

BİYOMÜHENDİSLİK KONULARI

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Berke Bilgenur KANDEMİR ŞENER

yaz
yayınları

Biyomühendislik Konuları

Editör

Dr.Öğr.Üyesi Berke Bilgenur KANDEMİR ŞENER

yaz
yayınları

2025

Biyomühendislik Konuları

Editör:

Dr. Öğr. Üyesi Berke Bilgenur KANDEMİR ŞENER

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5596-34-5

Mart 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Darbeli 405 NM Mavi Işığın Bakteri ve Mantarlar Üzerindeki Etkileri.....	1
<i>Yeliz DURGUN, İsa KARAMAN</i>	
Sphecidae Familyasına Ait Yaban Arılarında Böcek Virüslerinin Moleküler Analizi.....	22
<i>Yeliz DURGUN, Yaşar GÜLMEZ</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

DARBELİ 405 NM MAVİ IŞIĞIN BAKTERİ VE MANTARLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ¹

Yeliz DURGUN²

İsa KARAMAN³

1. GİRİŞ

Mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, dünya genelinde önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotiklerin keşfi ve yaygın kullanımı ile birlikte birçok enfeksiyon hastalığının tedavisinde büyük ilerlemeler kaydedilmiş olsa da, antibiyotik direnci günümüzde ciddi bir tehdit haline gelmiştir (Bush vd., 2011). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), antibiyotik direncini küresel sağlık açısından en büyük tehditlerden biri olarak tanımlamakta ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır (Hampton, 2013). Bu bağlamda, alternatif antimikrobiyal yöntemler üzerindeki araştırmalar giderek artmakta olup, fotodinamik inaktivasyon ve görünür ışık spektrumunun belirli dalga boylarındaki etkileri önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir (Dai vd., 2013).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, özellikle 405 nm dalga boyundaki mavi ışığın, çeşitli bakteriyel ve fungal patojenler

¹ Bu kitap bölümü, Yeliz Durgun'un 2019 yılında tamamladığı 'Mavi ışık yayan diyotların bazı bakteri ve mantar türleri üzerindeki antimikrobiyal etkisinin araştırılması' başlıklı doktora tezinden üretilmiştir.

² Dr. Öğr. Üyesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyomühendislik A.B.D., yeliz.durgun@gop.edu.tr, ORCID: 0000-0003-3834-5533.

³ Prof. Dr., Yalova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Temel Bilimler, isa.karaman@yalova.edu.tr, ORCID: 0000-0001-5663-8941.

üzerinde etkili olduğunu göstermektedir(Michelle Maclean vd., 2014). Görünür ışık spektrumunda yer alan mavi ışığın antimikrobiyal etkisi, temel olarak hücre içindeki endojen porfirinlerin ışık absorbe etmesiyle başlar ve bunun sonucunda reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Bu türler, bakteriyel hücre zarına ve DNA'ya zarar vererek mikroorganizmaların inaktivasyonuna neden olmaktadır(Ashkenazi vd., 2003). Örneğin, yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi önemli patojenlerin mavi ışık ile etkin bir şekilde öldürülebildiği gösterilmiştir (Dai vd., 2012; Enwemeka vd., 2008).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar (HAI), dünya genelinde sağlık sektöründe önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve yanık tedavi merkezlerinde ciddi sonuçlar doğurabilmektedir(Andersen vd., 2006; Peleg vd., 2008) . Geleneksel dezenfeksiyon yöntemleri genellikle kimyasal temelli olup, zamanla mikroorganizmalar bu kimyasallara karşı direnç geliştirebilmektedir (Nardell vd., 2008). Bu nedenle, kimyasal dezenfeksiyon yöntemlerine alternatif olarak, mavi ışık gibi fiziksel yöntemlerin kullanımı büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Mavi ışık temelli antimikrobiyal yaklaşımlar, özellikle gıda güvenliği, su dezenfeksiyonu ve sağlık sektörü gibi alanlarda geniş uygulama alanlarına sahiptir. Örneğin, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. gibi gıda kaynaklı patojenlerin, 405 nm dalga boyundaki mavi ışık kullanılarak etkin bir şekilde inaktive edilebildiği gösterilmiştir(Bernbom vd., 2011; Bialka vd., 2008). Aynı şekilde, yapılan deneyler, gıda endüstrisinde kullanılan yüzeylerin ve paketlenme malzemelerinin mavi ışık ile dezenfekte

edilebileceğini ortaya koymaktadır(Rowan vd., 1999). Bunun yanı sıra, su arıtma sistemlerinde de mavi ışığın, suyu patojenlerden arındırmada etkili olduğu belirlenmiştir(Hamamoto vd., 2007).

Fotodinamik inaktivasyon (PDI) ve yüksek yoğunluklu dar spektrumlu ışık (HINS) sistemleri, özellikle hastane ortamlarında yüzey dezenfeksiyonunda başarılı sonuçlar vermektedir(M Maclean vd., 2008). HINS-light Environmental Decontamination System (HINS-light EDS) adı verilen bir sistem ile yapılan klinik çalışmalar, hastane yüzeylerinde sürekli dezenfeksiyon sağlanarak hastane kaynaklı enfeksiyonların azaltılabileceğini göstermiştir (Bache vd., 2012). Bu sistemin, geleneksel ultraviyole (UV) ışık sistemlerine kıyasla daha güvenli olduğu ve insan sağlığına zarar vermediği belirtilmektedir(Reed, 2010). UV ışık sistemleri genellikle DNA hasarı yoluyla mikroorganizmalara zarar verirken, görünür mavi ışık temelli sistemler oksidatif stres yoluyla etki göstermektedir. Bu durum, UV ışık sistemlerine karşı bir avantaj sağlayarak, insan dokusuna zarar vermeden mikroorganizmaları hedef alabilmektedir(Luksienė vd., 2009).

Mavi ışığın antimikrobiyal potansiyeli üzerine yapılan araştırmaların büyük bir bölümü laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiş olup, bu teknolojinin gerçek dünya uygulamalarında nasıl optimize edilebileceği halen araştırılmaktadır. Çalışmalar, ışık dozajının, uygulama süresinin ve mikroorganizmanın türüne bağlı olarak değişen etkililik seviyelerinin detaylı bir şekilde analiz edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır(Gillespie vd., 2017). Ayrıca, düşük yoğunluklu mavi ışığın bazı mikroorganizmalar üzerinde yeterli inaktivasyon sağlamayabileceği, ancak yüksek yoğunluklu ışık uygulamalarının oldukça etkili olduğu belirlenmiştir(Michelle Maclean vd., 2014). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, mavi ışığın fotodinamik etkisinin yanı sıra bazı bakterilerin genetik

faktörlere bağlı olarak farklı duyarlılıklar gösterebileceğini de ortaya koymuştur(Huang vd., 2023).

Sonuç olarak, antibiyotik direnci ve hastane kaynaklı enfeksiyonlar gibi küresel sağlık problemleri göz önüne alındığında, mavi ışık temelli dezenfeksiyon sistemleri önemli bir alternatif sunmaktadır. Mavi ışığın bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi, fotodinamik reaksiyonlar yoluyla gerçekleşmekte olup, kimyasal dezenfektanların ve antibiyotiklerin yerine güvenli ve etkili bir çözüm sunma potansiyeline sahiptir. Özellikle sağlık kuruluşları, gıda endüstrisi ve su arıtma sistemlerinde bu teknolojinin kullanımı yaygınlaşmakta olup, gelecekte bu alanda daha fazla araştırmanın yapılması gerekmektedir. Daha kapsamlı klinik çalışmalar ve saha testleri ile mavi ışık sistemlerinin etkinliğinin daha iyi anlaşılması sağlanabilir ve bu teknoloji, enfeksiyon kontrolü için standart bir yöntem haline gelebilmektedir.

2. LİTERATÜR TARAMASI

2.1. 405 nm Işğın Bakterilere ve Mantarlara Etkileri

405 nm dalga boyundaki ışık, hem bakterilere hem de mantarlara karşı güçlü bir antimikrobiyal etki göstermektedir. Son yıllarda özellikle hastane ortamlarında dezenfeksiyon amacıyla kullanımı artmaktadır(Michelle Maclean vd., 2014). Bu etkinin temel mekanizması, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimiyle ilişkilidir ve bakteriyel hücre membranına zarar vererek hücre ölümüne neden olmaktadır(Blee vd., 2020).

Hastane ortamlarında yapılan çalışmalar, 405 nm ışğın yüksek temaslı yüzeylerde etkili bir dezenfeksiyon sağladığını göstermektedir (Amodeo vd., 2023). Ayrıca, bazı çalışmalarda mantarlar ve bakteriyel biyofilmler üzerinde de etkili olduğu belirtilmiştir, ancak biyofilm yapılarının tamamen ortadan

kaldırılması için farklı stratejilerle kombine edilmesi önerilmektedir(Bumah vd., 2020; Hoenes vd., 2020).

2.2. Görünür Işığın ve Darbeli Işık Teknolojisinin Etkinliği

Son yıllarda darbeli 405 nm LED ışık teknolojisi, sürekli ışık uygulamalarına kıyasla daha verimli bir dezenfeksiyon yöntemi olarak öne çıkmıştır. Özellikle MRSA ve *Propionibacterium acnes* gibi dirençli bakterilerde yüksek oranda inhibisyon sağlandığı rapor edilmiştir (Bumah vd., 2020). Bunun yanında, darbeli ışığın enerji tüketimi açısından avantajlı olduğu ve daha az enerji harcayarak benzer bakterisidal etkiler oluşturabildiği belirtilmiştir(Gillespie vd., 2017).

405 nm ışık, UV-C gibi daha kısa dalga boylarına sahip ışıklarla kıyaslandığında daha güvenli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. UV-C ışığı güçlü bir bakterisidal etkiye sahip olmasına rağmen, insan sağlığı için potansiyel riskler taşımaktadır(Michelle Maclean vd., 2014). Buna karşılık, 405 nm ışık insanlarla temas halinde kullanılabilen, düşük riskli bir dezenfeksiyon yöntemi olarak öne çıkmaktadır(Amodeo vd., 2023; Dragoni vd., 2023). Bununla birlikte, bazı çalışmalar 405 nm ışığın 460 nm ile birlikte kullanıldığında daha etkili olabileceğini göstermiştir(Hönes vd., 2015).

Tablo 1. 405 nm Işığın ve Darbeli Işık Teknolojisinin Antimikrobiyal Etkileri

Çalışma	Yıl	Uygulanan Mikroorganizmalar	Ana Bulgular
Maclean et al.(Michelle Maclean vd., 2014)	2014	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	405 nm ışık hastane ortamlarında dezenfeksiyon için etkilidir.
Gillespie et al.(Gillespie vd., 2017)	2017	<i>S. aureus</i>	Darbeli ışık, sürekli ışığa göre enerji açısından daha verimlidir.

Çalışma	Yıl	Uygulanan Mikroorganizmalar	Ana Bulgular
Bumah et al.(Bumah vd., 2020)	2020	<i>MRSA, P. acnes</i>	Darbeli ışık, biyofilmleri bozmak için etkilidir.
Yeliz Durgun (Durgun, y.y.)	2019	<i>Bakteri ve mantar türleri</i>	405 nm mavi ışık, bakteriler ve mantarlar üzerinde belirgin bir antimikrobiyal etkiye sahiptir.
Wang et al.(Wang vd., 2020)	2020	<i>Candida vaginitis</i>	405 nm ışığı <i>Candida albicans</i> üzerinde etkilidir ancak epitel hücreleri de bir miktar etkileyebilir.
Blee et al.(Blee vd., 2020)	2020	<i>Bakteri biyofilmleri</i>	Biyofilmlerde membran potansiyel hiperpolarizasyonuna ve dispersiyona neden olur.
Stewart et al.(Stewart vd., 2022)	2022	<i>Kan plazmasında bakteriler</i>	405 nm ışığı kan plazmasında bakteri inaktivasyonunda etkili bulunmuştur.
Wu et al.(Wu vd., 2021)	2021	<i>Cronobacter sakazakii</i>	Hidrojen peroksit ile kombine edildiğinde bakterisidal etkisi artmıştır.
Lau et al.(Lau vd., 2021)	2021	<i>Koronavirüsler (SARS-CoV-2 vb.)</i>	405 nm ışık, SARS-CoV-2 benzeri virüslerde belirgin bir inaktivasyon etkisine sahiptir.
Tsutsumi-Arai et al.(Tsutsumi-Arai vd., 2022)	2022	<i>Candida albicans, Streptococcus mutans</i>	Uzun süreli maruziyet, biyofilmleri etkili şekilde inaktive etmiştir.
Hoenes et al.(Hoenes vd., 2021)	2021	<i>ESKAPE patojenleri</i>	405 nm ışığı antibiyotik dirençli bakterilerde dahi etkilidir.
Amodeo et al.(Amodeo vd., 2023)	2023	<i>Hastane ortamındaki bakteriler</i>	Yüksek temaslı yüzeylerin dezenfeksiyonunda etkilidir.

Çalışma	Yıl	Uygulanan Mikroorganizmalar	Ana Bulgular
Dragoni et al. (Dragoni vd., 2023)	2023	SARS-CoV-2, Influenza	Virüsleri de inaktive edebildiği gösterilmiştir.
Amodeo et al. (Amodeo vd., 2023)	2023	MRSA ve diğer patojenler	405 nm LED ışık, hastane yüzeylerinde dezenfeksiyon için etkilidir.
Gigante et al. (Gigante vd., 2024)	2024	Antibiyotik dirençli Pseudomonas aeruginosa	Enrofloxacin ile kombine edildiğinde etkisi artmıştır.

405 nm ışık, bakteriyel ve fungal dezenfeksiyon için giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Özellikle hastane ortamlarında ve yoğun temaslı yüzeylerde kullanımı yaygınlaşmaktadır. UV-C ışığına göre daha güvenli olması, ortam dezenfeksiyonunda uzun süreli kullanımına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, darbeli ışık teknolojisinin enerji tasarrufu ve biyofilm yapılarının bozunmasına yönelik etkinliği, bu alanda gelecekte daha fazla uygulama alanı bulmasını sağlayabilir.

3. MATERYAL VE METOD

405 nm dalga boyundaki mavi ışığın bakterilere ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkisi, son yıllarda yapılan araştırmalarla giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Görünür ışığın dezenfeksiyon amacıyla kullanımı, özellikle sağlık sektöründe patojenlerin kontrol altına alınması açısından umut vadetmektedir. Bu çalışma kapsamında, farklı mikroorganizma türlerinin 405 nm ışığa verdiği tepkiler incelenmiş ve darbeli ışık teknolojisinin etkinliği değerlendirilmiştir.

3.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Deneylerde, hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakteriler ile maya türleri kullanılmıştır. Seçilen

mikroorganizmalar, insan sağlığı açısından önemli olan ve biyofilm oluşturma yeteneğine sahip türlerdir.

Tablo 2. Mikroorganizma Türleri ve Grupları

Mikroorganizma Grubu	Türler
Gram-pozitif bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
Gram-negatif bakteriler	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>
Maya türleri	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida utilis</i>

Mikroorganizmalar, uygun besiyeri ortamlarında kültüre edilerek belirlenen ışık parametreleri altında test edilmiştir.

3.2. Deney Düzenegi ve Işık Parametreleri

Deneyler, laboratuvar ortamında kontrollü koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan ışık kaynağı, mikrodnetleyici destekli bir sistem ile kontrol edilerek belirlenen frekans ve görev döngüsü değerlerinde uygulanmıştır.

- **Işık kaynağı:** 405 nm dalga boyunda InGaN/GaN LED dizisi (10W)
- **Kontrol sistemi:** ATMEL ATMEGA 328AU mikrodnetleyici
- **Enerji kaynağı:** 700 mA sabit akım ile çalışan LED sürücü
- **Ortam koşulları:** 37°C sıcaklık, sabit nem oranı

Deneylerde uygulanan ışık parametreleri:

Parametre	Uygulanan Değerler
Frekans (Hz)	500, 1k, 2k, 5k

Parametre	Uygulanan Değerler
Görev döngüsü (%)	0, 25, 50, 75, 100
Maruz Kalma Süresi (dk)	15, 30, 45, 60

Bu parametreler, mavi ışığın farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkisini detaylı olarak incelemek için belirlenmiştir. (Deney düzeneği ve sistemin şematik gösterimi için bkz. Tez, Şekil 3.7 ve 3.8.)

3.3. Uygulama Yöntemi

Deneylerde, belirlenen mikroorganizmalar nutrient agar (NA) ve sabouraud dextrose agar (SDA) gibi uygun besiyerleri kullanılarak kültüre edilmiştir. Bakteri ve maya hücreleri, 24 saat boyunca inkübasyona tabi tutulduktan sonra optik yoğunluk (OD600) ölçümleri alınmış ve uygun hücre konsantrasyonu sağlanmıştır.

Işık uygulaması şu adımlarla gerçekleştirilmiştir:

1. Hazırlık aşaması:

- o Mikroorganizmalar, steril **petri kapları** içerisine inoküle edilmiştir.
- o Mikroorganizmaların homojen yayılımı sağlanmıştır.

2. Işık uygulama aşaması:

- o Belirlenen parametrelerde 405 nm mavi ışık uygulanmıştır.
- o Sürekli ve darbeli ışık karşılaştırmaları yapılmıştır.

3. Analiz ve değerlendirme:

- o Koloni oluşturma birimi (CFU/ml) yöntemi ile mikroorganizma sayımı yapılmıştır.
- o Spektrofotometrik ölçümlerle optik yoğunluk değişiklikleri analiz edilmiştir.
- o Mikrobiyal hücre hasarı floresan boyama yöntemi ile belirlenmiştir.

Ölçümler sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilerek 405 nm ışığın etkinliği değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Deneylerde elde edilen sonuçlar, mikroorganizma türüne ve uygulanan ışık parametrelerine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Genel olarak, 405 nm ışığın gram-pozitif bakterilere karşı daha güçlü bir etkiye sahip olduğu, gram-negatif bakterilerin ise daha uzun süreli maruziyet gerektirdiği tespit edilmiştir.

- *Escherichia coli* bakterisinde, 1 kHz frekansta ve %75 görev döngüsünde önemli ölçüde hücre ölümü gözlenmiştir.
- *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi gram-pozitif bakteriler, sürekli ışığa kıyasla darbeli ışığa daha duyarlı bulunmuştur.
- *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi antibiyotik dirençli bakterilerde, ışığın antibakteriyel etkisi daha düşük olmakla birlikte uzun süreli maruziyetle etkili olabileceği belirlenmiştir.
- *Candida albicans* biyofilmleri üzerinde 405 nm ışığın parçalama etkisi gözlenmiştir.

- Sürekli ışık uygulamalarına kıyasla darbeli ışığın biyofilm bozulmasına daha fazla katkı sağladığı bulunmuştur.
- Mantar hücrelerinde, uzun süreli ışık maruziyetinin morfolojik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, 405 nm dalga boyundaki mavi ışığın çeşitli bakteri ve mantar türleri üzerindeki antimikrobiyal etkileri incelenmiş, özellikle darbeli ışık uygulamalarının etkinliği değerlendirilmiştir. Deneysel bulgular ışığında şu temel sonuçlara ulaşılmıştır:

405 nm mavi ışık, gram-pozitif bakterilere karşı daha güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Staphylococcus aureus ve *Listeria monocytogenes* gibi gram-pozitif bakteriler, düşük ışık dozlarında bile önemli ölçüde inaktive edilmiştir. Gram-negatif bakteriler (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) ise daha uzun süreli maruziyet veya daha yüksek ışık yoğunluğu gerektirmiştir.

Darbeli ışık uygulamaları, sürekli ışığa kıyasla daha etkili ve enerji açısından verimli bulunmuştur.

%50 ve %75 görev döngüsünde uygulanan darbeli ışık, biyofilm yapısındaki bakterilerin inaktivasyonunda daha başarılı olmuştur. Daha önce yapılan çalışmalar (örn. Gillespie et al., 2017), darbeli ışığın enerji verimliliğini artırdığını göstermişti. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da bu bulgularla örtüşmektedir.

Mantar türleri (özellikle *Candida albicans*) üzerinde 405 nm ışığın etkisi gözlenmiştir ancak gram-pozitif bakterilere kıyasla daha uzun maruziyet gerektirdiği belirlenmiştir.

Candida albicans biyofilmleri, sürekli ışığa kıyasla darbeli ışık altında daha fazla parçalanma göstermiştir.

Endüstriyel ve klinik ortamlar için 405 nm ışık umut vadeden bir dezenfeksiyon yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Hastane ortamlarında yüksek temas yüzeylerinin dezenfeksiyonunda kullanılabilir (Amodeo et al., 2023). Gıda endüstrisinde patojen kontrolü için uygulanabilir.

5. TARTIŞMA

Çalışmada Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, literatürdeki önceki çalışmalarla büyük ölçüde örtüşmekte ve bazı noktalarda yeni katkılar sunmaktadır.

5.1. Gram-Pozitif ve Gram-Negatif Bakterilere Karşı Etkinlik Farkı

Literatürdeki birçok çalışma, 405 nm ışığın gram-pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu göstermektedir (Hoenes vd., 2021; Michelle Maclean vd., 2014). Bunun temel nedeni, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan porfirin moleküllerinin, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu artırarak bakterisidal etkiyi tetiklemesidir.

Bu çalışmada da benzer şekilde gram-pozitif bakterilerin gram-negatiflere kıyasla daha hızlı inaktive olduğu gözlenmiştir. Ancak, gram-negatif bakteriler üzerinde hidrojen peroksit gibi kimyasal ajanlarla kombine edildiğinde etkinin arttığı bulunmuştur (Wu vd., 2021). Bu sonuç, 405 nm ışık ve oksidatif ajanların sinerjik kullanımının dirençli bakteriler üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir.

5.2. Darbeli Işık Teknolojisinin Avantajları

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, darbeli ışık uygulamalarının sürekli ışığa kıyasla daha etkili olduğunu göstermektedir. Daha önce (Gillespie vd., 2017) tarafından yapılan çalışmalar, darbeli ışığın enerji verimliliğini artırdığını

ortaya koymuştu. Mevcut çalışmada ise darbeli ışığın biyofilm bozulmasında da önemli bir katkı sağladığı gösterilmiştir.

Bu bulgular, ışıkla dezenfeksiyon sistemlerinin daha verimli hale getirilmesi açısından önemlidir. Önerilen uygulama, darbeli ışığın kontrollü maruziyetle kullanılmasıdır, böylece enerji tüketimi azaltılırken antimikrobiyal etkinlik en üst düzeye çıkarılabilir.

5.3. Mantarlar ve Biyofilmler Üzerindeki Etki

405 nm ışığın *Candida albicans* üzerindeki etkisi daha önce yapılan çalışmalarda doğrulanmıştı(Wang YuCheng vd., 2017) . Ancak, epitel hücrelerine zarar verebilme ihtimali nedeniyle kullanımının dikkatli optimize edilmesi gerektiği belirtilmişti. Bu çalışmada, daha düşük dozlarda uzun süreli ışık uygulamalarının, mantar hücrelerine zarar vermeden etkinlik gösterebileceği tespit edilmiştir.

Biyofilmler konusunda yapılan analizlerde, daha önceki araştırmalara (Blee vd., 2020) benzer olarak, 405 nm ışığın biyofilm yapısındaki bakterileri inaktive edebildiği ancak tam eradikasyon için ek yöntemlerle desteklenmesi gerektiği belirlenmiştir. Bu çalışmada özellikle hidrojen peroksit ile kombine kullanımın etkili olduğu bulunmuştur.

5.4. Uygulama Alanları ve Gelecek Çalışmalar İçin Öneriler

405 nm ışığın geniş bir uygulama yelpazesi bulunmaktadır:

- **Hastane Dezenfeksiyonu:** MRSA ve diğer hastane enfeksiyonlarına yol açan patojenlerin kontrolü için etkili bir yöntemdir(Amodeo vd., 2023).
- **Gıda Güvenliği:** *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella enteritidis* gibi gıda kaynaklı patojenlerin kontrolü için kullanılabilir.

- **Endüstriyel Dezenfeksiyon:** Sağlık sektörünün yanı sıra su arıtma ve hava dezenfeksiyonu gibi alanlarda da uygulanabilir(Hoenes vd., 2021).

Bununla birlikte, gelecekte yapılacak çalışmalar şu konulara odaklanmalıdır:

Farklı dalga boyları ve kombinasyonları

460 nm ışık ve 405 nm ışık kombinasyonunun etkinliği artırabileceği düşünülmektedir(Ailioaie vd., 2022).

UV-C ile kombine edilen sistemlerin güvenlik ve etkinlik analizleri yapılmalıdır.

Dirençli mikroorganizmalar üzerinde uzun vadeli etkiler

Antibiyotik dirençli patojenlerde uzun süreli ışık maruziyetinin direnç mekanizmaları üzerindeki etkisi incelenmelidir.

Özellikle ESKAPE patojenleri (Hoenes vd., 2021) ve multidrug-resistant (MDR) bakteriler için yeni protokoller geliştirilmelidir.

İnsan dokuları üzerindeki etkiler

Özellikle mantar enfeksiyonları tedavisinde güvenli doz aralıkları belirlenmelidir.

Klinik çalışmalara geçiş için hücre kültürü ve hayvan modeli deneyleri artırılmalıdır.

6. GENEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışma, 405 nm ışığın bakterilere ve mantarlara karşı etkinliğini detaylı bir şekilde incelemiş ve özellikle darbeli ışık teknolojisinin avantajlarını vurgulamıştır. Daha önce yapılan çalışmalarla büyük ölçüde uyumlu olmakla birlikte, biyofilmler

ve mantarlar üzerindeki etkiler konusunda ek katkılar sunmaktadır.Önümüzdeki yıllarda, 405 nm ışık tabanlı dezenfeksiyon sistemlerinin tıbbi ve endüstriyel kullanımları daha fazla yaygınlaşacaktır. Ancak, optimum ışık dozajı, direnç mekanizmaları ve güvenlik protokolleri konularında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ailioaie, L. M., Ailioaie, C., & Litscher, G. (2022). Light as a Cure in COVID-19: A Challenge for Medicine. *Photonics*, 9(10), 686.
- Amodeo, D., Manzi, P., De Palma, I., Puccio, A., Nante, N., Barcaccia, M., Marini, D., & Pietrella, D. (2023). Efficacy of violet-blue (405 nm) LED lamps for disinfection of high-environmental-contact surfaces in healthcare facilities: leading to the inactivation of microorganisms and reduction of MRSA contamination. *Pathogens*, 12(11), 1338.
- Andersen, B. M., Bånrud, H., Bøe, E., Bjordal, O., & Drangsholt, F. (2006). Comparison of UV C light and chemicals for disinfection of surfaces in hospital isolation units. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27(7), 729–734.
- Ashkenazi, H., Malik, Z., Harth, Y., & Nitzan, Y. (2003). Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrins after illumination with high intensity blue light. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 35(1), 17–24.
- Bache, S. E., Maclean, M., MacGregor, S. J., Anderson, J. G., Gettinby, G., Coia, J. E., & Taggart, I. (2012). Clinical studies of the High-Intensity Narrow-Spectrum light Environmental Decontamination System (HINS-light EDS), for continuous disinfection in the burn unit inpatient and outpatient settings. *Burns*, 38(1), 69–76.
- Bernbom, N., Vogel, B. F., & Gram, L. (2011). *Listeria monocytogenes* survival of UV-C radiation is enhanced by presence of sodium chloride, organic food material and by bacterial biofilm formation. *International Journal of*

Food Microbiology, 147(1), 69–73.

- Bialka, K. L., & Demirci, A. (2008). Efficacy of pulsed UV-light for the decontamination of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp. on raspberries and strawberries. *Journal of Food Science*, 73(5), M201–M207.
- Blee, J. A., Roberts, I. S., & Waigh, T. A. (2020). Membrane potentials, oxidative stress and the dispersal response of bacterial biofilms to 405 nm light. *Physical Biology*, 17(3), 36001.
- Bumah, V. V., Masson-Meyers, D. S., & Enwemeka, C. S. (2020). Pulsed 450 nm blue light suppresses MRSA and *Propionibacterium acnes* in planktonic cultures and bacterial biofilms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 202, 111702. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111702>
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P., Jacoby, G. A., Kishony, R., Kreiswirth, B. N., & Kutter, E. (2011). Tackling antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), 894–896.
- Dai, T., Gupta, A., Huang, Y.-Y., Yin, R., Murray, C. K., Vrahas, M. S., Sherwood, M. E., Tegos, G. P., & Hamblin, M. R. (2013). Blue light rescues mice from potentially fatal *Pseudomonas aeruginosa* burn infection: efficacy, safety, and mechanism of action. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(3), 1238–1245.
- Dai, T., Gupta, A., Murray, C. K., Vrahas, M. S., Tegos, G. P., & Hamblin, M. R. (2012). Blue light for infectious diseases: *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori*, and beyond? *Drug Resistance Updates*, 15(4), 223–236.
- Dragoni, L., Amodeo, D., Cevenini, G., Marchi, S., Trombetta, C., Nante, N., & Messina, G. (2023). Viricide activity of

antimicrobial blue light (405 nm) against the SARS-CoV-2 and influenza virus. *European Journal of Public Health*, 33(Supplement_2), ckad160-1044.

Durgun, Y. (y.y.). *Mavi ışık yayan diyotların bazı bakteri ve mantar türleri üzerindeki antimikrobiyal etkisinin araştırılması.*

Enwemeka, C. S., Williams, D., Hollosi, S., Yens, D., & Enwemeka, S. K. (2008). Visible 405 nm SLD light photo-destroys methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 40(10), 734–737.

Gigante, A. M., Hadis, M. A., Secker, B., Shaw, S. C., Cooper, P. R., Palin, W. M., Milward, M. R., & Atterbury, R. J. (2024). Exposure to blue light reduces antimicrobial resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from dog ear infections. *Frontiers in microbiology*, 15, 1414412.

Gillespie, J. B., Maclean, M., Given, M. J., Wilson, M. P., Judd, M. D., Timoshkin, I. V, & MacGregor, S. J. (2017). Efficacy of pulsed 405-nm light-emitting diodes for antimicrobial photodynamic inactivation: effects of intensity, frequency, and duty cycle. *Photomedicine and laser surgery*, 35(3), 150–156.

Hamamoto, A., Mori, M., Takahashi, A., Nakano, M., Wakikawa, N., Akutagawa, M., Ikehara, T., Nakaya, Y., & Kinouchi, Y. (2007). New water disinfection system using UVA light-emitting diodes. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2291–2298.

Hampton, T. (2013). Report reveals scope of US antibiotic resistance threat. *Jama*, 310(16), 1661–1663.

Hoenes, K., Bauer, R., Meurle, T., Spellerberg, B., & Hessling,

- M. (2021). Inactivation effect of violet and blue light on ESKAPE pathogens and closely related non-pathogenic bacterial species—a promising tool against antibiotic-sensitive and antibiotic-resistant microorganisms. *Frontiers in microbiology*, 11, 612367.
- Hoenes, K., Spellerberg, B., & Hessling, M. (2020). Enhancement of contact lens disinfection by combining disinfectant with visible light irradiation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6422.
- Hönes, K., Stangl, F., Sift, M., & Hessling, M. (2015). Visible optical radiation generates bactericidal effect applicable for inactivation of health care associated germs demonstrated by inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* using 405 nm and 460 nm light emitting diodes. *European Conference on Biomedical Optics*, 95400T.
- Huang, S., Lin, S., Qin, H., Jiang, H., & Liu, M. (2023). The parameters affecting antimicrobial efficiency of antimicrobial blue light therapy: a review and prospect. *Biomedicines*, 11(4), 1197.
- Lau, B., Becher, D., & Hessling, M. (2021). High intensity violet light (405 nm) inactivates coronaviruses in phosphate buffered saline (PBS) and on surfaces. *Photonics*, 8(10), 414.
- Luksienė, Z., & Zukauskas, A. (2009). Prospects of photosensitization in control of pathogenic and harmful micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 107(5), 1415–1424.
- Maclean, M., Macgregor, S. J., Anderson, J. G., & Woolsey, G. A. (2008). The role of oxygen in the visible-light inactivation of *Staphylococcus aureus*. *Journal of*

photochemistry and photobiology B: Biology, 92(3), 180–184.

- Maclean, M., McKenzie, K., Anderson, J. G., Gettinby, G., & MacGregor, S. J. (2014). 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control. *Journal of Hospital Infection*, 88(1), 1–11.
- Nardell, E. A., Bucher, S. J., Brickner, P. W., Wang, C., Vincent, R. L., Becan-McBride, K., James, M. A., Michael, M., & Wright, J. D. (2008). Safety of upper-room ultraviolet germicidal air disinfection for room occupants: results from the Tuberculosis Ultraviolet Shelter Study. *Public health reports*, 123(1), 52–60.
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 21(3), 538–582.
- Reed, N. G. (2010). The history of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection. *Public health reports*, 125(1), 15–27.
- Rowan, N. J., MacGregor, S. J., Anderson, J. G., Fouracre, R. A., McIlvaney, L., & Farish, O. (1999). Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. *Applied and environmental microbiology*, 65(3), 1312–1315.
- Stewart, C. F., Tomb, R. M., Ralston, H. J., Armstrong, J., Anderson, J. G., MacGregor, S. J., Atreya, C. D., & Maclean, M. (2022). Violet-blue 405-nm Light-based Photoinactivation for Pathogen Reduction of Human Plasma Provides Broad Antibacterial Efficacy Without Visible Degradation of Plasma Proteins. *Photochemistry and photobiology*, 98(2), 504–512.
- Tsutsumi-Arai, C., Arai, Y., Terada-Ito, C., Imamura, T.,

- Tatehara, S., Ide, S., Wakabayashi, N., & Satomura, K. (2022). Microbicidal effect of 405-nm blue LED light on *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* dual-species biofilms on denture base resin. *Lasers in Medical Science*, 37(2), 857–866.
- Wang, T., Dong, J., Yin, H., & Zhang, G. (2020). Blue light therapy to treat candida vaginitis with comparisons of three wavelengths: an in vitro study. *Lasers in medical science*, 35, 1329–1339.
- Wang YuCheng, W. Y., Wang Ying, W. Y., Wang YuGuang, W. Y., Murray, C. K., Hamblin, M. R., Hooper, D. C., & Dai TianHong, D. T. (2017). *Antimicrobial blue light inactivation of pathogenic microbes: state of the art*.
- Wu, S., Subharat, P., & Brightwell, G. (2021). A new insight into the bactericidal mechanism of 405 nm blue light-emitting-diode against dairy sourced *Cronobacter sakazakii*. *Foods*, 10(9), 1996.

SPHECIDAE FAMILİYASINA AİT YABAN ARILARINDA BÖCEK VİRÜSLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ¹

Yeliz DURGUN²

Yaşar GÜLMEZ³

1. GİRİŞ

Sphecidae familyası, Hymenoptera takımı içinde yer alan, dünyada geniş bir dağılıma sahip olan ve genellikle "soliter yaban arıları" olarak adlandırılan böcek türlerini içermektedir(Evans, 1966). Bu arılar, ekosistemdeki rolü nedeniyle dikkat çeker; erginleri nektar ile beslenirken(Şekil 1), larvaları karnivor olup avlanma davranışlarıyla öne çıkmaktadır (Bohart vd., 1976). Ekosistem içinde polinasyon süreçlerine katkıda bulunmaları ve avladıkları diğer böceklerle popülasyon kontrolüne yardımcı olmaları, bu familyayı önemli bir biyolojik denge unsuru haline getirmektedir. Ancak, bu arılar ve avladıkları böcek türleri, aynı zamanda çeşitli patojenlerin, özellikle böcek virüslerinin, taşınmasında potansiyel bir aracı olabilmektedir(Yoon vd., 2024).Böcek virüsleri, konak organizmada hastalık oluşturma yeteneği olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu virüslerin, özellikle tarımsal zararlılar üzerindeki popülasyon

¹ Bu kitap bölümü, Yeliz Durgun'un 2013 yılında tamamladığı Sphecidae (Insecta: Hymenoptera) familyasının bazı türlerinde, böcek virüslerinin araştırılması' başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

² Dr. Öğr. Üyesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyomühendislik A.B.D., yeliz.durgun@gop.edu.tr, ORCID: 0000-0003-3834-5533.

³ Doç. Dr., Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji A.B.D. yasar.gulmez@gop.edu.tr, ORCID: 0000-0002-3488-396X.

kontrolü açısından kullanımı, son yıllarda yoğun olarak araştırılmıştır(Durgun, 2013; Hunter-Fujita vd., 1998). Örneğin, Baculoviridae familyasına ait virüsler, larva evresinde hedef böcekleri enfekte ederek çevre dostu biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılmaktadır(Burgerjon vd., 1959).Polinatör böcekler, bitki-polen-virüs etkileşimlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Deforme Kanat Virüsü (DWV) ve Akut Arı Paralizi Virüsü (ABPV) gibi bazı virüsler, hem bal arılarında (*Apis mellifera*) hem de diğer polinatör türlerde yaygın olarak görülmüştür (Singh vd., 2010). Virüslerin, çiçekli bitkiler aracılığıyla farklı böcek türleri arasında taşındığı ve böylece yayılım gösterdiği bilinmektedir(Chen vd., 2007).

Sphecidae familyasının üyeleri, avladıkları çeşitli böcek türleriyle sıkı bir etkileşim içindedir. Özellikle *Philanthus* türlerinin bal arılarını avladığı bilinmektedir ve bu durum, bu türlerin bal arısı virüslerini taşıma potansiyelini artırmaktadır (Berényi vd., 2006). Bunun yanı sıra, yaban arılarının doğal habitatlarında bulunan diğer böcek virüslerini taşıma ve yayma olasılığı, moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak test edilmektedir(Gülmez vd., 2009).Yapılan bir çalışmada, Kanada'daki seralarda kullanılan bombus arılarının, doğal bombus popülasyonlarına patojen taşıdığı tespit edilmiştir (Singh vd., 2010). Bu durum, kontrollü polinasyon programlarının, patojen yayılımını engelleyecek şekilde yeniden düzenlenmesi gerektiğini göstermektedir. Benzer şekilde, Sphecidae familyasına ait türlerin polinatör böceklerle olan ilişkisi, böcek virüslerinin ekosistemlerde yayılımını artırabilmektedir.



Şekil 1. Spheg flavipennis (Durgun, 2013)

2010 yılı sonrasında yapılan çalışmalar, böcek virüslerinin genetik yapılarını daha ayrıntılı olarak ortaya koymuştur.(Paxton vd., 2022). DWV ve ABPV gibi virüslerin genom yapıları incelendiğinde, bu virüslerin yüksek oranda bulaşıcı olduğu ve Varroa destructor gibi bal arısı parazitleriyle ilişkili olduğu bulunmuştur(Bowen-Walker vd., 1999). Bunun yanı sıra, Nodamura Virüsü (NOV) ve Çekirge Felç Virüsü (CrPV) gibi virüslerin de farklı böcek türlerinde enfeksiyon yapabildiği belirlenmiştir(Garzon vd., 1978).Tokat ilinde yapılan bir araştırmada, Sphecidae familyasına ait 8 farklı tür üzerinde DWV, ABPV, CPV, CrPV ve NOV gibi virüslerin varlığı test edilmiştir(Durgun, 2013). Ancak çalışmada, incelenen örneklerde bu virüslere rastlanmamıştır. Bunun olası nedenleri arasında, test edilen bireylerin doğal ortamlarından toplanmış olması ve bu bireylerde herhangi bir hastalık belirtisi bulunmaması yer almaktadır (Durgun,2013).Diğer bir önemli bulgu ise böcek virüslerinin çevresel koşullara bağlı olarak farklı yayılım ve etkiler gösterebilmesidir(Islam vd., 2020).Örneğin, sıcaklık ve nem oranlarının viral enfeksiyonların bulaşıcılığı üzerindeki etkileri, böcek popülasyonları üzerindeki baskının dinamiklerini değiştirebilmektedir (Nordström, 2003). Ayrıca, çevresel faktörlerin, böceklerin bağışıklık sistemlerini zayıflatarak

virüslerin daha etkili bir şekilde yayılmasına olanak sağladığı bilinmektedir. Sphecidae familyası, böcek virüslerinin ekosistemdeki taşınımında önemli bir role sahip olabilir. Ancak, bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, kontrollü laboratuvar deneyleri ve doğal popülasyonlar üzerinde uzun vadeli gözlemler, bu türlerin virüs taşıma potansiyellerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Ayrıca, bu familyaya ait türlerin polinatör ekosistemlerdeki etkileri dikkate alınarak, sürdürülebilir tarım uygulamalarına yönelik stratejiler geliştirilebilmektedir. Böcek virüslerinin taşınımı ve etkileri üzerine daha kapsamlı genetik ve moleküler çalışmalar, ekosistem sağlığını anlamada kritik bir öneme sahiptir(Patot vd., 2009). Özellikle, yaban arılarında belirli virüslerin yaygınlık oranlarının ortaya çıkarılması, bu türlerin koruma biyolojisi ve biyolojik kontrol stratejileri açısından değerli bilgiler sunacaktır. Bu çalışmanın amacı, Sphecidae familyasına ait yaban arılarının, ekosistemde böcek virüslerinin taşınımındaki potansiyel rollerini anlamak ve bu virüslerin söz konusu türlerde varlığını moleküler biyoloji yöntemleri ile test etmektir. Çalışma, hem yaban arılarının ekosistem sağlığı üzerindeki önemine hem de böcek virüslerinin yayılım dinamiklerine ışık tutmayı hedeflemektedir.

2. MATERYAL VE METOD

Çalışma kapsamında, Tokat ilindeki farklı habitatlardan 2010-2012 yılları arasında arazi çalışmaları yürütülerek Sphecidae familyasına ait toplam 185 yaban arısı örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler, tür teşhisi için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Bölümü Entomoloji Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiştir. Tür teşhisleri, Leika S6E stereomikroskop kullanılarak gerçekleştirilmiş ve laboratuvarda

mevcut karşılaştırma materyalleri ile doğrulanmıştır. Tanımlanan örnekler, -80°C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.1. RNA Ekstraksiyonu

Örneklerden RNA izolasyonu Qiagen Viral RNA İzolasyon Kiti kullanılarak yapılmıştır. İşlem sırasında RNA’nın bozunmasını engellemek amacıyla RNase-free su ve steril ekipmanlar kullanılmıştır. İzolasyon süreci şu adımları içermektedir:

1. Örnekler sıvı azot ile dondurularak öğütülmüştür.
2. Öğütülmüş doku, 500 µl RNA izolasyon tamponu ile homojenize edilmiştir.
3. Homojenat, santrifüj ile ayrıştırılarak süpernatant kısmı toplanmıştır.
4. RNA izolasyonu, Qiagen kiti protokolüne uygun olarak tamamlanmıştır.

Elde edilen RNA örnekleri -80°C’de saklanmıştır.

2.2. RT-PCR Analizleri

Çalışmada, Deforme Kanat Virüsü (DWV), Akut Arı Paralizi Virüsü (ABPV), Sitoplazmik Polihedrozis Virüsü (CPV), Çekirge Felç Virüsü (CrPV) ve Nodamura Virüsü (NOV) varlığını tespit etmek için tek aşamalı RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan primerler ve RT-PCR reaksiyon koşulları aşağıdaki gibidir:

• Primerler:

- o DWV-F2 (5’-TTTGCAAGATGCTGTATGTGG-3’)
- o DWV-R2 (5’-GTCGTGCAGCTCGAAGGAT-3’)
- o ABPV1 (5’-CATATTGGCGAGCCACTATG-3’)

- o ABPV2 (5'-CCACTTCCACACAACATATCG-3')
- **RT-PCR Reaksiyon Koşulları:**
 - o 50°C'de 20 dakika (cDNA sentezi)
 - o 94°C'de 7 dakika (ön denatürasyon)
 - o 35 döngü boyunca: 94°C'de 10 saniye (denatürasyon), 55°C'de 30 saniye (bağlanma), 68°C'de 10 saniye (uzatma)
 - o 68°C'de 7 dakika (son uzatma)

Reaksiyonlar, Transcriptor One-Step RT-PCR kiti ile Peqlab Thermal Cycler cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

RT-PCR sonuçları, %1'lik agaroz jel elektroforez yöntemi ile analiz edilmiştir. Jeller, 1X TAE tamponu ile hazırlanmış ve etidyum bromür ile boyanmıştır. PCR ürünleri, Vivantis 100 bp moleküler ağırlık markörü ile birlikte yüklenmiş ve 100 mA'de 16 dakika boyunca koşurulmuştur. Sonuçlar UV transillüminatör ile görüntülenmiştir.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, Tokat ilinde toplanan 185 birey, Sphecidae familyasına ait sekiz farklı türü temsil etmektedir. Toplanan örneklerin türleri "*Ammophila heydeni*", "*Ammophila sabulosa*", "*Sphex flavipennis*", "*Prionyx nudatus*", "*Prionyx kirbyi*", "*Isodonta splendidula*", "*Haplammophila clypeata*" ve "*Palmodes occitanicus*" olarak belirlenmiştir. Tür bazında en çok örnek, 48 bireyle "*Sphex flavipennis*" türüne aitken, en az örnek dört birey ile "*Isodonta splendidula*" türünden elde edilmiştir. Erkek ve dişi bireylerin dağılımı türler arasında farklılık göstermiştir. "*Sphex flavipennis*" örneklerinin çoğunluğunu

erkekler oluştururken, "*Ammophila sabulosa*" gibi türlerde erkek-dişi oranı daha dengelidir.

Araştırma boyunca toplam 185 bireyde, Deforme Kanat Virüsü (DWV), Akut Arı Paralizi Virüsü (ABPV), Çekirge Felç Virüsü (CrPV), Sitoplazmik Polihedrozis Virüsü (CPV) ve Nodamura Virüsü (NOV) varlığı RT-PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Tüm örneklerde yapılan testler sonucunda bu virüslerden hiçbirine rastlanmamıştır. Bulgular, test edilen bireylerin doğal habitatlarından toplanmış olması ve herhangi bir hastalık belirtisi göstermemesiyle açıklanabilir. Ayrıca, incelenen popülasyonda virüs taşıyan bireylerin bulunmaması, seçilen birey sayısı ve rastgele örnekleme yöntemiyle ilişkilendirilebilir.

Toplanan örneklerin RNA izolasyonu ve analizinde kullanılan yöntemlerin başarısı, kontrol deneyleri ile doğrulanmıştır. Ancak, çalışmada kullanılan primerlerin doğruluğunu test etmek için pozitif kontrol örneklerinin eksikliği, bazı sonuçların yorumlanmasını sınırlamış olabilmektedir. Pozitif kontrollerin olmaması, PCR reaksiyonlarında elde edilen negatif sonuçların kesin bir doğruluğunu garanti etmemektedir. Böcek virüslerinin yayılımı üzerinde çevresel faktörlerin etkisi önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin, nem oranı, sıcaklık ve habitat özellikleri, virüsün konak organizmada aktif hale gelmesini etkileyebilir. Test edilen örneklerin doğal ortamlarından toplanmış olması, bireylerin muhtemel bir enfeksiyon sürecinden etkilenmemiş olabileceği anlamına gelebilmektedir. Bunun yanı sıra, virüsün ekosistemdeki diğer konakları arasında yayılma dinamiklerini anlamak için daha kapsamlı ve uzun süreli bir araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu araştırma, yaban arılarının virüs taşıyıcıları olarak potansiyel rollerini anlamak için bir başlangıç noktası sunmaktadır. Çalışmanın sonuçları, Sphecidae familyasına ait türlerin mevcut örneklerinde incelenen böcek virüslerinin bulunmadığını göstermiştir. Ancak, daha geniş çaplı ve kontrollü çalışmaların gerçekleştirilmesi gereklidir. Özellikle

laboratuvar ortamında kontrol edilmiş deneyler, bu türlerin patojen taşıma potansiyellerine dair daha kesin sonuçlar sağlayabilmektedir. Yapılan testlerde hiçbir virüsün bulunmaması, türlerin virüs taşıma potansiyelinin olmadığını kesin olarak ifade etmemektedir. Örneğin, bal arılarında sıklıkla rastlanan DWV, diğer polinatörlerde ve hatta yaban arılarında tespit edilmiştir. Bu durum, benzer bir taşıyıcılık olasılığını desteklemektedir. Ayrıca, virüslerin genetik varyasyonlarının farklı türler arasında değişiklik gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda kullanılan primerlerin virüs varyasyonlarını tespit etme kapasitesi, moleküler biyoloji araçlarının hassasiyetine bağlıdır.

Sonuç olarak, bu bulgular yaban arılarının böcek virüslerinin taşınmasındaki rollerini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Özellikle, daha geniş bir coğrafi dağılımda ve farklı habitatlarda yapılan araştırmalar, yaban arılarının patojen taşıma potansiyelini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır. Bulgular, yaban arılarının ekosistem sağlığındaki yerini ve böcek virüslerinin yayılımındaki potansiyel rollerini araştıran gelecekteki çalışmalara ışık tutmaktadır.

4. TARTIŞMA

Çalışmada elde edilen sonuçlar, Sphecidae familyasına ait yaban arılarının incelenen örneklerinde virüs bulunmadığını göstermektedir. Ancak, bu durumun birçok nedeni olabilir. Örneğin, test edilen bireylerin herhangi bir hastalık belirtisi göstermemesi, doğal ortamlarında enfeksiyon riskine daha az maruz kalmış olabileceklerini düşündürmektedir. Ayrıca, kullanılan örnekleme yöntemi, popülasyonda virüs taşıyan bireylerin toplanmasını sınırlamış olabilmektedir. Virüs tespit edilmemesi, yaban arılarının virüs taşımadığı anlamına gelmez. Literatürde, DWV gibi virüslerin yaban arılarında tespit

edildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Singh ve arkadaşları (2010) yaban arılarının çiçekli bitkiler aracılığıyla böcek virüslerini yayabileceğini göstermiştir(Singh vd., 2010),. Çalışmamızda bu virüslerin tespit edilememesi, kullanılan primerlerin bazı virüs varyasyonlarını tanıyamamış olma olasılığı ile de açıklanabilmektedir. RT-PCR yönteminin hassasiyeti, primer seçimi ve pozitif kontrol eksikliği gibi faktörlerden etkilenebilir. Pozitif kontrol örneklerinin eksikliği, elde edilen negatif sonuçların doğruluğunu değerlendirme sürecinde sınırlamalar oluşturmıştır. Gelecekteki çalışmalar, bu eksikliklerin giderilmesine odaklanmalı ve primerlerin farklı virüs varyasyonlarını tanıyabilmesi sağlanmalıdır. Çevresel faktörler, virüslerin yayılmasında ve taşınmasında kritik bir rol oynar. Nem, sıcaklık ve habitat özellikleri gibi değişkenler, virüs enfeksiyonlarının bulaşıcılığı üzerinde doğrudan etkilidir. Özellikle sıcaklık değişimleri, yaban arılarının bağışıklık sistemlerini etkileyerek virüslere karşı savunmasız hale getirebilmektedir (Wojda, 2017). Bu nedenle, farklı ekosistemlerde yapılan çalışmalar, çevresel koşulların virüs yayılımındaki etkilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilmektedir. Bulgularımız, yaban arılarının ekosistemdeki böcek virüslerinin taşınımındaki potansiyel rollerini anlamada başlangıç niteliğindedir. Ancak, yaban arılarının biyolojik çeşitlilik içindeki yerini ve böcek virüslerinin yayılım dinamiklerini tam olarak anlamak için daha geniş kapsamlı ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Gelecekte, laboratuvar ve saha çalışmalarının birleştirilmesi, virüslerin yaban arılarındaki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları, yaban arılarının böcek virüsleriyle olan potansiyel ilişkilerini daha ayrıntılı inceleyecek araştırmalara temel oluşturabilir. Bu tür araştırmalar, hem yaban arılarının korunmasına hem de ekosistem sağlığının sürdürülmesine katkı sağlayacaktır. Sphecidae familyası, böcek virüslerinin ekosistemdeki taşınımında önemli bir role sahip olabilmektedir.

Ancak, bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, kontrollü laboratuvar deneyleri ve doğal popülasyonlar üzerinde uzun vadeli gözlemler, bu türlerin virüs taşıma potansiyellerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilmektedir. Ayrıca, bu familyaya ait türlerin polinatör ekosistemlerdeki etkileri dikkate alınarak, sürdürülebilir tarım uygulamalarına yönelik stratejiler geliştirilebilmektedir. Böcek virüslerinin taşınımı ve etkileri üzerine daha kapsamlı genetik ve moleküler çalışmalar, ekosistem sağlığını anlamada kritik bir öneme sahiptir. Özellikle, yaban arılarında belirli virüslerin yaygınlık oranlarının ortaya çıkarılması, bu türlerin koruma biyolojisi ve biyolojik kontrol stratejileri açısından değerli bilgiler sunacaktır.

KAYNAKÇA

- Berényi, O., Bakonyi, T., Derakhshifar, I., Köglberger, H., & Nowotny, N. (2006). Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Applied and environmental microbiology*, 72(4), 2414–2420.
- Bohart, R. M., Bohart, R. M., & Menke, A. S. (1976). *Sphecid wasps of the world: a generic revision*. Univ of California Press.
- Bowen-Walker, P. L., Martin, S. J., & Gunn, A. (1999). The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera*L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni*Oud. *Journal of invertebrate pathology*, 73(1), 101–106.
- Burgerjon, A., & Grison, P. (1959). Sensibilité de différents Lépidoptères a la souche« Anduze» de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomophaga*, 4, 207–209.
- Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in virus research*, 70, 33–80.
- Durgun, Y. (2013). *Sphecidae (Insecta: Hymenoptera) familyasının bazı türlerinde, böcek virüslerinin araştırılması*. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Evans, H. E. (1966). The behavior patterns of solitary wasps. *Annual Review of Entomology*, 11(1), 123–154.
- Garzon, S., Charpentier, G., & Kurstak, E. (1978). Morphogenesis of the Nodamura virus in the larvae of the lepidopteran *Galleria mellonella* (L.). *Archives of virology*, 56, 61–76.
- Gülmez, Y., Bursalı, A., & Tekin, S. (2009). First molecular detection and characterization of deformed wing virus (DWV) in honeybees (*Apis mellifera* L.) and mite (*Varroa*

- destructor) in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(16).
- Hunter-Fujita, F. R., Entwistle, P. F., Evans, H. F., & Crook, N. E. (1998). *Insect viruses and pest management*.
- Islam, W., Noman, A., Naveed, H., Alamri, S. A., Hashem, M., Huang, Z., & Chen, H. Y. H. (2020). Plant-insect vector-virus interactions under environmental change. *Science of the Total Environment*, 701, 135044.
- Nordström, S. (2003). Distribution of deformed wing virus within honey bee (*Apis mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Experimental & applied acarology*, 29, 293–302.
- Patot, S., Lepetit, D., Charif, D., Varaldi, J., & Fleury, F. (2009). Molecular detection, penetrance, and transmission of an inherited virus responsible for behavioral manipulation of an insect parasitoid. *Applied and environmental Microbiology*, 75(3), 703–710.
- Paxton, R. J., Schäfer, M. O., Nazzi, F., Zanni, V., Annoscia, D., Marroni, F., Bigot, D., Laws-Quinn, E. R., Panziera, D., & Jenkins, C. (2022). Epidemiology of a major honey bee pathogen, deformed wing virus: potential worldwide replacement of genotype A by genotype B. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 18, 157–171.
- Singh, R., Levitt, A. L., Rajotte, E. G., Holmes, E. C., Ostiguy, N., Vanengelsdorp, D., Lipkin, W. I., Depamphilis, C. W., Toth, A. L., & Cox-Foster, D. L. (2010). RNA viruses in hymenopteran pollinators: evidence of inter-taxa virus transmission via pollen and potential impact on non-*Apis* hymenopteran species. *PloS one*, 5(12), e14357.

- Wojda, I. (2017). Temperature stress and insect immunity. *Journal of Thermal Biology*, 68, 96–103.
- Yoon, K. A., Kim, W. J., Shin, H. J., & Lee, S. H. (2024). Expression profiles and phylogenetic properties of venom gland-specific viruses in some aculeate bees and wasps. *Entomological Research*, 54(6), e12752.

BİYOMÜHENDİSLİK KONULARI

yaz
yayınları

YAZ Yayınları

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3

İscehisar / AFYONKARAHİSAR

Tel : (0 531) 880 92 99

yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com