

FARKLI FOTOPERİYOTLARIN *ACHROIA GRISELLA* (LEPIDOPTERA: PYRALİDAE)'NİN PUPAL PERİYOT, ERGİN ÖNCESİ TOPLAM GELİŞİM SÜRESİ VE ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ

Effects of Different Photoperiods on Pupal Period, Pre-Adult Development Time and Adult Longevity of *Achroia Grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Yeşim KOÇ, Evrim SÖNMEZ

Sinop Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Fen Bilgisi Öğretmenliği Lisans Programı, Sinop, Türkiye
Yazışma Yazarı / Corresponding Author: ykoc@sinop.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 06.04.2018

Kabul Tarihi / Accepted: 15.05.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.484999

ÖZ

Farklı fotoperiyotların *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)'nin pupal periyot, ergin öncesi toplam gelişim süresi ve ömür uzunluğuna etkisi $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ve $\%65 \pm 5$ nispi nem içeren laboratuvar koşullarında incelendi. Denemelerde 18 saat aydınlık; 6 saat karanlık (18A;6K), 12 saat karanlık; 12 saat aydınlık (12A;12K), 6 saat aydınlık; 18 saat karanlık (6A;18K), devamlı aydınlık (DA) ve devamlı karanlık (DK) olmak üzere beş farklı fotoperiyot rejimi uygulandı. Erginlerin ve larvaların beslenmesi balsız peteklerle sağlandı. Ergin öncesi toplam gelişim süresi en uzun DA şartlarda (49.23 ± 3.10 gün), en kısa ise DK şartlarda (40.26 ± 2.79 gün) oldu. Pupal periyot süresinin DA, 18A;6K, 12A;12K, 6A;18K ve DK şartlarda sırasıyla 7.03 ± 0.71 , 6.76 ± 0.85 , 6.83 ± 0.74 , 6.10 ± 0.66 , 6.60 ± 0.77 gün olduğu görüldü. En kısa pupal periyot süresi 6A;18K şartlarda olurken, en uzun pupal periyot süresi DA şartlarda oldu. Ömür uzunluğu açısından tüm fotoperiyotlarda erkeklerin dişilerden daha fazla yaşadığı tespit edildi. Farklı fotoperiyotlarda erkeklerde ömür uzunluğu bütün gruplarda birbirine yakın olurken gruplar arasındaki fark önemsiz bulundu. Dişilerdeki en kısa ömür uzunluğunun 6A;18K ve DK şartlarda olduğu görüldü. Dişilerde genel olarak aydınlık şartların fazla olduğu koşullarda, ömür uzunluğunun da arttığı tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Achroia grisella*, Fotoperiyot, Pupal Periyot, Ömür Uzunluğu, Ergin Öncesi Toplam Gelişim Süresi

ABSTRACT

The effect of different photoperiods on the pupal period, pre-adult total developmental period and longevity of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae) was investigated at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $65 \pm 5\%$ relative humidity. Five different photoperiod regimens (eighteen hours of light, six hours of dark (18L;6D), twelve hours of light, twelve hours of dark (12L;12D), six hours of light, eighteen hours of dark (6L;18D), continuous light (CL) and continuous dark (CD)) were applied in experimental studies. The adults and larvae were fed with combs which did not have honey. The longest pre-adult total developmental period was obtained on CL conditions (49.23 ± 3.10 days), while the shortest pre-adult total developmental period was with CD conditions (40.26 ± 2.79 days). Pupal period was found as 7.03 ± 0.71 , 6.76 ± 0.85 , 6.83 ± 0.74 , 6.10 ± 0.66 , and 6.60 ± 0.77 days under CL, 18L;6D, 12L;12D, 6L;18D and CD conditions, respectively. The shortest value of pupal period was on 6L;18D whereas

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

the longest value was with CL. In terms of longevity, males lived longer than females under all photoperiod conditions. Male longevity was almost constant among different photoperiod groups. The shortest longevity in females was found under 6L;18D and CD conditions. In general, females were found to have increased longevity under longer light conditions.

Key Words: *Achroia grisella*, Photoperiod, Pupal Period, Longevity, Pre-adult Total Developmental Period

EXTENDED ABSTRACT

Purpose: The effect of different photoperiods on the pupal period, pre-adult total developmental period and longevity of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae) was investigated. Increasing yield in beekeeping could be possible by maintaining all pests under control. Using physical methods as much as possible will decrease the use of chemicals, which decreases the quality of comb and honey and leaves behind residuals. This study will investigate the changes in photoperiod-related metabolic activity and will assess the most suitable photoperiod alternatives to rear this moth. According to the data obtained, it will be possible to determine the photoperiods in which the moth will produce the least possible harm to combs and honey and which one will slow development the most.

Material and Method: Five different photoperiod regimens (eighteen hours of light, six hours of dark (18L;6D), twelve hours of light, twelve hours of dark (12L;12D), six hours of light, eighteen hours of dark (6L;18D), continuous light (CL) and continuous dark (CD) were applied in experimental studies. For each photoperiod, the adults which emerged from the culture produced in that photoperiod were placed in their own trial jars. For each photoperiod, 10 female and 10 male moths were put in jars. Trial jars were checked every day to obtain pupated individuals. The larvae were placed in petri plates (9 cm × 1.5 cm) on the first day they became pupae. They were kept until the first day they became adults and until their pupal period was found. On the day the adult emerged, pre-adult total developmental period of each moth was calculated for each trial. Thus, pupal period and pre-adult developmental period were calculated separately for each photoperiod group. The adults which emerged from pupae were transferred to separate jars and adult longevity was found in each photoperiod separately for males and females. Three different trials were made for each photoperiod group. Results of 30 moths were recorded for each parameter that were studied under different photoperiods.

Results and Conclusion: The longest pre-adult total developmental period obtained on CL conditions (49.23 ± 3.10 days), while the shortest pre-adult total developmental period was on CD conditions (40.26 ± 2.79 days). Pupal period was found as 7.03 ± 0.71, 6.76 ± 0.85, 6.83 ± 0.74, 6.10 ± 0.66, and 6.60 ± 0.77 days under CL, 18L;6D, 12L;12D, 6L;18D and CD conditions, respectively. The smallest value of pupal period was on 6L;18D whereas the biggest value was with the CL treatment. In terms of longevity, males lived longer than female under all photoperiod conditions. Male longevity was almost constant among different photoperiod groups. The shortest longevity in females was found under 6L; 18D and CD conditions. In general, females were found to have increased longevity under longer light conditions. In our study, pre-adult developmental time was short under longer dark conditions and cultures were found to have intense moth production. In physiological studies, continuous dark or 6L; 18D conditions are predicted to be preferred to get more moths to get quicker results. However, in beekeeping, the reverse is desired because keeping *A. grisella* in dark conditions will speed up the intensity and development of the moths and negatively influence the health of comb and bees. Longer light conditions and photoperiod application of more than 12 hours will decrease the damage caused by this pest. Thus, the application of chemicals which contaminate combs will also decrease.

GİRİŞ

Achroia grisella (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Pyralidae) Küçük Balmumu Güvesi ya da Küçük Kovan Güvesi olarak bilinen bir türdür. Güvenin

larvaları petek, organik materyal ve artıklar ile beslenerek petek kalitesini düşürür. Güve zararlılarıyla yapılan mücadele yetersiz olduğunda

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

bu durum arıcılıkta ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Özellikle zayıflamış kovanlarda güvelerin daha zararlı olduğu bilinmektedir (Gürkan, 1985; Sharma ve ark., 2011; Zhou ve ark., 2011; Aydın ve Selçuk, 2012; Heckford, 2017).

Gelişim süresinin fazla uzun olmaması, kolay üretilmesi ve üzerinde çeşitli parazitoit ve predatörleri yetiştirebilme olanağı bu türü biyolojik çalışmalar için önemli kılmıştır (Chandel ve ark., 2003; Hood ve ark., 2003). *A. grisella* gibi peteklere zarar veren büyük kovan güvesi *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) zarar derecesinin daha fazla olması nedeniyle özellikle arıcılıkla ilgili araştırmalarda daha çok araştırılmıştır (Mellini ve Dindo 1982; Gürkan, 1985; Tutkun ve ark., 1987; Ahmad, 1994; Verma, 1995).

A. grisella'nin da özellikle zayıf kovanlarda neden olacağı zararlar göz önüne alındığında, araştırmaların artırılması son derece yerinde olacaktır. Böceklerde fotoperiyot ömür uzunluğu, yumurta verimi, gelişim süresi, puptan çıkış zamanı, yumurta açılma oranı, düşük sıcaklığa tolerans, parazitoitlerin üretimi, feromon salınması gibi birçok fizyolojik ve biyokimyasal faaliyeti etkiler (Denlinger, 2002; El-Aw, 2003; Pazyuk ve Reznik, 2016). Bu nedenle, bir türün en hızlı veya yavaş geliştiği, en yüksek verimin elde edildiği veya kültürün zayıfladığı fotoperiyotları belirlemek son derece önemlidir. Arıcılıkta verimi artırmak arı hastalıklarına ve peteklere zarar veren her türlü zararlıların kontrol altına alınmasıyla mümkündür. Fiziksel yöntemlerin mümkün olduğunca daha çok kullanılması, petek ve bal kalitesini düşüren ve kalıntı bırakan kimyasalların kullanımını azaltacaktır. *A. grisella* araştırma laboratuvarlarında genellikle biyolojik mücadele çalışmalarında üzerinde parazitoitlerin yetiştirildiği konak tür olarak kullanılmaktadır (Jang ve Greenfield, 2000; Chandel ve ark., 2003).

Karanlıkta aktif bir böcek olduğu bilinmekle beraber, farklı fotoperiyotların bu böcekte gelişim süresini ve ömür uzunluğunu nasıl etkilediği ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu araştırmada fotoperiyoda bağlı olarak gelişim süresi ve ömür uzunluğundaki değişiklikler belirlenerek bu böceğin yetişmesi için en uygun fotoperiyot alternatifleri değerlendirilecektir. Bu şekilde elde edilen verilere göre, kovan ve peteklere mümkün olabilecek en az zararı verebileceği ve gelişmesinin yavaşlatılabileceği fotoperiyotlar saptanmış olacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Denemelerde Küçük Kovan Güvesi, *A. grisella* kullanıldı. Araştırma 28±2°C ve %65±5 nispi nem içeren laboratuvar koşullarında yapıldı. Farklı fotoperiyotların *A. grisella*'nin pupal periyot süresi, ergin öncesi toplam gelişim süresi ve ömür uzunluğuna etkisi araştırıldı. Araştırmamızda onsekiz saat aydınlık; altı saat karanlık (18A;6K), oniki saat aydınlık; oniki saat karanlık (12A;12K), altı saat aydınlık; onsekiz saat karanlık (6A;18K), devamlı aydınlık (DA) ve devamlı karanlık (DK) olmak üzere beş farklı fotoperiyot rejimi uygulandı. Işık şiddeti 60 watlık floresan ampullerle sağlandı. Farklı fotoperiyotlar, etüv (WiseVen WO-155) ve fotoperiyot cihazı (ÇET-SAN 15336) kullanılan küçük deneme odaları aracılığıyla sağlandı. Her fotoperiyot denemesi için üç jenerasyon o fotoperiyot rejiminde yetişmiş erginler kullanıldı.

Çalışmalara öncelikle *A. grisella* stok kültürlerinin kurulmasıyla başlandı. *A. grisella* stok kültürlerini, Sinoplu arıcılardan sağlanan peteklerden elde edilen erginler oluşturdu. Bu erginler cam kavanozlara (500 ml) konularak, stok kültürler oluşturuldu. Kavanozların ağızları hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ile kapatıldı. Besin olarak balsız petekler kullanıldı. Kavanozlarda gelişen larvalar için pup haline geçmesinde kolaylık oluşturacak katlanmış kâğıt parçaları kullanıldı. Petekler daha önce paratizlenme ihtimaline karşın, derin dondurucuda (Profilo 1060) bekletilerek sterilize edildikten sonra böcekler her gün gerekli olduğu kadar verildi. Her bir fotoperiyot için, o fotoperiyotta üretilmiş kültürden çıkan erginlerden ilk gün çıkanlar, kendi deneme kavanozlarına yerleştirildi.

Her bir fotoperiyot için, kavanozlara 10 dişi, 10 erkek böcek konuldu. Pupaşan bireyler için deneme kavanozları her gün kontrol edildi. Larvalar puplaştığı zaman puplaştıkları ilk gün petri kaplarına (9 cm × 1.5 cm) alındı ve ergin oldukları güne kadar bekletilerek pup süreleri bulundu. Erginlerin kavanozlara yerleştirildiği gün de dahil, ergin çıkışlarının olduğu tarih not edilerek, yumurtadan ergine kadar olan toplam gelişim süresi hesaplandı. Böylece pupal periyot ve ergin öncesi toplam gelişim süresi, her fotoperiyot grubu için ayrı ayrı hesaplandı. Puplardan çıkan erginlerin dişi ve erkek ayrımı yapılarak ayrı kavanozlara alındı ve her fotoperiyottaki ergin ömür uzunlukları tespit edildi. Her bir fotoperiyot grubu için üç ayrı deneme yapıldı. Farklı fotoperiyotlarda araştırılan her bir

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

parametre için, toplamda 30 böcek için veriler kaydedildi.

Verilerin Analizi

Farklı fotoperiyotların *A. grisella*'nın toplam gelişim süresi, pupal periyot süresi, dişi ve erkek ömür uzunluğuna etkisini belirlemek için SPSS 21.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılmıştır. Her denemede 10 gözlem ile üç farklı tekrarlı ölçümler yapılmış ve toplamda 30 gözlem üzerinden analiz gerçekleştirilmiştir. Beş farklı fotoperiyotun toplam gelişim süresi, pupal periyot süresi, dişi ve erkek ömür uzunluğuna etkisini belirlemek için tekrarlayan ölçümlerin karşılaştırılmasında One-way ANOVA kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde Wilk's Lambda testi kullanılmış ve 0.05 hata payı esas alınmıştır. Dişi ve erkeklerin ömür uzunluğunun ikili karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanılmış ve 0.05 hata payı esas alınmıştır.

BULGULAR

Farklı fotoperiyotların *A. grisella*'nin pupal periyot süresi ve ergin öncesi toplam gelişim süresine etkisi Tablo 1 ve Şekil 1'de verilmektedir. Ergin öncesi toplam gelişim süresi en uzun DA şartlarda (49.23 ± 3.10 gün), en kısa ise DK şartlarda (40.26 ± 2.79 gün) oldu ($F=56061.48$; $df= 1, 29$; $p=0.000$; Wilks Lambda). Farklı fotoperiyotlardaki toplam gelişim süreleri arasındaki fark, 6A;18K ve DK fotoperiyotlardakiler hariç istatistiksel olarak önemli bulundu. DK ve 6A;18K fotoperiyotlarda gelişim süresinin sırasıyla 40.26 ± 2.79 gün, 41.36 ± 1.88 gün olduğu görüldü. Pupal periyot DA, 18A;6K, 12A;12K, 6A;18K ve DK şartlarda sırasıyla 7.03 ± 0.71 , 6.76 ± 0.85 , 6.83 ± 0.74 , 6.10 ± 0.66 , 6.60 ± 0.77 gün oldu ($F= 13302.752$; $df= 1, 29$; $p= 0.000$; Wilks Lambda). En kısa pupal periyot süresi 6A;18K şartlarda olurken, en uzun pupal periyot süresi ise DA şartlarda oldu. Pup süresindeki farklılıkların birçok grup için (6A:18K hariç) önemsiz olduğu görüldü ($p>0.05$).

Farklı fotoperiyotların *A. grisella* ergin dişi ve erkeklerinin ömür uzunluğuna etkisi Tablo 1 ve Şekil 2'de verilmektedir. Ömür uzunluğu açısından tüm fotoperiyotlarda erkeklerin dişilerden daha fazla yaşadığı tespit edildi. DA şartlarda erkeklerin ömür uzunluğu 12.60 ± 1.22 gün iken, dişilerin ömür uzunluğu 7.86 ± 1.35 gün oldu ($F= 13042.308$; $df= 1, 29$; $p= 0.730$; Wilks Lambda).

Farklı fotoperiyotlarda erkeklerde ömür uzunluğu bütün gruplarda birbirine benzer olurken gruplar arasındaki fark önemsiz bulundu. Dişilerde en uzun ömür uzunluğu 18A;6K şartlarda 8.26 ± 1.08 gün olurken, bunu DA şartlar 7.86 ± 1.35 gün ile izledi. Dişilerdeki en kısa ömür uzunluğunun 6A;18K ve DK şartlarda sırasıyla 6.20 ± 1.27 gün ve 6.40 ± 0.81 gün olduğu tespit edildi ($F= 6584.755$; $df= 1, 29$; $p= 0.000$; Wilks Lambda). Dişilerde genel olarak aydınlık şartların fazla olduğu koşullarda, ömür uzunluğunun da arttığı tespit edildi. Aynı fotoperiyotlarda yetiştirilen dişi ve erkeklerin ömür uzunluğunun ikili karşılaştırmalarında ise tüm gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulundu.

DA şartlarda dişilerin ömür uzunluğu 7.86 ± 1.35 iken erkeklerin ömür uzunluğu 12.60 ± 1.22 oldu (Mann-Whitney U= 5000; Z= -6.635; $p= 0.000$). 18A:6K şartlarda dişi ömür uzunluğu 8.26 ± 1.08 , erkek ömür uzunluğu 12.36 ± 1.69 tespit edildi (Mann-Whitney U= 8500; Z= -6.590; $p= 0.000$). 12A:12K şartlarda dişi ömür uzunluğu 7.33 ± 0.92 , erkek ömür uzunluğu 12.40 ± 1.37 görüldü (Mann-Whitney U= 0.000; Z= -6.730; $p= 0.000$). 6A:18K şartlarda ise bu değerler dişi ve erkek için sırasıyla 6.20 ± 1.27 ve 12.23 ± 0.97 olarak tespit edildi (Mann-Whitney U= 0.000; Z= -6.723; $p= 0.000$). DK şartlarda dişi ömür uzunluğu 6.40 ± 0.81 , erkek ömür uzunluğu ise 12.33 ± 1.18 olarak bulundu (Mann-Whitney U= 0.000; Z= -6.755; $p= 0.000$).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Tablo 1: Farklı fotoperiyotların *Achroia grisella*'nin ergin öncesi toplam gelişim süresi, pupal periyot süresi ve ömür uzunluğuna etkisi

Table 1. Effects of different photoperiods on pupal period, pre-adult development time and adult longevity of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Fotoperiyot	Ergin Öncesi Toplam Gelişim Süresi	Pupal Periyot Süresi	Dişi Ömür Uzunluğu	Erkek Ömür Uzunluğu	*
DA	49.23±3.10 a	7.03±0.71 a	7.86±1.35 a	12.60±1.22 a	p=0.000 Z= -6.635 Mann Whitney U= 5000
18A:6K	45.36±1.69 b	6.76±0.85 a	8.26±1.08 a	12.36±1.69 a	p= 0.000 Z=-6.590 Mann Whitney U=8500
12A:12K	43.23±1.95 c	6.83±0.74 a	7.33±0.92 b	12.40±1.37 a	p= 0.000 Z=-6.730 Mann Whitney U= 0.000
6A:18K	41.36±1.88 df	6.10±0.66 bc	6.20±1.27 ce	12.23±0.97 a	p= 0.000 Z=-6.723 Mann Whitney U= 0.000
DK	40.26±2.79 ef	6.60±0.77 ac	6.40±0.81 de	12.33±1.18 a	p= 0.000 Z= -6.755 Mann Whitney U= 0.000
¹ F	56061.48	13302.752	6584.755	13042.308	
¹ df	1;29	1;29	1;29	1;29	
¹ p	0.000	0.000	0.000	0.730	

Veriler üç denemenin ortalamasını gösterir. Her bir denemede 10 birey toplamda 30 birey kullanılmıştır (n=30).

Aynı sütunda, farklı fotoperiyotlarda, aynı küçük harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur. ¹F, ¹df, ¹p değerleri aynı sütunda farklı fotoperiyotlardaki veriler için kullanılmıştır (General Linear Model, Wilk's Lambda Test, p>0.05).

*Dişi ve erkekler arasındaki farkı gösterir. Aynı fotoperiyotta dişi ve erkeklerin ömür uzunluğu karşılaştırılmıştır. P, Z değerleri dişi ve erkek karşılaştırmalar için kullanılmıştır (Mann-Whitney U Testi, p>0.05).

DA: Devamlı Aydınlık

DK: Devamlı Karanlık

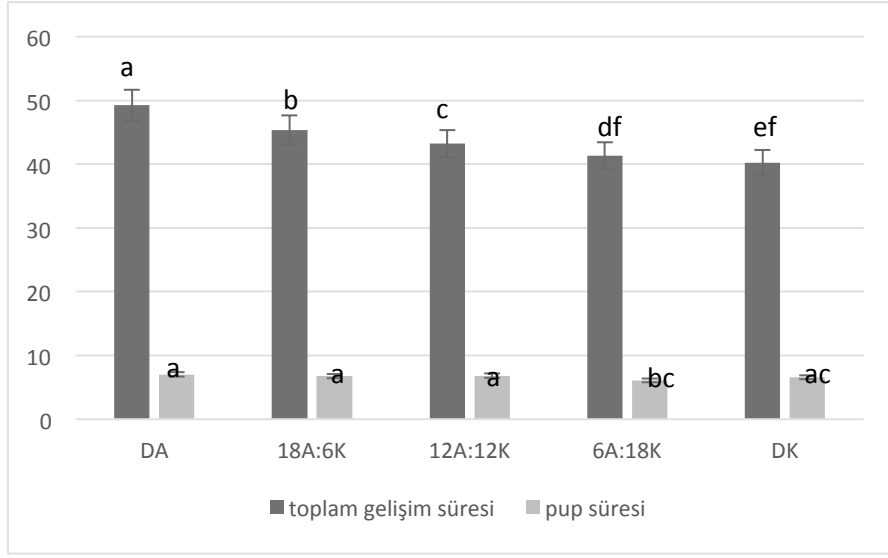
18A;6K: Onsekiz saat aydınlık; altı saat karanlık

12A;12K: Oniki saat aydınlık; oniki saat karanlık

6A;18K: Altı saat aydınlık; onsekiz saat karanlık

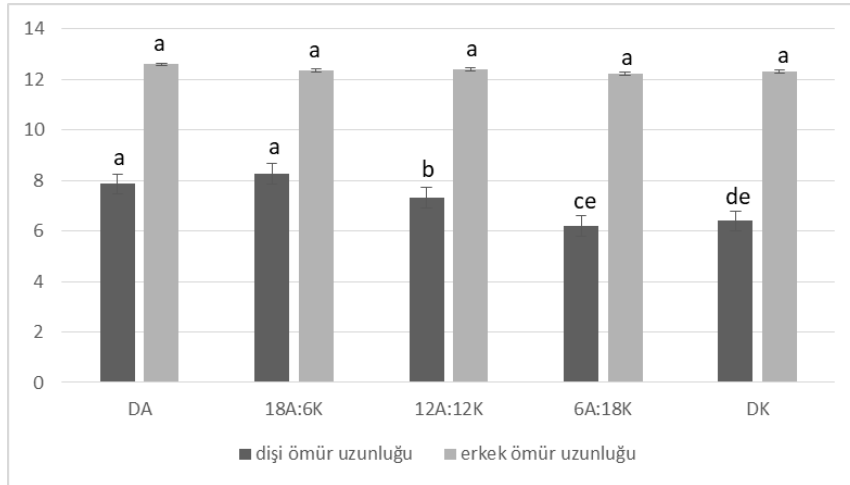
S.D.: Standart Sapma

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



Şekil 1: Farklı fotoperiyotların *Achroia grisella*'nın ergin öncesi toplam gelişim süresi ve pupal periyot süresine etkisi

Figure 1. Effects of different photoperiods on pupal period and pre-adult development time of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)



Şekil 2: Farklı fotoperiyotların *Achroia grisella* ergin dişi ve erkeklerinin ömür uzunluğuna etkisi

Figure 2. Effects of different photoperiods on adult female and male longevity of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)

TARTIŞMA

Petek zararlıları arıcılığın gelişmesini yavaşlatan ve arıcılıkta ciddi ekonomik kayıplar oluşturan faktörlerden biridir (Goodman, 2003; Hood ve ark., 2003; Ellis ve ark., 2013). Mum güveleriyle mücadelede bir takım kimyasallar kullanılmakta fakat bunlar peteklerde kalıntı bıraktığı için sağlık açısından riskli olmaktadır. Peteklerde soğuk

uygulama yolu güvelerle mücadele etmek için en sık kullanılan etkili bir yöntemdir (Akyol ve Korkmaz, 2008). Fakat derin dondurucu kullanılmadığı zamanlarda veya peteklerde baştan itibaren güve gelişimini azaltmak için farklı fiziksel yöntemler de kullanılabilir. Fotoperiyot şartlarında düzenleme yaparak birçok böcekte olduğu gibi *A. grisella* ile mücadele etmekte mümkündür. Genelde küçük kovan güvesiyle mücadelede *G. mellonella* mücadelesinde kullanılan yöntemler

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

kullanılmaktadır (Auber 1960; Morse ve Nowogrodzki, 1990; Aydın ve Selçuk, 2012). Petek güveleri ışığı sevmez. Karanlık ortamlarda daha çok gelişip çok fazla yumurta bırakarak peteklerdeki tahribatı artırır (Mellini ve Dindo 1982; Gürkan, 1985; Charriere ve Imdorf, 1999; Hood ve ark., 2003).

A. grisella'nin fizyolojisi, feromon özellikleri, genetiği, davranışı ve morfolojisi ile ilgili birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen (Greenfield, 1981; Spangler ve ark., 1984; Cremer ve Greenfield, 1998; Collins ve ark. 1999; Zhou ve ark., 2008; Zhou ve ark., 2011; Heckford, 2017) farklı fotoperiyotların gelişim sürelerine ve ergin ömür uzunluğuna etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ergin öncesi toplam gelişim süresi, larval süre, pupal periyot süresi, canlılık oranı, yumurta verimi, besin tüketimi gibi önemli fizyolojik aşamalarda fotoperiyot oldukça etkilidir (Mellini ve Dindo 1982 ; Pazyuk ve Reznik 2016; Hossain ve ark., 2016).

Mellini ve Dindo (1982), *G. mellonella* için optimum şartların devamlı karanlık şartlar olduğunu, diğer fotoperiyotlara göre devamlı karanlıkta gelişim süresinin kısaldığını belirlemişlerdir. Kryspin ve ark. (1974), *G. mellonella*'da, 12 saat aydınlık şartlarda bile larval gelişimin uzadığını tespit etmişlerdir. *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) ile yapılan bir çalışmada kısa fotoperiyotta yetiştirilen nimflerde gelişim süresinin uzadığı tespit edilmiştir (Pazyuk ve Reznik 2016). Fotoperiyodun ömür uzunluğuna etkisiyle ilgili bir çalışmada, Subala ve Shivekumar (2017) *Spodoptera litura* (Insecta: Lepidoptera)'ya 12A:12K, 0A:24K, ve 24A:0K fotoperiyot şartları uygulamışlar ve böceklerin ömür uzunluğunun karanlık şartlarda daha fazla olduğunu ve daha fazla besin tükettiklerini bulmuşlardır (Hossain ve ark. 2016).

Dermestus maculatus (Coleoptera: Dermestidae) ile üç farklı fotoperiyot ile çalışmışlar, karanlık süresi arttıkça gelişim süresinin kısaldığını ve yumurta veriminin arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızda ergin öncesi toplam gelişim süresinin en uzun DA şartlarda (49.23±3.10 gün), en kısa ise DK şartlarda (40.26±2.79 gün) olduğu görüldü. Farklı fotoperiyotlardaki toplam gelişim süreleri arasındaki fark 6A;18K ve DK fotoperiyotlardakiler hariç istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo1 ve Şekil 1). En kısa pupal periyot süresi 6A;18K şartlarda olurken, en uzun pupal periyot süresi ise DA şartlarda oldu. Pup

süresindeki farklılıkların birçok grup için (6A:18K hariç) önemsiz olduğu görüldü (Şekil 1 ve Tablo 1).

Genel olarak farklı fotoperiyotların pupal periyot süresinde değil, ergin öncesi toplam gelişim süresinde daha çok etkili olduğu tespit edildi. Karanlık şartların böceğin ergin öncesi toplam gelişim süresini kısalttığı yani böceğin daha hızlı gelişmesine yol açtığı saptandı. Aydınlık süre uzadıkça gelişimin yavaşladığı ve ergin hale gelmek için geçen sürenin uzadığı tespit edildi. Fotoperiyotlar arasındaki fark azaldıkça gruplarda gelişim süresinde daha yakın sonuçlar ortaya çıktı. Bu sonuçlar, yakın fotoperiyotların böceğin fizyolojisine benzer etkiler yapmasıyla açıklanabilir. Bu sonuç, farklı çalışmalardan elde edilen verilere benzerlik göstermektedir (Denlinger, 2002; Pazyuk ve Reznik, 2016; Mahgoub ve ark. 2015).

A. grisella'da 31°C ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık şartlarda larval sürenin 30.72 gün, pupal sürenin 7.65 gün olduğunu, Chandel ve ark. (2003) pupal aşamanın genellikle 5-7 gün sürdüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmamızda pupal periyot 6.10-7.03 gün arasında olmuştur. *A. grisella*'da gelişim süresinin farklı çevresel şartlardan etkilendiği bazı çalışmalarda ifade edilmiştir (Mohammadi ve ark., 2010; Ellis ve ark., 2013). Bu çalışmada ortaya çıkan farklılıklar da fotoperiyot süresinden kaynaklanmaktadır.

A. grisella ile ilgili yapılan çalışmalarda erkeklerin dişilerden yaklaşık 2 kat daha fazla yaşadığı tespit edilmiştir (Chandel ve ark., 2003; Mahgoub ve ark., 2015). Çalışmamızda da tüm farklı şartlarda buna paralel sonuçlar bulundu, erkeklerin daha fazla yaşadığı görüldü. Bu durum, türün devamını sağlama açısından önemli olabilir.

Dişilerin daha kısa ömürlü olmaları metabolik hızlarında artışla ilgili olabilir. Muhtemelen dişilerde yumurtlamanın gerçekleşmesi ömür uzunluğunu erkeklere göre kısaltmıştır. Rockstein ve Miguel (1976) *Drosophila melanogaster*'de dişilerdeki ömür uzunluğunda kısalmayı, günlük bırakılmış olan yumurta miktarındaki artıştan kaynaklandığını ifade etmiştir. Karanlık şartlarda gelişim süresi kısa olan *A. grisella*'da aydınlık şartlar arttıkça gelişim süresinin uzadığı görüldü. Fakat bu durumun tersi olarak gelişimin hızlı olduğu karanlığın arttığı şartlarda dişilerde ömür uzunluğu ise kısaldı. Metabolik hızda artış meydana gelmesi, muhtemelen yaşlılık ürünlerinde artışı beraberinde getirmiştir. Bu da ergin ömür uzunluğunun kılmasına neden olmuştur. Bu sonuç birçok

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

böceğin daha yüksek veriminin elde edildiği ve gelişiminin hızlı olduğu fotoperiyotlarda daha az yaşadığını gösteren çalışmalarla paralellik göstermektedir (El-Aw, 2003; Hossain ve ark., 2016).

Fotoperiyodun ömür uzunluğunda etkili olduğunu gösteren bir çok araştırma yapılmıştır (Wang ve ark., 2013; Nissinen ve ark., 2017). *Eobiana engelhardti subtropica* (Orthoptera: Tettigoniidae)'da gelişimin daha kısa sürdüğü, yumurtlamanın daha çabuk gerçekleştiği 12 saat aydınlık koşullarında ömür uzunluğunda kısalma olmuştur (Higaki ve Ando, 2003).

Çalışmamızda farklı fotoperiyotlarda erkeklerde ömür uzunluğu bütün gruplarda birbirine yakın olurken gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Fotoperiyot farklılığı erkeklerin ömür uzunluğunda istatistiksel olarak önemli bir fark yaratmazken, dişilerdeki değerler arasındaki fark önemli bulundu. Dişilerde en fazla ömür uzunluğu 18A;6K şartlarda olurken, onu DA şartlar izledi. Dişilerdeki en kısa ömür uzunluğu sırasıyla 6A;18K ve DK şartlarda oldu. Dişilerde genel olarak aydınlık şartların fazla olduğu koşullarda, ömür uzunluğunun da arttığı tespit edildi. Fotoperiyodun böcek türüne göre değişmekle birlikte erkekler veya dişiler üzerinde ömür uzunluğunda fazla etkili olmadığı bazı araştırmalar vardır. *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) ile yapılan bir çalışmada farklı fotoperiyot rejimlerinde dişilerin ömür uzunluğunda önemli bir fark olmamıştır (Shirazi, 2006).

Başka bir çalışmada *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae)'de erkeklerin ömür uzunluğunda özellikle birbirine yakın fotoperiyotlarda bir fark görülmezken, dişilerin ömür uzunluğunda tüm fotoperiyotlarda fark oluşmuştur (Zerbino ve ark., 2013). *D. melanogaster*'de farklı fotoperiyotların ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır. Erkeklerde, dişilerde ve çiftleşmemiş dişilerde devamlı aydınlık şartlarda diğer fotoperiyotlara göre ömür uzunluğunda azalma olmuş, fakat çiftleşmemiş erkeklerde bir değişiklik olmamıştır (Sheeba ve ark., 2000).

SONUÇ

Çalışmamızda farklı fotoperiyotların *A. Grisella*'nın gelişim ve fizyolojisi üzerine farklı etkiler yaptığı tespit edilmiştir. Karanlık şartların fazla olduğu durumlarda ergin öncesi gelişim kısa sürmüş ve

kültürlerde böcek yoğunluğu fazla olmuştur. Parazitoit konak ilişkilerini ele alan denemelerde ve farklı fizyolojik çalışmalarda daha çok böcek elde etmek ve daha çabuk sonuç almak için DK şartlar veya 6A;18K şartlar tercih edilmelidir. Arıcılıkta ise tam tersi bir durum söz konusu olup, *A. grisella*'nın karanlık ortamlarda tutulmasının böceklerin yoğunluğunu ve gelişimini hızlandıracak olması, petek ve arı sağlığını olumsuz etkileyecektir. Bir çok araştırmada da *A. grisella*'ya benzer özellikler gösteren *G. mellonella* için optimum şartların karanlık şartlar olduğu belirtilmiştir (Kryspin ve ark., 1974; Mellini ve Dindo 1982).

Her ne kadar zararının larva süresi aydınlık evrelerde daha uzun sürse de, karanlık ortamdaki hızlı gelişim döngüsü ve yoğun böcek popülasyonu larva süresindeki farkı kapatarak böceğin daha zararlı olmasına sebep olacaktır. Karanlığın fazla olduğu ortamda çok daha fazla sayıda larva bulunur ve daha önce ergin olurlar. Yeni larvalar zarar vermeye daha çabuk başlar. Peteklerin depolanması esnasında tamamen karanlık şartlardan uzak durmak, özellikle aydınlık şartların fazlalaştırılması, larval süreyi de çok fazla uzatmayan 12 saat veya 12 saatten fazla fotoperiyot uygulanması, bu zararının zarar derecesini düşürecektir. Özellikle petekleri soğukta bekletme uygulanmadığı zamanlarda fotoperiyot şartlarına dikkat etmekle *A. grisella*'nın yapacağı zarar oldukça azaltılmış olacaktır. Böylelikle, peteklerde zararlı katkı ürünleri oluşturan kimyasal yöntemlerin uygulanması da azalmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmad, M. 1994. Biological control of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. *J. of Apicult. Res.* Vol. 32(3), 319-323.
- Akyol, E., Korkmaz, A. 2008. Balmumu güvesi (*Galleria mellonella* L.) kontrolünde soğuk uygulamasının etkisi. *U.Arı Drg. / U Bee J.* 8: 186 -192.
- Auber L. 1960. Atlas des Coléoptères de France. Boubée, Paris.
- Aydın, Ö., Selçuk, Ö. 2012. Bal arılarında bulunan az önemli zararlı Artropodlar (Eklem Bacaklılar) Bölüm 1: Insecta (Böcekler). *U.Arı Drg. / U Bee J.* 12(2): 40-54.
- Chandel, Y. S., Sanjeev S., Verma K. S. 2003. Comparative biology of the Greater Wax

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Moth, *Galleria mellonella* L. and Lesser Wax Moth, *Achroia grisella* F. Pest Manage. *Econ. Zool.*, 11: 69-74.
- Charriere, J. D., Imdorf, A. 1999. Protection of honey combs from Wax Moth damage. *Amer. Bee J.*, 139, 8, 627-630.
- Collins, R. D., Jang Y., Reinhold K., Greenfield M. D. 1999. Quantitative genetics of ultrasonic advertisement signaling in the Lesser Waxmoth *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Heredity* 83: 644–651.
- Cremer, S., Greenfield M. D. 1998. Partitioning the components of sexual selection: attractiveness and agonistic behaviour in male Wax Moths, *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Ethology* 104:1–9.
- Denlinger, D. L. 2002. Regulation of diapause. *Annu. Rev. Entomol.*, 47, 93-122.
- Ellis, J. D., Graham J.R., Mortensen A. 2013. Standard methods for Wax Moth research. *J. Apicult. Res.*, 52, 1, 1-17.
- El-Aw, M. A. 2003. Effect of host plant, photoperiod, day time, developmental stage and sex on protein patterns and esterase inhibition heads of the Cotton Leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Agri. Res.*, 48,1, 89-92.
- Goodman, R. 2003. Wax Moth- a pest of honey bee combs and apiary products. *Agri. Notes*, AG1101, State of Victoria, 1-3.
- Greenfield, M. D. 1981. Moth sex pheromones: an evolutionary perspective. *Florida Entomol.* 64: 4–17.
- Heckford, R. J. 2017. *Achroia grisella* (Fabricius, 1794) (Lep.: Pyralidae): Observations on the larva and adult. *Entomologist's Rec. J. Var.* 129.
- Higaki M., Ando Y. 2003. Effects of crowding and photoperiod on wing morph and egg production in *Eobiana engelhardti subtropica* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Appl. Entomol. Zool.* 38: 321–325.
- Gürkan, F. 1985. *Galleria mellonella*'nin Populasyon Dinamigi. Doktora Tezi. H. Ü.
- Hood, W. M., Horton, P. M., McCreadie, J. W. 2003. Field evaluation of the Red Imported Fire Ant (Hymenoptera: Formicidae) for the control of Wax Moths (Lepidoptera:Pyralidae) in stored honey bee comb. *J. of Agri. and Urban Entomol.*, 20:2, 93-103.
- Hossain T., Yasmin M., Islam M.H., Islam A. T. M. F., Saifullah S. M. 2016. Effects of photoperiod on the development of Hide Beetle, *Dermestes maculatus* DeGeer (Coleoptera:Dermestidae). *J. of Entomol. and Zool. Stud.* 4(5): 672-676.
- Jang, Y., Greenfield, M. D. 2000. Quantitative genetics of female choice in an ultrasonic Pyralid Moth, *Achroia grisella*: variation and evolvability of preference along multiple dimensions of the male advertisement signal. *Heredity* 84: 73–80.
- Kryspin, I., Dutkowski, A. B., Cymborowski, B. 1974. The influence of illumination conditions on growth and development of *Galleria mellonella*. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 22, 803-808.
- Mellini, E., Dindo, M. L. 1982. Effects of photoperiod on the immature stages of the host parasite couple *Galleria mellonella* L. *Gonia cinerascens*. *Rond. Bollettino. Dell. Inst. Di. Ent. Del. Uni. Delgi. St. Bologna.*, 36, 114- 131.
- Mahgoub, M. O., Lau W. H., Omar D. B. 2015. Observations on the biology and larval instars discrimination of Wax Moth *Achroia grisella* F. (Pyralidae: Lepidoptera). *J. of Entomol.* 12 (1): 1-11.
- Mohammadi, D., Abad R. F. P., Rashidi M.R., Mohammadi S. A. 2010. Study of Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) using dyar's rule. *Mun. Entomol. Zool.*, 5: 216-224.
- Morse, R. A., Nowogrodzki, R. 1990. Honeybee pests, predators, and diseases. A. I. Cornell University Press Ithaca and London.
- Nissinen A.I., Pinto-Zevallos D.M, Jauhiainen L, Vanninen, I. 2017. The effect of photoperiod and light quality on *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae) nymphal development, fecundity and longevity. *Biol. Cont.* 108, 30–39.
- Pazyuk I.M., Reznik S.Ya. 2016. Influence of photoperiod on development and maturation of *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera, Miridae). *Entomol. Rev.* Vol. 96, No. 3, 274–279.
- Rockstein, M., Miguel, J. 1976. The physiology of insecta. Ed by Rockstein M., Academic Press., New York and London, 371-478.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Sharma, V., Mattu V.K., Thakur M.S. 2011. Infestation of *Achoria grisella* F. (wax moth) in honey combs of *Apis mellifera* L., *Int. J. Sci. Nat.*, 2: 407-408.
- Sheeba, V., Sharma, V. K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K., Joshi, A. 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *J. Biol. Rhythms* 15, 380-392.
- Shirazi, J. 2006. Effect of temperature and photoperiod on the biological characters of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pakistan J. of Biol. Sci.* 9(5): 820- 824.
- Spangler, H.G., Greenfield, M.d., Takessian, A. 1984. Ultrasonic mate calling in the lesser Wax Moth. *Physiol. Entomol.* 9: 87-95.
- Subala S.P., Shivakumar M.S. 2017. Circadian variation affects the biology and digestive profiles of a nocturnal insect *Spodoptera litura* (Insecta: Lepidoptera). *Biol. Rhythm Res.*, 48:2, 207-226.
- Tutkun E., Çakmakçı, L., Boşgelmez A. 1987. Bal arısı kolonilerinde *Bacillus thurugiensis* preparatlarının Büyük Mum Güvesi (*G. Mellonella*) larvalarına karşı kullanım olanakları üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Ünitesi, Proje no: Tarmik 8-34 s.
- Verma, S. K. 1995. Studies on the control of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. in *Apis cerana* F. colonies with the biological insecticide, *Dipel. Ind. Bee J.* 57(3):121-123.
- Wang S, Tan X.L., Guo X. J., Zhang F. 2013. Effect of temperature and photoperiod on the development, reproduction, and predation of the predatory Ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae) *J. Econ. Entomol.* 106(6): 2621-2629.
- Zerbino, M. S., Altier, N., Panizzi, A. R. 2013. Effect of photoperiod and temperature on nymphal development and adult reproduction of *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Heteroptera: Pentatomidae). *Florida Entomol.* 96: 572-582.
- Zhou Y., Kuster H. K., Pettis J. S., Danka R. G. , Gleason J. M., Greenfield M. D. 2008. Reaction norm variants for male calling song in populations of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae): toward a resolution of the lek paradox. *Evol.* 62:1317-1334.
- Zhou Y., Kelly J. K., Greenfield M. D., 2011. Testing the fisherian mechanism: examining the genetic correlation between male song and female response in Wax Moths. *Evol. Ecol.* 25:307-329.

POLLEN ANALYSIS OF THE HONEY FROM SOUTH ANATOLIA

Güney Anadolu Bölgesine ait Ballarda Polen Analizleri

Hülya ÖZLER

Sinop University, Faculty of Science and Art, Department of Biology, Sinop, Turkey
Corresponding Author / Yazışma Yazarı: hulyaozler06@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 20.04.2018 Kabul tarihi / Accepted: 18.06.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.485004

ABSTRACT

For pollen analysis, 19 honey samples were collected from different localities in Ereğli, Karapınar, Ayrancı and Ulukışla regions of Konya, Karaman and Ulukışla, respectively, in November 2015. All investigated honey samples were multifloral because they contained secondary and minor pollen groups. The dominant group of pollen grains were determined as the families of Fabaceae in 2 samples and Scrophulariaceae in 5 other samples, *Helianthus annuus* in 1 sample and *Zea mays* in 1 sample. Secondary pollen groups consisted of the families of Amaranthaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae and genera of *Centaurea*, *Cistus*, *Eucalyptus* and *Linaria*. Pollen of 55 plant taxa were identified in examined honey samples of which 21 were classified on the family level, 30 were on the genera level, 1 was on the tribe level and 3 were on the species level. The total number of pollen (TPN-10) in 10 grams of honey ranged from 332 to 42496. According to the results of the TPN-10 analysis in honey samples, 3 samples were normal and others were poor. The taxa of *Zea mays*, *Cistus*, Poaceae, Scrophulariaceae and Amaranthaceae were found in pollen sources. *Helianthus annuus* and Brassicaceae were found in nectar sources. Fabaceae, Rosaceae, *Eucalyptus*, *Centaurea* were found in nectar and pollen sources and were identified in the honey.

Key words: Melissopalynology, TNP-10, Pollen Analysis, South Anatolia Region, Turkey

ÖZ

Ereğli, Karapınar, Ayrancı ve Ulukışla ilçelerinin farklı lokalitelerindeki 19 bal üreticisinden polen analizi yapmak için Kasım 2015'de bal örnekleri temin edilmiştir. İncelenen örneklerin tümü sekonder ve minör polen grubu içerdiği için multifloral bal olarak tespit edilmiştir. Fabaceae 2 örnekte, Scrophulariaceae 5 örnekte, *Helianthus annuus* 1 örnekte, *Zea mays* 1 örnekte dominant polen grubu olarak belirlenmiştir. Sekonder polen grubunda ise Amaranthaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae, *Centaurea*, *Cistus*, *Eucalyptus* and *Linaria* taksonları oluşturmuştur. Araştırılan bal örneklerinde 55 bitki taksonuna ait polenlerden 21'i familya, 30'u cins, 1'i tribus, 3'ü ise tür düzeyinde tespit edilmiştir. Toplam polen sayısı 10 gram balda 332 ile 42496 arasında değişiklik göstermiştir. TPS-10 değerine göre, araştırılan bal örneklerinden 3'ü normal, diğerleri zayıf bulunmuştur. Araştırılan ballarda; *Zea mays*, *Cistus*, Poaceae, Scrophulariaceae ve Amaranthaceae taksonlarının polen kaynağı, *Helianthus annuus* and Brassicaceae taksonlarının nektar kaynağı, Fabaceae, Rosaceae, *Eucalyptus* ve *Centaurea* taksonlarının nektar ve polen kaynağı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Melissopalinojisi, TPS-10, Polen Analiz, Güney Anadolu Bölgesi, Türkiye

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Amaç: Bal arıları, nektar ve polen toplamak amacıyla buldukları bölgedeki çiçekleri ziyaret ederler. Arıların polen kaynağını ise doğal flora oluşturmaktadır. Floradaki polen kaynağı olan bitki türlerinin çeşitliliği ve çiçeklenme sezonlarının uzunluğu değişiklik göstermektedir (Baydar ve Gürel, 1998). Bala kalite veren etkenlerden birisi de içerdiği polen olup, balın hangi yöreye ait olduğunun tespit edilmesinde fayda sağlamaktadır. Balda yapılan polen analizleri, balların isimlendirilmesi ve menşeinin belirlenmesinde buna bağlı olarak da pazarlanmasında oldukça önem kazanmıştır. Bu çalışma ile İç Anadolu bölgesinden Ereğli, Karapınar (Konya), Ayrancı (Karaman) ve Ulukışla (Niğde) ilçelerinin farklı lokalitelerindeki 19 bal üreticisinden alınan örneklerin palinolojik yönden incelenerek, o yörelerde üretilen ballara ait nektar ve polen kaynağı olan bitkilerin tespiti amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bal örnekleri 2015 yılının Kasım ayında Ereğli, Karaman, Karapınar ve Ulukışla bölgelerindeki üreticilerden temin edilmiştir. Polen analizleri için preparatlar, Uluslararası Arı Araştırma Birliğinin tavsiye ettiği (Louveaux ve ark. 1970) ve Doğan ve Sorkun (2002)'un geliştirdiği yöntemle yapılmıştır. Polen preparatlarının hazırlanması amacıyla; homojen hale getirilmiş stok baldan steril tüplere alınan 10 gram bal, 20 mL distile su ilave edilerek su banyosunda 45C⁰ de bekletilerek, balın su içinde çözünmesi sağlanmıştır. Örnekler, 3500 devirde 45 dakika santrifüj edildikten sonra tüplerin dibinde oluşan polen çökeltisi, bir miktar bazik fuksinli gliserin jelatin ile bulaştırılarak daimi preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlarda polenlerin hangi bitki taksonlarına ait oldukları belirlenmiş ve polenlerin sayımları yapılarak yüzde oranları hesaplanmıştır. Araştırılan bal örnekleri buna göre; Eser (< %3), Minör (%3-15), Sekonder (%16-44) ve Dominant (>% 45) olmak üzere 4 grupta incelenmiştir. 10 gram balda Toplam Polen Sayısının belirlenmesi için her bir bal örneği bulunan tüplere, sayısı bilinen *Lycopodium* spor tableti ilave edilmiştir. TPS'na göre polenler, I- (< 20 000), II - (20 000-100 000), III- (100 000-500 000), IV- (500 000-1 000 000), V-(>1 000 000) olmak üzere 5 kategoride sınıflandırılmıştır (Jose ve ark. 1989).

Bulgular: Analiz sonuçlarına göre 12 ve 13 nolu örneklerde Fabaceae (Baklagiller), 7,9,17 ve 18 numaralı örneklerde Scrophulariaceae, 15 numaralı örnekte *Helianthus annuus* ve 5 numaralı örnekte *Zea mays* polenleri dominant bulunmuştur. Sekonder polen grubunda ise Amaranthaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae, *Centaurea*, *Cistus*, *Eucalyptus* and *Linaria* taksonları tespit edilmiştir. Bitki takson çeşidi minör ve eser grupta oldukça fazla iken dominant ve sekonder gruba doğru azalma göstermektedir. Toplam polen sayısı 17 numaralı örnekte en fazla iken 10 numaralı örnekte en az tespit edilmiştir. TPS-10'a göre 3,13 ve 17 numaralı örnekler kategori 2'de (normal polenli ballar), diğer örneklerin tümü kategori 1'de (zayıf polenli ballar) sınıflandırılmıştır.

Sonuç: Bala nektar kaynağı oluşturan bitki taksonları dominant ve sekonder gruptaki polenlerdir. Bu çalışmadaki araştırma sonuçları 2015 yılı için Ereğli, Karapınar (Konya), Ayrancı (Karaman) ve Ulukışla (Niğde) ilçelerinin farklı lokalitelerinden alınan bal örneklerinde *Zea mays*, *Cistus*, Poaceae, Scrophulariaceae ve Amaranthaceae'nin polen kaynağı, *Helianthus annuus* ve Brassicaceae'nin nektar kaynağı, Fabaceae, Rosaceae, *Eucalyptus*, *Centaurea* taksonlarının ise hem polen hem de nektar kaynağı oluşturduğunu, ancak polen miktarı açısından zayıf olduğunu ortaya koymuştur. Araştırılan ballarda en yaygın bitki polenleri Asteraceae, Brassicaceae, *Centaurea*, *Cistus*, *Echium*, Fabaceae, Lamiaceae, *Plantago*, Poaceae, Rosaceae, *Salix*, *Sarcopoterium* ve Scrophulariaceae taksonlarına ait bulunmuştur. İncelenen örneklerin 19'u da, sekonder ve minör grupta bitki taksonlarına ait polenler içerdiği için multifloral özellikte bulunmuştur.

INTRODUCTION

Honeybees visit various flowers for collecting nectar and pollen. The pollen source of the bees varies depending on plant species in the foraging areas. Also the pollen source of the flora is based on the length of flowering season and on the variety of plant species (Baydar and Gürel 1998). Therefore it

is necessary to determine the diversity of flora that is important for beekeeping. Melissopalynological analysis is an effective method to identify the floristic origin of honey. It plays a role in determining the nectar plants visited by foraging bees and also it helps to classify honey. Additionally, pollen analysis of honey informs us

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

about its labeling and provenance for honey consumers; for example, when the source and quality of honey is obvious, it can be marketed more easily.

The first pollen analysis of honey was carried out by Pfister in 1845 (Kaya et al., 2005). The earliest melissopalynological study in Turkey, was performed by Sorkun and İnceoğlu between 1976 and 1981 in the Central Anatolian region. In the following years, many researchers worked on this subject both in Turkey and in other countries (Lieux 1972; Moar 1985; Sorkun et al. 1989; Çakır 1990; Gemici 1991; Andrada et al. 1998; Valencia et al. 2000; Silici 2004; Atanassova et al. 2004, 2012; Yurtsever 2004; Kaya et al. 2005; Erdoğan et al. 2006, 2009; Taşkın and İnce 2009; Sabo et al. 2011; Demir 2012; Song et al. 2012; Puusepp and Koff 2014, Çelemlı et al. 2018).

The cities of Konya, Karaman and Niğde, where honey specimens are collected, are located in the southeastern region of the Central Anatolia. This locality is in the transition zone between Irano-Turanian and the Mediterranean phytogeographical regions. Ünal and Sağlam (2009) investigated flora in the region between Ayrancı Dam, Karakükürtlü Mountain, Alahan, and Karaman regions. This area has a lower semi-arid, very cold, Mediterranean climate, according to Emberger (Akman, 1990).

The dominant plant taxa is forest vegetation consisting of *Amygdalus orientalis*, *Quercus pubescens*, *Juniperus excelsa*. The dominant species of steppe vegetations, consists of *Gundelia tournefortii*, *Genista aucheri*, *Astragalus microcephalus*, *Astragalus gummifer*, *Astragalus angustifolius* subsp. *angustifolius* var. *angustifolius*, *Acantholimon ulicinum* subsp. *ulicinum*, *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*, *Genista involucrata*. The families of Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Brassicaceae and Caryophyllaceae have the most species in this area, respectively. Karaömerlioğlu and Düzenli (2008) studied the flora of Niğde, Konya and Karaman regions. Their results showed that the families of Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae and Poaceae had the widespread plant taxa similar to findings of Ünal and Sağlam (2009).

It is known that pollen analyses in honey produced in the Central Anatolian region are limited (Sorkun and İnceoğlu, 1984; Kaplan and İnceoğlu 2002; Bağcı and Tunç, 2006). The purpose of this study is to identify the plant species in the research areas

that honey bees prefer for nectar and pollen. Furthermore, it is a contribution to another melissopalynological survey of honey samples in Central Anatolia region.

MATERIALS AND METHODS

Honey samples

Honey samples (500 g) to be investigated were collected from honey producers with different localities in Ayrancı (Karaman), Ereğli, Karapınar (Konya) and Ulukışla (Niğde) in November 2015 (Fig. 1).

Preparation of pollen slides from honey samples

For pollen analysis, the pollen preparations were prepared as recommended by the International Bee Research Assosiation (Louveau et al.1970) and modified by Sorkun and Doğan (2002). Accordingly, ten grams of each honey was dissolved in 20 mL of distilled water in the sterile test tube. The solution was centrifuged for 45 min. at 3500-4000 rpm. The supernatant solution was poured and small quantities of each pellet at the bottom of the tubes were mounted with basic fuchsin added glycerine gelatin on permanent glass slides.

For microscopic analysis of the pollen taxa of honey samples, two slides were prepared from each sample. The counting and identification of pollen grains in honey samples were carried out by a Nikon Eclipse E 100 microscope and microphotographs were taken under a Leica DM750 in Department of Biology at Sinop University.

Pollen microphotographs belonging to examined honey samples are given in Fig. 2 and Fig. 3. For identification of pollen types, pollen reference collection, palynological literatures and atlases were used (Erdtman 1954; Kapp et al. 2000; Aytuğ, 1971; Lewis et al. 1983; Faegri and Iversen 1989; Moore et al. 1991; Gemici 1991; Pehlivan, 1995; Sorkun, 2008; Song et al., 2012).

The types of pollen grains were classified into four groups according to percentages: I- Rare group (< 3%), II- Minor group (3%-15%), III- Secondary group (16% -44%), and IV- Dominant group (> 45%).

The total number of pollen (TNP in 10 g honey), was used for distinguishing between artificial and

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

natural honey. For the quantitative analysis of honey samples, the preparation was the same as the method described above. 20 mL of distilled water and tablets containing a known number of *Lycopodium* spores that were available from Department of Geology, Lund University, Sweden was added to ten grams of honey, which was homogenized by mixing it thoroughly with a sterile glass rod. After the tablet dissolved in the water, the tube was centrifuged for 30 min. at 3500-4000 rpm, then the supernatant was poured off. 0.1 mL 50%

of glycerine was added to the residue in the tube. 0.01 mL of this mixture was taken for preparations. Based on the TPN-10 value, the pollen grains were classified into 5 categories; Category I (< 20,000 pollen grains per 10 g honey), Category II (20,000-100,000 pollen grains per 10 g honey), Category III (100,000 – 500,000 pollen grains per 10 g honey), Category IV (500,000 – 1,000,000 pollen grains per 10 g honey), and Category V (>1 000 000 pollen grains per 10 g honey) (Jose et al. 1989).



Figure 1. The map is showing the collecting area in examined honey samples

RESULTS

In total, 55 plant taxa were identified from 19 honey samples, including 48 melliferous (e.g. Apiaceae, Brassicaceae, *Centaurea*, *Linaria*, Lamiaceae, Rosaceae) and 7 non-melliferous (Amaranthaceae, *Betula*, *Fraxinus*, *Pinus*, *Plantago*, Poaceae, *Zea mays*) species. Of these taxa, 21 were classified as a family, 1 was classified as a tribe, 30 were classified as a genera and 3 were classified on the species level.

In the Ereğli district, the two most dominant pollen groups consist of *Zea mays* in sample 5 and the

family of Scrophulariaceae in samples 7 and 9. There were no dominant pollen groups in samples 1 - 4, 6,8 and 10. The taxa of Fabaceae (samples 1, 4, 8), Scrophulariaceae (samples 1, 4, 8, 10), *Linaria* (samples 4, 7, 8, 10), Poaceae (samples 2 and 3), Amaranthaceae (sample 3) and Brassicaceae (sample 6) were identified as secondary pollen groups. A secondary pollen group was not found in samples 5 and 9 (Table 1).

In sample 11, which was collected from Karapınar (Konya) region, the family of Rosaceae was determined as the secondary pollen group.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Dominant pollen group was not observed in this sample.

Seven samples were collected from the Karaman region. The families of Fabaceae (samples 12 and 13), Scrophulariaceae (samples 17 and 18) and *Helianthus annuus* (Sample 15) were the dominant pollen groups. *Eucalyptus* (Sample 13), Fabaceae (Sample 14, 16, 19), *Centaurea* (Sample 15) and Scrophulariaceae (14, 16) were the secondary pollen groups in this region. Dominant pollen group was not seen in sample 14 and the secondary pollen group was not in sample 18.

In the Ulukışla region, there was not any dominant pollen group. The genus of *Cistus* and the family Fabaceae were determined as the secondary pollen groups.

Asteraceae, Brassicaceae, *Centaurea*, *Cistus*, *Echium*, Fabaceae, Lamiaceae, *Plantago*, Poaceae, Rosaceae, *Salix*, *Sarcopoterium* and Scrophulariaceae were the most common pollens belonging to plant taxa in honey samples (Table 1 and 2).

TNP-10 values range from 332 to 42496. Investigated 19 honey samples were multifloral honey. Multifloral honey is defined as containing secondary and minor groups of pollen taxa while unifloral honey is defined as not containing secondary and minor pollen groups. While the highest number of TPN-10 was in sample 17, the lowest was in sample 10. (Table 1). While samples 3, 13 and 17 was classified in Category II based on TNP-10, other examined samples were in classified in Category I.

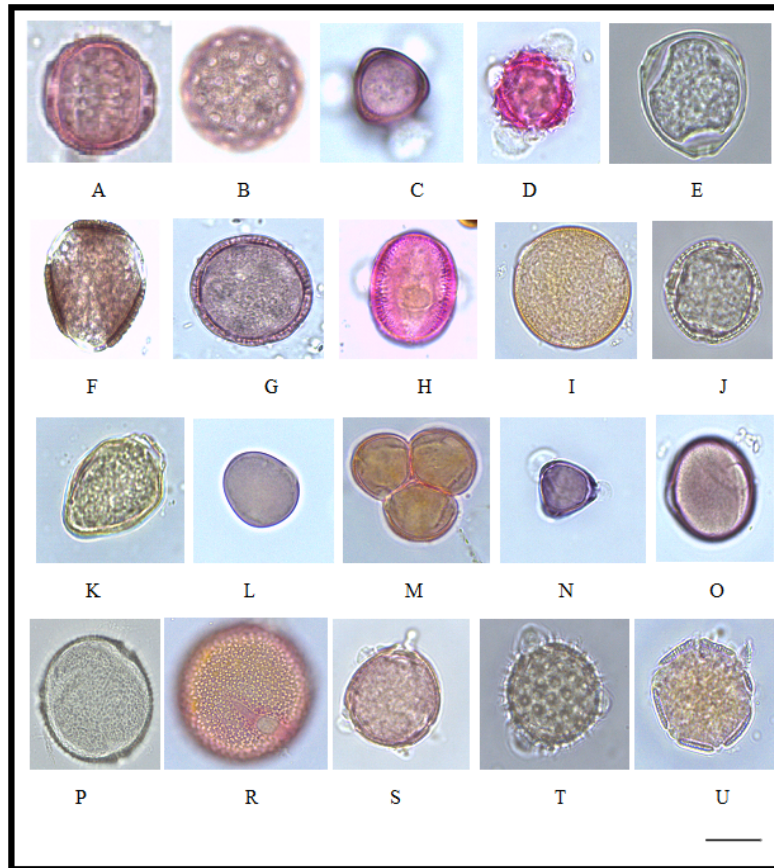


Figure 2. A-*Ailanthus* (X1000) B-Amaranthaceae (X1000) C-Apiaceae (X1000) D-Asteraceae (X1000) E-*Betula* (X1000) F-Brassicaceae (X1000) G-Caryophyllaceae (X1000) H-*Centaurea* (X1000) I-*Cistus* (X1000) J-*Citrus* (X1000) K-Cyperaceae (X1000) L-*Echium* (X1000) M- *Erica* (X1000) N- *Eucalyptus* (X1000) O- Fabaceae (X1000) P-*Fumana* (X1000) R-Geraniaceae (X1000) S-*Hedera helix* (X1000) T-*Helianthus annuus* (X1000) U-Lamiaceae (X1000) Scale bar: 20 µm.

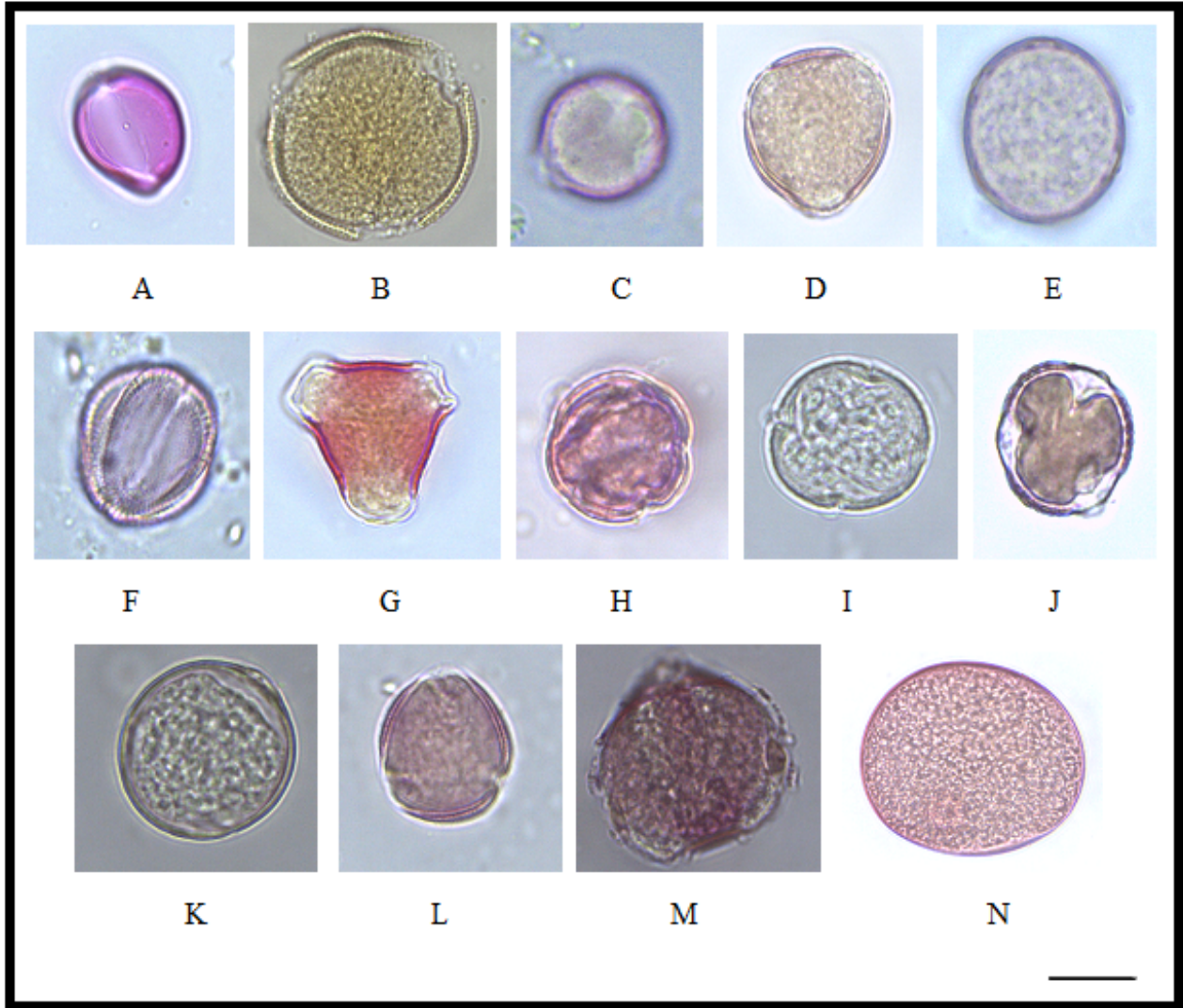


Figure 3. A- Liliaceae (X1000) B- *Linum* (X1000) C- *Linaria* (X1000) D- *Papaver* (X1000) E- *Plantago* (X1000) F- *Primula* (X1000) G- Rosaceae (X1000) H- Rubiaceae (X1000) I- *Rumex* (X1000) J- *Salix* (X1000) K- *Sarcopoterium* (X1000) L- Scrophulariaceae (X1000) M- *Veronica* (X1000) N- *Zea mays* (X1000) Scale bar: 20 μ m.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 1. Pollen types identified, based on their spectra and TNP-10 values from the honey samples.

Samples	Locality	Pollen Spectra	TNP-10
1	Ereğli- Aziziye	* ---- ** Fabaceae, Scrophulariaceae *** Asteraceae, Myrtaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, <i>Salix</i> **** ----	3234
2	Ereğli-Bulgurluk 500m	* ---- ** Poaceae *** Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, <i>Cistus</i> , Fabaceae, <i>Plantago</i> , Rosaceae, <i>Salix</i> , Scrophulariaceae **** ----	5889
3	Ereğli-Bulgurluk 1000m	* ---- ** Amaranthaceae, Poaceae, *** <i>Plantago</i> , Rosaceae, <i>Salix</i> , Scrophulariaceae, <i>Zea mays</i> **** Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cyperaceae, <i>Echium</i> , Fabaceae, Lamiaceae, Unidentifiable	29882
4	Ereğli-Dedeköy	* ---- ** Fabaceae, <i>Linaria</i> , Scrophulariaceae *** <i>Echium</i> , <i>Pinus</i> , Poaceae, <i>Sarcopoterium</i> **** ----	1087
5	Ereğli- Headquarters	* <i>Zea mays</i> ** ---- ***Apiaceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Helianthus annuus</i> , <i>Plantago</i> **** Amaranthaceae, <i>Malva</i> , <i>Sarcopoterium</i> , Poaceae, Rosaceae	17878
6	Ereğli- Namık Kemal neighborhood	* ---- **Brassicaceae *** Asteraceae, <i>Betula</i> , <i>Echium</i> , <i>Euphorbia</i> , Rosaceae **** Apiaceae, <i>Centaurea</i> , <i>Erica</i> , <i>Hedera helix</i> , <i>Linaria</i> , Malvaceae, <i>Mathiola</i> , Poaceae, <i>Salix</i> , Scrophulariaceae, <i>Zea mays</i>	8585
7	Ereğli-Tumlu	* Scrophulariaceae ** <i>Linaria</i> *** Fabaceae, Rosaceae **** <i>Ailanthus</i> , Asteraceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Echium</i> , Lamiaceae, Rubiaceae, <i>Salix</i> , <i>Veronica</i> , Unidentifiable	12932
8	Ereğli-Ulumeşe village	* ---- ** Fabaceae, <i>Linaria</i> *** Brassicaceae, Lamiaceae, <i>Plantago</i> , Rosaceae, Scrophulariaceae **** Amaranthaceae, <i>Cistus</i> , <i>Citrus</i> , Caryophyllaceae, Cichorieae, Dipsacaceae, <i>Echium</i> , Geraniaceae, Liliaceae, <i>Papaver</i> , Poaceae, <i>Salix</i> , <i>Sarcopoterium</i> , Unidentifiable	16253
9	Ereğli Yellice village-1700m	* Scrophulariaceae ** ---- *** <i>Cistus</i> **** Amaranthaceae, Asteraceae, <i>Centaurea</i> , <i>Erica</i> , Geraniaceae, <i>Hedera helix</i> , Fabaceae, Lamiaceae, Liliaceae, <i>Linum</i> , <i>Plantago</i> , <i>Salix</i> , <i>Xanthium</i> , <i>Veronica</i>	2618
10	Ereğli Yellice village-1100m	* ---- ** <i>Linaria</i> , Scrophulariaceae *** <i>Cistus</i> , Fabaceae, Rosaceae **** <i>Echium</i> , Lamiaceae, <i>Plantago</i> , Polygonaceae, Poaceae, <i>Sarcopoterium</i> , <i>Veronica</i>	332

(* Dominant pollen, ** secondary pollen, *** minor pollen, ****rare pollen, TPN-total number of pollen in 10g of honey)

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 1. Continued

11	Konya-Karapınar Beyören	* ---- ** Rosaceae *** Asteraceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Hedera helix</i> , Fabaceae Lamiaceae, Poaceae, <i>Sarcopoterium</i> , Scrophulariaceae, **** ----	5978
12	Karaman-Ayrancı 2800m	* Fabaceae ** ---- *** Brassicaceae, Lamiaceae, <i>Pelargonium</i> , Scrophulariaceae, Rosaceae **** ----	3177
13	Karaman-Ayrancı, Berendi, 700m	* Fabaceae ** <i>Eucalyptus</i> *** Scrophulariaceae **** Amaranthaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Boraginaceae, Caryophyllaceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Citrus</i> , Cyperaceae, <i>Echium</i> , <i>Erica</i> , Geraniaceae, Lamiaceae, <i>Linaria</i> , <i>Morus</i> , Poaceae, <i>Plantago</i> , Polygonaceae, <i>Primulaceae</i> , Ranunculaceae, <i>Rosaceae</i> , <i>Salix</i> , <i>Smilax</i> , <i>Quercus</i> , <i>Zea mays</i>	25405
14	Karaman-Ayrancı, Berendi, 1000m	* ---- ** Fabaceae, Scrophulariaceae *** Boraginaceae, <i>Cistus</i> , <i>Echium</i> , Geraniaceae, <i>Plantago</i> , Poaceae, Rosaceae, Rubiaceae, <i>Veronica</i> **** Asteraceae, Lamiaceae, <i>Salix</i> , <i>Zea mays</i>	2805
15	Karaman-Ayrancı Berendi 1400m	* <i>Helianthus annuus</i> ** <i>Centaurea</i> *** ---- **** Amaranthaceae, Asteraceae, Apiaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Cichorieae, <i>Cistus</i> , Cyperaceae, <i>Euphorbia</i> , Fabaceae, <i>Geranium</i> , Lamiaceae, Liliaceae, <i>Linaria</i> , <i>Mathiola</i> , <i>Plantago</i> , Poaceae, <i>Primula</i> , Rubiaceae, <i>Sarcopoterium</i> , <i>Solanum</i> , Scrophulariaceae, <i>Veronica</i>	8682
16	Karaman-Ayrancı, Kıran village	* ---- ** Fabaceae, Scrophulariaceae *** Lamiaceae, Rosaceae, <i>Salix</i> **** Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Fumana</i> , Geraniaceae, <i>Hedera helix</i> , Poaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, <i>Salix</i> , <i>Sarcopoterium</i> , Unidentifiable	3997
17	Karaman- Ayrancı Kozlu plateau	* Scrophulariaceae ** ---- *** <i>Cistus</i> , Fabaceae, Rosaceae, Rubiaceae **** Asteraceae, Apiaceae, <i>Artemisia</i> , Boraginaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Dipsacaceae, <i>Eucalyptus</i> , <i>Juglans</i> , Lamiaceae, Liliaceae, <i>Linaria</i> , <i>Linum</i> , Poaceae, <i>Salix</i> , <i>Sarcopoterium</i> , <i>Veronica</i>	42496
18	Karaman-Ayrancı Uçharman	* Scrophulariaceae ** ---- *** Fabaceae **** Asteraceae, <i>Centaurea</i> , <i>Cistus</i> , <i>Convolvulus</i> , <i>Echium</i> , Lamiaceae, Primulaceae, <i>Ranunculus</i> , Rubiaceae, <i>Solanum</i> , Unidentifiable	5462
19	Ulukışla-Kılan	* ---- ** <i>Cistus</i> , Fabaceae *** Amaranthaceae, <i>Echium</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Linaria</i> , Scrophulariaceae **** Apiaceae, Brassicaceae, Boraginaceae, <i>Campanula</i> , Cyperaceae, <i>Fraxinus</i> , <i>Linaria</i> , Myrtaceae, Lamiaceae, Poaceae, <i>Plantago</i> , Rosaceae, <i>Quercus</i> , <i>Salix</i>	13814

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 2. The percentage of pollen grains of plant taxa examined in 19 honey samples

Localities	Ereğli									
Samples /Taxa	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10
<i>Ailanthus</i>							0,63			
Amaranthaceae		10,81	32,9		1,54			1,41	0,22	
<i>Artemisia</i>										
Apiaceae			2,61		3,07	1,96				
Asteraceae	3,33	10,81	0,65			10,78	0,63		1,51	
Betula						3,92				
Brassicaceae		8,11	0,65			42,16		10,58		
Boraginaceae										
<i>Campanula</i>										
Caryophyllaceae								0,53		
<i>Centaurea</i>	8,33				11,54	1,96	2,19		0,22	
Cichorieae								0,71		
<i>Cistus</i>		5,41			6,15		1,25	1,59	5,41	3,69
<i>Citrus</i>								0,35		
<i>Convolvulus</i>										
Cyperaceae			2,61							
Dipsacaceae								2,82		
<i>Echium</i>			1,95	3,39		3,92	0,63	0,35		2,95
<i>Erica</i>						1,96			0,22	
<i>Eucalyptus</i>										
<i>Euphorbia</i>						5,88				
Fabaceae	31,67	5,41	1,3	37,29			3,13	22,4	2,92	14,76
<i>Fraxinus</i>										
<i>Fumana</i>								1,23		
Geraniaceae								1,41	0,22	
<i>Hedera helix</i>						1,96			0,22	
<i>Helianthus annuus</i>					8,46					
<i>Juglans</i>										
Lamiaceae			1,3				0,63	4,23	2,38	2,21
<i>Linaria</i>				16,95		1,96	28,84	28,57		21,77
<i>Linum</i>									0,22	
Liliaceae								2,12	0,22	
Malvaceae					1,54	1,96				
<i>Mathiola</i>						1,96				
<i>Morus</i>										
Myrtaceae	3,33									
<i>Papaver</i>								1,06		
<i>Pelargonium</i>										
<i>Pinus</i>				3,39						
<i>Plantago</i>		5,41	10,75		3,07	1,96		4,23	0,22	0,74
Primulaceae										
Poaceae		21,62	23,79	3,39	2,31	1,96		1,41		0,74
Polygonaceae										0,74
<i>Quercus</i>										
Ranunculaceae	3,33									
Rosaceae	3,33	10,81	3,91		1,54	8,82	5,64	5,64	1,4	6,27
Rubiaceae							0,63			
<i>Salix</i>	10	10,81	3,26			1,96	2,51	0,35	0,22	6,27
<i>Sarcopoterium</i>				3,39	1,54			1,06	2,92	1,84
Scrophulariaceae	36,67	10,81	4,56	32,2	1,54	1,96	52,03	7,23	80,84	36,53
<i>Smilax</i>										
<i>Solanum</i>										
<i>Veronica</i>							0,63		0,22	1,48
<i>Xanthium</i>									0,43	
<i>Zea mays</i>			7,82		57,69	2,94				
Unidentifiable			1,95				0,63	0,7		
Total taxa	8	10	15	7	12	18	14	22	18	13
Pollen Sum	30	18,5	153,5	29,5	65	51	159,5	283,5	462	135,5

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 2. Continued

Localities	Karapınar				Karaman				Ulukışla
Samples /Taxa	Sample 11	Sample 12	Sample 13	Sample 14	Sample 15	Sample 16	Sample 17	Sample 18	Sample 19
<i>Ailanthus</i>									
Amaranthaceae			0,88			0,42			3,9
<i>Artemisia</i>							0,79		
Apiaceae			3,02			0,1	2,78		1,73
Asteraceae	4,44		0,39	1,64	0,55	0,73	0,6	0,58	
<i>Betula</i>									
Brassicaceae		3,27	1,17		2,22	0,21	0,4		2,6
Boraginaceae			0,29	3,28		0,16	0,4		0,87
<i>Campanula</i>									0,87
Caryophyllaceae			0,29		0,55		0,79		
<i>Centaurea</i>	4,44		0,29		1,66	31,88		0,58	
Cichorieae						0,21			
<i>Cistus</i>	13,33		0,68	5,74	2,77	2,15	4,17	1,74	26,41
<i>Citrus</i>			0,88						
<i>Convolvulus</i>								0,58	
Cyperaceae			0,19			0,1			1,73
Dipsacaceae							1,19		
<i>Echium</i>			1,27	5,74				0,58	3,46
<i>Erica</i>			0,68						
<i>Eucalyptus</i>			17,92				0,4		11,26
<i>Euphorbia</i>						0,21			
Fabaceae	6,66	73,8	55,11	36,07	44,32	1	3,97	8,72	27,71
<i>Fraxinus</i>					0,55				0,87
<i>Fumana</i>					0,83				
Geraniaceae			0,19	3,28	1,11	0,21			
<i>Hedera helix</i>	4,44				0,55				
<i>Helianthus annuus</i>						53,75			
<i>Juglans</i>							0,4		
Lamiaceae	4,44	3,27	0,78	2,46	8,86	1	1,39	1,16	0,87
<i>Linaria</i>			2,53			0,52	2,38		4,33
<i>Linum</i>							0,4		
Liliaceae						1,05	0,4		
Malvaceae									
<i>Mathiola</i>						0,1			
<i>Morus</i>			0,19						
Myrtaceae									1,3
<i>Papaver</i>									
<i>Pelargonium</i>		3,27							
<i>Pinus</i>									
<i>Plantago</i>			0,58	3,28		0,47			1,3
Primulaceae			0,19		1,66	1,26		1,16	
Poaceae	4,44		0,19	3,28	0,55	1,68	0,79		2,6
<i>Polygonaceae</i>			0,58						
<i>Quercus</i>			0,58						0,87
Ranunculaceae			0,19		1,66			0,58	
Rosaceae	17,77	3,28	0,68	5,74	4,16		3,37		2,6
Rubiaceae				3,28	2,77	0,16	8,53	0,58	
<i>Salix</i>	13,33		0,29	1,64	4,99		0,6		0,87
<i>Sarcopoterium</i>	8,88				0,55	0,21	1,59		
Scrophulariaceae	13,33	13,11	9,44	19,67	19,11	1,89	64,29	81,98	3,9
<i>Smilax</i>			0,19						
<i>Solanum</i>						0,1		0,58	
<i>Veronica</i>	4,44			3,28		0,42	0,4		
<i>Xanthium</i>									
<i>Zea mays</i>			0,29	1,64					
Unidentifiable					0,55			1,16	
Total taxa	12	6	29	15	20	25	22	13	20
Pollen Sum	22,5	30,5	513,5	61	180,5	953,5	252	172	115,5

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

DISCUSSION

Of the 19 honey samples investigated, pollen grains of 55 plant taxa were identified. The number of pollen grains were highest in samples 13 and 16 from Karaman regions, while the lowest was in samples 1, 4 and 12 from the Ereğli and Karaman regions respectively (Table 1).

Among the samples studied the total amount of pollen was the lowest in sample 2 while the total amount of pollen was the highest in sample 16 (Table 2). The pollen variety of plant taxa declined from the rare group to dominant group (Table 1).

Many researchers indicated that pollen grains in the dominant and secondary groups contribute to the formation of honey as they come from a nectar source (Doğan and Sorkun 2001; Kaya et al. 2005). The results of this study demonstrated that there was not a dominant group in all 11 honey samples (1 - 4, 6, 8, 10, 11, 14, 16, 19). Pollen grains of *Zea mays* (Poaceae) in sample 5 (Ereğli), the family of Scrophulariaceae in samples 7 and 9 (Ereğli), 17, 18 (Karaman), Fabaceae in samples 12, 13 (Karaman) and *Helianthus annuus* in sample 15 (Karaman) were the dominant groups. The secondary group of pollen was not seen in samples 5, 9 (Ereğli), 12, 17, and 18 (Karaman).

Pollen grains of secondary group consist of the family of Scrophulariaceae in samples 1 and 10 (Ereğli), 14 and 16 (Karaman); Poaceae in samples 2 and 3 (Ereğli); Amaranthaceae in sample 3 (Ereğli); Brassicaceae in sample 6 (Ereğli); *Linaria* in samples 7, 8 and 10 (Ereğli); Rosaceae in sample 11 (Konya); *Eucalyptus* in sample 13 (Karaman); *Centaurea* in sample 15 (Karaman) and *Cistus* in sample 19 (Ulukışla).

Sorkun et al. (1999) explained that plant taxa belonging to the families of Asteraceae, Fabaceae, Fagaceae, Myrtaceae, Malvaceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae, Lamiaceae and Oleaceae are the main source of Turkish flower honey. In earlier studies, pollen analysis of 94 honey samples from Central Anatolian regions were studied by Sorkun and İnceoğlu (1984). They found that the pollen taxa of *Astragalus*, *Rubus*, *Lapsana communis*, *Brassica oleracea*, *Teucrium orientale*, *Peganum harmala*, *Consolida raveyi*, *Hedysarum*, *Centaurea triumfettii*, *Heliotropium suaveolens* were dominant.

Another study related to Konya region was conducted by Kaplan and İnceoğlu (2002). They described 63 pollen types in 24 honey samples from the Konya region. According to their results, *Trifolium*, *Achillea*, *Euphorbia*, *Marrubium*, *Helianthus annuus*, *Vicia*, *Lotus*, *Centaurea*, *Medicago* were the source of nectar, while *Papaver*, *Linum*, *Cistus*, *Quercus* and *Fraxinus* were the source of pollen in the investigated honey samples. According to their results, *Helianthus annuus* and plant taxa of Fabaceae e.g. *Medicago*, *Trifolium* were dominant pollen groups and Brassicaceae was a secondary pollen group. In the pollen analysis performed in the Mediterranean region of Turkey, pollen grains of plants belonging to the families Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae and Rosaceae were found as widespread by Silici and Gökçeoğlu (2007).

Taşkın and İnce (2009) analysed pollens in 20 honey samples from Burdur region. Their results exhibited that the taxa of Apiaceae, *Pimpinella anisum*, *Anthriscus*, *Cardamine*, Compositae, *Centaurea*, Ericaceae and *Dianthus* were in dominant groups while the taxa of Brassicaceae, Fabaceae, *Crepis*, *Xeranthemum* and *Trifolium* were in secondary groups. Pollen grains belonging to the taxa of Fabaceae in honey samples were identified most frequent in the different region from Adapazarı, Komati (Çamlıhemşin), Giresun and Kars as it is in this study (Erdoğan et al. 2006; Demir 2012; Temizer et al. 2016; Çelemlı et al. 2018).

The families of Asteraceae, Rosaceae, Poaceae, Brassicaceae, Lamiaceae and the genera of *Centaurea*, *Salix* and *Cistus* were generally common in minor and rare groups of pollen of plant taxa in honey samples (Table 1 and 2). The results of this study agree with their results. Bağcı and Tunç (2006) presented pollen grains belonging to 65 plant taxa in 21 honey samples from the Konya and Karaman provinces. Their results showed that the pollen of *Achillea*, *Astragalus*, *Onobrychis*, and *Trifolium* were dominant.

Pollen analysis of the honey samples revealed that the pollen grains in minor and rare groups contained various plant taxa. Lieux (1979) demonstrated that most of the taxa in the minor and trace groups were randomly mixed in the honey samples. The rare groups of pollen was recorded in samples 13 and 15 from the Karaman region. But five samples (1, 2, 4, 11, 12) had no pollen from the

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

rare group. The minor group was not found only in one sample from the Karaman (15) region (Table 2). These results from the pollen analysis in honey samples are supported by the floristic composition of Niğde, Konya and Karaman regions (Karaömerlioğlu and Düzenli 2008; Ünal and Sağlam 2009).

TNP-10 values ranged from 332 to 42496. In regards to TNP-10 values, pollen grains were classified into Category I as 84,2% (332-17878), and Category II as 15,8% (25405-42496) (Table 1). Whereas the TPN values that were calculated between 400 and 12.400 in the 7 honey samples that were thought to be artificial, the 16 honey samples collected from different regions of Turkey by Başoğlu et al. (1996) was between 14.800 - 37.800. According to the study conducted by Kaplan and İnceoğlu (2002), 15 honey samples were considered to be poor, 7 samples were considered to be normal, and 2 samples were considered to be very rich, in terms of pollen amount.

Bağcı and Tunç (2006) demonstrated that 11 samples were considered to be poor, 6 were considered to be normal, 11 samples were considered to be rich and 3 samples were considered to be very rich in terms of pollen in investigated honey samples. When compared to our results, the quantities of pollen were considered to be poor in 16 honey samples and this was similar to previous findings and 3 samples were considered to be normal. Similar to the results of our study, Temizer et al. (2016) classified 4 honey samples collected from the Giresun region and based on TPN - 10 value, 2 samples were classified in Group I (< 20000) while the other 2 samples were classified in Group 2 (20000-100000).

The findings of this study exhibited that the taxa of *Zea mays*, *Cistus*, Poaceae, Scrophulariaceae and Amaranthaceae can be considered as pollen sources, *Helianthus annuus* and Brassicaceae as nectar sources, and Fabaceae, Rosaceae, *Eucalyptus*, *Centaurea* as nectar and pollen sources that were visited by honeybees in the investigated area.

CONCLUSION

The findings of this study demonstrated that pollen grains of the family of Fabaceae, Rosaceae, the genera of *Eucalyptus* and *Centaurea* were in nectar and pollen sources for honey production, but 84.2% of the surveyed honey samples had a poor amount of pollen in 10 grams of honey that were sampled at different locations in the year of 2015. In this case, the following probabilities can be put forward: honeybees may not have collected pollen from certain plants due to unsuitable climatic conditions such as drought and excessive rainfall. The pollen content of honey may have been removed by filtration or if bees were fed with sugar syrup then this would dilute the amount of pollen in the sampled honey.

Aknowledgements

I would like to thank Esra Yücedağ for helping to provide honey samples and also Dudu Bal to edit the manuscript.

REFERENCES

- Akman, Y. (1990). İklim ve Biyoiklim. Palme Yayınları, Ankara.
- Andrada, A., Valle, A., Aramayo, E., Lamberto, S., Cantamutto M. (1998). Pollen Analysis of Honey from the Austral Mountains Buenos Aires Province, Investigation Agraria. *Produccio Y Protection Vegetales* 13 (3): 265-275.
- Atanassova, J., Bozilova, E., Todorova, S. (2004). Pollen analysis of honey from the region of three villages in west Bulgaria. *Phytologia Balcanica* 10 (2-3): 247-252.
- Atanassova, J., Yurukova, L., Lazarova, M. (2012). Pollen and inorganic characteristics of Bulgarian unifloral honeys. *Czech J Food Sci* 30: 520-526.
- Aytuğ, B. (1971). İstanbul Çevresi Bitkilerinin Polen Atlası. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları*. İstanbul, 330. Ankara. 324p.
- Bağcı, E., Tunç, B. (2006). Hadim-Taşkent (Konya), Sarıveliler (Karaman) yöresi ballarında polen analizi. *S.Ü. Fen Ed. Fak. Derg.* 28: 67-76.
- Başoğlu, F.N., Sorkun, K., Loker, M., Doğan, C., Wetherilt, H. (1996). Saf ve sahte balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- palinolojik kriterlerin saptanması. *Gıda*, 21 (2): 67-73.
- Baydar, H., Gürel, F. (1998). Antalya doğal florasında bal arısı (*Apis mellifera*)'nın polen toplama aktivitesi, polen tercihi ve farklı polen tiplerinin morfolojik ve kalite özellikleri. *Tr. J. of Agriculture and Forestry* 22: 475-482.
- Çakır, H. (1990). Balıkesir yöresi ballarında dominant ve sekonder polenler. *M. Sc. Thesis*. Uludağ University. Bursa. 77 p.
- Çelemlı, Ö.G., Özenirler, Ç., Bayram, N.E., Zare, G., Sorkun, K.(2018). Melissopalynological analysis or geographical marking of Kars honey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 24(1): 53-59.
- Demir, E. (2012). Pollen analysis of honey samples from Komati (Çamlıhemşin) Plateau. *Mellifera* 12-24: 11-16.
- Doğan, C., Sorkun, K. (2001). Türkiye'nin Ege, Marmara, Akdeniz ve Karadeniz Bölgelerinde Toplanmış Ballarda Polen Analizi. *Mellifera* 1(1):2-12.
- Erdoğan, N., Pehlivan, S., Doğan, C. (2006). Pollen analysis of honeys from Hendek-Akyazı and Kocaali districts of Adapazarı province (Turkey). *Mellifera* 6 (10-12):20-27.
- Erdoğan, N., Pehlivan, S., Doğan, C. (2009). Pollen analysis of honeys from Sapanca-Karapürçek-Geyve and Taraklı districts of Adapazarı province (Turkey). *Mellifera* 9-17:9-18.
- Erdtman, G. (1954). An Introduction to Pollen Analysis. *Chronica Botanica Company*. 239p.
- Fægri, K., Iversen, J. (1989). Textbook of Pollen Analysis. *Wiley and Sons*. New York. 328 p.
- Gemici, Y. (1991). İzmir yöresi ballarında polen analizi. *Doğa Turk-Journal of Botany* 15:291-296.
- Jose, M., Demalsy, F., Parent, J., Alexander, A.S. (1989). Microscopic analysis of honey from Manitoba, Canada. *Journal of Apicultural Research* 28 (1): 41-49.
- Karaömerlioğlu, D., Düzenli, A. (2008). Doğu Akdeniz Bölgesi Bitkileri. Yüksek Lisans Tezi. *Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü* Cilt:17-2.
- Kapp, R. O., Davis, O.K., King J.E. (2000). Pollen and Spores. *American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation Publication*. U.S.A. 279p.
- Kaplan, A., İnceoğlu, Ö. (2002). Pollen analysis of Konya region honeys. *Sistemik Botanik Dergisi* 9: 101-109.
- Kaya, Z., Binzet, R., Orcan, N. (2005). Pollen analyses of honeys from some regions in Turkey. *Apiacta*, 40: 10-15.
- Lewis, W. H., Vinay, P., Zenger, V. E. (1983). Airborne and allergenic Pollen of North America. *The John Hopkins University Press*. Baltimore and London. 254p.
- Lieux, M. H. (1972). A Melissopalynological study of 54 Louisiana (USA) honeys. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 13: 95-124.
- Lieux, M.H. (1979). Minor honeybee plants of Louisianan (USA) indicated by pollen analysis. *Econ Bot* 32: 418-432.
- Louveaux, J., Maurizio, A., Vorhwohl G. (1970). Method of Melissopalynology. *Bee World* 51: 125-138.
- Moar, N. T. (1985). Pollen Analysis of New Zealand Honey. *Journal of Agricultural Research* 28: 38-70.
- Moore, D., Webb, J. A., Collinson, M. E. (1991). Pollen Analysis. *Blackwell Scientific Publications*. London, U.K. 216 p.
- Pehlivan, S. (1995). Türkiye'nin Alerjen Polenler Atlası. *Ünal Offset Matbaacılık Sanayi ve Ticaret Ltd. Şirketi*. Ankara. 191p.
- Puusepp, L., Koff T. (2014). Pollen analysis of honey from the Baltic Region, Estonia. *Grana* 53 (1): 54-61.
- Sabo, M., Potočnjak, M., Banjari, I., Petrović, D. (2011). Pollen analysis of honeys from Varaždin Country, Croatia. *Turk J Bot* 35:581-587.
- Silici, S. (2004). Physicochemical and palynological analysis of honey samples belonging to different regions of Turkey. *Mellifera*, 4-7: 44-50.
- Silici, S., Gokceoglu, M. (2007). Pollen analysis of honeys from Mediterranean region of Anatolia. *Grana* 46 (1): 57-64.
- Song, X-Y., Yao, Y-F., Yang W-D. (2012). Pollen analysis of natural honey from the central region of Shanxi, North China. *Plos One*: 7(11): 1-11.
- Sorkun, K., İnceoğlu Ö. (1984). İç Anadolu Bölgesi ballarında polen analizi. *Doğa Bilim Dergisi* A2, 8,2: 222-228.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Sorkun, K., Güner, A., Vural M. (1989). Rize ballarında polen analizi. *Doğa Türk Botanik Dergisi* 13 (3): 547-554.
- Sorkun, K., Doğan C. (2002). The importance of the total number of pollen types in 10g of honey in distinguishing between natural honey and artificial honey produced in Turkey. *Mellifera* 2-3: 34-38.
- Sorkun, K. (2008). Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları. *Palme Yayıncılık* 462. Ankara. 341 p.
- Taşkın, D., İnce, A. (2009). Burdur yöresi ballarının polen analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 13-1:10-19.
- Temizer, İ.K., Guder, A., Celepli, O.G. (2016). Botanic origin, various physicochemical and antioxidant properties of honey samples from Giresun. Turkey. *J Biol Chem* 44: 209-215.
- Ünal, A., Sağlam, C. (2009). Ayrancı Barajı, Karakükürtlü Dağı, Alahan ve Karaman Sayı 18, Nisan 2009 Arasında Kalan Bölgenin Florası II. *DPÜ Fen Bilimleri Dergisi* Sayı 18: 15-32.
- Valencia, R. M., Horrera, B., Molnar, T. (2000). Pollen and organoleptic analysis of honeys in Leon Province (Spain). *Grana*, 39: 133-140.
- Yurtsever, N. (2004). Kemaliye-Erzincan yöresinde üretilen balların mikroskopik, kimyasal ve organoleptik analizleri ile balın fizikokimyasal özelliklerinin saptanması. *M. Sc. Thesis*. Hacettepe University. Ankara. 113p.

DANDELION HONEY: A NEW MONOFLORAL HONEY RECORD FOR TURKEY

Karahindiba Balı: Türkiye Monofloral Balları İçin Yeni Bir Kayıt

Çiğdem ÖZENİRLER^{1,2*}, Nazlı MAYDA¹, Ömür Gençay ÇELEMLİ^{1,2}, Aslı ÖZKÖK²,
Kadriye SORKUN^{1,2}

¹Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology, TR- 06800 Beytepe, Ankara, Turkey

²Hacettepe University Bee and Bee Products Research and Application Center, TR-06800 Beytepe, Ankara, Turkey

*Corresponding Author / Yazışma Yazarı: cigdemozenirler@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 02.05.2018

Kabul tarihi / Accepted: 20.06.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.485024

ABSTRACT

Taraxacum species are an important food source for many insects because of their early flowering and rich supply of nectar and pollen. *Taraxacum* (dandelion) honey has been characterized and is wide-spread throughout Europe. Although, Turkey, Iran, Afghanistan and the West Himalayas have the highest species richness and character diversities of *Taraxacum*, there are still gaps of knowledge about dandelion honey. The aim of this study was to evaluate the composition of dandelion honey which will be a new characterization of a monofloral honey originating from Turkey.

Key words: *Taraxacum*, Dandelion, Honey, Turkey

ÖZ

Taraxacum türleri erken çiçeklenme dönemleri sebebiyle pek çok böcek için önemli bir polen ve nektar kaynağıdır. *Taraxacum* (karahindiba) balı Avrupa'da üretilmekte olan ve karakterizasyonu yapılmış bir baldır. Türkiye, İran, Afganistan ve Batı Himalayalar *Taraxacum*, tür zenginliği ve karakter çeşitliliği açısından en önemli bölgelerdir. Ancak bu bölgelerde karahindiba balı ile ilgili ciddi boşluklar bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye monofloral balları açısından yeni bir kayıt olan karahindiba balının melissopalinojik ve kimyasal içeriğinin değerlendirilmesidir.

Anahtar kelimeler: *Taraxacum*, Dandelion, Bal, Türkiye

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Taraxacum türleri erken çiçeklenme dönemleri sebebiyle pek çok böcek için önemli bir polen ve nektar kaynağıdır. *Taraxacum* (karahindiba) balı Avrupa'da üretilmekte olan ve karakterizasyonu yapılmış bir baldır. Türkiye, İran, Afganistan ve Batı Himalayalar *Taraxacum*, tür zenginliği ve karakter çeşitliliği açısından en önemli bölgelerdir. Ancak bu bölgelerde karahindiba balı ile ilgili ciddi boşluklar bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye monofloral balları açısından yeni bir kayıt olan karahindiba balı için melissopalinojik ve kimyasal içerik analizlerinin yapılmasıdır.

Karahindiba balı, Bingöl ili sınırları içerisinde arıcılık yapmakta olan arıcıların laboratuvarımıza analiz için gönderilen ballar içerisinde tespit edilmiştir. Dominant polen %96 oranı ile karahindiba kökenlidir. Kimyasal

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

analizler: nem içeriği, GC-MS ile uçucu kimyasal bileşenlerin tespiti, HPLC ile glikoz ve früktoz şeker içeriklerinin tespiti, HPLC ile HMF içeriğinin tespiti ve UV-spektrofotometre ile fenolik içeriğinin saptanmasıdır.

Nem içeriği %14.9 olarak tespit edilmiştir. Karahindiba balının GC-MS ile yapılan uçucu bileşen analizine göre alkoller, aldehitler, yağ asitleri ve bunların esterleri, amino asitler, karboksilik asitler, aminler, aromatik amitler ve diğer kimyasal bileşikler ortaya çıkarılmıştır.

% 11.71 gliseraldehid ve% 8.62 benzamid, 2,4,6-trinitro-N, N-dimetil-bileşiği içerdiği gözlenmiştir. Gliseraldehit diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında en yüksek oranda bulunur. "Butanal, 3 metil" oldukça yüksek bir oranda (%7.89) bulunmuştur.

Früktoz % 46.02, glüköz % 35.21 ve früktoz / glüköz oranı 1.3 olarak bulunmuştur. HMF değerini 1.73 ppm, toplam fenolik içeriği 38.93 ± 0.49 mg GAE / 100g olarak bulunmuştur.

Ülkemizde üretilebilecek karahindiba balının karakterizasyonu için daha çok sayıda örnekle çalışılmalıdır. Bal üreticisi ve tüketicisi ile ekonomik açıdan da değerlendirmeler yapılarak, Türkiye'de üretilmekte olan monofloral ballara bir yenisinin eklenebileceği düşünülmektedir.

INTRODUCTION

The genus *Taraxacum* is a member of the family Asteraceae, subfamily Cichorioideae, tribe Lactuceae and is found widely distributed in the warmer temperate zones of the Northern Hemisphere, inhabiting fields, roadsides and rural sites (Schütz et al., 2006). According to Richards (1973) the most ancestral forms of this genus are centered in west and central Asia. The highest species and character diversities are found in Turkey, Iran, Afghanistan and the West Himalayas, but a similar richness is encountered also in north-central China and the southern Caucasus (Gurdal et al., 2017). In Turkey, the genus is represented by at least 62 taxa, 18 of them are endemic to the country (Gurdal et al., 2017).

Due to its early flowering and rich supply of nectar, in Canada *T. officinale* is an important food source for many insects, including butterflies, bees flies, hawk moths and bumble bees (Jackson, 1982; Stewart-Wade et al., 2002). More than 140 different non-specialist insect pollinators have been recorded on *Taraxacum* flowers. Besides pollen, the inflorescences provide nectar for pollinators. The single seeded fruits (achenes) are plumed with pappus and are effectively transported by wind (Van Dijk, 2007).

In Europe more than 100 botanical species are known to produce unifloral honey (Oddo et al., 2004). Most of them are produced occasionally or are only of local interest, whereas others are part of the import-export market between different European countries (Oddo et al., 2004).

According to the International Honey Commission, *Taraxacum* pollen rarely exceeds 50% in *Taraxacum* labelled honeys, the contributions of other associated plants, such as from *Salix* or Brassicaceae, are found higher proportions (Oddo et al., 2004, Soria et al., 2008).

Taraxacum honey has been also characterized with melissopalynology, physicochemical and sensory characteristics (Oddo et al., 2004). Although Turkey, Iran, Afghanistan and the West Himalayas have the highest species richness and character diversities of *Taraxacum*, there is not any data about the dandelion honey originating from these regions.

The aim of our study is to evaluate a new unifloral honey produced from Turkey: dandelion honey. This will be the first characterization of dandelion honey originating from Turkey.

MATERIALS AND METHODS

Melissopalynological analysis

Honey samples were sent to our laboratory from the Bingöl province in the summer season of 2017. The samples were stored at $22 \pm 2^\circ\text{C}$ until the time of analyses.

The materials were prepared for examination under the microscope according to the method of Louveaux et al. (1970) and Sorkun (2008).

Observed pollen types were classified into three categories: dominant pollen ($\geq 45\%$, D), secondary

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

pollen (16–44%, S), important minor pollen (>3–15%, M) and rare pollen (3%<). When one pollen type represented >45% of the total number of pollen grains, the sample was classified as a monofloral honey (Louveaux et al., 1978).

Moisture

A portable refractometer was used to determine the moisture content of the honey (Bogdanov, 1997, Devillers et al., 2004).

Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis

The Method for GC-MS was performed in accordance with Barcarola et al, (1998), Radovic et al.,(2001), Soria et al.,(2003), and Cuevas-Glory et al.,(2007).

A GC 6890N from Agilent (Palo Alto, CA, USA) coupled with mass detector (MS5973, Hewlett-Packard) was used for the analysis of EEP samples. Experimental conditions of the GC-MS system were as follows: a DB 5 MS column (30 m x 0.25 mm and 0.25 µm of film thickness) was used with a flow rate of mobile phase (He) that was set at 0.7 mL/min. In the gas chromatography part, the temperature was kept at 50°C for 1 min. After this period, the temperature was increased to 150°C with a 10°C/min heating ramp and then kept at 150°C for 2 min. Finally, temperature was increased to 280°C with a 20°C/min heating ramp and then kept at 280°C for 30 min. Chemical components were identified by using standard Willey and Nist Libraries available in the data acquisition system of GC-MS if the comparison scores were obtained higher than 90%.

Sugar analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC)

Sugar analyses (fructose and glucose) were performed according to the harmonized methods of the International Honey Commission (Bogdanov et al., 2002). In a 100-mL volumetric flask 5 g of honey was dissolved in 40 mL water. The honey solution was mixed with 25 mL of methanol. The flask was filled up to with water. The solution was poured through a 0.45 µm membrane filter and collected in sample vials.

The analyses conducted by HPLC (Agilent Technologies 1200 Series, Germany) with a

refractive index detector (HPLC-RID) using a carbohydrate column (Agilent Technologies Carbohydrate 5 µm, 4, 6 x 250 mm, USA).

Determination of hydroxyl methyl furfural (HMF) by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HMF content was determined according to the harmonised methods of international honey commission's suggestions (Bogdanov et al., 2002). 10 g of honey was dissolved with 25 mL of water. The solution was diluted with 50 mL water and then filtered through a 0.45 µm membrane filter. The samples were analyzed by HPLC (Agilent Technologies, USA) with a UV detector (Agilent Technologies, USA) and a C-18 reversed phase column (Agilent Technologies, USA).

Determination of total phenolic contents by UV

Total phenolic contents of samples were analysed by the Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Folin C) colorimetric method described by Slinkard & Singleton (Slinkard and Singleton, 1977).

RESULTS

Plant taxa determined by melissopalynological analysis

As a result of the melissopalynological analysis, it was determined that *Taraxacum* spp. pollen was dominant with 96% prevalence. The rare pollen composition of the honey was determined to be *Carduus* spp. (2.4%), Fabaceae (0.96%) and Euphorbiaceae (0.5%). The total amount of pollen in honey was found to be 7786.

Moisture

The moisture content of dandelion honey was determined as 14.9%.

Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis

GC-MS chemical compounds analysis of dandelion honey revealed alcohols, aldehydes, fatty acids and their esters, amino acids, carboxylic acids, amines, aromatic amides and other chemical compounds.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Table 1. Chemical compositions of dandelion honey sample

Tablo 1. Karahindiba balının kimyasal kompozisyonu

Compounds	Taraxacum Honey
Alcohols	
Benzenemethanol, .alpha.-(1-aminoethyl)-, [R-(R*,S*)]- (CAS) NOREPHEDRINE	0,03
Ethanol, 2-bromo- (CAS) 2-Bromo	1,78
Ethanol, 2-bromo-(CAS) 2-Bromoethanol Ethylene bromohydrin	8,83
1,2-Ethandiol, diformate (CAS) ETHYLENE DIFORMATE Glycol diformate	0,23
Aldehydes	
Glyceraldehyde	11,71
Pentanal (CAS)	3,26
Butanal, 3-methyl-	7,89
Fatty Acids and Their Esters	
Octadecanoic acid (CAS)	0,08
Amino acids	
L-Alanine, ethyl ester	0,27
Carboxylic acids	
1-Piperazinecarboxylic acid (CAS) PIPERAZINE CARBONATE	1,14
Acetic acid, hydroxy[(1-oxo-2-propenyl)amino]-2-Acrylamidoglycolic acid	3,00
Amines	
1-Propanamine, N,2-dimethyl- Propylamine, N,2-dimethyl-	0,49
n-Hexylmethylamine N-n-Hexylmethylamine 1-Hexanamine, N-methyl	1,05
1-Pentanamine, N-methyl- Pentylamine, N-methyl- Methylamylamin	0,69
2-Butanamine, 3-methyl- (CAS) 2-Amino-3-methylbutane	0,10
1-Methyldodecylamine 2-Aminotridecane	0,56
Aromatic amides	
Benzamide, 2,4,6-trinitro-N,N-dimethyl-	8,62
1,2-Hydrazinedicarboxamide Biurea Hydrazodicarbonamide	0,69
Urea, N-methyl-N-nitroso- (CAS) N-Nitroso-N-methylurea NSC 23909	1,41
Others	
Piperazine (CAS) R22 Uvilon Antiren Pipersol Lumbrica	1,76
1,2,4-Triazine aS-Triazine	2,86
(tetrahydroxycyclopentadienone)tricarboxyliron(0)	4,35
4H,6H-Thieno[3,4-c]furan/	3,81
Propanenitrile, 3-(methylamino)-	0,06
2,4(1H,3H)-Pyrimidinedione, 5-nitro- 5-Nitrouracil	0,08

Sugar analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC)

Sugar content of dandelion honey was determined as 46.02% fructose, 35.21% glucose, and a ratio of 1.3 of fructose to glucose.

Determination of hydroxyl methyl furfural (HMF) by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

We found the HMF value to be 1.73 ppm.

Determination of total phenolic contents by UV

The total phenolic content of *Taraxacum* honey was found to be 38.93 ± 0.49 mg GAE/100g.

DISCUSSION

Italian *Taraxacum* honey is characterized by low percentages (usually 5 to 15%) and a relatively high absolute pollen content, because of its almost constant contamination with *Salix* (which is over-represented) (Oddo et al., 1995). The dandelion honey originating from Turkey, had 96 % of pollen composition classified as *Taraxacum* spp., making it a monofloral honey.

Quick complete granulation with fine regular crystals, a cream to yellow color, with sometimes a greyish hue, and an intense pungent ammoniacal persistent smell and flavor, are the other typical features of Italian dandelion honey (Oddo et al., 1995).

Water content (%) was found to be 16.9 ± 0.9 (n = 23) (Oddo et al., 1995). According to our results, the moisture content of dandelion honey was determined to be 14.9%. The difference observed can be attributed to the harvest time or the weather conditions.

Throughout the ages, several health-promoting benefits, including diuretic, laxative, cholagogue, anti-rheumatic, antiinflammatory, choloretic, anti-carcinogenic and hypoglycemic activities, have been attributed to the use of dandelion extracts or the plant itself (Schütz et al., 2006). GC-MS chemical compounds analysis of dandelion honey revealed alcohols, aldehydes, fatty acids and their esters, amino acids, carboxylic acids, amines, aromatic amides and other chemical compounds.

Soria et al. (2008) identified some kind of nitrile compounds in honey that is labelled as *Taraxacum* honey. Similar to their results we found a nitrile compound "Propanenitrile, 3-(methylamino)" at 0.06%, but the authors also mention that the nectar contribution of species belonging to the Brassicaceae family is likely the origin of the relatively high amounts of nitriles in *Taraxacum* honey.

According to the volatile component analysis by GC-MS, we were observed that dandelion honey contains 11.71% glyceraldehyde and 8.62% benzamide, and the 2, 4, 6-trinitro-N,N-dimethyl compound. Glyceraldehyde is found in the highest

percentage compared to the other compounds. Owing to the literature, there is no data about this compound found in any kind of honey. Another compound "Butanal,3 methyl" is found with a quite high percentage (7.89%) compared to the other determined volatile compounds. It is also not found in the composition of any other honey samples to our knowledge. These three compounds (Glyceraldehyde, benzamide, 2, 4, 6-trinitro-N,N-dimethyl, Butanal, 3 -methyl) can therefore be considered as biomarker compounds for *Taraxacum* honey, but further research is needed to validate these biomarkers. Octadecanoic acid, also called Stearic acid, is one of the linear fatty acid esters and it is nature's most common long-chain fatty acids, derived from animal and vegetable fats. It is widely used as a lubricant and as an additive in industrial preparations. It is used in the manufacture of metallic stearates, pharmaceuticals, soaps, cosmetics, and food packaging (Özkök et al. 2016). This compound was found in low concentrations in the dandelion honey. Further research is necessary to fully chemically characterize *Taraxacum* honey.

Sugar content of Italian dandelion honey were determined as $38.8 \pm 1.9\%$ fructose, $39.1 \pm 2.5\%$ glucose, having a ratio 0.99 ± 0.05 of fructose to glucose, and $1.2 \pm 1.5\%$ sucrose (n = 14) (Oddo et al., 1995). We found 46.02% fructose, 35.21% glucose and a 1.3 fructose/glucose ratio.

Both *Helianthus* and *Taraxacum* honey have very high monosaccharide (particularly glucose) content, giving rise to a very high G/W and a very low F/G ratio. This is typical for honey which granulates rapidly (Oddo et al., 1995).

The European Union (EU Directive 110/2001) established that the highest allowed amount of HMF in honey should be 40 ppm, with the exception of honey from tropical origin (80 ppm). Our obtained results were all lower than legal limits with 1.73 ppm and an HMF of 3.5 ± 3.7 mg/kg (n = 23) (Oddo et al., 1995).

Habati et al. (2017) found the total phenolic content of *Zizyphus lotus* honey as 38 mgGAE/100g. Sime et al., (2015) investigated the total phenolic contents of 10 multifloral honey samples and found the values between 330 - 610 mgGAE/100g. Rababah et al. (2012) investigated 12 multifloral honey samples and found the total phenolic values between 33.7 ± 1.2 and 86.3 ± 2.7 mg GAE/100g. Krpan et al. (2009) studied 30 Acacia honey

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

samples and found their total phenolic contents ranging from 31.72 mg/kg to 80.11 mg/kg.

Pontis et al (2014) analyzed 10 honey samples from Roraima, Brazil, and found the total phenolic contents of these honey samples to be between 250 ± 3.24 and 548 ± 3 mg/kg. Meda et al. (2005) found the total phenolic contents of bretaceae honey as 52.08 ± 0.31 and 59.67 ± 1.35 mg GAE/100g, Acacia honey as 93.43 ± 0.87 mg GAE/100g, honeydew honey as 113.05 ± 1.3 and 114.75 ± 1.30 mg GAE/100g, Vitellaria honey as 76.10 ± 0.56 and 83.53 ± 0.25 mg GAE/100g, respectively. Our results show similarities with *Zizyphus lotus* honey and compared to the other honey types it has lower total phenolic content.

CONCLUSION

Palynological and chemical compositions are the two important characters to classify the honey. Marketing of honey is only possible if these features have been evaluated. Honey is marketed specifying its botanical and geographical origin on the label, in order to guarantee authenticity and quality (Escriche et al., 2017).

Although *Taraxacum* honey is a new characterization record for Turkey honey, it has been characterized by International Honey Commission nearly three decades ago. Dandelion honey is a very traditional honey type in Austria. In Turkey, *Taraxacum* species are a really important nectar and pollen source for beekeepers due to its early flowering and rich supply of nectar, but beekeepers are not harvesting this kind of honey separately. Further investigations are necessary for the characterization of *Taraxacum* honey produced in Turkey. In our opinion, this value should be recognized by researchers and beekeeping industry.

REFERENCES

Barcarola R., Centeleghe M., Zanatta P. and Cont L. S. (1998), GC-MS coupled with headspace sampling with reverse carrier flow in sampling step applied to honey characterization, In: 5th international symposium of hyphenated technique in chromatography. Bruges, Belgium, 11-21 p.

Bogdanov, S. (1997). Harmonized methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Centre. Bern, Switzerland, 1-61.

Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld.

Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A., Santiago, L. S., & Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 103(3), 1032-1043.

Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delegue, M., & Dore, J. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food chemistry*, 86(2), 305-312.

Escriche, I., Sobrino-Gregorio, L., Conchado, A., & Juan-Borrás, M. (2017). Volatile profile in the accurate labelling of monofloral honey. The case of lavender and thyme honey. *Food chemistry*, 226, 61-68.

Gurdal, B., Kirschner, J., Štěpánek, J., & Ozhatay, N. (2017). Contributions to the genus *Taraxacum* (Asteraceae)-five new species records for the flora of Turkey. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-7.

Habati, M., Gherib, A., Bakchiche, B., & Benmebarek, A. A. (2017). Study On The Physicochemical, Antioxidant Properties And Mineral Content Of Five Honeys Produced In The Central Region Of Algeria. *Scientific Study And Research-Chemistry And Chemical Engineering Biotechnology Food Industry*, 18(2), 121-134.

Jackson, B. (1982). The lowly dandelion deserves more respect. *Can. Geogr*, 102, 54-59.

Krpan, M., Marković, K., Šarić, G., Skoko, B., Hruškar, M., & Vahčić, N. (2009). Antioxidant activities and total phenolics of acacia honey. *Czech journal of food sciences*, 27(Special issue 1), S245-S247.

Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1970). Internationale Kommission für Bienenbotanik der IUBS Methodik der Melissopalynologie. *Apidologie*, 1(2), 193-209.

Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4), 139-157.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3), 571-577.
- Oddo, L. P., Piazza, M., Sabatini, A., & Accorti, M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*, 26(6), 453-465.
- Oddo, L. P., Piro, R., Bruneau, É., Guyot-Declerck, C., Ivanov, T., Piskulová, J., Russmann, H. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S38-S81.
- Özkök, A., Sorkun, K., Salih, B. (2016) The Microscopic and GC-MS Analysis of Turkish Honeydew(Pine) Honey, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 44 (4), 375-383.
- Pontis, J. A., Costa, L. A. M. A. D., Silva, S. J. R. D., & Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology*, 34(1), 69-73.
- Rababah, T. M., Al-Omouh, M., Brewer, S., Alhamad, M., Yang, W., Alrababah, M., & Esoh, R. (2014). Total phenol, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins and color of honey as affected by floral origin found in the arid and semiarid Mediterranean areas. *Journal of food processing and preservation*, 38(3), 1119-1128.
- Richards, A. J. (1973). The origin of *Taraxacum* agamospecies. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66(3), 189-211.
- Schütz, K., Carle, R., & Schieber, A. (2006). *Taraxacum*—a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(3), 313-323.
- Sime, D., Atlabachew, M., Abshiro, M. R., & Zewde, T. (2015). Total phenols and antioxidant activities of natural honeys and propolis collected from different geographical regions of Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 29(2), 163-172.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Soria, A. C., Martínez-Castro, I., de Lorenzo, C., & Sanz, J. (2008). Occurrence of nitriles in *Taraxacum* labelled honeys. *Food Chemistry*, 107(1), 439-443.
- Sorkun, K. (2008). Türkiye'nin nektarlı bitkileri, polenleri ve balları: Palme Yayıncılık.
- Stewart-Wade, S., Neumann, S., Collins, L., & Boland, G. (2002). The biology of Canadian weeds. 117. *Taraxacum officinale* GH Weber ex Wiggers. *Canadian Journal of Plant Science*, 82(4), 825-853.
- Van Dijk, P. J. (2007). Potential and realized costs of sex in dandelions, *Taraxacum officinale* sl. apomixis: evolution, mechanisms and perspectives, 215-233.

ALGINAT-PROPOLİS MİKROKAPSÜLLERİN *in vitro* SİNDİRİM SİSTEMİNDE SALINIMININ HAM PROPOLİS İLE KIYASLANMASI

Comparing the Release of Alginate-Propolis Micro Capsules in an *in vitro* Digestion System with the Release of Raw Propolis

Merve KESKİN¹, Şaban KESKİN², Sevgi KOLAYLI¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon, Türkiye

²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Bilecik, Türkiye

Yazışma Yazarı / Corresponding Author: merveozdemirkeskin@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 28.07.2018

Kabul tarihi / Accepted: 15.09.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.485031

ÖZ

Propolis, reçinemsî, suda az çözünen vizkoz, yapışkan, keskin kokulu doğal bir karışımdır. Reçinemsî yapısından dolayı ham propolisin biyoyararlılığı düşük olup, propolis çeşitli çözücüler ile muamele edilmekte ve ekstraktları halinde tüketilmektedir. Ekstrakt elde edilmek için bilinçsizce kullanılan çözücüler nedeniyle insan sağlığı tehlikeye sokulmaktadır. Çözücülerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için, çözücü bağımsız propolis yüklü alginat kapsüller elde edildi. Bu kapsüllerin *in vitro* sindirim sisteminde zamana bağlı olarak salınım oranlarının değişimi tespit edildi. Aynı şartlar altında ham propolisin salınım miktarı ile kıyaslandı. Kapsüllerin pH 7,4'e propolis aktif bileşenlerinin %95' inden fazlasını saldığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Mikrokapsül, Sindirim Sistemi, Alginat, Salınım Özellikleri

ABSTRACT

Propolis is a resinous, slightly soluble in water, viscous, sticky, odourous natural mixture. Bioefficacy of raw propolis is limited due to its resinous nature so it is treated with different solvents and consumed as extracts. Health of the consumer is put at risk because of solvents used for preparing propolis extract are not considered carefully. In this study, a solvent free propolis, loaded with alginat microbeads, were prepared, in order to overcome the damaging effects of solvents. The release properties of these beads were temporally determined in a simulated *in vitro* digestive system. Obtained results were compared with data obtained under the same conditions for raw propolis. It was determined that a propolis loaded alginat microbead released about 95% of active components of propolis at a pH of 7.40.

Key words: Propolis, Microbead, Digestive System, Alginate, Release Properties

EXTENDED ABSTRACT

Objective: Propolis is a resinous natural mixture collected and produced by honey bees. It has a strong taste and aroma. The physical and chemical properties of propolis mainly depends on the area it is collected and the method of the collection. It is rich in essential oils and phenolic components so it has high levels of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and anti-tumoral activity. Bioavailability of crude propolis is

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

limited because of its resinous nature. This is why it should be extracted. It is known that 70% ethanol is the best solvent for preparing propolis extract, but other solvents like glycerol, glycol (s), tetrahydrofuran, Dimethylsulphoxide, olive oil etc. have been tested for preparing propolis extract. Some of these solvents including ethanol are harmful for human health. Encapsulation is a practical approach to overcome this problem. In the present study, propolis ethanol extract was encapsulated with sodium alginate and the solvent was removed from the beads by drying. Therefore, ethanol free, consumable alginate microbeads containing propolis active compounds was achieved. The release properties of the beads in a simulated digestive system was compared with the release properties of raw propolis. There is little evidence available on bioavailability of raw propolis or propolis containing products. The main objective of this study is to compare the bioavailability of propolis alginate beads with the release of raw propolis.

Methods: A *In vitro* digestive system was constituted by using simulated gastric and intestinal fluid. For the gastric system a pH of 1.50 HCl/KCl buffer was used and for the intestinal system a pH of 7.40 phosphate buffer with 1% Tween 80 solution was used, respectively. The same amount of raw propolis and alginate-propolis beads (0.1500 g) were put in 30 mL of these solutions separately. Obtained mixtures were put in a 37°C water bath. Once every 30 min, 2 mL of solution was sampled out of the mixtures, individually. The amount of total polyphenol in each of the samples was determined and the release of raw propolis and the beads were calculated as a percentage value, respectively. The Folin–Ciocalteu method was used to determine the amount of total polyphenol in samples.

Results: While the release of phenolic compounds from raw propolis in both of the simulated systems was found to be low, as expected, the amount of phenolic compounds released from the alginate-propolis microbeads was almost complete in the simulated intestinal system. It was also found that alginate-propolis microbeads were stable in the simulated gastric system and little phenolic compounds were released in this environment.

Conclusion: It could be concluded that bioavailability of propolis active compounds was enhanced by preparing alginate–propolis microbeads.

GİRİŞ

Katı, sıvı ve gaz halinde bulunan materyallerin tüm özelliklerini koruyarak belirli koşullar altında kapsüller içerisine alınması ve kapsüllenen materyallerin kontrollü salınımının yapılmasının sağlanması enkapsülasyon teknikleri ile sağlanmaktadır (Nedovic ve ark., 2011; Deladino ve ark., 2008). Kaplanan materyal öz olarak adlandırılırken kaplamada kullanılan materyal ise taşıyıcı, kabuk veya enkapsülant olarak adlandırılmaktadır (Gharsallaoui, ve ark., 2007). Enkapsülasyon ile üretim veya depolama esnasında üründe meydana gelen fonksiyonellik kaybı, kötü aroma, koku oluşumu, yapı bozulması, aktivite kaybı gibi olumsuz etkiler azaltılabilir veya engellenebilirken; nem kontrolü, oksidasyona karşı koruma, aktif indirgenlerin korunması sağlanır ve biyoyararlılık artırılır (Keskin, 2018).

Propolis, çeşitli bitkilerin yaprak, tomurcuk, kabuk vb. kısımlarından işçi arılar tarafından toplanan, reçinensi, suda az çözünen vizkoz, yapışkan, keskin kokulu doğal bir karışımdır. Arılar kovanlarını her türlü fiziksel ve kimyasal tehdit ve tehlikeye

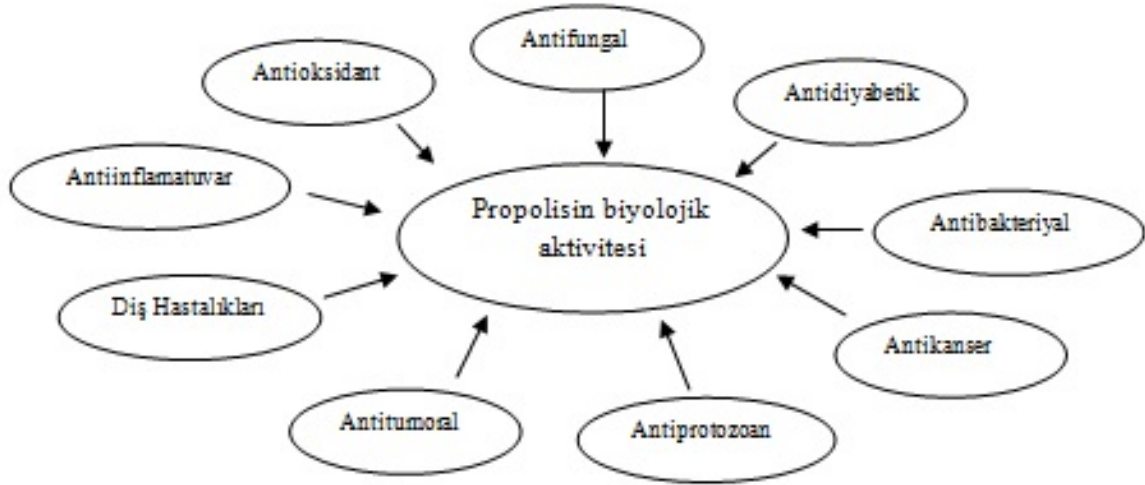
karşı savunma, kovanlardaki çatlakları sıvama, kovan girişini daraltarak yağmacı arıların girişini engelleme ve kovan iç sıcaklığını 35°C civarında tutma gibi birçok amaç için propolis toplamaktadırlar. Propolis içerdiği uçucu yağlar ve fenolik bileşikler nedeniyle yüksek antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antitümöral özellikler sergilemektedir. Bu nedenle propolis eski çağlardan beri mumyalamada, vücudun enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmasını arttırmada ve yaraları kapatarak tedavi etmekte doğal bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Ahn ve ark., 2007; Li ve ark., 2008; Aliyazicioglu ve ark., 2013). Propolisin biyolojik aktif özellikleri Şekil 1.' de özetlenmektedir (Pasupuleti ve ark., 2017).

Biyolojik olarak son derecede yüksek aktiviteye sahip olan bu doğal ürünün kullanılmasında en büyük sorun çözünürlüktür. Ham olarak tüketildiğinde reçinensi yapısından dolayı propolisin biyoyararlılığı düşüktür ve bu nedenle propolis çeşitli çözücüler ile muamele edilmekte ve ekstraktları halinde tüketilmektedir. Propolis için en ideal çözücünün %70 lik etanol olduğu bildirilmektedir, ancak etilalkol de propolis tüketimini

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

sınırlandırmaktadır. Alkolsüz propolis ekstraktları ticari olarak veya merdiven altı diye tabir edilen yollarla piyasaya arz edilmektedir. Ancak, bunların da içeriğinin bilinmemesi ve kullanılan çözücülerin sağlığa olumsuz etkileri gibi nedenlerden dolayı biyoyumlu propolis kapsüllerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bu çalışma ile etanolik

propolis ekstraktı alginat biyopolimeri ile iyonik jelasyon tekniği kullanılarak enkapsüle edildi. Kapsüllerin biyoyararlılığı *in vitro* olarak yapay sindirim sistemi (mide, ince bağırsak) koşullarında ham propolis ve propolisli kapsüllerin salınım özelliklerinin karşılaştırılması ile incelendi.



Şekil 1. Propolisin biyolojik aktivitesi

Figure 1. Biological activity of propolis

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan reaktiflerden sodyum alginat Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany den, Tween 20 Fisher Bioreagents, USA'dan temin edildi. Çalışmada kullanılan propolis örneği 2017 yılında Bilecik ilinden tuzak ile toplanmıştır. Çalışmada kullanılan diğer reaktifler analitik safliktadır.

Propolis ekstraksiyonu

Propolis ekstraksiyonu maserasyon tekniğiyle gerçekleştirildi. Ekstraksiyonda katı sıvı oranı 1:10 olacak şekilde ayarlandı. Propolis örneği - 18°C'de dondurulduktan sonra toz haline getirildi. Daha sonra 3,1687 g ham propolis üzerine 30 mL %70'lik etanol ilave edildi ve 24 saat boyunca, sabit hız ve oda sıcaklığında çalkalayıcıda çalkalandı. Süre sonunda elde edilen karışım Wattman 1 süzgeç

kâğıdı ile süzüldü. Süzüntü propolis ekstraktı olarak kullanıldı.

Alginat- propolis kapsüllerin eldesi

Alginat- propolis kapsüller Keskin' in (2018) bildirdiği metoda göre elde edildi. Bu amaçla %1'lik alginat çözeltisi hazırlandı. 0,1 g sodyum alginat %30'luk (v/v) etil alkol içerisinde çözüldü. 2 mL etanolik propolis ekstraktı, elde edilen alginat çözeltisi içerisine homojen bir şekilde karıştırıldı. Elde edilen homojen karışım bir şırınga yardımıyla 0,05 M CaCl₂ çözeltisi üzerine damlatıldı. Oluşan boncuklar sertleşmenin tamamlanabilmesi için 15 dakika boyunca sabit hız altında karıştırılmaya devam edildi. Elde edilen kapsüller süzüldü, vakum etüvünde 60°C'de kurutuldu. Şematik olarak kalsiyum alginat kapsüllerin eldesi Şekil 2'de

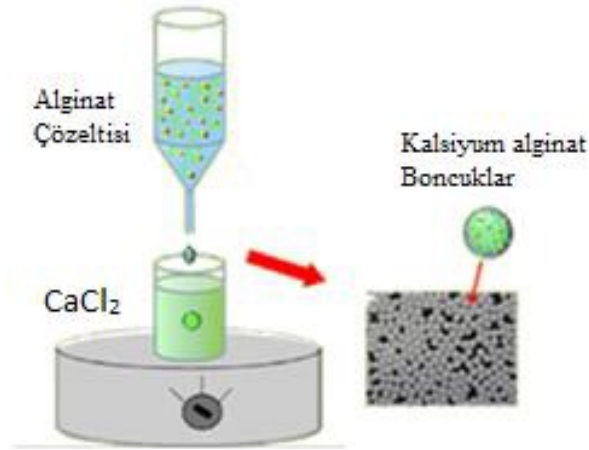
ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

gösterilmektedir. Enkapsülasyon etkinliği aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\% \text{ Enkapsülasyon etkinliği} = (A-B)/A \times 100$$

A: Propolis ekstraktı toplam polifenol miktarı, mg GAE

B: Kapsülasyon sonrası süzüntü toplam polifenol miktarı, mg GAE



Şekil 2. CaCl₂ varlığında alginat kapsüllerin eldesi

Figure 2. Production of alginate capsules (Keskin, 2018)

***In vitro* Salınım**

Mide ortamı *in vitro* olarak pH 1,50 HCl/KCl çözeltisi kullanılarak hazırlandı. Bağırsak ortamı ise *in vitro* olarak pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde %1'lik Tween 20 çözeltisi karıştırılarak hazırlandı. *In vitro* salınım oranlarını belirlemek amacıyla, 37°C'ye getirilmiş ve ağız kapalı durumdaki ayrı ayrı erlenler içerisinde karışan 30 mL ortam (mide, ince bağırsak) içerisine ham propolis ve alginat-propolis kapsül örneklerinden 0,1500'er g eklendi. Her 30 dakikada bir ortamdan 2 mL çözelti alınarak santrifüj edildi. Her seferinde alınan çözelti kadar erlenlere kullanılan ortam çözeltisinden eklendi. Bu işlem 2 saat boyunca tekrarlandı. Elde edilen süpernatantlarda toplam polifenol analizi yapıldı ve salınım miktarı % olarak hesaplandı (Korkmaz ve ark., 2016; Slinkard ve ark., 1977; Singleton ve Rossi, 1965).

Toplam Polifenol Tayini

Her bir adımda örneklerin toplam polifenol miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile belirlendi. Bu metot

örneklerdeki fenolik bileşiklerin folin reaktifini mavi renkli bir komplekse indirgemesi esasına dayanmaktadır. İndirgenmiş kompleks 760 nm de maksimum absorpsiyon göstermektedir. Fenolik standart olarak gallik asit kullanıldı (Singleton ve Rossi, 1965; Slinkard ve ark., 1977). Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edildi.

İstatistiksel Hesaplamalar

Elde edilen sonuçlar üç tekrarın ortalama değerleri olarak hesaplandı. Hesaplamalar Microsoft Office Excel (2013) kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Keskin (2018)'e göre elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, propolis ekstraktı ve kapsülasyon sonrası kalan süzüntüde toplam polifenol tayini yapılarak belirlendi. Buna göre elde edilen alginat-propolis kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği %97,3 olarak hesaplandı. Elde edilen kapsüller Şekil 3.'de gösterilmektedir.



Şekil 3. Alginat- propolis kapsüller

Figure 3. Alginate- propolis beads

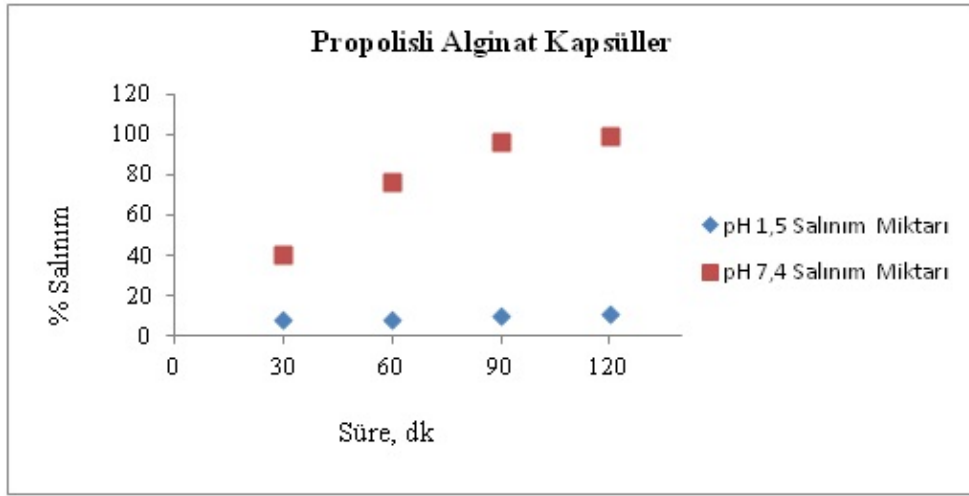
Elde edilen kapsüllerin sindirim sistemindeki davranışı, yapay mide ve ince bağırsak sıvısı kullanılarak belirlendi. Elde edilen bulgulara göre ham propolisin sindirim sisteminde ki salınımı beklenildiği gibi oldukça düşük olarak belirlendi. Alginat-propolis kapsüllerin ise 2 saat sonunda yapay ince bağırsak sıvısı içerisinde tamamen dağıldığı ve içerdiği aktif bileşenleri tamamen saldığı tespit edildi (Şekil 4). Hem ham propolis hem de alginat-propolis kapsüllerin yapay mide sıvısı içerisinde oldukça düşük salınımına sahip olduğu belirlendi. Alginat-propolis kapsüller ve ham propolisin salınım bulguları sırası ile Şekil 5 ve Şekil 6'de gösterilmektedir.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



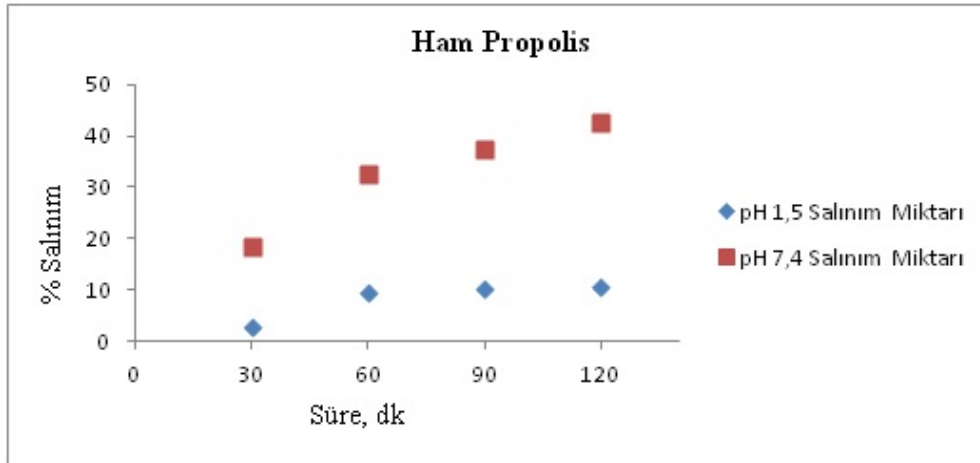
Şekil 4. Alginat-propolis kapsüllerin çözelti içerisinde dağılımı

Figure 4. Solubility of alginat-propolis beads



Şekil 5. Alginat- propolis salınım özellikleri

Figure 5. Alginate-propolis release properties



Şekil 6. Ham propolis salınım özellikleri

Figure 6. Raw propolis release properties

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

TARTIŞMA

Enkapsülasyon tekniklerinin proses ve depolama kararlılığı, doz kontrolü, oksidasyondan koruma vb. bir çok avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle son yıllarda gıda sektöründe özellikle fonksiyonel gıdaların üretilmesi sürecinde enkapsülasyon teknikleri kullanılarak yeni ürünlerin elde edilmesi artan bir ivme kazanmıştır. Gıda endüstrisinde özellikle biyo veya biyouyumlu polimerlerin kullanımı oldukça yaygındır. Doğal bir koruyucu olan propolisin gıda alanında kullanımı oldukça sınırlıdır. Bu durum propolisin reçinemi yapısı, kendine has ağır bir koku ve aromaya sahip olmasının doğal bir sonucudur.

Propolisin gıda endüstrisinde kullanımını kısıtlayan önemli bir diğer parametre ise onun en iyi etilalkolde çözünbilmesidir. Propolis sağlık alanında da önemli bir paya sahiptir. Arı ürünleri ile tedavi son yıllarda dünya genelinde yükselen bir ivme kazanmıştır. Bu ürünlerden beklenen faydanın sağlanabilmesi içerdikleri aktif bileşenlerin hedeflenen organa yeterli miktarda ulaştırılabilmesi ile mümkündür. Enkapsülasyon ile aktif bileşenler sindirim sisteminin istenilen bölgesine hedeflenebilmekte ve doğru yerde tam olarak salınımları mümkün kılınabilmektedir.

Propolis reçinemi yapısından dolayı en iyi alkolde çözüldüğünden, bu çalışmada etanol fazına alınan biyoaktif bileşenlerinin kapsülasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen kapsüllerin etüvde kurutulması ile alkolü giderilmiş tüketilebilir propolis-alginat kapsüller elde edildi. Bu kapsüllerin sindirim sistemindeki davranışları incelenerek ham propolis kullanılarak elde edilen verilerle ve literatürle kıyaslandı. Literatür incelendiğinde farklı enkapsülantlar kullanılarak propolis aktif bileşenlerinin enkapsüle edildiği birçok çalışma olmakla birlikte bu kapsüllerin sindirim sistemindeki davranışları ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde, farklı biyopolimerler kullanılarak elde edilen kapsüllerin ve jellerin salınım oranlarının birbirinden oldukça farklı olduğu görülmüştür. Juliano ve ark., (2007) alginat kullanarak elde edilen kapsüllerin, polifenollerini yavaşça salıdığı ve 2 saat sonunda %96,3 oranında salınım olduğunu ifade etmektedir. Literatürde iyonik jelyasyon tekniği ve alginat kullanılarak elde edilen propolisli kapsüller ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır.

Fakat polimer ve tekniklerin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Duran ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, poli- ϵ kaprolakton kullanarak propolis aktif bileşenlerinin kapsüllenmiş ve elde edilen kapsüllerin belirlenen koşullarda aktif bileşenlerin ortalama %60'ını salıdığı bildirilmiştir. Kalogeropoulos ve ark., (2009) β -siklodekstrin kullanarak etanolik propolis ekstraktını kapsüllenmişlerdir. Salınım yüzdesinin 2 saat sonunda ortalama %40 civarında olduğu belirtilmiştir. Liu ve ark., (2007) dış macunu yapımında kullandığı propolis yüklü kitosan nanokapsüllerin salınımı incelemiştir. Elde edilen nanokapsüllerin 10 saatin sonunda %88 oranında salınım yaptığı tespit edilmiştir. Enkapsülasyon için kullanılan polimerin ve yöntemin kapsülleme etkinliği üzerine etkisi olduğu gibi salınım özellikleri üzerine de etkisi vardır. Gerek bu çalışmada elde edilen veriler gerekse literatür çalışmaları bu durumu desteklemektedir.

SONUÇ

Bu çalışma ile elde edilen alkolü giderilmiş propolis yüklü alginat kapsüllerin hedef noktada yüksek oranda salınım yaptığını göstermektedir. Ham olarak tüketilen propolisin reçinemi yapısından dolayı salınımının ve sindirim oranının düşük olduğu, alkol bağımsız tüketilebilir kapsüllerin bağırsak ortamında neredeyse tamamen aktif bileşenleri salıdığı ve ham propolise göre iki kat daha fazla aktif bileşenleri hedef noktaya ulaştırabileceği de gözlenmiştir. Geleneksel ve tamamlayıcı tıpın ve apiterapinin hızla önem kazanmasıyla ilaç etkisi gösterecek olan doğal ürünlerin hedef noktaya varışı ve beklenen etkiyi göstermesi açısından enkapsülasyon teknikleri önem arz etmektedir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda, propolisin apiterapi amaçlı kullanımını ve etkinliğini artıracak ifade edilebilir.

KAYNAKLAR

- Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F. ve Nakayama, T. (2007). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China, *Food Chemistry*, 101,1383-1392.
- Aliyazicioglu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E. ve Kolayli, S. (2013). Properties of phenolic composition and biological activity of propolis

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- from Turkey, *International Journal of Food Properties*, 16, 277-287.
- Deladino, L., Anbinder, P.S., Navarro, A.S. ve Martino, M. N. (2008). Encapsulation of Natural Antioxidants Extracted from *Ilex paraguariensis*, *Carbohydrate Polymers*, 71, 126–134.
- Duran, N., Marcato, P.D., Buffo, C.M.S., De Azevedo, M.M. M. ve Esposito, E. (2007). Poly (ϵ -caprolactone)/Propolis Extract: Microencapsulation and Antibacterial Activity Evaluation, *Pharmazie*, 62, 287-290.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. ve Saurel, R., (2007). Applications of Spray-drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview, *Food Research International*, 40, 1107–1121.
- Juliano, C., Pala, C.L. ve Cossu, M. (2007). Preparation and characterisation of polymeric films containing propolis, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17 (1).
- Kalogeropoulos; N., Konteles, S., Mourtzinis, I., Troullidou, E., Chiou, A. ve Karathanos, V. T., 2009. Encapsulation of Complex Extracts in β -cyclodextrin: An Application to Propolis Ethanol Extract, *Journal of Microencapsulation*, 26, 7, 603-613.
- Keskin, M. (2018). Propolis ve özütlerinin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve enkapsülasyonu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Korkmaz, O., Girgin, B., Sunna, Ç., Yavaşer, R. ve Karagozler, A. A., (2016). Production and Investigation of Controlled Drug Release Properties of Tamoxifen Loaded Alginate-Gum Arabic Microbeads, *JOTCSA*, 3, 3, 47-58.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y. ve Kadota, S. (2008). Cytotoxic Constituents From Brazilian Red Propolis and Their Structure–Activity Relationship, *Bioorg., Med., Chem.*, 16, 5434–5440.
- Liu, H., Chen, B., Mao, Z. ve Gao, C. (2007). Chitosan Nanoparticles for Loading of Toothpaste Actives and Adhesion on Tooth Analogs, *Journal of Applied Polymer Science*, 106, 4248–4256.
- Nedovic, V., Kalusevica, A., Manojlovic, V., Levica, S. ve Bugarski, B. (2011). An Overview of Encapsulation Technologies for Food Applications, *Procedia Food Science*, 1, 1806 – 1815.
- Pasupuleti, V., R., Sammugam, L., Ramesh, N., Gan, S.H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits, *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1259510.
- Singleton V. L. ve Rossi J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic–Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Slinkard, K ve Singleton, V.L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

PROPOLİSTE STANDARDİZASYON MÜMKÜN MÜ?

Standardization of Propolis, is it Possible?

Merve KESKİN, Sevgi KOLAYLI

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon, Türkiye
Yazışma Yazarı / Corresponding author: merveozdemirkeskin@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 18.08.2018 Kabul tarihi / Accepted: 15.10.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.485080

ÖZ

Propolis kompleks yapıya sahip reçinemsî bir karışımdır. Bileşimi, toplandığı bölgenin florası, toplanma biçimi ve zamanı, arı ırkı gibi birçok değişkene bağlı olduğu için ham propolisin standardize edilmesi oldukça zordur. Ancak, değişik çözücüler ile hazırlanan propolis ekstraktlarının standardize edilmesi daha mümkündür. Yapılan bu çalışmada Anadolu'nun 13 farklı ilinden toplanan propolis örnekleri ile hazırlanan etanol ekstraktlarının temel bileşenleri araştırıldı. Ekstraktların, mum, balsam, toplam polifenolik madde miktarı (TFM), toplam flavanoid madde miktarı (TFIM), toplam tanen madde miktarı (TTM) ve fenolik madde içeriği temel parametreler olarak ölçüldü. Elde edilen değerler, çalışılan tüm parametrelerin propolisin toplandığı bölge florasına göre değiştiğini ancak, propolis ekstraktlarının standardizasyonu için toplam polifenolik madde miktarı, toplam flavanoid madde miktarı ve toplam tanen madde miktarının önemli kriterler olduğunu gösterdi. Ayrıca Anadolu propolisi ile hazırlanan ekstraktların tanımlanmasında kalitatif olarak kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit gibi fenolik asitlerin önemli kriterler olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, propolis ekstraktlarında tam bir standardizasyonun mümkün olmayacağı, ancak etanolik propolis ekstraktlarının standardizasyonu açısından TFM ve TFIM miktarlarının en önemli kriterler olduğu söylenebilir. Ayrıca Anadolu propolisi ile hazırlanan etanol ekstraktlarının kafeik asit, ferulik asit, luteolin, *t*-sinnamik asit, *p*-kumarik asit yada türevlerini içermesi gerektiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Standardizasyon, Polifenoller, Flavanoidler, Balsam, Mum

ABSTRACT

Propolis is a resinous product with a complex structure. Standardization of raw propolis is difficult because the composition of raw propolis depends on many factors such as flora of the area, harvesting season, collection style and bee strain. However, standardization of propolis extract prepared with ethanol rather than raw propolis could be achievable. In this study, basic components of ethanol extract prepared with propolis samples collected from 13 different localities of Anatolia were investigated. Basic parameters such as wax, balsam, total polyphenol, flavonoid and tannin content of extracts were determined. Phenolic composition of the extracts were also identified by using HPLC-UV with fourteen standard phenolic compounds. Results showed that all parameters were found to differ in terms of the flora of the area propolis collected but total polyphenol, flavonoid and tannin content were found to be important criteria for the standardization of propolis extracts. Moreover, phenolic acids like caffeic acid, *p*-coumaric acid and ferulic acid were determined as characteristic compounds for qualitatively describing ethanol extracts prepared by using Anatolian propolis. As a result, it can be concluded that although absolute standardization of propolis extract

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

is not possible nevertheless total polyphenol and flavonoid contents are important criteria in terms of standardization of propolis ethanol extracts. In conclusion, ethanol extracts prepared with Anatolian propolis should contain caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, *t*-cinnamic acid and luteolin or their derivatives using this standardized method.

Key words: Propolis, Standardization, Polyphenols, Flavonoids, Balsam, Wax

EXTENDED ABSTRACT

Propolis is a resinous product with a complex structure. Standardization of raw propolis is difficult because the composition of raw propolis depends on many factors such as flora in the area, harvesting season, collection style and bee strain. However standardization of propolis extract prepared with ethanol rather than raw propolis could be achievable. In this study, raw propolis samples were collected from 13 different cities in Anatolia and their ethanol extracts were prepared by using a 1:10 ratio (g/v). Basic parameters such as wax, balsam, total polyphenol, flavonoid and tannin content of extracts were determined. Total polyphenol content was determined by using the Folin-Ciocalteu method, and Gallic acid as a standard. Results were expressed as mg of Gallic acid equivalents per g of sample. Total flavonoid content was determined by using the AlCl₃ colorimetric method, and quercetin as a standard.

Results were expressed as mg quercetin equivalents per g of sample. Condensed tannin content was determined by using the Vanillin-HCl method, Catechin was used as a standard. Results were expressed as mg of catechin equivalents per g sample. Phenolic composition of the extracts were also identified by using HPLC-UV with fourteen standard phenolic compounds such as Gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxyl benzoic acid, catechin, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, epicatechin, *p*-coumaric acid, ferulic acid, rutin, daidzein, *t*-cinnamic acid and luteolin.

Statistical analyses and correlations between three parameters such as balsam, total polyphenol content and total flavonoid content were carried out. Results showed that all parameters were found to differ in terms of the flora of the area where propolis was collected. Wax content of the samples was found to differ between 1.40% (lowest) to 9.80% (highest). Balsam content of the samples was found to differ in the range of 23.60% to 71.10%. Total polyphenol and flavonoid content of raw propolis samples was determined to be between 16.13 and 178.34 mg GAE/g and 1.24 to 51.23 mg QE/g, respectively. Condensed tannin content of samples was determined to be in the range of 2.53 to 8.47 mg CatE/g. It was determined from the HPLC-UV analyses that all of the samples contained caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, *t*-cinnamic acid and luteolin.

Total polyphenol, flavonoid and tannin content were found to be important criteria for the standardization of propolis extracts. Moreover, phenolic acids like caffeic acid, *p*-coumaric acid and ferulic acid were determined as characteristic compounds for qualitatively describing ethanol extracts prepared by using Anatolian propolis. As a result, it can be concluded that although exact standardization of raw propolis extract is not possible, nevertheless, total polyphenol and flavonoid contents are important criteria in terms of standardization of propolis ethanol extracts. For example, ethanol extracts prepared with Anatolian propolis should contain caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, *t*-cinnamic acid, and luteolin, or their derivatives.

GİRİŞ

Propolis, bitkilerin yaprak, tomurcuk, kabuk gibi kısımlarından işçi arılar tarafından toplanan reçinemi bir madde olup, kovanların her türlü tehlikeye karşı korunmasında rol oynayan doğal bir karışımdır. İnsanoğlu propolisten eski çağlardan günümüze kadar pek çok alanda yararlanmış olup, mumyalamadan enfeksiyon hastalıklarının tedavisine kadar pek çok alanda kullanılmıştır (Ahn ve ark.,

2007; Li ve ark., 2008; Aliyazıcıoğlu ve ark., 2013). Günümüzde ise daha çok destekleyici ve fonksiyonel bir gıda olarak kullanılan propolis, içerdiği çeşitli uçucu yağlar ve polifenollerden dolayı yüksek antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antitümöral özellikler sergilemektedir.

Propolisin üretim miktarı, fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktif özellikleri elde edildiği coğrafi bölgenin floral özellikleri, toplanma biçimi ve toplanma

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

zamanı gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Neto ve ark., 2017; Silva ve ark., 2015, Usman ve ark., 2016; Popova ve ark., 2017). Propolis üretiminin koloni başına yaklaşık 10 g ile 300 g arasında değişiklik gösterdiği ve bu durumun arı cinsi, iklim şartları, orman florası ve toplama biçimine bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Neto ve ark., 2017; Usman ve ark., 2016; Popova, ve ark., 2017).

Yıllık propolis tüketimi tam olarak bilinmemekle birlikte dünya genelinde propolis tüketiminin yaklaşık 700-800 ton olduğu tahmin edilmektedir. Propolisin önemi anlaşıldıkça üretimi de artmaktadır. Türkiye zengin bitki florası ile önemli derecede propolis üretebilen potansiyeline sahip bir coğrafik konumda olup, propolisin değeri yeterince bilinmediği için yeterli derecede propolis üretimi yapılamamaktadır. Ancak son zamanlarda, arıcıların bilinçlenmesi ve arıcılık üretim tekniklerinin gelişmesine bağlı olarak, ülkemiz arıcılarının başta propolis olmak üzere, bal dışı arı ürünlerini üretim potansiyelleri artış göstermektedir.

Propolis, oldukça kompleks yapıya sahip bir doğal ürün olup, yapısında bulunan bileşenlerin kalitatif ve kantitatif oranları hem toplandığı bitki florasına ve hem de kovanların ihtiyacına göre değişim göstermektedir. Yalıtım, izolasyon ihtiyacı bulunan bir kovanda balmumu, vaks oranı yüksek propolis bulunurken, hijyen ve hastalık durumuna karşı korunmada balsam oranı yüksek propolisler bulunabilir. Ayrıca kovan cidarlarında toplanan propolisler ile tuzaklardan toplanan propolislerin bileşimleri de farklılık göstermektedir (Sarıkaya ve ark., 2009). Bu güne kadar yapılan çalışmalar, propolis ekstraktlarına yoğunlaşmıştır ve bu ekstraktlarda doğal olarak bulunan birbirinden farklı 300 civarında farklı bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerin büyük bir kısmını uçucucu yağlar (terpenler, terpenoidler, yağ asitler vs.) ile polifenolik (fenolik asitler, flavanoidler, kalkonlar, stilbenler) maddeler oluşturmaktadır. Ayrıca propoliste prenilenmiş p- kumarik asitler ve asetogeneren lignanlar, di ve tri terpenler, şekerler, şeker alkoller, hidrokarbonlar ve mineral elementler de bulunmaktadır (Talla ve ark., 2014; Saral, 2018).

Propolis ham olarak tüketilmesi önerilmediğinden, tüketicilere ekstraktları halinde hazır ticari ürünler olarak damlalar, spreyle, haplar ve drajeler ile çeşitli kapsüller şeklinde sunulmaktadır. Ancak tüketici bazında bunların hangi dozlarda kullanılacağı konusunda kuşku vardır. Bu noktada en önemli iki sorun kullanılan çözücülerin kaynağı ve güvenliği ile günlük kullanılacak konsantrasyonların (doz) ne düzeyde olacağı konusundadır. Bunun için kodekslerde propolis standardının oluşturulması ivedilik gerektirmektedir. Çözücü türü ile birlikte ekstraktlardaki fenolik bileşenlerin toplam madde miktarlarının bilinmesi bu kuşku bir miktar önleyecektir. Dolayısı ile propolis ekstraktlarında standardizasyon çalışmalarının yapılması önem arz etmektedir.

Propoliste ilk standardizasyon çalışması 1970'li yıllarda başlamıştır. Bu çalışmalarda iyot testi, sabunlaşma testi, asit sayısı ve potasyum permanganat renk giderim testi gibi basit test parametreleri belirlenmiştir. Bu testlerin sonuçları ile propolisin bileşimi ve biyolojik aktivitesi arasında son derece zayıf bir ilişki vardır (Bankova, 1987). Günümüzde propoliste standardizasyon çalışmaları devam etmektedir. Bu nedenle, yapılan bu çalışma ile propolis de standardizasyon için kullanılması gereken parametrelerin neler olduğunun belirlenmesi amaçlandı. Propolisin toplanma şekli, bölgesel değişimleri gibi faktörler dikkate alınmadan toplam fenolik madde miktarları ile fenolik profilleri araştırıldı. Çalışma bulgularının ülkemiz propolis ekstraktlarının standardizasyonuna katkı sağlaması da amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Türkiye'nin değişik bölgelerinde bulunan arıcılardan (Bilecik, Kayseri, İstanbul, Rize, Kars, Sivas, Kırklareli, Zonguldak, Balıkesir, Ağrı, Yığılca, Siirt (Bittim), Ardahan ham propolis örnekleri (2016 ve 2017 yılı örnekleri) temin edildi (Tablo 1). Kullanılmayan örnekler +4 C'de buzdolabında saklandı.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Tablo 1: Örneklerin temin edildiği iller, flora ve koordinat bilgileri

Table 1. Locality of the samples, flora of the areas and coordinates

İl	Bitki Florası	Koordinatlar (Enlem-Boylam)
Kayseri	Karaçam, kızılçam, köknar, ladin ve meşe	39,6533 X 37,8903
Beykoz	Orman ve fundalık, meşe ve karaçam	41,0082 X 28,9784
Bilecik	Karaçam, kızılçam, sarıçam, köknar, kayın, meşe ve kestane	40,1426 X 29,9793
Sivas	Orman ve fundalık, meşe ve karaçam	39,7505 X 37,0150
Balıkesir	Karaçam, kızılçam, köknar, ladin ve meşe	39,6533 X 27,8903
Demirköy	Meşe ormanları	41,7355 X 27,2245
Zonguldak	Köknar, karaçam, kayın ve meşe	41,4535 X 31,7894
Hemşin	Orman ve fundalık, karaçam	41,0255 X 40,5175
Kars	Çayır ve mera; çam ve meşe	40,6013 X 43,0975
Siirt	Çalı ve meşe	37,9274 X 41,9420
Yığılca	Gürgen, kayın, kestane ve meşe	40,8387 X 31,1626
Ardahan	Çam ormanları	41,1130 X 42,7023
Ağrı	Bozkır	39,7191 X 43,0506

Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Dondurulan ham propolis örneklerinden belirli bir miktar tartıldı, güçlü bir öğütücüde öğütüldü ve yüzey alanı artırıldı. Ekstraksiyon işlemi 1:10 oranında propolis/çözücü oranına göre hazırlandı. Yaklaşık 3 g toz örneğe %98'lik etil alkol ilave edildi ve elde edilen karışım 24 saat boyunca sabit hız ve oda sıcaklığında çalkalayıcıda karıştırıldı. Bu süre sonunda elde edilen karışım Wattman 1 süzgeç kâğıdından süzüldü. Elde edilen çözeltinin hacmi mutlak etanol ile 30 mL'ye tamamlandı ve buzdolabında +4°C'de saklandı.

Kuru Madde Miktarı Tayini (%)

Kuru madde miktarı (%) Wosky ve Salantino (1997)'nin belirttiği metoda göre yapıldı. Bu amaçla sabit tartıma gelmiş tartım kapları ile 10 g ham propolis örneği tartıldı. 105°C' de 5 saat boyunca kurutuldu. 5 saatin sonunda numuneler desikatöre alındı ve soğumasının ardından tartıldı. İlk tartım ve son tartım arasındaki farktan yola çıkılarak % kuru madde miktarı hesaplandı.

Balsam Miktarı Tayini (%)

Balsam miktarı tayini etil alkol ekstraksiyon yöntemine göre yapıldı (Popova ve ark., 2017). Bu

amaçla sabit tartıma gelmiş evaporatör balonu tartılarak ağırlığı tayin edildi (boş tartım). Daha sonra balona 2 mL propolis ekstraktı ilave edildi ve etil alkol evapore edildi. Evaporasyondan sonra sabit tartıma getirilen balonun ağırlığı belirlendi (dolu tartım). Dolu ve boş kapların tartımı arasındaki fark üzerinden % balsam değeri hesaplandı.

Mum Değeri Tayini (%)

Ham propolis vaks değeri Feas ve ark., (2014)'nin belirttiği metotta bazı değişiklikler yapılarak belirlendi. Bu amaçla derin dondurucuda bekletilen ham propolis örnekleri havanda öğütülerek yüzey alanları artırıldı. Daha sonra her bir örnekten ortalama 3 g ayrı ayrı tartıldı ve üzerlerine 15 mL mutlak metanol ilave edildi. Elde edilen karışım sabit hız ve oda sıcaklığında çalkalayıcıda 2 saat çalkalandı. Daha sonra karışım derin dondurucuda (-18°C) bir gece boyunca bekletildi. Elde edilen çözelti sabit tartıma getirilmiş ve darası alınmış süzgeç kâğıdı ile süzüldü. Süzgeç kâğıdında kalan mum miktarı tartılarak belirlendi. Son tartım ile ilk tartım arasındaki fark üzerinden % vaks (mum) değeri hesaplandı.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Folin metodu kullanılarak propolis ekstraktlarının toplam polifenol miktarı belirlendi (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton ve ark., 1999). Gallik asit (GA) standardı kullanılarak kalibrasyon grafiği hazırlandı ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri cinsinden mg GAE/g propolis olarak ifade edildi.

Toplam Flavanoid Tayini

Toplam flavanoid madde miktarı tayini Fukumoto ve Mazza (2000)'ya göre yapıldı. Standart olarak farklı konsantrasyonlarda kuersetin (KE) standardı kullanıldı ve toplam flavanoid miktarı kuersetin eşdeğeri cinsinden mg KE/g propolis olarak ifade edildi.

Kondanse Tanen Miktarı Tayini

Kondanse tanen miktarı tayini Julkunen-Tiitto (1985)'nin belirttiği metoda göre yapıldı. Örneklerin kondanse tanen madde miktarı kateşin eş değeri cinsinden mg KatE/g propolis olarak ifade edildi.

HPLC-UV Analizi

Fenolik bileşen analizi 14 adet fenolik standart kullanılarak HPLC-UV ile analiz edildi. Kalibrasyonu daha önce Çakır ve ark., (2018)'nin valide edilen metot referans alınarak yapıldı.

İstatistiksel Hesaplamalar

Elde edilen deneysel verilerin istatistiksel hesaplamaları Microsoft excel programı kullanılarak yapıldı. Tablo 2'de standart sapma değerleri $p < 0.01$ olduğu için standart sapma değerleri verilmemiştir.

BULGULAR

Kuru Madde Miktarı Tayini

Kuru madde miktarı nem miktarı ile orantılıdır. Yapılan analiz ile birlikte Türkiye propolislerinin nem miktarı belirlendi. Türkiye propolislerinin % kuru madde miktarının %88,42 ile %98,86 aralığında değiştiği belirlendi. Elde edilen verilere göre Anadolu propolislerinin nem miktarının %1,14 ile %11,58 aralığında değiştiği tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 2'de özetlendi.

Balsam Miktarı Tayini

Etanolik ekstrakt içerisinde çözülmüş madde miktarı olarak ifade edilen balsam miktarının %71,10 ile %23,60 arasında değiştiği tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 2'de özetlendi.

Tablo 2. Propolis ekstraktları fenolik bileşenleri

Table 2. Phenolic composition of propolis extracts

Örnek	mg (fenolik bileşen)/ g numune													
	Gallik Asit	Protokatekuik Asit	p-OH Benzoik Asit	Kateşin	Vanilik Asit	Kafeik Asit	Şiringik Asit	Epikateşin	p-Kumarik Asit	Ferulik Asit	Rutin	Daidzein	t-sinamik Asit	Luteolin
Kayseri	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	1.75	T.E.	T.E.	0.84	0.72	0.72	T.E.	1.41	11.20
Beykoz	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	2.75	T.E.	T.E.	0.71	0.83	0.83	T.E.	T.E.	1.83
Bilecik	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	0.2	4.04	0.07	9.50	2.60	9.83	9.83	T.E.	0.26	9.06
Sivas	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	7.33	0.20	T.E.	4.30	0.45	0.45	T.E.	0.36	32.28
Balıkesir	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	5.00	T.E.	T.E.	T.E.	1.30	0.83	0.83	T.E.	1.85	12.00
Demirköy	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	8.86	0.40	T.E.	T.E.	1.08	1.31	1.31	T.E.	1.07	10.80
Zonguldak	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	3.01	T.E.	T.E.	6.27	1.60	2.38	2.38	T.E.	0.28	3.53
Hemşin	0.24	0.05	T.E.	T.E.	T.E.	0.61	T.E.	T.E.	0.27	T.E.	T.E.	T.E.	0.01	1.03
Kars	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	7.00	T.E.	T.E.	1.65	0.80	0.80	T.E.	0.2	4.20
Bittim	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	0.61	T.E.	T.E.	0.89	0.52	0.52	T.E.	0.13	1.09
Yığılca	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	6.43	T.E.	T.E.	2.78	6.67	6.67	T.E.	1.34	13.65
Ardahan	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	3.12	0.16	T.E.	1.16	1.96	1.96	T.E.	0.53	6.62
Ağrı	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	2.94	0.27	T.E.	1.03	1.13	1.13	T.E.	0.32	2.47

T.E. Tayin edilemedi, her bir il için örnek sayısı 3' tür (N=3).

*Analiz sonuçları üç tekrarlı olarak elde edilmiş, standart sapma $< 0,01$ olduğu için tablo değerlerine yansıtılmamıştır.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Mum Değeri Tayini

Propolis örneklerinin toplam mum miktarları değerleri Tablo 1'de özetlenmiş olup, analiz sonucu vaks değerlerinin %1,40 ile %9,80 arasında değişim gösterdiği tespit edildi.

Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Etanolik ekstraktların toplam fenolik madde miktarının (TFM) 178,34 mg GAE/g ile 16,13 mg GAE/g arasında değiştiği tespit edildi ve elde edilen veriler Tablo 2'de özetlendi.

Toplam Flavanoid Tayini

Etanolik propolis ekstraktlarının toplam flavanoid miktarının (TFIM) 51,23 mg KE/g ile 1,24 mg KE/g arasında değiştiği tespit edildi ve elde edilen veriler Tablo 2'de özetlendi.

Kondanse Tanen Miktarı Tayini

Etanolik ekstraktların kondanse tanen madde miktarının 8,47 mg KatE/g ile 2,53 mg KatE/g arasında değiştiği belirlendi. Elde edilen veriler Tablo 2'de verildi.

HPLC- UV Analizi

HPLC-UV analizleri (280 ve 315 nm) UV-Vis dedektör donanımlı Elite LaChrom Hitachi, Japan HPLC ile 14 standart kullanılarak yapıldı ve örneklerde kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinamik asit ve luteolinin her numunede olduğu; bu standartlar içerisinde luteolinin en yüksek miktarda bulunduğu tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 3'te özetlendi.

Tablo 3. Veriler arasındaki korelasyon

Table 3. Correlation of data's

	Balsam	TPM	TFM
Balsam	1		
TPM	0.797735	1	
TFM	0.662649	0.759211	1

TARTIŞMA

Ham propolisin doğrudan kullanımı söz konusu olmadığı için, ekstraktları halinde kullanılmaktadır. Alkol ve su bazlı değişik propolis ekstraktları halindeki ticari ürünler tüketiciye ulaşmaktadır. Ham

propolisin bitki florasına göre değişen kimyasal bileşimi ve biyolojik aktif özellikleri ekstraktlarının da kompozisyonunun değişimine neden olmaktadır. Ekstraktların standardize edilerek tüketiciye arz edilmesi, yani aynı özelliklere sahip propolislerin ekstraktlarının üretilmesi de kolay değildir ancak bu imkânsız da değildir.

Yapılan bu çalışma ile Anadolu propolislerinin etanolik ekstraktlarının bileşimleri analiz edilerek, standardize edilmeleri için ortak özellikleri ortaya çıkarılması amaçlandı. Bu amaçla, çalışmamızda önce ham olarak elde edilen propolis örneklerinin % kuru madde miktarı, % balsam değerleri ve % vaks değerleri ile birlikte etken madde miktarları değişik testler ile tayin edildi. Bunun için, ham propolis örnekleri toplam polifenol miktarları, toplam flavanoid madde miktarları ve fenolik bileşen içerikleri tespit edilerek standart oluşturulması amaçlandı. Elde edilen veriler değerlendirilerek korelasyonlar araştırıldı (Tablo 4).

Analizler ekstraktlar üzerinden yapılmış olup sonuçlar g propolis olarak ifade edilmiştir. Böylece ham propolislerin kaba standardizasyonu için ortalama kalite parametreleri de açığa çıkarılmıştır. (Şekil 1). Ayrıca bu bulguların, toplam polifenol ve flavanoid konsantrasyonu açısından belirli standartta propolis ekstraktlarının hazırlanmasına da katkı sağlayacağı söylenebilir.

Tablo 4. Ham propolis ortalama kalite parametreleri

Table 4. Mean quality parameters of raw propolis

Kalite Parametresi	Ortalama Değer	Örnek Cinsi
% Kuru madde miktarı	% 94 ± 3.8	Ham Propolis
% Nem Miktarı	% 6 ± 3.8	Ham Propolis
% Balsam Miktarı	% 45 ± 14.6	Ham Propolis
% Mum Miktarı	% 5 ± 2.8	Ham Propolis
Toplam Polifenol Miktarı	% 10 ± 5.7	Ham Propolis
Toplam Flavanoid Miktarı	% 2 ± 1.4	Ham Propolis
Kondanse Tanen Miktarı	% 1 ± 0.5	Ham Propolis
Kafeik Asit Fenil Ester Miktarı	% 1 ± 0.5	Ham Propolis
Kafeik asit, ferulik asit, luteolin, t-sinamik asit, p-kumarik asit türevlerinden en az üçünü	% 2 ± 1.0	Ham Propolis

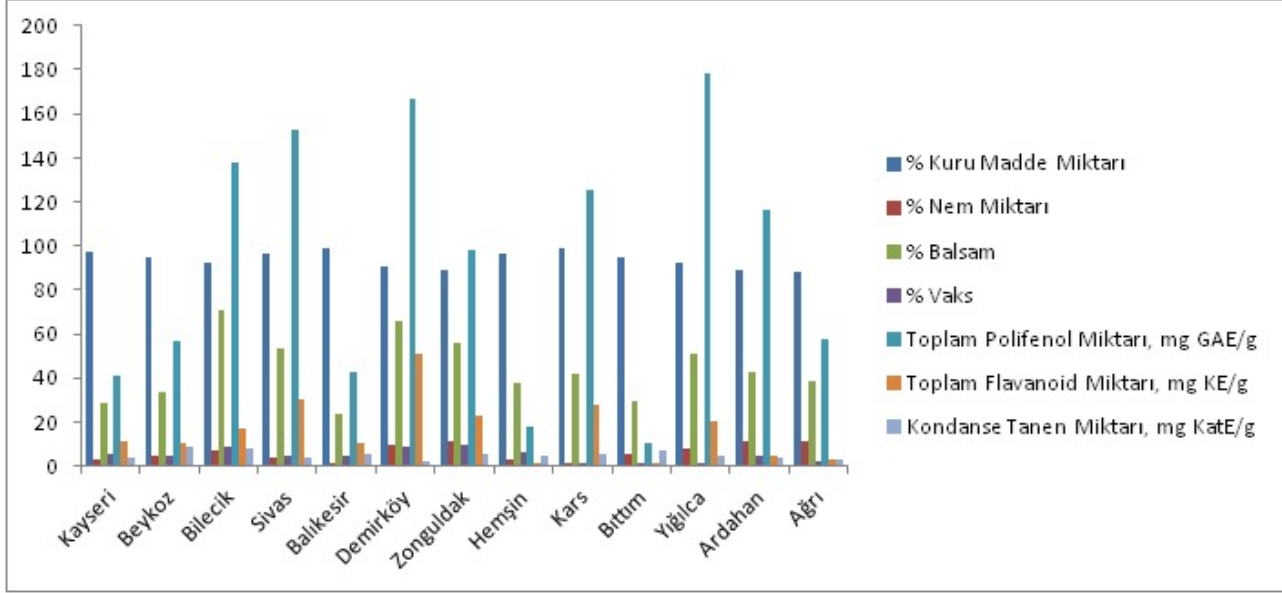
* Tablodaki değerler analiz edilen örneklere ait verilerin ortalama değerlerini ifade etmektedir.

*The values in the table represent the mean values of the data from the analyzed samples.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Şekil 1. Ham propolis örneklerine ait elde edilen veriler

Figure 1. Obtained data for raw propolis samples



*Her bir il için örnek sayısı 3' tür (N=3).

Uçucu maddelerden arındırılmış kuru kalıntı olarak ifade edilen kuru madde miktarı tayini ile birlikte Anadolu'nun değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin nem miktarları ve kuru madde miktarları belirlendi. Ham propolis örneklerinin kuru madde miktarının %88,43 ile %98,86 arasında değiştiği tespit edildi. Nem miktarlarının ise %1,14 ile %11,57 arasında değiştiği belirlendi. Woisky ve Salatino (1997) yaptıkları bir çalışmada propolis örneklerinin kuru madde miktarının %90,2-94,2 arasında değiştiğini ve nem miktarının %10'nun üstünde olamayacağını vurgulamışlardır. Anadolu propolislerinde çok az örnekte nem miktarı %10'un üzerinde bulunurken, büyük bir kısmında nem miktarı düşük bulundu.

Anadolu'nun 13 farklı bölgesinden toplanan ham propolis örneklerinin vaks miktarlarının %1,4 ile %9,8 arasında değiştiği tespit edildi. Propolis kalitesi açısından vaks miktarının düşük, balsam miktarının yüksek olması önemli bir kriterdir (Feas ve ark., 2014; Popova ve ark., 2017). Brezilya, Çin ve Uruguay'dan toplanan ham propolis örneklerinin etanolik ekstraktları ile ilgili araştırmada Uruguay propolis ekstraktında vaks'a hiç rastlanmazken, diğer bölgeler için %2,40 ile %30,60 arasında vaks miktarının değiştiği belirtilmiştir (Bonvehi ve ark., 1994). Anadolu propolislerinde tayin edilen balsam

miktarlarının %23,60 ile %71,10 arasında değişim gösterdiği tespit edildi. Yüksek balsam miktarı yüksek fenolik bileşenleri ve düşük vaksları ifade ettiği bildirilmektedir (Popova ve ark., 2017; Bankova ve ark., 2000). Nitekim Bankova ve ark., (2017) tarafından yapılan çalışmada ham propolis'in %40 ile %60 arasında balsam içerdiği ifade edilmektedir. Anadolu propolislerinde ortalama değerin oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 1). İspanyadan toplanan propolis örneklerinin ham propolislerdeki balsam miktarlarının %52,5-76,2 arasında değiştiği ve vaks değerinin ise %1,8 ile 27,7 arasında olduğu bildirilmektedir (Bonvehi ve Gutierrez, 2011). Farklı Portekiz propolis örneklerinde yapılan çalışmada ham propolislerdeki mum miktarını %4,8-%16,0 aralığında değiştiği rapor edilmiştir (Dias ve ark., 2012).

Bitkisel özütlerin fenolik içeriklerini tam olarak aydınlatmak mümkün olmadığı için toplam fenolik madde miktarı cinsinden fenolik içerik ifade edilmektedir. Folin-Ciocalteu reaktifi ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanan spektrofotometrik yöntemde total fenolik bileşenler ölçülür. Yüksek fenolik içerik miktarı yüksek antioksidan aktiviteyi ifade ederken, aynı zamanda da yüksek biyolojik aktivite anlamına

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

gelmektedir. Anadolu propolislerinin etanolik ekstraktlarının toplam polifenol miktarlarının ham propolis için 16,13-178,34 mg/g arasında yani %1,6 ile %17,80 arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 1). Benzer şekilde toplam flavanoid madde miktarlarının 1,24 mg KE/g ile 51,23 mg KE/g arasında değiştiği tespit edildi. Bu değer %0,12 ile %5 arasında ham propolislerin flavanoid içerdiğini ifade etmektedir. Yapılan bir araştırmada Brezilya'dan temin edilen ham propolis örneklerinin toplam polifenol miktarı %8,8 ile 13,7 arasında değiştiği, flavonoid miktarının ise minimum %0,35 maksimum %2,7 olduğu bildirilmektedir (Woisky ve Salatino, 1997). Bulgaristan propolisinin kimyasal bileşenlerini belirlemek ve basit bir standardizasyon çalışması yapmak amacıyla Bulgaristan'ın farklı bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin toplam polifenol ve flavonoid miktarı belirlenmiş ve toplam polifenol miktarının %11,2 ile %41,9 aralığında ve toplam flavonoid miktarının ise %2,9 ile %13,5 aralığında değiştiği bildirilmiştir (Bankova, 1987).

Ham Anadolu propolislerindeki kondanse tanen miktarları en düşük 2,70 ile en yüksek 8,47 mg KatE/g olarak tespit edilirken bu değerlerin %0,27 ile %0,85 arasında olduğu görülmektedir. Tanenler polifenollerin bir alt sınıfını oluşturan fenolik moleküller olup kendi aralarında ellagitanenler, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler olmak üzere dört sınıfa ayrılırlar (Mayworm ve ark. 2014; Khanbabae ve Ree, 2001). Kondanse tanenler (proantosiyanidinler) bir grup polihidroksi flavan-3-ol oligomeri veya polimerinin flavanol grupları ile C-C bağı yapması ile oluşur ve fazla sayıda taşıdıkları -OH gruplarıyla proteinlerle, metal iyonlarıyla ve polisakkarit gibi diğer makromoleküller ile bağ yapma eğilimindedirler Schofield ve ark., 2001). Bu makromoleküller ilaç, gıda, mobilya ve tekstil sektöründe önemli ölçüde kullanılırlar. Ham propolisteki tanen miktarları ile ilgili çalışmaya rastlanmadığı için, bulgularımız literatür ile karşılaştırılmadı. Bu nedenle ilk kez ham propolisde kondanse tanen çalışması bu çalışma ile literature kazandırılmaktadır.

Ham propolis örneklerinin etanolik ekstraktlarının fenolik kompozisyonları 14 standarda karşı HPLCUV de analiz edildi. Bu değerlere göre çalışılan 13 adet Anadolu propolis örneğinde kafeik asit, ferulik asit, kumarik asit, t-sinnamik asit ve luteolin ortak fenolik bileşen olarak tespit edildi. Fenolik içeriği belirlenen numunelerin sadece bir tanesinde gallik asit tayin edildiği belirtilirken vanilin, ferulik asit, rutin ve kuersetine neredeyse tüm

numunelerde rastlanılmıştır. Kateşin ve daidzein hiç bir örnekte tespit edilmedi. Sınırlı sayıda fenolik bileşen ile yapılan bu çalışmada, tespit edilen ortak bileşenlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir (Gajger ve ark., 2017; Uzel ve ark., 2005; Socha ve ark., 2015; Aliyazıcıoğlu ve ark., 2013). Tespit edilemeyen fenolik bileşenlerin büyük ölçüde bölgelerin floral farklılığından kaynaklandığı, ancak kullanılan analitik metodun tayin sınırları altında kalabileceği de düşünülmektedir. Kafeik asit fenil ester (CAPE) bu çalışmada araştırılmadı, ancak CAPE'in propolis için iyi bir marker olduğu ifade edilmektedir (Bankova, 1987). Bu değerinde tespit edilerek sonuçların ona göre yorumlanması daha faydalı olacaktır. Devam eden çalışma ile CAPE ve diğer bazı önemli flavanoidler de propolis örneklerinde araştırılmaktadır.

Sonuç olarak ham propolis bileşiminin bitki florasından çok etkilendiği ve coğrafik özelliklere bağlı olduğu, ancak propolis özütlerinin hazırlanması esnasında toplam fenolik madde miktarları ve toplam flavanoid madde miktarlarının çözelti konsantrasyonu ile ayarlanabilecek birer parametre oldukları tespit edildi. Buna göre kaliteli propolis örneklerinin yüksek TFM ve TFIM miktarları ile yüksek balsam içerdiği sonucunu çıkarmak mümkündür.

Teşekkür

Bu çalışma Merve KESKİN' in doktora tezinden türetilmiştir. Bu çalışmanın bütçesi ve örneklerin bir kısmı 114Z370 numaralı TÜBİTAK Projesinden sağlanmıştır. Ayrıca analizlerde katkı sağlayan Dr. Zehra CAN'a, Esra BİRİNCİ ve Ceren BİRİNCİ'ye teşekkürü borç biliriz.

KAYNAKLAR

- Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F. ve Nakayama, T. (2007). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China, *Food Chemistry*, 101, 1383-1392.
- Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E. ve Kolaylı, S. (2013). Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey, *International Journal of Food Properties*, 16, 277-287.
- Bonvehı, J.S., Coll, F.V. and Jorda, R.E. (1994). The Composition Active Components and

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Bacteriostatic Activity of Propolis in Dietetics, *JAACS*, 71, 5, 18-25.
- Bonvehi, J. S. ve Gutierrez, A. L. (2011). Antioxidant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain), *Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 1387–1395.
- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S. ve Marekov, N., 1987. A GC/MS Study of the Propolis Phenolic Constituents, *Z. Naturforsch*, 42, 147–151.
- Bankova, V., De Castro, S. ve Marcucci, M. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie, Springer Verlag*, 31 (1), pp.3-15.
- Çakır, E.H. Şirin.Y. Kolaylı, S. Can, Z. (2018). Validation Methods for Phenolic Components with RP-HPLC-UV in Various Bee Products. *Journal of Apitherapy and Nature/Apiterapi*, 1 (1), 13-19.
- Dias, L.G., Pereira, A.P. ve Estevinho, L. M. (2012). Comparative Study of Different Portuguese Samples of Propolis: Pollinic, Sensorial, Physicochemical, Microbiological Characterization and Antibacterial Activity, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 4246–4253.
- Feás, X., Pacheco, L., Iglesias, A. and Estevinho, L.M. (2014). Use of Propolis in the Sanitization of Lettuce., *Int. J. Mol. Sci.*, 15, 12243-12257.
- Fukumoto L. R. and Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds, *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
- Gajger, I.T., Pavlović, I., Bojić, M., Kosalec, I., Srećec S., Vlajnić, T. ve Vlajnić, J., (2017). The Components Responsible for the Antimicrobial Activity of Propolis from Continental and Mediterranean Regions in Croatia, *Czech J. Food Sci.*, 35, (5): 376–385.
- Julkunen-Titto R., (1985). Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics, *J. Agric. Food Chem.*, 33, 213–217.
- Khanbabaee, K. and Ree, T., (2001). Tannins: Classification and Definition, *Nat. Prod. Rep.*, 18, 641–649.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y. ve Kadota, S., (2008). Cytotoxic Constituents From Brazilian Red Propolis and Their Structure–Activity Relationship, *Bioorg., Med., Chem.*, 16, 5434–5440.
- Mayworm, M. A. S., Lima, C. A., Tomba, A. C. B., Fernandes-Silva, C. C., Salatino, M. L. F. ve Salatino, A., (2014). Does Propolis Contain Tannins?, *Complementary and Alternative Medicine*, 4.
- Neto, M.S. R., Tintino, S.R., da Silva, A.R.P., Costa, M.S., Boligon, A.A., Matias, E.F.F., Balbino, V.Q., Irwin R.A. Menezes, Coutinho, H.D.M. (2017). Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 572-580.
- Usman, Z. U., Bakar, A. B. A. and 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.
- Popova, M., Giannopoulou, E., Skalicka-Woźniak, K., Graikou, K., Widelski, J., Bankova, V., Kalofonos, H., Sivolapenko, G., Gawel-Beben, K., Antosiewicz, B. ve Chinou, I., (2017). Characterization and Biological Evaluation of Propolis from Poland, *Molecules*, 22, 1159.
- Saral, Ö. (2018). Determination of Antioxidant Activities of the Chestnut and Flower Honeys Collected from Eastern Black Sea Region in Turkey. *Journal of Apitherapy and Nature*, 1, 1 28-32.
- Sarikaya A. O. Ulusoy E, Öztürk N, Tunçel M, Kolaylı S. (2009). Antioxidant activity and phenolic acid constituents of chestnut (*Castania sativa* mill.) honey and propolis. *Journal of Food Biochemistry*. 33, 470-481.
- Schofield, P., Mbugua, D. M. and Pell, A. N., (2001). Analysis of Condensed Tannins: a Review, *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21-40.
- Silva, R.O., Andrade, V.M., Bulle Rego, E.S., Azevedo Doria, G.A., Santos Lima, B., Silva, F.A., Araújo, A.A.S., et al. (2015). Acute and sub-acute oral toxicity of Brazilian red propolis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 170, 66-71.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Singleton V. L. and Rossi J. A., (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Singleton, V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos 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.
- Socha, R., Galkowska, D., Bugaj, M. and Juszcak, L., (2015). Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Propolis from Various Regions of Poland, *Natural Product Research*, 29 (5), 416-422.
- Talla, E., Tamfu, A., Biyanzi, P., Sakava, P., Asobo, F., Mbafor, J., Tchuengem, N. F. ve Ndjouenkeu, R., (2014). Phytochemical Screening, Antioxidant Activity, Total Polyphenols and Flavonoids Content of Different Extracts of Propolis From Tekel (Ngaoundal, Adamawa Region, Cameroon), *The Journal of Phytopharmacology*, 3, 5, 321-329.
- Uzel, A., Sorkun, K., Öçağ, Ö., Coğulu, D., Gencay, Ö. ve Salih, B., (2005). Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of Four Different Anatolian Propolis Samples, *Microbiological Research*, 160, 189-195.
- Woisky, R. G. and Salatino, A., (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *Journal of Apicultural Research*, 37(2): 99-105.

ARDAHAN YÖRESİNDE BAL ARISI (*Apis mellifera* L.) KOLONİLERİNDE KIŞLAMA KAYIPLARI VE MUHTEMEL SEBEPLERİ ÜZERİNE BİR ANKET

A Survey on Wintering Losses and its Possible Causes in Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Colonies in the Ardahan Region

Mahir Murat CENGİZ^{1*}, Kemal YAZICI²

¹Atatürk Üniversitesi, Erzurum MYO, Erzurum, Türkiye

²Ardahan Üniversitesi, Ardahan MYO, Ardahan, Türkiye

*Yazışma Yazarı / Corresponding Author: mcengiz@atauni.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 07.06.2018

Kabul tarihi / Accepted: 20.07.2018

DOI: 10.31467/uluaricilik.485093

ÖZ

Ardahan yöresindeki gezginci ve sabit arıcılara uygulanan anket sonuçlarının değerlendirildiği araştırmada, arıcılık işletmelerinin sonbahar bakım ve kontrolleri, kışlatma ve hastalıklarla ilgili özellikleri incelenmiştir. Yöredeki arıcıların %90.60'ının sonbahar yemlemesi yaptığı, sonbahar beslemesinde çoğunlukla şeker şurubunu %57.75 kullandıkları ve bal şurubu ile besleme yapmanın pek yaygın olmadığı anlaşılmaktadır. Anket sonuçları Ardahan yöresindeki arıcıların sonbahar dönemindeki ana arı kontrolü ile varroa mücadelesi konularında duyarlı olduklarını göstermektedir. Yörede gezginci arıcıların büyük bir çoğunluğu (%67.65) kışlatma kayıplarının %10 ve daha az olduğunu bildirirken, sabit arıcılar %54.95 oranında kışlatma kayıplarının %10-19 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Koloni Yönetimi, Kışlatma, Hastalıklar, Gezginci Arıcı, Sabit Arıcı

ABSTRACT

In this study, the results of a survey administered to migratory and settled beekeepers in Ardahan were evaluated and their characteristics with respect to, colony management in autumn, over wintering, and bee diseases were investigated. It has been found that most of the beekeepers in the region (90.60%) give autumn feed, they have used 57.75% sugar syrup in large quantities in this feed, and it is not very common to feed with honey syrup. The results of the survey show that Ardahan beekeepers are sensitive to the queen bee control and varroa infestations during the autumn season. While the vast majority of migratory beekeepers in the study area reported that 67.65% of wintering losses were 10% or less, settled beekeepers found that 54.95% of wintering losses were between 10-19%.

Keywords: Colony Management, Wintering, Diseases, Migratory Beekeeper, Stationary Beekeeper

EXTENDED ABSTRACT

A great majority of colony losses appear in winter Döke et al. (2015). It was reported in a study performed in the United States that wintering losses were above 30% (Seitz et al. 2016). According to the Furgala's reporting, the rate of winter losses is about 15% on average (Furgala, 1984). Dewey reports that wintering

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

losses should be less than 10% in a successful wintering performed with good beekeeping practices, and that colony size in over wintering is important (Dewey, 1999). Wintering losses show a great change between countries, bee yards, researchers, and even year by year within a country. The factors affecting wintering losses include colony population, age and genetics of queen, lack of honey stock, the place and shape of wintering, unsuitable hive use, instability of weather conditions, honey bee diseases and parasites (Genç et al. 1999; Akyol ve Kaftanoğlu, 2001; Arslan et al. 2004; Akyol et al. 2006a; Yeninar, 2016)

In this study, we aimed to make a structural analysis of the beekeeper with a survey study administered to settled and migratory beekeepers in the Ardahan province and to present some future projections about wintering losses.

The results of a joint survey of 111 settled beekeepers and 102 migratory beekeepers in the beekeeping villages of Ardahan city center and the 5 districts in the year 2016 - 2017 production period make up the data of this research. A survey was conducted by face to face interviewing of 213 beekeepers who constituted 22,75% of all beekeeping enterprises in Ardahan province.

Migratory beekeepers (62.74%) preferred 2:1 sugar syrup for autumn feed, whereas this percentage was 35.14% for settled beekeepers. In terms of the autumn feeding methods, the difference observed between the migratory and settled beekeepers was statistically significant ($P < 0.01$). A large majority of beekeepers in the region (59.60%) stated that they added a drug to their autumn feeding. It has been determined that those who add drugs to autumn feeding use antibiotics, fumagillin, and vitamins. It was determined that Ardahan regional beekeepers used Langstroth wooden hives (92.02%), and all beekeepers were found to have a similar tendency in terms of hive preference. It was found that migratory beekeepers began wintering with strong colonies and all of them preferred wintering in temperate regions; however, 48.65 % of settled beekeepers performed overwintering indoors. The difference in overwintering methods was statistically significant ($P < 0.01$). It was determined that beekeeping enterprises participating in the survey had a wintering loss of 11.09%. In terms of wintering losses, the difference between migratory and stationary beekeepers was statistically significant ($P < 0.01$). In this study, it was determined that 83.09% of the local beekeepers had bee deaths during the wintering period. According to the survey results, it was determined that 34.74% of the colony losses in Ardahan were caused by queen bee loss, 25.83% from diseases and parasites, 15.49% from food shortage, 13.62% from weakness, 6.10% from long winter seasons and 4.22% from moisture. Chalkbrood disease (23.42%) was found to be the most common disease in colonies of settled beekeepers and *Nosema* (18.63%) was the most common disease in colonies of migratory beekeepers. Of the surveyed beekeepers, 49.29% did not report having any disease in Ardahan.

Ardahan beekeepers mostly use 2:1 sugar syrup in autumn feeding. All beekeepers are sensitive to the presence of a queen and treating against varroa mites in the autumn period. It was determined that the use of Langstroth type wooden hives in the region is widespread. It has been determined that stationary beekeeping enterprises are faced with higher colony loss, while colony losses occur at lower rates in migratory beekeeping enterprises during winter period.

GİRİŞ

Bal arıları (*Apis mellifera L.*) diğer soğukkanlı böcekler gibi kış uykusuna yatmazlar ve kışın yaşamaları için gerekli çevre sıcaklığını, en düşük metabolik aktivite ile ve kış salkımı kurarak sağlarlar. Bal arılarında kış salkımının yapısı çevre sıcaklığı ve peteklerde depolanan gıda stokunun konumu ile ilişkilidir (Taber, 1988). Bal arılarında vücut sıcaklığı ve metabolik hız çevre sıcaklığına bağlı olarak değişir (Winston, 1993). Ancak bu arıların vücut sıcaklıklarını kontrol etme yetenekleri olmadığı anlamına gelmez. Aktif durumdaki arılar

normalde endotermiktir ve vücut sıcaklığını ortam sıcaklığından daha yüksek tutarlar (Goodman, 2003).

Kovan içi sıcaklığı 14°C'ye düştüğü zaman salkım şekillenmeye başlar ve 9-14°C'lerde arılar kovan içerisinde küçük gruplar oluşturmaya başlar. Salkımın merkezinde genellikle ana arı ve genç işçi arılar bulunur. Salkımın kenarındaki arılar başlarını salkımın merkezine dönük tutarak 2-8 cm kalınlığında izolator bir tabaka oluştururlar. İşçi arılar salkımın merkezindeki sıcaklığı genellikle 24-26°C dolaylarında tutmaya çalışırlar (Dietz, 1984).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Bir çalışmada, salkımın dış sıcaklığının 6-8°C arasında değiştiği bildirilmektedir (Szabo, 1989).

Bir araştırmada; arıların bireysel olarak metabolik ısı ürettiklerini, 0°C ile +2°C'de koloninin sıkı bir şekilde salkım oluşturduğunu, salkımın ısı üretiminin milyonlarca bireyin tek başına ürettikleri bireysel metabolik ısı toplamından daha etkili olduğunu ve sıcak havanın salkım içerisine hapsedildiği, salkım çevresinde ısının +9°C'nin altına düştüğünde salkımın dış yüzeyindeki arılar ile salkım içerisindeki arıların belli bir düzen halinde sürekli yer değiştirdikleri bildirilmiştir (Southwick, 1985). Gıdanın ekonomik kullanımı için salkımın dış yüzeyindeki sıcaklık 7°C civarında sabit tutulmak zorundadır. Aksi halde salkımın dış yüzeyindeki işçi arılar salkımdan koparak kovan tabanına düşmekte ve ölebilmektedirler (Furgala, 1984).

Kışın mevsim normalleri üzerinde seyreden sıcaklık artışları, arıların salkım düzenini bozmalarına neden olmaktadır. Sıcaklığın aniden düşerek mevsim normallerine geri dönmesiyle, besin ihtiyacı ve ısı durumunu dengelemek üzere arılar tekrar kış salkımı oluşturur. Yeni salkım düzeninin çerçevelerde depolanan bala yakın mesafede oluşmaması durumunda, yeterli bal olmasına rağmen, arılar bala ulaşamaz ve kolonilerde açlığa bağlı sönmeler yaşanır (Yorgancıoğlu, 2001). Nitekim yapılan bir araştırmada kış salkımının erken bozulduğu kolonilerde kışlatma kayıplarının %30 düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir (Muz ve ark. 2012).

Furgala'nın (1997) bildirdiğine göre, kış kayıplarının oranı ortalama %15 dolayındadır. Dewey (1999) ise doğru arıcılık uygulamaları ile yapılan başarılı bir kışlatmada kayıpların %10'dan daha az olması gerektiğini, kışlatmada koloni büyüklüğünün önemli olduğunu bildirmektedir. Kışlatma kayıpları ülkeden ülkeye hatta aynı ülke içerisinde yıldan yıla, arılıklar arasında, bir araştırmadan diğerine büyük bir değişim göstermektedir. Kışlatma kayıplarına etki eden faktörler arasında koloni popülasyonu, ana arının yaşı ve genetiği, bal miktarının azlığı, kışlatmanın yeri ve şekli, uygun olmayan kovan kullanımı, hava koşullarının istikrarsızlığı, bal arısı hastalık ve parazitleri sayılabilir (Genç ve ark. 1999; Akyol ve Kaftanoğlu, 2001; Arslan ve ark. 2004; Yeninar, 2016).

Çalışmada Ardahan ilindeki sabit ve gezginci arılara uygulanan anket çalışması ile arıcılığın yapısal analizi yapılarak kışlatma kayıpları ile ilgili olarak geleceğe dönük bir kısım önerilerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma bölgesi izole bir alan olduğu için arı girişine kapalıdır. Sadece Artvin ve Ardahan yöreleri birbirine açık illerdir. Dolayısıyla çalışmanın arı materyalini Kafkas bal arısı (*Apis mellifera caucasica*) oluşturmaktadır. Anket kapsamında gezginci ve sabit arılar tespit edilirken, kışlatma için arılarını Artvin ili mikroklima alanlarına nakleden ve bal mevsiminde mikroklima alanlardan arılarını Ardahan iline getirecek flora takibi yapan Ardahan bölgesi arıcıları gezginci arıcı olarak değerlendirilmiştir. Kışlatma için arılarını herhangi bir mikroklima alana götürmeyen ve flora takibi yapmayan arıcılar ise sabit arıcı olarak değerlendirilmiştir.

Ardahan ili merkez ve 5 ilçesinin arıcılık yapılan köylerinde bulunan 111 sabit arıcı ve ilin 102 gezginci arıcıya 2016-2017 üretim döneminde uygulanan ortak bir anketin sonuçları bu araştırmacının materyalini oluşturmuştur. Bir araştırmacı (Yamane, 2006) anket çalışmalarında örnek büyüklüğünün %3'ünün yeterli olacağını bildirirken, başka bir araştırmacı ise örnek büyüklüğünün %10'unun alınması gerektiğini savunmuştur (Cochran, 1977). Ardahan ili merkez ve ilçelerindeki bütün arıcılık işletmelerinin %22,75'ünü oluşturan 213 arıcı ile yüz yüze görüşülerek anket çalışması yapılmıştır. İlçelere göre işletme sayısı, Ankete katılan işletme sayısı ve koloni sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Gezginci ve sabit arıcılardan elde edilen veriler "SPSS 20.0 for Windows" adlı paket programında analiz edilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara uygun şekiller oluşturularak gerekli yorumlar yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde ki-kare bağımsızlık testi kullanılmıştır (Yıldız ve Bircan, 2006).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Tablo 1. Ardahan ilinde ankete katılan işletme ve koloni sayıları

Table 1. Number of beekeeping businesses and colony surveys in Ardahan province

İlçe	İşletme Sayısı	Ankete Katılan İşletme Sayısı	Koloni Sayısı
Merkez	540	95	46.270
Hanak	162	47	9.800
Posof	113	32	7.450
Çıldır	82	21	5.450
Göle	30	14	2.120
Damal	9	4	727
Toplam	936	213	71.817

BULGULAR

Sonbahar Bakım ve Kontrolleri

Arıcıların sonbahar yemlemesi konusunda verdiği cevaplar Tablo 2'de özetlenmiştir. Elde edilen bilgiler değerlendirildiğinde, Ardahan yöresindeki gezginci ve sabit arıcıların sonbahar yemlemesi yapıp yapmama ve kullandıkları yem türleri bakımından benzer eğilim içerisinde oldukları saptanmıştır. Yöredeki arıcıların %90.60'ının sonbahar yemlemesi yaptığı; %57.75 şeker şurubu, %17.84 kek, %14.08 karışık ve %0.94 oranında bal şurubu kullanmayı tercih ettikleri belirlenmiştir. Yöre arıcılarının sonbahar beslemesinde çoğunlukla şeker şurubunu kullandıkları, bal şurubu ile besleme yapmanın pek yaygın olmadığı anlaşılmaktadır.

Sonbahar yemlemesinde gezginci arıcılar %62.74 oranında 2:1 lik şeker şurubunu tercih ederken sabit arıcılarda bu oran %35.14 olarak hesaplanmıştır. Sonbahar yemlemesinde şeker su oranı bakımından gezginci ve sabit arıcılar arasında gözlenen farklılık istatistik olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Ana Arı Kontrolü ve Varroa Mücadelesi

Teknik arıcılıkta kışlatma öncesinde ana arı kontrolü yapılarak kolonilerin kışa anasız girmelerinin önlenmesi, genç ve sağlıklı ana arılarla kışlatmaya alınmaları ve son baharda mutlaka varroa mücadelesi uygulanması son derece önemlidir. Arıcıların bu konuda davranış biçimleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3'den de anlaşılacağı gibi, anket uygulanan gezginci arıcıların %92.16'sı, sabit arıcıların ise %94.59'su sonbaharda kolonilerine ana arı kontrolü yapmaktadır. Yöre arıcıları arasında oldukça yaygın

olan bu uygulama sonbaharda arı mevcudu az, anasız veya ana arısı yaşlı ve sakat olan kolonilerin birleştirilmesini öneren literatür bilgileriyle uyumaktadır (Kaftanoğlu, 1987; Genç ve Dodoloğlu, 2017).

Kışlatma

Yörede uygulanan kışlatma yöntemleri, kışlatmada kullanılan kovan tipi, kışlatma öncesi koloni gücü ve kışlatma dönemindeki arı ölümlerinin nedenlerine ilişkin veriler Tablo 4'te özetlenmiştir.

Yörede kış mevsiminin uzun ve sert geçiyor olması kışlatmanın önemini artırmaktadır. Yapılan değerlendirmeler gezginci arıcıların tamamının (%100) arılarını ılıman bölgelere nakil ederek kışlatma yöntemini tercih ettikleri, sabit arıcıların ise %48.65'inin kapalı ortamda kışlatma yaptıkları saptanmıştır (Tablo 4). Gezginci ve sabit arıcılar arasında kışlatma tercihi bakımından gözlenen farklılık istatistiksel olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Araştırmada, gezginci arıcıların %90.20'sinin ve sabit arıcıların %93.69'unun Langstroth tipi ahşap kovan kullandıkları belirlenmiş ve kovan tercihi bakımından bütün arıcıların benzer eğilim içerisinde oldukları saptanmıştır.

Kışlatma öncesindeki koloni gücü bakımından da gezginci ve sabit arıcılar arasında önemli farklılıklar bulunmakta ($P<0.01$); gezginci arıcılar daha çok güçlü kolonilerle kışlatmaya girerken, sabit arıcılar çoğunlukla orta ve zayıf güçteki kolonilerle kışlatmaya girmektedirler.

Yörede gezginci arıcıların büyük bir çoğunluğu %67.65 kışlama kayıplarının %10 ve daha az olduğunu bildirirken, sabit arıcılar %54.95 oranında kışlama kayıplarını %10-19 arasında olduğunu

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

belirmişlerdir. Kışlatma kayıpları bakımından olarak da önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. gezginci ve sabit arıcılar arasındaki fark istatistiksel

Tablo 2. Sonbahar dönemi yemlemeleri ve yeme katılan ilaçlar

Table 2. Fall feedings and participating drugs added in feeding treatment

Sonbahar Yemlemesi Yapılıp Yapılmadığı	Sabit arıcılar		Gezginci arıcılar		Tüm Arıcılar	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Yapan	98	88.30	95	93.10	193	90.60
Yapmayan	13	11.70	7	6.90	20	9.40
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Verilen Yemler						
Yem Vermeyen	13	11.70	7	6.86	20	9.40
Şeker şurubu	63	56.76	60	58.82	123	57.75
Bal şurubu	2	1.80	0	0.0	2	0.94
Kek	22	19.82	16	15.69	38	17.84
Karışık	11	9.91	19	18.63	30	14.08
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Sonbahar Yemlemesini Şeker Şurubuyla Yapma Durumunda Şeker Su Oranı Tercihi Nasıl Olur						
Yem vermeyen	34	30.63	20	19.61	54	25.35
1:1	27	24.32	6	5.88	33	15.49
2:1	39	35.14	64	62.74	103	48.36
Göz kararı	11	9.91	12	11.77	23	10.80
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Yeme katılan İlaçlar						
İlaç vermeyen	76	68.50	51	50.00	127	59.60
Antibiyotik	4	3.60	6	5.90	10	4.70
Fumagilin	9	8.10	10	9.80	19	8.90
Vitamin	6	5.40	11	10.80	17	8.00
Antibiyotik+Vitamin	10	9.00	5	4.90	15	7.00
Antibiyotik+Fumagilin	2	1.80	6	5.90	8	3.80
Fumagilin+Vitamin	4	3.60	13	12.70	17	8.00
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00

Tablo 3. Kışlatma öncesi ana arı kontrolü ve varroa mücadelesi

Table 3. Pre-winter queen control and fighting varroa mite treatment

Ana Arı Kontrolü	Sabit arıcılar		Gezginci arıcılar		Tüm Arıcılar	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Yapan	105	94.59	94	92.16	199	93.43
Yapmayan	6	5.41	8	8.84	14	6.57
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Sonbahar Dönemi Varroa Mücadelesi						
Yapan	111	100	102	100	213	100
Yapmayan	0	0.0	0.0	0.0	0	0.0
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Tablo 4. Kışlatma yöntemleri, kışlatmada kullanılan kovan tipi, kışlatma öncesi koloni gücü, sönen koloni oranı, kışlatma dönemlerindeki arı ölümleri ve nedenleri.

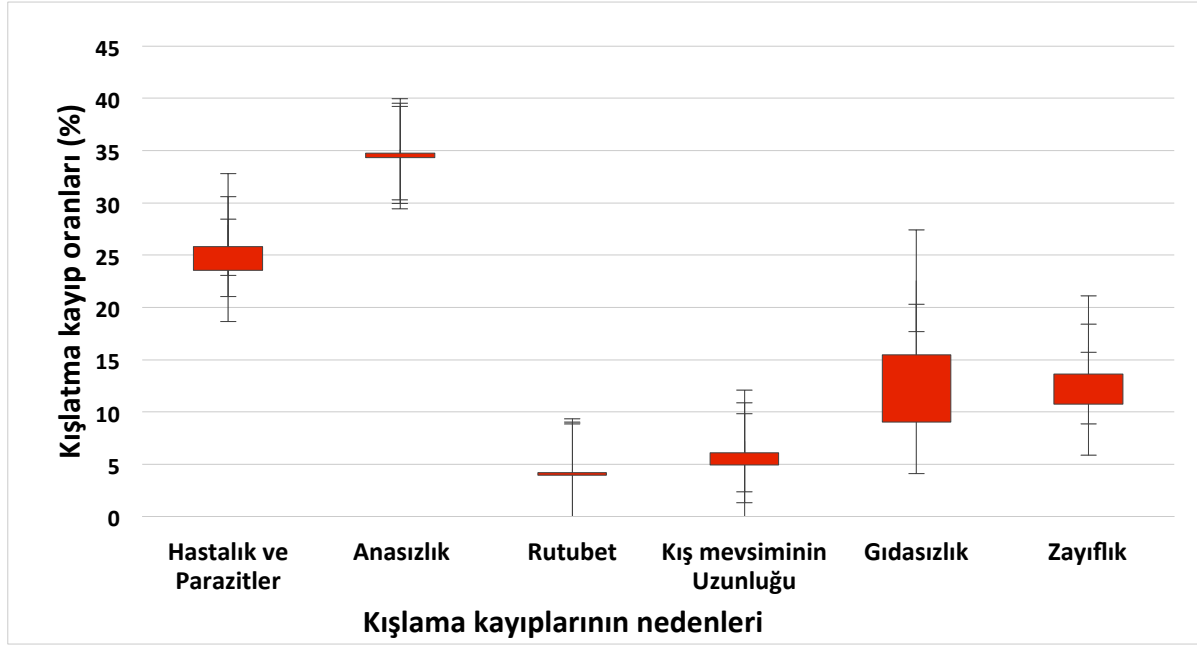
Table 4. Wintering methods, type of hive used in wintering, colony strength before wintering, colony loss rate, bee losses in wintering periods and causes.

Kışlatma Şekli	Sabit arıcılar		Gezginci arıcılar		Tüm Arıcılar	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
İçerde	54	48.65	0	0.0	54	25.4
Sundurma altında	4	3.60	0	0.0	4	1.6
Dışarıda	53	47.75	0	0.0	53	24.88
Ilıman bölgelere nakil	0	0.00	102	100	100	38.0
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Kışlamada Kullanılan Kovan Tipleri						
Ahşap Langstroth	104	93.69	92	90.20	196	92.02
Strafor	7	6.31	6	5.88	13	6.10
Termal kovan	0	0.00	4	3.92	4	1.88
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Kışlama Öncesi Koloni Gücü						
7 çerçeveden az	33	29.73	4	3.92	37	17.38
7-8 çerçeve	43	38.74	43	42.16	86	40.37
9-10 çerçeve	35	31.53	55	53.92	90	42.25
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Kışlama Döneminde Sönen Koloni Miktarı (%)						
Kayıp yok	17	15.32	19	18.63	36	16.91
%10'dan Az	21	18.92	69	67.65	90	42.25
% 10-19 arası	61	54.95	12	11.76	73	34.27
% 20 +	12	10.81	2	1.96	14	6.57
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00
Kışlama Dönemindeki Arı Ölümlerinin Nedenleri						
Hastalık ve Parazitler	31	27.93	24	23.53	55	25.83
Anasızlık	39	35.13	35	34.32	74	34.74
Rutubet	5	4.50	4	3.92	9	4.22
Kış mevsiminin uzunluğu	8	7.21	5	4.90	13	6.10
Gıdasızlık	10	9.01	23	22.55	33	15.49
Zayıflık	18	16.22	11	10.78	29	13.62
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00

Anket sonuçlarına göre koloni kayıplarının %34.74'ünün ana arı kaybından, %25.83'ünün hastalık ve parazitlerden (hastalıklar ve Varroa), %15.49'unun gıdasızlıktan, %13.62 zayıflıktan,

%6,10 kış mevsiminin uzun sürmesinden, %4.22'sinin rutubetten kaynaklandığı belirlenmiştir (Tablo 4, Şekil 1.).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



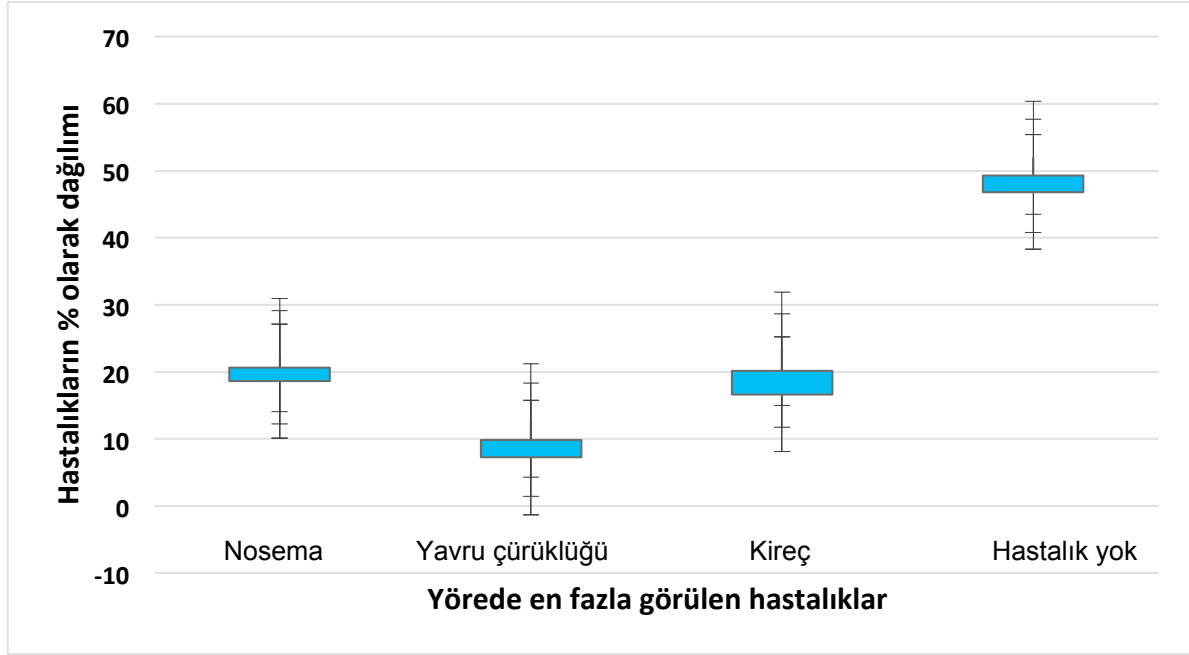
Şekil 1. Yörede kışlatma kayıpları nedenlerinin % olarak dağılımı

Figure 1. Distribution of the causes of wintering losses in the region (%)

Tablo 5. En fazla görülen arı hastalıkları

Table 5. Most common bee diseases

Arı Hastalıkları	Sabit arıcılar		Gezginci arıcılar		Tüm Arıcılar	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Nosema	25	22.52	19	18.63	44	20.66
Yavru Çürüklüğü	8	7.21	13	12.75	21	9.86
Kireç	26	23.42	17	16.66	43	20.19
Hastalık yok	52	46.85	53	51.96	105	49.29
Toplam	111	100.00	102	100.00	213	100.00



Şekil 2. Yörede hastalıkların % olarak dağılımı

Figure 2. Distribution of bee diseases in the region (%)

En Fazla Görülen Arı Hastalıkları

Araştırma bölgesindeki arıların hangi hastalıklarla karşı karşıya olduklarına ilişkin veriler Tablo 5 ve şekil 2'de özetlenmiştir.

Ardahan yöresindeki kolonilerde nosema hastalığı, yavru çürüklüğü ve kireç hastalığı gibi arı hastalıklarının görüldüğü; kireç hastalığının sabit arıların kolonilerinde %23.42 oranında ve nosema hastalığının ise gezginci arıların kolonilerinde %18.63 oranında en sık karşılaşılan hastalık olduğu tespit edilmiştir. En fazla görülen arı hastalıklar bakımından gezginci ve sabit arıların arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

TARTIŞMA

Sonbahar yemlemesi yapan arıların oranı (%90.60) aynı konuda yapılmış bir çalışmada bildirilen %88.64'lük değerden yüksek (Çelik, 1994), fakat başka bir çalışmada Demen ve ark. (2016) tarafından belirtilen %95.00 değerinden düşüktür. Diğer taraftan Ardahan yöresi arılarınca sonbahar yemlemelerinde daha çok şeker şurubunun tercih ediliyor oluşu aynı dönemde yapılacak yemlemeler

için şeker şurubunu öneren literatür bildirişleriyle (Tutkun, 1987; Mehmet ve ark. 2006; Genç ve Dodoloğlu, 2017) uyusmaktadır. Sonuç olarak yöredeki arıların sonbahar yemlemesinin gereğine inandıkları ve yemlemelerde daha çok şeker şurubu kullanarak doğru tercih yaptıkları ifade edilebilir.

Araştırmacılar sonbaharda kolonilerini 2:1 oranında şeker şurubu ile beslemeleri kış kayıplarını azaltmakta ve ilkbaharda daha güçlü kolonilere sahip olmalarını sağlamaktadır (Kumova et al. 1993; Genç ve Dodoloğlu, 2017). Bir çalışmada ise şeker şurubu ile yemlemenin kışlatma kabiliyetini %80.80 ve yaşama oranını %90 artırdığı bildirilmiştir (Akyol et al. 2006b). Sonbahar yemlemesinde gezginci arıların %62.74 oranında 2:1 lik şeker şurubunu tercih ediyor olmaları literatür bilgileriyle de uyusmaktadır.

Yöredeki tüm arıların %59.60'ı yeme herhangi bir ilaç katmadıklarını belirtmişlerdir. Yeme ilaç katanların ise benzer eğilimler içinde oldukları; antibiyotik, Fumagilin ve vitamin verdiklerini ifade etmişlerdir. Yapılan bir çalışmada, yeme ilave olarak katılan Fumagilin katkısının arıların kışlatma kabiliyetini ve yaşama oranını %100 oranında artırdığı bildirilmiştir (Akyol ve ark. 2006b). Hasta

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

kolonilerin kışa girmeden nosema yükünü azaltmak ve kışlatma başarısını artırmak için nosema parazitiyle mücadelede edilmelidir. Araştırmacılar kışlatma öncesi nosema mücadelesinin yapılması konusunda hemfikirdir (Szabo ve Heikel, 1987; Botias ve ark. 2013; Desai ve Currie, 2016).

Yöredeki arıcıların %100'ü sonbahar varroa mücadelesi yapmakta ve bu konuya gereken önemi vermektedirler. Sonbahar döneminde yapılacak varroa mücadelesi sağlıklı bir kışlatma yapabilmek ve ertesi sezonda iyi bir verim alabilmek için gerekli olup, çeşitli kaynaklarda da (Genç ve Aksoy, 1992; Cengiz, 2012; Beyer et al. 2018) aynı konu işlenmekte ve iyi bir kışlatmama için sonbaharda kolonilerdeki varroa akarı (*Varroa destructor*) bulaşıklık oranının %3'ün altına düşürülmesi gerektiği bildirilmektedir (Akyol ve Yeninar, 2011). Yapılan değerlendirmeler Ardahan yöresindeki arıcıların sonbahar dönemindeki ana arı kontrolü ile varroa mücadelesi konularında duyarlı olduklarını göstermektedir.

Gezginci arıcıların %92.16'sı, sabit arıcıların ise %94.59'su sonbaharda kolonilerine ana arı kontrolü yapmaktadır. Yöre arıcıları arasında oldukça yaygın olan bu uygulama sonbaharda arı mevcudu az, anasız veya ana arısı yaşlı ve sakat olan kolonilerin birleştirilmesini öneren literatür bilgileriyle (Kaftanoğlu, 1987; Genç ve Dodoloğlu, 2017) uyumaktadır.

Yöre arıcılarının büyük bir çoğunlukla (%92.02) Lagstroth tipi ahşap kovan kullanıyor olması kışlamada bu tip kovanlarda arıların daha iyi kışladığını bildiren literatür bildirisiyle uyumlu bulunmuştur (Genç, 2010). Nitekim kışlama öncesinde gezginci arıcıların ise sadece %53.92'sinde kolonilerin 9-10 çerçeve arılı olduğu, sabit arıcıların ise sadece %31.53'ünün aynı güçte kolonilerle kışa girdikleri tespit edilmiştir. Zayıf koloniler kışın daha fazla kayıp vermekte, daha fazla bal tüketmekte ve ilkbaharda gelişmeleri çok yavaş olmaktadır. Bu nedenle, kışlamaya güçlü kolonilerle girilmeli, zayıf koloniler birleştirilmelidir (Genç ve Dodoloğlu, 2017).

Ankete katılan arıcılık işletmelerinde %11.09 oranında bir kışlama kaybı yaşandığı belirlenmiştir. Elde edilen bu değer Yaşar et al. (2002) tarafından Karadeniz Bölgesi için bildirdiği %8.71 değerinden yüksek bulunmuş, Kekeçoğlu et al. (2014)'nin Düzce ili ve Demen et al. (2016)'nin Diyarbakır ili için bildirdikleri sırasıyla %25.16, %30.65 değerinden düşük bulunmuştur. Ardahan

arıcılarının kışlatma kaybı Özbilgin et al. (1999)'nın Ege bölgesi için bildirdiği %10 değeriyle benzer bulunmuştur.

Bu araştırmada yöre arıcıların %83.09'unun kışlatmada arı ölümleriyle karşılaştıkları belirlenmiş; bu oran Kekeçoğlu et al. (2013)'nin %81.20 olarak bildirdiği değerden yüksek iken, Çelik (1994)'in %86.96 olarak bildirdiği değerden daha düşük bulunmuştur. Yani olumsuz kışlama koşullarına ve uzun süren kış mevsimine rağmen, yöre arıcılarının kışlama konusunda Ankara Kalecik arıcılarından daha başarılı oldukları anlaşılmaktadır.

Kekeçoğlu ve ark. (2013)'nin çalışmasında koloni kayıplarının nedenleri % 39.80 ana kaybı, %21.90 Varroa, %21.90 açlık, %3.90 yağmacılık ve %10.60 diğer nedenler olarak belirlenmiştir. Sıralı ve Doğaroğlu (2005)'nin çalışmasında ise koloni kayıplarının nedenleri %45.80 yetersiz bakım besleme, %20.80 arı hastalık ve zararlıları, %15.90 kötü iklim koşulları, %5.10 yaşlı ana arı kullanımı olarak bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ve literatür bildirişleri birlikte değerlendirildiğinde koloni kayıplarının en başta gelen nedenleri sonbahar koloni bakım ve kontrollerinin yetersizliği, kışlama konusundaki yanlış bilgiler, hastalık ve parazitler olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, yörede kışlamanın önemli bir sorun olduğu görülmekte ve bütün arıcıların bu konuda eğitilmeleri gereği ortaya çıkmaktadır.

Kaftanoğlu ve ark. (1995) 47 ilde 2794 arıcı ile yaptıkları anketlerde kireç hastalığının bulaşıklık oranını %73 olarak bildirirken; Ardahan yöresinde Kireç hastalığının bulaşıklık oranı tüm arıcılarda %20.19 olarak belirlenmiştir. Ayrıca araştırma bölgesindeki arıcılar yavru çürüklüğünün %9.86 oranında görüldüğünü bildirmelerine rağmen, Erkan ve Aşkın (2001) yapılan bir araştırmada aynı hastalığın bulaşıklık oranı %20.19 olarak verilmiştir. Ankete katılan arıcıların %49.29'u herhangi bir hastalık ihbarında bulunmamışlardır. Buna rağmen, Ardahan yöresinde kireç, nosema ve yavru çürüklüğü hastalıklarına karşı etkin önlemlerin alınması gerekmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Ardahan yöresi arıcılarının sonbahar yemlemesinin gereğine inandıkları ve yemlemede daha çok şeker şurubunu tercih ettikleri, sonbahar dönemi ana arı kontrolü ve varroa mücadelesi konusunda tüm

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

arıcılarının duyarlı oldukları, bölgede Langstroth tipi ahşap kovan kullanımının yaygın olduğu saptanmıştır. Kışlamadaki koloni gücü ve kışlama şekli bakımından gezginci ve sabit arıcılar arasında tespit edilen farklılıklar kışlama dönemindeki arı kayıplarında da etkili olmuş ve araştırmada kışlama sırasında koloni kayıpları gezginci arıcılarda düşük oranlarda gerçekleşirken, sabit arıcıların daha yüksek oranda koloni kaybı ile karşı karşıya oldukları belirlenmiştir. Yörede kireç, yavru çürüklüğü ve nosema hastalığının görüldüğü tespit edilmiştir.

Sonuç olarak sonbahar dönemi bakım ve kontrolleri bir sonraki sezonun sigortası gibidir. Yaşlı ve sakat ana arılar yenilenmeli zayıf koloniler mutlaka birleştirilmelidir. Arıcılar bu dönemde kolonilerine 2:1 oranında (2 şeker 1 su) şeker şurubuyla yemleme yaparak bir dönem daha genç ve yıpranmamış işçi arı ile kışlatmaya girmeleri şarttır. Bu dönemde yapılan yemlemede nosema mücadelesinin de ihmal edilmemesi gerekir. Bu kolonilerin kışlatma kabiliyetini ve yaşama gücünü artıracaktır. Arıların kapalı ve havasız ortamlarda kışlatılmaları son derece risklidir. Kışlatma dışarıda yapılacaksa koloniler izole edilerek kışlatılmalı, içeride kışlatma yapılacaksa kışlama odasının ve arı kovanının havalandırma düzeneğine sahip olması gerektiği unutulmamalıdır. Yöre arıcılarının sonbahar bakım ve kontrolleri, kışlama ve hastalıklar konusunda eğitilmeleri kışlama kayıplarını önemli derecede azaltacaktır.

KAYNAKLAR

- Akyol, E., Kaftanoğlu O. (2001). Colony Characteristics and the Performance of Caucasian (*Apis mellifera caucasica*) and Mugla (*Apis mellifera anatoliaca*) Bees and Their Reciprocal Crosses". *Journal of Apicultural Research*. 40:11-15.
- Akyol, E., Karatepe, B., Kaaratepe, M., Karaer, Z. (2006a). Development and control of the *Varroa* (*Varroa Destructor*) in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies and effects on the colony productivity, *U.Bee J.* 6: 149-154.
- Akyol, E., Yeninar, H., Sahinler, N., Guler, A. (2006b). 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.* 9:589-592.
- Akyol, E., Yeninar, H. (2011). The effects of *Varroa* (*Varroa destructor*) infestation level on wintering ability and survival rates of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J. Anim. Vet. Adv.* 10:1427-1430.
- Arslan, S., Güler, A., Çam, H. (2004). Farklı Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Genotiplerinin Tokat Koşullarında Kışlama Yetenekleri ve Petekli Bal Veriminin Belirlenmesi, *JAFAG*. 21:85-90.
- Beyer, M., Junk, J., Eickermann, M., Clermont, A., Kraus, F., Georges, C., Hoffmann, L. (2018). Winter honey bee colony losses, *Varroa destructor* control strategies, and the role of weather conditions: Results from a survey among beekeepers. *Research in Veterinary Science*. 118, 52-60.
- Botias, C., Martin-Hernández, R., Barrios, L., Meana, A., Higes, M. (2013). Nosema spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. *Vet. Res.* 44:1-14.
- Cengiz, M. M. (2012). In honey bee colonies (*Apis mellifera* L.), usage of different organics compounds and their effects to colony performance against *Varroa destructor* infestation. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 18 (Supplement A):133-137.
- Cochran, W.G. (1977). Sampling Techniques. 3rd Edition. John Wiley and Sons. New York, , p 400-411.
- Çelik, H. (1994). Kalecik İlçesinde Gezginci Arıcıların Sorunları ve Arıcılıkla Yararlanılan Bilgi Kaynakları Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv.Fen Bil. Enst. Ankara.
- Demir, H., Karacoğlu, M., Uçak Koç, A. (2016). Diyarbakır İli Arıcılığın Yapısı ve Sorunları. *Tralleis*. 1: 8-17.
- Desai, S. D., Currie, R. W. (2016). Effects of wintering environment and parasite-pathogen interactions on honey bee colony loss in North Temperate regions. *Plos One*. 11:1-24.
- Dewey, M.C. (1999). Honey Bee Biology and Beekeeping. Cheshire: Wicwas Press, p 205-218.
- Dietz, A. (1984). Nutrition of the adult honey bee. The hive and honey bee (7th ed). Dadant Sons Hamilton IL,U.S.A. p 125-156.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Döke, M. A., Frazier, M., Grozinger, C. M. (2015). Overwintering honey bees: biology and management. *Current Opinion in Insect Science*. 10:185-193.
- Erkan, C., Aşkın, Y. (2001). Van İli Bahçesaray İlçesi'nde Arıcılığın Yapısı ve Arıcılık Faaliyetleri. *Yyü Tar Bil Derg* 11:19-28.
- Furgala, B., (1984). Fall Management and The Wintering of Productive Colonies. *The Hive and Honey Bee*, Dadant and Sons, Hamilton, IL. p 471-490.
- Furgala, B. (1997). Outdoor Wintering Productive Colonies. In: *The Hive and The Honey Bee*, Graham, J.M., Illinois: Dadant and Sons, Graham J.M. p 829–850.
- Genç, F., Aksoy, A. (1992). The effects of infestation level of *Varroa jacobsoni* on wintering of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Apiacta*. 27:33-38.
- Genç, F., Dülger, C., Dodoloğlu, A., Kutluca, S. (1999). Comparison of some Physiological Characteristics of Caucasic, Middle Anatolian and Erzurum honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes. *Turk J Vet Anim Sci*. 23:645-650.
- Genç, F. (2010). Erzurum Koşullarında Ahşap ve Strafor Kovanlardaki Bal arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinin Kışlatma Sonrası Sezonadaki Performanslarının Karşılaştırılması. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 27,:398-410.
- Genç, F., Dodoloğlu A. (2017). Arıcılığın Temel Esasları Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yayın No:341, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum. s 467.
- Goodman, L. (2003). *Form and Function in the Honey Bee*. Cardiff: IBRA – International Bee Research Association. p 220.
- Kaftanoğlu, O. Yeninar H, Kumova U, Özkök D. (1995). Epidemiology and control of honeybee (*Apis mellifera* L.), diseases in Turkey. TUBİTAK Project No VHAG-925, TUBİTAK Publication No: 92 0054, Final Report. pp 93, Ankara.
- Kaftanoğlu, O. (1987). Ana arı yetiştiriciliğinin önemi. *Teknik Arıcılık Dergisi*.9:7-8.
- Kekeçoğlu, M., Rasgele, P. G., Filiz, A. C. A. R., Kaya, S. T. (2013). Düzce İlinde Bulunan Arıcılık İşletmelerinde Görülen Koloni Kayıplarının, Bal Arısı Hastalık ve Zararlılarının ve Mücadele Yöntemlerinin Araştırılması. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*3:99-108.
- Kekeçoğlu, M., Rasgele, P. G., Filiz, A. C. A. R., Kaya, S. T. (2014). Düzce İlinde Arıcılığın Yapısı ve Arıcılık Faaliyetleri Üzerine Bir Araştırma. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 2:1-15.
- Kumova, U., Kaftanoğlu, O. ve Yeninar, H. (1993). Çukurova Bölgesinde Bal arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerin Ek Yemlerle Beslenmesinin Koloni Gelişimi Üzerine etkileri. *Ç.Ü.Z.F. Dergisi*. 8:153-166.
- Mehmet, Ayağ., M., Cengiz, H., Çitrazoğlu, (2006). Arılarda Sonbahar Bakımı ve Kışlatma. *U.Arı D. / U.Bee J.* 4:137-138.
- Muz, M., Solmaz, H., Yaman, M., Karakavuk, M. (2012). Kış Salkımı Erken Bozulan Arı Kolonilerinde Paraziter ve Bakteriyel Patojenler. *Van Vet J.* 23:147-150.
- Özbilgin, N., Alatas, İ., Balkan, C., Öztürk, A. İ., Karaca, Ü. (1999). Ege bölgesi arıcılık işletmelerinin teknik ve ekonomik başlıca karakteristiklerinin belirlenmesi. *Anadolu*. 9:149-170.
- Seitz, N., Traynor, K.S., Steinhauer N., Rennich K., Wilson M. E., Ellis J.D., Rose R., Tapy D. R., Sagili R.R., Caron D. M., Delaplane K. S., Rangel J., Lee K., Baylis K., Wilkes J.T., Skinner J. A., Pettis J.S. vanEngelsdorp D. (2016). A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA, *Journal of Apicultural Research*. 54:1-13.
- Sıralı, R., Doğaroğlu, M. (2005). Trakya bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları üzerine anket sonuçları. *U. Arı D. / U.Bee J.* 5, 71-78.
- Southwick, E.E.(1985). Bee Hair Structure and the Effect of On Metabolism at Low Temperature. *Journal of Apicultural Research*. 24:144-146.
- Szabo, T. I., Heikel, D. T. (1987). Effect of fumagillin treatment on Nosema infection, survival and populations of overwintering honeybee colonies. *Journal of Apicultural Research*. 26:186-190.
- Szabo, T.I. (1989). Termology of wintering honey–bee colonies in 4. colony pack. I. The direct effects of hive insulation on colony temperatures. *Amer. Bee J.* 129, 338-339
- Taber, S. (1988). Management for winter survival. *Amer. Bee J.* 129:833-835.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Tutkun, E. (1987). Bal Arılarında Nosema Hastalığı. *Teknik Arıcılık Dergisi*. 10:12-15.
- Winston, M.L., 1993. The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press Cambridge, Massachusetts, London, England. p 284.
- Yamane, T. (2006). Temel Örnekleme Yöntemleri. Çev. Esin, A., Bakır, M.A., Aydın, C., Güzbüzel, E. Literatür Yayınları, İstanbul. 53 s.
- Yaşar, N., Güler, A., Yeşiltaş, H. B., Bulut, G., Gökçe, M. (2002). Karadeniz bölgesi arıcılığının genel yapısının belirlenmesi. *Mellifera*. 3:,15-24.
- Yeninar, H. (2016). Ülkemizde Farklı Materyallerden Üretilmiş Kovanlarda Barındırılan Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinin Doğu Akdeniz Sahil Şeridinde Kışlama Özellikleri. *U.Arı D. / U.Bee J.* 15:1-9.
- Yıldız, N. ve Bircan, H. (2006). Uygulamalı İstatistik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Yorgancıoğlu, İ.Y. (2001). Bal Arılarının Değişik Kışlatma Şekilleri Sırasında Farklı Kovan Tiplerinin ve Beslenme Şekillerinin Koloni Performansına ve Bal Verimine Etkileri. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. ANKARA.