



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**EFE ARISI'NDA (*Apis mellifera anatoliaca*)
OKTOPAMİN VE TYRAMİNE RESEPTÖR
GENLERİNDEKİ SNP'LERİN BELİRLENMESİ VE
HİJYENİK DAVRANIŞ ISLAHINDA KULLANILMA
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Neslihan ÖZSOY

Zootečni Anabilim Dalı

İzmir

2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**EFE ARISI'NDA (*Apis mellifera anatoliaca*)
OKTOPAMİN VE TYRAMİNE RESEPTÖR
GENLERİNDEKİ SNP'LERİN BELİRLENMESİ VE
HİJYENİK DAVRANIŞ ISLAHINDA KULLANILMA
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Neslihan ÖZSOY

Danışman: Prof. Dr. Banu YÜCEL
İkinci Danışman: Prof. Dr. Metin ERDOĞAN

Zootečni Anabilim Dalı
Biyometri ve Genetik Doktora Programı

İzmir
2024

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Efe Arısı’nda (*Apis mellifera anatoliaca*) Oktopamin ve Tyramine Reseptör Genlerindeki SNP’lerin Belirlenmesi ve Hijyenik Davranış Islahında Kullanılma Olanaklarının Araştırılması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

09/02/2024

Neslihan ÖZSOY

ÖZET**EFE ARISINDA (*Apis mellifera anatoliaca*) OKTOPAMİN VE
TYRAMİNE RESEPTÖR GENLERİNDEKİ SNP'LERİN
BELİRLENMESİ VE HİJYENİK DAVRANIŞ ISLAHINDA
KULLANILMA OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

ÖZSOY, Neslihan

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Banu YÜCEL

İkinci Danışman: Prof. Dr. Metin ERDOĞAN

Şubat 2024, 113 sayfa

Arıcılıkta ıslah çalışmaları uzun süreç almakta olup dolayısıyla iyi bir kayıt sisteminin oluşturulması, seleksiyona konu olacak özelliklerin ölçülmesi ve değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca bir sonraki yılın damızlıklarının belirlenmesi, tekrar bu kolonilerden ana arı üretilmesi ve kolonilerin tekrar yarıştırılması şeklinde devam eden bir süreç de bulunmaktadır. Kolonilerin fenotipik ve pedigree bilgilerine göre yapılan seleksiyon ile çok uzun bir sürede sonuç alınmasından dolayı koloninin genomik değeri ve genomik seleksiyonu önem kazanmaktadır. Kolonilerin genetik yapılarına göre yapılan seleksiyon çalışmalarının uygulanması ile daha kısa sürede, daha net ve daha uygun sonuçların alınması mümkün olmakta ve tüm genom boyunca yayılmış genetik markörlerin kullanılması ile seçilen kolonilerin yetiştirme derecesi belirlenebilmektedir. Tek nükleotid değişimleri olarak adlandırılan “*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)” kullanılarak da genomik seleksiyon yapılabilir.

Bu tez çalışmasında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAİE)’nde bulunan 102 adet damızlık Efe Arısı kolonilerinden pin-killed testine göre seçilen 10 adet koloninin (5 adet yüksek hijyenik davranış gösteren koloni-5 adet düşük hijyenik davranış gösteren koloni) herbirinden altışar adet işçi arı olmak üzere alınan toplam 60 adet arı örneğinde hastalık ve zararlılara karşı mücadelede önemli bir davranış olan “hijyenik davranış” üzerinde etkili olan ve hastalıklı yavruyu tanımlamada

önemli bir görevi olan “Oktopamin Reseptör (AmOA1)” ve Oktopamin ile birlikte davranışa etki gösteren “Tyramine Reseptör (AmTYR1)” genlerindeki SNP’lerin belirlenmesi ve hijyenik davranış ıslahında kullanılma olanaklarının araştırılması planlanmıştır.

Dizi analizi sonucunda Efe Arı’larında yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren arı örneklerinin hepsindeki AmOA1 reseptör geninde 10 tane polimorfizm belirlenmiş, bu polimorfizmlerin 1 tanesi amino asit değişikliğine yol açmış, 1 tanesi 3'UTR bölgesinde gerçekleşmiş ve 7 tanesi ise sessiz SNP olmuştur, bunun yanında 1 örnekte de 40 bazlık bir bölge eklendiği belirlenmiştir. Efe Arıları’nın AmTYR1 reseptör geninde ise 13 tane polimorfizm belirlenmiş, bu polimorfizmlerin 3 tanesi amino asit değişikliğine yol açmış, 1 tanesi 5'UTR bölgesinde gerçekleşmiş ve 8 tanesi sessiz SNP olmuştur, bunun yanında 1 örnekte de 42 bazlık bir bölge eklendiği belirlenmiştir.

Her iki gende de belirtilen polimorfizmler daha önce Efe Arısı’nda bildirilmemiştir. Bulunan SNP’lerin ıslah kriteri olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir, ancak daha fazla örnekle çalışılmasında fayda görülmektedir.

Anahtar sözcükler: Bal arısı, hijyenik davranış, Oktopamin reseptör geni, SNP, Tyramine reseptör geni.

ABSTRACT**DETERMINATION OF SNPs IN OCTOPAMINE AND TYRAMINE
RECEPTOR GENES IN EFE BEE (*Apis mellifera anatoliaca*) AND
INVESTIGATION OF THEIR POSSIBILITIES FOR BREEDING OF
HYGIENIC BEHAVIOUR**

ÖZSOY, Neslihan

PhD in Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Banu YÜCEL

Second Supervisor: Prof. Dr. Metin ERDOĞAN

February 2024, 113 pages

Breeding studies in beekeeping take a long time, therefore, it is necessary to establish a good recording management system, to measure and evaluate the characteristics of the selection. In addition, there is an ongoing process that determination of the breeder of the following year, reproduction of queen bees from these colonies again, and re-selection of colonies. According to the phenotypic and pedigree information of the colonies, selection is achieved in a very long time. In this context, genomic value and genomic selection of the colony are important. It is possible to obtain clearer and more appropriate results in a shorter period with the application of selection studies based on the genetic structure of the colonies and breeding degree of the selected colonies can be determined by using genetic markers whole genome. Genomic selection can be performed using *Single Nucleotide Polymorphism (SNP)*.

In this thesis, it is planned to determine the SNPs of “Octopamine Receptor (AmOA1)” which is effective on hygienic behavior that important in the against diseases and pests and has an important role in identifying the diseased offspring, and determine the SNPs of "Tyramine Receptor (AmTYR1)" which is effect behavior with octopamine, and planned to investigate the possibilities of these receptors on use in hygienic behaviorbreeding in breeding Efe Bee colonies in Aegean Agricultural Research Institute (AARI). 5 high hygienic behavior colonies and 5 low hygienic behavior colonies were selected in the 102 breeder Efe Bee

colonies according to pin-killed test. SNP analysis was carried out on 60 bee samples in total, including 6 worker bees from each colony.

As a result of sequence analysis, 10 polymorphisms were identified in the AmOA1 receptor gene of Efe Bees in all bee samples showing high and low hygienic behavior in Efe Bees, 1 of these polymorphisms caused an amino acid change, 1 occurred in the 3'UTR region and 7 were silent SNPs. In addition, it was determined that a 40-base region was added in 1 sample. 13 polymorphisms were determined in the AmTYR1 receptor gene of Efe Bees, 3 of these polymorphisms caused amino acid changes, 1 occurred in the 5'UTR region and 8 of them were silent SNPs. In addition, it was determined that a 42-base region was added in 1 sample. In addition, it was determined that a 42-base region was added in 1 sample.

The polymorphisms mentioned in both genes have not been reported before in Efe Bee. It is thought that the SNPs found can be evaluated as breeding criteria, but it would be beneficial to work with more samples.

Keywords: Honey bee, hygienic behavior, Octopamine receptor gene, SNP, Tyramine receptor gene.

ÖNSÖZ

Arıcılıkta hijyenik davranış ıslaha konu olan önemli bir özelliktir. Bu davranış yönünde yapılan seleksiyon ile gelecek nesili oluşturacak kolonilerin olumsuz durumlarla daha güçlü bir şekilde başa çıkması sağlanabilmektedir.

İslahta biyoteknoloji uygulamalarının gerçekleştirilmesi, ıslah programlarının seleksiyon etkinliğinin artırılmasına büyük katkılar sağlamaktadır. Yürütülen ıslah projeleri bünyesinde söz konusu biyoteknoloji uygulamalarının etkin bir şekilde kullanılmasıyla, ıslah programının verimliliğinin artması beklenmektedir. Markör Destekli Seleksiyon (MAS)'a temel teşkil edecek bilgiyi üreten projeler sayesinde biyoteknolojik yöntemlerin ıslah çalışmalarına entegrasyonu sağlanabilir.

Bu tez çalışmasında Efe Arısı'nda hijyenik davranışla ilişkili Oktopamin ve Tyramine reseptör genlerinde SNP bölgelerinin tespit edilerek hijyenik davranış ile ilişkisi araştırılmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan çalışmalara bir ön fikir vermesi düşünülmektedir.

İZMİR

09/02/2024

Neslihan ÖZSOY

İÇİNDEKİLERSayfa

İÇ KAPAK	ii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR dİZİNİ	xxii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Böcek Sinir Sistemi ve Bal Arısı Beyni	3
2.2 Bal Arılarında Hijyenik Davranış.....	9
2.3 Biyojenik Aminler	21
2.4 Oktopamin ve Tyramine Reseptör Genleri.....	25

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1 Gereç	36
3.2 Yöntem.....	36
3.2.1 Damızlık kolonilerin oluşturulması ve hijyenik davranış testlerinin yapılması	36
3.2.2 Genetik analizler	51
4. BULGULAR.....	67
4.1 Damızlık Kolonilerin Oluşturulması ve Hijyenik Davranış Testlerinin Yapılması	67
4.1.1 2020 yılının damızlık kolonilerinin koloni indeksinin hesaplanması	67
4.1.2 Hijyenik davranış testlerinin yapılması.....	68
4.2 Genotipik Bulgular.....	70
4.2.1 Agaroz jel elektroforezi	70
4.2.2 Dizileme sonuçları ve SNP'ler.....	71
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	84
KAYNAKLAR DİZİNİ	87

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

TEŞEKKÜR 110

ÖZGEÇMİŞ 113



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Bal arısı beyнинin ana bölümlerinin şematik çizimi.....	6
2.2. Bal arısı standart beyni (HSB) yüzey modeli.....	6
2.3. Bal arısı beyninin nöronal hücre tipleri.....	6
2.4. Bal arısı mantar gövdelerinin sağ medyan kaliksi (MCA).....	6
2.5. Bal arısı merkezi beynin nöral mimarisi	7
2.6. Merkezi arı beynindeki koku alma ve mekanik-duyusal yollar	7
2.7. Bal arısı beynindeki sinirler	7
2.8. Protocerebral lobun koku alma ve mekanik-duyusal nöronal sinir sistemi ve beyinde birbirine bağlı nöron ağı	8
2.9. MB topografyası.....	9
2.10. Tek nükleotit polimorfizmi (SNP)	19
2.11. Oktopamin ve Tyramine'nin biyosentezi	26
2.12. Oktopamin ve Tyramine Reseptörlerinin sınıflandırılması.....	28
3.1. Larva transferi için hazırlanan yüksükler.....	38
3.2. Larva transferinin yapılması (a, b, c)	39
3.3. Başlatıcı kolonilerde bakıcı işçi arılar tarafından kabul edilerek bakımı yapılmış yüksükler (a, b).....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.4. Bitirici koloniye aktarılan çerçeve	40
3.5. Çiftleştirme kolonilerinin / kutularının hazırlanması (a, b, c, ç, d, e, f, g, ğ)	42
3.6. Kolonilerin Bozcaada'ya götürülmesi ve kontrollerinin yapılması (a, b, c, ç, d)	43
3.7. ETAE arılığında (İzmir) bulunan çiftleştirme kutuları (a) ve damızlık koloniler (b)	44
3.8. Uşak / Banaz-Büyükoturak Köyü'nde bulunan damızlık koloniler (a, b, c, ç, d).....	45
3.9. Damızlık kolonilerin Uşak'tan İzmir'e nakledilmesi (a, b, c, ç)	46
3.10. Damızlık kolonilerde pin-killed yöntemine göre hijyenik davranış testlerinin yapılması (a, b, c, ç)	48
3.11. 24. saat yüksek hijyenik davranış gösteren damızlık koloni (a) ve 24. saat düşük hijyenik davranış gösteren damızlık koloni (b).....	48
3.12. 24. saat yüksek hijyenik davranış gösteren damızlık koloni	49
3.13. Arı numunelerinin toplanması (a, b).....	49
3.14. Toplanan arı numunelerinin sıvı azot tankına koyulması (a, b, c, ç).....	50
3.15. Arı numunelerin sıvı azot tankından alınarak -80 °C dolabına yerleştirilmesi.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.16. Çalışma alanının hazırlanması	52
3.17. İşçi arı kafalarının eppendorf tüplerine koyulması (a, b)	53
3.18. Eppendorf tüplerin içine zirkonyum bilye 0,5 ve 1,5mm eklenmesi (a, b)	53
3.19. Üzerine PBS, Proteinaz K ve RNA extraction buffer eklenmiş örnekler (a, b)	54
3.20. Karışımın üzerine Trizol eklenmesi (a, b)	54
3.21. Karışımın üzerine Kloroform-Isoamilalkol (49:1) eklenmesi ve alt-üst ederek karıştırılması (a, b, c, ç)	55
3.22. Karışımın santrifüj edilmesi ve en üstte bulunan sıvı fazdaki süpernatantın yeni bir tüpe aktarılması (a, b, c, ç)	55
3.23. Karışıma etanol eklenip pipetlenerek karıştırılması	56
3.24. Lizatın kolona transfer edilişi	56
3.25. Karışımın santrifüj edilmesi ve santrifüj sonrası tüpün altındaki sıvının boşaltılması (a, b, c)	56
3.26. Kolonun üzerine Wash Buffer1 solüsyonunun eklenmesi (a, b)	57
3.27. Kolonun üzerine Wash Buffer2 solüsyonunun eklenmesi (a, b)	57
3.28. Kolonun merkezine distile su eklenmesi (a, b)	58

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.29. Karışımlardan μ Drop plate üzerine damlatılması (a, b, c, ç)	58
3.30. RNA miktarları ve konsantrasyonlarının ölçülmesi (a, b)	59
3.31. -80 °C'ye kaldırılmış numuneler	59
3.32. cDNA sentezi (a, b, c, ç)	60
3.33. cDNA sentezi (2) (a, b, c)	60
3.34. Çalışmada kullanılan primerler	61
3.35. Polimeraz zincir reaksiyonu için örneklerin hazırlanması (a, b)	62
3.36. Polimeraz zincir reaksiyonu	63
3.37. Agaroz jel elektroforezi (a, b, c, ç, d)	64
3.38. Jel görüntüleme sistemi (a, b)	64
3.39. DNA dizi analiz cihazı	66
4.1. OR F2-R2 jel görüntüsü	71
4.2. TYR F3-R3 jel görüntüsü	71
4.3. AmOA1 (OR2 primeri) geni grafik dizisi	73
4.4. Bir örnekte olup diğer örneklerde bulunmayan eklenmiş bazlar (a) ve kromatogram görüntüsü (b) (c.2291 Ins >40bp)	74

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)ŞekilSayfa

- 4.5. AmTYR1 (TR3 primeri) geni grafik dizisi 76
- 4.6. Bir örnekte olup diğer örneklerde bulunmayan eklenmiş bazlar (a) ve
kromatogram görüntüsü (b) (**c.532 Ins >42bp**) 78



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Kolonilerin hırçınlık davranışında kullanılan puanlama sistemi	37
3.2 Çalışmada kullanılan primerler ve çoğaltılan bölgelerin uzunluğu	61
4.1 2020 yılına ait damızlık kolonilerin verim değerleri ve koloni indeksi değerleri	67
4.2 Hijyenik test 1. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -1 ifadesi 1. ölçümü ifade etmektedir)	68
4.3 Hijyenik test 1. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -1 ifadesi 1. ölçümü ifade etmektedir)	68
4.4 Hijyenik test 2. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -2 ifadesi 2. ölçümü ifade etmektedir)	69
4.5 Hijyenik test 2. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -2 ifadesi 2. ölçümü ifade etmektedir)	69
4.6 Hijyenik test 3. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -3 ifadesi 3. ölçümü ifade etmektedir)	69
4.7 Hijyenik test 3. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -3 ifadesi 3. ölçümü ifade etmektedir)	70
4.8 Yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren damızlık kolonilerden SNP analizi için rastgele seçilmiş koloniler	70
4.9 AmOA1 (OR2 primeri) geninde dizi analizi sonucu elde edilen SNP'lerin kromatogram görüntüsü	74
4.10 AmTYR1 (TYR3 primeri) geninde dizi analizi sonucu elde edilen SNP'lerin kromatogram görüntüsü	77

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
Ca^{2+}	Kalsiyum iyonu
<i>cAMP</i>	Siklik adenozin monofosfat veya 3'-5'-siklik adenozin monofosfat
<i>cGMP</i>	Siklik guanozin monofosfat
<i>DAG</i>	Diasilgliserol
<i>GABA</i>	Gama aminobütirik asit (γ -aminobütirik asit)
<i>GTP</i>	Guanosin-5'-trifosfat
<i>IP3</i>	İnositol-1,4,5-trisfosfat
<i>iGluR</i>	İyonotropik glutamat reseptörü
<i>TyHyd</i>	Tirozin hidroksilaz
<u>Kısaltmalar</u>	
AL	Anten lobu
AMMC	Antenno mekanosensör motor merkezi
AmOA1	<i>Apis mellifera</i> Oktopamin 1 Reseptörü Geni
AmTYR1	<i>Apis mellifera</i> Tyramine 1 Reseptörü Geni
CNS	Merkezi sinir sistemi
dk:	dakika

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
G-proteinleri	Guanin nükleotid-bağlayıcı proteinler
GPCR	G-protein kenetli reseptörler
HSB	Bal arısı standart beyni
ETAE	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü
MAS	Markör destekli seleksiyon
MB	Mantar gövde
OBP	Koku bağlayıcı proteinler
OR	Koku alma reseptörü
ORF	Açık okuma çerçevesi
ORN	Koku alma reseptörü nöronu
OSN	Koku alma duyu nöronu
PN	Duyu nöronu
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism)
SOG	Subözofageal gangliyon
TM	Transmembran
VUM	Ventral eşleşmemiş medyan (Ventral unpaired median)
VUMmx1	Maksiller nöromer 1'deki Ventral eşleşmemiş medyan

1. GİRİŞ

Arıcılık alanındaki ıslah çalışmalarında, iyi bir kayıt sisteminin oluşturulması, seleksiyona konu olacak özelliklerin ölçülmesi ve değerlendirilmesi, bir sonraki yılın damızlıklarının belirlenmesi, tekrar bu kolonilerden ana arı üretilmesi ve kolonilerin tekrar yarıştırılması şeklinde devam eden bir süreç bulunmaktadır. Klasik ıslah yöntemleriyle fenotipik seçime dayalı belirli genlerin bir sonraki kuşağa aktarılması uzun zaman gerektirmekte ve pedigrî bilgilerine göre yapılan seleksiyon zaman almaktadır. Öte yandan, genotip x çevre etkileşimlerinden dolayı bu uygulamalar daha da zorlaşmaktadır.

Seleksiyon uygulamalarında hedefin uygun genotipin doğru tahminlenmesi ve kısa zamanda bunu fenotipinde gösteren hayvanların seçimi olmasından dolayı genomik seleksiyon ile tüm genomu kapsayan markörlerin kullanımıyla yapılan seleksiyon ile yetiştirme değerleri tahmin edilmekte, böylelikle kısa zamanda ilgilenilen karakterlerin hızlı bir şekilde hangi gen tarafından kontrol edildiği tespit edilmektedir (Özkan ve Yakan, 2017). Markör Destekli Seleksiyon (MAS) yöntemi olarak adlandırılan bu yöntem sayesinde kolonilerin genetik yapılarına göre yapılan seleksiyon çalışmalarının uygulanması ile daha kısa sürede, daha net ve daha uygun sonuçların alınması mümkün olabilmektedir.

Moleküler markörler, önemli olan ve çok sayıda gen veya lokus tarafından denetlenen karakterlerin etkin bir şekilde aktarılmasını sağlarken (Güleç vd., 2010) diğer belirleyicilere göre çevreden etkilenmemeleri sayesinde çevre şartlarından etkilenen karakterlerin doğru olarak seçilmelerini sağlar (Sönmezoğlu vd., 2010). DNA markörlerinden Tek nükleotid değişimleri olarak adlandırılan “Single Nucleotide Polymorphism (SNP)” kullanılarak da genomik seleksiyon yapılabilmektedir. Sönmezoğlu vd. (2010), bir popülasyondaki tek baz değişiminin frekansının %1’den büyük olması halinde bu değişimin SNP olarak tanımlanacağını bildirmiştir, %1’den az olması halinde de mutasyon olarak tanımlanacağını bildirmiştir. SNP ile herhangi bir karakterdeki varyasyonla ilişkisi olan kromozom bölgeleri tanımlanmakta ve incelenmektedir.

Arıcılıkta önemli davranış karakterlerinden olan hijyenik davranış, koloninin hastalık ve parazitlere direncinin en önemli göstergelerindendir ve bu davranışa göre yapılacak seleksiyon ile kolonilerin gücü arttırılabilmektedir. Ancak, baba karakterinin tespitinin yapay tohumlama ile mümkün olduğu arıcılıkta kalıtım derecesi ya da genetik parametre tahminlemede ana-dişi yavru regresyon modellerinden de yararlanılmakta ve bilimsel çalışmalarda belirtilmektedir (Boecking et al., 2000; Büchler et al., 2013; Garcia et al., 2013; Le Conte et al., 1994; Stanimirović et al., 2010; Zakour et al., 2012). Dolayısıyla ana arılara sahip kolonilere göre seleksiyon yapılması mümkün olabilmektedir. Ana arıların çok sayıda erkek arıyla çiftleşmesi dolayısıyla kolonide hijyenik davranış uzun süre sürdürülemeyebilir bu yüzden hijyenik davranış ile ilgili belirlenen genlerde tespit edilen SNP markörlerinin kullanılması ile daha kısa zamanda ve daha doğru kolonilerin seçilebilmesi sağlanabilir.

Bu tez çalışmasında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAE)'nde 2007 yılında başlatılan ıslah çalışmaları sonucu geliştirilen, 16.05.2019 tarih ve 30776 sayılı resmi gazetede yayımlanan karar gereği tescil edilen Efe Arısı (*Apis mellifera anatoliaca*)'nda Oktopamin Reseptör (AmOA1) ve Tyramine Reseptör (AmTYR1) genlerinde SNP'lerin belirlenmesi ve hijyenik davranış ıslahında kullanılma olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Böcek Sinir Sistemi ve Bal Arısı Beyni

Böcekler, hayatta kalmayı ve üreme başarısını sürdürebilmeleri için önemli olan çok çeşitli davranışlar sergiler ve dış çevresel ipuçlarını izlemek ve iç süreçleri koordine etmek için beyin ve ventral sinir kordonundan oluşan sinir sistemini kullanırlar (Hana, 2017). Sinir sistemindeki sinir hücreleri (nöronlar) ile bilgi transferi gerçekleştirilmektedir (Yavuz and Aydemir, 2017). Böcek duyu organları, çevreden gelen mekanik, kimyasal ve ışık enerjisini, duyu nöronlarındaki sinir uyarılarının elektrik enerjisine dönüştürür. Oradan da bilgi beyne veya ventral sinir kordonuna taşınır ve bu da belirli davranışsal tepkilerle sonuçlanır (Farooqui, 2007b).

Böcek sinir sisteminin:

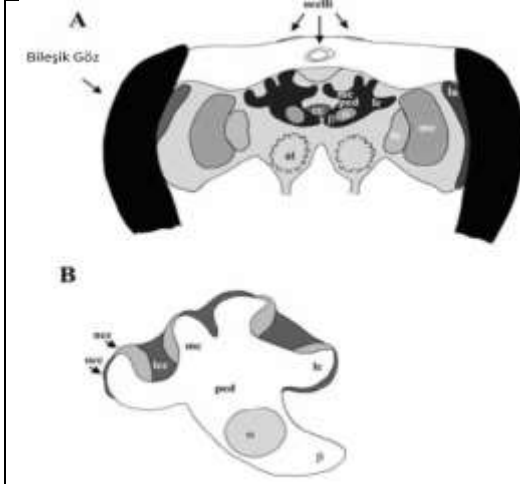
- Merkezi Sinir Sistemi (Baş bölümünün dorsalinde beyin ile ventralinde Subözofageal gangliyonda (SOG) ve toraks ile abdomen ventralinde vücut boyunca bulunan her bir segmentte çift halindeki gangliyonların ya da birleşik gangliyonların oluşturduğu sinir kordonundan meydana gelir)
- Visseral Sinir Sistemi (Besin alımı, taşınımı, sindirimi ve atılımı gibi içsel fonksiyonların düzenini sağlar)
- Stomatogastrik Sinir Sistemi (Ön bağırsak ve mide kaslarının sinirsel faaliyetlerini sağlar)
- Peripheral Sinir Sistemi (Duyu nöronları tarafından oluşturulur)

bölümlerinden oluşturulduğu ve nöron tiplerinin de duyu alıcı (afferent), motor (efferent), sinirsel salgı (nörosekretuar) ve internöron (bağlantı) olduğu bildirilmiştir (Ankara Üniversitesi, 2023). Duyu nöronlarının uyarıları alıp merkezi sinir sistemine gönderdiği, bağlantı nöronlarının duyu nöronlarından alınan uyarıyı motor nöronlarına ilettiği (Akça, 2019) ve sinirsel salgı nöronlarının da salgılarını dolaşım sistemine bıraktığı belirtilmiştir (Ankara Üniversitesi, 2023). Yerel nöron olarak adlandırılan birçok nöron, hedef hücreleriyle sinaps adı verilen özel temas alanlarında iletişim kurmaktadır. Pre- ve post-sinaptik yapıları ayıran sinaptik yarık dardır (15-50 nm) ve bilgi, hassas bir şekilde ölçülmüş, küçük miktarlardaki

nörotransmitter vasıtasıyla aktarılır. Bu kimyasal haberciler hemen harekete geçerler ve hızla etkisiz hale gelirler, bu nedenle oldukça spesifik kısa vadeli mesajları taşımaktan sorumludurlar. Diğer nöronlar (nörosekretuar hücreler), dolaşım sistemine nispeten büyük miktarlarda kimyasal haberciler (nörohormon) salgırlar ve burada bazı fizyolojik aktivitelerini değiştirdikleri hedef bölgelerine belli bir mesafeye taşınırlar. Nörohormonlar genellikle yavaş hareket eder, uzun ömürlüdür ve dolayısıyla nispeten kalıcı bir genel mesaj taşır (Orchard, 1982).

Merkezi Sinir Sisteminin (CNS) gangliyonları, protoserebrum, dutoserebrum ve tritoserebrum'dan oluşan sefalik bir supraözofageal gangliyon (beyin) kütlesi oluşturmak için birleşir. Bileşik gözlerin ve ocelli'nin merkezleri protoserebrum'da bulunur (Osborne, 1996). Bal arısında protoserebrum, optik lobları (lamina, medulla ve lobula), bir çift MB'yi ve merkezi kompleksi içerir. Optik loblar, bileşik gözlerden duysal bilgileri alır ve işler. Her MB, pedunculus yoluyla α - ve β -loblarına bağlanan bir lateral ve bir medyan kaliksten oluşur. MB'ler, dendritik uzantıları mantar gövdelerinin (MB) çanak şeklindeki kalikslerini oluşturan Kenyon hücreleri olarak adlandırılan çok sayıda yoğun şekilde paketlenmiş intrinsik nöronlardan oluşur. Kenyon hücreleri, kompakt olmayan hücreler tarafından dışarı doğru itilen daha sonra geliştirilmekte olan dış kompakt hücreler ve kompakt olmayan hücreleri dışarı doğru iten ve her bir kaliks kabının merkezinde bulunan iç kompakt hücreler olarak ayrılmaktadır. Kaliksler görsel, koku alma ve mekanik duysal bilgi için MB'lerin ana giriş bölgeleridir, oysa α - ve β -lobları çıkış bölgeleridir. Böcek MB'lerinin genellikle böcek öğrenmesi ve hafızası için gerekli olan üst düzey duysal entegrasyon merkezleri olduğuna inanılmaktadır. Merkezi kompleks, böcek beyninin merkezinde bir grup nöropil içerir. Protoserebral köprü ve merkezi gövdeden oluşur. Daha sonra, bir üst bölüm, bir alt bölüm ve bir çift nodül olarak alt bölümlere ayrılmıştır. Merkezi kompleks, her iki beyin yarıküresini birbirine bağlar, her iki beyin tarafından gelen bilgileri koordine eder ve muhtemelen motor kontrolünde yer alır (Scheiner et al., 2006). Dutoserebrum anten reseptörlerinden girdiler alır (Osborne, 1996), anten loblarını (AL) ve dorsal lobları barındırır. AL'ler yaklaşık 160 glomerül içerir ve anten üzerindeki olfaktör reseptör hücrelerinden duysal girdiler alırken, anten mekanosensör lifleri esas olarak dorsal loblara yansır (Scheiner et al., 2006). AL nöral ağlar, koku alma duyu hücrelerinden gelen afferent duysal girdiler ile

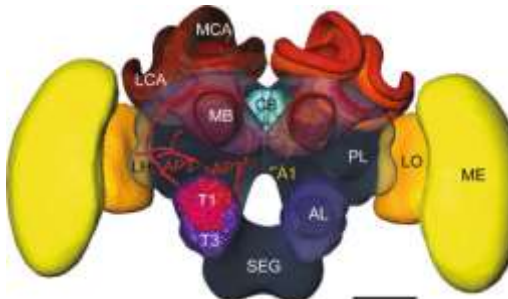
beyindeki ara nöronlar arasındaki ilk sinaptik teması sağlamaktadır (Rein et. al., 2013). Aynı reseptörü ifade eden ve dolayısıyla aynı koku maddelerine yanıt veren duysal hücrelerden gelen aksonlar, bir glomerulus oluşturmak için AL'de aynı uzamsal konuma yakınsar (Rein et. al., 2013; Protas, 2014). Her bir glomerül, beyin diğer bölgelerindeki koku bilgilerini temsil etmek üzere akson çıktıları gönderen projeksiyon nöronlarının (PN) dendritleri tarafından innerve edilir (Rein et. al., 2013). Böceklerde her benzersiz koku reseptörü için yardımcı bir reseptörü vardır ve birlikte iyonotropik olarak işlev görürler (Protas, 2014). Supraözofageal gangliyonların en küçüğü olan tritoserebrum, özofageal'i çevreleyen bağlarla ventral gangliyonlara ve frontal sinirler yoluyla stomatogastrik sinir sistemine bağlıdır. Ventral zincirdeki anterior üç çift gangliyon her zaman kaynaşmış haldedir ve beyne özofageali çevreleyen bağlarla bağlanan sefalik SOG'u oluşturur. Ağız kısımlarından, baş ve boyun kütikülünden gelen duysal afferentler SOG'lara girerken, sonradan gelen afferentler ağız kısmı kaslarını, boyun kaslarını ve tükürük bezlerini innerve eder. Vücut gangliyonları, uzantılardan ve vücut kütikülünden duysal girdiler alır ve vücut kaslarına, bacaklara, cinsel organlara ve iç organlara efferent nöronlar gönderir (Osborne, 1996). SOG, beyin ve ventral sinir kordonu arasındaki bir aktarma istasyonudur. Dilden (hortumdan) ve beyinden gelen duysal girdileri işler ve hortum ve mandibulaların motor nöronlarına yansıtır. Ventral eşleşmemiş medyan (VUM) nöronları gibi önemli modülatör nöronların somataları SOG'da bulunur (Scheiner et al., 2006). Böcek merkezi sinir sisteminde, afferent eşleşmemiş medyan nöronlar hariç tüm nöronların büyük çoğunluğunun ayna görüntüsü çiftleri olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Şekil 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9) (Verlinden et. al., 2010).



Şekil 2.1. Bal arısı beyninin ana bölümlerinin şematik çizimi (Scheiner et al., 2006).

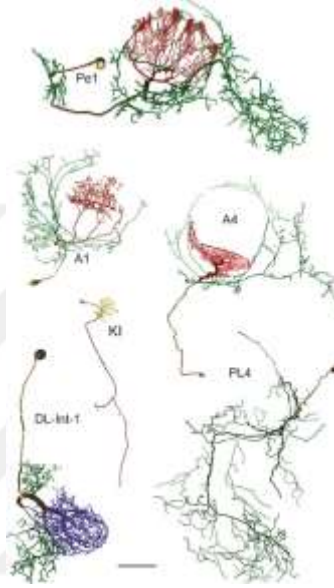
A. Protocerebrum, optik lobları, laminayı (la), medullayı (me) ve lobulayı (lo), bir çift mantar gövdesini (mb) ve merkezi kompleksi (cc) içerir. Her mantar gövdesi, pedunculus (ped) aracılığıyla α -lobuna (α) ve β -lobuna (β) bağlanan bir lateral kaliks (lc) ve bir medyan kaliksten (mc) oluşur. AL (al), dorsal lobu da (gösterilmemiştir) içeren dotoserebrumun bir parçasıdır. Tritocerebrum (gösterilmemiştir) beynin tabanında iki küçük iki taraflı lobdan oluşur.

B. Kenyon hücrelerinin üç alt popülasyonu ile bir mantar gövdesinin şematik çizimi. Dış kompakt hücreler (occ) önce doğar ve daha sonra kompakt olmayan hücreler (ncc) tarafından dışa doğru itilir. Bu hücreler daha sonra her bir kalikal kabın merkezinde yer alan iç kompakt hücreler (icc) tarafından dışa doğru itilir.



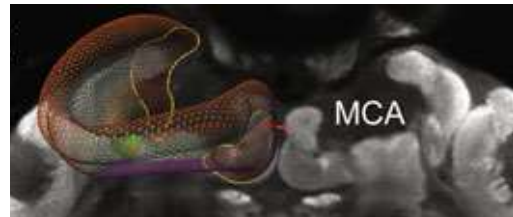
Şekil 2.2. Bal arısı standart beyni (HSB) yüzey modeli (Rybak, 2012).

Orta beynin nöropilleri, mantar gövdeleri (MB), protoserebral loblar (PL) ve subözofageal ganglion (SEG) şeffaf olarak gösterilmiştir. Farklı çözünürlük seviyelerindeki nöronal elemanlar HSB'ye entegre edilmiştir: T1, T3 duyu yollarının AL (AL) glomerül grupları, AL-protoserebral yolların (APT) ve tek bir mantar gövdeli ekstrinsik nöron tip A1. MCA: medyan kaliks, LCA: lateral kaliks, LH: lateral boynuz, CB: merkezi gövde, LO: lobula, ME: medulla

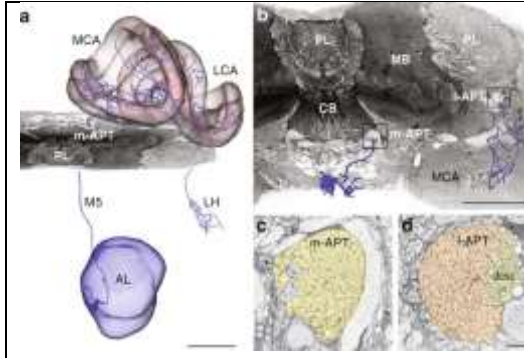


Şekil 2.3. Bal arısı beyninin nöronal hücre tipleri (Rybak, 2012).

Pe1, A1 ve A4: MB dışsal nöronlar. MB kalikslerinin halka bölgesinin KI Kenyon hücre tipi 1; DL-Int-1 mekanosensör dorsal lob ara nöronu 1; PL4: protoserebral internöron 4. Nöronların renkli alt bölümleri bal arısı beyninin ilgili beyin bölümlerine (nöropillere) karşılık gelmektedir. yeşil: protoserebral lob, kırmızı: MB'nin pedunculus lobu, sarı: MB'nin kaliksi, mavi: Antenno mekanosensör motor merkezi (AMM)



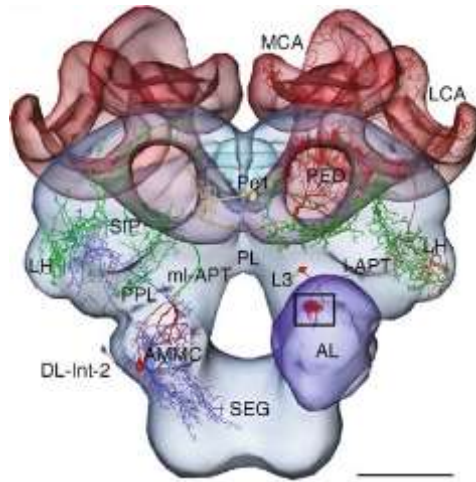
Şekil 2.4. Bal arısı mantar gövdelerinin sağ medyan kaliksi (MCA) (Rybak, 2012).



Şekil 2.5. Bal arısı merkezi beynin nöral mimarisi (Rybak, 2012).

- (a) Sol MB kalikslerinin (MCA, LCA) ve sol AL'nin HSB yüzey modeli: AL'yi mantar gövdesi kalikslerine (MCA, LCA) ve yanal boynuza (LH) bağlayan uniglomerüler bir PN (M5) ile HSB alanında birlikte haritalanır.
- (b) AL-protocerebral yollar (m-APT, l-APT) bulunmaktadır. M5 aksonu m-APT'de ve inen aksonu l-APT'de (dikdörtgen kutular) çalışır.
- (c) (d) m-APT'deki (yaklaşık 410 akson profili) ve l-APT'deki (yaklaşık 510 akson profil) akson sayısını karşılık gelen konumlarda gösterir.

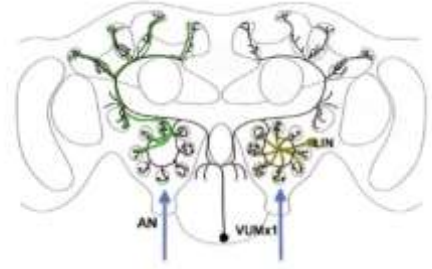
CB: merkezi gövde; m-APT, l-APT: medyan, lateral antenno-protocerebral yolu; P: protocerebral lob



Şekil 2.6. Merkezi arı beyindeki koku alma ve mekanik-duyusal yollar (Rybak, 2012).

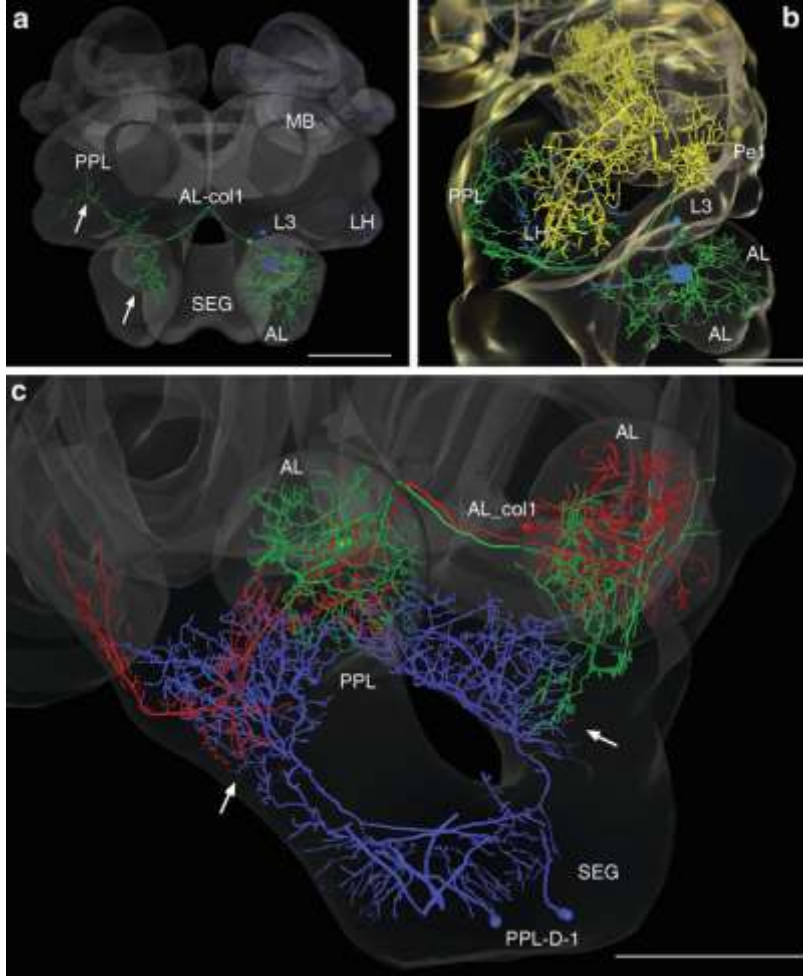
Sol beyin yarıküresi: L3 projeksiyon nöronu (kırmızı), yan boynuza (LH) ve mantar gövdesi kalikslerine (MCA, LCA) çıkıntı yapar. Pedunculusta dendritik girdi (PED) (kırmızı) ve protocerebral lobda (PL) (yeşil) çıktı hedefleri olan mantar gövdeli çıktı nöronu (Pe1) LH'deki L3 ile örtüşür.

Sağ beyin yarıküresi: bir m-APT nöronu (kırmızı ve yeşil) ve DL-Int-2 (mavi), protocerebral lob (PL) ve subözofageal gangliyondaki (SEG) dağılmış bölgeleri hedefler.



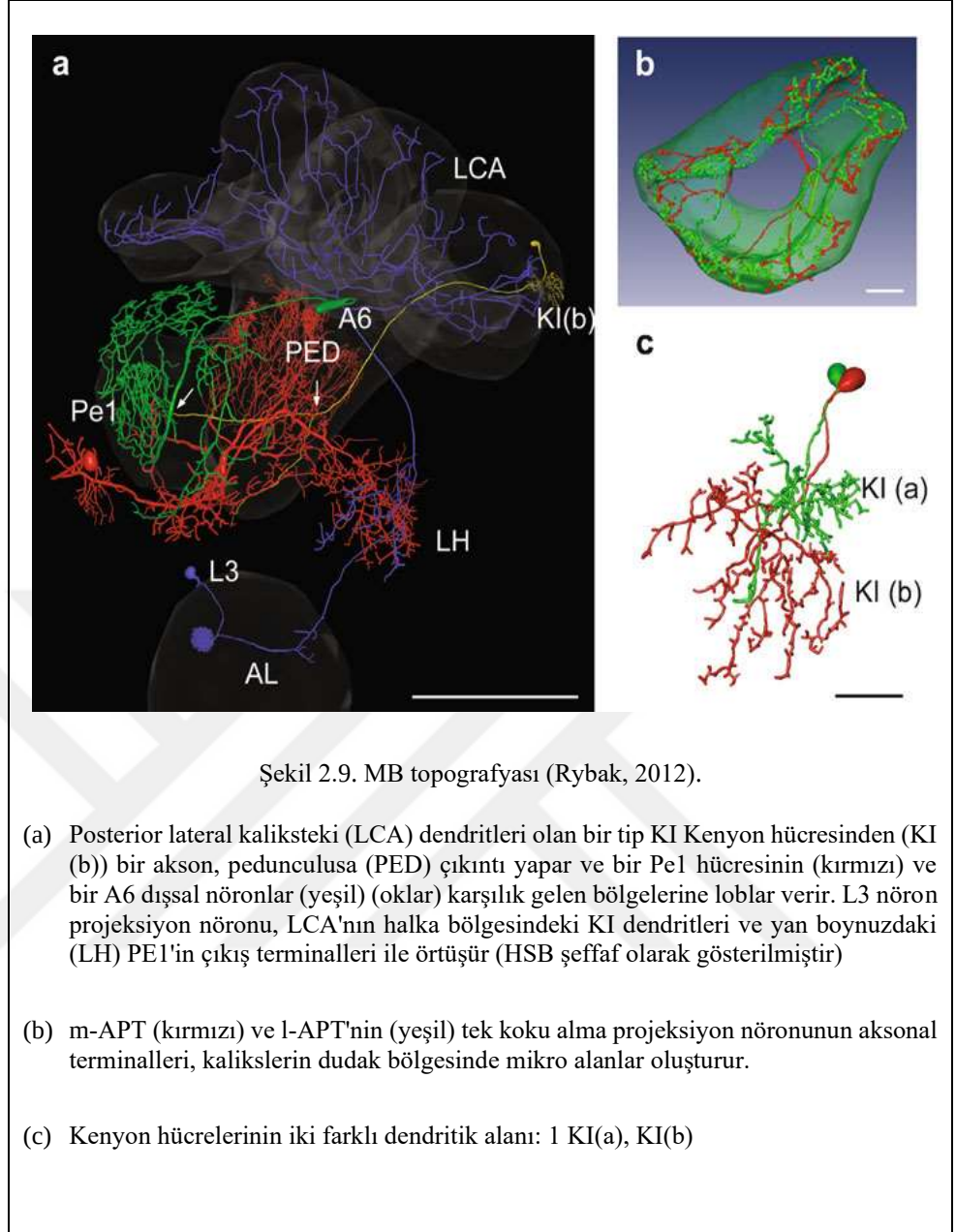
Şekil 2.7. Bal arısı beyindeki sinirler (Protas, 2014).

Mavi oklar, koku alıcı nöronlardan gelen koku girdisini göstermektedir. Bu koku reseptörü nöronları, bal arısı beyindeki birincil duyuşal bölge olan AL'de hem PN (yeşil) hem de yerel ara nöronlar (sarı) üzerinde sinaps yapmaktadır. Yerel internöronlar, AL'daki glomerüller içinde yerel bağlantılar sağlarken, PN daha yüksek beyin bölgelerine – MB'lere - projeksiyon yapar. Maksiller nöromer 1'deki ventral eşleşmemiş medyan (VUMmx1) nöron (siyah), AL ve MB'ler dahil olmak üzere öğrenme ve hafıza için önemli alanlarda dendritik dallanmalara sahip subözofageal gangliyonunda yer alan bir hücre gövdesine sahiptir.



Şekil 2.8. Protocerebral lobun koku alma ve mekanik-duyusal nöronal sinir sistemi ve beyinde birbirine bağlı nöron ağı (Rybak, 2012).

- (a) AL nöronu AL-col1, AL'nin glomerüllerini karşı AL'nin kaba nöropiline ve karşı posterior protocerebral loba (PPL) bağlar (oklar). Bir karşılaştırma olarak, uniglomerüler PN L3 tasvir edilmiştir.
- (b) Yanal protocerebral lobda (LH ve PPL) MB çıktı nöronu, Pe1 (sarı), projeksiyon nöronu L3 (mavi) ve AL-col1'in (yeşil) hedef alanlarının karşılaştırılması.
- (c) Posterior PL'de (PPL) (oklar) AL-col1 nöronunun ve mekanosensör posterior protocerebral internöronun (PPL-D-1) örtüşen dallanmaları. Her iki nöron tipi de ayna görüntüsüdür.



2.2 Bal Arılarında Hijyenik Davranış

Bal arıları, bir ana arı ve onun soyundan gelen yaklaşık 20.000-40.000 işçi arı ve 200-300 erkek arıdan oluşan büyük koloniler halinde yaşayan böceklerdir. Ana arı ve işçi arı dişi bireyler olup döllenmiş (diploid) yumurtadan oluşurken, erkek bireyler döllenmemiş yumurtadan (haploid) oluşmaktadır. Dişi birey olan diploid yumurtalar hangi kuluçkaya bırakıldıklarına göre, kuluçka bakımı yapan işçi arılar tarafından farklı içerikte arı sütü ile beslenerek ya ana arı ya da işçi arı olurlar. Erkek ve dişi larvalar, petekte hücre içindeki bir dizi larva aşamasından sonra pupa

aşamasına geçer ve tamamen gelişmiş yetişkin arılar olarak hücreden çıkarlar (Elekonich and Roberts, 2005). İşçi arılar gözden çıktıktan sonra yaş polietizmi olarak adlandırılan, koloni içinde yaşa bağlı olarak farklı davranışlar sergiler (Arathi and Spivak, 2001; Shorter et al., 2012; Ma et al., 2019). En genç işçi arılar (4-12 gün) bakıcı arı olarak larvaların bakımını sağlarken, orta yaşlı işçi arılar (12-20 gün) nektar işleme, yuva bakımı ve koruma davranışlarına odaklanırlar, en yaşlı işçi arılar (20 gün ve sonra) ise nektar ve polen toplamak için tarlacı olurlar (Shorter et al., 2012). İşçi arıların yaş aldıkça (Schulz et al., 2002) gerçekleştirdiği görev uzmanlığı ve iş bölümü, böcek topluluklarının ekolojik başarısının temel özelliğidir (Arenas et al., 2021). Yaş polietizmi, koloni içindeki ve dışındaki faktörler tarafından belirlenen değişen ihtiyaçlara sürekli olarak cevap verme yeteneğini yansıtan oldukça esnek bir sistemdir (Arathi and Spivak, 2001; Reim and Scheiner, 2014). Bu esnekliği etkileyen faktörler arasında, değişen hormonal seviyeler, görev performansı için genotipik değişkenlik, işçilerin görev teşvikine tepki eşikleri, görev performansı talebi (Arathi and Spivak, 2001), çevredeki kaynak mevcudiyeti ve koloninin ihtiyaçları bulunmaktadır (Arathi et al., 2006). Bal arıları değişen koloni ihtiyaçlarına hızla uyum sağlar ve davranışsal gelişimlerini hızlandırır veya tersine çevirirler. Bu durumlar, farklı nörokimyasal ve hormonal profiller dışında genellikle görevle ilgili uyaranları nasıl algıladıkları ve bunlara nasıl tepki verdikleri konusunda farklılık gösterir (Arenas et al., 2021). Örneğin, genç bakıcı arılar, yaşlı tarlacı arıların bulunmadığı durumda çok erken yaşlarda gıda aramaya başlayabilirken yiyecek arayan tarlacı arılar, yavrunun çok fazla olduğu, ancak bakıcı arıların az olduğu durumlarda, bakıcılık davranışına geri dönebilirler ve tamamen işlevsel kuluçka besin bezleri geliştirebilirler (Reim and Scheiner, 2014).

Bu davranışların yanı sıra kolonideki bir bireyin görev uzmanlığının genotipinden de etkilenebildiği bildirilmiştir (Shorter et al., 2012). Bununla ilgili olarak bal arılarında patojenlerin ve hastalıkların koloni içinde yayılmasını önlemek için farklı davranış kalıplarının bulunduğu belirtilmiştir (Khan and Gramh, 2021). Örneğin, işçi arılar tarafından gerçekleştirilen hijyenik davranış koloniyi parazitlere ve hastalıklara karşı korumaktadır (Morfin et al., 2019). Buradaki hijyenik davranış terimi, kolonideki istilayı en aza indirmek için işçi arıların hastalıklı ve ölü kuluçkaları tespit etmesi, bu kuluçkaları açması ve hücrelerden çıkarması yeteneği olarak tanımlanmıştır (Rothenbuhler, 1964; Arechavaleta-Velasco et al., 2011).

1930'lu yıllarda kolonilerin en ciddi hastalığının Amerikan Yavru Çürüklüğü (Etkeni: *Bacillus larvae*) hastalığı olduğu ve o dönemde de arıcılar ve araştırmacılar tarafından bazı kolonilerin bu hastalığa karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Daha sonrasında ise dirençli kolonilerdeki yetişkin işçi arıların hastalıklı kuluçkaların çoğunu kuluçka hücrelerinden uzaklaştırdığı, diğer kolonilerdeki arıların ise çıkaramadığı ve koloni direncinin, yetişkin arılar tarafından hastalıklı kuluçkaların davranışsal olarak çıkarılmasına bağlı olduğu sonucuna varıldığı belirtilmiştir (Spivak and Danka, 2021). Hijyenik davranışın ilk olarak 1937 yılında tanımlandığı ve genetik temelinin de ilk olarak 1964 yılında atıldığı bildirilmiştir (Boutin et al., 2015).

Bir kolonide hijyenik davranışın 15-20 günlük işçi arılar tarafından gerçekleştirildiği (Goode et al., 2006) ve hijyenik davranış sergileyen işçi arıların hastalıklı kuluçkaları, patojen bulaşıcı aşamaya ulaşmadan koloniden uzaklaştırdığı belirtilmiştir (Arathi et al., 2006; Swanson et al., 2009). Tüm işçi arılar hastalıklı kuluçkaların kapağını açıp çıkarma yeteneğine sahip olsalar da, yalnızca genetik olarak hijyenik davranış sergileyen işçi arılara sahip olan koloniler bunu hızlı bir şekilde yapar ve dolayısıyla hastalık bulaşmasını etkili bir şekilde sınırlar. Ayrıca hijyenik davranış gösteren kolonilerdeki işçi arıların %20'sinin (aynı zamanda eşit yaş dağılımına sahip bir kolonideki orta yaşlı işçilerin yüzdesine tekabül eder) sorunlu hücre kapağını açtığı ve ölü yavruları çıkarttığı belirtilmiştir (Arathi et al., 2006). Hijyenik davranışı düşük olan koloniler ise ya hastalıklı kuluçkayı patojen bulaşıcı hale geldikten sonra tespit eder ya da hastalıklı kuluçkayı hiç tespit edemezler, dolayısıyla hastalık bulaşma riskini artırır. Bunun yanında, yüksek hijyenik davranış gösteren kolonilerin düşük hijyenik davranış gösteren kolonilere kıyasla daha düşük kuluçka hastalıklarına sahip olduğu bildirilmiştir (Palacio et al., 2000; Bäck et al., 2010). Hijyenik davranışı yüksek olan kolonilerin Amerikan Yavru Çürüklüğü (Spivak and Reuter, 2001; Gramacho and Spivak, 2003; Arathi et al., 2006; Lazarov et al., 2020; Lee et al., 2020), Kireç Hastalığı (Etkeni: *Ascosphaera apis*) (Gramacho and Spivak, 2003; Arathi et al., 2006; Lazarov et al., 2020; Invernizzi et al., 2011), Varroa (Spivak, 1996; Gramacho and Spivak, 2003; Arathi et al., 2006; Pinto et al., 2012; Ji et al., 2014; Kovačić et al., 2015; Lazarov et al., 2020; Wielewski et al., 2012) gibi birçok kuluçka ve arı hastalıklarına karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden hijyenik davranışın bal arılarında

ekonomik olarak önemli bir davranış olduğu vurgulanmıştır (Arathi et al., 2006; Scannapieco et al., 2017).

Hijyenik davranışın genetik olarak ifade edildiği (Arathi and Spivak, 2001; Arechavaleta-Velasco et al., 2011; Gerula et al., 2015), aynı zamanda bazı çevresel faktörlerin de özelliğın ifadesini etkilediğı belirtilmiştir (Arechavaleta-Velasco et al., 2011). Kolonideki işçi arıların nörohormonal durumunun da bu davranışın başlamasında veya kontrolünde önemli olabildiğı ve bal arısı beyinlerindeki nöromodülatörlerin seviyelerinin, beslenme ve popülasyondaki değışikliklerin bir sonucu olarak mevsim boyunca değışebileceğı bildirilmiştir. Koloni düzeyinde hijyenik davranışın ifadesindeki değışikliklerin, mevsim boyunca meydana gelen amin düzeyindeki değışikliklerle ilişkili olabildiğı veya hem koloninin iç durumu hem de koloni dışındaki kaynakların mevcudiyeti de dahil olmak üzere çevresel etkilerin de kolonide hijyenik davranışın gerçekleştirilme derecesini etkileyebileceğı vurgulanmıştır (Masterman et al., 2000). Tüm hijyenik davranış sürecinin esas olarak parazitlenmiş kuluçkayı ilk tespit eden ve başlangıçta hücrelerin kapağını açan arılara bağılı olduğı, dolayısıyla diğeri (muhtemelen daha az duyarlı) arıların kısmen açılmış hücre kapağı aracılığıyla parazitlenmiş kuluçkanın uyarısını daha net bir şekilde tanıyabileceğı ve sorunlu kuluçkayı çıkarabileceğı bildirilmiştir (Spötter et al., 2016). 1964 yılında Rothenbuhler tarafından yapılan çalışmada bir geri çaprazlama deneyi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, önce çok hijyenik bir hat ile hijyenik olmayan bir hattın çaprazlandığı ve F1 hibrit kolonilerinin hijyenik olmadığı belirtilmiştir. Daha sonrasında bu kolonilerin hijyenik hatta geri melezlendiğı ve geri çaprazlama kolonilerinin, birbirinden bağımsız olarak tasnif edilen iki Mendel geninden bekleneceğı gibi, dört davranışsal fenotipe ayrıldığı bildirilmiştir. Buna göre, işçi arıların kolonideki sorunlu larvaların çıkarılması ile ilgili davranış konusunda fenotipik varyansı açıklamak için iki gen modeli önerilmiştir: Birincisi ölü pupa içeren kuluçka hücrelerinin kapaklarının açılmasını kontrol ederken, ikincisinin kuluçka hücresi kapağı açılmış olan larvaların boşaltılmasını kontrol ettiğı belirtilmiştir. 'Kapak açma' lokusundaki homozigot resesif (uu) olan işçi arıların, ölü pupa içeren hücrelerin kapağını açtığı, Uu veya UU olan işçi arıların da ölü hücrelerin kapağını açmadığını, bunun yanında "Çıkarma" lokusunda rr olan işçi arıların kapaksız hücrelerdeki ölü pupaları çıkardığı, Rr ve RR olan işçi arıların ölü yavruları

çıkaramadığı bildirilmiştir (Rothenbuhler, 1964; Lapidge et al., 2002). Daha sonrasında yapılan çalışmada hijyenik davranışın üç lokus (u, r1 ve r2) tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir (Moritz, 1988; Gramacho and Spivak, 2003; Oldroyd and Thompson, 2006). Sonrasında yapılan başka bir çalışmada hijyenik süreçteki ilk adımın, istila edilmiş kuluçkayı içeren hücre üzerindeki balmumu kapağının delinmesi olduğu vurgulanmıştır ve üç resesif lokusa dayalı bir model önerilmiştir: Bu lokuslardan ikisinin perforasyon ve kapak açma davranışını kontrol ettiği (u1 ve u2) ve birinin de (r) çıkarmayı kontrol ettiği bildirilmiştir (Gramacho and Spivak, 2003). Ancak moleküler teknikler ve kantitatif özellik lokusları (QTL) bağlantı haritalaması yoluyla yapılan çalışmada hijyenik davranışın genetik temelini daha karmaşık olduğu ve birçok genin davranışa katkıda bulunma olasılığının yüksek olduğu, hijyenik davranışla ilişkili yedi QTL saptandığı ve tespit edilen her QTL'in, karakterde gözlenen fenotipik varyansın yalnızca %9-15'ini kontrol ettiği belirlenmiştir (Lapidge et al., 2002).

Hijyenik davranışın gerçekleştirilmesi için kolonide bir uyarının var olması gerektiği, uyarı mevcudiyetinde ise hijyenik davranışa genetik olarak yatkın işçi arıların bu davranışı gerçekleştirebileceği (Arathi et al., 2006) ve bu amaçla da işçi arılarda gerçekleşen sinirsel süreçler ile arının çevreden gelen uyaranları algılaması ve onlara tepki vermesinin sağlanacağı belirtilmiştir (Morfin et al., 2019). Ancak uyaran varlığının kalkmasıyla da normal koloni görevlerini yerine getirebilecekleri bildirilmiştir (Arathi et al., 2006). Bununla ilgili olarak bal arılarında antenlerin hijyenik davranışta çok önemli bir rol oynadığı vurgulanmıştır (McAfee et al., 2017). Bal arılarında koku alma sisteminin antenler, anten lobları ve MB'lerden oluştuğu ve antenler boyunca kütikül kaplı sensillaların içinde ~60.000 koku alma duyu nöronunun (OSN) bulunduğu bildirilmiştir. Bal arıları antenleriyle, antenlerindeki OSN'lerde bulunan koku alma reseptörlerini kullanarak kokuları ve tatları algıladığı ve koku maddelerinin, sensilla kütiküldeki gözenekler yoluyla bu OSN'lere erişim sağladığı belirtilmiştir. OSN'lerin aksonlarının, ~160 tanımlanmış glomerüllere bölünmüş olan ALna yansıdığı ve OSN'lerin aksonlarının iki tip AL nöronunda (AL içinde dallanan yerel internöronlar (~4000) ve AL çıkışını temsil eden PN (~800)) ile birleştiği bildirilmiştir. OSN'lerin, lokal internöronlar ve PN arasındaki sinaptik temasın, AL'nin etrafındaki tek bir tabaka halinde düzenlenmiş glomerüllerde gerçekleştiği belirtilmiştir. AL'deki glomerüller tabakanın

muhtemelen belirli bir koku verici tarafından aktive edilen reseptör tiplerinin özetlenmiş temsilini içerdiği bildirilmiştir. Antenlerden alınan koku bilgisinin, AL'de işlendiği ve daha sonra PN aracılığıyla MB'ye ve lateral protocerebruma iletildiği ve MB'nin α lobunda bulunan merkezi nöronlardaki nöroplastisitenin, koku alma öğrenme ve hafıza ile bağlantılı uzun vadeli ilişkisel güçlenmeye katkıda bulunduğu varsayıldığı bildirilmiştir.

Santral sinir sisteminde bulunan tüm sinapsların yaklaşık %40'ının nörotransmisyonunda Gama aminobütirik asit'i (γ -aminobütirik asit veya GABA) kullanabileceği (Marzioğlu Özdemir, 2013) ve GABA'nın beyindeki major inhibitör nörotransmitter olduğu (Yalçın vd., 2003) ifade edilmiştir. GABA salıveren nöronlara GABA-erjik nöronlar adı verildiği belirtilmiştir (Yalçın vd., 2003). Bal arısı, AL'deki GABA-ergic inhibitör internöronlarının, AL'den PN aracılığıyla diğer beyin bölgelerine iletilen kokuya özgü bir topografik harita oluşturup koku alma bilgisinin ilk algılanmasına hizmet ederek genel aktiviteyi modüle ettiği bildirilmiştir (Farooqui, 2007a). Hijyenik hatlarda ve bireylerde koku alma bilgisinin işlenmesinde yer alan proteinlerin yanı sıra belirli Koku bağlayıcı proteinlerin (OBP) ifadesinin arttığı belirtilmiştir (Bauer et al., 2018). Bal arılarının ve diğer böcek türlerinin koku alma gücünün, iki büyük protein familyası, G protein-kenetli Koku alma reseptörleri (OR) ve OBP'lerin bir araya getirilmiş etkisiyle üretildiği düşünülmektedir (Spötter et al., 2016). OBP'lerin koku moleküllerinin derişimlerini artırdığı ve koku moleküllerinin reseptör hücrelere ulaşarak reaksiyona girmesini sağladığı belirtilmiştir (Başaran ve Bacanlı, 2020). Antenlerde bulunan OBP'ler olan OBP16 ve OBP18'in hidrofobik koku moleküllerini anten gözeneklerinden koku alma sinirlerine bağlayarak ve taşıyarak koku verici sinyal algılamasına yardımcı olabileceği bildirilmiştir (McAfee et al., 2018). OBP1'in de, koku alma işaretlerine dayandığı varsayılan Varroa ile enfekte olan hücrelerin tanımlanması sırasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (Spötter et al., 2016). Hijyenik kolonilerdeki işçi arıların, antenleriyle larvaları ve balmumu kaplı kuluçkaları incelerken, farklı kuluçka kokuları nedeniyle herhangi bir anormal kuluçkadan sağlıklı olanı saptayabildiği ve ayırt edebildiği (Spivak and Danka, 2021) ve hijyenik davranış gösteren işçi arıların koku alma ipuçlarını kullanarak hastalıklı veya ölü larva ve pupaları tanımladığı (Masterman et al., 2000; Gramacho ve Spivak, 2003; Spivak et al., 2003; Arathi et al., 2006; Goode et al., 2006;

Bienefeld et al., 2015; Rasolofoarivao et al., 2015; Scannapieco et al., 2017; McAfee et al., 2018; Morfin et al., 2019; Wagoner et al., 2019; Lee et al., 2020; Spivak ve Danko, 2021) ve sorunlu kuluçka hücresinden yayılan kokunun yoğunluğunun hasarın şiddetiyle arttığı bildirilmiştir (Bienefeld et al., 2015). Anormal kuluçka kokularının seviyesinin, koloni içindeki arıların tepki eşiğini aşabildiği ve bu durumun da onların hijyenik davranış başlatmasına neden olabileceği vurgulanmıştır (Masterman et al., 2000). Ayrıca kuluçka hücrelerini inceleyen ve sorunlu kuluçka hücrelerinin kapaklarını açan işçi arıların, kuluçka içindeki sorunlu larvaları ve pupaları çıkartan işçi arılara göre koku ayırt etme yeteneklerinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Scannapieco et al., 2016). Yine işçi arı antenlerine β -okimen uygulamasının antenleri doza bağlı bir şekilde uyardığı, hijyenik işçi arılarda sol antenin sağ antenden önemli ölçüde daha güçlü yanıt verdiği, ancak hijyenik olmayan işçi arılarda yanıt olmadığı bildirilmiştir (McAfee et al., 2017).

İşçi arıların hasta bireyleri kütiküler hidrokarbon profillerinden de tanıyarak enfekte olmuş larvaları tespit edip uzaklaştırdığı belirlenmiştir (Baracchi et al., 2012). Böcek kütiküllerinin hidrokarbonlar, mum esterleri, gliseritler, serbest yağ asitleri, steroller, aldehytler ve alkoller dahil olmak üzere çeşitli lipidlerle kaplı olduğu, bu bileşiklerin su kaybını azaltmasının yanı sıra türler arası iletişimi kolaylaştırdığı ve bal arılarında kütiküler bileşiklere tipik olarak hidrokarbonların, özellikle de alkanların, alkenlerin ve metil alkanların hakim olduğu bildirilmiştir. Sağlıksız bal arısı kuluçkaları ile ilişkilendirilen kütiküler bileşiklerden (Z)-10-tritriacontene ve (Z)-6-pentadecene'in işçi arılarda hijyenik davranışın tetikleyicileri olduğu belirtilmiştir (Wagoner et al., 2020). Kireç hastalığı ile enfekte olmuş larvalardan salınan uçucu bileşiklerden fenetil alkol (Zhao et al., 2015), fenetil asetat, 2-feniletanol, benzil alkol (Swanson et al., 2009) ve fenetil asetat'ın güçlü bir hijyenik davranış indükleyicisi olduğu bildirilmiştir (McAfee et al., 2018). Varroa ile istila edilmiş kuluçkalardaki koku kimyasallarının da işçi arılar tarafından tanındığı ve işçi arıların bu kuluçkalara karşı hijyenik davranış gösterdiği belirlenmiştir (Schöning et al., 2012). Varroa ile istila edilmiş kuluçka hücrelerindeki (Z)-6-pentadekan (McAfee et al., 2018), etil heksanoat ve α -pinene'nin hijyenik davranışı tetiklemede önemli olduğu bildirilmiştir. Bu uçucu bileşiklerin istila oranına göre arttığı ve istila edilmemiş kuluçka hücrelerinde de

bulunmadığı belirtilmiştir (Liendo et al., 2021). Bunun dışında, dondurularak öldürülmüş kuluçka denemesinde kuluçkadan salınan β -okimen (McAfee et al., 2017; McAfee et al., 2018) ve oleik asit koku maddesinin hijyenik davranışın tetiklenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Uçucu β -okimen'in hijyenik davranış gösteren işçi arıların dikkatini çektiği, oleik asidin ise ölüm işareti olduğu ve uzaklaştırmayı tetiklediği önerilmiştir (McAfee et al., 2018). Yapılan başka bir çalışmada, Amerikan Yavru Çürüklüğü enfeksiyonu olan kuluçkalarda propiyonik asit, valerik asit ve 2-nonanone uçucu hastalık belirteçlerinin tanımlandığı ve orta yaşlı olan hijyenik arıların bu uçucu hastalık belirteçlerine tarlacı arılardan daha duyarlı olduğu, ayrıca Amerikan Yavru Çürüklüğü enfeksiyonunun β -okimen salınımını etkilemediği ve her sağlıklı durumda hijyenik davranışı tetikleyen farklı uçucu sinyallerin tetikleyici olabileceği de bildirilmiştir (Lee et al., 2020).

Bu çalışmalardan başka, hijyenik davranışı tetikleyen diğer durumlar da söz konusudur. Arıcılıkta balmumu çerçevelerinde yaygın olarak kullanılan çelik tellerin balmumuna değen kısmındaki kuluçka hücrelerinde demir içeriğinin artmasından dolayı bu hücrelerdeki yavruların daha yüksek oranda hijyenik olarak uzaklaştırıldığı bildirilmiştir (Wagoner, 2015). Bunun dışında, Bauer et al. (2018) yaptıkları çalışmada, normal kuluçka sıcaklığının 32-36 °C aralığında düzenlenmesine rağmen, varroa bulaşmış kuluçka hücrelerinin sıcaklığının 0,03 °C ile 0,19 °C arasında daha sıcak olduğunu ve bu termal sıcaklık farklarının bal arılarında varroa bulaşmış larvalara ya da pupalara yönelik hijyenik davranışı tetiklemede rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Spivak and Danka (2021) ise arı ırkları arasında hijyenik davranış bakımından farklılık olabileceğini *Apis cerana*'nın hem hücre kapaklarını açmada hem de dondurularak öldürülen yavruları çıkarmada *Apis mellifera*'dan önemli ölçüde daha hızlı olduğunu bildirmişlerdir.

Hijyenik davranış gösteren koloniler ile hijyenik davranış göstermeyen koloniler arasında fizyolojik olarak da farklılıklar saptanmıştır. Lazarov ve Zhelyazkova (2017), işçi arıların hemolenfindeki toplam protein içeriği için ortalama değerlerin süper hijyenik arı kolonileri (>%95) grubu için $13,14 \pm 3,94 \text{ g.l}^{-1}$, hijyenik arı kolonileri (%95) grubu için $24,96 \pm 4,93 \text{ g.l}^{-1}$ ve hijyenik olmayan arı kolonilerinde (<%95) ise $4,16 \text{ g.l}^{-1}$ 'den $54,53 \text{ g.l}^{-1}$ 'e kadar değiştiğini bulmuşlardır. Model için ortalamaya karşı belirlenen LS tahmininin, işçi arıların hemolenfindeki

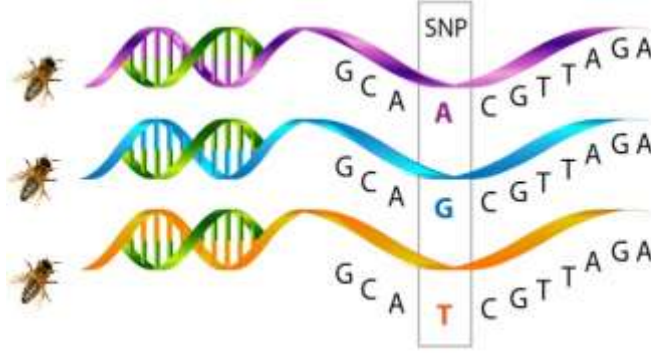
toplam protein miktarını artırma eğiliminin bir göstergesi olan, düşük düzeyde hijyenik davranış (hijyenik olmayan) sergileyen kolonilerde pozitif (+1,93) olduğu ve bu durumun da arı kolonilerinde hasta larvaları (bu durumda ölü larvaları) hızlı bir şekilde tespit edip temizleyememesinin onları stresli bir duruma sokabileceğini bildirmişlerdir. Lazarov et al. (2020) ise, bal arılarındaki doğal bağışıklığın, büyük ölçüde hemolenflerindeki antimikrobiyal peptitlerin içeriğine bağlı olduğunu ve hücresel ve humoral bariyerler olarak koruyucu işlev içerdiğini bildirmişlerdir. Yaralanma ve bakterilerin hemolenfe girmesiyle antimikrobiyal peptitlerin miktarının artacağı, arılar tarafından yutulan bakterilerin, ağırlıklı olarak lizozim (N-acetylmuramylhydrolase), alkalın fosfataz, ribonükleazlar ve fosfolipazlar olmak üzere salınan hidrolitik enzimler tarafından sindirildiğini belirtmişlerdir. Aynı yazarlar yaptıkları çalışmada ise, hemolenfteki toplam protein miktarı ile hijyenik davranış arasında düşük negatif korelasyon ($r = -0,33$) olduğunu, yani petek hücrelerinin temizlenmesi ile ilgili faaliyetlerin artmasının toplam protein içeriğinde bir azalmaya yol açtığını ve toplam protein için regresyon modelinin istatistiksel olarak önemli olduğunu ($P=0,003153$); hemolenfteki lizozim miktarı ile hijyenik davranış arasında düşük korelasyon ($r = 0,35$) bulunduğunu, yani yüksek hijyenik davranış gösteren kolonilerin daha yüksek lizozim içeriğine sahip olduğunu ve hemolenfteki toplam protein içeriği ile arı kolonilerindeki hijyenik davranış ilişkisinin tahminlemesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Hijyenik davranışın kalıtım derecesi ile ilgili olarak Varroa ile enfekte olmuş kuluçka hücrelerine karşı gösterilen hijyenik davranışın kalıtım derecesinin 0,18 (+0,27) ve ölü yavru bulunan kuluçka hücrelerine (pin-killed yöntemi) karşı gösterilen hijyenik davranış için kalıtım derecesinin 0,36 (+0,30) olduğu (Boecking et al., 2000) bildirilmiş olup yine hijyenik davranışın kalıtım derecesinin ~0,2 ve ~0,6 olarak hesaplandığı (Spötter et al., 2016), Kanada’da yapılan bir çalışmada da hijyenik davranışın düşük bir kalıtsallığa sahip olduğu belirlenmiştir ($0,18 \pm 0,13$) (Maucourt et al., 2021).

Yüksek hijyenik davranışa sahip kolonilerin seçilmesi ve yetiştirilmesinin, bal arısı kolonilerinde kuluçka hastalıklarını kontrol etmek için uygulanabilir ve çevre dostu bir strateji olduğu belirtilmiştir. Ancak ana arıların farklı kolonilerden çok sayıda erkek arıyla çiftleşmesine bağlı olarak, hijyenik davranışın kolonide

uzun süre sürdürülmesinin zor olduğu belirtilmiştir (Kim et al., 2019a). Bu yüzden moleküler genetik yöntemler kullanılarak bal arısı genom dizisinden faydalanılabileceği, dolayısıyla hijyenik davranıştan sorumlu olan gen bölgeleri ile ilişkili markörlerin tespit edilebileceği vurgulanmıştır (Spötter et al., 2016). Bu karakterin ifadesinde yer alan genlerin tanımlanmasının, yalnızca hijyenik davranışın altında yatan moleküler ve biyokimyasal yolları ortaya çıkarmakla kalmadığı, aynı zamanda bal arısı yetiştirme programları için yararlı olan hastalık direnci biyobelirteçlerini seçmek için pratik bir yaklaşım olarak hizmet edeceği bildirilmiştir (Scannapieco et al., 2017). Örneğin, uçucu hastalık belirteçlerini saptamak için yapılan moleküler ve sinirsel bağıntı çalışmalarının hastalığa dirençli bal arısı türlerini seçmek için üreme belirteç genleri geliştiren uygulamalar da önemli bir role sahip olabileceği belirtilmiştir (Lee et al., 2020).

Yeni Nesil Sekanslama Teknolojileri (YNS-NGS (Next Generation Sequencing) sayesinde çalışılmak istenen organizmaya ait geriye dönük hiçbir genetik bilgi olmadan da populasyon çalışmalarının yapılabilmesi bildirilmiştir (Yılmaz, 2016). Kalıtım şekillerinin morfolojik, biyokimyasal ve DNA düzeyinde izlenebilen karakterler olarak adlandırılan genetik markörler, ilgili organizmanın özelliklerinin genetiği hakkında bilgi sağladıkları belirtilmiştir ve DNA düzeyinde izlenebilen karakterler de DNA markörleri olarak belirtilmiştir. Bunun yanında DNA markörlerinin farklı mutasyon sınıflarının bir sonucu olarak ortaya çıktığı (Sönmezoğlu vd., 2010) ve DNA dizisinde bireysel varyasyonların görüldüğü bildirilmiştir (Çığlıdağ Dügöl, 2011). Örneğin, Tek Nükleotid Değişimleri (Polimorfizmi) olarak adlandırılan SNP (Single Nucleotide Polymorphism)'nin bir baz çiftinin başka bir baz çiftiyle yer değiştirmesi olduğu tanımlanmıştır (Şekil 2.10) (Argaç, 2009; Ekşi, 2019).



Şekil 2.10. Tek nükleotit polimorfizmi (SNP) (Ekşi, 2019'dan uyarlanmıştır).

Yücel (2016), SNP'lerin sessiz SNP'ler ve protein fonksiyonunu etkileyen SNP'ler olarak ikiye ayrıldığını belirtmiştir. Ertuğrul ve Küçük Hüseyin (2020), sessiz SNP'lerin, gen fonksiyonlarını ve kalıtılan özellikleri etkilemeyen SNP'ler olduğunu belirtmişlerdir. Şahin ve Boztepe (2021), kodlama bölgesindeki synonymous (eş anlamlı) olarak ifade edilen sessiz SNP'lerin amino asitte değişime neden olmadıklarını, non-synonymous (eş anlamlı olmayan) olarak ifade edilen SNP'lerin ise amino asit değişimine neden olduklarını bildirmişlerdir.

Bir popülasyonda tek baz değişimi frekansının en az %1 olması gerekmektedir (Argaç, 2009; Çıglıdağ Döngöl, 2011; Turan, 2011), %1'den az olması durumunda mutasyon olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Çıglıdağ Döngöl, 2011). Tek bir nükleotidin (bazın) yer değiştirmesinin bir bireyde farklı bir markör ortaya çıkardığı vurgulanmıştır (Sönmezoğlu vd., 2010). SNP markörlerinin ıslaha yardımcı olmak için genetik belirteçler olarak giderek daha fazla kullanıldığı, bu tekniklerin türler arasında ve bir tür içindeki bireyler arasında DNA dizilerinde varyasyonun varlığını tespit etmeye dayandığı ve yakın genetik gruplar arasında moleküler ayrımların yapılmasına olanak sağladığı belirtilmiştir (Kim et al., 2019a).

Bal arılarındaki hijyenik davranış, işçi arıların hastalıklı veya parazitli yavruları tespit etmesi, kapağını açması ve yuvadan uzaklaştırmasıyla karakterize edilir ve bu davranış, koloninin sağlığını korumak ve hastalıkların yayılmasını engellemek amacıyla gerçekleştirilmektedir. Bal arıları kolonileri için hayati derecede öneme sahip olan hijyenik davranış ile ilişkili yapılan genomik

çalışmalarda bu davranışın oluşmasını sağlayan gen b6lgelele belirlenmeye çalışılmıştır.

Yapılan genetik çalışmalarda hijyenik davranışla ilgili 73 genin ilişkili olduğu ve bu genlerin de genellikle b6ceklerde n6ronal gelişim ve duyuusal algı ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Harpur et al., 2019). Oktopamin resept6r6, smell-impaired, koku bağlayıcı protein 3 ve koku bağlayıcı protein 4 genlerinin hijyenik davranış g6steren ve hijyenik davranış g6stermeyen koloniler arasında farklı şekilde ifade edildiği, hijyenik davranış g6steren işçi arıların hastalıklı kokuları algılamasında etkili olabileceği belirtilmiştir (Scannapieco et al., 2017). Kim et al. (2019a), y6ksek hijyenik davranış g6steren *Apis mellifera caucasica* hattı işçi arıları ve d6ř6k hijyenik davranış g6steren *Apis mellifera carnica* hattı işçi arılarından tam genom dizilimiyle SNP mark6rleri geliştirmeyi amaçlamıştır ve Varroa'ya karşı y6ksek hijyenik davranış g6steren gruplara 6zg6 SNP mark6rleri belirlemişlerdir. Toplam 319.445.977 dizi okuması, bilinen *Apis mellifera* referans genomuna eşlenmiş (ortalama %87,46 kapsama alanı) ve y6ksek hijyenik davranış ve d6ř6k hijyenik davranış hattından sırasıyla 2.316.128 ve 3.266.756 SNP'de, her satırda homozigotluk g6steren 20 SNP seçilmiştir. Sp6tter et al. (2016) yaptığı çalışmada, 4 adet SNP'nin (Adenosin resept6r6 ve Cyclin-dependent kinase 5 activator, Oktopamin resept6r6 beta-2R ve Odorant-binding protein 1 (OBP1)) Varroa bulaşmış kuluçka h6crelerinin bal arıları tarafından tespiti ve açılmasından sorumlu olduğunu belirlemişlerdir. Tsurada et al. (2012) yaptıkları çalışmada, “no receptor potential A” ve “dopamin resept6r” genlerinin Varroa'ya karşı duyarlı hijyen davranışıyla ilgili olabileceğini belirtmiştir. Teixeira et al. (2021) yaptıkları çalışmada, Afrika k6kenli bal arılarında hijyenik davranışta yukarı reg6le edilen 49 farklı ifade edilen gen (DEG) belirlemişlerdir ve bir adet DEG olan, Apidaecin'in numuneler arasında SNP varyasyonu g6stererek, hijyenik davranışta hem ifadeye dayalı hem de kalıtsal varyasyon için bir aday gen olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca daha 6nce bal arısı hijyenik davranışıyla bağlantılı beş aday genin (abscam gene, OBP4, cac, Syn1, Pka-C1) kodlama b6lgelerinde 27 ek SNP belirlenmiştir. Kim et al. (2019b) tarafından yapılan çalışmada, *Apis mellifera ligustica*'da y6ksek ve d6ř6k hijyenik davranış g6steren işçi arılarında 11 protein kodlayan gende 23 SNP ortaya çıkarılmış ve bu SNP'lerin y6ksek hijyenik davranış g6steren suşları tanımlamak için yararlı olduğu bildirilmiştir. Oxley et al. (2010), koku alma,

öğrenme ve sosyal davranışla ilgili dört gen ve sirkadiyen hareketle ilgili bir gen dahil olmak üzere hijyenik davranışla ilişkili aday genleri belirlemişlerdir. Northrup (2016) ise, Minnesota (MN) hijyenik arılarının davranışla ilgili beyinlerinin daha fazla sayıda dendritik bağlantıya sahip olabileceğini veya nörotransmitterlere karşı daha duyarlı olabileceğini bildirmiştir ve davranıştan sorumlu olabilecek kromozom iki, beş ve on üçüncü bölgeyi göstermiştir. Bu kantitatif özellik lokuslarından gelen genler, MN Hijyenik arılarının koku alma işaretleri arasında daha fazla ayırım yapma yeteneğiyle bağlantılı olduğundan, koku alma temelinde izole edilmiştir. Çeşitli istilacı parazitler ve patojenlerle başa çıkacak kadar dayanıklı arıların üremesi için kullanılacak XM_393199, XM_001120874, XM_392202 ve XM_624940 dahil olmak üzere potansiyel aday genler belirlenmiştir.

2.3 Biyojenik Aminler

Çevreleriyle iletişim kuran organizmaların hücrelerinde meydana gelen fizyolojik süreçler, dış koşulların karşılanabilmesi için uyarlanabilir ve bu şekilde çevre ve hücreler arası mesajlar, sinyal iletim yolları ve sinyal ağları yoluyla hücre içi yanıtlara çevrilir. Bu tepkilerin genellikle, hücre dışı bir sinyal molekülü ile bir hücrel reseptör proteininin etkileşimi ile başlatıldığı bildirilmiştir (Broeck, 1996). Hücrelerin tümünde bulunan transmembran (TM) sinyal sistemleri hormonlar, nörotransmitterler veya duyuşal uyarılar gibi hücre dışı sinyaller sayesinde çevreden bilgi alarak hücrelerin birbirleri ile iletişim kurmasını sağlar. TM sinyal sistemlerinin tümü temel olarak, reseptör ve efektör olmak üzere iki bileşenden oluşur. Reseptör hücre dışı uyarıları tanır, efektör ise ilgili reseptör denetiminde hücre içi sinyal oluşturabilir (Küçükkaya ve Kan, 2007).

Böcek endokrin ve sinir sistemlerinde hormonlar, transmitterler veya modülatörler olarak hareket eden çok sayıda amino asit, amin ve peptit habercileri gibi farklı haberci moleküllerinin kullanıldığı (Broeck, 1996) ve bilginin genellikle bir kimyasal aracılığıyla (transmitter) iletilmesi (Erden ve Aksoy, 1995; Reim et al., 2017) bildirilmiştir. Kimyasal sinyal yollarının, bireysel nöronlar arasındaki ve ayrıca nöronlar veya endokrin hücreler ve nöronal olmayan hedef hücreler arasındaki iletişime aracılık ettiği belirtilmiştir (Molei, 2004). Nöronlar ve nöronal

olmayan hedef hücreler ile birlikte bireysel nöronlar arasındaki iletişime, elektrokimyasal sinyal yollarının aracılık ettiği ve aksiyon potansiyellerinin (hücresel hep ya da hiç yanıtları aksiyon potansiyellerine yol açar (Balfanz et al., 2014)), uyarılmış nöronun özelleşmiş hücre bölgelerinden kimyasal "habercilerin" salınmasına yol açtığı bildirilmiştir. Bu habercilerden nörotransmitterlerin sinaptik boşluğa salındıktan sonra membran potansiyelinde değişikliklere neden olduğu ve etkilerinin, yeniden alım, enzimatik bozunma ve sinaptik boşlukta difüzyon nedeniyle geçici olduğu belirtilirken nörosekretuar hücreler tarafından sentezlenen nörohormonların ise hemolenf içine salındığı ve dolaşımdaki hormonlar olarak işlev gördüğü, nörohormonların da birçok periferik dokuyu modüle ettiği ve daha uzun süreli etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Nöronlar tarafından salınan nöromodülatörlerin de, diğer sinapslardaki iletimi ve/veya hedef dokulardaki aktiviteyi değiştirdiği ve sinaptik sonrası zarların uyarılabilirliğini etkilerken sinaptik öncesi nöronlardan nörotransmitterlerin salınmasını modüle edebildiği bildirilmiştir (Hana, 2017). Presinaptik nöronun uyarımıyla salınan transmitterlerin presinaptik uçta bulunduğu ve transmitterin salındıktan sonra postsinaptik nöronun membranında bulunan kendi özel reseptörlerine bağlandığı bildirilmiştir (Erden ve Aksoy, 1995).

Habercilerin, hedef hücrenin yüzey zarı üzerindeki spesifik reseptörler tarafından tanındığı belirtilmiştir. Haberci ve reseptörü arasındaki etkileşimin, kimyasal sinyali hedef hücrenin belirli bir elektriksel veya biyokimyasal yanıtına dönüştürdüğü (Blenau and Baumann, 2001; Molei, 2004) ve G-protein kenetli reseptörlerin (GPCR) de, bu reseptörlerin ana grubunu temsil ettiği, bu nedenle kimyasal sinyal yollarında temel bir rol oynadığı bildirilmiştir (Molei, 2004). Bir hücre dışı N-terminaline, üç hücre içi döngü ve bir hücre içi C-terminaliyle birlikte üç hücre dışı döngü oluşturan yedi transmembran alan reseptörleri (7TM'ler) olarak da bilinen GPCR'lerin, hücre dışı olarak reseptör aktivasyonuna yol açan ve böylece hücre içi sinyal iletimini ortaya çıkaran ligandları bağlayan geniş bir reseptör protein ailesinden olduğu belirtilmektedir. GPCR'ler, sinyal iletim yollarının başlatılmasında ayrılmaz bir bileşen olan spesifik Guanin nükleotid-bağlayıcı proteinlerine (G-proteinleri) bağlanırlar (Hana, 2017).

Hücre dışı sinyallerin, hücre içine girişinin genel olarak hidrofobik moleküllerin hücre zarından difüzyonu, iyon kanalları aracılığı, GPCR aracılığı ve enzim aktivitesine sahip reseptörler aracılığı ile olmak üzere dört farklı yoldan gerçekleştiği bildirilmiştir (Küçükkaya ve Kan, 2007). Hücre dışı sinyaller tarafından aktive edilen GPCR'ler, (Hauser et al., 2006) hücre içi ikinci habercileri, heterotrimerik G-proteinlerine ve bunların aşağı yönde efektörlerine bağlanma yoluyla düzenler (Liu et al., 2021a), böylece sinyalleri hücrenin dışından içine iletir (Hauser et al., 2006). G proteinin aktivasyonu sonucu ya spesifik bir iyon kanalının etkilendiği ve hücrenin eksitabilitesinin arttığı veya azaldığı ya da bir spesifik efektör molekülünün etkilendiği ve intraselüler ikinci ulakların seviyesinin arttığı veya azaldığı belirtilmiştir (Erden ve Aksoy, 1995). Ligandların (moleküllerin) bağlanması yoluyla, GPCR'lerin hücre içi heterotrimerik G proteinlerini aktive edebildiği ve daha sonra Siklik Adenozin Monofosfat (3'-5'-siklik adenozin monofosfat veya cAMP), Kalsiyum iyonu (Ca^{2+}), inositol trifosfat ve Diasilgliserol (DAG) gibi ikinci habercilerin seviyelerindeki değişiklikleri etkilemekle birlikte aşağı akış efektörlerini daha fazla aktive edebileceği belirtilmiştir. Bu şekilde, hücre dışı sinyallerin hücrenin iç kısmına iletilebildiği belirtilmiştir (Ji et al., 2016). GPCR ligandları arasında biyojenik aminler, nöropeptitler, glikoproteinler, fotonlar, tat molekülleri, hormonlar&feromonlar ve koku maddeleri bulunur (Hana, 2017). GPCR genlerinin ve potansiyel biyolojik işlevlerinin, üreme, büyüme ve gelişmeyi düzenleme, stres tepkisi, beslenme, davranışlar ve diğer fizyolojik süreçler dahil olmak üzere böcek fizyolojisinde etkileri olduğu belirtilmiştir (Liu et al., 2021a).

GPCR'lere bağlanan önemli bir haberci madde grubu biyojenik aminlerdir (Blenau and Baumann, 2001). Biyojenik aminlerin, amino asitlerin dekarboksilasyonu yoluyla türetilen küçük ama çok önemli bir nöroaktif kimyasallar grubunu temsil ettiği (Lange, 2009) ve amino asitlerin metabolik türevleri olduğu (Monastirioti, 1999) ve hem omurgalılarda hem de omurgasızlarda bulunduğu bildirilmiştir (Blenau and Baumann, 2001). Serbest bırakıldıktan sonra, biyojenik aminler, sinaptik öncesi veya sonrası sinir hücresi terminallerindeki geniş bir GPCR ailesinin bir veya daha fazla üyesi aracılığıyla hareket eder (Ebert et al., 1998). Öncelikle Guanosin-5'-trifosfat (GTP)-bağlayıcı proteinine bağlı reseptörlerin geniş gen ailesine ait olan zar reseptörlerine bağlanır (Scheiner et al.,

2002) ve GPCR'ye ait olan spesifik reseptör proteinlerini aktive eder (Kuo et al., 2021). Reseptör aktivasyonu, cAMP, İnositol-1,4,5-trisfosfat (IP3) ve/veya Ca^{2+} gibi hücre içi ikinci habercilerin konsantrasyonlarında geçici değişikliklere yol açar (Scheiner et. al., 2006; Blenau and Baumann, 2016). Biyojenik aminlerin ve nöropeptidlerin nöronların içsel özelliklerini (Scheiner et al., 2002; Leitch et al., 2003) ve sinaptik iletimi değiştirdiği, böylece sinir ağlarının çıktısını değiştirdiği gösterilmiştir (Leitch et al., 2003). Sinir hücresi aktivitesindeki değişiklikler davranıştaki değişikliklere çevrilir (Ebert et al., 1998). Biyojenik aminler böceklerin sinir ve motor sistemlerinin tüm seviyelerinde hareket edebilir (Scheiner et al., 2002). CNS, duyuşal çevre, motor nöronları, kaslar (Cabe et al., 2017), saldırganlık, sirkadiyen ritimler ve hareket gibi çoklu fizyolojik ve davranışsal süreçleri modüle etmek için (Qi et al., 2018) nörotransmitterler, nöromodülatörler ve nörohormonlar olarak işlev gördükleri vurgulanmıştır (Broeck, 1996; Monastirioti, 1999; Blenau and Baumann, 2001; Scheiner et al., 2002; Bischof and Enan, 2004; Blenau, 2005; Hoyer et. al., 2005; Fussnecker et al., 2006; Brigaud et al., 2009; Ohta, 2009; Aonuma and Watanabe, 2012; Szczuka et al., 2013; Cabe et al., 2017; Thamm et al., 2017; Peng et al., 2021). Bunun yanında hem periferik hem de merkezi seviyelerde koku alma yolunun modülasyonuna önemli ölçüde katıldığına dair kanıtlar bulunduğu bildirilmiştir (Brigaud et al., 2009; Hillier and Kavanagh, 2015). Hızlı sinaptik iletimleri nedeniyle, biyojenik aminlerin, değişen çevresel ve fizyolojik koşullara yanıt olarak davranıştaki hızlı değişikliklere aracılık edebileceği (Cook et. al., 2019), sinir hücresi aktivitesini düzenleyerek ve koordine ederek, organizmaların çevrelerine tepki olarak koordineli ve uygun davranış sergilemelerini sağlayabilecekleri bildirilmiştir (Ebert et al., 1998). Bunun yanında böceklerde üreme, endokrin salgılama, iş bölümü, öğrenme ve hafıza ve stres tepkisi gibi birçok temel süreci düzenlediği bildirilmiştir (Liu et al., 2021b).

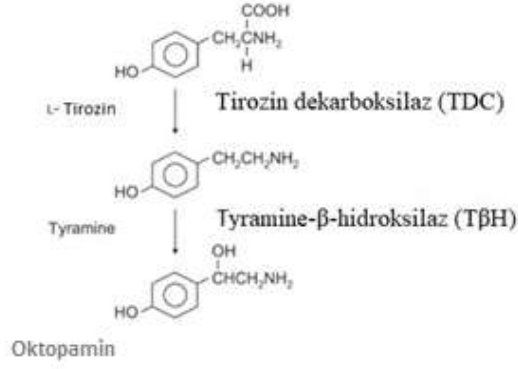
Bal arısı davranışlarının ya biyojenik aminlerin kontrolü altında ya da modülasyonu altında olduğu vurgulanmıştır (Thamm et al., 2017). Biyojenik amin reseptörleri, arı beyninin farklı bölümlerinde, özellikle MB'lerde yoğun bir şekilde ifade edilmektedir (Peng et al., 2021). MB, duyuşal entegrasyon, hafıza oluşumu ve karmaşık davranışların organizasyonu gibi çeşitli bilişsel işlevler için önemli bir merkezdir. MB'lerin yiyecek arama döneminde ve arılar yaşlandıkça anatomik özelliklerinde değişiklikler olduğu ve boyut olarak arttığı ve biyojenik amin

reseptör genlerinin, tarlacı arıların MB'lerinde, kovan içi görevleri yerine getiren arılara göre daha yüksek ifade gösterdiği bildirilmiştir (Peng et al., 2021).

2.4 Oktopamin ve Tyramine Reseptör Genleri

Oktopamin ve Tyramine'nin, omurgasızlarda nörohormonlar, nöromodülatörler ve nörotransmitterler olarak işlev gören (Ali et al., 2012; Kastner et al., 2014; Braza et al., 2019), temel işlevleri yerine getiren ve birçok önemli fizyolojik süreci modüle eden biyojenik monoaminler olduğu belirtilmiştir (Kastner et al., 2014). Diğer yandan böcek sinir dokuları yüksek düzeyde hem Oktopamin hem de Tyramine içerdiğinden (Fussnecker et al., 2006; Finetti et al., 2021) nörotransmitter olarak hareket ettiği, periferik organlarda parakrin, endokrin ve otokrin tarzda da çalışan çok çeşitli fizyolojik süreçlerde nöromodülatör ve nörohormon olarak da işlev gördüğü bildirilmiştir (Finetti et al., 2021).

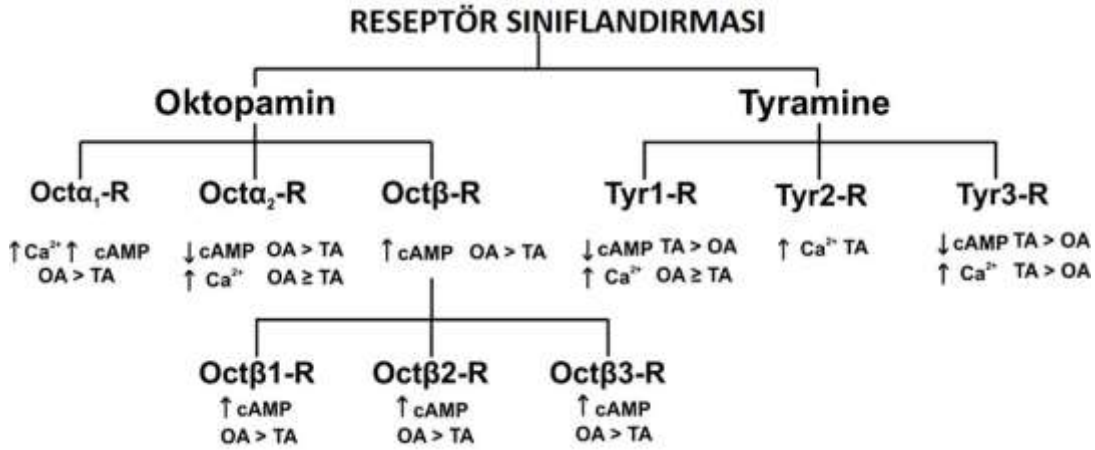
Başlangıçta Tyramine'nin, yalnızca Oktopamin sentezi için gerekli olan ara ürün olarak kabul edilmesine rağmen günümüzde Oktopamin ve Tyramine'nin birbirinden bağımsız olarak önemli işlevleri yerine getirdiği bildirilmiştir (Lange, 2009; Thamm et al., 2017; Finetti et al., 2021). Tyramine'nin, amino asit tirozinden tirozin dekarboksilaz enzimi yoluyla sentezlendiği ve daha sonra Tyramine β -hidroksilaz tarafından Oktopamin'e dönüştürüldüğü bildirilmiştir (Şekil 2.11) (Arvan, 2006; Fussnecker et al., 2006; Lee, 2008; Lange, 2009; Verlinden et. al., 2010; Ali et. al., 2012; El-Kholy et al., 2015; Blenau and Baumann, 2016; Hana, 2017; Sinakevitch et al., 2017; Zhang et. al., 2017; Finetti et al., 2021).



Şekil 2.11. Oktopamin ve Tyramine'nin biyosentezi (Blenau and Baumann, 2016'dan uyarlanmıştır).

Bir nörokimyasal ister nörohormon olarak kana salınsın, ister bir doku üzerinde lokal modülatör olsun, ister sinaptik yarıktaki nörotransmitter olsun, etkileri hücreye iyon kanallarının açılması/kapanması yoluyla veya hücre zarında veya hücre içinde bulunan bir reseptör aracılığıyla iletilir. Duyu reseptörlerinin, internöronlar ve motonöronların duyarlılığını değiştirebildiği ve dolayısıyla koku alma veya görsel olarak algılanan girdilerden kaynaklanan karmaşık davranış tepkilerini etkilediği bildirilmiştir (Grohmann et al., 2003). Bilgi, bir reseptör aracılığıyla hareket ederken çeşitli ikinci haberci yolların (örneğin, cAMP, cGMP) aktivasyonu yoluyla bağlanma eğilimindedir (Lange, 2009). GPCR ailesine ait reseptörlere bağlanan ve onları aktive eden biyojenik aminler içinde Oktopamin ve Tyramine reseptörlerini de (Fussnecker et al., 2006; Blenau and Baumann, 2016; Reim et al., 2017) içeren rodopsin benzeri reseptörler, en büyük alt aileyi oluşturmaktadır (Blenau and Baumann, 2016). Diğer biyojenik aminlere benzer şekilde, Oktopamin ve Tyramine rodopsin benzeri ailenin üyeleri olan spesifik zar proteinlerine bağlanarak işlev görmektedir (Verlinden et al., 2010). Sinapstan çıktıklarında Oktopamin ve Tyramine'nin hedefleri, karşılık gelen reseptörlere bağlanmak ve fizyolojik bir tepki ortaya çıkarmaktır (Roeder et al., 2003). Dolayısıyla GPCR olan çeşitli Oktopamin reseptörlerine veya Tyramine reseptörlerine farklı afinitelerle bağlanarak hücre içi sinyal yollarını tetikledikleri bildirilmiştir (Sinakevitch et al., 2017).

Yapılan çalışmalarda Oktopamin reseptörleri α_1 -adrenerjik benzeri reseptörler (Oct α_1 -R, OAMB veya OA1), α_2 -adrenerjik benzeri reseptörler (Oct α_2 R, OA3), β -adrenerjik- benzeri reseptörler (Oct β -R, OA2: Oct β_1 -R, Oct β_2 -R, Oct β_3 -R) olarak ve Tyramine reseptörleri ise TAR1, TAR2 ve TAR3 olarak sınıflandırılmıştır (Finetti et al., 2021). Oktopamin reseptörlerinin aktivasyonu, türe, doku kaynağına, reseptör tipine ve klonlanmış reseptörün ekspresyonu için kullanılan hücre hattına bağlı olarak farklı ikinci haberci yollarıyla birleştirilir. İkinci haberciler arasında adenosin cAMP, kalsiyum, diasilgliserol DAG ve IP3 bulunur. cAMP, protein kinaz A'yı aktive eder, kalsiyum ve DAG, protein kinaz C'yi aktive eder ve IP3, hücre içi depolardan kalsiyumu harekete geçirir. Bu ikinci habercilerin Oktopamin aracılı üretimi, böcek davranışlarını etkileyen hücresel yanıtta değişikliklerle ilişkilidir (Farooqui, 2007b). Oktopamin'in OCT α reseptör sınıfı (OCT α -R) ile etkileşimi, diğer bir deyişle Oct α -R'nin Oktopamin tarafından aktivasyonu, hücre içi Ca²⁺ seviyelerinde bir artışın yanı sıra G proteinleri yoluyla adenilat siklazı uyarır, hücre içi adenosin cAMP seviyelerinin üretimini indükler (Farooqui, 2012). Oktopamine yanıt olarak Oct α_1 -R sınıfının aktivasyonu hücre içi cAMP düzeylerini artırır (Farooqui, 2012), Oct α_2 -R sınıfının aktivasyonu hücre içi cAMP düzeylerini azaltır (Finetti et al., 2021). Oct β -R'ler ise hücre içi cAMP düzeylerini artırır (Finetti et al., 2021; Zheng et. al., 2021). Buna karşılık TAR1 (TYR1) sınıfı inhibe edici G proteinlerine bağlanma yoluyla adenilil siklaz aktivitesini inhibe ederek hücre içi cAMP seviyelerinde bir azalmaya neden olur (Blenau et al., 2020; Finetti et al., 2021). TAR1 (TYR1) reseptör alt grubu (veya Oktopamin/Tyramine reseptörleri), Tyramine tarafından Oktopaminden daha iyi aktive edildiği bildirilmiştir (Bayliss et. al., 2013). TAR2 (TYR2) sınıfı, G proteinleri yoluyla fosfolipaz C'nin aktivasyonu ile seçici olarak birleştirilir ve hücre içi Ca²⁺ mobilizasyonunu indükler, ancak hücre içi cAMP konsantrasyonu üzerinde hiçbir etki göstermez (Farooqui, 2012). TAR3 (TYR3) sınıfı ise hücre içi Ca²⁺ seviyelerinde bir artışın yanı sıra hücre içi cAMP düzeylerini azaltır (Şekil 2.12) (Finetti et al., 2021).



Şekil 2.12. Oktopamin ve Tyramine Reseptörlerinin sınıflandırılması (Hana, 2017'den uyarlanmıştır).

Oktopamin ve Tyramine'nin bal arılarında iş bölümünün düzenlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Arenas et al., 2021). Oktopamin ve/veya Tyramine reseptörü sınıflarının normal işlevini bloke ederek veya aşırı uyararak değiştirmeye, bir böceğin ölümüne yol açılabildiği veya fiziksel uygunluk ve üreme kapasitesine müdahale edilebildiği (Finetti et al., 2021), anormal Tyramine seviyelerinin, böceklerin fizyolojik aktivitelerini ciddi şekilde etkileyebileceği bildirilmiştir (Ma et. al., 2019).

Noradrenalinin fenolik analogu olan Oktopamin, ilk olarak ahtapotun arka tükürük bezlerinde Erspamer ve Boretti (1951) tarafından keşfedilmiştir (Erspamer and Boretti, 1951; Orchard, 1982; Kononenko et. al., 2009; Farooqui, 2012). Oktopamin'in sinir salgılayıcı uçlardan salındığı ve hemolenf dolaşımı (nörohormon) tarafından alındığı ve birçok fizyolojik süreci modüle etmek için nispeten uzak hedef organlara taşındığı belirtilmiştir. Eğer Oktopamin, sinapstaki bir sinir salgılayıcı nöronun uç terminallerinden sinaptik sonrası duyusal reseptör nöronunu doğrudan etkilemek için salgılandığında, bir nörotransmitter görevi gördüğü, uyarıcı veya inhibe edici bir sinaptik sonrası güçlenmeyi uyandırmak için, yani yeterli olmayan nörotransmitterle uyarılmış sinaptik sonrası güçlenmeyi değiştirmeye dahil olduğunda, o zaman bir nöromodülatör görevi gördüğü bildirilmiştir (Farooqui, 2007b).

Oktopamin'in, uyarılma seviyelerinin artırılmasında (Sinakevitch et al., 2011), uyarılarla artan besin maddesi tüketimi davranışında (Scheiner et al., 2006), yiyecek arama davranışının düzenlenmesinde (Aonuma and Watanabe, 2012), hırçınlıkta (Sinakevitch et al., 2011), hareketliliğin kontrolünde (Sinakevitch et al., 2011; Li et. al., 2016), böceği yüksek enerji ihtiyacı olan eylemlere hazırlamada (Schendzielorz et. al., 2015), yuva arkadaşını tanımada (Barron et. al., 2007; Duportets et. al., 2010; Sinakevitch et al., 2011; Dimić et. al., 2020), yürümede, çiftleşmede (Ali et al., 2012), yumurtlamada (Li et. al., 2016; Xu et. al., 2020), sokma davranışında (Molaei et. al., 2005; Farooqui and Farooqui, 2010; Ali et al., 2012), hafıza oluşumunda (Pflüger and Stevenson, 2005; Duportets et. al., 2010; Farooqui and Farooqui, 2010; Schendzielorz et. al., 2015; Blenau and Baumann, 2016; Wallberg et al., 2017), dilin (hortumun) uzatılmasında, corpora allata'dan juvenil hormon salınımında (Molaei et. al., 2005), kas sistemlerinde, endokrin dokularında (Bischof and Enan, 2004) ve öğrenmede (Bischof and Enan, 2004; Pflüger and Stevenson, 2005; Scheiner et. al., 2006; Schendzielorz et. al., 2015; Blenau and Baumann, 2016; Dimić et. al., 2020) rol aldığı bildirilmiştir. Tüm Oct α reseptörlerinin, iştah açıcı olfaktör öğrenme, üreme, sirkadiyen saat ve uyku modülasyonunda kilit rol oynadığı, Oct β reseptörlerinin, memeli β -adrenerjik reseptörleri ile benzerlikler gösterdiği ve yumurtlama, lokomotor aktivite ve beslenme dahil olmak üzere farklı fonksiyonları doğrudan kontrol edebildiği bildirilmiştir (Finetti et. al., 2021). Oct β 2-R'nin Varroa direncine dahil olan hafıza ve öğrenmeyle ilgili olduğu bildirilmiştir (Spötter et al., 2016). Böceklerde akustik, görsel, koku alma, dokunma, tat alma ve propriyoseptif girdiler dahil olmak üzere hemen hemen her duyu organının Oktopamin tarafından modüle edildiği belirtilmiştir (Arvan, 2006). Böcek beyninin tüm ana bölgelerinin (optik loblar, merkezi gövde ve mantar gövdeleri) Oktopamin içeren nöronlarla innerve edildiği (Hillier and Kavanagh, 2015), aynı zamanda Oktopamin'in AL ve subözofageal gangliyon gibi koku alma öğrenimi için önemli olan bölgeler dahil olmak üzere beyin boyunca uzandığı bildirilmiştir (Rein et. al., 2013). Bal arılarında SOG'daki VUM nöronlarının Oktopaminerjik olduğu ve bu nedenle davranışın Oktopaminerjik modülasyonunda rol oynayabileceği bildirilmiştir (Schröter et. al., 2007). Bunun yanında Oktopamin'in duyuusal algı modülasyonunda da rol aldığı (Sinakevitch et al., 2011) aynı zamanda feromon duyarlı Koku alma reseptörü nöronlarını (ORN) modüle ettiği bildirilmiştir (Zhukovskaya and Polyanovsky,

2017). VUM hücrelerinin Oktopamini AL'lerde yer alan tüm "glomerüller" de dahil olmak üzere beynin çeşitli nöropillerine saldıgı ve bu durumun bir çiçeğin kokusunu işleyen duyuşal yollar ile bir ödölün varlığı veya yokluğu arasında bir bağlantı kurduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla Oktopamin ve çiçek kokuları arasındaki bu bağlantının, bal arısının yiyecek araması sırasında gelecekteki kararlarını oluşturabileceğı belirtilmiştir (Petersen, 2017). Oktopamin'in aynı zamanda tarlacı arılarda tat alma tepkisini değıştirerek polen ve nektar için tercihlerini etkilediğı belirtilmiştir (Arenas et. al., 2021).

Oktopaminin davranışsal etkileri ile ilgili yalnızca bir nöronun VUMmx1 nöron'un davranışsal bir etkiyle (koku öğrenme sırasında ödöl işlevi) ilişkilendirildiğı ve MB'yi innerve ettiğı bildirilmiştir (Schröter et. al., 2007; Lee, 2008). VUMmx1'in anten loblarında kokuya duyarlı ve sakkaroz duyarlı yollar arasındaki etkileşime aracılık ettiğı bildirilmiştir. VUMmx1'in AL'ye Oktopamin salgıladığı (Grohmann et. al., 2003; Farooqui et. al., 2004) ve koku tepkisini ancak bu kokuya koşulsuz bir uyarın (sakkaroz gibi) olduğu sürece yanıt sağladığı belirtilmiştir (Farooqui et. al., 2004). Bal arılarında Oktopaminin koku alma şartlandırmasında sakkaroz ödölüne karşılık dil uzatma yanıtı vermesine aracılık ettiğı (Kaczer and Maldonado, 2009), yiyecek ödölünün böcek beyninde iştah açıcı anıların oluşumunu destekleyen Oktopamin salgılayan modölatör nöronları aktive edeceğı belirtilmiştir (Sinakevitch et al., 2011; McQuillan et al., 2012b).

Bunun yanında torasik-abdominal gangliyonlarda da Oktopamin nöronlarının olmasının bacak kası ve yumurta kanalındaki kasların modölasyonunda rol aldığını göstermektedir (Lee, 2008). Aynı zamanda GABA-erjik internöronlarının bir alt kümesinin, Oct α 1 reseptörlerini eksprese ettiğı ve bu nedenle Oktopamin modölasyonu için hedefler olduğu bildirilmiştir (Rein et. al., 2013).

Oktopamin'in hijyenik davranışta da rol aldığı bildirilmiştir (Barron et. al., 2007; Sinakevitch et al., 2011). Hijyenik davranış sergileyen bal arılarının, beynin protoserebral nöronlarının (küme-3 hücreleri) önemli ölçüde daha yüksek düzeyde Oktopamin immünoreaktivitesine sahip olduğu ve bu durumun da hastalıklı kuluçka kokularını tespit etme yeteneğı arasında bir bağlantı oluşturduğu bildirilmiştir (Goode et. al., 2006). Oktopamin'in hastalıklı veya parazitlenmiş

yavruların saptanmasına aracılık eden koku alma sistemlerini hassaslaştırarak ve/veya hijyenle ilgili motor görevleri yerine getirmeleri için arıların motivasyon durumunu değiştirerek hijyenik davranışta rol oynayabileceği belirtilmiştir (Masterman, 2000). Hastalıklı veya ölü yavruyu tanıyan hijyenik arıların Oktopamin gibi nöromodülatörlerin etkisiyle, hücreleri açtığı ve etkilenen larvaları veya pupaları koloniden çıkarttığı belirtilmiştir (Spivak et al., 2003; Morfin et al., 2019). Uygun bir koku uyarıcısı ile sunulduğunda yüksek hijyenik davranış gösteren işçi arıların beyinlerinde düşük hijyenik davranış gösteren işçi arılara göre daha yüksek miktarlarda salındığı (Oxley et al., 2010) ve hastalıklı yavruların kokularına duyarlılığın artmasını sağladığı bildirilmiştir (Balhareth et al., 2012).

Böceklere Oktopamin uygulamasının ise koku alma tepkilerinde değişiklik sağladığı bildirilmiştir (Zhukovskaya and Polyanovsky, 2017). Yapılan bir çalışmada düşük hijyenik davranış gösteren işçi arılara Oktopamin uygulamasının arılarda hastalıklı kuluçkalardaki kokulara karşı duyarlılıklarını artırdığı (Spivak et. al., 2003; Blenau and Baumann, 2016), buna karşın hijyenik davranış gösteren işçi arılara Oktopamin uygulamasının zaten bu arılarda hijyenik davranış yönünden maksimum seviyeye ulaşıldığı için etkisinin olmadığı vurgulanmıştır (Blenau and Baumann, 2016). Başka bir çalışmada ise Oktopamin'in, ne hijyenik ne de yiyecek arama davranışını doğrudan etkinleştirmede, ancak belirli çevresel ipuçlarına karşı artan duyarlılığın davranışsal bir durumunu indükleyebileceği bildirilmiştir (Fahrbach and Mesce, 2005). Oktopamin uygulamasının arılarda kuluçka feromonuna da duyarlılığı arttırdığı belirtilmiştir (Barron et. al., 2002).

Arı beyinde Oktopamin miktarının 2 ile 10 pmol/beyin arasında değiştiği bildirilirken (Blenau and Baumann, 2016) başka bir çalışmada ise Oktopamin'in bal arısı beyinde 900 pg/beyine varan bir konsantrasyonda bulunduğu belirtilmiştir (Schilcher et. al., 2021). Bal arısı beyinlerindeki nöromodülatör düzeylerinin beslenme ve populasyon düzeyi ile değişebileceği ve beyindeki Oktopamin seviyesinin mevsim, yaş ve genetik geçmişle ilişkili olarak farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Masterman, 2000). Yapılan bir çalışmada Oktopamin seviyelerinin, kolonilerde yüksek keşif aktivitesi seviyelerine karşılık gelen Haziran-Eylül aylarında en yüksek olduğu ve bu farklılıkların koloni beslenmesindeki, populasyon büyüklüğündeki veya kuluçka faaliyetindeki mevsimsel değişiklikleri

yansıtabildiği bildirilmiştir (Harris and Woodring, 1992). Diğer yandan bal arısı MB iç nöronlarındaki (Kenyon Hücreleri) Oktopamin genlerinin ifade seviyelerinin de arının hayatı boyunca değiştiği vurgulanmıştır (McQuillan et. al., 2012b). Yapılan çalışmada 6 ve 15 günlük polen toplayıcı arıların antenlerindeki Oa1 ekspresyonu aynı yaştaki bakıcılara göre daha düşük bulunmasına rağmen (McQuillan et. al., 2012a) başka bir çalışmada yüksek ve düşük polen toplayan tarlacı arıların Oktopamin düzeyleri arasında bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (Arenas et. al., 2021). Daha yaşlı tarlacı arıların daha genç tarlacı arılara göre daha yüksek Oct α_1 -R ve Oct β_1 -R ifadesine sahip olduğu belirtilmektedir (Peng et. al., 2021). Yine tarlacı arıların bakıcı arılara göre yüksek düzeyde Oktopamin içerdiği (Wagener-Hulme et. al., 1999; Schulz et. al., 2002; Schulz et. al., 2003; Barron ve Robinson, 2005; Lehman et. al., 2006; Cook, 2019; Arenas et al., 2021), tarlacı arıların ilk yiyecek arama faaliyetinde yüksek olan Oktopamin seviyesinin sonraki zamanlarda sabit kaldığı (Barron and Robinson, 2005) ve Oct α_1 -R reseptörünün gen ekspresyonunun yukarı regüle edildiği bildirilmiştir (Arenas et al., 2021). Bakıcı arılara Oktopamin uygulamasının onları erken yaşta yiyecek aramaya teşvik ettiği yani ilk tarlacı arı yaşının düştüğü (Fahrbach and Mesce, 2005; Reim and Scheiner, 2014; Lehman et. al., 2006; Peng et. al., 2021), yine Oktopamin uygulanan tarlacı arıların uygulanmayanlara göre daha fazla su topladığı bildirilmektedir (Arenas et. al., 2021). Yapılan çalışmada, AL'lerdeki Oktopamin seviyesinin yiyecek aramanın başlamasından hemen sonra yükseldiği, ancak yiyecek arama öncesi oryantasyon uçuş aktivitesinde, yiyecek aramadaki günlük duraklamalarda veya farklı miktarlarda yiyecek arama deneyimlerinde Oktopamin seviyelerinde değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Schulz et. al., 2003; Arenas et. al., 2021). Bunun yanında fanlama (havalandırma) yapan işçi arıların, fanlama yapmayanlara göre daha düşük Oktopamin seviyesine sahip olduğu bildirilmiştir (Cook, 2019). Bunun dışında Oktopaminin böcek uçuş kasında lipid ve karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde rol aldığı (Sinakevitch et al., 2011) ve Oktopamin uygulanan arılarda uçuş artışı görüldüğü belirtilmiştir (Fussnecker et al., 2006).

Böceklerde en yüksek Oktopamin yoğunluğu MB'lerde (Farooqui, 2007b; Lee, 2008) ve optik loblarda gözlenmiştir (Stern, 1999; Farooqui, 2007b; Lee, 2008), ancak SOG, torasik gangliyonlarda, AL'lerde ve beyin geri kalanında daha düşük seviyelerde Oktopamin gözlenmiştir. MB'lerde ve optik loblarda yüksek

seviyede Oktopamin gözlenmesinin koku alma ve görsel işleme ile ilgili olabileceği, MB'lerin çağrışımsal koku alma anılarının oluşumunda ve hatırlanmasında kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir (McQuillan et al., 2012b).

Wallberg et. al. (2017), Doğu Afrika'daki dağlık arazide ve ovada bulunan bal arısı populasyonlarında yaptığı çalışmada iki populasyon arasındaki genetik farklılaşmanın çok az olduğunu belirlemişler ve kromozom 7 ve 9'un içinde iki lokus tespit etmişlerdir; kromozom 7 üzerindeki haplotip, bal arısı genomundaki tüm Oktopamin reseptörü genlerini barındırdığı bildirilmiştir. Oktopamin reseptörünün yayla habitatlarına uyum için güçlü aday olduğunu, Kromozom 9 bölgesinin ise, birkaç kalsiyum/kalmodulin bağımlı serin protein kinaz enziminin (CASK; LOC411347; BLAST ile tanımlanan izoformları) izoformunu kodlamak için genler içerdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar CASK'ın, hafıza oluşumu için temel bir yol olan ikinci bir Ca^{2+} / kalmodulin kinaz, CaMKII, ile etkileşime girdiğini bildirmişlerdir. Tüm bu çalışmaların yanında Oktopamin ve Tyramine'nin zıt etkilere de sahip olabileceği, yani her iki aminin antagonistik davranabileceği vurgulanmıştır (Schilcher et al., 2021).

Özel omurgasız Tyramine reseptörleri ise ilk olarak 1990'da önerilmiştir (Arakawa et. al., 1990; Saudou et. al., 1990; Gainetdinov et. al., 2018). Tyramine'nin biyosentez sırasında Oktopamin'in öncüsü olabileceğinden dolayı, Tyramine'nin Oktopamin içeren tüm hücrelerde olabileceği (Scheiner et. al., 2006; Blenau and Baumann, 2016) ve böcek sinir sisteminde bağımsız bir rol alabileceği belirtilmiştir (Petersen, 2017). Tyramine immünoreaktif nöronlardan oluşan kümelerin, optik loblarda, AL'lerde, lateral protoserebrumda, MB'de (kaliks ve gama loblarında), tritoserebrumda ve SOG'da bulunduğu belirtilmiştir (Sinakevitch et. al., 2017). Tyramine reseptörünü kodlayan mRNA'nın bal arısının beyni ile SOG'unda yaygın bir dağılımının olduğu ve Tyramine reseptörünün duyuşal sinyal işlemede olduğu kadar üst düzey beyin fonksiyonlarında da rol oynayabileceği bildirilmiştir (Blenau et. al., 2000).

Bal arısında bulunan Tyramine reseptör proteinleri aktivasyonu, fizyolojiyi ve davranışı farklı şekilde etkileyen çok farklı hücre içi ikinci haberci basamaklarını açabilmektedir (Schilcher et. al., 2021). Tyramine'nin böceklerde öğrenmede

(Mustard et. al., 2005; Guo et. al., 2018; Braza et. al., 2019; Wang et. al., 2020), hafızada (Guo et. al., 2018; Braza et. al., 2019; Wang et. al., 2020), davranışta, enerji metabolizmasında (Guo et. al., 2018; Braza et. al., 2019), sakkaroz tepkisinde (Guo et. al., 2018; Thamm et. al., 2021), üreme fizyolojisinde (Lange, 2009; Guo et. al., 2018), koku almada (Lange, 2009; Ishida and Ozaki, 2011; Gainetdinov et. al., 2018), kas kasılmasında (Enan, 2005; Ishida and Ozaki, 2011), böcek hareketinde (Lange, 2009; Gainetdinov et. al., 2018; Braza et. al., 2019), feromon tepkisinde (Braza et. al., 2019), beyin gelişiminde (Ji et. al., 2016), uçuş davranışında, yiyecek aramada ve tat algılamada etkili olduğu bildirilmiştir (Gainetdinov et. al., 2018). Tyramine'nin genel kokuya duyarlı ORN'leri etkilediği vurgulanmıştır (Zhukovskaya and Polyanovsky, 2017). Bal arılarında Tyramine'nin iştah açıcı ve iştah açıcı olmayan koku deneyimleriyle ilgili olarak iştah düzenlemesinde yer aldığı (Brigaud et. al., 2009) ve antenin uyarılmasına karşı tat uyarılarını kullanarak davranışsal tepkileri (Brigaud et. al., 2009; Lange, 2009) ve şeker hassasiyetini artırdığı (Behrends and Scheiner, 2012), işçi arılarda yumurtalık gelişimini tetikleyebildiği belirtilmiştir (Lange, 2009). Aynı zamanda Tyramine'nin tat alma uyarılarını değerlendirmede önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Thamm et. al., 2017). TYR1'in yiyecek arama ve üreme davranışlarının yanı sıra koku alma öğrenmesine ilişkin genetik çalışmalarda yer aldığı bildirilmiştir (Sinakevitch et. al., 2017). Yapılan çalışmada TYR1 mRNA'nın, bal arısı beynindeki çoğu nöropili besleyen nöronların somatasında tespit edilmiş ve bu nedenle, Tyramine'nin duyuşsal tepkiyi düzenleme ve öğrenme ile hafıza süreçlerinde yer aldığı ayrıca gökyüzü pusulası bilgisini düzenlemede de rol oynayabileceği belirlenmiştir (Thamm et. al., 2017). TYR1'i kodlayan mRNA'nın yetişkin işçi bal arılarının beyinde bol miktarda eksprese edildiği, MB'ler, optik loblar ve AL'ler ile ilişkili tanımlanmış hücre kümeleri dahil olmak üzere birçok beyin nöronunda gözlemlendiği, MB içsel nöronlarının üç ana bölümünde, yani dış kompakt, kompakt olmayan ve iç kompakt hücrelerde yoğun bulunduğu bildirilmiştir (Blenau and Baumann, 2016).

Tyramine'nin çeşitli epitelyal taşınım modülasyonu ve iskelet / visseral kasın nöromüsküler fizyolojisi dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonlarda rol aldığı (Lange, 2009), motor işlevleri modüle ettiği ve Tyramine uygulanan arılarda uçuş davranışında azalma görüldüğü bildirilmiştir (Fussnecker et al., 2006). Bunun

yanında Tyramine'nin ana arısız durumdaki yetişkin işçilerde oosit boyutunu arttırdığı, ayrıca TYR1 geninin işçi larva aşaması sırasında yumurtalık boyutunu etkileyebileceği yumurtalık sayısını arttırdığı ve yetişkin evrede yumurtalık olgunlaşmasını hızlandırdığı belirtilmiştir (Wang et. al., 2020).

Tyramine'nin bal arısı beyinde 50 ile 65 pg/beyin arasında bulunduğu bildirilmiştir (Schilcher et. al., 2021). Başka bir çalışmada ise bal arısı beyinde Tyramine için 0,3-2 pmol/beyin miktarları ölçülmüştür (Blenau and Baumann, 2016). Bal arılarında TYR1 transkript seviyelerinde yaşa bağlı artışlar olduğu (Mustard et. al., 2005) ve gözden çıkan arıların tarlacı arı görevine geçene kadar TYR1 ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir (Scheiner et. al., 2006). TYR1 ekspresyonunun, 15 günlük polen toplayıcılarda aynı yaştaki bakıcı arılara göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (McQuillan et. al., 2012a). Yine TYR1'in polen toplayıcı arıların antenlerinde bakıcı arılara göre daha fazla ifade edildiği bildirilmiştir (Finetti et. al., 2021). Tarmacı arıların bakıcı arılara kıyasla yüksek düzeyde Tyramine içerdiği (Cook, 2019; Arenas et al., 2021; Thamm et. al., 2021) ve TYR2 reseptörlerinin gen ekspresyonunun yukarı regüle edildiği bildirilmiştir (Arenas et al., 2021). Başka bir çalışmada ise bakıcı arıların, tarlacılara kıyasla merkezi beyinlerinde önemli ölçüde daha yüksek TYR2 mRNA seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir (Reim et. al., 2017). Polen toplayıcı arıların, nektar toplayıcı arılara kıyasla beyinlerinde daha yüksek TYR1 mRNA ekspresyonu sergilediği bildirilmiştir (Arenas et. al., 2021). Nektar toplayanların sakkaroz duyarlılığının Tyramine verilerek arttırılabileceği ve TYR1 mRNA'nın, polen ve nektar toplayıcılarının çene gangliyonlarında farklı şekilde ifade edildiği belirlenmiştir (nektar ve polen toplayıcılar tat alma tepkilerinde farklılıklar gösterirler) (Thamm et. al., 2017). Daha yaşlı tarlacı arıların, daha genç tarlacı arılara göre daha düşük TYR1 seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Peng et. al., 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Proje materyalini ETAE Arıcılık Araştırma Merkezi'nde bulunan 102 adet damızlık Efe Arısı kolonisi oluşturmuştur. 102 adet damızlık Efe Arısı kolonisinde en yüksek hijyenik davranışa sahip 5 adet koloniden (her koloniden altışar adet arı örneği olmak üzere toplam 30 adet arı örneği) ve en düşük hijyenik davranışa sahip 5 adet koloniden (her koloniden altışar adet arı örneği olmak üzere toplam 30 adet arı örneği) arılar toplanarak analizler yapılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Damızlık kolonilerin oluşturulması ve hijyenik davranış testlerinin yapılması

- **2020 yılına ait damızlık kolonilerin koloni indeksinin hesaplaması**

Kışlamayı tamamlayan 2020 yılına ait damızlık kovanlardan arılı çerçeve sayısı-pupalı çerçeve sayısı-larvalı-yumurtalı çerçeve sayısı-kuluçkalı çerçeve sayısı-hırçınlık ve kışlama yeteneği ölçüm sonuçlarına göre 45 adet koloninin koloni indeksi değerleri hesaplanmış (Çizelge 4.1) ve 2021 dönemi için ana arı üretilecek olan koloniler belirlenmiştir.

Koloni indeksinin hesaplanmasında şu yöntemler kullanılmıştır:

- **Ortalama arılı çerçeve sayısı:** Kovanlarda bulunan peteklerin & çerçevelerin üzerinin tamamen ergin arıyla kaplı olanları (3000 arı/çerçeve hesabıyla) (Doğaroğlu, 1981; Yücel ve Kösoğlu, 2011) 21 günde bir olacak şekilde 3 kere sayılarak ortalaması hesaplanmıştır.

- **Ortalama yavrulu çerçeve (pupalı, larvalı-yumurtalı, kuluçkalı) sayısı:** Açık ve kapalı yavruların bulunduğu petekler & çerçeveler (Karaca ve Özmen, 2012) 21 günde bir olacak şekilde 3 kere sayılarak ortalaması hesaplanmıştır.

- **Ortalama hırçınlık (savunma davranışı):** Kolonilerin hırçınlık davranışı yaz ve sonbahar mevsiminde olmak üzere 2 defa ölçümü yapıp ortalaması alınmıştır. Buna göre kovan örtü tahtası açıldığında koloninin davranışı gözlenerek 4 grup altında değerlendirilmiştir (Çizelge 3.1) (Guzmán-Novoa et al., 2003).

Çizelge 3.1. Kolonilerin hırçınlık davranışında kullanılan puanlama sistemi.

Davranış	Puan
Saldırgan (hırçın)	4
İdare edilebilir	3
Sakin	2
Çok sakın	1

- **Kışlama yeteneği:** Kış girişi arılı çerçeve sayıları kasım ayı başında ölçülmüştür ve kıştan çıkan arılı çerçeve sayıları da mart başında ölçülmüştür. “Kışlama yeteneği (%)=(Kış çıkışı arılı çerçeve sayısı)/(Kış girişi arılı çerçeve sayısı) x 100” formülünden yararlanılarak belirlenmiştir (Akyol vd., 2005).

- **Karakter indeksinin hesaplanması:** Her karakterin ölçülen en yüksek değeri 5’e bölünerek birim değer elde edilmiştir. Daha sonra bu karaktere ait ortalama değerler birim değere bölünmüş ve karakter indeksi hesaplanmıştır (Rinderer, 1986).

- **Koloni indeksinin hesaplanması:** Her koloninin indeks değerleri toplanarak hırçınlık değerinden çıkartılmıştır (Rinderer, 1986).

• **2021 yılı damızlık ana arılarının üretimi ve damızlık kolonilerin oluşturulması:**

Koloni indeksleri belirlenmiş olan Çizelge 4.1’de gösterilen “2. - 4. - 6. - 8. - 10. - 12. - 14. - 16. - 18. - 20. - 22. - 24. - 26. - 28. - 30. - 32. - 34. - 36. - 38. - 40. - 42. - 44.” kolonilerden larva transferi ile ana arılar üretilmiştir. Ana arı üretimleri şu şekilde yapılmıştır:

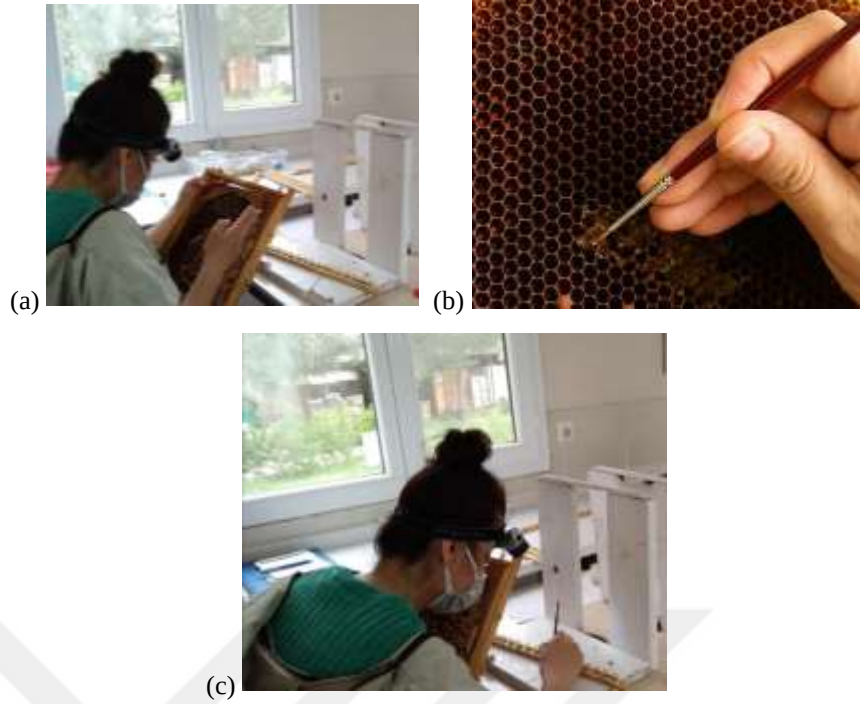
- **Larva transferinde kullanılacak yüksüklerin ve çerçevelerin hazırlanması:** Larva transferi yapılacak yüksükler saf balmumunun eritilmesiyle hazırlanmıştır. Yüksük kalıbı önce su içerisine daha sonra da eritilen balmumu

içerisine ve tekrar su içerisine daldırılarak 10-11mm derinliğinde ve 9-10mm çapında yüksükler elde edilmiştir. Bu yüksükler çıta üzerine erimiş balmumuyla yapıştırılmıştır (Şekil 3.1) (Laidlaw, 1979).



Şekil 3.1. Larva transferi için hazırlanan yüksükler.

- **Ana arı üretimi:** Larva transferi yapılacak odanın sıcaklığı larvanın üşümemesi için 25-30 °C ve larvanın kurumaması için odanın nispi neminin %50-60 olması sağlanmıştır. Larva transferi için belirlenmiş damızlık kolonilere larva haline geçen 1 günlük işçi arı larvalarını içeren petekler transfer için kullanılmıştır. Larva transferi için çıtalara hazırlanan yüksüklerin içine 1/1 oranında suyla karıştırılmış arı sütünden bir damla bırakıldıktan sonra petekteki larva, arı sütüyle nemlendirilmiş olan transfer kaşığıyla & fırçasıyla sırt tarafından alınmış ve yüksüğe bırakılarak yaş aşılama yapılmıştır. Yaş aşılama sayesinde larva zedelenmeden ve kurumadan transfer edilmiştir. Yüksüklere yapılan larva transfer işlemi bittikten sonra transfer çerçevesi başlatıcı koloniye verilmiştir (Laidlaw, 1979). 14.04.2021 - 28.04.2021 tarihleri arasında damızlık ana arı üretimi için yapılan larva transferinden toplam 296 adet canlı ana arı üretilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Larva transferinin yapılması (a, b, c).

- **Başlatıcı kolonilerin hazırlanması:** Başlatıcı olarak oluşturulacak koloniler güçlü ve genç işçi arıların bulunduğu kolonilerden seçilmiştir. Seçilen kolonilerin ana arısı 3 gün önceden alınarak, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı (2012)'nda da belirtildiği üzere ana arısız bırakılmış, arı sütü salgılayan genç işçi arıların yoğun olmasına özen gösterilmiş, bal ve polen stoğu yeterli ve kovan tek katlı olacak şekilde düzenlenmiştir. Başlatıcı kolonilere dışarıdan ana arı girişinin önlenmesi için kolonilerin giriş deliklerine ana arı ızgarası takılmıştır. Kolonilerde sürekli olarak yalancılaşma durumu ve petek gözlerindeki yüksük kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca koloniler her gün şurupla beslenmiş ve genç işçi arı ve polenli (petek gözündeki arı ekmekli) çerçeve varlığı kontrol edilmiştir, gerektiğinde takviyeler yapılmıştır. Larva transferiyle üretilen ana arı yüksüklerinin bulunduğu çerçeve başlatıcı koloniye verilerek 1 gün süreyle bu kolonide tutulmuştur. Şekil 3.3 başlatıcı kolonilerde bakıcı işçi arılar tarafından kabul edilerek bakımları yapılmış yüksükleri göstermektedir. Daha sonra yüksüklerin bulunduğu çerçeveler bitirici kolonilere aktarılmıştır.



Şekil 3.3. Başlatıcı kolonilerde bakıcı işçi arılar tarafından kabul edilerek bakımı yapılmış yüksükler (a, b).

- **Bitirici kolonilerin hazırlanması:** Başlatıcı koloniler tarafından kabul edilip bakımı yapılmış olan transfer çerçevelerinin etrafı işçi arıların geçebileceği, ancak ana arıların geçemeyeceği kadar açıklıkta olan kafesler ile kapatılarak T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı (2012)'nda belirtildiği üzere larvaların beslenmesi ve yüksüklerinin kapatılması için düzenlenen ana arılı, açık yavrulu gözlerin (larva) bulunduğu petekleri ihtiva eden, genç işçi arı popülasyonunun yoğun olduğu, bal ve polen stoku yeterli olan bitirici kolonilerine verilmiştir. Bitirici koloniler her gün şurupla beslenmiş ve polenli (petek gözündeki arı ekmekli) çerçeve varlığı kontrol edilmiştir, gerektiğinde takviyeler yapılmıştır. Larva transferinin yapıldığı çerçeveler bitirici kolonilerde 9 gün boyunca tutulmuş ve daha sonrasında yüksükler çiftleştirme kolonilerine verilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Bitirici koloniye aktarılan çerçeve.

- **Çiftleştirme kolonilerinin/kutularının hazırlanması:** Çiftleştirme kutuları larva transferinden 9 gün sonra hazırlanmaya başlanmış ve bu koloniler içerisine genç (bakıcı) işçi arı, iki çerçeveli petek ve kek koyulmuştur. Yazıcı (2009)'nın da belirttiği üzere kolonilere verilen kek tarlacı arıların polen toplamasını teşvik ederek kolonideki genç işçi arıların daha fazla arı sütü salgılamasını ve ana arının daha iyi beslenmesini sağlamaktadır.

Daha sonra erkek arılar imha edilmiş ve hazırlanan çiftleştirme kutularına ana arı yüksükleri koyularak kutuların kapakları kapatılmış ve karanlık odada 48 saat tutulmuştur (Şekil 3.5). 150 adet çiftleştirme kutusu hazırlanmış ve kutular 01.05.2021 tarihinde Bozcaada'da bulunan ETAE arılığına (Efe Arısının koruma sürüsü olarak tutulduğu alan) götürülerek giriş kapakları açılmış 26.05.2021 tarihine kadar burada tutularak ana arıların çiftleşmesi sağlanmıştır. Bu şekilde damızlık ana arılar üretilmiştir (Şekil 3.6).





Şekil 3.5. Çiftleştirme kolonilerinin / kutularının hazırlanması (a, b, c, ç, d, e, f, g, g).





(c)



(ç)



(d)

Şekil 3.6. Kolonilerin Bozcaada'ya götürülmesi ve kontrollerinin yapılması (a, b, c, ç, d).

- **Üretim kovanlarının hazırlanması**: Üretilen damızlık ana arılar 27.05.2021 tarihinde İzmir'e getirilerek Langstroth tipi kovanlardan oluşan üretim kovanlarına verilmiş ve 2021 yılının sürüleri oluşturulmuştur. 2021 dönemi için 102 adet damızlık koloni oluşturulmuştur (Şekil 3.7).



(a)



(b)

Şekil 3.7. ETAE arılığında (İzmir) bulunan çiftleştirme kutuları (a) ve damızlık koloniler (b).

- **Kolonilerin bakımı ve beslenmesi:** Kolonilere geç sonbaharda ve erken ilkbaharda 1:2 (su:şeker) oranında şeker şurubu ile besleme yapılmış ve diğer dönemlerde ise 1:1 şeker şurubu ile besleme yapılmıştır. Koloniler sürekli gözetim altında olmuş hastalık ve zararlı durumu gözlenmiştir. Varroa zararlısına karşı düzenli olarak mücadele yapılmıştır.

- **Flora takibi:** Damızlık koloniler, Uşak / Banaz - Büyükturak Köyü'ne götürülerek 30.07.2021 tarihine kadar flora takibi için bulundurulmuştur ve kolonilerin kontrollerine devam edilmiştir (Şekil 3.8). 30.07.2021 tarihinden sonra ise ETAE (İzmir) arazisine getirilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.8. Uşak / Banaz - Büyükturak Köyü'nde bulunan damızlık koloniler (a, b, c, ç, d).



Şekil 3.9. Damızlık kolonilerin Uşak'tan İzmir'e nakledilmesi (a, b, c, d).

- **Hijyenik davranış testlerinin yapılması:**

Kovanlar İzmir'e geldikten sonra hijyenik davranış testlerine başlanılmıştır. Büchler et al., (2013) tarafından belirtilen pin-killed yöntemine göre uyarlanmış hijyenik davranış testleri yapılmıştır. Buna göre her kovanda bulunan bir adet çerçevede kapalı yavrulu alan belirlenmiş ve belirlenen bu alandaki 100 adet kapalı yavrulu (pupalı) göz iğne ile delinmiş ve 24. saatte bu gözlerin temizlenme durumuna bakılarak ortalama alınmıştır. Toplamda 3 kez yapılan hijyenik davranış testinde en yüksek hijyenik davranışa sahip ($\geq 95\%$ (De Guzman et al., 2002)) olan 5 koloni ve en düşük hijyenik davranışa sahip olan 5 koloni belirlenmiştir (Şekil 3.10, 3.11, 3.12).

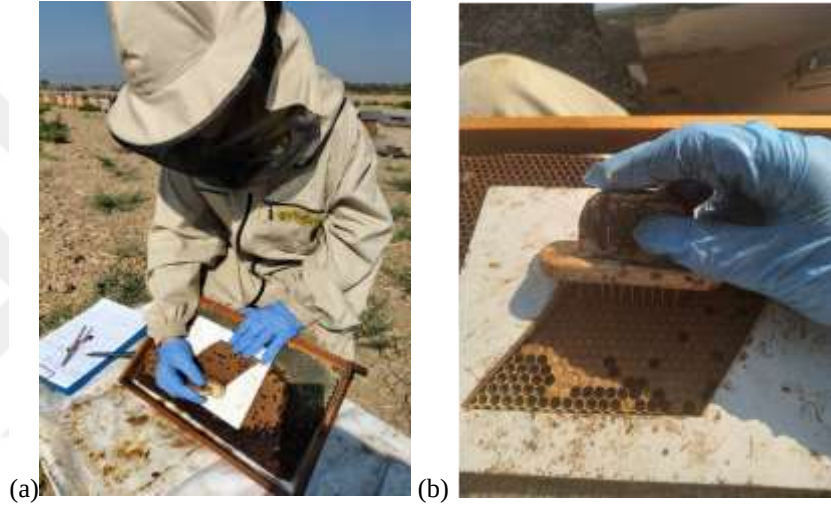
Hijyenik davranış yüzdesi (Temizleme oranı) şu şekilde hesaplanmıştır (Palacio et al., 2000):

$$\text{Temizleme Oranı (\%)} = [(a-b)/a] \times 100$$

a: Uygulama öncesi uygulama alanındaki kapalı pupa sayısı

b: Uygulamadan 24 saat sonra temizlenmeyen kapalı pupa sayısı

Her koloniden altışar adet arı örneği olmak üzere toplamda 60 adet arı örneği alınmıştır (Şekil 3.13). Kim et al. (2019) hijyenik davranışın genellikle 15-17 günlük yetişkin işçi arılar tarafından gerçekleştirildiğini bildirmiştir. Bu bakımdan Boutin et al. (2015)'ın da belirttiği gibi işçi bal arısı numuneleri hijyenik testi takip eden gün alınmış ve sadece hijyenik testin yapıldığı kuluçka çerçevesinde bulunan arıların numunesinin alınması sağlanmıştır. Örnekler tüplere toplanarak -80 °C'de muhafaza edilene kadar kolonilerin bulunduğu arazide sıvı azot tankı içerisine koyulmuş ve arazide işlerin bitmesinin ardından hemen ETAE - Arıcılık Araştırma Merkezi'nde bulunan -80 °C dolabına götürülmüştür (Şekil 3.14, 3.15).





(c)



(ç)

Şekil 3.10. Damızlık kolonilerde pin-killed yöntemine göre hijyenik davranış testlerinin yapılması (a, b, c, ç).



(a)

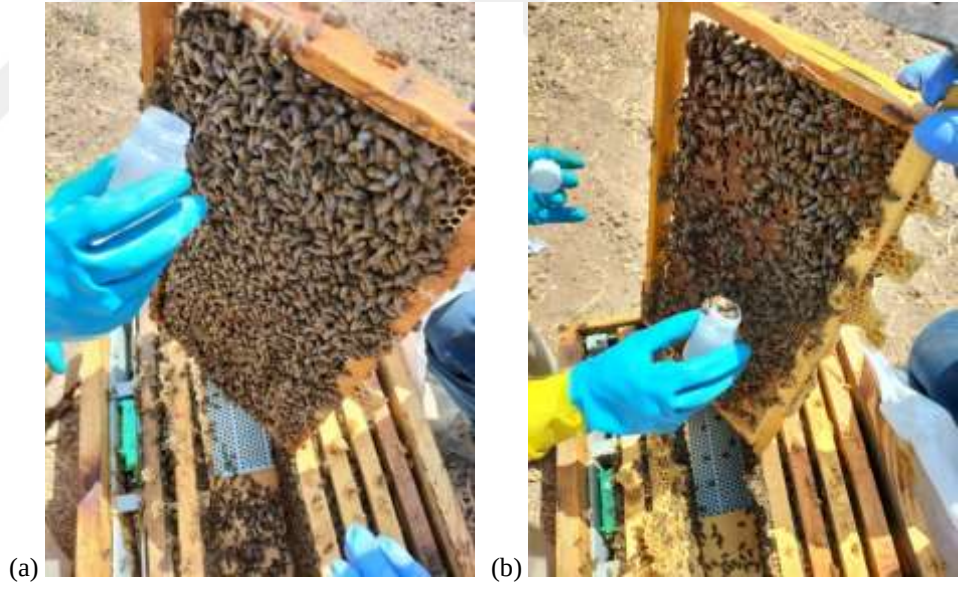


(b)

Şekil 3.11. 24. saat yüksek hijyenik davranış gösteren damızlık koloni (a) ve 24. saat düşük hijyenik davranış gösteren damızlık koloni (b).



Şekil 3.12. 24. saat yüksek hijyenik davranış gösteren damızlık koloni.



Şekil 3.13. Arı numunelerinin toplanması (a, b).



Şekil 3.14. Toplanan arı numunelerinin sıvı azot tankına koyulması (a, b, c, d).



Şekil 3.15. Arı numunelerinin sıvı azot tankından alınarak -80 °C dolabına yerleştirilmesi.

- **Hijyenik test 1. ölçüm:** 1. ölçümler 10-11.08.2021 tarihinde yapılmıştır. 10.08.2021 tarihinde pin-killed yapılmış olup 24. saat olan 11.08.2021 tarihinde de temizleme oranları ölçülerek hesaplanmıştır (Çizelge 4.2, 4.3).

- **Hijyenik test 2. ölçüm:** 2. ölçümler 31.08.2021-01.09.2021 tarihinde yapılmıştır. 31.08.2021 tarihinde pin-killed yapılmış olup 24. saat olan 01.09.2021 tarihinde de temizleme oranları ölçülerek hesaplanmıştır (Çizelge 4.4, 4.5).

- **Hijyenik test 3. ölçüm:** 3. ölçümler 21.09.2021-22.09.2021 tarihinde yapılmıştır. 21.09.2021 tarihinde pin-killed yapılmış olup 24. saat olan 22.09.2021 tarihinde de temizleme oranları ölçülerek hesaplanmıştır (Çizelge 4.6, 4.7).

3.2.2 Genetik analizler

Proje kapsamında RNA İzolasyonu, cDNA Sentezi ve PCR analizleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde, SNP analizleri ise Eskişehir'de özel bir laboratuvar da yapılmıştır.

Yüksek hijyenik davranış gösteren (5 kovan) ve düşük hijyenik davranış gösteren (5 kovan) kolonilerin her birinden altışar adet işçi arı örneği alınarak (toplamda 60 adet işçi arı örneği) analizlere başlanılmıştır. Bir kovan için alınan 6 adet işçi arı örneği o kovan için SNP belirlemede tek örnek olarak kullanılmıştır.

Alınan işçi arılar sıvı azot içerisinde dondurularak kriyo tüplere koyulmuştur. Tüm örnekler RNA izolasyonu aşamasına kadar -80 °C'de saklanmıştır. RNA izolasyonu ticari kit (TRIzol™ Reagent, Thermo Fisher Scientific, 15596026) ile firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. İzole edilen total RNA'lar kalite ve miktar açısından değerlendirilmek üzere hem Nanodrop spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific) cihazı ile hem de Qubit RNA Analiz Kiti kullanılarak Qubit 2.0 Florometre (Invitrogen) cihazıyla ölçülmüştür. RNA/DNA oranı 1,8 ve üzeri olanlar çalışmada kullanılmıştır.

• RNA izolasyonu:

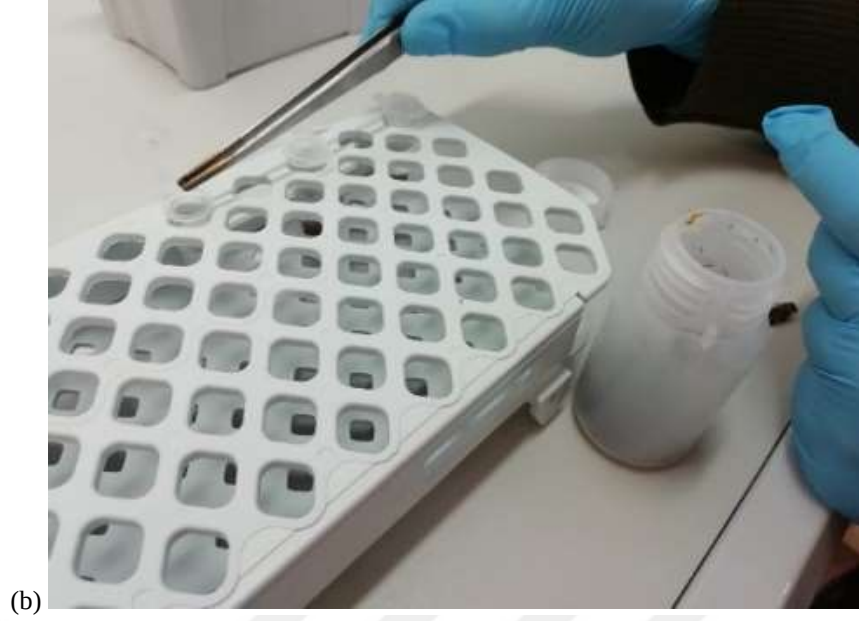
- İşçi arı kafaları RNaz içermeyen 2 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmış (Şekil 3.16, 3.17). Her bir tüp bir koloniyi teslim etmiş ve her bir tüpün içine 6 adet arı kafası koyulmuş üzerlerine 60mg zirkonyum bilye 0,5 ve 1,5mm eklenmiş (Şekil 3.18) ve homojenizatörde parçalanmıştır.



Şekil 3.16. Çalışma alanının hazırlanması.

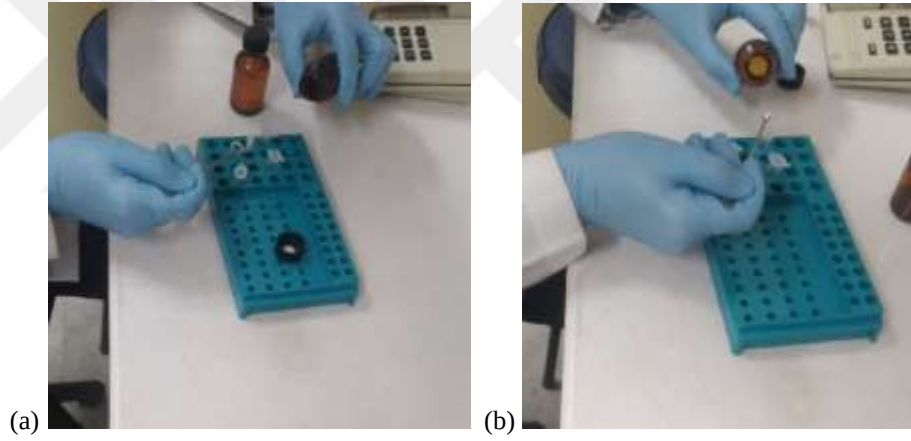


(a)



(b)

Şekil 3.17. İşçi arı kafalarının eppendorf tüplerine koyulması (a, b).

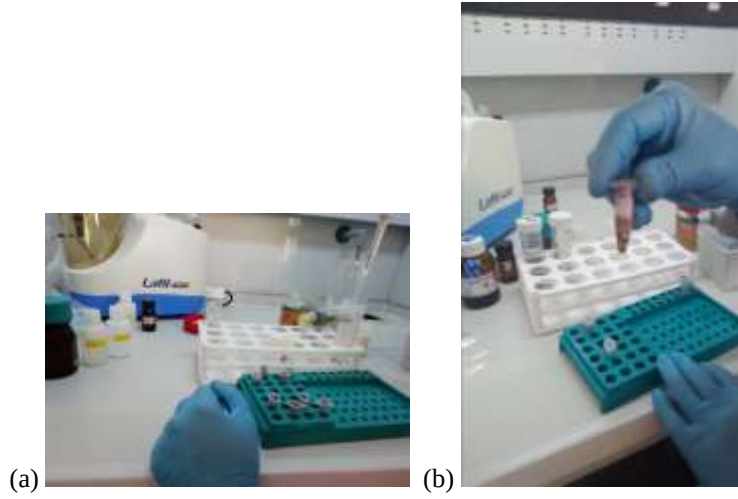


(a)

(b)

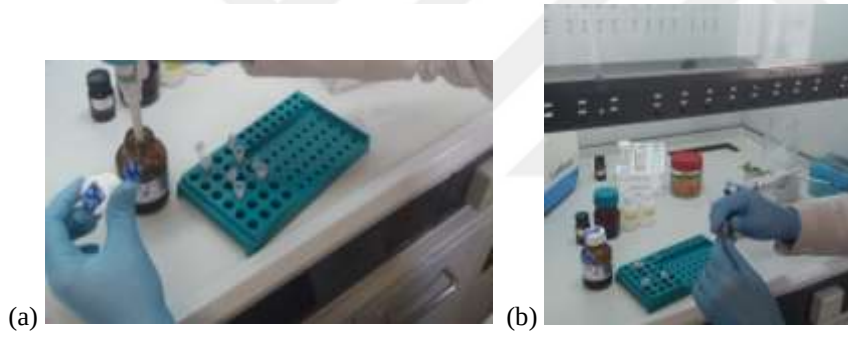
Şekil 3.18. Eppendorf tüplerin içine zirkonyum bilye 0,5 ve 1,5mm eklenmesi (a, b).

- Üzerine 200 μ l PBS ($\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ free), 20 μ l Proteinaz K (20mg/ml) ve 1000 μ l RNA extraction buffer (10 μ l 14.3 M beta-merkaptoetanol içeren) eklenmiş ve 3 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir (Şekil 3.19).



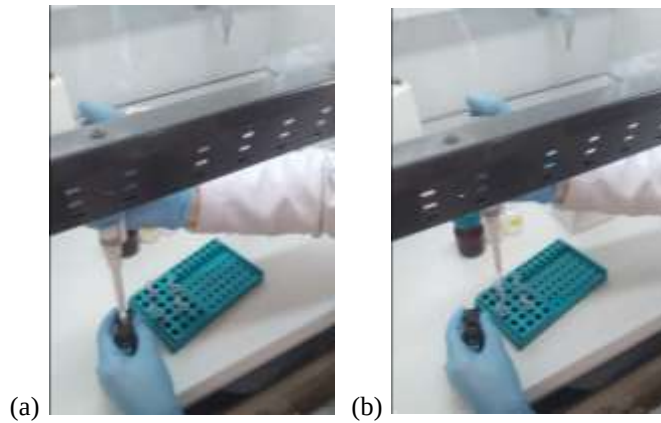
Şekil 3.19 Üzerine PBS, Proteinaz K ve RNA extraction buffer eklenmiş örnekler (a, b).

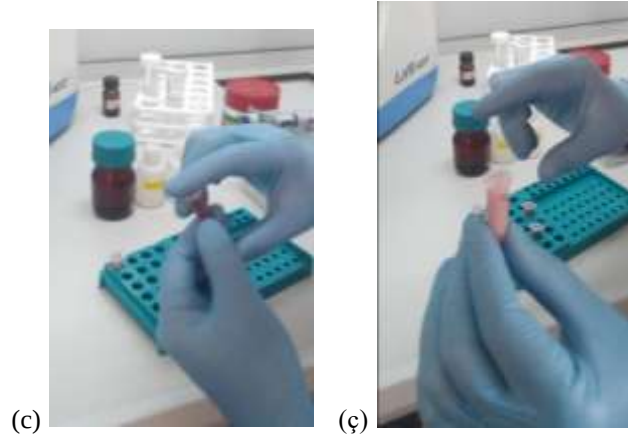
- Karışımın üzerine 500µl Trizol eklenmiş, iyice vortekslenmiş ve 3dk. daha oda sıcaklığında inkübe edilmiştir (Şekil 3.20).



Şekil 3.20 Karışımın üzerine Trizol eklenmesi (a, b).

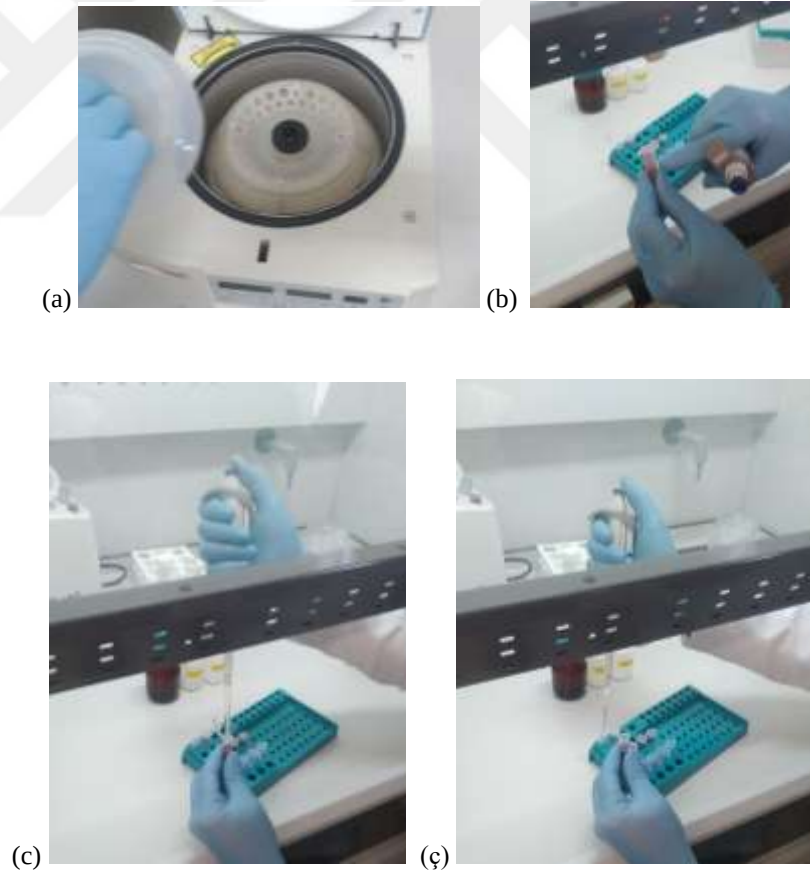
Karışımın üzerine 200 µl Kloroform-Isoamilalkol (49:1) eklenmiş, alt-üst ederek karıştırılmış ve 2 dk. daha oda sıcaklığında bekletilmiştir (Şekil 3.21).





Şekil 3.21. Karışımın üzerine Kloroform-Isoamilalkol (49:1) eklenmesi ve alt-üst ederek karıştırılması (a, b, c, ç).

- Daha sonra karışım 4 °C’de 12000 x g’de 15 dk. santrifüj edilmiş ve en üstte bulunan sıvı fazdaki süpernatant yeni bir tüpe aktarılmıştır (Şekil 3.22).



Şekil 3.22. Karışımın santrifüj edilmesi ve en üstte bulunan sıvı fazdaki süpernatantın yeni bir tüpe aktarılması (a, b, c, ç).

- Üzerine 1,25 kat etanol (%96-100) eklenmiş ve pipetlenerek karıştırılmıştır (Şekil 3.23).

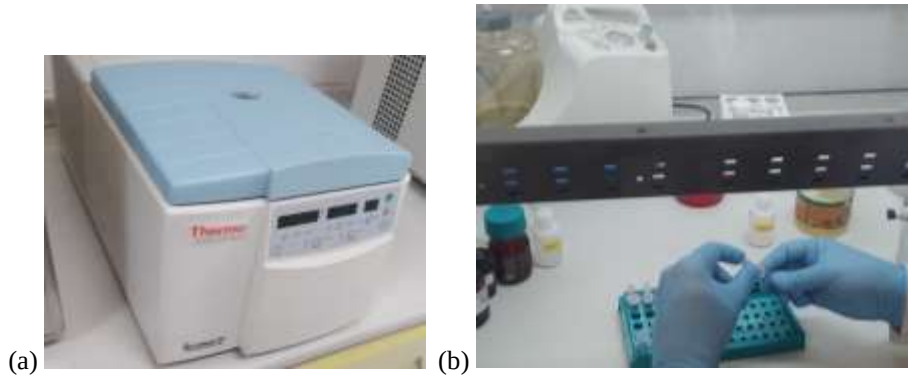


Şekil 3.23. Karışıma etanol eklenip pipetlenerek karıştırılması.

- 700 μ l karışım (lizat) kolona transfer edilmiş (Şekil 3.24) ve oda sıcaklığında 12000 x g de 20 sn. santrifüj yapılmıştır. Tüpün altındaki sıvı dökülmüş ve kolon tekrar tüpün içerisine yerleştirilmiştir. Tüm lizatlar kolona transfer edilinceye kadar bu işlem tekrarlanmıştır (Şekil 3.25).

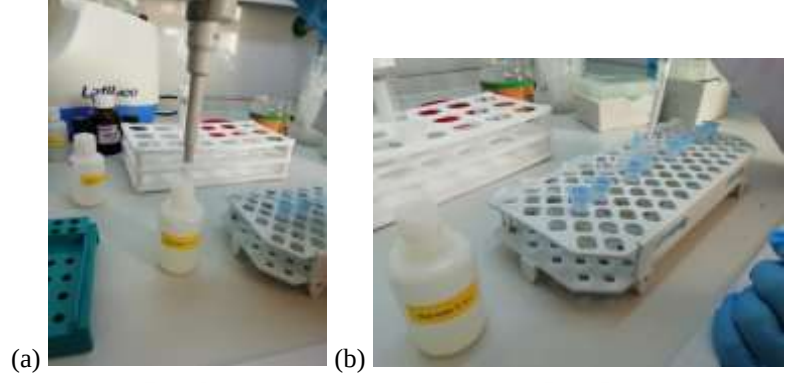


Şekil 3.24. Lizatın kolona transfer edilişi.



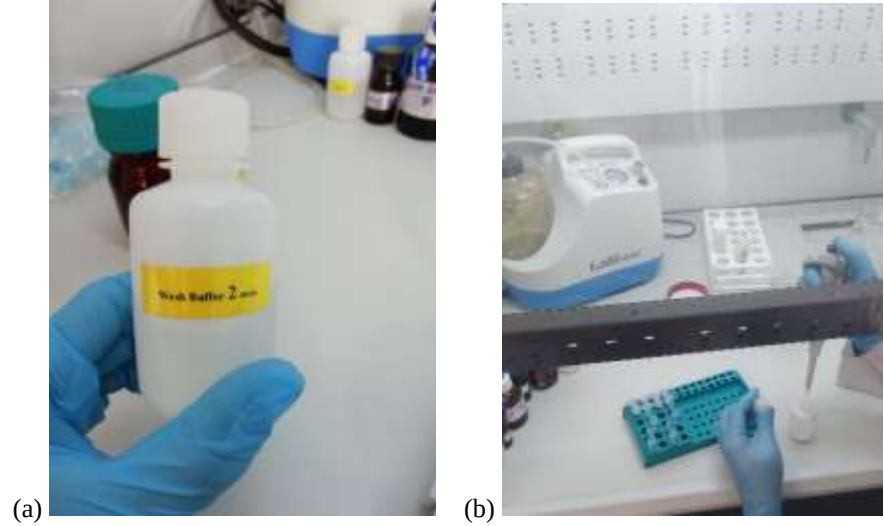
Şekil 3.25. Karışımın santrifüj edilmesi ve santrifüj sonrası tüpün altındaki sıvının boşaltılması (a, b).

- Daha sonra kolonun üzerine 700 μ l Wash Buffer1 solüsyonu eklenmiş (Şekil 3.26) ve oda sıcaklığında 12000 x g de 20 sn. santrifüj edilmiştir. Tüpün altındaki sıvı dökülmüş ve kolon tekrar tüpün içerisine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.26 Kolonun üzerine Wash Buffer1 solüsyonunun eklenmesi (a, b).

- Kolonun üzerine 600 μ l Wash Buffer2 solüsyonu eklenmiş (Şekil 3.27) ve oda sıcaklığında 12000 x g de 20 sn. santrifüj edilmiştir. Tüpün altındaki sıvı dökülmüş ve kolon tekrar tüpün içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra kolon tekrar 600 μ l Wash Buffer2 solüsyonu ile yıkanmıştır. Tüpün altındaki sıvı dökülmüş ve kolon tekrar tüpün içerisine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.27. Kolonun üzerine Wash Buffer2 solüsyonunun eklenmesi (a, b).

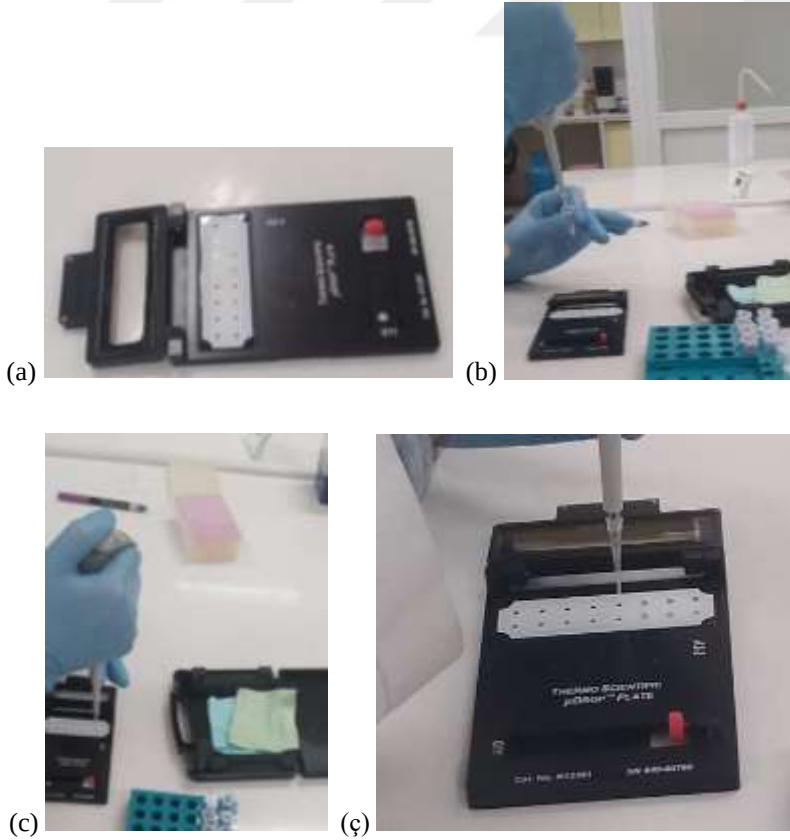
- Kolon tekrar 1 dakika maksimum hızda santrifüj edilmiş ve kolon daha sonra 1,5 ml'lik steril eppendorf tüpün üzerine yerleştirilmiştir. Kolonun merkezine

100-200 μ l, 65-70 $^{\circ}$ C’de bekletilmiş nükleaz free ultra distile su eklenmiş (Şekil 3.28), oda sıcaklığında 12000 x g de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

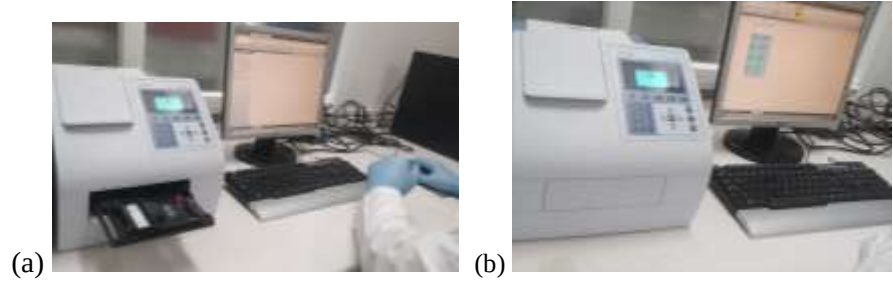


Şekil 3.28. Kolonun merkezine distile su eklenmesi.

- Daha sonra karışımdaki RNA konsantrasyonu ölçülmüştür. Bunun için μ Drop plate üzerine tüplerdeki karışımlardan damlatılmış (Şekil 3.29) ve bilgisayarda SkanIt™ Software programında RNA miktarları ve konsantrasyonları ölçülmüştür (Şekil 3.30).



Şekil 3.29. Karışımlardan μ Drop plate üzerine damlatılması (a, b, c, ç).



Şekil 3.30. RNA miktarları ve konsantrasyonlarının ölçülmesi (a, b).

- Karışım, kullanılabilecek kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırılmıştır (Şekil 3.31).



Şekil 3.31. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırılmış numuneler.

• cDNA sentezi:

cDNA sentezinde öncelikle izole edilen RNA örneklerinden DNA'yı uzaklaştırmak için RNaz içermeyen DNaz I kullanılmıştır. $1\text{ }\mu\text{g}$ total RNA, $1\text{ }\mu\text{L}$ MgCl_2 içeren 10X Reaksiyon Solüsyonu, $1\text{ }\mu\text{L}$ DNaz I (IU), RNaz içermeyen ve DEPC ile muamele edilmiş su eklenerek toplam hacim $10\text{ }\mu\text{L}$ 'ye tamamlanmıştır. Karışım 30 dk. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir (Resim 3.32).



(a)



(b)



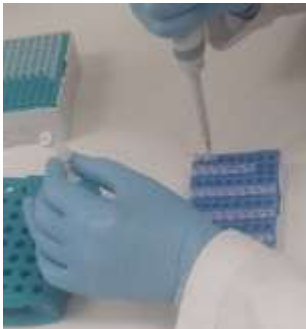
(c)



(ç)

Şekil 3.32. cDNA sentezi (a, b, c, ç).

Daha sonra tüplere 1 μL 50mM EDTA eklenmiş ve 10 dk. 65 $^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Tek zincir cDNA sentezi için tüplere 1 μL Oligo (dT)18 eklenmiş ve 5 dk. 65 $^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Tüplere sırasıyla 4 μL 5X reaksiyon solüsyonu, 1 μL RiboLock RNaz inhibitör (20 u/ μL), 2 μL dNTP karışımı (10mM) ve 1 μL RevertAid H Minus M-MuL V Revers Traskriptaz enzimi (200 u/ μL) (Thermo Fisher Scientific, ABD) eklenerek karıştırılmış ve kısa santrifüj edilmiştir. Sonrasında 42 $^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dk. ve 70 $^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dk. inkübe edildikten sonra sentezlenen cDNA'lar -80 $^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırılmıştır (Şekil 3.33).



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.33 cDNA sentezi (2) (a, b, c).

- **Primer tasarımı:**

Çalışmada kullanılan Oktopamin reseptör geni (AmOA1) ve Tyramine reseptör genine (AmTYR1) ait primerler, NCBI'dan elde edilen referans mRNA dizilerinden (NM_001011565.1 ve NM_001011594.1) yararlanılarak ve FastPCR Professional 6.1.2 paket programı (Kalendar et al., 2009) kullanılarak tasarlanmıştır. Primerler arasındaki dimer ve hairpin oluşup oluşmadığı aynı program ile kontrol edilmiştir ve dimer/hairpin oluşturmeyen primerler seçilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler ve çoğaltılan bölgelerin uzunluğu aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.34).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerler ve çoğaltılan bölgelerin uzunluğu.

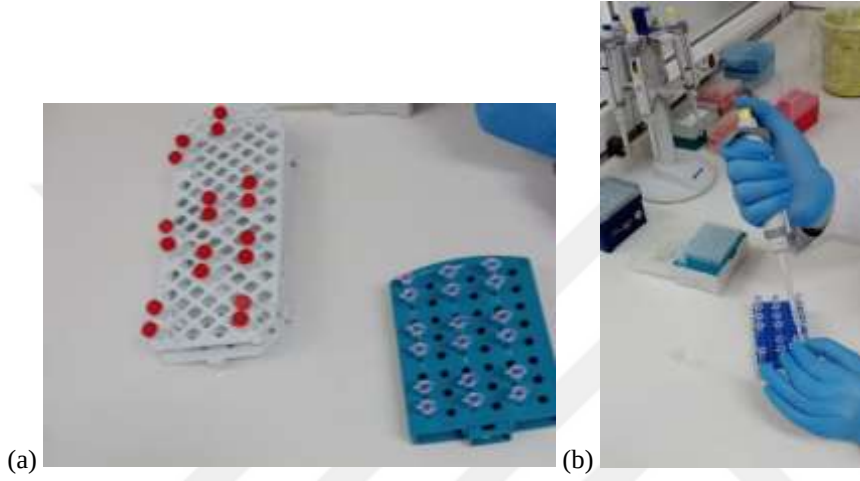
Gen		Forward Primer (5'→3')	Reverse Primer (5'→3')	Büyüklik (bp)	Tm (°C)
Oktopamin Reseptör (AmOA1 veya OA)	F ₁	taattggacaggacgaggga	R ₁ ctatccaggctgatggcgac	1536	60
	F ₂	ttgtgcgccatcagcctgga	R ₂ cgactcgattctcgctgctgc	1428	60
Tyramine Reseptör (AmTYR1 veya TYR)	F ₃	gctcgaacagagaagactgga	R ₃ gccgagtagtgcccgatgac	1367	59
	F ₄	gggaacaagattgccgccga	R ₄ tgacggacactctccccgaa	1452	61
	F ₅	ttgatgtcggctgcttgctcc	R ₅ ctctcctccctcaaacgcga	1379	60



Şekil 3.34. Çalışmada kullanılan primerler.

• **Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR veya PCR):**

Primerlerin bağlanma sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla gradient PZR uygulanmıştır. Bu amaçla 1xPCR buffer, 2mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,3 pmol ileri primer, 0,3 pmol geri primer, 1 U Platinum Taq polimeraz (ThermoFisher, 10966034) ve 20 ng/μL cDNA olacak şekilde PCR karışımı hazırlanmıştır (Şekil 3.35).



Şekil 3.35. Polimeraz zincir reaksiyonu için örneklerin hazırlanması (a, b).

PCR cihazı sırasıyla 95 °C’de 2 dk. (denatürasyon) bir döngü, 94 °C’de 45 sn. (DNA çift ipliklerinin ayrılması), 54-64 °C’de 30 sn. (primer bağlanması) ve 72 °C’de 1 dk. 35 döngü (yeni iplikçeğin yazılımı) ve son aşamada 72 °C’de 10 dk. (uzama) olacak şekilde programlanmıştır (Şekil 3.36).

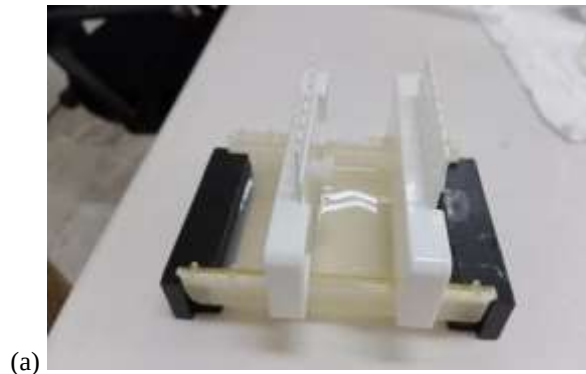
Çalışmada kullanılan Oktopamin ve Tyramine reseptör genlerine ait primerlere 54 °C-64 °C arasında değişen sıcaklıklarda gradient PCR işlemi gerçekleştirilmiş ve Oktopamin reseptör geni primeri için optimum yapışma sıcaklığı ve Tyramine reseptör geni primeri için optimum yapışma sıcaklığı belirlenmiştir.



Şekil 3.36. Polimeraz zincir reaksiyonu.

• Agaroz jel elektroforezi:

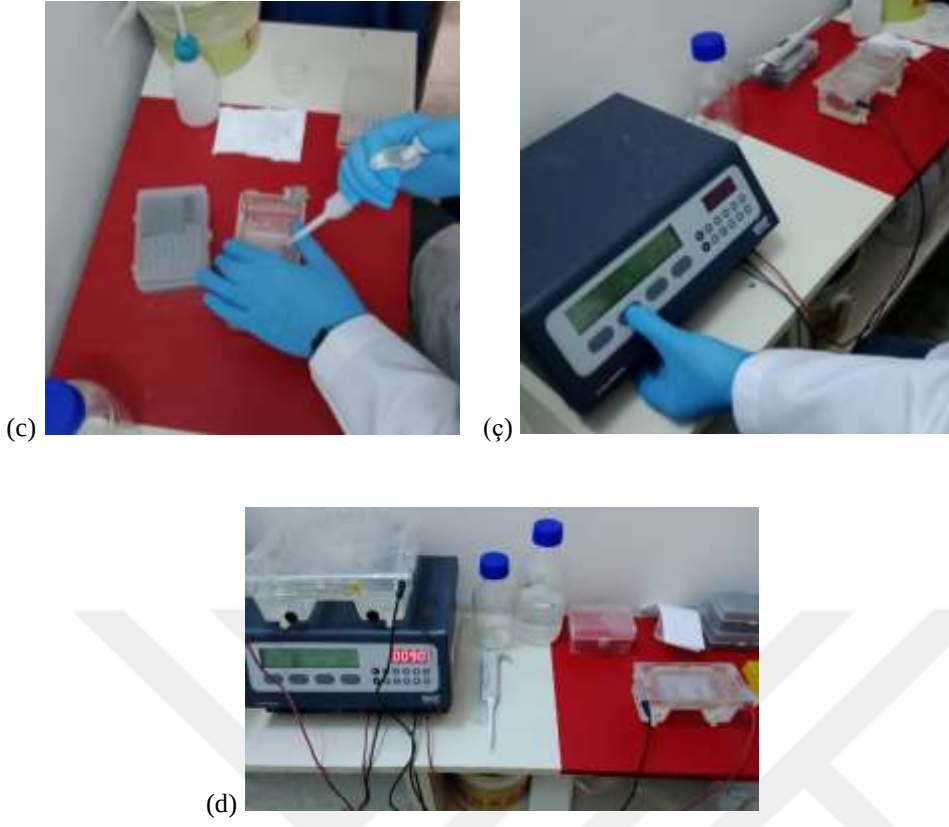
PCR sonucu elde edilen 10 adet koloniye temsil eden 10 adet PCR ürünü tüp agaroz jel elektroforezi aşamasına alınmıştır. Agaroz jeli hazırlamak için, 1 gr agaroz ile 50 ml TAE (Tris- Asetat- EDTA) solüsyonu karıştırılmış ve mikrodalga fırında 1 dk. ısıtılmıştır. Hazırlanan %2'lik agaroz jelin içerisine 1 μ L RedSafe (iNtRON, 21141) boya solüsyonu eklenmiş ve daha sonra jel tepsisine yavaşça dökülmüştür. Hazırlanan jelin polimerleşmesi için 20 dk. oda sıcaklığında, 20 dk. da +4 °C derecede bekletilmiştir. Polimerleşmeden sonra jel, içerisinde 1X TAE solüsyonu bulunan yürütme tankına yerleştirilmiştir. Her kuyucuğa 8,5 μ L yükleme solüsyonu (Loading Dye) ve 2,5 μ L PCR ürünü olan karışım koyulmuştur. Daha sonra jele 30 dk. 7V/cm uygulanarak yürütme işlemi yapılmıştır (Şekil 3.37).



(a)

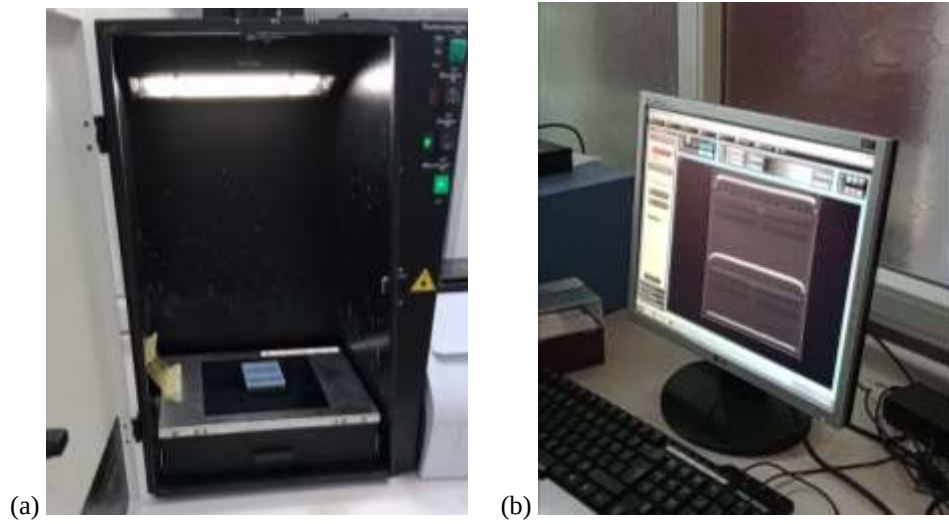


(b)



Şekil 3.37. Agaroze jel elektroforezi (a, b, c, ç, d).

Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jel, VisionCapt (Bio-Vision, Vilber Lourmat) jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir (Şekil 3.38).



Şekil 3.38. Jel görüntüleme sistemi (a, b).

• DNA Dizileme Analizi:

PCR ürünlerinin baz diziliminin ve SNP'lerinin tespit edilmesi amacıyla DNA dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla, DNA dizi analizi öncesinde çoğaltılan PCR ürünlerini temizlemek için 5 µL PCR ürününe 0,5 µL Exonuclease-1 (ThermoFisher, EN0581) ve 1,0 µL FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase (ThermoFisher, EF0652) eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım 37 °C'de 15 dk., 85 °C'de 15 dk. olacak şekilde PCR cihazında bekletilmiştir. Daha sonra dizileme (sekans) PCR için örnek başına 17 µL 1xSB (sequencing buffer) solüsyonu, 1 µL BigDye solüsyonu, 5 pmol (F/R) primer ve 2 µL temizlenmiş PCR ürünü eklenmiştir. PCR cihazı 96 °C'de 2 dk. 1 döngü, 96 °C'de 10 sn, 50 – 60 °C'de 20 sn ve 60 °C'de 4 dk. 30 döngü olacak şekilde programlanmıştır. Sekans PCR sonucunda elde edilen ürünler, Etanol - EDTA - Sodyum asetat (Applied Biosystems, 4337454) yöntemine göre temizlenmiştir. Bu amaçla her bir örneğe, 1 µL EDTA (pH 8.0), 1 µL 3M sodyum asetat (NaOAc, pH 5,07) ve 50 µL Etanol (% 98) eklenmiştir. Alüminyum pleyt sealing ile kaplanarak 4-5 kez alt-üst edilmiş ve 15 dk. oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra 30 dk. +4 °C'de 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üstündeki sealing çıkartılmış ve bir peçete üzerine ters çevirerek 1 dk. boyunca +4 °C'de 700 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra örneklerin üzerine %70'lik etanolden 70 µL eklenerek üstü alüminyum sealing ile kapatılmış ve +4 °C'de 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üstündeki sealing çıkartılmış ve bir peçete üzerine ters çevirerek 1 dk. boyunca +4 °C'de 700 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra pleyt oda sıcaklığında karanlık bir yerde 60 dk. bekletilmiştir. Daha sonra her bir örneğin üzerine 15 µL Hi-Di Formamide ekledikten sonra pleyt sealing ile kaplanmış ve kuvvetli bir şekilde vorteksenerek 1300 rpm'de kısa bir süre santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından sealing çıkarılmış ve septa ile kapatıldıktan sonra ABI 3500 Genetic Analyzer DNA dizi analizi cihazına yüklenmiştir (Şekil 3.39).

DNA dizi analizi sonrası sonuçlar Sequencher 5.6.1 paket programı kullanılarak referans diziye göre yeniden düzenlenmiştir. Düzenleme sonrası tüm örnekler BioEdit programı (Hall, 1999) kullanılarak hizalanmış ve polimorfik olan SNP'ler ile eklenen (insersiyon) ve silinen (delesyon) bölgeler belirlenmiştir.



Şekil 3.39. DNA dizi analiz cihazı.

4. BULGULAR

4.1 Damızlık Kolonilerinin Oluşturulması ve Hijyenik Davranış Testlerinin Yapılması

4.1.1 2020 yılının damızlık kolonilerinin koloni indeksinin hesaplaması

2020 yılına ait 45 adet koloninin koloni indeks değerleri hesaplanmış ve Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 2020 yılına ait damızlık kolonilerin verim değerleri ve koloni indeksi değerleri.

KOVAN NO	ORTALAMA ARILI ÇERÇEVE	ORTALAMA PUPALI ÇERÇEVE	ORTALAMA LARVALI-YUMURTALI ÇERÇEVE	ORTALAMA KULUÇKALI ÇERÇEVE	ORTALAMA HİRCİNLİK	KISLAMA YETENEĞİ %	ARILI ÇERÇEVE İNDEKSİ	PUPALI ÇERÇEVE İNDEKSİ	LARVALI-YUMURTALI ÇERÇEVE İNDEKSİ	KULUÇKALI ÇERÇEVE İNDEKSİ	HİRCİNLİK İNDEKSİ	KISLAMA İNDEKSİ	KOLONİ İNDEKSİ
1	6,00	2,17	1,67	3,83	1	100	3,92	3,44	4,17	4,26	5	5,00	20,79
2	7,33	2,83	1,67	4,50	1	100	4,79	4,50	4,17	5,00	5	5,00	18,46
3	6,67	2,17	1,83	4,00	1	25	4,36	3,44	4,58	4,44	5	1,25	18,07
4	7,17	2,83	1,50	4,33	1	100	4,68	4,50	3,75	4,81	5	5,00	17,75
5	7,33	2,83	1,67	4,50	1	80	4,79	4,50	4,17	5,00	5	4,00	17,46
6	7,33	2,67	1,50	4,17	1	100	4,79	4,23	3,75	4,63	5	5,00	17,41
7	7,67	2,67	1,33	4,00	1	100	5,01	4,23	3,33	4,44	5	5,00	17,02
8	6,00	2,83	1,50	4,33	1	100	3,92	4,50	3,75	4,81	5	5,00	16,98
9	4,83	1,50	1,67	3,17	1	66,67	3,16	2,38	4,17	3,52	5	3,33	16,56
10	5,83	2,33	1,83	4,17	1	100	3,81	3,70	4,58	4,63	5	5,00	16,73
11	5,50	2,33	1,67	4,00	1	100	3,59	3,70	4,17	4,44	5	5,00	15,91
12	7,33	2,17	1,33	3,50	1	100	4,79	3,44	3,33	3,89	5	5,00	15,45
13	6,50	2,33	1,33	3,67	1	100	4,25	3,70	3,33	4,07	5	5,00	15,36
14	6,00	2,00	1,67	3,67	1	100	3,92	3,17	4,17	4,07	5	5,00	15,34
15	6,33	1,83	1,67	3,50	1	100	4,14	2,91	4,17	3,89	5	5,00	15,11
16	6,00	2,33	1,33	3,67	1	100	3,92	3,70	3,33	4,07	5	5,00	15,03
17	5,50	2,00	1,67	3,67	1	100	3,59	3,17	4,17	4,07	5	5,00	15,01
18	7,33	2,67	1,67	4,33	1	33,33	4,79	4,23	4,17	4,81	5	1,67	14,67
19	6,33	1,67	1,67	3,33	1	100	4,14	2,65	4,17	3,70	5	5,00	14,66
20	6,17	1,83	2,00	3,83	1	66,67	4,03	2,91	5,00	4,26	5	3,33	14,53
21	6,33	2,33	1,50	3,83	1	70	4,14	3,70	3,75	4,26	5	3,50	14,35
22	5,33	2,00	1,50	3,50	1	100	3,49	3,17	3,75	3,89	5	5,00	14,30
23	6,00	1,83	1,50	3,33	1	100	3,92	2,91	3,75	3,70	5	5,00	14,29
24	6,00	1,83	1,50	3,33	1	100	3,92	2,91	3,75	3,70	5	5,00	14,29
25	6,83	2,00	1,17	3,17	1	100	4,47	3,17	2,92	3,52	5	5,00	14,08
26	6,50	1,83	1,33	3,17	1	100	4,25	2,91	3,33	3,52	5	5,00	14,01
27	7,00	1,83	1,67	3,50	1	66,67	4,58	2,91	4,17	3,89	5	3,33	13,87
28	5,83	2,17	1,17	3,33	1	100	3,81	3,44	2,92	3,70	5	5,00	13,87
29	6,00	2,50	1,50	4,00	1	50	3,92	3,97	3,75	4,44	5	2,50	13,58
30	5,83	1,83	1,33	3,17	1	100	3,81	2,91	3,33	3,52	5	5,00	13,57
31	6,67	2,00	1,50	3,50	1	66,67	4,36	3,17	3,75	3,89	5	3,33	13,50
32	5,33	1,67	1,50	3,17	1	100	3,49	2,65	3,75	3,52	5	5,00	13,40
34	5,17	2,50	1,33	3,83	1	66,67	3,38	3,97	3,33	4,26	5	3,33	13,27
35	5,50	2,00	1,00	3,00	1	100	3,59	3,17	2,50	3,33	5	5,00	12,60
36	5,17	2,00	1,00	3,00	1	100	3,38	3,17	2,50	3,33	5	5,00	12,38
37	5,50	1,67	1,17	2,83	1	100	3,59	2,65	2,92	3,15	5	5,00	12,31
38	6,67	1,67	1,83	3,50	1	33,33	4,36	2,65	4,58	3,89	5	1,67	12,14
39	6,00	2,33	1,33	3,67	1	33,33	3,92	3,70	3,33	4,07	5	1,67	11,70
40	5,17	2,17	1,33	3,50	1	50,00	3,38	3,44	3,33	3,89	5	2,50	11,54
41	6,33	2,17	0,83	3,00	1	66,67	4,14	3,44	2,08	3,33	5	3,33	11,33
42	5,17	2,00	0,67	2,67	1	100	3,38	3,17	1,67	2,96	5	5,00	11,18
43	5,83	1,33	1,00	2,33	1	100	3,81	2,12	2,50	2,59	5	5,00	11,02
44	5,83	2,17	1,00	3,17	1	50	3,81	3,44	2,50	3,52	5	2,50	10,77
45	4,50	1,67	0,83	2,50	1	100	2,94	2,65	2,08	2,78	5	5,00	10,45

4.1.2 Hijyenik davranış testlerinin yapılması

• **Hijyenik test 1. ölçüm:** Çizelge 4.2 Hijyenik test 1. ölçümde elde edilen en yüksek temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade ederken Çizelge 4.3 Hijyenik test 1. ölçümde elde edilen en düşük temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade etmektedir.

Çizelge 4.2. Hijyenik test 1. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -1 ifadesi 1. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN- KILLED DELİNEN GÖZ (10.08.2021)	1. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (11.08.2021)
172-1	100	% 100
218-1	100	% 100
101-1	100	% 100
284-1	100	% 100
230-1	100	% 100

Çizelge 4.3. Hijyenik test 1. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -1 ifadesi 1. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN- KILLED DELİNEN GÖZ (10.08.2021)	1. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (11.08.2021)
160-1	100	% 69
170-1	100	% 69
128-1	100	% 68
185-1	100	% 67
245-1	100	% 63

• **Hijyenik test 2. ölçüm:** Çizelge 4.4 Hijyenik test 2. ölçümde elde edilen en yüksek temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade ederken Çizelge 4.5 Hijyenik test 2. ölçümde elde edilen en düşük temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. Hijyenik test 2. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -2 ifadesi 2. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN- KILLED DELİNEN GÖZ (31.08.2021)	2. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (01.09.2021)
128-2	100	% 100
172-2	100	% 99
202-2	100	% 98
156-2	100	% 98
264-2	100	% 98

Çizelge 4.5. Hijyenik test 2. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -2 ifadesi 2. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN- KILLED DELİNEN GÖZ (31.08.2021)	2. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (01.09.2021)
244-2	100	% 76
218-2	100	% 76
203-2	100	% 76
123-2	100	% 73
160-2	100	% 68

• **Hijyenik test 3. ölçüm:** Çizelge 4.6 Hijyenik test 3. ölçümde elde edilen en yüksek temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade ederken Çizelge 4.7 Hijyenik test 3. ölçümde elde edilen en düşük temizleme davranışına sahip örnek toplanan kolonileri ifade etmektedir.

Çizelge 4.6. Hijyenik test 3. ölçüm-yüksek temizleme davranışı (numaraların yanındaki -3 ifadesi 3. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN- KILLED DELİNEN GÖZ (21.09.2021)	3. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (22.09.2021)
102-3	100	% 100
108-3	100	% 100
156-3	100	% 100
186-3	100	% 100
279-3	100	% 100

Çizelge 4.7. Hijyenik test 3. ölçüm-düşük temizleme davranışı (numaraların yanındaki -3 ifadesi 3. ölçümü ifade etmektedir).

KOVAN NO	HİJYENİK DAVRANIŞ PIN-KILLED DELİNEN GÖZ (21.09.2021)	3. ÖLÇÜM TEMİZLEME YÜZDESİ (%) (24. SAAT) (22.09.2021)
275-3	100	% 83
298-3	100	% 82
182-3	100	% 80
131-3	100	% 70
232-3	100	% 69

Çizelge 4.8 3 adet hijyenik test ölçümüne göre analiz için seçilmiş olan yüksek ve düşük hijyenik davranış kolonilerini göstermektedir.

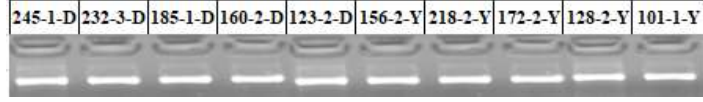
Çizelge 4.8. Yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren damızlık kolonilerden SNP analizi için rastgele seçilmiş koloniler.

Kovan Numarası (Yüksek Hijyenik Davranış)	Yüksek Hijyenik Davranış (%)	Kovan Numarası (Düşük Hijyenik Davranış)	Düşük Hijyenik Davranış (%)
101-1-Y	% 100	123-2-D	% 73
128-2-Y	% 100	232-3-D	% 69
218-2-Y	% 100	160-2-D	% 68
172-2-Y	% 99	185-1-D	% 67
156-2-Y	% 98	245-1-D	% 63

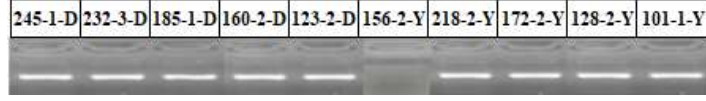
4.2 Genotipik Bulgular

4.2.1 Agaroz jel elektroforezi

Çalışmada kullanılan primerlerden OR2 (F2-R2) (1428bp) ve TYR3 (F3-R3) (1367bp) primerlerinin bantları tespit edilmiş ancak, OR1 (F1-R1) (1536bp), TYR4 (F4-R4) (1452bp) ve TYR5 (F5-R5) (1379bp) primerlerinin bantları tespit edilememiştir. PCR sonucunda elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. OR2 (F2-R2)’de ve TYR3 (F3-R3)’te görüntünün tespit edildiği bantlar pozitif olarak, görüntünün tespit edilemediği bantlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Buna göre OR2 (F2-R2)’de tüm görüntüler pozitif olarak, TYR3 (F3-R3)’te ise 6 numaralı örneğin (156-2-Y) görüntüsü negatif olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.1. OR F2-R2 jel görüntüsü.



Şekil 4.2. TYR F3-R3 jel görüntüsü.

4.2.2 Dizileme sonuçları ve SNP'ler

AmOA1 (OR2 primeri) geni ve AmTYR1 (TYR3 primeri) geni dizileme analiz sonuçları aşağıda verilmiştir. Dizileme analizinde SNP bölgeleri tespit edilmiştir.

• AmOA1 (OR2 primeri) geni dizileme analizi:

Şekil 4.3 AmOA1 (OR2 primeri) geninin grafik dizisini göstermektedir. Şekildeki gri alan 5'UTR bölgesidir. Sarı olan kısım eksonların olduğu bölgedir, kahve renkli bazlar ise 3'UTR bölgesini ifade etmektedir. Kırmızı ile yazılı olanlarda ise mutasyon veya polimorfizm olduğunu göstermektedir.

Şekil 4.3 incelendiğinde 10 adet polimorfizm olduğu ve yüksek hijyenik davranış gösteren 1 örnekte de 2291. bazdan itibaren 40 bazlık bir bölgenin eklendiği görülmektedir. Çizelge 4.9 incelendiğinde ilk polimorfizm 4. eksonda 1725. bazda adenin bazının guanin bazına dönüşmesiyle gerçekleşmiş ve bu durum amino asit değişikliğine yol açarak Treonin'in Alanin'e dönüşmesine neden olmaktadır. 6. eksonda 1961. bazda guanin bazı adenin bazına, 6. eksonda 2126. bazda sitozin bazı timin bazına, 6. eksonda 2153. bazda guanin bazı adenin bazına, 7. eksonda 2351. bazda guanin bazı adenin bazına, 8. eksonda 2552. bazda timin bazı sitozin bazına, 8. eksonda 2606. bazda guanin bazı adenin bazına, 9. eksonda 2734. bazda sitozin bazı timin bazına dönüşerek sessiz (silent) SNP oluşturmuştur. 2843. bazda ise adenin bazı guanin bazına dönüşmüştür, ancak bu dönüşüm 3'UTR bölgesinde gerçekleşmiştir. Bunun dışında Şekil 4.4 incelendiğinde yüksek hijyenik

davranış gösteren 1 örnekte (101-1-Y) 7. eksonda 2291. bazdan itibaren 40 bazlık (CCCAGAAGACCCTAGCAGGAGGAACAGCTGCGAGAGTCCA) kısmın eklenmesi proteinin dizisinde değişikliğe neden olabildiğinden bu durum fenotipik olarak yansıma da meydana getirebilir.

Bunun yanında, Efe Arısının F1'lerinde de yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren gruplar belirlenmiş ve işçi arı numuneleri toplanarak sırasıyla RNA izolasyonu - cDNA sentezi - PCR - Agaroz jel elektroforezi - DNA Dizileme analizi yapılmıştır ve eklenen baz bölgesi hariç olmak üzere tüm polimorfizmler (9 adet polimorfizm) aynı çıkmıştır.

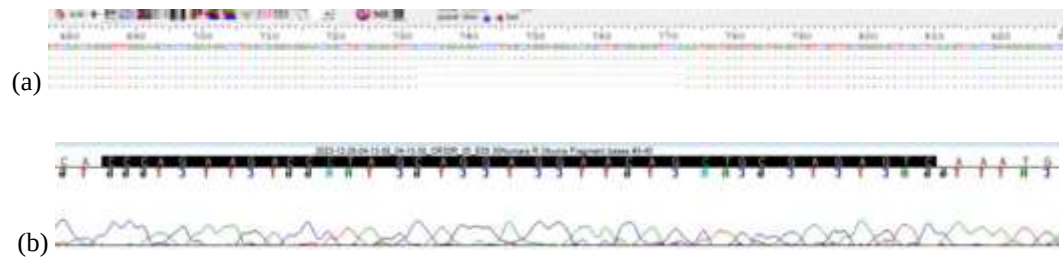


GAAATAATTGGACAGGACGAGGGGAGGGGCGGTAATAGAAATTC AATCCCGGAACTCGAAA
 ATTTCTATCTATCCTCGACGGATAATAATTTTCGAGGAATTTATCAACACGCTCTTCGAAAGCGT
 GAAAACGGGAGGGATTCTTGTATTCCTTTTCGGCAGGAAATGAAGAACTTTTCTTCTGAAAA
 ACCGGTTATCGAATACTGATATTTCCAGGTGTATCTATCCCCAGTGCTTTCTATTCTCGAAA
 AAAGAAAAAGGGTTCTCGGATCGAGAATATTTCTCCATTTTCGTATGGAGAACGTTCTTGGA
 CACGTGATATATCCTGAATCAAGTGGACGAGTCAAATTTGTGTTTAAGACAGTGTGAAATATT
 GTTTAAATTTTAAGGACGATGCGAGGAAGAGGACGGTGAAAATAATTTTTTGGTGATGATAA
 ATAAAGGAAGGTTGAGATAATTATAGACCGATTTTCGAATTGAATGAGGAGTGAACGAGACA
 ATAAGGAAAAATCAGACGACGAAAGTGAAAAAGAAAAAGGAAAGGATGGCGTTTGTGCGAGGAT
 GAATGGTAAATCTCGAAGGTGCTAATAGTTTAAATTTGTTCTTTTCTGGAACGTTTGGAGGAG
 GATTGAACGAGGTGCATGATTCTGAAGCTAATTTTATCATTTCATCATTTAAAAAATTTCTCTGA
 ACATCGATCAGTTGTTTTATAATTCTCTTAATCTCCGATTATAAGCTGAATCCAAAAAGAAAA
 AATCAAGAAGAACCTAACCTCTAAATCTAACCTCAAAAAAATTGCATGAAACAATCGAGCAA
 AAATAATTGATCAAAACAGTGTAAAAATAAGGAAGCTGCGAAACGAACCTAACCTCAAAAT
 AAAAAGAACAGTATCTTCTCCAAAGACCAACAAAACGAATAGAACCTAACCTCAAAAAAC
 CTAATTAATAATTCCTGAACGAACAAAGATATACAAAGAGAGAGAAAAGAATCGATCAAC
 GATGATCTCAGGATTTGCAAAGGATCGATGATCGAATCGTTGCCGTGATGGAGGCGATCCAT
 GCGATCCGTATTTCGTGCTTTTCTTCCAGTGAAATCGTTTCGCGAGAGTCGTTGTTCCGTTGCGT
 TGTTCCGCGCAGCAAGCGGTCTGAGATGGTTCGAGATTTGGCGCGACAGCTTGCCAACTAAAAAT
 GCGAGAGCTGAACGCGACCGCATGTGCTGCCCTTTACGAGCGCGTCGAGTGGTCCGGACCGT
 GGATCCTGGTTACCCTGATCGTGCTCGCGATAGTGAACGTGATGGTGGTGGTGGGCAACGTG
 CTCGTGATACTCGCTGTCTATCACACGAGCAAGCTGCGAAACGTGACGAATATGTTTCATCGTT
 AGCCTCGCGGTGGCGGATCTGATGGTCCGCTGGCTGTCCTTCCGTTTAGCGCTACGTGGGAG
 GTTTCAAGGTGTGGATATTCCGTGATCTATGGTGCTCCATCTGGCTGGCGGTGACGATGG
 ATGTGCACCGCGTCGATATTGAATTTGTGCGCCATCAGCCTGGATAGATACTTAGCTGTGACC
 AGGCCAGTCAGTTATCTCAGATCATGTGCGCCGAGGAGAGCAAGGCTGCTGGTTGCAACCGT
 GTGGATCTTGAGCTTCGTCATCTGCTTCCACCCCTGGTCCGCTGGAAAGACAAACGGTCTCA
 TCCCGCGTACAACATGACGTTTGTCTAAAAACGGACCGTTCAAC[c.1725A>G]CCACCACCATCT
 TCGTCCCCGTGAAACCGTGTCTTGGATCTGCGAGCTGACCAACGATGCCGGCTACGTCGTTT
 ATAGCGCTCTTGGTTCTTTCTATATACCGATGTTGGTCATGCTGTTTTTCTACTGGAGGATCTA
 TAACGCGGCCGTCTCCACCACAAAGGCTATTAATCAAGGCTTCCGCACGACAAAGAGTTCGA
 AAATGTTTGGCTCTAGATTCGACGAAGAGAGGTT[c.1961G>A]ACCTTGAGGATCCATCGTGG
 CCGAGGAAGCGTGACAAATGGGAGCAACAACGGAAGTCCGAGGAGCCCCGAGTCGAACAGT
 CGGTGCTCGGTGAAAAGGGAGAAGATAAAAAATCTCGGTGTCGTATCCGAGCACGGAGACGTT
 GAATACAAAGTGTAACACCCT[c.2126C>T]GAAAGAACGCCATCCAAGTGTCTCA[c.2153G>A
]ACCTCTGTGCATTACAGCAATGGGCAGACGCACAGCCAATTGTGTCCAACCCCCAGAAGCAC
 TCATTTAAAGGTGAGCGGCATCAACAGGGTTGGAAGCACCAGAAGACCTAGCAGGAGGAAC
 AGCTGCGAGAGTCA[c.2291Ins>40bp]ATGATGGGTGATGAGATGTCGTTGCGGGAGCTCACTC
 AAGTCACCGAGGAGAAGCCAAG[c.2351G>A]GTGATGAAGATGGGGAAGAGAAATATTAAAG
 CTCAGGTGAAGAGATTTCGAATGGAGACGAAGGCGGCGAAGACACTGGGCATCATCGTCGG
 CGGGTTCATCTCTGCTGGCTTCCTTTCTTCAATGTACTTGGTGCGCGCCTTTTGCCGCAAC
 TGCATCCACCCCACTGTGTTTAGCGTACTGTTTTGGCTAGGCTA[c.2552T>C]TGCAACTCCGC
 AATAAATCCGTGTATCTACGCGCTGTTAGCAAGGACTTCCG[c.2606G>A]TTCGCGTTCAAAA
 GTATCATCTGCAAGTGCTTCTGCAACGGCGGACGAACACTTTGAGACGCGGCAGCGATGGA
 AGTCAATTAGCGATGAGAAACGATCGGAGCCCCAAGCTACTCGATGCAAGTTC[c.2734C>T]CC
 AACAGGGGGCGTCCATCGACGACTCGGACCCGGACCCAAGCTCAGAACCGACTGTGCATTCCG
 CAGAGC GAGTCGAGATGACTGTAGCGTGCCAGGTGTGGCGCTCA[c.2843A>G]CGCGTCACCT
 TCGATCCTAGAACCTCGAAAGTGAGGATCCAATCTTTCTAAGGATTTACGTTTCGTGCCGCG
 AAATCGAGCACGACGAGAATCGAGTGCGAAAGGATGGACGTGGAATTCGCGACAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTCGAGGGG

Şekil 4.3. AmOA1 (OR2 primeri) geni grafik dizisi.

Çizelge 4.9. AmOA1 (OR2 primeri) geninde dizi analizi sonucu elde edilen SNP'lerin kromatogram görüntüsü.

SNP	Kromatogram	Kromatogram	Kromatogram	Amino Asit
c.1725 A>G				Treonin > Alanin
c.1961 G>A				Sessiz (silent)
c.2126 C>T				Sessiz (silent)
c.2153 G>A				Sessiz (silent)
c. 2351 G>A				Sessiz (silent)
c.2552 T>C				Sessiz (silent)
c.2606 G>A				Sessiz (silent)
c.2734 C>T				Sessiz (silent)
c.2843 A>G				3'UTR



Şekil 4.4. Bir örnekte olup diğer örneklerde bulunmayan eklenmiş bazlar (a) ve kromatogram görüntüsü (b) (**c.2291 Ins >40bp**).

• **AmTYR1 (TR3 primeri) geni dizileme analizi:**

Şekil 4.5 AmTYR1 (TYR3 primeri) geninin grafik dizisini göstermektedir. Şekildeki gri alan 5'UTR bölgesidir. Sarı olan kısım eksonların olduğu bölgedir, kahve renkli bazlar ise 3'UTR bölgesini ifade etmektedir. Kırmızı ile yazılı olanlarda ise mutasyon veya polimorfizm olduğunu göstermektedir. Tyramine reseptöründe 1 ekson sekanslanabilmiştir ve tüm SNP'ler 1. eksonda bulunmaktadır.

Şekil 4.5 incelendiğinde 12 adet polimorfizm olduğu, 5'UTR bölgesindeki 103. bazdan itibaren 3 bazlık delesyon olduğu ve 1 örnekte de 532. bazdan itibaren 42 bazlık bir bölge eklendiği görülmektedir. Çizelge 4.10 incelendiğinde ilk polimorfizm 103. bazda timin-guanin-adenin bazı delesyonuyla gerçekleşmiş ancak bu delesyon 5'UTR bölgesinde bulunmaktadır. 158. bazda sitozin bazının guanin bazına dönüşmesiyle bu durum amino asit değişikliğine yol açarak Aspartik Asit'in Glutamik Asit'e dönüşmesine neden olmaktadır. 207. bazda guanin bazının adenin bazına dönüşmesiyle bu durum amino asit değişikliğine yol açarak Valin'in İzolösin'e dönüşmesine neden olmaktadır. 218. bazda sitozin bazı guanin bazına, 248. bazda guanin bazı sitozin bazına, 467. bazda sitozin bazı timin bazına, 956. bazda sitozin bazı timin bazına, 1133. bazda guanin bazı adenin bazına, 1187. bazda sitozin bazı timin bazına, 1063. bazda sitozin bazı timin bazına, 1133. bazda adenin bazı guanin bazına, 1187. bazda sitozin bazı timin bazına, 1211. bazda guanin bazı adenin bazına ve 1277. bazda guanin bazı adenin bazına dönüşerek sessiz (silent) SNP oluşturmuştur.

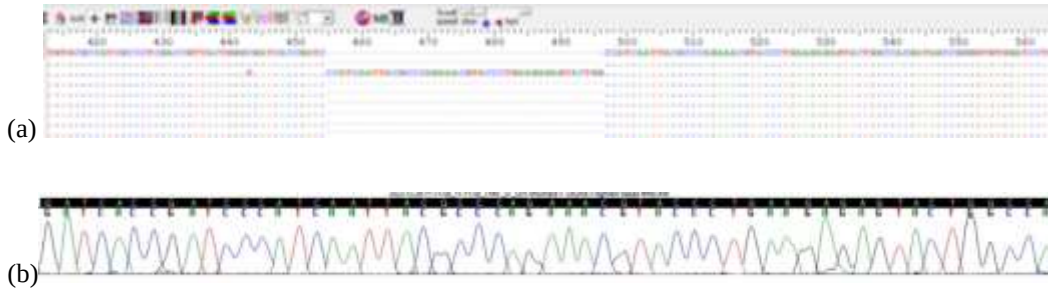
Bunun yanında, Efe Arısının F1'lerinde de yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren gruplar belirlenmiş ve işçi arı numuneleri toplanarak sırasıyla RNA izolasyonu - cDNA sentezi - PCR - Agaroze jel elektroforezi - DNA Dizileme analizi yapılmıştır ve eklenen baz bölgesi hariç olmak üzere tüm polimorfizmler (12 adet polimorfizm) aynı çıkmıştır. Bunun dışında Şekil 4.6 incelendiğinde yüksek hijyenik davranış gösteren 1 adet F1 örneğinde 532. bazdan itibaren 42 bazlık (CCATCAATTACGCCAGAAACGTACCCTGAAGAGAGTACTGG) kısmın eklenmesi proteinin dizisinde değişikliğe neden olabildiğinden bu durum fenotipik olarak yansıma da meydana getirebilir.

CAAAAATGTGACGCTCGGCGTGCCTCGACGGGCGGGGCTCGAACAGAGAAGACTGGACGACTATTGG
 GAGCGTGACGTTGGATTGACGAGAGCGGGCTCG[c.103-105TGA>del] ACAACATGAACCTCGAGCGGGGAA
 TCAG GC GGA CGATGAC CGAGGACTA CGA[c.158C>G]ATGACAGGCTGCGGCCCGCGGAAGAGAA
 ACGGGC TCGAAC TTGCCG[c.207G>A]TTTGGGAAGC[c.218C>G]GCGGCCGCTCATTGACGCTTGGCTTC
 CT[c.248G>C]GTTCTCGCGACGGTGTGGGGAACGCGCTCGTGATCCTGAGCGTGTTCACGTACAGGCCCC
 TTCGTATCGTTCAGAACTCTTTATCGTGTGCTAGCTGTGCGCGATCTCGCGGTCCGATCCTCGTGATGC
 CGTTCAACGTGCGCTACCTCCTCGGCAAGTGGATCTTCGGCATAACCTGTGCAAATTGTGGCTAACC
 TGGACAGTGCTCTG[c.467C>T]TGCACGGCCAGCATACTGAATCTGTGCGCCATCGCCCTCGACCGTTACTG
 GCGATCACCGATCCCATCAATTACGCCAGAAACGTA[c.556Ins>42bp]CCCTGAAGAGAGTACTGGCCAC
 GATAGCCGGGGTGTGGATCCTGTGCGGGGCGATCAGCTGCCCCCCCTGGCCGGTTGGAACGACTGGCCC
 GAGGAGTTGGAACCGGGCACACCCTGCCAATTGACCAGGAGGCAGGGATACGTCATCTACTCGTCGCTCG
 GCTCCTTCTTCATCCCGTTGCTGTTGATGAGCTCGTCTACCTCGAGATATATCTGGCCACGAGGAGACGG
 TTGAGGGAGCGGGCCAGGCAGAGCAGGATAAACGCTGTCCAGTCGACGAGGCATCGCGAGGCGGACGAC
 GCCGAGGAGTCGGTCAGCTCGGAGACGAATCATAACGAGAGGTCGACCCCTCGGTGCGACGCCAAGCCG
 TCGTTGATCGACGACGAGCCGACCGAGGT[c.956C>T]ACGATAGGGGGTGGCGGTACCACGTCCTCGAGG
 CGGACGCGGGGAGCAGGCGACCGGACGACGACCGGTTTACCAATTCATCGAGGAGAGGCAGAGG
 ATCT[c.1063C>T]GTTGTGAAGGAGAGACGGGCCGCGAGGACATTGGGCGTGATAATGGGCGTGTTCGTC
 GTATGCTGGTT[c.1133A>G]CCATTCTTTCTGATGTACGTGATCGTCCCGTTCTGCCCGGATTGTTGCCCTC
 [c.1187C>T]GATCGTATGGTCTACTTCATCAC[c.1211G>A]TGGCTCGGTTACGTGAACAGCGCCCTCAACCC
 GCTCATCTACACCATCTCAACCTCGACTACAG[c.1277G>A]AGGGCATTACAGACGGTGTGTGCGCATCTGT
 TGAACACTTGTGTGGCAACGCTTGTATTGTCATCTATCGGAAATTGTGGGAAACAAGATTGGCCGC
 GAAATCGTCATCGGACACTACTCGGCCCGCTTGGGATTGGTCGGCGAGGAAGGAAGAGGATTGGAG
 TTCGGCTGAGTTTTCGAGGAAGCGGCACCGAGCTTGGCAGGATTCAAATCTTTCGAAGGAGGAAACGA
 GAGGGAACCAATGAAGAGTTTATTTTCGGGAACGAAGAAGCGTCTAAAATATGGCGGTGGATT
 ATTCGTAGAAACAAAGAGAGATTCGATGGAAGATTAAGCGATCAAAGGTCAATACACGATAGTCTAA
 TTTAGCGACGACGATGTTCACTCCCGAAGAGTCGTTCCATTAACTTGTTCCATTAACTCCTGCTAGGGAA
 GCGAGGGAGCGCGGATAAGGAATTTAAGGAAATGAAGTCGCCGCCCTGCTCGATTGTCCTATACCTCA
 TTTCAATCCGTGTTACCGGTTGAGTTCAGCTGAACGATAAATCACCGCTATCTTCGATCGGTCATGAATA
 ATGCAATCCGTTGATTCGATCGCTCGCTACTCGCTCGACTCGAACAAGACCGTAAACCGAACCC
 ATCGAATGAATTGAGCGGAGGGGAGGGGAGGGTGTAGTGAAGAGGCGTCGTGTAATAATTCGATTTT
 GACGCCGAGTCGATCCGAAGTCGTTCCATTTCCTAAGGAGCCTTGTAATAATATTGCTCTCCCGAGAATTG
 AATATTCTTGATGAATCGATATCGAATATGGCGAGCCTTTTTTAAATTTCTTTTCGCCCTTGCTTCCACCTCT
 TTCTTTTATCCATAAGAGATAGGATGGGTTAGGTTAAGCTGTGCGTATGAAATGCGCCAAATT
 TCCTGAAAATTCAGTGAATTATTAATTTGACATTTTAGAAAAGGAAAAAAGAATCTGTCTCATTGGTAC
 AAAAAAATTTAAGTTACAAAGCTCGATCGAGAATTCGATAATTTCAATTGCAACAGCCTAATTCAAACAT
 AAGATGAAAAAGAGAAAAAAGGAAAAAGAAAGAACTCTTCTCGTCGCCAATCTCAAAAAAGCCGAGCAG
 AGAAATTCAGTTTACGAATAGGAATTTTCTAGCAAAACCGACCAAGACTCCAGTTAAGATGTTTGAAT
 ATAGAATTTGCGTATTCTAGGTGGTATACAAGCACGTGTGTACGTTGTATATTTACCTAAATGTCGGTGG
 CGCACAAGGGGTGATTACAACCCGTTGACATCACGTGACGGTCTTTAATAGAGAAAAAATCGAGCGGG
 TGTTTTATTTCGCTGAACAAATGGGGACAGTTACCTCCTCTTGGATGGCCGATGATCATTCTGTTAAGTAGT
 CCTCGTGA AAAAGACGTTTTTGTGTTGATGTCGGCTGCTTGCTTCTCGATTGCAATATTTCCATTCTTCAA
 AGAATCCTTCGGGCAGAGTGCATGCTGAGATTTACGAATTCATGGCCATAGAGAATTGGAATCTCGACA
 GATTCGATCGATCGTAACCGAGTCGAGATTGTTTTTTTCTCTTTTGTATTTTCGAAATTTATGGAATCCT
 ATGAAAATATGACACGATGTTTTTCAATTATTAATTACGGTTTTTGCATAGTAATTGCGACAGTTTTCTATT
 TATCATGTTATTTTTCGTATCATTAAATGATATCATAATTTTATTATAATTAAGTATTTTCCAAAATTTTAT
 TTATTTAAATTAATTAAGATATATATATTATGATTATAAGGCGATCAAAAAATAAAAAATATGATAAAG
 AACATCCGTGCACACAGAGCATATAATGAAAGCAAAGAAAGGAAGCTCAAAATCAATGATTAATACTATTAA
 ATAAACGTAATATAATAATCTAAATTAATAAAGATCATTGATTAAATCTTGTTAAAAAGCGCGAATAT
 AAATCTTTTCGAAATTTTTTTCATCGGAAGAGAAAAAATAGGAGGACATAATTTCCACAATTTTTTATT
 TTAAGATTCTATAAAAAATGCACAAGATATCGACCGATTGAAAAATTTCAAATCGACGGACAAGACGAT
 TTTCTACACCGAGTATTCCTCTTTCGCTCCACGAGCACGATCACGGTGTAAATGGACAAGTAGACCTCGT
 TACGTGGCGTAACGTGGTGGTCGATTTTCTTGAAAGCGTGGCGTGACCGGTGCGTCCCGAGGAAAAA
 CTTTCTCAGGAGAAAGAGCATTGATCATCGACTCGGAGGAGGGGAAACTAAAGAATTCCGTTTTCTTTTC
 TTTCCCTTTTCTTTTCTTTCTTTCTTTAGCAACTTAGACCGTGAGACATCGCGTGATACGATGATAAT
 ATCCCTAAATGTGCGATTAGACGTTAAACCTAATCCCTAATTTACACGAACAATCGCAAAATCGTGAATAT
 CGAATAACAAAAGGGAAATCCAAAGAGTGCAGGTGAAGGCGTAAGAAAAGGGCGAGGGGGGAAAGAA
 CAAGAGAAAAAGTTGTTATTACGAAAGCCACAGACGAGGGCGTCAAAAAAAGAAAGGAAAAAATAAT
 GAAAGAGAGAAAAATCGTCTGCACGTATCTGTATAAAAAAATTACGTTAAGTCGCCTCCAATCTT
 CTTCCCATTTGACATTTAAAGCGCACACGAATCGTACAGGGCGCGTTACAGCGCGAGCCGAATACAAAA
 ACCTTGGCTCCTCGTGCATCGGCTCGTTCGTGATGCGTCGCGATCGCGTTTGAGGGAAGGAGAGGAAAA
 ATCGTTCTCTAATGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
 AAAAAA

Şekil 4.5. AmTYR1 (TR3 primeri) geni grafik dizisi.

Çizelge 4.10. AmTYR1 (TYR3 primeri) geninde dizi analizi sonucu elde edilen SNP'lerin kromatogram görüntüsü.

SNP	Kromatogram	Kromatogram	Kromatogram	Amino Asit
c.103-105 TGA>del				5'UTR
c.158 C>G				Aspartik asit > Glutamik asit
c.207 G>A				Valin > İzolösin
c.218 C>G				Sessiz (Silent)
c.248 G>C				Sessiz (Silent)
c.467 C>T				Sessiz (Silent)
c.956 C>T				Sessiz (Silent)
c.1063 C>T				Serin > Lösin
c.1133 A>G				Sessiz (Silent)
c.1187 C>T				Sessiz (Silent)
c.1211 G>A				Sessiz (Silent)
c.1277 G>A				Sessiz (Silent)



Şekil 4.6. Bir örnekte olup diğer örneklerde bulunmayan eklenmiş bazlar (a) ve kromatogram görüntüsü (b) (**c.532 Ins >42bp**).

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, 2020 yılında ETAE bünyesinde bulunan damızlık kolonilerden larva transferiyle ana arılar üretilmiş ve damızlık kolonilerin üretilmesi amacıyla ana arıların bulunduğu çiftleştirme kutuları Bozcaada'da bulunan ETAE arılığına götürülerek ana arıların çiftleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra bu damızlık ana arılardan oluşturulan 102 adet damızlık Efe Arısı kolonisinde pin-killed yöntemine göre 21 gün aralıkla toplamda 3 kez hijyenik testler yapılmış ve De Guzman et al. (2002)'in da belirtmiş olduğu üzere %95'in üzerinde hijyenik davranış gösteren koloniler yüksek hijyenik davranış kolonisi olarak, %95'in altında hijyenik davranış gösteren koloniler de düşük hijyenik davranış kolonisi olarak belirlenmiştir. Gramacho et. al. (1999), hijyenik davranış ölçümünde sıvı azot yöntemi uygulamasının güvenlik tedbirleri gerektirdiğini ve uygulama yaparken, sıvı azotun vücuda ciddi zarar vermesini önlemek için önleyici güvenlik kıyafetlerinin giyilmesi gerektiğini ifade etmiştir. Leclercq et. al. (2018), pin-killed yönteminin kısa zaman almasından dolayı büyük ölçekli ıslah işletmelerinde kullanımının uygun olduğunu bildirmiştir. Hijyenik davranış ile ilgili yapılan birçok bilimsel çalışmada da pin-killed yöntemi kullanılmıştır. Örneğin, Woyke et. al. (2004) yaptıkları çalışmada, büyük çaplı pin (0,75mm) ile delinerek hasar almış ve 0,30mm ile delinmeye göre daha fazla hemolenf sıvısı çıkarmış pupanın *Apis dorsata* tarafından kuluçkadan daha fazla pupa çıkartılmıştır, ancak freze-killed yönteminde sadece fiziksel hasar almış pupalar çıkartılmıştır. Dolayısıyla *Apis dorsata* hasar görmemiş kuluçkayı çıkarma eğiliminde olmamıştır. Nitekim Oskay vd. (2014) yaptıkları çalışmada, pin-killed yöntemiyle 24. saatteki hijyenik davranışı ölçerek hijyenik ve hijyenik olmayan kolonileri belirlemişlerdir. Palacio et. al. (2000) yaptıkları çalışmada, bal arısı kolonilerinin hijyenik davranış bakımından test edilmesinde pin-killed yöntemini kullanmışlardır. Yine Nicodemo et. al. (2013) yüksek propolis üreten hatların yüksek hijyenik davranış gösterdiğini pin-killed testiyle belirlemiştir. Bunun yanında Kekeçoğlu vd. (2015) yaptıkları çalışmada, pin-killed yöntemini kullanarak hijyenik davranışı belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında da yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren kolonilerin belirlenmesinde pin-killed yöntemi kullanılmıştır ve tüm pin-killed ölçümlerinde arı numuneleri tüplere koyularak toplanarak sıvı azot içerisine koyulmuş ardından -80 °C dolabına götürülerek muhafaza edilmiştir. Arı numunelerinin toplanmasında

Goode et al. (2006)'ın da belirttiği üzere 15-20 günlük işçi arıların hijyenik davranış olgusunu gerçekleştirmesinden dolayı bu çalışmada yavrulu alandaki işçi arıların analiz için toplanması sağlanmıştır.

Tüm ölçüm sonuçlarına göre rastgele olarak 5 adet yüksek hijyenik davranış kolonisi ve 5 adet düşük hijyenik davranış kolonisi belirlenerek SNP analizlerinde kullanılması kararlaştırılmıştır. Yapılan hijyenik davranış testinde Efe Arıları'nın hijyenik davranış yüzdesinin %100 ile %63 arasında değiştiği görülmüştür.

Yapılan çalışmalar gösteriyor ki bal arısı oktopamin reseptörünün duyuşal girdilerin işlenmesinde, davranışın ve öğrenmenin modüle edilmesinde ve hormon biyosentezinde rol oynamakta, ayrıca hücreşel sinyalleme süreçlerine katkıda bulunarak hijyenik davranışta rol oynamaktadır. Yine yapılan çalışmalarda, bal arılarındaki tyramine reseptörünün üreme davranışını, sosyal davranış ve duyuşal algıyı düzenlemenin yanı sıra tat ve koku alma duyarlılığını ve motor fonksiyonunu modüle etmede de rol oynadığı gösterilmiştir. Buna rağmen, bal arılarında Oktopamin ve Tyramine reseptöründe SNP'lerin belirlenmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılmıştır. Bu yüzden hijyenik davranışta Oktopamine ve Tyramine reseptörlerine odaklanılmış ve AmOA1 ve AmTYR1 reseptör genlerinde SNP'ler araştırılmaya çalışılmıştır.

Farooqui (2007b), çevredeki uyarılara ait bilgilerin böcek beynine iletilerek belirli davranışsal tepkilere neden olduğunu belirtmesinden ve hijyenik davranışın da bu tepkilerle oluşmasından dolayı, ayrıca Peng et al. (2021)'un da biyojenik amin reseptörlerinin arı beyninin farklı bölümlerinde ifade edildiğini belirtmesinden dolayı, RNA analizi için işçi arı kafaları kullanılmıştır.

Dizi analizine gönderilen numunelerde Oktopamin ve Tyramine reseptör genlerindeki SNP'ler belirlenmeye çalışılmış ve hijyenik davranış ıslahında kullanımının da belirlenebilmesi amacıyla yüksek hijyenik davranış ve düşük hijyenik davranış gösteren gruplarımız karşılaştırılmaya çalışılmıştır. Dizi analizi sonucunda Efe Arıları'nın AmOA1 (OR2 primeri) geninde 10 adet polimorfizm belirlenmiştir. İlk polimorfizm 4. eksonda 1725. bazda adenin bazının guanin bazına dönüşmesiyle gerçekleşmiş ve bu durum amino asit değişikliğine yol açarak

Treonin'in Alanin'e dönüşmesine neden olmaktadır. 6. eksonda 1961. bazda guanin bazı adenin bazına, 6. eksonda 2126. bazda sitozin bazı timin bazına, 6. eksonda 2153. bazda guanin bazı adenin bazına, 7. eksonda 2351. bazda guanin bazı adenin bazına, 8. eksonda 2552. bazda timin bazı sitozin bazına, 8. eksonda 2606. bazda guanin bazı adenin bazına, 9. eksonda 2734. bazda sitozin bazı timin bazına dönüşerek sessiz (silent) SNP yani aminoasit değişikliğine neden olmayan SNP oluşturmuştur. 2843. bazda ise adenin bazı guanin bazına dönüşmüştür, ancak bu dönüşüm 3'UTR bölgesinde gerçekleşmiştir. Ayrıca yüksek hijyenik davranış gösteren 1 örnekte de 7. eksonda 2291. bazdan itibaren 40 bazlık bir kısım eklenerek proteinin dizisinde değişikliğe neden olabildiği ve bu durumun da fenotipik olarak yansıma meydana getirebileceği düşünülmektedir. Bunun yanında, Efe Arısının F1'lerinde de yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren gruplar belirlenmiş ve işçi arı numuneleri toplanarak sırasıyla RNA izolasyonu - cDNA sentezi - PCR - Agaroz jel elektroforezi - DNA Dizileme analizi yapılmıştır ve eklenen baz bölgesi hariç olmak üzere tüm polimorfizmler (9 adet polimorfizm) aynı çıkmıştır.

Efe Arıları'nın AmTYR1 (TR3 primeri) geninde ise 1 ekson sekanslanabilmiştir ve 12 adet polimorfizm belirlenmiştir. İlk polimorfizm 103. bazda timin-guanin-adenin bazı delesyonu ile gerçekleşmiş ancak, bu delesyon 5'UTR bölgesinde bulunmaktadır. 158. bazda sitozin bazının guanin bazına dönüşmesiyle bu durum amino asit değişikliğine yol açarak Aspartik Asit'in Glutamik Asit'e dönüşmesine neden olmaktadır. 207. bazda guanin bazının adenin bazına dönüşmesiyle bu durum amino asit değişikliğine yol açarak Valin'in İzölozin'e dönüşmesine neden olmaktadır. 218. bazda sitozin bazı guanin bazına, 248. bazda guanin bazı sitozin bazına, 467. bazda sitozin bazı timin bazına, 956. bazda sitozin bazı timin bazına, 1133. bazda guanin bazı adenin bazına, 1187. bazda sitozin bazı timin bazına, 1063. bazda sitozin bazı timin bazına, 1133. bazda adenin bazı guanin bazına, 1187. bazda sitozin bazı timin bazına, 1211. bazda guanin bazı adenin bazına ve 1277. bazda guanin bazı adenin bazına dönüşerek sessiz (silent) SNP yani aminoasit değişikliğine neden olmayan SNP oluşturmuştur. Bunun yanında, Efe Arısının F1'lerinde de yüksek ve düşük hijyenik davranış gösteren gruplar belirlenmiş ve işçi arı numuneleri toplanarak sırasıyla RNA izolasyonu - cDNA sentezi - PCR - Agaroz jel elektroforezi - DNA Dizileme analizi yapılmıştır.

Eklenen baz bölgesi hariç olmak üzere tüm polimorfizmler (12 adet polimorfizm) aynı çıkmıştır ancak, yüksek hijyenik davranış gösteren 1 adet F1 örneğinde 42 bazlık bir bölgenin eklenerek proteinin dizisinde değişikliğe neden olabildiği ve bu durumun da fenotipik olarak yansıma meydana getirebileceği düşünülmektedir.

Dizileme analizlerinde UTR (Çevrilmeyen bölge; untranslated region) olarak ifade edilen bölgeler de bulunmaktadır. UTR'lerin, mRNA'nın kodlama bölgesinin yukarı akışında (5'UTR) ve aşağı akışında (3'UTR) bulunan mRNA dizisinin kodlamayan kısımlardan oluştuğu ifade edilmiştir (Reshetnikov et al., 2024). Genin protein kodlayan kısmının ATG kodonuyla başladığı ve genelde RNA polimerazın ise transkripsiyona bu kodonun üst tarafından başladığı ve bu bölgenin de 5'UTR olarak adlandırıldığı bildirilmiştir (Kavuncu, 2020). 5'UTR bölgesinin, yukarı akış açık okuma çerçeveleri (ORF'ler) (uORF'ler), dahili ribozom giriş bölgeleri, mikroRNA bağlanma bölgeleri ve mRNA stabilitesinin düzenlenmesinde, mRNA öncesi birleştirmede ve çeviri başlatılmasında rol oynayan yapısal bileşenler gibi birçok element içeren mRNA alanı olduğundan söz edilmiştir (Rycek et. al., 2023). Bir genin transkripsiyonunun sonunda proteine çevrilmeyen bölgeyle devam eden 3' UTR bölgesinin (Kavuncu, 2020) ise, mRNA lokalizasyonu, mRNA stabilitesi ve çeviri gibi mRNA bazlı süreçleri düzenlediği, 3'UTR aracılı protein-protein etkileşimleri (PPI'lar) oluşturabildiği dolayısıyla 3'UTR'lerde kodlanan genetik bilgiyi proteinlere aktarabildiği bu fonksiyonun da, protein kompleksi oluşumu veya translasyon sonrası modifikasyonlar dahil olmak üzere çeşitli protein özelliklerini düzenlediği aynı zamanda protein konformasyonlarını değiştirmesi de beklendiği ve bu nedenle 3'UTR aracılı bilgi aktarımının, amino asit dizisinde kodlanmayan protein özelliklerini düzenleyebildiği bildirilmiştir (Mayr, 2019). RNA polimerazın transkripsiyonun sona ermesi için, sonlandırma sinyali olarak davranan özel nükleotid dizilerini tanıması gerektiği ve sinyalin nükleotidlerle karşılaştığında, RNA Polimerazın RNA kalıptan ve transkripsiyon balonundan ayrılmaya başladığı belirtilmiştir (Kavuncu, 2020).

Oktopamin reseptör geni ile ilgili çalıştığımız reseptör geni olan AmOA1 ile ilgili bal arılarında SNP araştırmalarına ulaşamamış olup karşılaştırma yapılamamıştır, diğer yandan çalışılan oktopamin reseptör genleriyle ilgili de sınırlı sayıda SNP araştırmasına ulaşılmıştır. Spötter et. al., (2016) Varroa Destructor'a

karşı dirençle ilişkili 6 adet SNP'den 4 adet SNP için tanımladıkları aday genlerin içinde oktopamin reseptör beta-2R (octbeta2R, kromozom 7; SNP: AMB-00386078; nükleotid değişimi C>T) geni de bulunmaktaydı. Wallberg et. al., (2017) tarafından yapılan çalışmada, dağlık yerdeki ve ovada bulunan arılar arasındaki kromozom 7 üzerinde bulunan tüm oktopamin reseptörü (Oct β -R'ler) genlerini barındıran bölgede SNP'leri belirlemişlerdir.

Tyramine reseptör geni ile ilgili çalıştığımız reseptör geni olan AmTYR1 ile ilgili bal arılarında SNP araştırmalarına ulaşamamış olup karşılaştırma yapılamamıştır, diğer yandan çalışılan tyramine reseptör genleriyle ilgili de sınırlı sayıda SNP araştırmasına ulaşılmıştır. Latshaw et. al. (2023), bal arılarında gizli inhibisyon (gıda takviyesiyle ilişkili olmayan ancak deneyimlenen kokuya karşı geliştirilen engelleme) derecelerine göre yüksek ve düşük arı hatlarında AmTYR1 reseptör geniyle ilgili yaptıkları çalışmada 46 adet SNP belirlemişlerdir ve bu SNP'lerin eş anlamlı olarak ifade edilen sessis SNP olduğunu ifade etmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise sessiz SNP'lerin yanında aminoasitte değişikliğe neden olabilen SNP'ler de tespit edilmiştir.

Bal arısı kolonilerinde önemi olan hijyenik davranış konusunda yapılan tüm çalışmalar ve bu tez çalışması hijyenik davranışın genetik temelini olduğunu desteklemektedir. Bunun yanında AmOA1 ile ilgili SNP çalışmasına ulaşamaması ve AmTYR1 ile ilgili de 1 adet çalışmaya ulaşılması yapılan bu tez çalışmasının özgünlüğü açısından önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bal arısı kolonileri çok sayıda hastalık ve parazite maruz kalmakta, yetiştiriciler tarafından kontrol altına alınmadığı takdirde de arıların bağışıklık sistemi zayıflayarak koloninin üretkenliği ile verimi düşmektedir. Bu durum, arıların beslenme, üreme ve genel sağlık durumlarını olumsuz etkileyebilmektedir hatta koloniler sönme tehlikesiyle karşı karşıya kalabilmektedir. Yapılan kimyasal mücadeleler bal, balmumu ve polen gibi arı ürünlerinde kalıntıya neden olabilmekte, bu durum da tüketiciye sunulan bu ürünlerde kalıntı oluşturarak sağlık açısından risk oluşturabilmektedir. Bu nedenle arıcılıkta kullanılan kimyasal ürünlerin dikkatlice seçilmesi ve uygun şekilde kullanılması önemlidir. Bunun yanında organik veya doğal yöntemler de tercih edilerek arıların ve arı ürünlerinin kalitesi korunabilmektedir. Ayrıca, bal arılarının hastalık ve parazitlere karşı geliştirdiği doğal savunma davranışları da bulunmaktadır. Bu savunma davranışlarından olan hijyenik davranış hastalıklı, parazitlenmiş veya ölü kuluçkaların bal arıları tarafından belirlenip kuluçka gözünün açılması ve larvanın kovandan uzaklaştırılması şeklinde gerçekleştirilmektedir. Bu sayede hastalık ve parazitlerin koloni içerisinde yayılması önlenmiş olmaktadır. Bu davranış, arı kolonisinin sağlığını korumaya yardımcı olmakla birlikte koloni gücüne de katkı sağlamaktadır. Selektif üreme süreçlerinde hijyenik davranışa sahip bireylerin seçilmesi ile koloni sağlığı iyileştirilip hastalıklara karşı direnç artırılabilir. Bu sayede arıcılıkta daha dayanıklı ve sağlıklı arı populasyonlarının oluşturulması sağlanabilir.

Fenotipik ıslah, arıların belirli özelliklerini gözlemleyerek ve değerlendirerek yapılmaktadır. Ancak bu süreç genellikle yavaştır, çünkü arıların fenotipik özellikleri zaman içinde ortaya çıkar. Ayrıca arıların performansını etkileyen çok sayıda faktör bulunmaktadır. Hava koşulları, bitki örtüsü, hastalıklar, parazitler ve arıcının uygulamaları gibi birçok değişken fenotipik özellikleri etkileyebilir. Bu faktörlerin kontrol edilmesi veya izlenmesi zordur. Fenotipik özelliklerin gözlemlenmesi ve değerlendirilmesi konusundaki bireysel yargılar ve ölçümler arasındaki farklar, fenotipik ıslahın tekrarlanabilirliğini zorlaştırabilir. Bu nedenle, objektif ve tekrarlanabilir ölçüm yöntemleri kullanmak önemlidir. Bal arısı ıslahında genellikle birden çok özellik bir arada değerlendirilmelidir. Bu çoklu

özellikleri bir araya getirmek, fenotipik ıslahı karmaşık hale getirmektedir. Modern arıcılıkta genomik ıslah teknikleri gibi daha ileri teknolojiler, genetik materyalin daha etkili bir şekilde seçilmesine ve belirli özelliklerin daha hızlı bir şekilde iyileştirilmesine olanak tanımaktadır.

Bal arılarında hijyenik davranışla ilişkili genetik belirteçler, nöronal gelişim, duyuusal algı, koku tespiti, bağışıklık tepkileri ve çeşitli spesifik genler ve proteinlerin yanı sıra SNP belirteçleri ve niceliksel özellik lokuslarıyla ilgili genleri içermektedir. Seleksiyon süreçlerinde SNP'ler, bireyler arasındaki genetik farklılıkları temsil eden önemli unsurlardır. Selektif avantaj sağlayan SNP'ler, belirli özelliklere sahip bireylerin avantajlı genetik varyasyonlarını temsil edebilir. Bu avantajlı varyasyonlar, çeşitli faktörlere (örneğin, çevresel koşullar, hastalıklara karşı direnç) bağlı olarak bireylerin hayatta kalma ve üreme şanslarını artırabilir. SNP'ler, genetik çeşitlilik üzerinde etkili olduklarından, seleksiyon süreçlerinde popülasyonlardaki genetik değişimleri anlamak ve kullanmak için önemli bir araç olabilmekte ve genetik seleksiyon ile genetik iyileştirmelerde kullanılabilir.

Markör destekli seleksiyon, genetik materyalin belirli özellikler veya genetik işaretler (markörler) yardımıyla seçilmesini sağlayan bir üreme stratejisidir. Bu nedenle, genetik belirteçler kullanılarak yapılan seleksiyon ile istenilen genetik özelliklere sahip bireylerin belirlenmesi hızlı ve hassas bir şekilde olur. Bu sayede genetik iyileştirmeler daha hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir ve zaman tasarrufu sağlanabilir. Bu seleksiyon, birçok genetik özelliği aynı anda iyileştirmeyi mümkün kılabilir. Bu da genetik çeşitliliği koruyarak bir popülasyonun genel performansını artırabilir. Ayrıca, fenotipik değişkenliklere bağlı olarak ortaya çıkabilecek çevresel etkilerden de daha az etkilenir, bu da daha güvenilir sonuçlar elde edilmesine imkan sağlayabilir. Ülke arıcılığında genomik seleksiyon, arı ırklarının genetik iyileştirilmesi için önemli bir araç olabilir. Genomik seleksiyon, arıcılık endüstrisinde genetik iyileştirmeleri hızlandırarak daha dayanıklı, verimli ve istenilen genetik özelliklere sahip arı ırklarının yetiştirilmesine önemli bir katkıda bulunabilir ve genetik çeşitliliğin korunması ve istenmeyen genetik daralmaların önlenmesi açısından faydalı olabilir. Ayrıca, genetik iyileştirmelerin uygulanması sırasında elde edilen sonuçların istikrarı da belirlenerek uygun genetik seçim planları yapılmalıdır. Dolayısıyla, hijyenik davranış ile ilgili çeşitli genetik

süreçlerin belirlenmesi, bu süreçlerin etkilerinin çalışma planıyla değerlendirilmesi ve bu davranışın ıslahına önem verilmesi ülke arıcılığına katkı sunması ve ekonomik olarak kolonilerin iyileştirilebilmesi hususunda önem taşıyacağı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında, Efe Arısı'nda Oktopamin (AmOA1) ve Tyramine (AmTYR1) reseptör genlerindeki SNP'ler belirlenmeye çalışılmış ve hijyenik davranış ıslahında kullanım olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla damızlık Efe Arısı kolonilerinde hijyenik davranış testleri yapılmış ve yüksek hijyenik davranış gösteren 5 koloni ile düşük hijyenik davranış gösteren 5 koloniden toplanan toplam 60 adet işçi arı örneği dizi analizine alınmış ve çalışma sonunda AmOA1 ve AmTYR1 genlerindeki SNP'ler belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmayla tescilinden sonraki süreçte Efe Arısı'nın hijyenik davranış durumu da ortaya koyulmuştur. Her iki gende de belirlenen tüm polimorfizmler ve bulunan polimorfizmlerin bazılarının da aminoasitte nasıl bir değişiklik yaptığı da daha önce Efe Arısı'nda bildirilmemiştir. Bulunan SNP'lerin bir ıslah kriteri olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir, ancak buradaki polimorfizmlerin hijyenik davranışla ilişkisinin belirlenebilmesi için ileriki çalışmalarda daha fazla örnekle çalışılmasında fayda görülmektedir. Sonuçlar ülke arıcılığındaki ıslah çalışmalarına yol göstermesi açısından önemli katkılar sunmuştur. Dolayısıyla ortaya koyulan bu sonuçlar, bu konuda çalışma yapacaklara bir ön fikir vermesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akça, İ.**, 2019, "Böcek morfolojisi ve Fizyolojisi",
file:///C:/Users/admin/Downloads/B%C3%96CEK%20MORFOLOJ%C4%B0S%C4%B0%202019%20D.pdf (Erişim: 20 Ocak 2023).
- Akyol, E., Özkok, D., Öztürk, C. ve Bayram, A.**, 2005, Bazı saf ve melez bal arısı (*Apis mellifera* L.) kolonilerinin oğul eğilimi, yaşama gücü, kışlama yeteneği ve petek işleme etkinliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 4: 162-166 s.
- Ali, A. M., Lee, J. M., Yoshida, M., Sakashita, K., Torii, J., Kusakabe, T. and Hirashima, A.**, 2012, Expression and characterization of a recombinant *Drosophila* tyramine- β -hydroxylase in silkworm infected with recombinant baculovirus, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15(4):567-572 pp.
- Ankara Üniversitesi**, 2023, Böcek Sinir Sistemi,
https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/6387/mod_resource/content/0/11.%20B%C3%B6ceklerde%20Sinir%20Yap%C4%B1lar%C4%B1.pdf
(Erişim tarihi: 20 Ocak 2023).
- Aonuma, H. and Watanabe, T.**, 2012, Changes in the content of brain biogenic amine associated with early colony establishment in the Queen of the ant, *Formica japonica*, *PLoS ONE*, 7(8): e43377.
- Arakawa, S., Gocayne, J. D., McCombie, W. R., Urquhart, D. A., Hall, L. M., Fraser, C. M., and Venter, J. C.**, 1990, Cloning, localization, and permanent expression of a *Drosophila* octopamine receptor, *Neuron*, 4(3):343-354 pp.
- Arathi, H. S. and Spivak, M.**, 2001, Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behaviour in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Animal Behaviour*, 62(1):57-66 pp.
- Arathi, H. S., Ho, G. and Spivak, M.**, 2006, Inefficient task partitioning among nonhygienic honeybees, *Apis mellifera* L., and implications for disease transmission, *Animal Behaviour*, 72(2):431-438 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Arechavaleta-Velasco, M. E., Hunt, G. J., Spivak, M. and Camacho-Rea, C.,** 2011, Loci de rasgos binarios que influyen en la expresión del comportamiento higiénico de las abejas melíferas, *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(3):238-298 pp.
- Arenas, A., Lajad, R., Peng, T., Grüter, C. and Farina, W.,** 2021, Correlation between octopaminergic signalling and foraging task specialisation in honeybees, *Genes, Brain and Behavior*, 20(4):e12718.
- Argaç, D.,** 2009, SNaPshot Mini Sekanslama Tekniği Kullanılarak Mitokondriyal Dna'da Snp Lokuslarının Analizi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, 77s (yayımlanmamış).
- Arvan, R.,** 2006, Characterization Of Biogenic Amine Receptors And Their Physiological Roles in *Caenorhabditis elegans*, Master of Science, University of Toronto, 167p (unpublished).
- Balfanz, S., Jordan, N., Langenstück, T., Breuer, J., Bergmeier, V. and Baumann, A.,** 2014, Molecular, pharmacological, and signaling properties of octopamine receptors from honeybee (*Apis mellifera*) brain, *Journal of Neurochemistry*, 129(2):284-296 pp.
- Balhareth, H. M., Alqarni, A. S. and Owayss, A. A.,** 2012, Comparison of hygienic and grooming behaviors of indigenous and exotic honeybee (*Apis mellifera*) races in Central Saudi Arabia, *International Journal of Agriculture and Biology*, 14(6):1005-1008 pp.
- Baracchi, D., Fadda, A. and Turillazzi, S.,** 2012, Evidence for antiseptic behaviour towards sick adult bees in honey bee colonies, *Journal of Insect Physiology*, 58(12): 1589-1596 pp.
- Barron, A. B., and Robinson, G. E.,** 2005, Selective modulation of task performance by octopamine in honey bee (*Apis mellifera*) division of labour. *Journal of Comparative Physiology A*, 191(7):659-668 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Barron, A. B., Maleszka, J., Vander Meer, R. K., Robinson, G. E., and Maleszka, R.** 2007, Comparing injection, feeding and topical application methods for treatment of honeybees with octopamine, *Journal of Insect Physiology*, 53(2):187-194 pp.
- Barron, A., Schulz, D., and Robinson, G.,** 2002, Octopamine modulates responsiveness to foraging-related stimuli in honey bees (*Apis mellifera*), *Journal of Comparative Physiology A*, 188(8):603-610 pp.
- Başaran, M. M. ve Bacanlı, M.,** 2020, İlaçların neden olduğu tat ve koku alma bozuklukları, *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, 14(1):153-161 s.
- Bauer, D., Wegener, J. and Bienefeld, K.,** 2018, Recognition of mite-infested brood by honeybee (*Apis mellifera*) workers may involve thermal sensing, *Journal of Thermal Biology*, 74:311-316 pp.
- Bayliss, A., Roselli, G., and Evans, P. D.,** 2013, A comparison of the signalling properties of two tyramine receptors from *Drosophila*, *Journal of Neurochemistry*, 125(1):37-48 pp.
- Behrends, A. and Scheiner, R.,** 2012, Octopamine improves learning in newly emerged bees but not in old foragers, *Journal of Experimental Biology*, 215(7):1076-1083 pp.
- Bienefeld, K., Zautke, F. and Gupta, P.,** 2015, A novel method for undisturbed long-term observation of honey bee (*Apis mellifera*) behavior—illustrated by hygienic behavior towards varroa infestation, *Journal of Apicultural Research*, 54(5):541-547 pp.
- Bilgi, F.,** 2023. Kafkas (*Apis mellifera caucasica* G.), Karadeniz (*Apis mellifera* L.), Kafkas x Karadeniz bal arısı kolonilerinde genetik çeşitliliğin ve hijyenik davranış ile bağlantılı bazı SNP'lerin tespit edilmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 68s.
- Bischof, L. J. and Enan, E. E.,** 2004, Cloning, expression and functional analysis of an octopamine receptor from *Periplaneta americana*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(6):511-521 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Blenau, W. and Baumann, A.**, 2001, Molecular and pharmacological properties of insect biogenic amine receptors: lessons from *Drosophila melanogaster* and *Apis mellifera*, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 48(1):13-38 pp.
- Blenau, W. and Baumann, A.**, 2016, Octopaminergic and tyraminerbic signaling in the honeybee (*Apis mellifera*) brain: Behavioral, pharmacological, and molecular aspects, In *Trace Amines and Neurological Disorders*, Academic Press., 203-219 pp.
- Blenau, W.**, 2005, Cellular actions of biogenic amines, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 59:99-102 pp.
- Blenau, W., Balfanz, S., and Baumann, A.**, 2000, AmTYR1: characterization of a gene from honeybee (*Apis mellifera*) brain encoding a functional tyramine receptor, *Journal of Neurochemistry*, 74(3):900-908 pp.
- Blenau, W., Wilms, J. A., Balfanz, S., & Baumann, A.**, 2020. AmOcta2R: Functional characterization of a honeybee octopamine receptor inhibiting adenylyl cyclase activity. *International journal of molecular sciences*, 21(24): 1-18pp.
- Boecking, O., Bienefeld, K. and Drescher, W.**, 2000, Heritability of the Varroa-specific hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae), *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117(6):417-424 pp.
- Boutin, S., Alburaki, M., Mercier, P. L., Giovenazzo, P. and Derome, N.**, 2015, Differential gene expression between hygienic and non-hygienic honeybee (*Apis mellifera* L.) hives, *BMC Genomics*, 16(1):1-13 pp.
- Boutin, S., Alburaki, M., Mercier, P. L., Giovenazzo, P. and Derome, N.**, 2015, Differential gene expression between hygienic and non-hygienic honeybee (*Apis mellifera* L.) hives, *BMC Genomics*, 16(1):500 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Braza, M. K. E., Gazmen, J. D. N., Yu, E. T. and Nellas, R. B.,** 2019, Ligand-induced conformational dynamics of a tyramine receptor from *Sitophilus oryzae*. *Scientific Reports*, 9(1):1-14 pp.
- Brigaud, I., Grosmaître, X., François, M. C. and Jacquin-Joly, E.,** 2009, Cloning and expression pattern of a putative octopamine/tyramine receptor in antennae of the noctuid moth *Mamestra brassicae*, *Cell and Tissue Research*, 335(2):455-463 pp.
- Broeck, J. J. V.,** 1996, G-protein-coupled receptors in insect cells, *International Review of Cytology*, 164:189-268 pp.
- Büchler, R., Andonov, S., Bienefeld, K., Costa, C., Hatjina, F., Kezic, N., Kryger, P., Spivak, M., Uzunov, A. and Wilde, J.,** 2013, Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens, *Journal of Apicultural Research*, 52(1): 1-30 pp.
- Cabe, S. I. M., Ferro, M. W. B., Farina, W. M. and Hrcir, M.,** 2017, Dose- and time-dependent effects of oral octopamine treatments on the sucrose responsiveness in stingless bees (*Melipona scutellaris*), *Apidologie*, 48(1):1-7 pp.
- Cook, C. N., Lawson, S. P., Brent, C. S. and Rehan, S. M.,** 2019, Biogenic amines shift during the pre-reproductive to reproductive transition in the small carpenter bee, *Ceratina calcarata*, *Apidologie*, 50(1):90-99 pp.
- Çığlıdağ Düngül, D.,** 2011, Sporadik Kolorektal Kanser Vakalarında Genom Ebadında Tek Nükleotit Polimorfizm Profilinin Belirlenmesi İle Yeni Genetik Yatkınlık Genlerinin Ve Kanserin Gelişmesinde Etken Olan Genlerin Belirlenmesi, Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 110 s (yayımlanmamış).
- De Guzman, L. I., Rinderer, T. E., Stelzer, J. A., Beaman, L., Delatte, G. T. and Harper, C.,** 2002, Hygienic behavior by honey bees from far-eastern Russia, *American Bee Journal*, 142(1):58-60 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dimić, D., Milanović, Ž., Jovanović, G., Sretenović, D., Milenković, D., Marković, Z., and Marković, J. D.,** 2020, Comparative antiradical activity and molecular Docking/Dynamics analysis of octopamine and norepinephrine: the role of OH groups, *Computational Biology and Chemistry*, 84:107170.
- Doğaroğlu, M.,** 1981, Türkiye’de yetiştirilen önemli arı ırk ve tiplerinin “Çukurova Bölgesi” koşullarında performanslarının karşılaştırılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Yetiştirme Ana Bilim Dalı, Adana, Doktora Tezi, 84 s.
- Duportets, L., Barrozo, R. B., Bozzolan, F., Gaertner, C., Anton, S., Gadenne, C., and Debernard, S.,** 2010, Cloning of an octopamine/tyramine receptor and plasticity of its expression as a function of adult sexual maturation in the male moth *Agrotis ipsilon*, *Insect Molecular Biology*, 19(4):489-499 pp.
- Ebert, P. R., Rowland, J. E. and Toma, D. P.,** 1998, Isolation of seven unique biogenic amine receptor clones from the honey bee by library scanning, *Insect Molecular Biology*, 7(2):151-162 pp.
- Ekşi, M.,** 2019, SNP Mikroarray Yöntemi ile Kalıtsal Metabolik Hastalıklardan Sorumlu Genlerin Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 89s (yayımlanmamış).
- Elekonich, M. M. and Roberts, S. P.,** 2005, Honey bees as a model for understanding mechanisms of life history transitions, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 141(4):362-371 pp.
- El-Kholy, S., Stephano, F., Li, Y., Bhandari, A., Fink, C. and Roeder, T.,** 2015, Expression analysis of octopamine and tyramine receptors in *Drosophila*, *Cell and Tissue Research*, 361(3):669-684 pp.
- Enan, E. E.,** 2005, Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils, *Insect Biochemistry And Molecular Biology*, 35(4):309-321 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erden, B. F. ve Aksoy, T.**, 1995, G Protein Aracılı Sinyal İletimi, *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 2(3):298-303 s.
- Erspamer, V., and Boretti, G.**, 1951, Identification and characterization, by paper chromatography, of enteramine, octopamine, tyramine, histamine and allied substances in extracts of posterior salivary glands of Octopoda and in other tissue extracts of vertebrates and invertebrates, *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 88(3):296-332 pp.
- Ertuğrul, B. ve Küçükhüseyin, Ö.**, 2020, Genomdaki tek baz değişikliklerinin pertabanlı restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi tekniği ile tayini, *ÜCD Güncelleme Serileri, Moleküler Tıp Özel Sayısı*, 9(2):49-54 s.
- Fahrbach, S. E. and Mesce, K. A.**, 2005, “Neuroethoendocrinology”: integration of field and laboratory studies in insect neuroendocrinology, *Hormones and Behavior*, 48(4):352-359 pp.
- Farooqui, T.**, 2007a, Octopamine-mediated neuronal plasticity in honeybees: implications for olfactory dysfunction in humans, *The Neuroscientist*, 13(4):304-322 pp.
- Farooqui, T.**, 2007b, Octopamine-mediated neuromodulation of insect senses. *Neurochemical Research*, 32(9):1511-1529 pp.
- Farooqui, T.**, 2012, Review of octopamine in insect nervous systems. *Open Access Insect Physiology*, 4, 1.
- Farooqui, T., and Farooqui, A. A.**, 2010, Biogenic amines: pharmacological, neurochemical and molecular aspects in the CNS, *Nova Biomedical Books*.
- Farooqui, T., Vaessin, H., and Smith, B. H.**, 2004, Octopamine receptors in the honeybee (*Apis mellifera*) brain and their disruption by RNA-mediated interference. *Journal of Insect Physiology*, 50(8):701-713 pp.
- Finetti, L., Roeder, T., Calò, G. and Bernacchia, G.**, 2021, The insect type 1 tyramine receptors: from structure to behavior, *Insects*, 12(4):315 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fussnecker, B. L., Smith, B. H. ve Mustard, J. A.,** 2006, Octopamine and tyramine influence the behavioral profile of locomotor activity in the honey bee (*Apis mellifera*), *Journal of Insect Physiology*, 52(10):1083-1092 pp.
- Gainetdinov, R. R., Hoener, M. C., and Berry, M. D.,** 2018, Trace amines and their receptors, *Pharmacological Reviews*, 70(3):549-620 pp.
- Gerula, D., Węgrzynowicz, P., Panasiuk, B., Bieńkowska, M. and Skowronek, W.,** 2015, Hygienic behaviour of honeybee colonies with different levels of polyandry and genotypic composition, *Journal of Apicultural Science*, 59(2):107-113 pp.
- Goode, K., Huber, Z., Mesce, K. A. and Spivak, M.,** 2006, Hygienic behavior of the honey bee (*Apis mellifera*) is independent of sucrose responsiveness and foraging ontogeny, *Hormones and Behavior*, 49(3):391-397 pp.
- Gramacho, K. P., Gonçalves, L. S., Rosenkranz, P. and De Jong, D.,** 1999, Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior, *Apidologie*, 30(5):367-374.
- Gramacho, K. P. and Spivak, M.,** 2003, Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among honey bees bred for hygienic behavior, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 54(5):472-479 pp.
- Grohmann, L., Blenau, W., Erber, J., Ebert, P. R., Strünker, T., and Baumann, A.,** 2003, Molecular and functional characterization of an octopamine receptor from honeybee (*Apis mellifera*) brain. *Journal of Neurochemistry*, 86(3):725-735 pp.
- Guo, X., Wang, Y., Sinakevitch, I., Lei, H., and Smith, B. H.,** 2018, Comparison of RNAi knockdown effect of tyramine receptor 1 induced by dsRNA and siRNA in brains of the honey bee, *Apis mellifera*, *Journal of Insect Physiology*, 111:47-52 pp.
- Guzmán-Novoa, E., Prieto-Merlos, D., Uribe-Rubio, J. L. and Hunt, G.J.,** 2003, Relative reliability of four field assays to test defensive behaviour of honey bees (*Apis mellifera*), *Journal of Apicultural Research*, 42(3): 42-46 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Güleç, T. E., Yıldırım, A. ve Sönmezoğlu, Ö. A.,** 2010, Bitkilerde markör destekli seleksiyon, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2):67-79 s.
- Hana, S.,** 2017, The Role of Octopamine and Tyramine in the Adult Female Reproductive System of *Rhodnius prolixus*, Doctoral dissertation, University of Toronto (Canada), 126p (unpublished).
- Harpur, B. A., Guarna, M. M., Huxter, E., Higo, H., Moon, K. M., Hoover, S. E., Ibrahim, A., Melathopoulos, A.P., Desai, S., Currie, R.W., Pernal, S.F., Foster, L.J. and Zayed, A.,** 2019, Integrative genomics reveals the genetics and evolution of the honey bee's social immune system, *Genome Biology and Evolution*, 11(3):937-948 pp.
- Harris, J. W., and Woodring, J.,** 1992, Effects of stress, age, season, and source colony on levels of octopamine, dopamine and serotonin in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brain. *Journal of Insect Physiology*, 38(1):29-35 pp.
- Hauser, F., Cazzamali, G., Williamson, M., Blenau, W. and Grimmelikhuijzen, C. J.,** 2006, A review of neurohormone GPCRs present in the fruitfly *Drosophila melanogaster* and the honey bee *Apis mellifera*, *Progress in Neurobiology*, 80(1):1-19 pp.
- Hillier, N. K. and Kavanagh, R. M.,** 2015, Differential octopaminergic modulation of olfactory receptor neuron responses to sex pheromones in *Heliothis virescens*, *PLoS One*, 10(12):e0143179.
- Hoyer, S. C., Liebig, J. and Rössler, W.,** 2005, Biogenic amines in the ponerine ant *Harpegnathos saltator*: serotonin and dopamine immunoreactivity in the brain, *Arthropod Structure & Development*, 34(4):429-440 pp.
- Invernizzi, C., Rivas, F. and Bettucci, L.,** 2011, Resistance to chalkbrood disease in *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) colonies with different hygienic behaviour, *Neotropical Entomology*, 40:28-34 pp.
- Ishida, Y., and Ozaki, M.,** 2011, A putative octopamine/tyramine receptor mediating appetite in a hungry fly, *Naturwissenschaften*, 98(7):635-638 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ji, P., Xu, F., Huang, B., Li, Y., Li, L. and Zhang, G.**, 2016, Molecular characterization and functional analysis of a putative octopamine/tyramine receptor during the developmental stages of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, *Plos one*, 11(12):e0168574.
- Ji, T., Yin, L., Liu, Z., Shen, F. and Shen, J.**, 2014, High-throughput sequencing identification of genes involved with *Varroa destructor* resistance in the eastern honeybee, *Apis cerana*, *Genet Mol Res*, 13:9086-9096 pp.
- Kaczer, L., and Maldonado, H.**, 2009, Contrasting role of octopamine in appetitive and aversive learning in the crab *Chasmagnathus*, *PLoS One*, 4(7): e6223.
- Kalendar R, Lee D. and Schulman A.H.**, 2009, FastPCR Software for PCR primer and probe design and repeat search, *Genes. Genomes and Genomics*, 3(1): 1-14 pp.
- Karaca, Ü. ve Özmen, Ö.**, 2012, Bal arılarının (*Apis mellifera* L.) izole koşullarda çiftleştirilmesi üzerine bir araştırma, *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22(1): 45-53 pp.
- Kastner, K. W., Shoue, D. A., Estiu, G. L., Wolford, J., Fuerst, M. F., Markley, L. D., Izaguirre, J. A. and McDowell, M. A.**, 2014, Characterization of the *Anopheles gambiae* octopamine receptor and discovery of potential agonists and antagonists using a combined computational-experimental approach, *Malaria Journal*, 13(1):1-14 pp.
- Kavuncu, O.**, 2020, “Genetik ders notları”, https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/144871/mod_resource/content/0/11_hafta_genetik_%C5%9Fifre_ve_RNA_molek%C3%BCI%C3%BCn%C3%BCn_transkripsiyonu.pdf (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2024).
- Kekeçoğlu, M., Rasgele, P. G., Burğut, A., Kambur, M.**, 2015, Yığılca balarısı (*Apis mellifera* L.)’nın hijyenik davranış bakımından performanslarının belirlenmesi ve geliştirilmesi, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 15(2):47-59 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khan, K. A. and Ghramh, H. A.**, 2021, An investigation of the efficacy of hygienic behavior of various honey bee (*Apis mellifera*) races toward *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) mite infestation, *Journal of King Saud University-Science*, 33(3):101393 pp.
- Kim, J. S., Kim, M. J., Kim, H. K., Vung, N. N. and Kim, I.**, 2019a, Development of single nucleotide polymorphism markers specific to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) line displaying high hygienic behavior against *Varroa destructor*, an ectoparasitic mite, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(4):1031-1039 pp.
- Kim, J. S., Wang, A. R., Kim, M. J., Lee, K. H. and Kim, I.**, 2019b, Single-nucleotide polymorphism markers in mitochondrial genomes for identifying *Varroa destructor*-resistant and-susceptible strains of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), *Mitochondrial DNA Part A*, 30(3):477-489 pp.
- Kononenko, N.L., Wolfenberg, H., and Pflüger H-J.**, 2009, Tyramine as an independent transmitter and a precursor of octopamine in the locust central nervous system: *An Immunocytochemical Study. The Journal of Comparative Neurology*, 512:433-452.
- Kuo, H. W. and Cheng, W.**, 2021, Cloning and characterization of tyrosine decarboxylase (TDC) from *Litopenaeus vannamei*, and its roles in biogenic amines synthesis, immune regulation, and resistance to *Vibrio alginolyticus* by RNA interference, *Developmental & Comparative Immunology*, 123:104167.
- Küçükaya, B. ve Kan, B.**, 2007, Heterotrimerik G proteinleri, *Türk Biyokimya Dergisi*, 32(1):39-50 pp.
- Laidlaw, H. H.**, 1979, Contemporary Queen Rearing, Hamilton, Illinois: Dadant and Sons, 199 p.
- Lange, A. B.**, 2009, Tyramine: from octopamine precursor to neuroactive chemical in insects, *General and Comparative Endocrinology*, 162(1):18-26 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lapidge, K. L., Oldroyd, B. P. and Spivak, M.,** 2002, Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees, *Naturwissenschaften*, 89(12):565-568 pp.
- Latshaw, J. S., Mazade, R. E., Petersen, M., Mustard, J. A., Sinakevitch, I., Wissler, L., Guo, X., Cook, C., Lei, H., Gadau, J. and Smith, B.,** 2023, Tyramine and its Amtyr1 receptor modulate attention in honey bees (*Apis mellifera*), *Elife*, 12, e83348.
- Lazarov, S. and Zhelyazkova, I.,** 2017, Hygienic behaviour of bee colonies and total protein content in the haemolymph of worker bees (*Apis mellifera* L.), *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(1):156-161 pp.
- Lazarov, S. B., Veleva, P. and Zhelyazkova, I.,** 2020, Statistical models for assessing the influence of hygienic behaviour of worker bees on the level of lysozyme and total protein content in their haemolymph, *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(2):365-373 pp.
- Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N. and Blacqui re, T.,** 2018, Bioassays to quantify hygienic behavior in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies: a review, *Journal of Apicultural Research*, 57(5):663-673 pp.
- Lee, H. G.,** 2008, Roles of the Octopamine Receptor OAMB in Associative Learning, Memory, and Reproduction in *Drosophila melanogaster* Doctor of Philosophy, The Pennsylvania State University The Graduate School The Huck Institute Genetics Graduate Program, 124p (unpublished).
- Lee, S., Lim, S., Choi, Y. S., Lee, M. L. and Kwon, H. W.,** 2020, Volatile disease markers of American foulbrood-infected larvae in *Apis mellifera*, *Journal of Insect Physiology*, 122:104040 pp.
- Lehman, H. K., Schulz, D. J., Barron, A. B., Wraight, L., Hardison, C., Whitney, S., Takeuchi, H., Paul, R.K. and Robinson, G. E.,** 2006, Division of labor in the honey bee (*Apis mellifera*): The role of tyramine β -hydroxylase, *Journal of Experimental Biology*, 209(14):2774-2784 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Leitch, B., Judge, S. and Pitman, R. M.**, 2003, Octopaminergic Modulation of Synaptic Transmission between an Identified Sensory Afferent and Flight Motoneuron in the Locust. *The Journal of Comparative Neurology*, 462:55-70 pp.
- Li, H. M., Jiang, H. B., Gui, S. H., Liu, X. Q., Liu, H., Lu, X. P., Smagghe, G. and Wang, J. J.**, 2016, Characterization of a β -adrenergic-like octopamine receptor in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *International journal of molecular sciences*, 17(10):1577 pp.
- Liendo, M. C., Muntaabski, I., Russo, R. M., Lanzavecchia, S. B., Segura, D. F., Palacio, M. A., Cladera, J.L., Fernández, P. C. and Scannapieco, A. C.**, 2021, Temporal changes in volatile profiles of Varroa destructor-infested brood may trigger hygienic behavior in *Apis mellifera*, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 169(6):563-574 pp.
- Liu, N., Wang, Y., Li, T. and Feng, X.**, 2021a, G-protein coupled receptors (GPCRs): signaling pathways, characterization, and functions in insect physiology and toxicology, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10):5260.
- Liu, T., Zhan, X., Yu, Y., Wang, S., Lu, C., Lin, G., Zhu, X., He, W., You, M. and You, S.**, 2021b, Molecular and pharmacological characterization of biogenic amine receptors from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, *Pest Management Science*, 77(10):4462-4475 pp.
- Ma, H., Huang, Q., Lai, X., Liu, J., Zhu, H., Zhou, Y., Deng, X. and Zhou, X.**, 2019, Pharmacological properties of the type 1 tyramine receptor in the Diamondback moth, *Plutella xylostella*, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12):2953 pp.
- Marzioğlu Özdemir, E.**, 2013. Gamma-Aminobütirik Asit B Reseptör 2 (Gabbr2) gen polimorfizmlerinin auralı migren ile ilişkisi. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, 202s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Masterman, R. M.**, 2000, Neuroethology of Honey Bee (*Apis mellifera*) Hygienic Behavior, Doctor of Philosophy University of Minnesota, 214 p, (unpublished).
- Masterman, R., Smith, B. H. and Spivak, M.**, 2000, Brood odor discrimination abilities in hygienic honey bees (*Apis mellifera* L.) using proboscis extension reflex conditioning, *Journal of Insect Behavior*, 13(1):87-101 pp.
- Maucourt, S., Fortin, F., Robert, C. and Giovenazzo, P.**, 2021, Genetic progress achieved during 10 years of selective breeding for honeybee traits of interest to the beekeeping industry, *Agriculture*, 11(6):535 pp.
- Mayr, C.**, 2019, What are 3' UTRs doing?. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 11(10):a034728.
- McAfee, A., Chapman, A., Iovinella, I., Gallagher-Kurtzke, Y., Collins, T. F., Higo, H., Madilao, L.L., Pelosi, P. and Foster, L. J.**, 2018, A death pheromone, oleic acid, triggers hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.), *Scientific Reports*, 8(1):1-13 pp.
- McAfee, A., Collins, T. F., Madilao, L. L. and Foster, L. J.**, 2017, Odorant cues linked to social immunity induce lateralized antenna stimulation in honey bees (*Apis mellifera* L.), *Scientific Reports*, 7(1):1-12 pp.
- McQuillan, H. J., Barron, A. B., & Mercer, A. R.**, 2012a, Age-and behaviour-related changes in the expression of biogenic amine receptor genes in the antennae of honey bees (*Apis mellifera*), *Journal of Comparative Physiology A*, 198(10):753-761 pp.
- McQuillan, H. J., Nakagawa, S., and Mercer, A. R.**, 2012b, Mushroom bodies of the honeybee brain show cell population-specific plasticity in expression of amine-receptor gene, *Learning & Memory*, 19(4):151-158 pp.
- Molaei, G., Paluzzi, J. P., Bendena, W. G. and Lange, A. B.**, 2005, Isolation, cloning, and tissue expression of a putative octopamine/tyramine receptor from locust visceral muscle tissues, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 59(3):132-149 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Monastirioti, M.**, 1999, Biogenic amine systems in the fruit fly *Drosophila melanogaster*, *Microscopy Research and Technique*, 45(2):106-121 pp.
- Morfin, N., Goodwin, P. H., Correa-Benitez, A. and Guzman-Novoa, E.**, 2019, Sublethal exposure to clothianidin during the larval stage causes long-term impairment of hygienic and foraging behaviours of honey bees, *Apidologie*, 50(5):595-605 pp.
- Moritz, R. F. A.**, 1988, A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.), *Journal of Heredity*, 79(4):257-262 pp.
- Mustard, J. A., Kurshan, P. T., Hamilton, I. S., Blenau, W., and Mercer, A. R.**, 2005, Developmental expression of a tyramine receptor gene in the brain of the honey bee, *Apis mellifera*, *Journal of Comparative Neurology*, 483(1):66-75 pp.
- Nicodemo, D., De Jong, D., Couto, R. H. N., Malheiros, B.**, 2013, Honey bee lines selected for high propolis production also have superior hygienic behavior and increased honey and pollen stores, *Genetics and Molecular Research*, 12(4):6931-6938 pp.
- Northrup, E.**, 2016, Differential Gene Expression Of Minnesota (MN) Hygienic Honeybees (*Apis Mellifera*) Performing Hygienic Behavior, Degree of Masters of Science in Biological Sciences, Minnesota State University, Mankato, 104 p.
- Ohta, H.**, 2009, Molecular pharmacology on insect biogenic amines, *Journal of Pesticide Science*, 34(3):196-202 pp.
- Oldroyd, B. P. and Thompson, G. J.**, 2006, Behavioural genetics of the honey bee *Apis mellifera*, *Advances in Insect Physiology*, 33:1-49 pp.
- Orchard, I.**, 1982, Octopamine in insects: neurotransmitter, neurohormone, and neuromodulator, *Canadian Journal of Zoology*, 60(4):659-669 pp.
- Osborne, R. H.**, 1996, Insect neurotransmission: neurotransmitters and their receptors, *Pharmacology & therapeutics*, 69(2):117-142 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oskay, D., Kence, A., Kence, M., Doğaroğlu, M. ve Tunca, R. İ.,** 2014, Muğla bal arısında (*Apis mellifera anatoliaca*) varroaya karşı ıslah kolonilerinin geliştirilmesi ve yetiştirilmesi, (TAGEM/ 15 / AR-GE /19), 2015-2018.
- Oxley, P. R., Spivak, M. and Oldroyd, B. P.,** 2010, Six quantitative trait loci influence task thresholds for hygienic behaviour in honeybees (*Apis mellifera*). *Molecular Ecology*, 19(7):1452-1461 pp.
- Palacio, M. A., Figini, E. E., Ruffinengo, S. R., Rodriguez, E. M., del Hoyo, M. L. and Bedascarrasbure, E. L.,** 2000, Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance, *Apidologie*, 31(4):471-478 pp.
- Palacio, M. A., Figini, E. E., Ruffinengo, S. R., Rodriguez, E. M., Hoyo, M. L. and Bedascarrasbure, E. L.,** 2000, Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behavior and its relation to brood disease tolerance, *Apidologie*, 31:471–478 pp.
- Peng, T., Derstroff, D., Maus, L., Bauer, T. and Grüter, C.,** 2021, Forager age and foraging state, but not cumulative foraging activity, affect biogenic amine receptor gene expression in the honeybee mushroom bodies, *Genes, Brain and Behavior*, 20(4):e12722.
- Petersen, M. M.,** 2017, The Role of the Biogenic Amine Tyramine in Latent Inhibition Learning in the Honey Bee, *Apis mellifera*. Master of Science, Arizona State University, 28 p, (unpublished).
- Pflüger, H. J., and Stevenson, P. A.,** 2005, Evolutionary aspects of octopaminergic systems with emphasis on arthropods, *Arthropod Structure & Development*, 34(3):379-396.
- Pinto, F. A., Puker, A., Barreto, L.M.R.C. and Message, D.,** 2012, The ectoparasite mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman in southeastern Brazil apiaries: effects of the hygienic behavior of Africanized honey bees on infestation rates, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 64(5):1194-1199 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Protas, D.**, 2014, Calcium-mediated excitation and plasticity in primary olfactory pathways of the honey bee antennal lobe, Arizona State University. Degree Doctor of Philosophy.
- Qi, Y. X., Wang, L. and Lu, Y. Y.**, 2018, Biogenic amine signaling systems in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*—possible contributors to worker division of labor, *General and Comparative Endocrinology*, 262:59-70 pp.
- Rasolofoarivao, H., Delatte, H., Raveloson-Ravaomanarivo, L. H., Reynaud, B. and Clémencet, J.**, 2015, Assessing hygienic behavior of *Apis mellifera unicolor* (Hymenoptera: Apidae), the endemic honey bee from Madagascar, *Genetics and Molecular Research*, 14(2) :5879-5889 pp.
- Reim, T. and Scheiner, R.**, 2014, Division of labour in honey bees: age-and task-related changes in the expression of octopamine receptor genes, *Insect Molecular Biology*, 23(6):833-841 pp.
- Reim, T., Balfanz, S., Baumann, A., Blenau, W., Thamm, M. and Scheiner, R.**, 2017, AmTAR2: functional characterization of a honeybee tyramine receptor stimulating adenylyl cyclase activity, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 80:91-100 pp.
- Rein, J., Mustard, J. A., Strauch, M., Smith, B. H., and Galizia, C. G.**, 2013, Octopamine modulates activity of neural networks in the honey bee antennal lobe. *Journal of Comparative Physiology A*, 199(11):947-962 pp.
- Reshetnikov, V., Terenin, I., Shepelkova, G., Yermeev, V., Kolmykov, S., Nagornykh, M., Kolosova, E., Sokolova, T., Zaborova, O., Kukushkin, I., Kazakova, A., Kunyk, D., Kirshina, A., Vasileva, O., Seregina, K., Pateev, I., Kolpakov, F. and Ivanov, R.**, 2024, Untranslated Region Sequences and the Efficacy of mRNA Vaccines against Tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2): 888.
- Rinderer, T. E.**, 1986, Bee Genetics and Breeding, Academic Press, London, 442 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Roeder, T., Seifert, M., Kähler, C. and Gewecke, M.,** 2003, Tyramine and octopamine: antagonistic modulators of behavior and metabolism, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 54(1):1-13 pp.
- Rothenbuhler, W. C.,** 1964, Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood, *American Zoologist*, 4(2):111-123 pp.
- Ryczek, N., Łyś, A. and Makalowska, I.,** 2023, The functional meaning of 5'UTR in protein-coding genes, *Int J Mol Sci.*, 24(3):2976.
- Saudou, F., Amlaiky, N., Plassat, J. L., Borrelli, E., and Hen, R.,** 1990, Cloning and characterization of a *Drosophila* tyramine receptor, *The EMBO Journal*, 9(11):3611-3617 pp.
- Scannapieco, A. C., Lanzavecchia, S. B., Parreño, M. A., Liendo, M. C., Cladera, J. L., Spivak, M. and Palacio, M. A.,** 2016, Individual precocity, temporal persistence and task specialization of hygienic bees from selected colonies of *Apis Mellifera*, *J. Apic. Sci.*, 60(1):63-74 pp.
- Scannapieco, A. C., Mannino, M. C., Soto, G., Palacio, M. A., Cladera, J. L. and Lanzavecchia, S. B.,** 2017, Expression analysis of genes putatively associated with hygienic behavior in selected stocks of *Apis mellifera* L. from Argentina, *Insectes Sociaux*, 64(4):485-494 pp.
- Scheiner, R., Baumann, A. and Blenau, W.,** 2006, Aminergic control and modulation of honeybee behaviour, *Current Neuropharmacology*, 4(4):259-276 pp.
- Scheiner, R., Plückhahn, S., Öney, B., Blenau, W. and Erber, J.,** 2002, Behavioural pharmacology of octopamine, tyramine and dopamine in honey bees. *Behavioural Brain Research*, 136(2):545-553 pp.
- Schendzielorz, T., Schirmer, K., Stolte, P., and Stengl, M.,** 2015, Octopamine regulates antennal sensory neurons via daytime-dependent changes in cAMP and IP3 levels in the hawkmoth *Manduca sexta*, *PLoS One*, 10(3):e0121230.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Schilcher, F., Thamm, M., Strube-Bloss, M. and Scheiner, R.**, 2021, Opposing actions of octopamine and tyramine on honeybee vision, *Biomolecules*, 11(9):1374.
- Schöning, C., Gisder, S., Geiselhardt, S., Kretschmann, I., Bienefeld, K., Hilker, M. and Genersch, E.**, 2012, Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards Varroa destructor-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*, *Journal of Experimental Biology*, 215(2):264-271 pp.
- Schröter, U., Malun, D., and Menzel, R.**, 2007, Innervation pattern of suboesophageal ventral unpaired median neurones in the honeybee brain, *Cell And Tissue Research*, 327(3):647-667 pp.
- Schulz, D. J., Barron, A. B. and Robinson, G. E.**, 2002, A role for octopamine in honey bee division of labor, *Brain, Behavior and Evolution*, 60(6):350-359 pp.
- Schulz, D. J., Elekonich, M. M., and Robinson, G. E.**, 2003, Biogenic amines in the antennal lobes and the initiation and maintenance of foraging behavior in honey bees, *Journal of Neurobiology*, 54(2):406-416 pp.
- Shorter, J. R., Arechavaleta-Velasco, M., Robles-Rios, C. and Hunt, G. J.**, 2012, A genetic analysis of the stinging and guarding behaviors of the honeybee, *Behavior Genetics*, 42(4):663-674 pp.
- Sinakevitch, I. T., Daskalova, S. M. and Smith, B. H.**, 2017, The biogenic amine tyramine and its receptor (AmTYR1) in olfactory neuropils in the honey bee (*Apis mellifera*) brain, *Frontiers in Systems Neuroscience*, 11(77):1-19 pp.
- Sinakevitch, I., Mustard, J. A., and Smith, B. H.**, 2011, Distribution of the octopamine receptor AmOA1 in the honey bee brain, *PloS one*, 6(1): e14536.
- Sönmezoğlu, Ö. A., Yıldırım, A. ve Güleç, T. E.**, 2010, Tek nükleotid farklılıkları (SNP) ve buğdayda kullanımı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2):55-66s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Spivak, M. and Danka, R. G.**, 2021, Perspectives on hygienic behavior in *Apis mellifera* and other social insects, *Apidologie*, 52(1):1-16 pp.
- Spivak, M. and Reuter, G. S.**, 2001, Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior, *Apidologie*, 32(6):555-565 pp.
- Spivak, M.**, 1996, Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*, *Apidologie*, 27(4):245-260 pp.
- Spivak, M., Masterman, R., Ross, R. and Mesce, K. A.**, 2003, Hygienic behavior in the honeybee (*Apis mellifera* L.) and the modulatory role of octopamine, *Journal of Neurobiology*, 55(3): 341-354 pp.
- Spötter, A., Gupta, P., Nürnberg, G., Reinsch, N. and Bienefeld, K.**, 2012, Development of a 44K SNP assay focussing on the analysis of a varroa-specific defence behaviour in honey bees (*Apis mellifera carnica*), *Molecular Ecology Resources*, 12(2):323-332.
- Spötter, A., Gupta, P., Mayer, M., Reinsch, N. and Bienefeld, K.**, 2016, Genome-wide association study of a Varroa-specific defense behavior in honeybees (*Apis mellifera*), *Journal of Heredity*, 107(3):220-227 pp.
- Stern, M.**, 1999, Octopamine in the locust brain: cellular distribution and functional significance in an arousal mechanism, *Microscopy Research and Technique*, 45(3):135-141 pp.
- Szczuka, A., Korczyńska, J., Wnuk, A., Symonowicz, B., Szwacka, A. G., Mazurkiewicz, P., Kostowski, W. and Godzińska, E. J.**, 2013, The effects of serotonin, dopamine, octopamine and tyramine on behavior of workers of the ant *Formica polyctena* during dyadic aggression tests, *Acta Neurobiol Exp*, 73(4):495-520 pp.
- Şahin Negiş, İ., Kibar, M. and Aytekin, İ.**, 2024, The association between Clal polymorphism and hygienic behavior in *Apis mellifera*, *Turkish Journal of Zoology*, 48(1):47-53 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Şahin, Ö. ve Boztepe, S.**, 2021, Beta-Kazein Geninde A1 ve A2 Sütü Belirlenmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler, II. International Hazar Scientific Researches Conference, April 10-12, 2021, Baku, Azerbaijan, Khazar University, 216-227 s.
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı**, 2012, Mevzuat; Ana Arı Yetiştiriciliği Talimatnamesi (15.02.2012 tarih ve B.12.0.HGM.0.02.125.02.03-0002 sayılı Makam Olur'u). https://www.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Mevzuat/Talimatlar/TalimatAnaari_talimatnamesi.pdf (Son erişim tarihi: 20 Şubat 2020).
- Teixeira, É. W., de Paiva Daibert, R. M., Glatzl Junior, L. A., da Silva, M. V. G. B., Alves, M. L. T. M. F., Evans, J. D. and Toth, A. L.**, 2021, Transcriptomic analysis suggests candidate genes for hygienic behavior in African-derived *Apis mellifera* honeybees, *Apidologie*, 52(2):447-462 pp.
- Thamm, M., Scholl, C., Reim, T., Grübel, K., Möller, K., Rössler, W. and Scheiner, R.**, 2017, Neuronal distribution of tyramine and the tyramine receptor AmTAR1 in the honeybee brain, *Journal of Comparative Neurology*, 525(12):2615-2631 pp.
- Thamm, M., Wagler, K., Brockmann, A., and Scheiner, R.**, 2021, Tyramine 1 receptor distribution in the brain of corbiculate bees points to a conserved function, *Brain, Behavior and Evolution*, 96(1):13-25 pp.
- Turan, M. K.**, 2011, Dizisi Bilinen Proteinlerin 3d Benzetim Modellerinin Kurulması Ve Modelin Etkili Snp'lerin Saptanmasında Kullanılması, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 240 s, (yayımlanmamış).
- Verlinden, H., Vleugels, R., Marchal, E., Badisco, L., Pflüger, H. J., Blenau, W. and Broeck, J. V.**, 2010, The role of octopamine in locusts and other arthropods. *Journal of Insect Physiology*, 56(8):854-867 pp.
- Wagener-Hulme, C., Kuehn, J. C., Schulz, D. J., and Robinson, G. E.**, 1999, Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies, *Journal of Comparative Physiology A*, 184(5):471-479 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wagoner, K. M.**, 2015, An Investigation of the Relationships Between Common Stressors, Brood-Signaling, Hygienic Behavior, and Selective Breeding in the Honey Bee (*Apis mellifera*), Directed by Dr. Olav Rueppell, The Faculty of The Graduate School at The University of North Carolina at Greensboro in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctor of Philosophy, Greensboro, 165 p.
- Wagoner, K. M., Millar, J. G., Schal, C. and Rueppell, O.**, 2020, Cuticular pheromones stimulate hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera*), *Scientific Reports*, 10(1): 1-11 pp
- Wallberg, A., Schoening, C., Webster, M. T. and Hasselmann, M.**, 2017, Two extended haplotype blocks are associated with adaptation to high altitude habitats in East African honeybees, *PLoSgenetics*, 13(5):e1006792.
- Wang, Y., Amdam, G. V., Daniels, B. C., and Page Jr, R. E.**, 2020, Tyramine and its receptor TYR1 linked behavior QTL to reproductive physiology in honey bee workers (*Apis mellifera*), *Journal of Insect Physiology*, 126:104093.
- Wielewski, P., de Toledo, V.d.A.A., Martins, A.N., Costa-Maia, F.M., Faquinello, P., Lino-Lourenço, D.A., Ruvolo-Takasusuki, M. C. C., Toledo, V. A. and Lopes, D. A.**, 2012, Relationship between hygienic behavior and Varroa destructor mites in colonies producing honey or royal jelly, *Sociobiology*, 59(1):251-274 pp.
- Woyke, J., Wilde, J. and Reddy, C. C.**, 2004, Open-air-nesting honey bees *Apis dorsata* and *Apis laboriosa* differ from the cavity-nesting *Apis mellifera* and *Apis cerana* in brood hygiene behaviour, *Journal of Invertebrate Pathology*, 86(1-2):1-6 pp.
- Xu, G., Chang, X. F., Gu, G. X., Jia, W. X., Guo, L., Huang, J., and Ye, G. Y.**, 2020, Molecular and pharmacological characterization of a β -adrenergic-like octopamine receptor from the green rice leafhopper *Nephotettix cincticeps*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 120:103337.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yalçın, İ., İnan, S. Y., ve Aksu, F.,** 2003, Etanol ve santral sinir sistemi nöromediyatörleri, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12(2): 115-137 s.
- Yazıcı, K.,** 2009, Farklı yöntemler ile yetiştirilen ana arıların bazı özelliklerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, 50 s.
- Yavuz, E. ve Aydemir, Ö.,** 2017, Beyin-Bilgisayar arayüzü uygulamalarında etkin kanalların belirlenmesi. In Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU) 2017, 25th May, IEEE, 1-4 s.
- Yılmaz, K.,** 2016, Zeytinde (*Olea europaea* L.) Yeni Nesil DNA Dizileme Teknolojisi ile Geliştirilen SNP Moleküler İşaretleyicilerine Dayalı Genetik Haritanın Oluşturulması, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 36 s.
- Yücel, B. ve Kösoğlu, M.,** 2011, Ege Bölgesi'nde Muğla ekotipi ve İtalyan melezi bal arılarının kimi performans özellikleri bakımından karşılaştırılması, *Kafkas Univ. Vet. Fak. Dergi.*, 17(6): 1025-1029 pp.
- Yücel, F. E.,** 2016, Ailesel multipl skleroz hastalarında vitamin D reseptör gen analizi, İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 56s (yayımlanmamış).
- Zhao, H., Liang, Q., Lee, J., Zhang, X., Huang, W., Cheng, H. and Luo, Y.,** 2015, Behavioral responses of *Apis mellifera* adult workers to odors from healthy brood and diseased brood, *Sociobiology*, 6.
- Zheng, L-S., Liu, X-Q., Liu, G-G., Huang, Q-Q., Wang, J-J. and Jiang, H-B.,** 2021, Knockdown of a β -Adrenergic-Like Octopamine Receptor Affects Locomotion and Reproduction of *Tribolium castaneum*, *Int. J. Mol. Sci.*, 22:7252.
- Zhukovskaya, M. I., and Polyanovsky, A. D.,** 2017, Biogenic amines in insect antennae, *Frontiers in Systems Neuroscience*, 11, 45.

TEŞEKKÜR

Bu uzun yolculuğumda katkılarını, rehberliğini, bilgi, birikim ve deneyimlerini, bilimsel heyecanını ve tutkusunu benimle her daim paylaşan ve bana her adımda destek olup yolumu aydınlatan, özgün düşünme konusunda bana her zaman cesaret veren, sevgisini, yardımlarını her daim gördüğüm ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum, kendini bilime adanmış danışman hocam Prof. Dr. Banu YÜCEL'e; fikirleriyle, yönlendirmeleriyle bilimsel gelişimime katkıda bulunan ve bakış açımı genişleten, vaktini esirgemeyip bilgilerini ve deneyimlerini benimle hep paylaşan, bana her daim destek olup yardımlarını çok gördüğüm ve çalışmaya verdiği katkılarından dolayı ikinci danışman hocam Prof. Dr. Metin ERDOĞAN'a, teşekkürlerimi bir borç bilirim...

Yüksek Lisans dönemimden itibaren desteğini, bilgisini, tecrübesini, samimiyetini ve güler yüzünü benden hiçbir zaman esirgemeyen, değerli görüşleriyle tezin gelişiminde katkıları olan ve bana her daim yol gösterip ufku genişleten tez jüri üyesi hocam Prof. Dr. Gamze SANER'e; güleryüzünü ve samimiyetini benden hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden geleni yapmaya çalışan, bana her zaman destek olan ve beni bilimsel yolda cesaretlendirerek fikirleriyle beni bu yolda yönlendiren tez jüri üyesi hocam Prof. Dr. Çiğdem TAKMA'ya; kısıcık zamanda dahi olsa desteğini bizden hiçbir zaman esirgemeyen, bana yol gösteren, sabırla ve büyük bir ilgiyle bana bilgisini ve tecrübesini aktaran tez jüri üyesi hocam Dr. Öğr. Üyesi Emine Dilşat YEĞENOĞLU'na; fikirleriyle bana ilham veren, bilgisiyle, tecrübesiyle ve mütevazılığıyla bana bu yolda her zaman destek olan, azmiyle bana cesaret veren tez jüri üyesi hocam ve değerli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Dilek KABAKCI'ya çok teşekkür ederim...

Bugünlere gelmemde maddi ve manevi desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen babam Yaşar Hasan ÖZSOY'a ve doktora başladığım dönemde sağlıklı olmasına rağmen şu anda Alzheimer hastalığı ile mücadele eden annem Saniye ÖZSOY'a; bu süreçte bana sabırla destek olan, yol gösteren ve benim her

zaman yanımda olan ablam Şafak SOYALP'e, yeğenim Selen SOYALP'e ve eniştem Tanju SOYALP'e çok teşekkür ederim...

Bu yolda ve her zaman, benim her daim yanımda olan ve her zaman bilgi ve tecrübelerini aktaran, gerek arazi ve gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse de manevi hayatta hep desteğini gördüğüm, beraber hep beyin fırtınası yaptığımız çok değerli arkadaşım Araştırma Görevlisi Ekin VAROL'a çok teşekkür ederim...

Bana bilgi ve birikimini aktaran, laboratuvar çalışmalarında desteklerini çok gördüğüm Araştırma Görevlisi Eda DEMİRTAŞ'a ve Elif Tuğçe SAMSUNLU'ya çok teşekkür ederim...

Bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman yardımcı olan ve bana her zaman yol gösteren, manevi desteklerini de çok gördüğüm Mustafa KÖSOĞLU'na ve eşi Dr. İlknur KÖSOĞLU'na çok teşekkür ederim...

Desteklerinden dolayı Gökhan AKDENİZ'e çok teşekkür ederim...

Çalışkanlıklarıyla, azimleriyle desteklerini ve yardımlarını her daim gördüğüm ve aynı zamanda sabırları ve anlayışlı kalpleri için Fikret YILDIZ'a ve Zeynep KÜÇÜK'e çok teşekkür ederim; ayrıca yardımları için Yakup TURAN'a çok teşekkür ederim...

Gösterdikleri sabırlarından, anlayışlarından ve manevi desteklerinden dolayı Hülya TÜRK'e, Mehmet TÜRK'e ve Barış TÜRK'e çok teşekkür ederim...

Bu tez çalışması T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) bünyesinde TAGEM/HAYSÜD/A/21/A4/P4/2518 proje numarasıyla desteklenmiştir. TAGEM'e ve Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne çok teşekkür ederim...

Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve 75598 no'lu projeye desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim...

Ve son olarak benim her zaman yanımda olan, sabır gösteren ve benden desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma çok teşekkür ederim...

09 / 02 / 2024

Neslihan ÖZSOY



ÖZGEÇMİŞ

Neslihan ÖZSOY, 2007 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi-Zootekni bölümünden mezun olmuştur. 2011 yılında aynı Fakülte'nin Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini tamamlamıştır. 2013 yılında aynı Fakülte'nin Biyometri-Genetik Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başlamıştır.

2007 yılında Te-Ta Teknik Tarım LTD. ŞTİ. (İzmir)'de, 2008-2010 yılları arasında Tesco Kipa Dağıtım Merkezi (İzmir)'de, 2010-2011 yılları arasında Tariş Yemta Yem Hayvancılık Sanayi ve Ticaret A.Ş. (İzmir)'de çalışmış 2012 yılında ise T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara Tavukçuluk Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'ne atanmış ve 2012-2013 yılları arasında bu kurumda çalışmıştır. 2014 yılından beri T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü - Arıcılık Araştırma Merkezi'nde çalışmaktadır.