüncül olarak veya içerisindeki bileşenlerin (melittin, apamin vb.) ayrı ayrı nanoteknolojik yöntemler ile daha fazla çalışma yapılarak araştırılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aliyazicioglu, R. 2019. Therapeutic Effects of Bee Venom. *Chemical Science International Journal*, 26(1), 1–5. <https://doi.org/10.9734/csji/2019/v26i130078>.
- Banks, B. E. C., Brown, C., Burgess, G. M., Burnstock, G., Claret, M., Cocks, T. M., ve Jenkinson, D. H. 1979. Apamin blocks certain neurotransmitter-induced increases in potassium permeability. *Nature*, 282(5737), 415–417. <https://doi.org/10.1038/282415a0>.
- Barrajon-Catalan, E., Menendez-Gutiérrez, M. P., Falco, A., Carrato, A., Saceda, M., ve Micol, V. 2010. Selective death of human breast cancer cells by lytic immunoliposomes: Correlation with their HER2 expression level. *Cancer Letters*, 290(2), 192–203. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.09.010>.
- Bei, C., Bindu, T., Remant, K. C., ve Peisheng, X. 2015. Dual secured nano-melittin for the safe and effective eradication of cancer cells. *J. Mater. Chem. C*, 3(1), 25–29. <https://doi.org/10.1039/b000000x>.
- Billingham, M. E. J., Morley, J., Hanson, J. M., Shipolini, R. A., ve Vernon, C. A. 1973. An Anti-Inflammatory peptide from bee venom. *Nature*, 245(5421), 163–164.

<https://doi.org/10.1038/245163a0>.

- Biniecka, P., Bugajska, Ż., Daniluk, K., ve Jaworski, S. 2017. Carbon nanoparticles as transporters of melittin to glioma grade IV U87 cells in in vitro model. *Annals of Warsaw University of Life Sciences - SGGW - Animal Science*, 56(1), 23–32.  
<https://doi.org/10.22630/aas.2017.56.1.3>.
- Chen, J., ve Lariviere, W. R. 2010. The nociceptive and anti-nociceptive effects of bee venom injection and therapy: A double-edged sword. *Progress in Neurobiology*, C. 92, ss. 151–183.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.06.006>.
- Chen, S. Y., Zhou, P., ve Qin, Y. 2018. Treatment of Rheumatoid Arthritis by Bee-venom Acupuncture. *Zhen ci yan jiu = Acupuncture research*, 43(4), 251–254.  
<https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.170506>.
- Choi, K. E., Hwang, C. J., Gu, S. M., Park, M. H., Kim, J. H., Park, J. H., Hong, J. T. 2014. Cancer cell growth inhibitory effect of bee venom via increase of death receptor 3 expression and inactivation of NF-kappa B in NSCLC cells. *Toxins*, 6(8), 2210–2228.  
<https://doi.org/10.3390/toxins6082210>.
- Daniluk, K., Kutwin, M., Grodzik, M., Wierzbicki, M., Strojny, B., Szczepaniak, J., ve Sosnowska, M. 2019. *Use of Selected Carbon Nanoparticles as Melittin*. 1–20.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... Bray, F. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359–E386.  
<https://doi.org/10.1002/ijc.29210>.
- Frankish, H. 2003. 15 million new cancer cases per year by 2020, says WHO. *The Lancet*, 361, 1278. <https://doi.org/10.1038/nm862>.
- Gajski, G., ve Garaj-Vrhovac, V. 2008. Genotoxic potential of bee venom (*Apis Mellifera*) on human peripheral blood lymphocytes in vitro using single cell gel electrophoresis assay. *Journal of Environmental Science and Health-Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 43(11), 1279–1287.
- Gajski, G., ve Garaj-Vrhovac, V. 2010. Increased frequency of sister chromatid exchanges and decrease in cell viability and proliferation kinetics in human peripheral blood lymphocytes after in vitro exposure to whole bee venom. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 45(12), 1654–1659.  
<https://doi.org/10.1080/10934529.2010.506144>.
- Gajski, G., ve Garaj-Vrhovac, V. 2011. Bee venom induced cytogenetic damage and decreased cell viability in human white blood cells after treatment in vitro: A multi-biomarker approach. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(2), 201–211.  
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.05.004>.
- Gajski, G., Garaj-Vrhovac, V. 2013. Melittin: A lytic peptide with anticancer properties. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(2), 697–705.  
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.06.009>.
- Gajski, G., ve Garaj-vrhovac, V. 2015. *Goran Gajski and Vera Garaj-Vrhovac*. 88–98.  
<https://doi.org/10.1080/10934520802177862.c>
- Gevod, V. S. 1984. Melittin and the 8-26 fragment Differences in Ionophoric Properties as Measured by Monolayer Method. 45(June), 1079–1083.
- Habermann, E. 1972. Bee and wasp venoms. *Science*, 177(4046), 314–322.  
<https://doi.org/10.1126/science.177.4046.314>.
- Hanson, J. M., Morley, J., ve Soria-Herrera, C. 1974. Anti-inflamatuary property of 401 (MCD peptide), A peptide from the venom of the bee, *Apis mellifera* (L.). *British Journal of Pharmacology*, 50(3), 383–392.  
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1974.tb09613.x>.
- Huang, C., Jin, H., Qian, Y., Qi, S., Luo, H., Luo, Q., ve Zhang, Z. 2013. Hybrid melittin cytolytic peptide-driven ultrasmall lipid nanoparticles block melanoma growth in vivo. *ACS Nano*, 7(7), 5791–5800.  
<https://doi.org/10.1021/nn400683s>.
- Huh, J. E., Baek, Y. H., Lee, M. H., Choi, D. Y., Park, D. S., ve Lee, J. D. 2010. Bee venom inhibits tumor angiogenesis and metastasis by

U. Arı D. – U. Bee J. 2020, 20 (2): 221-231

- inhibiting tyrosine phosphorylation of VEGFR-2 in LLC-tumor-bearing mice. *Cancer Letters*, 292(1), 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.11.013>.
- Ip, S. W., Liao, S. S., Lin, S. Y., Lin, J. P., Yang, J. S., Lin, M. L., Chung, J. G. 2008. The role of mitochondria in bee venom-induced apoptosis in human breast cancer MCF7 cells. *In Vivo*, 22(2), 237–246.
- Jallouk, A. P., Palekar, R. U., Marsh, J. N. M., Pan, H., Pham, C. T. N., Schlesinger, P. H., ve Wickline, S. A. 2017. Delivery of a Protease-Activated Cytolytic Peptide Prodrug by Perfluorocarbon Nanoparticles. *Physiology & behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>.
- Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, S., Han, S. M., Park, H. J., Shin, I., Kim, C. J. 2003. Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. *Journal Pharmacological Sciences*, 91(2), 95–104. <https://doi.org/10.1254/jphs.91.95>.
- Jeong, Y. J., Choi, Y., Shin, J. M., Cho, H. J., Kang, J. H., Park, K. K., Chang, Y. C. 2014. Melittin suppresses EGF-induced cell motility and invasion by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 68, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.022>.
- Jin, H., Zhao, G., Hu, J., Ren, Q., Yang, K., Wan, C., Zou, Z. 2017. Melittin-Containing Hybrid Peptide Hydrogels for Enhanced Photothermal Therapy of Glioblastoma. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(31), 25755–25766. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b06431>.
- Jo, M., Park, M. H., Kollipara, P. S., An, B. J., Song, H. S., Han, S. B., Hong, J. T. 2012a. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 258(1), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.10.009>.
- Jo, M., Park, M. H., Kollipara, P. S., An, B. J., Song, H. S., Han, S. B., Hong, J. T. 2012b. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 258(1), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.10.009>.
- Kim, H., Park, S. Y., ve Lee, G. 2019. Potential therapeutic applications of bee venom on skin disease and its mechanisms: A literature review. *Toxins*, 11(7), 4–6. <https://doi.org/10.3390/toxins11070374>.
- Koburova, K. L., Michailova, S. G., Shkenderov, S. V. 1985. Further investigation on the antiinflammatory properties of adolapin bee venom polypeptide. *Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica*, 11(2), 50–55.
- Kollipara, P. S., Kim, J. H., Won, D., Lee, S. M., Sung, H. C., Chang, H. S., Hong, J. T. 2014. Co-culture with NK-92MI cells enhanced the anti-cancer effect of bee venom on NSCLC cells by inactivation of NF- $\kappa$ B. *Archives of Pharmacal Research*, 37(3), 379–389. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0319-8>
- Kuschner. 2017. Delivery of a Protease-Activated Cytolytic Peptide Prodrug by Perfluorocarbon Nanoparticles. *Physiology & behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>.
- Lad, P. J., ve Thomas Shier, W. 1979. Activation of microsomal guanylate cyclase by a cytotoxic polypeptide: Melittin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 89(1), 315–321. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(79\)90980-X](https://doi.org/10.1016/0006-291X(79)90980-X).
- Lai, D., Visser-Grieve, S., ve Yang, X. 2012. Tumour suppressor genes in chemotherapeutic drug response. *Bioscience Reports*, 32(4), 361–374. <https://doi.org/10.1042/BSR20110125>.
- Le, Q. V., Suh, J., ve Oh, Y. K. 2019. Nanomaterial-Based Modulation of Tumor Microenvironments for Enhancing Chemo/Immunotherapy. *AAPS Journal*, 21(4). <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0333-y>.
- Li, B., Gu, W., Zhang, C., Huang, X. Q., Han, K. Q., ve Ling, C. Q. 2006. Growth arrest and apoptosis of the human hepatocellular carcinoma cell line Bel-7402 induced by melittin. *Onkologie*, 29(8–9), 367–371. <https://doi.org/10.1159/000094711>.
- Ling, C. Q., Li, B., Zhang, C., Zhu, D. Z., Huang, X.

- Q., Gu, W., ve Li, S. X. 2005. Inhibitory effect of recombinant adenovirus carrying melittin gene on hepatocellular carcinoma. *Annals of Oncology*, 16(1), 109–115. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdi019>.
- Liu, C. C., Yang, H., Zhang, L. L., Zhang, Q., Chen, B., ve Wang, Y. 2014. Biotoxins for cancer therapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(12), 4753–4758. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.12.4753>.
- Liu, H., Hu, Y., Sun, Y., Wan, C., Zhang, Z., Dai, X., Lin, Z. Z. 2019. Co-delivery of Bee Venom Melittin and a Photosensitizer with an Organic-Inorganic Hybrid Nanocarrier for Photodynamic Therapy and Immunotherapy. *ACS Nano*, 56(11), 0–16. <https://doi.org/10.22630/aas.2017.56.1.3>.
- Liu, X., Chen, D., Xie, L., ve Zhang, R. 2002. Effect of honey bee venom on proliferation of K1735M2 mouse melanoma cells in-vitro and growth of murine B16 melanomas in-vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(8), 1083–1089. <https://doi.org/10.1211/002235702320266235>.
- McClements, D. J. 2018. Encapsulation, protection, and delivery of bioactive proteins and peptides using nanoparticle and microparticle systems: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 253, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.02.002>.
- Misra, S. K., Ye, M., Kim, S., ve Pan, D. 2015. Defined nanoscale chemistry influences delivery of peptido-toxins for cancer therapy. *PLoS ONE*, 10(6), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125908>.
- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Arvătescu, C. A., Ifteni, P., ve Pleş, L. 2018. Anticancer activity of toxins from bee and snake venom-an overview on ovarian cancer. *Molecules*, 23(3), 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules23030692>.
- Moon, D. O., Park, S. Y., Heo, M. S., Kim, K. C., Park, C., Ko, W. S., Kim, G. Y. 2006. Key regulators in bee venom-induced apoptosis are Bcl-2 and caspase-3 in human leukemic U937 cells through downregulation of ERK and Akt. *International Immunopharmacology*, 6(12), 1796–1807. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.07.027>.
- Moreno, M., ve Giralt, E. 2015. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: Melittin, apamin and mastoparan. *Toxins*, 7(4), 1126–1150. <https://doi.org/10.3390/toxins7041126>.
- Muhamad, N., Plengsuriyakarn, T., ve Na-Bangchang, K. 2018. Application of active targeting nanoparticle delivery system for chemotherapeutic drugs and traditional/herbal medicines in cancer therapy: A systematic review. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 3921–3935. <https://doi.org/10.2147/IJN.S165210>.
- Oršolić, N. 2009. Potentiation of bleomycin lethality in hela and V79 cells by bee venom. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 60(3), 317–326. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-60-2009-1936>.
- Oršolić, N. 2012. Bee venom in cancer therapy. *Cancer and Metastasis Reviews*, 31(1–2), 173–194. <https://doi.org/10.1007/s10555-011-9339-3>.
- Orsolice, N., Knezevic, A., Sver, L., Terzic, S., Hackenberger, BK., Basic, I. 2003a. Influence of honey bee products on transplantable murine tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 1(4), 216–226. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2003.00029.x>.
- Oršolić, N., Šver, L., Verstovšek, S., Terzić, S., ve Bašić, I. 2003b. Inhibition of mammary carcinoma cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo by bee venom. *Toxicon*, 41(7), 861–870. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(03\)00045-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(03)00045-X).
- Park, M. H., Choi, M. S., Kwak, D. H., Oh, K. W., Yoon, D. Y., Han, S. B., Hong, J. T. 2011. Anti-cancer effect of bee venom on prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-κB. *Prostate*, 71(8), 801–812. <https://doi.org/10.1002/pros.21296>.
- Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., ve Langer, R. 2007. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnology*, 2(12), 751–760. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.387>.
- Phan, N. K. 2014. Biological therapy: a new age of

- cancer treatment. *Biomedical Research and Therapy*, 1(2), 32–34. <https://doi.org/10.7603/s40730-014-0006-5>.
- Qi, J., Chen, Y., Xue, T., Lin, Y., Huang, S., Cao, S., Lin, Z. 2019. Graphene Oxide Based Magnetic Nanocomposites for Melittin Delivery to Cervical Cancer HeLa Cells. 0–16.
- Rady, I., Siddiqui, I. A., Rady, M., ve Mukhtar, H. 2017. Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. *Cancer Letters*, 402(608), 16–31. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.010>.
- Raghuraman, H., ve Chattopadhyay, A. 2007. Melittin: A membrane-active peptide with diverse functions. *Bioscience Reports*, 27(4–5), 189–223. <https://doi.org/10.1007/s10540-006-9030-z>.
- Riley, M. K., ve Vermerris, W. 2017. Recent advances in nanomaterials for gene delivery-A review. *Nanomaterials*, 7(5), 1–19. <https://doi.org/10.3390/nano7050094>.
- Russell, P. J., Hewish, D., Carter, T., Sterling-Levis, K., Ow, K., Hattarki, M., Kortt, A. A. 2004. Cytotoxic properties of immunoconjugates containing melittin-like peptide 101 against prostate cancer: In vitro and in vivo studies. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 53(5), 411–421. <https://doi.org/10.1007/s00262-003-0457-9>.
- Senel, E., Kuyucu, M., ve Süslü, I. 2014. Honey and bee venom in dermatology: A novel possible alternative or complimentary therapy for psoriasis vulgaris. *Ancient Science of Life*, 33(3), 190. <https://doi.org/10.4103/0257-7941.144626>.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., ve Jemal, A. 2016. Cancer statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 66(1), 7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21332>.
- Soman, N. R., Baldwin, S. L., Hu, G., Marsh, J. N., Lanza, G. M., Heuser, J. E., Schlesinger, P. H. 2009. Molecularly targeted nanocarriers deliver the cytolytic peptide melittin specifically to tumor cells in mice, reducing tumor growth. *Journal of Clinical Investigation*, 119(9), 2830–2842. <https://doi.org/10.1172/JCI38842>.
- Son, D. J., Lee, J. W., Lee, Y. H., Song, H. S., Lee, C. K., ve Hong, J. T. 2007. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacology and Therapeutics*, 115(2), 246–270. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004>.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., ve Jemal, A. 2015. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(2), 87–108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>.
- Tu, W. C., Wu, C. C., Hsieh, H. L., Chen, C. Y., ve Hsu, S. L. 2008. Honeybee venom induces calcium-dependent but caspase-independent apoptotic cell death in human melanoma A2058 cells. *Toxicology*, 52(2), 318–329. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2008.06.007>.
- Varanda, E. A., Monti, R., ve Tavares, D. C. 1999. Inhibitory effect of propolis and bee venom on the mutagenicity of some direct-and indirect-acting mutagens. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 19(6), 403–413. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6866\(1999\)19:6<403::AID-TCM4>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6866(1999)19:6<403::AID-TCM4>3.0.CO;2-2).
- Wang, L., Zheng, M., ve Xie, Z. 2018. Nanoscale metal-organic frameworks for drug delivery: A conventional platform with new promise. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(5), 707–717. <https://doi.org/10.1039/c7tb02970e>.
- Wang, X., Xiong, L., Yu, G., Li, D., Peng, T., Luo, D., ve Xu, J. 2015. Cathepsin S silencing induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells. *American Journal of Translational Research*, 7(1), 100–110.
- Wattanukul, K., Imae, T., Chang, W. W., Chu, C. C., Nakahata, R., ve Yusa, S. ichi. 2019. Oligopeptide-side chained alginate nanocarrier for melittin-targeted chemotherapy. *Polymer Journal*, 51(8), 771–780. <https://doi.org/10.1038/s41428-019-0191-6>.
- Wong, R. S. Y. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 30(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>.
- Xiao, J., Duan, X., Yin, Q., Zhang, Z., Yu, H., ve Li, Y. 2013. Nanodiamonds-mediated doxorubicin nuclear delivery to inhibit lung metastasis of breast cancer. *Biomaterials*, 34(37), 9648–

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

9656.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.08.056>.
- Yang, L., Cui, F., Shi, K., Cun, D., ve Wang, R. 2009. Design of high payload PLGA nanoparticles containing melittinsodium dodecyl sulfate complex by the hydrophobic ion-pairing technique. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35(8), 959–968. <https://doi.org/10.1080/03639040902718039>.
- Yezhelyev, M. V., Gao, X., Xing, Y., Al-Hajj, A., Nie, S., ve O'Regan, R. M. 2006. Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *Lancet Oncology*, 7(8), 657–667. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70793-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70793-8).
- Zarrinnahad, H., Mahmoodzadeh, A., Hamidi, M. P., Mahdavi, M., Moradi, A., Bagheri, K. P., ve Shahbazzadeh, D. 2018. Apoptotic Effect of Melittin Purified from Iranian Honey Bee Venom on Human Cervical Cancer HeLa Cell Line. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24(4), 563–570. <https://doi.org/10.1007/s10989-017-9641-1>.
- Zhou, T., Zhou, X., ve Xing, D. 2014. Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier. *Biomaterials*, 35(13), 4185–4194. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.044>.



## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

# BAL ARILARINDA SOSYAL VE BİREYSEL BAĞIŞIKLIK

## Social Immunity and Individual Immunity in Honey Bees

A.Ebru BORUM

Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE, ORCID No: 0000-0002-6916-8982, Yazışma Yazarı/Corresponding author: E-posta: ebruborum@balikesir.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 04.09.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 13.10.2020

DOI:10.31467/uluaricilik.790629

### ÖZ

Bal arıları, doğal ekosistem ve tarımsal alanda tozlaşmada oldukça önemli rol oynarlar. Patojenler (Parazit, mantar, virüs ve bakteriler), ekosistem değişikliği ya da kayıpları, zirai kimyasal kullanımı gibi birçok biyotik ve abiyotik stres faktörü tek başına ya da birlikte arı kolonisinin, sağlık ve yaşamını olumsuz olarak etkilemektedir. Tüm bu faktörler arıların bağışıklık sistemini etkileyerek savunma mekanizmalarını değiştirir. Bal arıları kendilerini infeksiyöz ve paraziter etkenlere karşı korumak için fiziksel bariyerler, genelleşmiş hücrel ve humoral immün yanıtta oluşan doğal bir immün sisteme sahiptir. Patojenler, akarisitler, fungusitler, herbisitler ve diğer böcek ilaçları arı bağışıklık sistemini ve dolayısıyla arı sağlığını etkiler. Arı bağışıklık sisteminin savunma mekanizmaları sinyal yollarını, patojen tanıma reseptörlerini ve doğal bağışıklık sistemi efektörlerini içerir. Bal arısı kolonilerindeki, salgın infeksiyon riski, bireysel ve sosyal bağışıklık ile azaltılır. Her iki bağışıklık türü birlikte çeşitli düzeylerde hastalıklardan korur, oluşan paraziter ya da diğer infeksiyöz hastalıklara karşı immün yanıt oluşmasında önemli rol oynarlar.

**Anahtar Kelimeler:** Bal Arısı, Patojen, Bireysel Bağışıklık, Sosyal Bağışıklık

### ABSTRACT

Honey bees play an important role in pollination in the natural ecosystem and agricultural field. Many biotic and abiotic stress factors such as pathogens (parasites, fungi, viruses and bacteria), ecosystem changes or losses, use of agricultural chemicals, alone or in combination, adversely affect the health and life of the bee colony. All these factors affect the immune system of the bees and change their defense mechanisms. Honey bees have a natural immune system consisting of physical barriers, generalized cellular and humoral immune response to protect themselves against infectious and parasitic agents. Pathogens, acaricides, fungicides, herbicides and other pesticides affect the bee immune system and hence bee health. Defense mechanisms of the bee immune system include signaling pathways, pathogen recognition receptors and innate immune system effectors. The risk of epidemic infection in honey bee colonies is reduced by individual and social immunity. Both types of immunity protect from diseases at various levels and play an important role in the formation of immune response against parasitic or other infectious diseases.

**Keywords:** Honey Bees, Pathogen, Individual Immunity, Social Immunity

### EXTENDED ABSTRACT

**Goal:** Honey bees have a natural immune system consisting of physical barriers, generalized cellular and humoral immune response to protect

themselves against infectious and parasitic agents. Pathogens, acaricides, fungicides, herbicides and other pesticides affect the bee immune system and hence bee health. Defense mechanisms of the bee immune system include signaling pathways,

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

pathogen recognition receptors and innate immune system effectors. Honey bees have an innate immune system also known as individual immunity. This system is physical barriers and cellular and humoral immunity that play a role in defense against a wide variety of infectious and parasitic microorganisms. In addition to various pathogens that affect bees and stimulate the immune system, xenobiotics such as acaricides, fungicides, herbicides and pesticides are also effective on bee health and immune system. Defense mechanisms include signaling pathways, pathogen recognition receptors, and innate immune system effectors. In order to make bees stronger on their own, these natural defenses should be supported, focusing not only on a single resistance trait, but also focusing on the selection of breeds with many traits such as productivity and resistance traits (e.g. hygienic behavior, grooming, propolis picking). For these various characteristics, rapid and effective evaluation methods of colonies should be developed.

**Discussion:** The first response of individual immunity is to distinguish between foreign and self. The bee immune system distinguishes infectious agents by recognizing specific proteins present in each pathogen type. The innate immune system of insects includes a variety of responses, including production and secretion of antimicrobial peptides, phagocytosis and pathogens disruption, melanization and encapsulation. When combined with physical barriers, humoral defense mechanisms and different cellular processes, they act together to neutralize parasites, pathogens and xenobiotics, forming a powerful defense. Pathogens and xenobiotics must first cross the physical barriers of honey bees such as the exoskeleton, tracheal tubes, and intestinal mucosa. Bees have basic and natural defenses such as enzymes and hematocytes readily available in hemolymph. Cellular immunity is provided by hemocytes, which are cells carried by hemolymph that perform processes such as phagocytosis, encapsulation and melanization. Humoral immune response is the second category of innate immunity and is the most important defense system of insects including honey bees. It is mediated by chemicals and antimicrobial peptides (AMPs). These are small, highly conserved proteins, usually between 12 and 50 amino acids, produced in response to bacterial and fungal infections and released into insect hemolymph but can be synthesized during viral infections. As social insects,

in honey bee colonies, colony individuals cooperate and form superorganisms by displaying collective behavior to combat factors. The term "social immunity" is used to describe the colony level disease protection achieved through the collective defenses of colony members. These defenses include behavioral, organizational, and physiological components.

**Conclusion:** The risk of epidemic infection in honey bee colonies is reduced by individual and social immunity. Both types of immunity protect from diseases at various levels, and play an important role in the formation of immune response against parasitic or other infectious diseases. There are two types of immune systems in developed vertebrates: natural and acquired immunity. While both act against pathogens, the only line of defense in insects such as honey bees is natural immunity. There are several natural lines of immunity against foreign pathogens at the individual level. Physical and chemical barriers consisting of peritrophic membranes lining the digestive system, the exoskeleton cuticle, are the first lines of defense that prevent pathogens from adhering and entering the body. Social immune processes practiced by honey bees include nest hygiene, secretion of antiseptic compounds to reduce or prevent disease, the collection of plant-derived compounds that improve colony health, thermoregulation changes associated with disease detection and control, and defensive behaviors to protect the nest. We will talk about the immun systems of honey bee from infections play a role.

### GİRİŞ

Bal arıları, doğal ekosistem ve tarımsal alanda tozlaşmada oldukça önemli rol oynarlar (Evans v.d. 2018). Son yıllarda dünyada arı popülasyonu ve koloni kayıpları artmıştır. Patojenler (parazit, mantar, virüs ve bakteriler), ekosistem değişikliği ya da kayıpları, zirai kimyasal kullanımı gibi birçok biyotik ve abiyotik stres faktörü tek başına ya da birlikte arı kolonisi sağlık ve yaşamını olumsuz olarak etkilemektedir. Tüm bu faktörler arıların bağışıklık sistemini etkileyerek savunma mekanizmalarını değiştirir (Brutcher v.d. 2015, Li v.d. 2018, Larsen v.d. 2019).

Tarih boyunca insektler, insan gibi omurgalılardan farklı olarak güçlü ve etkili bir immün sistem geliştirmiştir. Insektlerin çeşitli patojenlerle

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

mücadele eden eşsiz bağışıklık sistemi, onları dünyadaki en çeşitli ve başarılı hayvanlar haline getirmiştir. İnsan dahil omurgalılar, 'immünolojik hafıza' ile hem doğuştan hem de uyarılabilir bağışıklığa sahipken, insektler antikor üretme yeteneğine sahip değildir. Antijenik hafıza eksik gibi görünse de insektler, patojenlere karşı spesifik olmayan bağışıklık reaksiyonları ile karakterize doğuştan gelen bağışıklığa sahiptir. İnsektlerdeki savunma mekanizması hücresel ve humoral bağışıklıktan oluşur (Evans ve Armstrong., 2005, Schmid v.d. 2008, Wilson-Rich v.d. 2008).

Bal arısı kolonilerindeki, salgın infeksiyon riski, bireysel ve sosyal bağışıklık ile azaltılır. Her iki bağışıklık türü birlikte çeşitli düzeylerde hastalıklardan korur, oluşan parazitler ya da diğer infeksiyöz hastalıklara karşı immün yanıt oluşmasında önemli rol oynarlar (DeGrandi-Hoffman ve Chen 2015, Larsen v.d. 2019).

### BİREYSEL BAĞIŞIKLIK

Bal arıları kendilerini infeksiyöz ve parazitler etkenlere karşı korumak için fiziksel bariyerler,

genelleşmiş hücresel ve humoral immün yanıtın oluşun doğal bir immün sisteme sahiptir.

Patojenler, akarisitler, fungusitler, herbisitler ve diğer böcek ilaçları arı bağışıklık sistemini ve dolayısıyla arı sağlığını etkiler. Arı bağışıklık sisteminin savunma mekanizmaları sinyal yollarını, patojen tanıma reseptörlerini ve doğal bağışıklık sistemi efektörlerini içerir. *Apis mellifera* (*A. mellifera*)'nın bağışıklık sistemi *Drosophila* sineklerine ve *Anopheles* sivrisineklerine çok benzese de, bu cinslerde tanımlanan bağışıklık sistemi genlerinin sadece üçte birine sahiptir. Bu nispeten düşük sayıda gen, muhtemelen *A. mellifera*'nın sosyal bağışıklık geliştirmesinin bir sonucudur. Sosyal bağışıklık savunma stratejisi, arıların bireysel bağışıklık sistemi üzerindeki baskıyı azaltır.

Gelişmiş omurgalılarda doğal ve kazanılan bağışıklık olmak üzere iki tip immün sistem vardır. Patojenlere karşı her ikisi de etki gösterirken bal arısı gibi insektlerde tek savunma hattı doğal bağışıklıktır (Larsen v.d. 2019). (Tablo 1)

**Tablo1.** İnsektler ile yüksek omurgalılardaki doğal bağışıklığın özellikleri (Larsen v.d. 2019)

**Table1.** Features of natural immunity in higher vertebrates by insects

<u>Özellikler</u>	<u>İnsektler</u> <u>(Apis mellifera)</u>	<u>Gelişmiş omurgalılar</u>
<b>Spesifiklik</b>	Akraba mikroorganizma gruplarının ortak yapılarına spesifiktir	Akraba mikroorganizma gruplarının ortak yapılarına spesifiktir
<b>Reseptör Çeşitliliği</b>	Sınırlı	Sınırlı
<b>Hafıza</b>	Önemsiz	Önemsiz
<b>Self reaksiyon</b>	Non-spesifik yan zarar	Non-spesifik yan zarar
<b>Humoral efektör komponentleri</b>	Antimikrobiyal peptitler, tioester bağlantı proteinleri, melanizasyon ve pıhtılaşma proteinleri	Tamamlayıcı sistem. Sitokinler. İnterferon sistemi. Kemokinler. Akut faz proteinleri. Pıhtılaşma sistemi
<b>Hücresel efektör komponentleri</b>	Fagositler Hemositler	Makrofaj Dentritik hücreler Nötrofiller Doğal bağışıklık lenfositleri Mastositler

Bireysel düzeyde yabancı patojenlere karşı birkaç doğal immünite hattı vardır. Dış iskelet kütikulası, sindirim sistemini kaplayan peritrofik membranlardan oluşan fiziksel ve kimyasal bariyerler, patojenlerin vücuda yapışması ve

girmesini engelleyen ilk savunma hatlarıdır (Evans v.d. 2006\*, Barribeau v.d. 2015, DeGrandi-Hoffman ve Chen 2015, Negri v.d. 2019). Parazit ya da patojenler, fiziksel ve kimyasal korunma sistemlerinden geçerse bal arıları ikinci bir savunma

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

hattı olan hücrel ve humoral bağışıklık tepkileriyle kendilerini koruyabilirler (Barribeau v.d. 2015). Bireysel immunitenin ilk tepkisi yabancı ve kendinden olanı ayırt etmektir. Arı immün sistemi; infeksiyöz etkenleri, her bir patojende mevcut olan spesifik proteinlerini tanıyarak ayırır. Arılar, hemolenfte hazır bulunan enzim ve hemositler gibi temel ve doğal savunmalara sahiptir (Strand 2008, Larsen v.d. 2019).

Insektlerin doğuştan gelen bağışıklık sistemi, antimikrobiyal peptitlerin üretimi ve salgılanması, fagositoz ve patojenlerin imha edilmesi, melanizasyon ve kapsülleme dahil olmak üzere çeşitli tepkiler içerir (Hoffmann 2003).

### Fiziksel ve Mekanik Korunma Sistemleri

Fiziksel bariyerler, humoral savunma mekanizmaları ve farklı hücrel süreçlerle birleştiğinde, parazitleri, patojenleri ve ksenobiyotikleri nötralize etmek için birlikte hareket ederek güçlü bir savunma oluştururlar. Patojenler ve ksenobiyotikler ilk önce bal arılarının dış iskelet, tracheal tüpler ve intestinal mukozası gibi fiziksel sistemleri aşmalıdır. Özellikle virüsler, *Varroa* ile taşınır ve bu sistemlerden rahatlıkla geçebilirler (Larsen v.d. 2019).

Çoğu zaman arı kütikulası ve epiteliyal katmanlar gibi mekanik savunma sistemleri, patojenlerin vücuda yapışmasını ve girmesini önler. Arı kütikulası oldukça güçlü ve suya dayanıklıdır. Bu güçlü kütikula zarar görmediği sürece birçok patojeni tutabilir. Trachea bile su geçirebilen kütikula ile kaplıdır. Kütikula yaralanırsa, açığa çıkan hemolenf (insekt vücut boşluğunu dolduran sıvı, hem "kan" hem de hücre içi lenf işlevi görür, ancak oksijen taşımaz) memelilere benzer şekilde hızla pıhtılaşır. İmmün sistem hücreleri (hemosit) yara kenarından patojenleri içine alır, sonra fenoloksidaz enzimi ile kimyasal aşama başlatılır, hareketsiz ve geçirgen olmayan bariyer oluşturulur. Bu yapı arı vücut tüylerinin kırılmasına, hemolenfin açığa çıkmasına ve doğal olarak da patojenlerin özellikle de virüslerin vücuda girmesine neden olur (Crailsheim ve Riessberger-Gallé 2001, Hoffmann 2003, Larsen v.d. 2019).

Arının en zayıf fiziksel savunma sistemi, dış dünyadan gelen sayısız patojenin bulunduğu arı bağırsağıdır. Ağızdan mideye kadar olan sindirim sistemi, patojenler bu bölgeye yapıştığında değişebilen bir kütikulaya sahiptir. Insekt bağırsağı peritrofik membran olarak isimlendirilen iç kollardan oluşan kitinöz bir yapı ile korunur. Arı bağırsak

lümene; hafif asidik yapıda, epitelyum hücreleri tarafından üretilen sindirim enzimleri, savunma peptidleri ve bağlayıcı proteinler ile patojen bağlanmasını engelleyici etki gösteren fiziksel, kimyasal ve mekanik savunma sistemleridir (Crailsheim ve Riessberger-Gallé 2001, Haine v.d. 2008, Wilson-Rich v.d. 2008).

Arı larvalarında midgut (mide) ve malpighi tüpleri arka bağırsağa bağlı değildir. Bu nedenle sindirim ve nitrojenli metabolik kalıntılar vücutta depolanır, böylece larvaların etrafındaki gıdaları fekal kontaminasyondan korunur. Larvalar beslenme periyotlarını tamamladıktan sonra ve prepupa döneminden önce mideleri ile malpighi tüpleri fekal materyali atmak için anüs ile bir bağlantı oluşturur. Larvaların sindirim sistemindeki bu anatomik değişiklik hijyen sağlar ve gıdaların mikroorganizmalar için üreme alanına dönüşmesini önler. Prepupal dönemden önce, mide ve arka bağırsak arasında bağlantı olmaması sonucu oluşan sindirim sistemindeki anaerobik koşullar, genç larvaların yaşlı larvalardan çok daha dirençli olmasını sağlar.

Larva sindirim sistemi, vejetatif bakteri formlarının büyümesi için uygun değildir. Larva geliştikçe, ventrikülün iç yüzeyini kaplayan peritrofik zar kalınlaşır ve bu da vejetatif bakteri formlarının yaşlı larvalar için enfektif hale gelmesini önler (Silici 2011, Genç ve Genç 2019).

### Hücrel İmmünite

Patojenlere karşı korunmada immün sistem hücrelerinin rol aldığı bağışıklık türüdür. Hücrel bağışıklık, fagositoz, kapsülleme ve melanizasyon gibi işlemleri gerçekleştiren hücreler olan hemositler hemolenf tarafından taşınır (Strand 2008).

Insektlerde hemositler, tükürük bezleri ve vücut yağı gibi bağışıklık sisteminin eriyebilir diğer efektör kaynakları ile birlikte antimikrobiyal peptitler gibi humoral efektörleri sentezler ve depolar. Hemositler ayrıca patojenlerle savaşmak için protein üretir bu da yüksek omurgalılarıdaki karaciğerin fonksiyonel analogudur (Gillespie v.d. 1997, Brown ve Gordon 2003, Korayem v.d. 2004, Lemaitre ve Hoffmann 2007, Larsen v.d. 2019).

Hücrel mekanizma infeksiyöz ya da yabancı ajanların elimine edilmesinde önemli rol oynar, hemositler bu patojenleri fagosite ederek, parçalayarak ya da nötralize etmek için yutarak etkisiz hale getirir (Strand 2008, Marmaras ve Lampropoulou 2009).

Küçük yabancı maddeler hemositler tarafından fagosite edilerek uzaklaştırılırlar. Daha büyükleri ya da küçük maddelerin meydana getirdiği kümelerin uzaklaştırılması için farklı hemositlerin işbirliği ile nodulasyon ve enkapsulasyon başlatılabilir. Bu işlem yabancı madde yüzeyindeki hemositlerin kısmi parçalaması ve kümeleşmesi ile uzaklaştırılmasını sağlar. Mikroorganizmaları etkileyen oksijen ve azot araçları serbest bırakılır, aynı zamanda antioksidan görevi gören proses düzenleyici maddeler eşzamanlı olarak üretilir ve böylece yabancı etkenlerden gelebilecek potansiyel zararlar en aza indirilir (Eleftherianos v.d. 2009, Negri v.d., 2013, Dubovskiy v.d. 2016, Larsen v.d. 2019). İşçi, kraliçe ve erkek arılar yaşlandıkça hemosit sayıları değişmekle birlikte kapsulasyon mekanizması etkilenmez (Schmid v.d. 2008).

İnspekt hemositleri; morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel özellikleri ile tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır. Özellikle arılarda, hemolenf sitolojisi farklı yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. İlk çalışmalarda, %90'ı plazmositlerle temsil edilen beş ana hemosit tipini tanımlanmıştır (Van Steenkiste, 1988). Daha sonra dört alt tipe ayrılmıştır: Prohemositler, pıhtı hemositleri, granüler hücreler ve oenositoidler; son ikisi kapsülleme işlemi sırasında ve sonrasında melanizasyonla ilgilidir (Dubovskiy v.d. 2016). Akış sitometri analizlerinin kullanıldığı bir çalışmada hemositler arasında önemli morfolojik farklılıklar bulunmuş ancak iki tip plazmosit tanımlanmıştır (de Graaf v.d. 2002). Başka bir çalışmada ise hemolenf hücre grupları, proleukositler, eozinofiller, bazofiller, nötrofiller, piknonükleotitler, adipolökositler, spherukositler, granülositler, makronükleotitler, mikrolökositler ve iğ tipi hücreler olarak sınıflandırılmıştır (Zakaria 2007).

Melanizasyon, kapsülleme veya nodulasyon ile iyileşme sırasında ortaya çıkan humoral ve hücrel süreçlerin bir kombinasyonudur, patojenler veya farklı hasarlarla mücadeleyi amaçlamaktadır. İnspekt savunma sistemindeki bu hücrel reaksiyon, çok sayıda bakteri hücrelerini, paraziti ve ksenobiyotikleri ortadan kaldırır (Eleftherianos v.d. 2009). Melanizasyonun esas işlevi, patojen yayılımını sınırlamak ve eliminasyon için saklamaktır (Strand 2008).

İnspektlerin bağışıklığında önemli bir rol oynadığı bildirilen en önemli bağışıklık tepkilerinden biri, fenoloksidazın (PO) etkisine dayanan yanıtıdır (Nappi ve Christensen 2005, Chan v.d. 2009). PO pigmentasyon üreten melanin oluşumunda rol oynar,

ancak patojen ve parazitlere karşı koymak için immün yanıtta da kullanılabilir. Pıhtılaşma ve melanizasyon; yaralanma sonucu, yara iyileşme sürecinde entegre edilen karakteristik yanıtlardır (González-Santoyo, 2012).

Profenoloksidaz (proPO), melanizasyona aracılık eden bir hemolenf proteindir. İnspektlerde proPO'nun aktivasyonu, hemositler tarafından harekete geçirilen patojen tanıma reseptörleri (pathogen-recognition receptors-PRRs) tarafından patojene bağlı moleküler modellerin (pathogen-associated molecular patterns-PAMPs) tanınmasıyla başlayan aşamalı aktivasyon yoluyla gerçekleşir. Bu aktivasyon patojen ve yabancı maddeler üzerinde yapışma işlemine başlar, üst üste binen bir tabaka oluşturur, maddeleri degranüle etmek veya parçalamak için proPO üretilen salgılar. İstilacı ajanı kapsüllemek için melanin oluşumu ve polimerizasyonu (diğer proteinlerle birlikte) ile birlikte, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit (Dubovskiy v.d. 2016) ve nitrik oksit (Negri v.d. 2012, Negri v.d. 2013) gibi oksijen ve azotun reaktif araçları üretilir. Bunlar, etkenlerin yıkımı ve melanizasyonun başlatılması konularında işbirliği yaparlar. Arılar tek bir proPO genine sahipken, *Drosophila* sp. üç, *Anopheles* sp.'de ise dokuz tane bulunmaktadır.

proPO-kodlu gen, yetişkin arılarda larva veya pupalara göre daha güçlü bir şekilde eksprese edilir (Lourenco v.d. 2013, Larsen v.d. 2019). Larva gelişiminin erken evrelerinde PO'nun düşük aktivitesi, enfeksiyona yatkınlıkla ilişkili gibi görünmektedir (Chan v.d. 2009).

PO aktivasyonunun melanin sentezi ve dolayısıyla *A. mellifera* bağışıklığı ile ilgisi, arıların ontojenisi ile ilişkilidir (Schmid v.d. 2008, Wilson-Rich v.d. 2008, Laughton v.d. 2011). Gerçekten de melanizasyonun erişkin arılarda enzim aktivitesinin değerlendirilmesi yoluyla önemli bir bağışıklık yanıtı olduğu ileri sürülmüştür. Bu PO tepkisinin, inspekt için yüksek enerjik bir maliyete sahip olduğunu belirtmek önemlidir; enzimin ana aktivasyon sistemi (pro-PO), sadece sindirilen gıdalardan elde edilebilen bir bileşik olan fenilalaninden üretilen tirozin'e bağlıdır (González-Santoyo ve Córdoba-Aguilar 2012).

### Humoral ve Kimyasal İmmünite

Humoral immün yanıt, doğal bağışıklığın ikinci kategorisidir ve bal arıları da dahil olmak üzere inspektlerin en önemli savunma sistemidir. Kimyasallar ve antimikrobiyal peptitler (AMP'ler)

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

aracılık eder. Bunlar, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara yanıt olarak üretilen ve insekt hemolenfine salınan, ayrıca viral enfeksiyonlar sırasında sentezlenebilen, genellikle 12 ila 50 amino asit arasındaki küçük, yüksek oranda korunmuş proteinlerdir (Steinmann v.d. 2015). Bu humoral efektörler insektlerde doğal bağışıklığın temelidir. *Bombus pascuorum* gibi bazı tozlaşma yapan insektlerde, humoral tepki enfeksiyondan sonraki 24 ila 48 saat içinde tespit edilir. Humoral efektörler; hemositler, epiteliyal hücreler ve tükürük bezlerinde üretilebilir, ancak dorsal boşluktaki yağ gövdesi efektör sentezinin ana organıdır (Blum v.d. 1959, Lihoreau v.d. 2015).

Cecropinler, attacinler, dipterin ve defensinler gibi birkaç AMP ailesi vardır. Bu aktivite birkaç gün sürebilir. Memeli karaciğerinin fonksiyonel analogu, insekt boşluğunda yeralan ve açık dolaşım sisteminin içinde yer alan büyük bir biyosentetik organdır. *Drosophila*'da 20'den fazla immün-indüklenebilir AMP tanımlanmıştır ve bunlar yedi gruba ayrılmıştır. Küçüktürler (<10 kDa) ve geniş bir anti-bakteriyel spektrum yelpazesi gösterirler. Bal arısında bulunan toplam 4 AMP vardır; apidaecin, abaecin, hymenoptaeicin ve defensin (Wilson-Rich, v.d. 2009, Negri v.d. 2019).

Defensinler, Gram-pozitifleri ve mantarları etkilemelerine rağmen, esas olarak *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilere karşı etki eden küçük AMP'lerdir (Yi v.d. 2014). Defensinler için Defensin1 ile Defensin 29 arasında 29 farklı cDNA dizisi vardır. Acabain ve AcAb2 adı verilen iki, abaecin için ise abaecin peptidini kodlayan 11 cDNA dizisi vardır. Apidaecin, dört peptidi kodlayan on üç cDNA dizisine sahiptir: AcAp1 ila AcAp4. Son olarak, 13 farklı peptidi kodlayan hmenoptaeikin için 34 farklı cDNA dizisi vardır (Xu v.d. 2009).

Bal arılarının antioksidan enzimleri de ilginçtir, çünkü bunlar reaktif oksijen türlerinin (reactive oxygen species-ROS) detoksifikasyonundan sorumludur. Tüm aerobik organizmalar oksidatif metabolizma prosesi ile ROS üretir (Korayem v.d. 2012, Weirich v.d. 2002). Bu reaktif oksijen türleri, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroperoksil radikali ( $HO_2$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikalini ( $OH$ ) içerir. ROS, proteinlerin, RNA'ların ve DNA'ların oksidasyonuna ve membran lipitlerinin peroksidasyonuna neden olabilir. Serbest radikallerin üretimi ile antioksidan üretimi arasındaki dengesizlikler (reaktif ara maddeleri detoksifiye

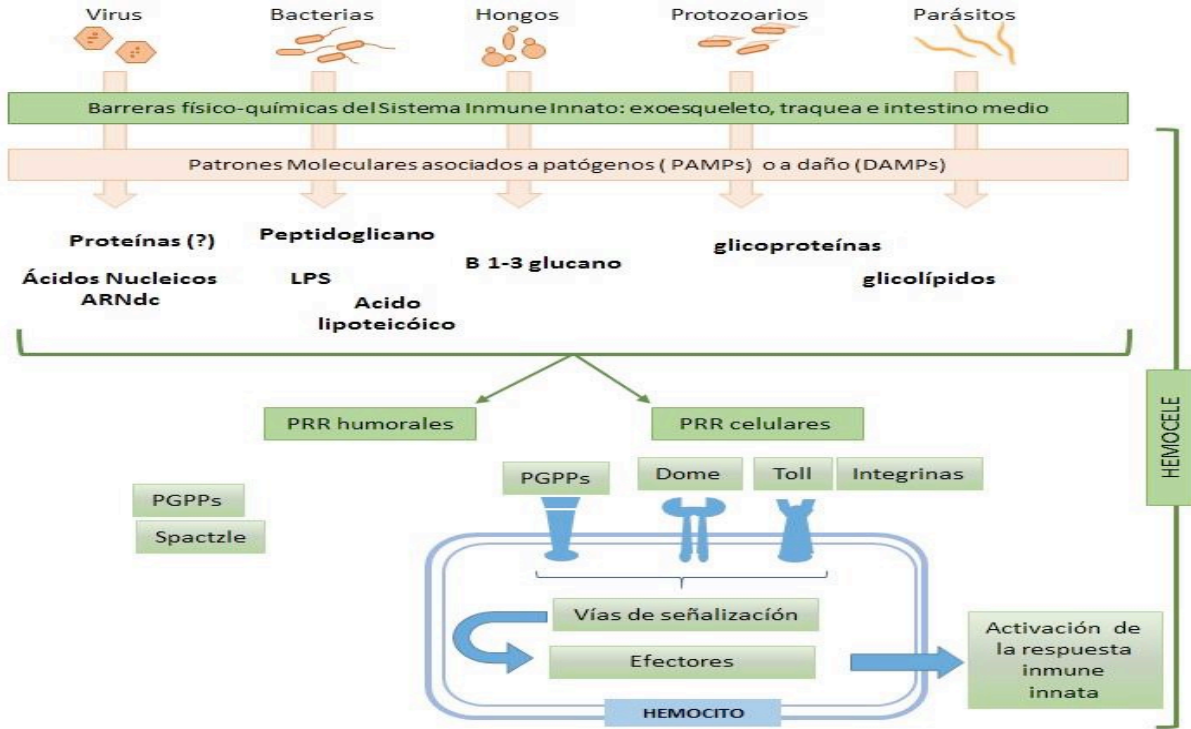
etmek veya ortaya çıkan hasarı onarmak için) canlı hücrelerde oksidatif strese neden olur (Korayem v.d. 2012). Hem süperoksit dismutazlar (SOD'ler) hem de katalaz (CAT), oksijensiz radikallere karşı ilk savunma hatlarıdır. İnsektlerde ayrıca glutatyon S-transferaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz da oluşur. İlginç bir şekilde, melanojenik süreçler insektlerde etkili bir immün tepki oluşturmak için ROS ve reaktif azot türleri (RNS) ile etkileşime girme kapasitesine sahip sitotoksik moleküllerin oluşumunda rol oynar. Gerçekten de melanogenez sırasında üretilen ROS ve RNS, parazitlerin insektler tarafından öldürülmesinde rol oynar (Nappi ve Christensen 2005).

Nitrik oksit (NO), L-argininin NO sentaz (NOS) enziminin aracılık ettiği citrulin oksidasyonu ile üretilen kararsız bir serbest radikal gaz olan oldukça reaktif bir RNS'dir (Rivero v.d. 2006, Negri v.d. 2019). NO her bir hücre için ya ikinci haberci ya da bitişik hücreler arasında sinyal olarak çalışabilir. NO güçlü bir bakterisidaldir ve parazitlere de etkilidir (Rivero v.d. 2006). Bal arılarında NO, non-self tanınmadan sonra hemosit aktivitesinin ilk basamağında sinyal molekülü olarak görev yapar, özellikle yaralarda iyileşmede, enkapsulasyon ve lipopolisakkarit (LPS) girişine tepkide rol oynar (Negri v.d. 2008, Negri v.d. 2013, Negri v.d. 2017).

Bal arılarındaki humoral immün sistem hakkında birçok bilgi var iken, hücresel bağışıklık hakkında bilgiler sınırlıdır. Hücresel bağışıklık; yara iyileşmesi, fagositoz, virüs öldürme, nodülasyon ve yabancı maddelerin kapsüllenmesini içerir. Tüm bu reaksiyonlarda insekt kan hücreleri, hemositler aracılık eder ve güçlü bir bağışıklık oluşmasını sağlar (Strand 2008, Burritt v.d. 2016, Gábor v.d. 2017, Walderdorff v.d. 2018, Koleoglu v.d. 2018, Annoscia v.d. 2019).

İmmün yanıt genellikle üç aşamalı gerçekleşen olayları içerir; Tanıma, sinyal yollarının aktivasyonu ve patojenleri ortadan kaldırmayı amaçlayan hücresel ve humoral efektör mekanizmalar (Guzman-Novoa 2011). İmmün yanıt, PAMP'lerin immün sistem hücrelerindeki PRR'ler tarafından tanıma işlemiyle başlatılır. Humoral ve hücresel bağışıklıkta rol oynayan efektörlerin ve reseptörlerin yanı sıra peptidoglikan tanıma proteinlerinin (Peptidoglycan recognition proteins-PGRP) sentezini teşvik eden farklı sinyal yolları etkinleştirilir (Dubovskiy 2016). (Şekil1).

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE



Şekil 1. İmmün Sistem Düzenlenmesi (Larsen v.d. 2019)

Figure1. Immune System Regulation

*Drosophila*'da PGRP ailesinin bazı üyeleri gibi çoklu PRR'ler oluşur. *Drosophila*'daki 13 PRR'den, bal arıları dördünü paylaşır, bunlardan ikisi infeksiyonlara yanıt olarak sentezlenir (Toll pathway için PGRP-S2 ve Imd pathway için PGRP-LC). Gram-negatif bakterilerdeki 1,3 glukani tanıyan GNBPI gibi diğer proteinler, mantarlar ve bazı Gram-pozitif bakterilerin tanınmasında rol oynar (Wang v.d. 2006, Stokes v.d. 2015). Bu tanıma proteinleri, Spatzle ve Toll'un *Drosophila*'daki endojen ligandının bölünmesini başlatan serinproteazlarla ilişkili olabilir; bunların her ikisi de embriyogenez ve immün yanıtta aktive edilir (Valanne v.d. 2011). Arı genomunda Spatzle familyasından iki ortolog gen tanımlanmıştır (Gravely v.d. 2004, Evans ve Armstrong 2006, Evans 2006, Richard v.d. 2012, Brutscher v.d. 2015).

Doğal immün sistem, etkenlerin Lipopolisakarrit (LPS), lipotheicoic acid, zymosan, glycolipidler, glycoproteinler ve çift sarmallı RNA gibi PAMP'ları tanır (Murphy v.d. 2017). Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, termal şok proteini gibi infeksiyöz veya infeksiyöz olmayan hasar görmüş hücrelerde ortaya

çıkan hasara bağlı molekülleri (Damage-associated molecular patterns-DAMPs) de tanır. Bununla birlikte, insektlerde, virüsle ilişkili moleküler paternleri (Virus-associated molecular patterns-VAMP) içeren mikroorganizma ile ilişkili moleküler paternleri (Microbe-associated molecular patterns-MAMP) belirtmek daha yaygındır (Brutscher v.d. 2015).

Mikrobiyal yapıların tanınması iki ana olayı tetikler: 1) Toll ve Iveya IMD reseptörleri uyarıldığında meydana gelen sinyal olayları ve 2) Fagositoz olayları. Down syndrome cell adhesion molecule (DSCAM) ve Eater genleri, arılardaki endositoz ile ilgili iki gen örneğidir. *Drosophila*'daki DSCAM'ın hemositler tarafından bakteri tanınmasında rol oynadığı bilinmektedir (Gravely v.d. 2004, Boncristiani v.d. 2012). Peptidoglikanlar, LPS ve zymosan da MAMP'ları tanır. Vitellogenin, bakteriyel fragmanların taşıyıcı proteinleridir; transgenerasyon yoluyla kazanılırlar, yeni nesilde doğuştan gelen bağışıklık sisteminin duyarlılaştırılması veya başlatılmasında rol oynarlar. Bu yapılar ekzojen ligandlar olarak işlev görür, çözünür formda veya bağışıklık sistemi hücrelerinde bulunan proteinler

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

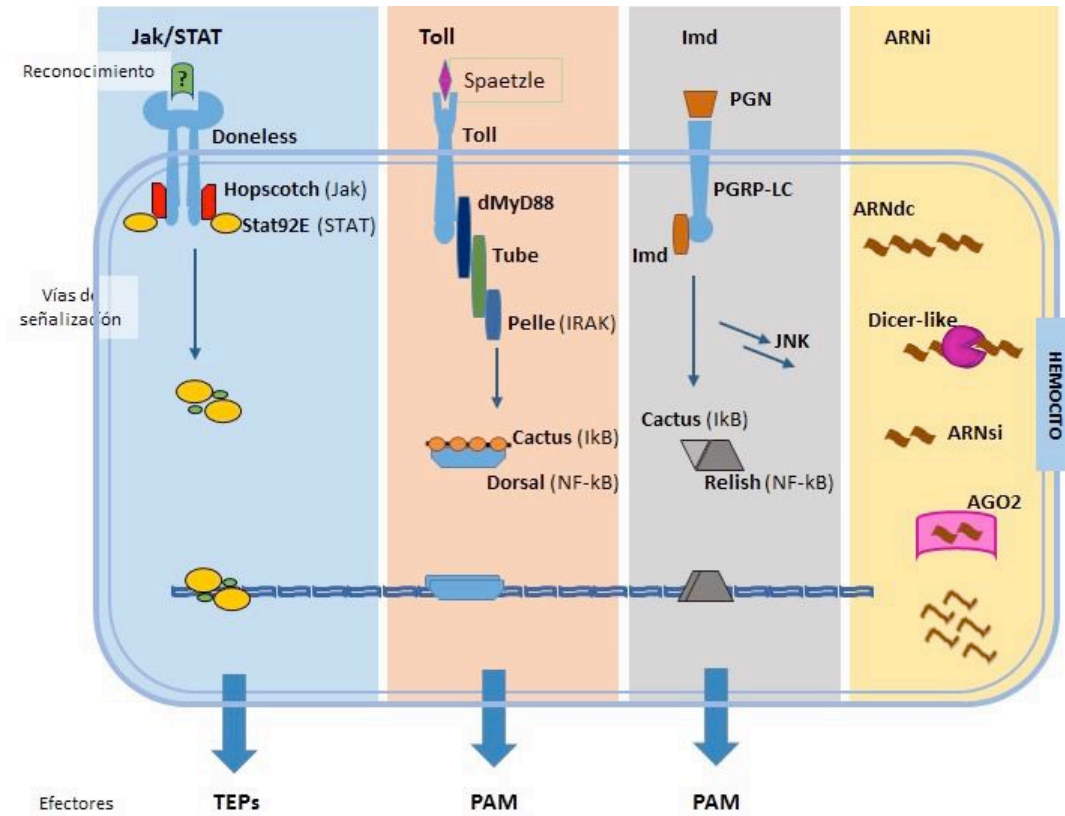
veya PRR'ler tarafından tanınır (Hernández López v.d. 2014, Salmela v.d. 2015).

### Bal Arılarında İmmün Sistem Sinyal Yolları

Hücre içi sinyal yolları, dış sinyalleri veya uyarıları hücreler içindeki eylemlere dönüştürerek örneğin konak savunma sistemleriyle ilişkili proteinleri kodlayan bir dizi geni aktive ederek bağışıklık tepkisini indükler. Bal arıları diğer insektler gibi başlıca dört sinyal yoluna sahiptir. Bunlar; Toll, immun yetersizlik (IMD), Janus kinaz-sinyal çevirici (Janus kinase/Signal transducer) ve transkripsiyon aktivatörü (Activator of transcription-JAK-STAT) ve Jun N-terminal kinazlar (JNKs) ile ilişkilidir. Diğer insektler ile karşılaştırıldığında bal arılarında bağışıklık ile ilgili genlerin sayısı insektlerin üçte biri

kadardır (Evans v.d. 2006). Bu durum bal arılarının patojenlerle mücadele kapasitesini sınırlayabilir ya da bal arılarındaki bağışıklık mekanizmalarının henüz tam belirlenemediği anlamında da gelebilir.

Bal arısı genomu, insekt bağışıklık yollarının önemli üyelerini kodlar: RNAi (RNA interference), Jak / STAT (Janus kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription), Toll, NFkB (Nuclear Factor kB), JNK (c-Jun N-terminal kinase); ve MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) ve ayrıca otofaji, eikosanoid biyosentez, endositoz ve melanizasyonda rol oynayan ortolog genler (Brutscher v.d. 2015). (Şekil2)



Şekil 2.Sinyal yolları, moleküler ayrıntı (Larsen v.d. 2019).

Figure 2. Signaling pathways, molecular detail

### Toll Sinyal Yolu:

Hücre zarındaki toll reseptörleri hem ontojenik gelişimde hem de bağışıklık sisteminde kritik bir rol oynar. Arılarda Toll ile ilişkili yalnızca beş gen

tanımlanmıştır (Toll-1, -6, -2/7, -8, -10); bunlar aynı zamanda birkaç istisna dışında *Diptera*, *Lepidoptera* ve *Coleoptera* takımlarına ait diğer insektlerin genomunda, bulunur. Bu insektlerde bulunan ve



bulunmayan Toll genlerinin kombinasyonu, beş genin ortak atalarında bulunan temel Toll reseptörlerini kodladığını göstermektedir (Evans v.d. 2006, Brutscher v.d. 2015).

Aktivasyon yolları, çekirdek faktörlerin aktivasyonuna yol açan kinazları aktive eden ve AMP büyüme faktörleri gibi bağışıklık sistemi efektörlerini kodlayan genlerin deregülasyonuna yol açan sitoplazmik adaptör proteinlerinin güçlenmesini içerir. *Drosophila*'da, sitokin benzeri molekül Spaetzle, transmembran reseptörü Toll'un hücre dışı alanına bağlandığında, Toll sinyal yolu devreye girer. *Drosophila* genomu, dokuz *Drosophila* Toll reseptörü için ligand olarak işlev gördüğü düşünülen altı Spaetzle ile ilgili molekül ailesini kodlar (Parker v.d. 2001). Arı genomunda (GB15688 ve GB13503) iki Spaetzle ortologu belirgindir ve hangisinin Toll-bağlayıcı sitokinler olarak hareket ettiğini belirlemek için fonksiyonel testlere ihtiyaç duyulur (Gravely v.d. 2004, Larsen v.d. 2019).

Aktive edilmiş reseptörün konformasyonel değişikliklerini takiben, bir reseptör kompleksi oluşturmak için birkaç hücre içi ölüm alanı (death domain proteins-DD) içeren protein alınır. Aktive edilmiş reseptörün konformasyonel değişikliklerini takiben, bir reseptör kompleksi oluşturmak için birkaç hücre içi ölüm alanı (DD) içeren protein alınır. Bu kompleksin aktivasyonu, CACTUS (counterpart of the NF- $\kappa$ B inhibitor protein, I $\kappa$ B) bozulmasına yol açar ve daha sonra *Drosophila*'da NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörü DORSAL'ın (Dorsal-related immune factor-Dif) nükleer translokasyonunu sağlar. Bu da AMP ve lizozimleri aktive eder. Bal arısı genomunda DORSAL'ın iki homologu bulunmuştur (Royet v.d. 2005). Hücre içi bileşenlerin Tollip, Pellino, Kaktin ve TNF reseptörü ile ilişkili faktör-2'nin (TRAF-2) bu sinyal yolunda esas elemanlara yardımcı olduğuna inanılmaktadır ve hepsinin her iki sinek türünde ve bal arısında olduğu görülmektedir. Bal arılarında bağışıklık ile ilişkili Toll yolu için aday efektörler arasında bir antimikrobiyal peptid, melanize edici ajan filoksidaz ve üç lizozim bulunmaktadır. Bu efektörlerin diğer yolların aksine Toll pathway tarafından tetiklendiği kanıtlanmamış olsa da arı efektörlerinin bazılarının arıların patojenlerine ya da mekanik yaralanmasına tepki verdiği kesindir (Evans v.d. 2006).

#### **Imd Sinyal Yolu (Immune-deficiency signaling pathway):**

Arı ve sineklerde bağışıklık yetersizliği sinyal yolu (Imd) RELISH transkripsiyon faktörünü (NF- $\kappa$ B

transkripsiyon faktörüne homolog) aktive eder. Sineklerde, çoğu AMP'nin ekspresyonunu kontrol eden bu yol mikroorganizmalara karşı bağışıklık tepkisi için zorunludur. Transkripsiyon faktörü inhibitörü olarak CACTUS'in varlığı da gösterilmiştir. Bu yol, tüm bileşenler için olası ortologlara sahip arılarda oldukça korunmuştur. Bu durum, sinekler ve arılardaki sinyal yollarının benzer olduğunu güçlü bir şekilde göstermesine rağmen, mutlaka aynı biyolojik fonksiyonları paylaştıkları anlamına gelmez (Evans v.d. 2006). Peptid-glukan tanıma proteini (Peptide-glucan recognition protein PGRP-LC) aracılığı ile mikroorganizma tanıma, Imd sinyali yolunu aktive eder. Imd yolunun aktivasyonu ayrıca JNK sinyal yolunun bileşenlerinin aktivasyonuna yol açar ve sonraki kontroller AMP sentezinin ekspresyonunu hem pozitif hem de negatif feedback ile kontrol eder. Basket, JNK ve JNK-protein 1 etkileşimi gibi ortologlarının arılarda bulunduğu bilinmektedir (Ryabov v.d. 2014, Larsen v.d. 2019).

*Drosophila*'da, Imd sinyallemesinin genellikle Gram-negatif bakteriler için spesifik olduğu söylenir, ancak diaminopimelik asit tipi peptidoglikanlara sahip Gram-pozitif bakteriler en az elisitörler kadar güçlüdür. Diğer peptidoglikan türlerine ve hatta mantarlara daha zayıf bir tepki de görülür (Hultmark 2003, Werner v.d. 2003).

Imd sinyal yolu, bal arısında tüm bileşenleri ortologlar ile güçlü bir şekilde korunmuştur. Imd yolunun uyarılmasının, sineklerde ve arılarda benzer olduğu düşüncesi güçlüdür, ancak benzer biyolojik rolleri olmayabilir (Larsen v.d. 2019).

#### **JAK/STAT Sinyal Yolu:**

İnsektlerde, JAK / STAT (Janus-family tyrosinkinases [JAK] / transkripsiyon aktivatör proteinleri (Transcription activator proteins STAT) sinyalleme yolu, komplement sisteme benzer efektörlerin sentezinde, kan hücreleri tarafından fagositozun proliferasyonunda, indüklenmesinde ve antiviral yanıtta rol oynar (Evans v.d. 2006). Başlangıçta gelişim ve hemosit proliferasyonunda rol oynayan JAK-STAT yolu aynı zamanda bakteriyel ve viral infeksiyonlara da yanıt verir (Kingsolver v.d. 2013). JAK / STAT sinyal yolu ayrıca kompleman benzeri faktörlerin indüklenmesi ve hemositlerin aşırı çoğalmasıyla doğal bağışıklıkta rol oynar. JAK / STAT'ın kan hücrelerindeki sitokin benzeri moleküller yoluyla başlatıldığı görülmektedir (Agaisse v.d. 2004). İnterleukinler ve interferonlar gibi sitokinler, bu yol boyunca bağışıklık yanıtının

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

düzenlenmesinde ve koordine edilmesinde merkezi bir rol oynar (Negri v.d. 2019, Gupta v.d. 2009).

Sineklerde, ekstrasellüler glikozile protein Upd, hemositlerin fagositik aktivitesini destekleyen JAK / STAT yolunu aktive eden bir ligand görevi görür. Arılarda, JAK / STAT yolu bileşenleri için *Drosophila* ile beş homolog gen vardır: 1) DOMELESS sitokin reseptörü (DOMELESS cytokine receptor-dom), 2) JAK tirozin kinaz (JAK tyrosine kinase-hopscotch), 3) STAT92E transkripsiyon faktörü, 4) Sitokin sinyalinin (Suppressors of cytokine signaling SOCS) baskılayıcıları, 5) Aktive edilmiş STAT (Protein inhibitor of activated STAT-PIAS) protein inhibitörü gibi negatif yol düzenleyici proteinler. Bu yolun iki ana bileşeni tyrosine fosfatase Ptp61F (XP392429) ve WD40- and bromo-domain-containing protein BRWD3 (XP395263) ortologdur (Larsen v.d. 2019). JAK / STAT yolu için anahtar ligand (Upd) bal arısı genomunda bulunmasa da gp130 sitokin reseptör homologu Domeless ve sinyal yolunun diğer tüm üyeleri bu mekanizmanın insektler arasında ortak olabilir. Bu yol, arılardaki çeşitli tioester taşıyan proteinler (TEP'ler) gibi bağışıklık sistemi humoral efektörlerini kodlayan genlerin deregulasyonu ile sona ermektedir. *Drosophila*'daki JAK / STAT yolu, şiddetli stresin neden olduğu humoral faktörleri (Ekengren ve Hultmark 2001, Ekengren v.d. 2001) kodlayan Turandot (Tot) genlerinin ekspresyonunu düzenler. Bal arılarında Tot faktörlerinin hiçbiri (Tot A-Z) görülmez (Evans v.d. 2006).

### RNAi sinyal yolu

Arılardaki VAMP'lerin tanınması, gen replikasyonu için, virüs replikasyon döngüsünü engelleyerek, viral enfeksiyonlara karşı fizyolojik bir savunma mekanizması olan RNA girişim sistemine (RNAi) bağlıdır. Ana RNAi yolu bileşenleri arılardaki viral enfeksiyonlarda bulunur; bu işlem sırasında çift sarmallı RNA'lar (double-stranded RNAs-dsRNA) arılardaki DICER like gen tarafından üretilen bir dsRNA sensörü tarafından tanınır (Cornman v.d. 2009, Larsen v.d. 2019). Bu sensör, memelilerde PRR ailesi veya RIG-1 sitosolik sensörler (DICER) ile ilgilidir. DICER dsRNA'yı kestikten sonra, küçük RNA'lar (siRNA) ve microRNA (miRNA) olarak bilinen küçük dsRNA fragmanları, RNA'nın neden

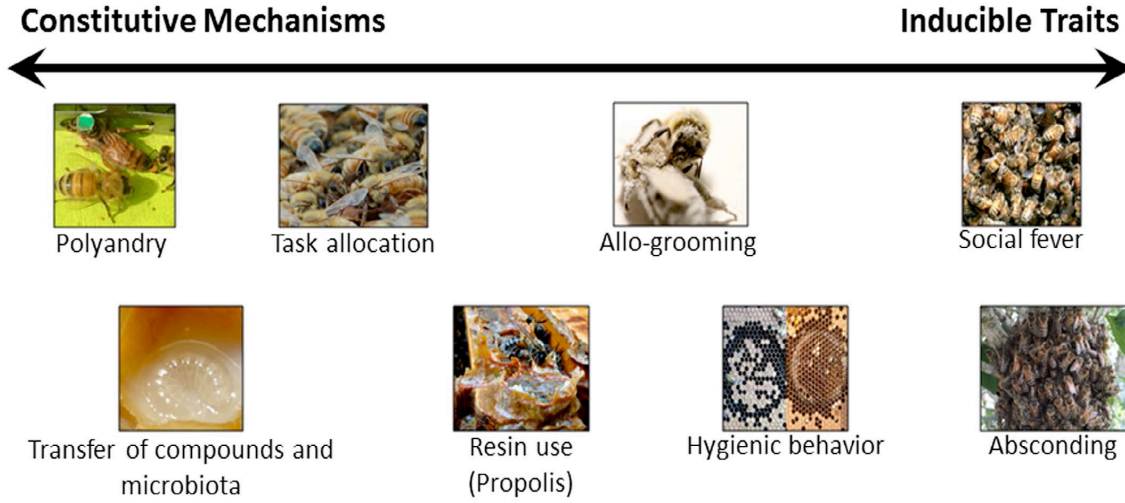
olduğu engelleme kompleksi (RISC) tarafından tanınır. İkincisi, AGO2 ailesinin (argonaute-2) proteinlerini içerir, bunlar küçük tek iplikli RNA'lara (ssRNA) dönüşür. Bu küçük ssRNA, tamamlayıcı diziler içeren mRNA transkriptlerine bağlanır, böylece protein sentezini önler. Arılardaki bu yolun aktivasyonu, *Drosophila*'da bulunan bir ortolog olan vago geninin ekspresyonunun artmasıyla sonuçlanır, bu da viral replikasyonun baskılanmasına neden olur (Ryabov v.d. 2014, Galbraith v.d. 2015). Antiviral fonksiyona sahip arılardaki bir başka epigenetik mekanizma, antiviral yanıtın bir parçası olan DNA metilasyonudur (Galbraith v.d. 2015).

### SOSYAL BAĞIŞIKLIK

Sosyal insektler olarak, bal arısı kolonilerinde, koloni bireyleri işbirliği yapar ve etkenlerle savaşmak için kolektif davranışları göstererek süperorganizmaları oluşturur. Koloni üyelerinin toplu savunmaları yoluyla elde edilen koloni düzeyinde hastalık korumasını tanımlamak için "sosyal bağışıklık" terimi kullanılmaktadır. Bu savunmalar arasında davranışsal, örgütsel ve fizyolojik bileşenler bulunmaktadır (Cremer v.d. 2007). Sosyal dokunulmazlık davranışları, her bir arının iletişim kurma ve yuva koşullarına cevap verme, daha sonra kolektif süperorganizmayı etkileyen bireysel seçimler yapma yeteneğine dayanır (Negri v.d. 2019).

Sosyal bağışıklık, parazit ve hastalık bulaşmasının kolektif eylemler ve yuva içindeki bireylerin self organizasyon ile nasıl azaltılabileceğini anlamak için yapıcı bir çerçeve sağlar. Bu kolektif savunmalar ya temel ya da uyarılmış olabilir (Simone-Finstrom 2017) ve bireysel bir organizma içindeki bağışıklık sisteminin etkilerine benzerdir (Cremer v.d. 2009).

Bal arıları tarafından uygulanan sosyal bağışıklık süreçleri arasında yuva hijyeni, hastalığı azaltmak veya önlemek için antiseptik bileşiklerin salgılanması, koloni sağlığını geliştiren bitki kaynaklı bileşiklerin toplanması, hastalık tespiti ve kontrolü ile ilişkili termoregülasyon değişiklikleri ve yuvayı korumak için savunma davranışları bulunur (Negri v.d. 2019). (Şekil2).



Şekil2. Bal arılarında sosyal bağışıklığa genel bakış (All photos were taken by M. Simone-Finstrom. (Simone-Finstrom 2017).

Figure2. An overview of social immunity in honey bees

Bir bal arısı kolonisindeki yüzlerce veya binlerce birey etkileşime girdiğinde, koloni düzeyindeki sosyal bağışıklık tepkileri, çok hücreli bir organizma içindeki karmaşık humoral ve hücreli bağışıklık sistemlerine benzer özelliklere sahiptir (Cremer v.d. 2009).

### 1. Polyandry ve Genetik Çeşitlilik Durumu:

Bal arılarında kraliçe birden fazla erkek ile çiftleşir ve bu durum polyandry olarak isimlendirilir. Kraliçenin çiftleştiği erkeklerin sayısı, bir koloni içerisindeki baba soylarının veya alt ailelerin sayısını, bu da genetik çeşitlilik düzeyini belirler. Bir kraliçe ne kadar çok erkekle çiftleşirse, yavruları genetik olarak o kadar çeşitli olur. Kraliçeler yaklaşık 5 ila 35 erkekle çiftleşir (ortalama 14) (Tarpy v.d. 2004, Tarpy v.d. 2013). Bu da bazı kolonilerde düşük genetik çeşitliliğe, bazılarında ise aşırı yüksek genetik seviyelere neden olur. Artmış genetik çeşitlilik düzeyine sahip kolonilerin, yiyecek arama verimliliği artar (Eckholm v.d. 2011), arılar daha sağlıklı bağırsak mikrobiyomuna sahip olur (Mattila v.d. 2012). Böyle koloniler genel olarak daha yüksek sağlık ve üretkenlik düzeyine sahip olur (Mattila v.d. 2007). Ayrıca ticari arıcılıkta koloninin hayatını devam ettirme olasılığı daha yüksektir (Tarpy v.d. 2013).

Genetik çeşitliliği yüksek olan koloniler infeksiyonlara daha dirençlidir ve böyle kolonilerde infeksiyonlar daha az ve hafif görülür (Bailey 1999,

Tarpy 2003, Tarpy ve Seeley 2006). Yüksek genetik çeşitlilik seviyelerine sahip koloniler, birden fazla patojen, parazit ve tek bir patojenin farklı suşlarıyla daha iyi mücadele edebilir (Bailey 1999, Vojvodic v.d. 2011, Evison v.d. 2013, Lee, v.d. 2013).

### 2. Kolonide Görev Dağılımı (Sosyal Organizasyon):

Koloni içinde iş bölümü, koloni verimliliğini artırmanın yanı sıra, koloniler içinde patojenlerin ve parazitlerin yayılmasına karşı önemli bir etkisi vardır. İşçi arılara arasında "polyethism" adı verilen arı yaşına göre görev dağılımı vardır. En genç işçi arılar kovan içinde görevlidir. Kovan bakımı, nektar işleme ve son olarak yiyecek bulma görevlerini yerine getirir, böylece koloninin dışındaki hastalıklardan ve parazitlerden korunurlar. Arılar yiyecek aramaya ilgili görevlere geçtikçe patojenlere maruz kalma riski daha yüksek olur, ancak bu dönemde genç arılarla temas daha az olduğu için genç arılar ve yavrular korunur (Johnson 2010, Simone-Finstrom 2017).

Hijyenik davranış sergileyen (Arathi v.d. 2000) ve infekte bireyleri uzaklaştıran (Visscher 1983)

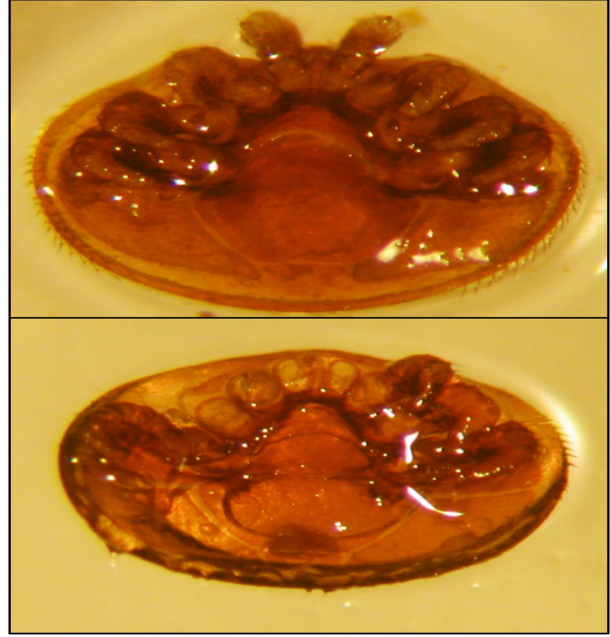
orta yaşlı arılar daha sonra bakıcı arılar ve larvalarla etkileşime girmez veya yiyecek paylaşmaz, bu da patojen bulaşma riskini azaltır. Büyük ve kalabalık koloniler ergonomik olarak daha verimli olsalar da, patojenlerle daha yüksek temas ve infeksiyon oranlarına sahiptir (Evans v.d. 2010).

### 3. Temizleme (Tımar) ve Bakım Davranışı:

Temizlenme genellikle istilacı mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattıdır (Zhukovskaya v.d. 2013). Tek bir arı kendini temizleyebilir (otomatik tımar) veya bir arı başka bir arıyı temizleyebilir (genel tımar). Kendini temizleme, yabancı partikülleri ve poleni vücuttan uzaklaştırmak için kullanılır (Jander 1976). Kendini temizleme davranışı daha yaygındır. Arı bacaklarını ve çenesini kullanarak dış parazitleri vücuttan uzaklaştırır (Guzman-Novoa 2011, de Roode ve Lefèvre 2012).

Sosyal bağışıklıkta tımar yapmanın iki büyük etkisi vardır. İlki, bal arısı kolonilerini işgal eden trakeal akar, *Acarapis woodi* ve *V. destructor* gibi ektoparazitler üzerinedir. Trakeal akarlar için, kendi kendine tımarlama, bireysel infeksiyonu önleyen ana savunmadır (Danka ve Villa 1998, Pettis ve Pankiw 1998, Danka ve Villa 2000). Arının bireysel bakımı, kolonideki akarları da etkili bir şekilde ortadan kaldıracaktır. Bu mikroskopik akarlar genetik direnç gösteren arılar, akarları protorasik solungaçtan çıkarırken mezotorasik bacaklarıyla kendilerini temizler, böylece akarların diğer koloni bireylerine bulaşmasını önler (Evans v.d. 2010). Genel bakım sırasında yetişkin arılar yabancı partikülleri ve parazitleri birbirlerinden uzaklaştırırlar (Boecking ve Spivak 1999). Bir arı, diğer arıların özellikle kanatların dibini tımar etmesine neden olan titreme hareketlerini içeren bir "tımar dansı" (Haydak 1945, Miliun 1955) ile tımarlamayı başlatabilir. Tımar etmenin akarlar karşı etkili bir savunma olması için, arılar sadece koloni bireyinden foretik akarı çıkarmakla kalmamalı, aynı zamanda akarın idiyomasını veya bacaklarını ısırarak akara zarar vermelidir. Bu durum avantaj olabildiği gibi parazitlerin ve bu parazitlerin taşıdığı viral infeksiyonların bulaşmasına da sebep olabilir (Rosenkranz v.d. 1997, Aumeier, v.d. 2000). (Şekil2)

Tımar etmenin koloni sağlığı ve hastalık direnci üzerinde sahip olacağı diğer etki ise, sosyal bağışıklıktır. Bazı durumlarda hasta bireylerin tımar edilmesi, sonraki patojen tehdidinde bireyin hayatta kalma şansını artırır (Traniello v.d. 2002, Konrad v.d. 2012).



Şekil2. Varroa, tımar hasarına karşı hassastır. Tımar etmek genellikle çiğnenmiş bacaklara veya akar kütükülüne başka hasarlara neden olur (üst: hasar görmemiş akar; alt: birkaç bacak koparılmış akar) USDA photos. (Simone-Finstrom 2017)

Figure 2. Varroa is susceptible to grooming damage. Grooming often causes chewed legs or other damage to the mite cuticle (upper: mite undamaged; lower: mite with several legs plucked off) USDA photos.

### 4. Yüksek Düzeyde Uyarılmış Koloni Yanıtları: Termoregülasyon ve Terk Etmek:

Bal arıları, kuluçka gelişimini desteklemek için yuvalarının içinde doğru sıcaklıkları koruyarak yuva sıcaklıklarını yüksek hassasiyetle düzenleyebilirler (Stabentheiner v.d. 2010).

Bal arıları, ısıtma, soğutma ve havalandırma yoluyla yuvalarının iç ortamını düzenlemek için stratejiler geliştirmişlerdir (Seeley ve Visscher 1985). Yuvada yavru olduğunda, peteklerin sıcaklığını 32–34°C civarında tutarlar ve nemdeki dalgalanmaları azaltmak için çaba gösterirler. Özellikle ısıyla düzenleme yeteneği, biyolojik tehditlere karşı bir savunma olarak da kullanılır. Bal arıları tek tek, bir küme içinde toplanarak, yaban arısı, yabancı bir kraliçe veya yırtıcı hayvanın etrafında sıcaklığı en az 45°C'ye yükseltebilir (Esch 1960, Zono v.d. 2005).

Ayrıca, termoregülasyon, "davranışsal ateş (Behavioral Fever)" olarak bilinen yöntemle patojenlere karşı savunmada önemli bir rol oynar. Davranışsal ateş, arıların yuvada ek ısı

üretmesinden kaynaklanır. Yuva sıcaklığının yükseltilmesi, özellikle yavrularda kireç hastalığı etkeni *Ascosphaera apis*'in kontrolüne yardımcı olur. *Ascosphaera apis*'in infekte ettiği kolonilerde kuluçka sıcaklığında bir artış bildirilmiştir (Starks v.d. 2000).

Bu "davranışsal ateş" tepkisi, yalnızca sıcaklık değişimlerine duyarlı olabilen kireç hastalığı mantar sporlarının varlığından kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Bununla birlikte ateş tepkisi karmaşıktır ve muhtemelen diğer çevresel koşullardan etkilenir (Starks v.d. 2000, Simone-Finstrom v.d. 2014).

Bu davranışın tutarlılığı, genetik geçiş olup olmadığı, diğer patojenlere ve parazitlere olası tepkisi, özellikle bir koloninin yuvayı düzgün ve tutarlı bir şekilde termoregüle etme kabiliyetiyle ilgi olduğu için daha fazla araştırılmalıdır (Jones v.d. 2004, Simone-Finstrom, 2014).

Kolonide infeksiyon, bal arılarının hastalığı yuvadan uzaklaştırmak için ateş, hijyenik davranış, resin toplama gibi özellikler başlatmasına neden olur. Bunlar etkili olmuyorsa ya da infeksiyon şiddetli ise diğer strateji infekte yuvayı geride bırakmak, yeni ve hastaliksız bir kovanda yeni koloni oluşturmaktır. Koloninin tamamı yuvayı terk edebilir, yeni bir yuva bulmak için infekte kovanda yavrulu petekler ve depolanmış gıda maddelerini bırakabilirler. Terk etmek, Afrika ve bazı Asya bal arılarında daha yaygın bir özelliktir. Yüksek düzeyde patojen, parazit veya zararlılar koloniyi işgal ettiğinde Avrupa bal arılarında da görülür. Bu durum genetik olabilir, ancak arı yetiştiriciliği bakımından tercih edilir bir özellik değildir (Winston v.d. 1983, Ellis v.d. 2003).

### 5. Antimikrobiyal Bileşik Kullanımı:

İlginç bir şekilde, sosyal insekt yuva mimarisi içinde antimikrobiyal resinler gibi bitki bileşiklerinin kullanımı, birden fazla tür için bir sosyal bağımsızlık biçimi olarak kabul edilmiştir (Christe v.d. 2003, Simone v.d. 2009, Drescher v.d. 2014). Bu bileşikler kolonideki bireyler arasında paylaşılır ve tüketilirse, bu da koloninin sağlığını, hayatta kalma oranını ve etkenlerle savaşma yeteneğini artırır ve sosyal bağımsızlık olarak kabul edilmelidir (Spivak v.d. 2019).

**a. Bal arısının kendi ürettiği bileşikler kullanması:** İnektler kendilerini infeksiyöz etkenlerden korumak için çeşitli antimikrobiyal bileşikler üretir. Sosyal insektlerde, bu bileşiklerin çoğunun birden fazla işlevi vardır ve bazı durumlarda, daha sonra koloni düzeyinde

patojenlere ve parazitlere karşı bir savunma için seçilen bireysel savunmada kullanılmaktadır (Stow v.d. 2007, Otti, v.d. 2014). Yakın zamandaki çalışmalarda bal arısı kütikülünde zehirli peptitler bulunmuştur (Baracchi ve Cini 2014). Arı venomu antimikrobiyal özelliklere sahiptir (Moreau 2013) ve arı kütikulasına yayılmasının, bazı karınca türlerinde görüldüğü gibi patojenlere karşı doğrudan etkisi olabilir (Tragust v.d. 2013).

Defensin-1 gibi antimikrobiyal peptidler de immun yanıtta önem taşır. Bu antimikrobiyal sekresyonlar, bazı karıncalarda ve termitlerde görüldüğü gibi trophallaxis (arıdan arıya oral transfer) yoluyla transfer edilirse patojen direncini de artırabilir (Hamilton v.d. 2011, Mirabito ve Rosengaus 2016). Benzer şekilde mikrobiyotanın trophallaxis veya kovan ürünlerinin tüketimi yoluyla değişimi hastalık duyarlılığını etkileyebilir ve ayrıca patojenlere karşı koloni düzeyinde dirençte bir faktör olabilir (Koch ve Schmid-Hempel 2011, Powell v.d. 2014).

### b. Bitki Bazlı Savunma Bileşiklerinin Toplanması ve Kullanımı:

Çeşitli ağaçlar ve odunsu bitkilerin yaprak tomurcuklarını, yaralarını patojen ve pestlere karşı korumak için kimyasal olarak karmaşık resinler üretir (Barnett 2004). Bal arıları bu resinleri yuvalarına taşıyarak gıda olarak kullanır, çeşitli miktarlarda balmumu ile karıştırır ve yuva yapımına dahil eder, bu aşamada karışım propolis olarak adlandırılır (Seeley ve Morse 1976, Ghisalberti 1979, Simone-Finstrom v.d. 2014). Resin ile zengin kolonilerin toplam mikrobiyal yükü daha düşüktür, bu durum arıların bireysel immun sistemlerinin zayıflamasına sebep olabilir (Simone v.d. 2009). Propolis Amerikan yavru çürüklüğü ve kireç hastalığına karşı direkt etki gösterir (Lindenfelser 1968, Antunez v.d. 2008, Simone-Finstrom v.d. 2014, Borba 2015). Yine farklı bileşenleri olan resin *Varroa destructor*'a karşı direnç mekanizması oluşturur (Popova v.d. 2014).

Bal arılarında propolisin, mikrobiyal yükü azalttığı, immun sistemi düzenlediği, ayrıca chalkbrood (Kireç Hastalığı) infeksiyonlarında bal arılarının resin toplamayı arttırdığı bildirilmiştir (Simone-Finstrom v.d. 2010, Borba 2015). Bu durum, koloni veya süperorganizma düzeyinde çalışan benzersiz bir kendi kendine ilaçlama türüdür. Kireç hastalığı ile infekte olmayan erişkin bal arıları, larvaları infeksiyondan korumak için antimikrobiyal resin toplamasını artırır. Bal arılarının ayrıca *Varroa* ve Deforme Kanat Virüsüne karşı da kendi kendine tedavi (self-medicate) uyguladıkları bildirilmiştir



## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

(Drescher v.d. 2017). Bal arıları yuvalarında bitkiler tarafından üretilen bu resinleri toplar ve kullanır. Bal arıları bu resinlerden besin yapar, çeşitli miktarlarda balmumu ile karıştırır ve yuva mimarisine dahil eder, bu noktada karışım artık propolis olarak adlandırılır (Seeley ve Morse 1976, Ghisalberti 1979, Simone-Finstrom v.d. 2010).

Polen, nektar ve bunlarla ilişkili mikrobiyal topluluklar, arılar için besindir, beslenme sağlar ve bağışıklık ve detoksifikasyon sistemi işlevini destekler (Brodschneider ve Crailsheim 2010, Anderson v.d. 2013, Corby-Harris v.d. 2014, Vaudo v.d. 2016, Dolezal ve Toth 2018). Arıların bireysel yiyecek arama tercihleri, koloni düzeyindeki patojen yükünü ve koloni yaşam süresini etkileyebilir (Koch v.d. 2017, Dolezal v.d. 2018), bu nedenle beslenme başlı başına bir sosyal bağışıklık biçimi olabilir. Patojen yükünü azaltmak için çeşitli antimikrobiyal özelliklere sahip nektar ve balın tüketilmesi, muhtemelen tüm sosyal arılar için koloni düzeyinde sosyal bağışıklık üzerinde etkili olabilir.

### 6. Hijyenik Davranışlar:

Hijyenik davranış, işçi arıların hastalıklı veya parazit ile enfeste yavruları (larva ve pupa) petek hücrelerinden tespit etme ve uzaklaştırma yeteneğidir. Bu, iki aşamalı bir savunma mekanizmasıdır. İlk olarak, işçiler hastalıklı veya parazit ile enfeste olmuş larva veya pupa içeren hücreleri açar ve sonra bunları yuvadan çıkarır (Guzman-Novoa 2011). Farklı genotiplere sahip arılarda, bu davranış farklılık gösterir. Hijyenik davranış, en az yedi genden oluşan bir gruptan etkilenir, yani karmaşık bir genetik kodlamaya sahiptir. Ayrıca anneden yavrulara geçer. (Rothenbuhler 1964, Lapidge v.d. 2002, Unger ve Guzman-Novoa 2010).

Hijyenik davranış (Rothenbuhler 1964, Spivak v.d. 1998), ilk olarak Amerikan yavru çürüklüğü hastalığında tanımlanmıştır. *Varroa* ile enfekte olmuş pupanın tespiti durumunda da infekte birey uzaklaştırılır, böylece akarın üremesi azaltılır veya önlenir (Boecking ve Drescher 1991, Harbo ve Harris 2005). Bu son durum genellikle *Varroa* duyarlı hijyen (*Varroa* sensitive hygiene-VSH) veya baskılanmış akar üremesi (Suppressed mite reproduction-SMR) olarak bilinen kalıtsal bir özelliktir (Panziera v.d. 2017). Bu davranışa nekroforik davranış da denir. İşçi arılar bir koloni içinde hijyenik davranış sergilediklerinde, bu davranış arı kuluçka hastalıklarına karşı koloni düzeyinde direnç sağlar. Ancak kapalı yavru gözlerindeki anormallikleri

saptamak zordur, bu da infekte bireyin uzaklaştırılmasını engelleyebilir (Wilson-Rich v.d. 2009).

Hijyenik davranış, dondurarak öldürülmüş kuluçka yöntemi kullanılarak kolayca değerlendirilebilir; burada petekteki bir kuluçka bölümü sıvı nitrojen kullanılarak dondurulur ve bu ölü pupaların 24 saat sonra uzaklaştırılması belirlenir (Spivak v.d. 1998, Wilson-Rich v.d. 2009). Bu davranışın üç aşaması vardır: algılama, kuluçka kapağını açma ve uzaklaştırma (Arathi v.d. 2000). Kötü hijyenik davranışlı kolonilerde arılar genellikle hastalıklı pupa hücrelerini tekrar kapatır, bu nedenle tam etki için bu üç aşamanın da yapılması gereklidir. Açma ve uzaklaştırma, parazitlerin ve patojenlerin varlığında büyük ölçüde artarken, sürekli denetleme davranışı olarak da gerçekleşir (Arathi v.d. 2006).

*Varroa* Duyarlı Hijyen (VSH), 1990'ların ortalarından beri arı ıslah programının parçası olarak seçilen bir özelliktir (Harbo ve Harris 2005, Danko v.d. 2016). Bu seçim programının odak noktası, özellikle uzaklaştırılan akar istilasına uğramış pupaların oranını belirlemektir. Bu yöntem, kuluçka dondurma yönteminden çok daha zaman alır, ancak yüksek VSH ekspresyonuna sahip kolonilerde, bir sezon boyunca popülasyondaki akar oranının oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bu özelliğin diğer patojenlere karşı da etkili olduğu düşünülmektedir (Harbo ve Harris 2001, Ward v.d. 2008).

Hijyenik davranışın diğer bir yönü, hasta veya parazit ile enfeste yetişkin bal arılarının uzaklaştırılmasıdır (Simone-Finstrom 2017). Hasta bireylerin kendilerinin koloniden uzaklaştıkları veya koloniye geri dönemedikleri bilinmektedir (Rueppell v.d. 2010). Ayrıca infeksiyon semptomları gösteren erişkin arılar da aktif olarak uzaklaştırılır (Baracchi, v.d. 2012). Sağlıklı arılar, infekte bireylerdeki kütikular hidrokarbon değişikliklerini veya parazit ile enfeste bireyler tarafından üretilen diğer kimyasal işaretleri belirleyebilme yeteneğine sahiptir. Bu değişiklikler infekte bireylerin uzaklaştırılması için sağlıklı arıları uyarıcı etki gösterir (Salvy v.d. 2001, Richard, v.d. 2008, Swanson v.d. 2009, Schoning v.d. 2012, Mondet v.d. 2016).

Bazen bu davranış, hijyenik kabiliyeti az olan patojen taşıyan bireye temas sonucu koloniye etkenin bulaşmasına sebep olabilir (Evans v.d. 2010). Ancak, infekte yavru ve bireyleri uzaklaştıran arılar genellikle 15-18 günlük olduğu için yavru beslemesi yapan arılardan daha yaşlı olmaları nedeniyle yavrulara bulaşma riskini azaltır (Arathi v.d. 2000).

### 7. Yuva Savunmacılığı:

Yetişkin arılar, yırtıcılara ve yağmacılara karşı tepki verirler, yuvayı topluca ve alt türe bağlı olarak az ya da çok saldırgan bir şekilde savunurlar. Bu savunmacı davranış, öncelikle genetikdir, aynı zamanda sosyal olarak feromonlar tarafından modüle edilir ve ekolojik koşullara yanıt olarak ortaya çıkar (Alaux ve Robinson 2007, Nouvian v.d. 2016). Bazı araştırmalar, yüksek saldırganlığın *V. destructor* tarafından düşük enfestasyon, düşük saldırganlığın ise artan pestisit duyarlılığı ile bağlantılı olabileceğini ileri sürmektedir (Martin ve Medina 2004, Rittschof v.d. 2015). Sonuç olarak, yüksek saldırganlık gösteren kolonilerde, akarların yayılması erişkinlerdeki bakım veya hijyenik davranışlardaki varyasyona göre düzenlenerek akar üremesini azaltır. (Arechavaleta-Velasco ve Guzman-Novoa 2001). Ayrıca, daha agresif koloniler, daha yüksek oranlarda yiyecek arama eğiliminde oldukları için daha iyi gıda kaynaklarına sahip olabilirler (Negri v.d. 2019).

### 8. Simbiyotik Bakteri

Her canlıda olduğu gibi bal arılarının da vücut ve sistemlerinin bir mikroflorası vardır (Gilliam 1997, Olofsson ve Vásquez 2008). Bu bakteriler arı sağlığı üzerinde olumlu ya da olumsuz rol oynayabilir ve sağlıklı beslenmede de önemlidir (Evans v.d. 2010). Arılardaki bakteriyel mikroflora, kireç hastalığı (Reynaldi v.d. 2004) ve Amerikan yavru çürüklüğü (Evans, v.d. 2005. Evans v.d. 2006) etkenlerinin gelişmesini inhibe eder. Yararlı mikroorganizmaların üremesi desteklenerek patojenlerin gelişmesi engellenir (Evans v.d. 2006).

Bal arıları hem bireysel hem de koloni düzeyinde bağışıklık yeteneğine sahiptir. Arıcılar tarafından patojenleri ve parazitleri kontrol etmek için antibiyotik ve pestisid uygulamaları sık sık yapılır. Bu durum kovan ürünleri ve kovan ekipmanlarında kalıntı problemine, patojen ve parazitlerde ise direnç gelişimine neden olur.

Bal arıları, bireysel bağışıklık olarak da bilinen doğuştan gelen bir bağışıklık sistemine sahiptir. Bu sistem, çok çeşitli bulaşıcı ve parazitik mikroorganizmalara karşı savunmada rol oynayan fiziksel bariyerler ile hücresel ve hümorale bağışıklıktır. Arıları etkileyen ve bağışıklık sistemini harekete geçiren çeşitli patojenlerin yanı sıra akarisitler, fungusitler, herbisitler ve pestisitler gibi ksenobiyotikler de arı sağlığı ve bağışıklık sistemi üzerinde etkilidir. Savunma mekanizmaları sinyal

yollarını, patojen tanıma reseptörlerini ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi efektörlerini içerir (Larsen v.d. 2019).

Bal arısı yuvalarının kalabalık olması, yiyecek depolarının varlığı ile birlikte, kovanları farklı patojenler için çekici kılar. Bununla birlikte, bu koşullar aynı zamanda, koloni içinde sosyal ateş, tımarlama davranışı, hijyenik davranış ve propolisin toplanması ve kullanılması gibi farklı mekanizmalar aracılığıyla işbirliği davranışı olan sosyal bağışıklığı da teşvik eder. Sosyal bağışıklık, arıların bireysel bağışıklık sistemi üzerindeki baskıyı büyük ölçüde azaltır (Larsen v.d. 2019). Koloni bireyleri arasındaki koordineli davranışlar, koloni düzeyindeki sosyal bağışıklığın şekillenmesinde rol oynarken, bireysel bağışıklığın tepkisinin de artmasını sağlar. Bir bal arısı kolonisindeki yüzlerce veya binlerce birey etkileşime girdiğinde, koloni düzeyindeki sosyal bağışıklık tepkileri, çok hücreli bir organizma içindeki karmaşık humoral ve hücresel bağışıklık sistemlerine benzer özelliklere sahiptir (Cremer v.d. 2009). Kolonideki bir bireyin sağlık durumuna yanıt verme yeteneği, bir süperorganizma olarak genel bağışıklık yanıtını artırabilir.

Ayrıca modern arı kovanları, bireysel ve sosyal bağışıklık üzerinde doğrudan etkileri olan antimikrobiyal katmanı oluşturan propolis yapımına izin verecek şekilde modifiye edilmiştir. Propolis koloni düzeyinde savunmada ve sosyal bağışıklıkta önemli bir rol oynar. Aynı zamanda patojen ve pestisidlerin balmumunda birikmesini engellemek için eski peteklerin yıllık olarak değiştirilmesi uygun olacaktır.

Bal arıları, patojenler, parazitler, insektisidler ve yanlış bakım-besleme kaynaklı tüm stres etkenlerine rağmen, dirençlidir ve tehditlerle sürekli mücadele etmek için sayısız özelliğe sahiptir. Arıları kendi başlarına daha güçlü hale getirmek için bu doğal savunmaları desteklenmeli, sadece tek bir direnç özelliğine odaklanılmayıp, aynı zamanda üretkenlik ve direnç özellikleri (örneğin hijyenik davranış, tımarlama, propolis toplama) gibi birçok özelliği barındıran ırkların seçimi ön planda olmalıdır. Bu çeşitli özellikler için kolonilerin hızlı ve etkili değerlendirme yöntemleri geliştirilmelidir (Evans v.d. 2010).

### KAYNAKLAR

Agaisse, H., Perrimon, N. 2004. The roles of JAK/STAT signaling in *Drosophila* immune

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- responses. *Immunol Rev.* 198:72-82., doi:10.1111/j.0105-2896.2004.0133.x.
- Alaux, C., Robinson, GE. 2007. Alarm pheromone induces immediate-early gene expression and slow behavioral response in honey bees. *J Chem Ecol.* 33(7):1346-1350., doi:10.1007/s10886-007-9301-6.
- Anderson, KE., Sheehan, TH., Mott, BM., Maes, P., Snyder, L., Schwan, MR., Walton, A., Jones, BM., Corby-Harris, V. 2013. Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS One.* 8(12):e83125., doi:10.1371/journal.pone.0083125.
- Annoscia, D., Brown, SP., Di Prisco, G., et al. 2019. Haemolymph removal by *Varroa* mite destabilizes the dynamical interaction between immune effectors and virus in bees, as predicted by Volterra's model. *Proceedings. Biological Sciences* 286(1901):20190331., doi: 10.1098/rspb.2019.0331.
- Antunez, K., Harriet, J., Gende, L., Maggi, M., Eguaras, M., Zunino, P. 2008. Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood. *Vet Microbiol.* 131 (3-4): 324–331., doi: 10.1016/j.vetmic.2008.04.011.
- Arathi, HS., Burns, I., Spivak, M. 2000. Ethology of hygienic behaviour in the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae): Behavioural repertoire of hygienic bees. *Ethology.* 106(4): 365-379., doi.: 10.1046/j.1439-0310.2000.00556.x.
- Arathi, HS., Ho, G., Spivak, M. 2006. Inefficient task partitioning among nonhygienic honeybees, *Apis mellifera* L., and implications for disease transmission. *Anim Behav.* 72, 431–438., doi: 10.1016/j.anbehav.2006.01.018.
- Arechavaleta-Velasco, M., Guzman-Novoa, E. 2001. Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie.* 32: 157–174., doi: 10.1051/apido:2001121.
- Aumeier, P., Rosenkranz, P., Goncalves, L.S., 2000. A comparison of the hygienic response of Africanized and European (*Apis mellifera carnica*) honey bees to *Varroa*-infested brood in tropical Brazil. *Gen Mol Biol.* 23 (4): 787–791., doi: 10.1590/S1415-47572000000400013.
- Bailey, L. 1999. The quest for a super-bee. *Bee World.* 80: 55–60. doi:10.1080/0005772X.1999.11099427.
- Baracchi, D., Fadda, A., Turillazzi, S. 2012. Evidence for antiseptic behaviour towards sick adult bees in honey bee colonies. *J Insect Physiol.* 58(12):1589-1596., doi:10.1016/j.jinsphys.2012.09.014.
- Baracchi, D., Cini, A. 2014. A socio-spatial combined approach confirms a highly compartmentalised structure in honeybees. *Ethology.* 120: 1167–1176., doi: 10.1111/eth.12290.
- Barnett JR. 2004. Langenheim, J.H. Plant resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. *Ann Bot.* 93(6):784-785., doi:10.1093/aob/mch103.
- Barribeau, SM., Sadd, BM., du Plessis, L., Brown, MJ., Buechel, SD., Cappelle, K., Carolan, JC., Christiaens, O., Colgan, TJ., Erler, S., et al. 2015. A depauperate immune repertoire precedes evolution of sociality in bees. *Genome Biol.*, 16: 83–103., doi: 10.1186/s13059-015-0628-y.
- Blum, MS., Novak, AF., Taber, S. 3rd. 1959. 10-Hydroxy-delta 2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science* 130(3373):452-453., doi:10.1126/science.130.3373.452.
- Boecking, O., Drescher, W. 1991. Response of *Apis mellifera* L. colonies infested with *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie.* 22 (3): 237–241., doi: 10.1051/apido:19910308.
- Boecking, O., Spivak, M., 1999. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie.* 30: 141–158., doi: 10.1051/apido:19990205.
- Boncristiani, H., Underwood, R., Schwarz, R., Evans, JD., Pettis, J., vanEngelsdorp, D. 2012. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. *J Insect Physiol.* 58(5): 613–620., doi:10.1016/j.jinsphys.2011.12.011.
- Borba, RS. 2015. Constitutive and therapeutic benefits of plant resins and a propolis



- envelope to honey bee, *Apis mellifera* L., immunity and health. (3734812 Ph.D.), University of Minnesota, Ann Arbor.
- Brodschneider, R., Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*. 41 (3):278-294., doi:10.1051/apido/2010012.
- Brown, GD., Gordon, S. 2003. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. *Immunity* 19(3):311-315., doi:10.1016/s1074-7613(03)00233-4.
- Burritt, NL., Foss, NJ., Neeno-Eckwall, EC., Church, JO., Hilger, AM., Hildebrand, JA., Warshauer, DM., Perna, NT., Burritt, JB. 2016. Sepsis and Hemocyte Loss in Honey Bees (*Apis mellifera*) Infected with *Serratia marcescens* Strain Sicaria. *PLoS one*, 11(12): e0167752., doi: 10.1371/journal.pone.0167752.
- Brutscher, LM., Daughenbaugh, KF., Flenniken, ML. 2015. Antiviral defense mechanisms in honey bees. *Curr Opin Insect Sci*.10:71–82., doi: 10.1016/j.cois.2015.04.016.
- Chan, QWT., Melathopoulos, AP., Pernal, SF., Foster, L.J. 2009. The innate and systemic response in honey bees to a bacterial pathogen, *Paenibacillus larvae*. *BMC Genom*. 10: 387., doi:10.1186/1471-2164-10-387.
- Christe, P., Oppliger, A., Bancalà, F., Castella, G. and Chapuisat, M. 2003. Evidence for collective medication in ants. *Ecol Lett*. 6: 19-22., doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00395.x.
- Cornman, RS., Chen, YP., Schatz, MC., Street, C., Zhao, Y., Desany, B., Egholm, M., Hutchison, S., Pettis, JS., Lipkin, WI., Evans, JD. 2009. Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees. *PLoS pathog*. 5(6): e1000466., doi:10.1371/journal.ppat.1000466.
- Corby-Harris, V., Maes, P., Anderson, KE. 2014. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *PLoS One*. 9(4):e95056., doi:10.1371/journal.pone.0095056.
- Crailsheim, K., Riessberger-Gallé, U. 2001. Honey bee age-dependent resistance against American foulbrood. *Apidologie* 32: 91-104., doi:10.1051/apido:2001114.
- Cremer, S., Armitage, SA., Schmid-Hempel, P. 2007. Social immunity. *Curr Biol*. 2007;17(16): R693-R702., doi:10.1016/j.cub.2007.06.008.
- Cremer, S., Sixt, M. 2009. Analogies in the evolution of individual and social immunity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 364(1513):129-142., doi:10.1098/rstb.2008.0166.
- Danka, RG., Villa, J.D., 1998. Evidence of autogrooming as a mechanism of honey bee resistance to tracheal mite infestation. *J Apic Res*. 37: 39–46., doi: 10.1080/00218839.1998.11100953.
- Danka, RG., Villa, D., 2000. Inheritance of resistance to *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in first-generation crosses of honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *J Econ Entomol*. 93: 1602–1605., doi: 10.1603/0022-0493-93.6.1602.
- Danka, RG., Harris, JW., Dodds, GE. 2016. Selection of VSH-derived “Pol-line” honey bees and evaluation of their *Varroa*-resistance characteristics. *Apidologie*. 47, 483–490., doi: 10.1007/s13592-015-0413-7.
- de Graaf, D., Dauwe, R., Walravens, K., Jacobs, F. 2002. Flow cytometric analysis of lectin-stained haemocytes of the honeybee (*Apis mellifera*). *Apidologie*. 33: 571-579., doi: 10.1051/apido:2002041.
- DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y. 2015. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Curr Opin Insect Sci*. 10:170–176., doi: 10.1016/j.cois.2015.05.007.
- de Roode, JC., Lefèvre, T. 2012. Behavioral Immunity in Insects. *Insects*. 3(3):789-820., doi:10.3390/insects3030789.
- Dolezal, AG., Toth, AL. 2018. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. *Curr Opin Insect Sci*. 26:114-119., doi: 10.1016/j.cois.2018.02.006.
- Drescher, N., Wallace, HM., Katouli, M., Massaro, CF., Leonhardt, SD. 2014. Diversity matters: how bees benefit from different resin sources. *Oecologia*. 76(4):943-953., doi:10.1007/s00442-014-3070-z.
- Drescher, N., Klein, AM., Neumann, P., Yañez, O., Leonhardt, SD. 2017. Inside Honeybee Hives: Impact of Natural Propolis on the Ectoparasitic Mite *Varroa destructor* and

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Viruses. *Insects*. 8(1):15., doi:10.3390/insects8010015
- Dubovskiy, I., Kryukova, N., Glupov, V., Ratcliffe, N. 2016. Encapsulation and nodulation in insects. *Invert Surviv J*. 13(1): 229-246., doi:10.25431/1824-307X/isj.v13i1.229-246.
- Eckholm, B.J., Anderson, K.E., Weiss, M., DeGrandi-Hoffman, G. 2011. Intracolony genetic diversity in honeybee (*Apis mellifera*) colonies increases pollen foraging efficiency. *Behav Ecol Sociobiol*. 65: 1037–1044., doi: 10.1007/s00265-010-1108-8.
- Ekengren, S., Hultmark, D. 2001. A family of Turandot-related genes in the humoral stress response of *Drosophila*. *Biochem Biophys Res Commun*. 284(4):998-1003., doi:10.1006/bbrc.2001.5067.
- Ekengren, S., Tryselius, Y., Dushay, M. S., Liu, G., Steiner, H., Hultmark, D. 2001. A humoral stress response in *Drosophila*. *Curr Biol*. 11(18):1479., doi:10.1016/s0960-9822(01)00452-3.
- Eleftherianos, I., Felföldi, G., French-Constant, R.H., Reynolds, S.E. 2009. Induced nitric oxide synthesis in the gut of *Manduca sexta* protects against oral infection by the bacterial pathogen *Photobacterium luminescens*. *Insect Mol Biol*. 18(4):507-516., doi:10.1111/j.1365-2583.2009.00899.x.
- Ellis, J.D., Hepburn, R., Delaplane, K.S., Elzen, P.J. 2003. A scientific note on small hive beetle (*Aethina tumida*) oviposition and behaviour during European (*Apis mellifera*) honey bee clustering and absconding events. *J Apic. Res*. 42: 47–48., doi:10.1080/00218839.2003.11101089.
- Esch, H. 1960. Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifica*. *Z. Vergl. Physiol*. 43: 305–335., doi: 10.1007/BF00298066.
- Evans, J.D., Armstrong, T.N., 2005. Inhibition of the American foulbrood bacterium, *Paenibacillus larvae*, by bacteria isolated from honey bees. *J Apic. Res*. 44: 168–171., doi: 10.1080/00218839.2005.11101173.
- Evans, J.D. 2006. Beepath: an ordered quantitative-PCR array for exploring honey bee immunity and disease. *J Invertebr Pathol*. 93(2): 135–139., doi:10.1016/j.jip.2006.04.004
- Evans, J.D., Armstrong, T.N. 2006. Antagonistic interactions between honey bee bacterial symbionts and implications for disease. *BMC Ecology* 6 (4): 1-9., doi:10.1186/1472-6785-6-4.
- Evans, J.D., Aronstein, K., Chen, Y.P., Hetru, C., Imler, J.L., Jiang, H., Kanost, M., Thompson, G.J., Zou, Z., Hultmark, D. 2006. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Mol. Biol.* 15 (5): 645–656., doi: 10.1111/j.1365-2583.2006.00682.x.
- Evans, J.D., Spivak, M. 2010. Socialized medicine: Individual and communal disease barriers in honey bees. *J Invertebr Pathol*. 103 (Supplement): S62–S72., doi: 10.1016/j.jip.2009.06.019.
- Evison, S.E., Fazio, G., Chappell, P., Foley, K., Jensen, A.B., Hughes, W.O. 2013. Host-parasite genotypic interactions in the honey bee: the dynamics of diversity. *Ecol Evol*. 3(7):2214-2222., doi:10.1002/ece3.599.
- Gábor, E., Cinege, G., Csordás, G., Török, T., Folkl-Medzihradzky, K., Darula, Z., Ando, I., Kurucz, E. 2017. Hemolectin expression reveals functional heterogeneity in honey bee (*Apis mellifera*) hemocytes. *Dev Comp Immunol*. 76:403-411., doi: 10.1016/j.dci.2017.07.013.
- Galbraith, D.A., Yang, X., Niño, E.L., Yi S, Grozinger, C. 2015. Parallel epigenomic and transcriptomic responses to viral infection in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS Pathog*. 11(3): e1004713., doi:10.1371/journal.ppat.1004713.
- Genç, M., Genç, F. 2019. Stress Factors on Honey Bees (*Apis mellifera* L.) and The Components of Their Defense System Against Diseases, Parasites, and Pests. *Mellifera* 19 (1): 7-20.
- Ghisalberti, E.L. 1979. Propolis: A Review. *Bee World*. 60(2): 59-84., doi:10.1080/0005772X.1979.11097738.
- Gillespie, J.P., Kanost, M.R., Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annu Rev Entomol*. 42:611-643., doi:10.1146/annurev.ento.42.1.611.
- Gilliam, M. 1997. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey

- bees. *FEMS Microbiol Lett.* 155:1–10., doi: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb12678.x.
- González-Santoyo, I., Córdoba-Aguilar, A. 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomol Exp et Appl.* 142: 1-16., doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.
- Graveley, BR., Kaur, A., Gunning, D., Zipursky, SL., Rowen, L., Clemens, JC. 2004. The organization and evolution of the dipteran and hymenopteran Down syndrome cell adhesion molecule (Dscam) genes. *RNA (New York, N.Y.)* 10(10): 1499–1506., doi:10.1261/rna.7105504.
- Gupta, L., Molina-Cruz, A., Kumar, S., Rodrigues, J., Dixit, R., Zamora, R. E., Barillas-Mury, C. 2009. The STAT pathway mediates late-phase immunity against *Plasmodium* in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Cell Host Microbe.* 5(5):498-507., doi:10.1016/j.chom.2009.04.003.
- Guzman-Novoa, E. 2011. Integration biotechnologies. Genetic basis of disease resistance in the honey bee (*Apis mellifera*). In: Murray M-Y editor. *Comprehensive biotechnology, Second ed. Elsevier* (4):763-767.
- Haine, ER., Moret, Y., Siva-Jothy MT., Rolff, J. 2008. Antimicrobial defense and persistent infection in insects. *Science.*;322(5905):1257-1259., doi:10.1126/science.1165265.
- Hamilton, C., Lejeune, BT., Rosengaus, RB. 2011. Trophallaxis and prophylaxis: social immunity in the carpenter ant *Camponotus pennsylvanicus*. *Biol Lett.* 7(1):89-92., doi:10.1098/rsbl.2010.0466.
- Harbo, JR., Harris, JW. 2001. Resistance to *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) when mite-resistant queen honey bees (*Hymenoptera: Apidae*) were free-mated with unselected drones. *J Econ Entomol.* ,94 (6): 1319–1323.
- Harbo, JR., Harris, JW. 2005. Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *J. Apic. Res.*, 44 (1): 21–23., doi: 10.1080/00218839.2005.11101141.
- Haydak, M., 1945. The language of the honeybee. *American Bee Journal.* 85: 316–317.
- Hernández López, J., Schuehly, W., Crailsheim, K., Riessberger-Gallé, U. 2014. Trans-generational immune priming in honeybees. *Proceedings. Biological sciences,* 281(1785):20140454., doi:10.1098/rspb.2014.0454.
- Hoffmann, JA. 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature* 426(6962):33-38., doi:10.1038/nature02021.
- Hultmark, D. 2003. *Drosophila* immunity: paths and patterns. *Curr Opin Immunol.* 15(1):12–19., doi:10.1016/s0952-7915(02)00005-5.
- Jander, R., 1976. Grooming and pollen manipulation in bees (*Apoidea*): the nature and evolution of movements involving the foreleg. *Physiological Entomology.* 1: 179–194., doi: 10.1111/j.1365-3032.1976.tb00960.x.
- Johnson, BR. 2010. Division of labor in honeybees: form, function, and proximate mechanisms. *Behav Ecol Sociobiol.* 64: 305–316., doi: 10.1007/s00265-009-0874-7.
- Jones, JC., Myerscough, MR., Graham, S., Oldroyd, B. P.2004. Honey bee nest thermoregulation: diversity promotes stability. *Science.* 305(5682):402-404., doi:10.1126/science.1096340.
- Kingsolver, MB., Huang, Z., Hardy, RW. 2013. Insect antiviral innate immunity: pathways, effectors, and connections. *J Mol Biol.* 425(24):4921-4936., doi:10.1016/j.jmb.2013.10.006.
- Koch, H., Schmid-Hempel, P. 2011. Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proc Natl Acad Sci U S A.*108(48):19288-19292., doi:10.1073/pnas.1110474108.
- Koch, H., Brown, MJF., Stevenson, PC. 2017. The role of disease in bee foraging ecology. *Curr Opin Insect Sci.* 21: 60-67., doi:10.1016/j.cois.2017.05.008
- Koleoglu, G., Goodwin, P.H., Reyes-Quintana, M., Hamudizzaman, MM., Guzman-Novoa, E. 2018. *Varroa destructor* parasitism reduces hemocyte concentrations and prophenol oxidase gene expression in bees from two populations. *Parasitol Res* 117: 1175–1183., doi:10.1007/s00436-018-5796-8.
- Konrad, M., Vyleta, ML., Theis, FJ., Stock, M., Tragust, S., Klatt, M., Drescher, V., Marr, C.,

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Ugelvig, LV., Cremer, S. 2012. Social transfer of pathogenic fungus promotes active immunisation in ant colonies. *PLoS Biol.* 10(4): e1001300., doi:10.1371/journal.pbio.1001300.
- Korayem, AM., Fabbri, M., Takahashi, K., Scherfer, C., Lindgren, M., Schmidt, O., Ueda, R., Dushay, MS., Theopold, U. 2004. A *Drosophila* salivary gland mucin is also expressed in immune tissues: evidence for a function in coagulation and the entrapment of bacteria. *Insect Biochem Mol Biol.* 34(12):1297-1304., doi 10.1016/j.ibmb.2004.09.001.
- Korayem, AM., Khodairy, MM., Abdel-Aal, AAA., El-Sonbaty, AA. 2012. The protective strategy of antioxidant enzymes against hydrogen peroxide in honey bee, *Apis mellifera* during two different seasons. *J. Biol. Earth Sci.* 2: B93–B109.
- Kurata, S. 2014. Peptidoglycan recognition proteins in *Drosophila* immunity. *Dev Comp Immunol.* 42(1):36-41., doi:10.1016/j.dci.2013.06.006.
- Lamattina, L., Eguaras, M. 2019. Towards Precision Nutrition: A Novel Concept Linking Phytochemicals, Immune Response and Honey Bee Health *Insects*, 10 (11): 401., doi: 10.3390/insects10110401.
- Lapidge, KL., Oldroyd, B.P., Spivak, M. 2002. Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften.* 89: 565–568., doi:10.1007/s00114-002-0371-6.
- Larsen, A., Reynaldi, JF., Guzmán-Novoa, E. 2019. Fundamentals of the honey bee (*Apis mellifera*) immune system. Review. *Rev Mex Cienc Pecu* 10(3):705-728., doi: 10.22319/rmcp.v10i3.4785.
- Laughton, AM., Boots, M., Siva-Jothy, MT. 2011. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. *J Insect Physiol.* 57(7):1023-1032., doi: 10.1016/j.jinsphys.2011.04.020.
- Lee, GM., McGee, PA., Oldroyd, BP. 2013. Variable virulence among isolates of *Ascospaera apis*: testing the parasite-pathogen hypothesis for the evolution of polyandry in social insects. *Naturwissenschaften.* 100(3):229-234., doi:10.1007/s00114-013-1016-7.
- Lemaitre, B., Hoffmann, J. 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu Rev Immunol.* 25:697-743., doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615.
- Li, G., Zhao, H., Liu, Z., Wang, H., Xu, B., Guo, X. 2018. The Wisdom of Honeybee Defenses Against Environmental Stresses. *Front Microbiol.* 9 (722): 1-15., doi: 10.3389/fmicb.2018.00722.
- Lihoreau, M., Buhl, J., Charleston, MA., Sword, GA., Raubenheimer, D., Simpson, SJ. 2015. Nutritional ecology beyond the individual: A conceptual framework for integrating nutrition and social interactions. *Ecol. Lett.* 18 (3): 273–286., doi:10.1111/ele.12406.
- Lindenfelser, LA. 1968. In vivo activity of propolis against *Bacillus larvae*. *J Invertebr Pathol.* 12 (1):129–131., doi: 10.1016/0022-2011(68)90252-8.
- Lourenco, AP., Karina, R., Guidugli-Lazzarini, FCP., Freitas, M., Bitondi, MG., Zilá, LP. et al. 2013. Bacterial infection activates the immune system response and dysregulates microRNA expression in honey bees. *Ins Bioch Molec Biol* 43(5):474-82., doi: 10.1016/j.ibmb.2013.03.001.
- Marmaras, VJ., Lampropoulou, M. 2009. Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cell Signal.* 21(2):186-195., doi:10.1016/j.cellsig.2008.08.014.
- Martin, S., Medina, LM. 2004. Africanized honeybees have unique tolerance to *Varroa* mites. *Trends Parasitol.* 20: 112–114., doi: 10.1016/j.pt.2004.01.001.
- Mattila, HR., Seeley, TD. 2007. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness. *Science.* 317(5836):362-364., doi:10.1126/science.1143046.
- Mattila, HR., Rios, D., Walker-Sperlin, VE., Roeselers, G., Newton, ILG. 2012. Characterization of the Active Microbiotas Associated with Honey Bees Reveals Healthier and Broader Communities when Colonies are Genetically Diverse. *PLoS ONE*

- 7(3): e32962., doi: 10.1371/journal.pone.0032962
- Mirabito, D., Rosengaus, RB. 2016. A double-edged sword? The cost of proctodeal trophallaxis in termites. *Insect Soc.* 63: 135–141., doi: 10.1007/s00040-015-0448-9.
- Milium, V. 1955. Grooming dance and associated activities of the honeybee colony. *Illionois Academy of Science Transcation.* 40: 97–104.
- Mondet, F., Kim, S., de Miranda, J., Beslay, D., Conte, YL., Mercer, AR. 2016. Specific Cues Associated With Honey Bee Social Defence against *Varroa destructor* Infested Brood. *Sci Rep.* 6: 25444. doi: 10.1038/srep25444.
- Moreau, SJM. 2013. “It stings a bit but it cleans well.” Venoms of *hymenoptera* and their antimicrobial potential. *J Insect Physiol.* 59(2): 186–204., doi: 10.1016/j.jinsphys.2012.10.005.
- Murphy, K., Travers, P., Walport, M. 2017. Janeway’s Immunobiology. 9th ed. *London and New York: Garland Science Ed.* 942 pg.
- Nappi, AJ., Christensen, BM. 2005. Melanogenesis and associated cytotoxic reactions: applications to insect innate immunity. *Insect Biochem Mol Biol.* 35(5):443-459., doi:10.1016/j.ibmb.2005.01.014.
- Negri, P., Villalobos, E., Szawarski, N., Damiani, N., Gende, L., Garrido, M., Maggi, M., Quintana, S., Schmid, MR., Brockmann, A., Pirk, CWW., Stanley, DW., Tautz, J. 2008. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. *J Insect Physiol.* 54 (2): 439–444., doi: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.
- Negri, P., Maggi, M., Massazza, D., Correa-Aragunde, N., Eguaras, MJ., Lamattina, L. 2012. Nitric oxide stimulates melanin production during immune response in *Apis mellifera*. *Biocell* 36:68., doi: 10.1007/s13592-013-0207-8ff. fffhal-01201327f.
- Negri, P., Maggi, M., Correa-Aragunde, N., Brasesco, C., Eguaras, M., Lamattina, L. 2013. Nitric oxide participates at the first steps of *Apis mellifera* cellular immune activation in response to non-self recognition. *Apidologie.* 44 (5): 575-585., doi:10.1007/s13592-013-0207-8.Negri, P., Quintana, S., Maggi, M., Szawarski, N., Lamattina, L., Eguaras, M. 2014. *Apis mellifera* hemocytes generate increased amounts of nitric oxide in response to wounding/encapsulation. *Apidologie.* 45: 610-617., doi:10.1007/s13592-014-0279-0.
- Negri, P., Maggi, M., Ramirez, L., Szawarski A., Feudis, LD., Lamattina, L., Eguaras M. 2016. Cellular immunity in *Apis mellifera*: studying hemocytes brings light about bees skills to confront threats. *Apidologie* 47: 379–388., doi: 10.1007/s13592-015-0418-2.
- Negri, P., Ramirez, L., Quintana, S., Szawarski, N., Maggi, M., Le Conte, Y., Lamattina, L., Eguaras, M. 2017. Dietary Supplementation of Honey Bee Larvae with Arginine and Abscisic Acid Enhances Nitric Oxide and Granulocyte Immune Responses after Trauma. *Insects* 8(3): 85. doi: 10.3390/insects8030085.
- Negri, P., Villalobos, E., Szawarski, N., Damiani, N., Gende, L., Garrido, M., Maggi, M., Quintana, S., Lamattina, L., Eguaras, M. 2019. Towards Precision Nutrition: A Novel Concept Linking Phytochemicals, Immune Response and Honey Bee Health. *Insects* 10(11): 401. doi: 10.3390/insects10110401.
- Nouvian, M., Reinhard, J., & Giurfa, M. (2016). The defensive response of the honeybee *Apis mellifera*. *J Exp Biol.* 219(Pt 22):3505-3517., doi:10.1242/jeb.143016.
- Olofsson, TC., Vásquez, A. 2008. Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Curr Microbiol.* 57(4):356-363., doi:10.1007/s00284-008-9202-0.
- Otti, O., Tragust, S., Feldhaar, H. 2014. Unifying external and internal immune defences. *Trends Ecol Evol.* 29(11):625-634., doi:10.1016/j.tree.2014.09.002.
- Panziera, D., van Langevelde, F., Blacquièrre, T. 2017. *Varroa* sensitive hygiene contributes to naturally selected varroa resistance in honey bees. *J. Apic. Res.* 56 (5): 635–642., doi: 10.1080/00218839.2017.1351860.
- Parker, JS., Mizuguchi, K., Gay, NJ. 2001. A family of proteins related to Spätzle, the toll receptor ligand, are encoded in the *Drosophila*

- genome. *Proteins* 45(1): 71–80., doi:10.1002/prot.1125.
- Pettis, JS., Pankiw, T. 1998. Grooming behavior by *Apis mellifera* L. in the presence of *Acarapis woodi* (Rennie) (Acari:Tarsonemidae). *Apidologie*. 29: 241–253., doi: fthal00891491f.
- Popova, M., Reyes, M., Le Conte, Y., Bankova, V. 2014. Propolis chemical composition and honeybee resistance against *Varroa destructor*. *Nat Prod Res*. 28(11):788-794., doi: 10.1080/14786419.2014.881366.
- Powell, JE., Martinson, VG., Urban-Mead, K., Moran, NA. 2014. Routes of Acquisition of the Gut Microbiota of the Honey Bee *Apis mellifera*. *Appl Environ Microbiol*. 80(23):7378-7387., doi:10.1128/AEM.01861-14.
- Reynaldi, FJ., De Giusti, MR., Alippi, AM. 2004. Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Rev Argent Microbiol*. 36(1):52-55.
- Richard, F., Aubert, A. & Grozinger, C. 2008. Modulation of social interactions by immune stimulation in honey bee, *Apis mellifera*, workers. *BMC Biol*. 6: 50., doi: 10.1186/1741-7007-6-50.
- Richard, F., Holt, HL., Grozinger, CM. 2012. Effects of immunostimulation on social behavior, chemical communication and genome-wide gene expression in honey bee workers (*Apis mellifera*). *BMC Genomics* 13: 558., doi: 10.1186/1471-2164-13-558.
- Rittschof, C., Coombs, C., Frazier, M., Grozinger, MC., Robinson, GE. 2015. Early-life experience affects honey bee aggression and resilience to immune challenge. *Sci Rep*. 5: 15572., doi: 10.1038/srep15572.
- Rivero, A. 2006. Nitric oxide: an antiparasitic molecule of invertebrates. *Trends Parasitol*. 22(5): 219–225., doi: 10.1016/j.pt.2006.02.014.
- Rosenkranz, P., Fries, I., Boecking, O., Sturmer, M., 1997. Damaged *Varroa* mites in the debris of honey bee (*Apis mellifera* L) colonies with and without hatching brood. *Apidologie*. 28: 427–437., doi: 10.1051/apido:19970609.
- Rothenbuhler, WC. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Anim Behav*. 12(4): 578-583., doi:10.1016/0003-3472(64)90082-X.
- Royet, J., Reichhart, JM., Hoffmann, JA. 2005. Sensing and signaling during infection in *Drosophila*. *Curr Opin Immunol*. 17(1): 1–17., doi: 10.1016/j.coi.2004.12.002.
- Rueppell, O., Hayworth, MK., Ross, N. P. 2010. Altruistic self-removal of health-compromised honey bee workers from their hive. *J Evol Biol*. 23(7):1538-1546., doi:10.1111/j.1420-9101.2010.02022.x.
- Ryabov, EV., Wood, GR., Fannon, JM., Moore, JD., Bull, JC., Chandler, D., Mead, A., Burroughs, N., Evans, DJ. 2014. A virulent strain of deformed wing virus (DWV) of honeybees (*Apis mellifera*) prevails after *Varroa destructor*-mediated, or in vitro, transmission. *PLoS pathogens* 10(6): e1004230., doi: 10.1371/journal.ppat.1004230.
- Salmela, H., Amdam, G. V., Freitak, D. 2015. Transfer of Immunity from Mother to Offspring Is Mediated via Egg-Yolk Protein Vitellogenin. *PLoS pathogens* 11(7): e1005015., doi: 10.1371/journal.ppat.1005015.
- Schmid, MR., Brockmann, A., Pirk, CW., Stanley, DW., Tautz, J. 2008. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. *J Insect Physiol*. 54(2):439-444., doi:10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.
- Salvy, M., Martin, C., Bagnères, AG., Provost, E., Roux, M., Le Conte, Y., Clément, JL. 2001. Modifications of the cuticular hydrocarbon profile of *Apis mellifera* worker bees in the presence of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in brood cells. *Parasitology*. 122(Pt 2):145-159., doi:10.1017/s0031182001007181.
- Schoning, C., Gisder, S., Geiselhardt, S., Kretschmann, I., Bienefeld, K., Hilker, M., Genersch, E. 2012. Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor*-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*. *J Exp Biol*. 215: 264–271. doi: 10.1242/jeb.062562.

- Seeley, TD., Morse, RA. 1976. The nest of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Ins. Soc.* 23: 495–512., doi: 10.1007/BF02223477.
- Seeley, TD., Visscher, PK., 1985. Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecol Entomol.* 10: 81–88., doi: 10.1111/j.1365-2311.1985.tb00537.x.
- Silici, S. 2011. Bal Arısı Biyolojisi ve Yetiştiriciliği. Efil Yayınevi, 240s.
- Simone-Finstrom MD., Evans, JD., Spivak, M. 2009. Resin collection and social immunity in honey bees. *Evolution.* 63(11):3016-3022., doi:10.1111/j.1558-5646.2009.00772.x.
- Simone-Finstrom, MD., Spivak, M. 2010. Propolis and bee health: The natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie.* 41 (3): 295–311., doi: 10.1051/apido/2010016.
- Simone-Finstrom, M., Foo, B., Tarpy, DR., Starks, PT. 2014. Impact of Food Availability, Pathogen Exposure, and Genetic Diversity on Thermoregulation in Honey Bees (*Apis mellifera*). *J Insect Behav.* 27: 527–539., doi: 10.1007/s10905-014-9447-3.
- Simone-Finstrom, MD. 2017. Social Immunity and the Superorganism: Behavioral Defenses Protecting Honey Bee Colonies from Pathogens and Parasites, *Bee World.* 94(1):21-29., doi: 10.1080/0005772X.2017.1307800.
- Spivak, M., Reuter, GS. 1998. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie.* 29 (3): 291–302., doi: 10.1051/apido:19980308.
- Spivak, M., Goblirsch, M., Simone-Finstrom, M. 2019. Social-medication in bees: the line between individual and social regulation. *Curr Opin Insect Sci.* 33:49–55., doi: 10.1016/j.cois.2019.02.009.
- Stabentheiner, A., Kovac, H., Brodschneider, R. 2010. Honeybee colony thermoregulation--regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PLoS One.* 5(1):e8967., doi:10.1371/journal.pone.0008967.
- Starks, PT., Blackie, CA., Seeley, TD. 2000. Fever in honeybee colonies. *Naturwissenschaften.* 87(5):229-231., doi:10.1007/s001140050709.
- Steinmann, N., Corona, M., Neumann, P., Dainat, B. 2015. Overwintering Is Associated with Reduced Expression of Immune Genes and Higher Susceptibility to Virus Infection in Honey Bees. *PLoS one*, 10(6): e0129956., doi: 10.1371/journal.pone.0129956.
- Stokes, BA., Yadavi, S., Shoka, IU., Smith, LC., Eleftherianos, I. 2015. Bacterial and fungal pattern recognition receptors in homologous innate signaling pathways of insects and mammals. *Front Microbiol* 6:19., doi:10.3389/fmicb.2015.00019.
- Strand, MR. 2008. The insect cellular immune response. *Insect Science* 15: 1-14., doi:10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x.
- Stow, A., Briscoe, D., Gillings, M., Holley, M., Smith, S., Leys, R., Silberbauer, T., Turnbull, C., Beattie, A. 2007. Antimicrobial defences increase with sociality in bees. *Biol Lett.* 3(4):422-424. doi:10.1098/rsbl.2007.0178.
- Swanson, J. A., Torto, B., Kells, S. A., Mesce, K. A., Tumlinson, J. H., Spivak, M. 2009. Odorants that induce hygienic behavior in honeybees: identification of volatile compounds in chalkbrood-infected honeybee larvae. *J Chem Ecol.* 35(9):1108-1116., doi:10.1007/s10886-009-9683-8.
- Tarpy, DR. 2003. Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth. *Proc Biol Sci.* 270(1510):99-103., doi:10.1098/rspb.2002.2199.
- Tarpy, DR., Nielsen, R., Nielsen, DI. 2004. A scientific note on the revised estimates of effective paternity frequency in *Apis*. *Insect. Soc.* 51: 203–204., doi:10.1007/s00040-004-0734-4.
- Tarpy, DR., Seeley, TD. 2006. Lower disease infections in honeybee (*Apis mellifera*) colonies headed by polyandrous vs monandrous queens. *Naturwissenschaften.* 93(4):195-199., doi:10.1007/s00114-006-0091-4.

## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Tarpy, DR., Vanengelsdorp, D., Pettis, JS. 2013. Genetic diversity affects colony survivorship in commercial honey bee colonies. *Naturwissenschaften*.100(8):723-728., doi:10.1007/s00114-013-1065-y.
- Traniello, JF., Rosengaus, RB., Savoie, K. 2002. The development of immunity in a social insect: evidence for the group facilitation of disease resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99(10): 6838-6842., doi:10.1073/pnas.102176599.
- Tragust, S., Mitteregger, B., Barone, V., Konrad, M., Ugelvig, LV., Cremer, S. 2013. Ants disinfect fungus-exposed brood by oral uptake and spread of their poison. *Curr Biol*. 23(1):76-82. doi:10.1016/j.cub.2012.11.034.
- Unger, P., Guzman-Novoa, E. 2010. Maternal effects on the hygienic behavior of Russian x Ontario hybrid honeybees (*Apis mellifera* L.). *J Heredity*. 10(1):91-96., doi:10.1093/jhered/esp092.
- Valanne, S., Wang, JH., Rämet, M. 2011. The *Drosophila* Toll signaling pathway. *J Immunol. (Baltimore, Md: 1950)* 186(2): 649–656., doi: 10.4049/jimmunol.1002302.
- Van Steenkiste, D. 1988. De hemocyten van dehonigbij (*Apis mellifera* L). Typologie, bloedbeeldencellulaireverdedigingsreacties [doctoral thesis]. Gent, Belgium, Rijksuniversiteit.
- Vaudo, AD., Patch, HM., Mortensen, DA., Tooker, JF., Grozinger, CM. 2016. Macronutrient ratios in pollen shape bumble bee (*Bombus impatiens*) foraging strategies and floral preferences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(28): E4035-E4042., doi:10.1073/pnas.1606101113.
- Visscher, P.1983. The honey bee way of death: Necrophoric behaviour in *Apis mellifera* colonies. *Animal Behaviour*. 31: 1070-1076.
- Vojvodic, S., Jensen, AB., Markussen, B., Eilenberg, J., Boomsma, JJ. 2011. Genetic variation in virulence among chalkbrood strains infecting honeybees. *PLoS One*. 6(9):e25035.,doi:10.1371/journal.pone.0025035.
- Walderdorff, L., Laval-Gilly, P., Bonnefoy, A., Falla-Angel, J. 2018. Imidacloprid intensifies its impact on honeybee and bumblebee cellular immune response when challenged with LPS (lipopolysaccharide) of *Escherichia coli*. *J Insect Physiol*. 108: 17–24., doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.05.002.
- Wang, L., Weber, AN., Atilano, ML., Filipe, SR., Gay, NJ., Ligoxygakis, P. 2006. Sensing of Gram-positive bacteria in *Drosophila*: GGBP1 is needed to process and present peptidoglycan to PGRP-SA. *The EMBO journal* 25(20): 5005–5014., doi: 10.1038/sj.emboj.7601363.
- Ward, K., Danka, R., Ward, R. 2008. Comparative performance of two mite-resistant stocks of honey bees (*Hymenoptera: Apidae*) in Alabama beekeeping operations. *J Econ Entomol*. 101(3):654-659., doi:10.1603/0022-0493(2008)101[654:cpotms]2.0.co;2.
- Weirich, G., Collins, A., Williams, V. 2002. Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie Springer Verlag* 33(1): 3-14., doi: ff10.1051/apido:2001001ff. fffal-00891910f.
- Werner, T., Borge-Renberg, K., Mellroth, P., Steiner, H., Hultmark, D. 2003. Functional diversity of the *Drosophila* PGRP-LC gene cluster in the response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *J Biol Chem*. 278(29):26319-26322., doi:10.1074/jbc.C300184200.
- Wilson-Rich, N., Dres, ST., Starks, PT., 2008. The ontogeny of immunity: development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *J Insect Physiol*. 54 (10-11): 392–1399. doi: 10.1016/j.jinsphys.2008.07.016.
- Wilson-Rich, N., Spivak, M., Fefferman, NH., Starks, P. T. 2009. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annu Rev Entomol*. 54:405–423., doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093301
- Winston, ML., Taylor, OR., Otis, GW. 1983. Some differences between temperate European and tropical African and South American honey bees. *Bee World*. 64: 12–21., doi: 10.1080/0005772X.1983.11097902.
- Xu, P., Shi, M., Chen, XX. 2009. Antimicrobial peptide evolution in the Asiatic honey bee *Apis cerana*. *PLoS one*, 4(1): e4239., doi: 10.1371/journal.pone.0004239.



## DERLEME MAKALESİ / REVIEW ARTICLE

- Yi, H.Y., Chowdhury, M., Huang, Y.D., Yu, X.Q. 2014. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 98(13): 5807–5822., doi: 10.1007/s00253-014-5792-6.
- Zakaria, M. 2007. The Cellular Immunity Responses In The Haemolymph of Honey Bee Workers Infected By American Foulbrood Disease (AFB). *Res. J. Appl. Sci.* 3: 56-63.
- Zono, M., Okada, I., Sasaki, M. 2005. Heat production by balling in the Japanese honeybee, *Apis cerana japonica* as a defensive behavior against the hornet, *Vespa simillima xanthoptera* (Hymenoptera: Vespidae). *Experientia.* 43: 1031-1034., doi: 10.1007/BF01952231.
- Zhukovskaya, M., Yanagawa, A., Forschler, B. T. 2013. Grooming Behavior as a Mechanism of Insect Disease Defense. *Insects.* 4(4):609-630., doi:10.3390/insects4040609.