

**BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME
FARKLILIĞININ YAŞAM UZUNLUĞU, GELİŞME,
DAVRANIŞ (AmILP-1, Vg) ve NÖROTRANSMİTTER
SALINIMINI DÜZENLEYEN (BRP)
GENLERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yılmaz Berk KORU

Yüksek Lisans Tezi

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY

2018

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME FARKLILIĞININ YAŞAM
UZUNLUĞU, GELİŞME, DAVRANIŞ (*AmILP-1*, *Vg*) ve NÖROTRANSMİTTER
SALINIMINI DÜZENLEYEN (BRP) GENLERİNDEKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yılmaz Berk KORU

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY

TEKİRDAĞ-2018

Her hakkı saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY danışmanlığında, Yılmaz Berk KORU tarafından hazırlanan "Bal Arılarında (*Apis mellifera*) Beslenme Farklılığının Yaşam Uzunluğu, Gelişme, Davranış (*AmILP-1*, *Vg*) ve Nörotransmitter Salınımını Düzenleyen (BRP) Genlerindeki Etkilerinin Araştırılması" isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY

İmza:

Üye: Doç. Dr. Kemal KARABAĞ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME FARKLILIĞININ YAŞAM UZUNLUĞU, GELİŞME, DAVRANIŞ (*AmILP-1*, *Vg*) ve NÖROTRANSMİTTER SALINIMINI DÜZENLEYEN (BRP) GENLERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yılmaz Berk KORU

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY

İklim değişimleri, tarım ilaçları, hastalıklar ve zararlılar bal arılarını olumsuz yönde etkilemektedir. Bal arıları doğadan temiz, yeterli miktarda polen ve nektarı temin etmekte güçlük çektiklerinde arıcılar kolonilerini bal ve polen ikame yemlerle beslerler. Bu çalışmada, enerji ve proteince zengin ikame yemleri ile beslenen arıların yaşam uzunluğunu ve gelişmeyi etkileyen *Vitellogenin* (*Vg*), *Apis mellifera* İnsülin Benzeri Peptit 1 (*AmILP-1*) ve nörotransmitter salınımını kontrol eden, iş bölümü davranışını düzenleyen *bruchpilot* (BRP) genlerinin ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. 450 adet bir günlük yaştaki işçi arılar inkübatör koşullarında kafeslerde yetiştirilmiştir. A grubu; Polen ikame yemi + %70 İvert Şeker Şurubu + Su, B grubu; %70 İvert Şeker Şurubu + Su, C grubu; Bal + Polen + Su ile beslenmiştir. Gruplardaki işçi arıların yaşam uzunlukları Surviving testi (Kaplan Meier) ile hesaplanmıştır. 14 ve 21 günlük yaştaki işçi arılardan beyin ve vücut yağı doku örnekleri alınarak, RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve Real Time PCR ile gen ekspresyonlarına bakılmıştır. Gen ekspresyon seviyeleri Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney istatistik yöntemleri ile hesaplanmıştır. Sonuç olarak, yaşam uzunlukları ortalamasına göre gruplar arasında arasındaki fark istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,0001$). Buna göre polen ve bal ikame yemleri ile beslenen grubun ortalaması 25.25 gün, polen ve bal ile beslenen grubun ortalaması 18.47 gün, sadece bal ikame yemi ile beslenen grubun ortalaması 15.36 gün olarak tespit edilmiştir. Farklı besin diyetleri ile beslenen 14 günlük yaştaki işçi arılarda büyüme ve

gelişmeyi etkileyen *AmILP-1* geninin mRNA seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiki fark bulunmazken, 21 günlük yaştaki işçi arılarda polen ikame yemi ile beslenen grupta istatistiki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Nörotransmitter salınımı düzenleyen, yaşa bağlı iş bölümü davranışını etkileyen BRP proteini gen ekspresyon seviyeleri farklı besin diyetleri ile beslenen 14 günlük yaştaki işçi arılarda polen ikame yemi ile beslenen grupta istatiki fark önemli bulunurken ($p<0,05$), 21 günlük yaştaki işçi arıların bulunduğu gruplarda istatistiki fark önemli bulunmamıştır. Farklı besin diyetleri ile beslenen 14 günlük yaştaki işçi arıların yaşam uzunluğunu etkileyen *Vg* geninin gen ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiki fark önemli bulunmazken 21 günlük yaştaki işçi arılarda polen ikame yemi ile beslenen işçi arılarda istatistiki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bal arısı beslenmesinde protein ve enerji dengesi sağlanmış ikame yemler kullanıldığında işçi arıların yaşam uzunluğunun arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, büyüme, gelişme, davranış ve yaşam uzunluğunu etkileyen genlerin (*AmILP-1*, BRP, *Vg*) gen ekspresyon seviyeleri yaşa ve farklı besin diyetlerine göre değişim göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Bal arısı, gen ekspresyonu, *AmILP-1*, BRP, *Vitellogenin*, bal arısı beyni

ABSTRACT

MSc. Thesis

RESEARCH to EFFECTS of DIFFERENT NUTRITION on DEVELOPMENT, BEHAVIOR (*AmILP-1* and *Vg*) and NEUROTRANSMITTER RELEASE REGULATION (BRP) GENES in HONEY BEE (*Apis mellifera*)

Yılmaz Berk KORU

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Devrim OSKAY

Climate change, pesticides, diseases and pests effect negative way to the honey bees. Beekeepers feed their colony with honey and pollen substitute when the honey bees have difficulty to finding enough and clean pollen and nectar from nature. In this study, has been identified expression of level *bruchpilot* (BRP) that regulate neurotransmitter release, division of labor, *Vitellogenin* (*Vg*) and *Apis Mellifera Insulin like Peptide-1* (*AmILP-1*) that effects lifespan, development which the bees fed with enegry and protein-rich substitute feeds. 450 one day- old honey bees were rearing in the cages under incubator condition; Group A; Pollen Substitute + 70% Inverted Sugar Syrup + Water, Group B; 70% inverted Sugar Syrup + Water, Group C; Honey + Pollen + Water. Survival tests (Kaplan Meier) were used to calculate the life lengths of the the worker bees in the groups. 14 and 21 day old worker bees were taken brain and fat body samples then RNA extraction, cDNA conversion and Real Time PCR techniques were applied. Gene expression levels were calculated Kruskal-Wallis and Mann-Whitney statistics methods.

As a results, there is statistical difference among the groups according to the average of the lifespan ($p < 0,0001$). According to this, average 25.25 days for pollen and honey substitute feed group, 18.47 days for pollen and honey feed group and 15.36 days for only honey substitute feed group. The mRNA levels of *AmILP-1* gene was affecting the growth and development of the 14-day-old workers fed diets with different nutrients were compared,

there was no statistical difference among the groups and there was statistical difference in the group fed 21 days old workers with pollen substitute diet ($p < 0.05$). BRP protein gene expression levels, which regulate neurotransmitter release and affect division of labor, were statistically significant ($p < 0.05$) in groups fed on pollen substitution diet after 14 days old of age workers fed diets with different nutrient intakes there was no statistical difference in the 21 days old group. The gene expression levels of *Vg* gene was affecting the life span, there was no statistical difference among in the 14 days old groups and there was statistical difference in the group fed 21 days old workers with pollen substitute diet ($p < 0.05$).

Lifespan of the worker bees are increased when protein and energy balance supplemented feeds are used in honey bee feeding. In addition, gene expression levels of genes (*AmILP-1*, BRP, *Vg*) affecting growth, development, behavior and length of life have been shown to be dependent on age and dietary nutrients.

Keywords: Honey bee, gene expression, *AmILP-1*, BRP, *Vitellogenin*, honey bee brain

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGE DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖNSÖZ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Bal Arılarına Genel Bakış	3
2.2 Bal Arısı Biyolojisi.....	4
2.3 Bal Arılarında Gelişim	6
2.4 Bal Arılarında Beslenme	8
2.4.1 Koloni Beslenmesinde Karbonhidratlar	9
2.4.2 Ergin Bal Arılarının Beslenmesinde Karbonhidratlar	10
2.4.3 Larval Beslenmede Karbonhidratlar.....	10
2.4.4 Bal İkame Yemleri ile Besleme.....	11
2.4.5 Koloni Beslenmesinde Proteinler	11
2.4.6 Ergin Bal Arılarının Beslenmesinde Proteinler	12
2.4.7 Larval Beslenmede Proteinler	12
2.4.8 Polen İkame Yemleri ile Besleme	13
2.4.9 Diğer Besin Maddeleri.....	13
2.5. Bal Arısı Beyni	13
2.5.1 Optik Lob.....	14
2.5.2 Anten Lob	14
2.5.3 Mantarsı Yapı	14
2.6. Gelişim ve Davranışı Etkileyen AmILP Genleri ve Nörotransmitter Salınımını Düzenleyen BRP Proteini ve Ömür Uzunluğunu Etkiyen Vitellogenin.....	15
2.7. Kaynak Özetleri.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1 Arıların Temini	26
3.2 Kafeslerin Temini	26
3.3. Deneme Dizaynı ve Besleme Çalışmaları	27
3.4. Yaşam Uzunluklarının Hesaplanması	28
3.5. Bal Arılarından Doku Örneklerinin Alınması	28
3.5.1. Beyin Çıkarma.....	28

3.5.2. Vücut Yağı Elde Edilmesi	29
3.6. RNA Ekstraksiyonu	29
3.7. Ters Transkriptaz PCR ile cDNA Sentezi	30
3.8. Genlere Spesifik Primerler	32
3.9. qRT – PCR Uygulamaları.....	32
3.10. qRT-PCR Çıktısının Yorumlanması.....	34
3.11. Sonuçların İstatiksel Değerlendirilmesi	34
4. BULGULAR	36
4.1 Yaşam Uzunlukları	36
4.2. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan <i>AmILP-1</i> mRNA Seviyeleri.....	36
4.3. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan BRP mRNA Seviyesi.....	39
4.4. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Vücut Yağından Elde Edilen <i>Vg</i> mRNA Seviyesi	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
5.1. Yaşam Uzunlukları	47
5.2. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan <i>AmILP-1</i> mRNA Seviyeleri.....	47
5.3. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan BRP mRNA Seviyeleri.....	48
5.4. 14 ve 21 Günlük Yaşta ki Bal Arılarının Vücut Yağından Elde Edilen <i>Vg</i> mRNA Seviyeleri.....	48
5.5 Sonuçlar	49
6.KAYNAKLAR.....	50

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bal Arılarının Sınıflandırılması.....	3
Çizelge 2.2. Balın Bileşimi.....	10
Çizelge 2.3. Polen Bileşimi	12
Çizelge 3.1. Beyin Örnekleri PCR Karışımı.....	30
Çizelge 3.2. Abdomen Örnekleri PCR Karışımı	31
Çizelge 3.3. PCR Aşamaları	31
Çizelge 3.4. Kullanılan Primerler, Primer Dizileri, Ürün Uzunlukları ve Kaynaklar	32
Çizelge 3.5. Toplam PCR Karışım Miktarı	33
Çizelge 3.6. Karışıma Eklenen cDNA Örnekleri	33

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Kovan Bireyleri	6
Şekil 2.2. İşçi Arılarda Gelişim	8
Şekil 2.3. Bal Arısının Baş X-Ray'i	14
Şekil 3.1 Porto Riko Üniversitesi Biyoloji Bölümü Arılığı	26
Şekil 3.2. Besleme Kafesleri.....	27
Şekil 3.3. Arıların Kafese Konulması.....	28
Şekil 3.4. Kurubuz Üzerinde Beyin Çıkarma İşlemi ve Baş Kısmından Ayrılmış Arı Beyni	28
Şekil 3.5.cDNA Sentezi için Kullanılan PCR	32
Şekil 3.6. AmILP-1 Geninin Master Cycle ep Realplex Bilgisayar Programındaki Görüntüsü	34
Şekil 4.1. Gruplar Arasındaki Yaşam Uzunluğu	36
Şekil 4.2. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 14 Günlük Yaştaki Bal Arılarının AmILP-1 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	37
Şekil 4.3. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının AmILP-1 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	38
Şekil 4.4 . Polen İkame Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının AmILP-1 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	38
Şekil 4.5. Kontrol Grubunda Bulunan14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının AmILP-1 Gen Ekspresyon Seviyeleri	39
Şekil 4.6. İnvert Şurup Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının AmILP-1 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	39
Şekil 4.7. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 14 Günlük Yaştaki Bal Arılarının BRP Gen Ekspresyon Seviyeleri	40
Şekil 4.8. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının BRP Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	41
Şekil 4.9. %10 Protein Oranında Polen İkame Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının BRP Gen Ekspresyon Seviyeleri	42
Şekil 4.10. Kontrol Grubunda Bulunan14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının BRP Ekspresyon Seviyeleri.....	42

Şekil 4.11 İvert Şurup Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının BRP Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	43
Şekil 4.12. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 14 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vg Gen Ekspresyon Seviyeleri	44
Şekil 4.13. Farklı Besin Diyetleri ile Beslenmiş 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vg Gen Ekspresyon Seviyeleri	45
Şekil 4.14. %10 Protein Oranında Polen İkame Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vg Gen Ekspresyon Seviyeleri	45
Şekil 4.15. Kontrol Grubunda Bulunan 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vg Ekspresyon Seviyeleri.....	46
Şekil 4.16 İvert Şurup Yemi ile Beslenen 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vg Gen Ekspresyon Seviyeleri	46

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

A	: Adenin nükleotidi
C	: Sitozin nükleotidi
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
f	: Frekans
g	: Gram
G	: Guanin nükleotidi
M	: Molarite
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
n	: Tekrar sayısı
ng	: Nanogram
ppm	: Particul Per Million (Her Milyondaki Partikül Miktarı)
rpm	: Rounds Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
sn	: Saniye
T	: Timin nükleotidi
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

Kısaltmalar

AB	: Avrupa Birliği
AMPAR	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü
AMPAR Δ 2-a	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü Δ 2-a
AMPAR Δ 2-b	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü Δ 2-b
AMPAR Δ 2-c	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü Δ 2-c
AMPAR Δ 2-d	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü Δ 2-d
<i>Apis mellifera</i>	: Bal Arısı
AmILP-1	: <i>Apis mellifera</i> İnsülin Benzeri Peptit-1
AmILP-2	: <i>Apis mellifera</i> İnsülün Benzeri Peptit-2
AmAkh	: <i>Apis mellifera</i> Adipokinetik Hormon
ark.	: arkadaşları
AŞ	: Anonim Şirket
BCP	: 1-Bromo-3-chloropropane
bp	: Base pair (Baz çifti)
BRP	: bruchpilot
CAC	: Codex Alimentarius Comission
cDNA	: Complimentar Deoksiribo Nükleik Asit
<i>csd</i>	: Complementary Sex Determination (Tüm Cinsiyet Belirlenmesi)
dH ₂ O	: Distile Su
dilp	: <i>Drosophila</i> İnsülin Benzeri Peptit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
dsGFP	: Yeşil Florasan Protein
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ETOH	: Etil Alkol
F1	: 5. Dönem Larva
F2	: 6. Dönem Larva
F3	: 7. Dönem Larva
<i>Fem</i>	: Feminizer
HMF	: Hidroksimetilfurfural

HFCS	: Mısır Şurubu (High Fructose Corn Syrup)
IIS	: İnsülin/İnsülin Benzeri Sinyalizasyon
ILP	: İnsülin Benzeri Peptit
ILP-1	: İnsülin Benzeri Peptit 1
ILP-2	: İnsülin Benzeri Peptit 2
ILP-5	: İnsülin Benzeri Peptit 5
IRS	: İnsülin Reseptör Substrate
iPCS	: Beyin İnsülin Üretim Hücreleri
IUCN	: International Union for Conservation Nature
JH	: Juvenil Hormon
L1	: Birinci Dönem Larva
L2	: İkinci Dönem Larva
L3	: Üçüncü Dönem Larva
L4	: Dördüncü Dönem Larva
MB	: Mantarsı Yapı
MG	: Mikro Glamerül
miRNA	: mikro Ribonükleik Asit
NKÜ	: Namık Kemal Üniversitesi
NMDAR	: N-metil-D-aspartat reseptör
NMDAR 1	: N-metil-D-aspartat reseptör 1
NMDAR	: N-metil-D-aspartat reseptör 2
no	: Numara
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Primer F	: Forward (İleri) primer
Primer R	: Reverse (Geri) primer
RNA	: Ribonükleik Asit
RNAi	: Ribonükleik Asit İnterfaz
S1	: Pupa Dönemindeki Larva
STR	: Sukroz Tepki Eşiği
TGK	: Türkiye Gıda Kontrol
TOR	: Rapamisin Hedefi
tobi	: Beyin İnsülin Bölgesi (Target of Brain Insulin)
PI	: Pars İntercerebralis

UV	: Ultraviole Işığı
vd	: ve diğerleri
Vg	: Vitellogenin
qRT-PCR	: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QMP	: Ana Arı Mandibular Feromonu
QRP	: Ana Arı Retineri Feromonu

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın başlangıcından itibaren her aşamasında tecrübelerini benim ile paylaşan ve her alanda bana destek çıkan özgür ve düzeyli bir çalışma imkânı sunan hocam ve akademik danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Devrim OSKAY'a minnetlerimi sunarım.

Araştırmanın, besleme ve moleküler çalışmaları Porto Riko Üniversitesi Biyoloji Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Burada arazi ve laboratuvar çalışmalarında bana yol gösteren desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Tuğrul GİRAY'a moleküler çalışmalardaki bilgilerinden yararlandığım Dr. Jose Luis Agosto RÍVIERA'ya ve çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan Carlos ORTÍZ ve Janpierre Alamien-RÍOS'a desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen ve değerli önerileriyle bu tezin yazımına katkı sağlayan Ziraat Yüksek Müh. Gizem SÖNMEZ OSKAY'a, arazi çalışmalarında yalnız bırakmayan tekniker Mustafa DEĞERMENCİ'ye ve ikame yemlerin temini olmak üzere tüm destekleri için Apipark A.Ş'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bu süreçte manevi desteklerini her zaman hissettiğim Aylin KAYA, Ölçüm EMİL ve amcam Mutlu KORU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tüm araştırmalarım ve çalışmalarım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim en büyük destekçim, dayanağım, annem Figen KORU ve babam Güven KORU'ya çok teşekkür ederim.

Ocak 2018

Yılmaz Berk KORU

1. GİRİŞ

Biyoteknoloji; ‘‘biyoloji’’ ve ‘‘ teknoloji’’ kelimelerinden türetilmiş olup ilk tanımı 1919 yılında Karl ERSHY tarafından ‘‘biyolojik sistemlerin yardımıyla hammaddelerin yeni ürünlere dönüştürülme işlemleri’’ olarak tanımlanmıştır (Anonim, 2014). Yirmi yıl içinde, moleküler biyoloji ve gen teknolojileri alanlarındaki araştırmaların hız kazanmasıyla birlikte biyoteknoloji popülerliği artan bir bilim dalı olmuştur. Biyoteknoloji, dünyanın karşı karşıya kaldığı sağlık, doğal kaynak ve ekosistemlerin sürdürülebilirliğine karşı oluşan sorunlara teknolojik çözümler sunmakta ve farklı sektörlerde verimlilik artışına katkılar sağlamaktadır (Anonim, 2015).

Son yıllarda genetik bilimi alanındaki gelişmelerle birlikte, besin öğelerinin daha iyi tanınması ve beslenme bilincinin artmasıyla nutrigenomik bilimi tartışılan ve ilgi duyulan bir bilim dalı haline gelmiştir. Beslenme ile genetik yapı arasında olan bağın anlaşılmasıyla hayvancılıkta maliyetin büyük bir bölümünü kapsayan yemlerin önemini ve hayvan besleme üzerine güncel besleme programlarının oluşturulmasını teşvik etmiştir. Genomik, proteomik, transkriptomik ve biyoinformatik teknolojilerinde olan güncel gelişmeler hayvanların beslenmesinde bu ilişkilerin temelinde yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Günümüzde bu teknolojilerin, daha dengeli yem rasyonları hazırlanmasında, daha sağlıklı ve ekonomik hayvansal ürünlerin geliştirilerek ve hastalık etmenlerinin azalmasında önemli rolleri olacaktır (İpçak ve ark. 2015).

Hayvan davranışının çeşitli biçimlerinin, spesifik genlerin aktivitesinden etkilendiği bilinmektedir (Greenspan, 1997). Bu alanda bal arıları (*Apis mellifera*) doğal davranışlara etki eden genlerin rolünü çalışmak için mükemmel bir model canlıdır. İşçi arılar arasında yaşa bağlı iş bölümü yapılmaktadır. Petek gözünden çıktıktan kısa bir süre sonra, arılar kuluçka bakım (bakıcı) görevini üstlenir (Ben-Shahar ve ark., 2000; Ben-Shahar ve Robinson, 2001; Ben-Shahar ve ark., 2002; Ben-Shahar ve ark., 2003; Ben-Shahar ve ark., 2004; Fahrbach ve Robinson, 1995; Leoncini ve ark, 2004; Whitfield ve ark, 2006). Bir hafta sonra, arılar yeni bir rol üstlenir. Bu da, gıdanın stoklanması ve işlenmesi (örneğin; nektarın bal çevrilmesi), savunma, koloni temizliği, kovan içi ısısının ayarlanmasıdır. 21 günlük yaştan sonraki işçi arılar nektar ve polen toplamaya çıkarlar (Ben-Shahar 2005; Fahrbach ve Robinson 1995; Leoncini ve ark. 2004; Whitfield ve ark. 2006). Bununla birlikte koloninin ihtiyaçlarına bağlı olarak bal arılarının davranışsal olgunlaşması esneklik gösterebilir (Huang ve Robinson

1996). Bal arılarının davranışsal olgunlaşması beyindeki birçok gen (Whitfield ve ark. 2006), ve proteinlerin değişmesi ile ilgilidir (Wolschin ve Amdam 2007).

Bal arısı, doğadan karbonhidrat kaynağı olan nektarı toplayarak enerji ihtiyacını, iç organların gelişiminde ihtiyaç duyulan proteini de polen toplayarak karşılar (Brodschneider , Crailsheim ; 2010). Polen, balarısı kolonileri için olağanüstü öneme sahip bir besin olup, arılar için tek doğal protein kaynağı durumundadır (Genç ve Dodoloğlu 2002). Ayrıca polen, bal arılarının yavru yetiştirmesinde ve genç dönemlerinde dokularının, kaslarının, salgı bezlerinin ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli olan protein, lipit, sterol, vitamin ve mineralleri sağlayan en önemli besin maddesidir (Schmidt 1997, Pernal ve Currie 2001, Calderone ve Johnson 2002).

Koloni tarafından yetiştirilen işçi arı sayısı polen talebine bağlıdır (Todd ve Bishop, 1941; Allen ve Jeffree, 1956; Doull, 1973; Hellmich ve Rothenbuhler, 1986) ve kışın olan polen stokları bahardaki arı popülasyonunu etkilemektedir (Farrar, 1936). Bu nedenle, arıcılar bahar aylarında polen stoğu yetersiz olan kolonileri beslemek amacıyla kolonilere polen veya polen ikame yemi kullanırlar. Bu tür yemlerin kullanılması sadece tüketilen yemleri depolamak için değil arıların gelişimi için de önemlidir (Farrar, 1993). Arıcılar, bal hasadından sonra arıların karbonhidrat ihtiyaçlarını karşılamaları için bal ikamesi olarak kolonilerini şeker şurubu, invert şeker şurubu, mısır şurubu (HFCS) ve çeşitli meyvelerden yapılmış şuruplarla beslerler (Neupane ve Thapa, 2005). Sonbahar beslemesinden sonra, ılıman iklimlerdeki arılar Kasım ve Nisan aylarında 20-25 kg arasında şurup tükettiği gözlemlenmiştir (Severson ve Erickson, 1984).

Bu tez çalışmasında, arı beslenmesinde kullanılan farklı bal ve polen ikame besin diyetlerinin kafeslerde yetiştirilmiş işçi arıların yaşam uzunluklarını nasıl etkilediği, ayrıca kafeslerde yetiştirilen farklı yaşlardaki işçi arılarda bireysel yaşlanmada etkili olan *Apis mellifera* İnsülin Benzeri Peptit-1 (*AmILP-1*) genine, nörotransmitter salınımını düzenleyen *bruchpilot* (BRP) proteinine ve yaşam uzunluğunu etkileyen *Vitellogenin* (*Vg*)'e etkisi quantitative Real Time-PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Bal Arılarına Genel Bakış

Yeryüzünde bulunan türler taksonomik bir sisteme göre sınıflara ayrılırlar. Taksonomi; alem, şube, sınıf, takım, familya, cins ve tür olmak üzere hiyerarşik yapıya göre üst kategoriden aşağı kategoriye göre belirlenir. Canlılar üç temel gruptan oluşur. Bu gruplar, Arkeler, ökaryotlar ve bakterilerdir. Arılar ökaryotlar sınıfı içinde yer almaktadır. (Linksvayer ve ark. 2012). Bal arılarının taksonomik sınıflandırılması (Çizelge 2.1.)’ de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Bal arılarının sınıflandırılması (Engel 1999)

Alem	Animalia
Şube	Arthropoda
Sınıf	Insecta
Takım	Hymenoptera
Familya	Apidae
Cins	<i>Apis</i>
Türler	<i>Apis andreniformis</i>
	<i>Apis binghami</i>
	<i>Apis cerena</i>
	<i>Apis dorsata</i>
	<i>Apis florea</i>
	<i>Apis koshevnikovi</i>
	<i>Apis laboriosa</i>
	<i>Apis mellifera</i>
	<i>Apis nigrocincta</i>
	<i>Apis nuluensis</i>

Dünya üzerinde *Apis mellifera*, *Apis dorsata*, *Apis cerana*, *Apis florea* olmak üzere dört farklı bal arısı türü bulunmaktadır. Üretkenliği yüksek ve koloni yönetimi kolay olduğundan dolayı arıcılar tarafından *Apis mellifera* tercih edilen bir böcek türü olmuştur (Crane, 1999). Dünyada *Apis mellifera*’ya ait 25 tane alttür bulunmaktadır (Ruttner, 1992). Türkiye ise *A. m. anatoliaca*, *A. m. meda*, *A. m. caucasica*, *A. m. syriaca* ve *A. m. carnica* olmak üzere 5 adet alttüre sahiptir (Kandemir ve Kence, 1995; Palmer ve ark., 2000).

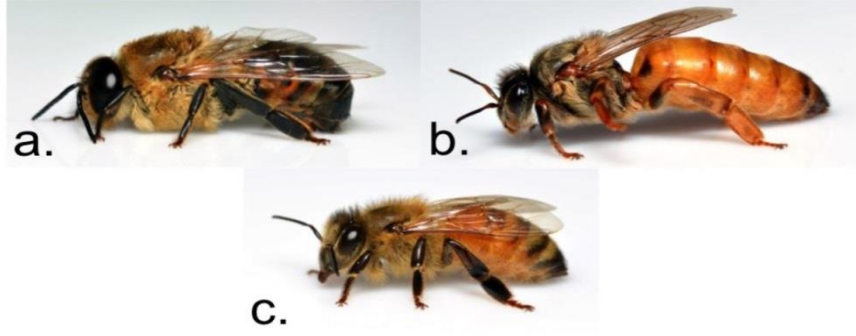
2.2 Bal Arısı Biyolojisi

Bal arısı, karınca, eşek arısı ve termitler koloni yaşam düzenine sahip sosyal organizmalardır. Ergin koloni üyeleri, iki veya daha fazla kuşaktan koloni üyeleriyle birlikte çalışırlar. Bu kolonilerde kast sistemleri üreyen veya üreyemeyen olarak ayrılır (Wilson & Holldobler, 2005). Bal arısı kolonileri, ana arı, işçi arı ve erkek arı olmak üzere üç kast sistemine ayrılır (Şekil 2.1).

Tipik bir kolonide üreme yeteğine sahip sadece bir ana arı vardır. Ana arının başlıca görevi, koloninin yılda ortalama 200.000 yumurta bırakarak koloninin devamlılığını sağlamaktır. Ayrıca, üremenin yanı sıra kimyasal yapıdaki feromonları salgılayarak kolonideki işleri kontrol eder ve düzenler (Ambrose ve ark, 1992). Ana arı 2-3 yıl verimli şekilde yumurtlayabilir. Ancak ticari olarak arıcular kolonilerindeki ana arıları her yıl değiştirirler (Page ve Peng, 2001). İşçi arılar koloni içinde bulunan üreme yeteneği olmayan dişilerdir. Sayıları 10.000 – 60.000 arasında değişmektedir (Moritz ve Southwick, 1992). Adından da anlaşılacağı üzere işçi arılar koloni içindeki iş gücünü sağlamaktadırlar. Aralarında yaşa ve koloni şartlarına bağlı iş bölümü bulunmaktadır. Bal arıları ilk günlerinde uçamazlar ve sokma eğilimleri yoktur (Winston, 1987; Calderone, 1998). Bu görev periyodunda petek gözü temizliği kalan zamanda ise tımar yapma görevindedirler (Seeley, 1982). 4-12 günlük yaştaki işçi arılar bakıcılık görevini üstlenir (Ribbands, 1953; Seeley, 1982). Bakıcı arılar gözlerdeki larvaları kuluçka yemi denilen bünyelerinde işledikleri bir yem ile beslerler (Michener, 1974). Bakıcı arıların başka bir görevi ise ana arının etrafını sararak beslenmesini sağlamaktır (Winston 1987). 12-21 günlük yaştaki arılar orta yaş arılar olarak adlandırılmışlardır (Seeley 1982). Orta yaştaki arıların, yuvaya yayılmış bir görev dağılımı vardır. Görevleri bakıcılıkla örtüşmekle beraber, davranışları oldukça farklıdır. Bunun sebebi orta yaş arıları, bakıcı arılar gibi yavruyla ilgilenmezler. Orta yaştaki arıların görevleri; petek örme, nektar veya polenin alınıp işlenmesi ve kovan girişinin korunmasıdır (Seeley 1982; Trumbo ve ark., 1997). Tarlacılık görevi 21 günden sonra olup bal arılarında yaşam sonuna kadar devam etmektedir. Bal arıları, tarlacı olduktan sonra kovan içindeki görevlerle ilgilenmezler (Winston 1987; Seeley, 1995). Bunun yerine, dışarıda bulunan ve koloninin ihtiyaç duyduğu dört kaynağa polen, nektar, propolis ve suya yoğunlaşırlar (Robinson, 1992; Seeley 1995; Calderone 1998). Polen ve nektar toplama tarlacılık faaliyetlerinin çoğunu oluşturur. Ancak koloni sıcaklık stresine girdiği zaman tarlacı arılar daha çok suya yönelir (Seeley 1995). Tarlacı arılar, aralarında dans dilini kullanarak yiyecek kaynakları ve yeni yuva alanlarını birbirlerine tarif ederler (Seeley 1995; Vries ve Biesmeijer, 1998). İşçi arıların

ömrü yaz aylarında 3-6 hafta arasında değişirken kış aylarında yaklaşık 4 ay olmaktadır (Page, Jr, ve Peng, 2001). Erkek arılar, yaz aylarında 660-3960 adet üretilir (Lee ve Winston, 1987) ve tek görevleri ana arı ile çiftleşmektir (Ambrose ve ark., 1992). Erkek arıların, yaşam uzunluğu ortalama 21 gündür. Fakat, çiftleşme sırasında ya da yaz sonunda işçi arılar tarafından dışarı atılarak öldükleri gözlemlenmiştir (Page ve Peng, 2001).

Bal arılarında cinsiyet tayini, Hymenoptera'larda ortak cinsiyet tayini olan haploid ve diploid sistemine göre düzenlenmektedir. Hymenoptera'larda erkek bireyler haploid, dişi bireyler ise diploiddir (Heimpel ve de Boer, 2008). Bal arılarında cinsiyet tayini ilk olarak Dzierzon tarafından yapılmıştır. Çiftleşmemiş ana arının, sadece infertil yumurta bırakıp erkek arı ürettiği gözlemlenmiştir (Dzierzon, 1845). Çoğu durumda, ana arı yumurta salınımını kontrol eder. Döllenen yumurtalardan işçi veya ana arı oluşmaktadır. Kast sistemindeki farklı bireylerin yetiştikleri petek gözleri birbirinden farklıdır (Ambrose ve ark., 1992). Bununla birlikte, bal arılarında döllenme tek başına cinsiyet belirleyicisi değildir. Akrabalık çalışmaları yapıldığı sırada bulunan diploid erkek arılar (Woyke, 1963) bir cinsiyet belirleme lokusunun varlığını işaret etmektedir. Cinsiyet belirleme lokusunun izolasyonu, bal arılarının cinsiyetini belirleyerek feminizer (*fem*) genine alternatif bağlanmaya neden olan ve tamamlayıcı bir cinsiyet belirleme geni olan *csd*' nin keşfedilmesine yol açmıştır. *Csd* geni bakımından heterozigot olan arılar fonksiyonel bir *fem* genine sahip olarak dişi bireyler oluştururlar. Bu arada, *csd* geninde homozigot veya hemizyot olan arılar *fem* geninin stop kodununda alternatif birleşme gerçekleşerek erkek arı olarak meydana gelmektedirler (Beye ve ark., 2003; Hasselmann ve ark., 2008). Diploid erkek arılar, canlı ve üreme yeteğine sahip değildirler. Larva dönemine girdikten sonra genellikle işçi arılar tarafından öldürülürler (Herrmann ve ark., 2005).



Şekil 2.1. Kovan bireyleri; a) Erkek arı; daha geniş göğüs ve abdomen yapısı ile ayırt edilir. Ayrıca, üç kast arasında en büyük gözlere sahiptirler. b) Ana arı; en uzun abdomen yapısına sahiptir. c) İşçi arı; vücut yapısı diğer kasta göre en küçük olanıdır (Fotoğraf: Hagan D, (2015)).

2.3 Bal Arılarında Gelişim

Bal arıları, farklı fizyolojik yapıya sahiptir ve çevreden kaynaklanan streslere değişik şekillerde yanıt verirler. Pek çok böcek gibi bal arılarının da gelişimi yumurta, larva, pupa ve yetişkin olarak dört aşamadan oluşur (Şekil 2.2). Yumurtanın oluşumu, yumurta hücreleri haline gelen oositlerde ve ana arının yumurtalığındaki bakıcı hücrelerine ayrılan dişi germ hücrelerinde başlamaktadır (Guizeit ve ark. 1993). Yumurta hücreleri olgunlaştıkça, bakıcı hücreleri besin maddesi olarak kullanılırlar. Son olarak, yumurta gelişimini tamamlamak için folliküler yumurta hücreleri üzerine koriyon salgılar (Fleig, 1995). Olgun bir yumurta, inci beyazı renginde olup, 1,3-1,8 mm uzunluğundadır. Uzunlamasına oval bir şekle sahiptir ve baş, karının sonundan daha kalın olarak gelişir. Ana arı, yumurtayı petek gözüne dikey bir şekilde bırakır (Winston, 1987).

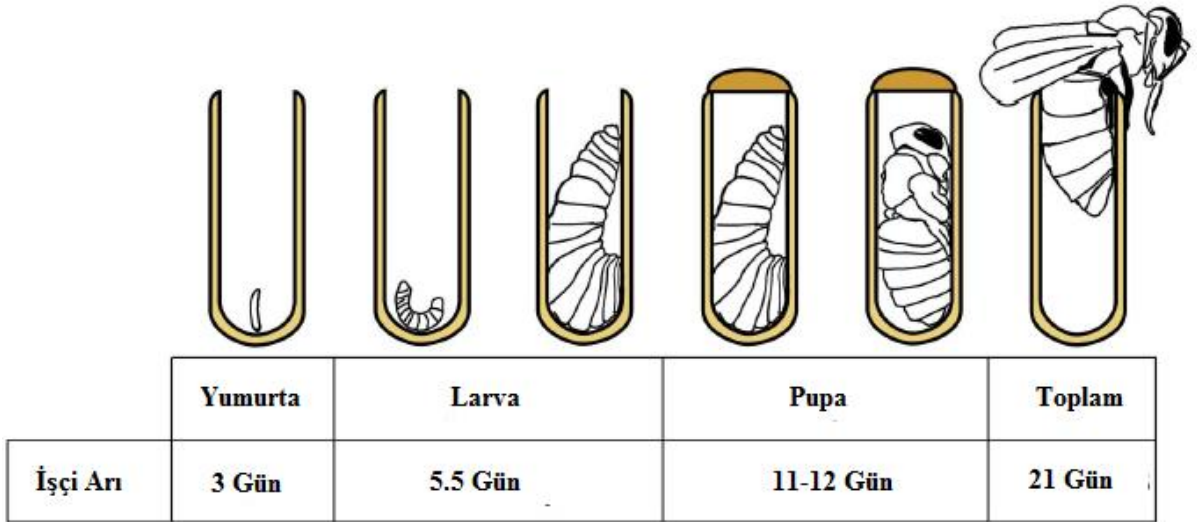
Yumurtladıktan sonraki üç gün içinde larva oluşmaya başlamaktadır. İlk 14 saat boyunca bölünme hücreleri gelişir ve yumurtanın yüzeyinde blastoderm oluştururlar. Sonraki 10 saat içerisinde blastoderm bölünmeye uğrar ve yumurtanın her iki ucunda net bir boşluk izlenebilir. Yumurtlamadan yaklaşık 35 saat sonra, blastoderm ventroanterior bölgede kalınlaşır ve bağırsak oluşumu başlamaktadır. Kafa, yumurtlamadan 49 saat sonra görünür hale gelir ve bu süreci vücut bölmelerinin oluşması takip eder (Milne ve ark. 1988). Larva oluşumundan yaklaşık iki saat önce koriyon tamamen erir ve trakeal tabaka gözle görülebilir. Yumurtanın 72-76 saatlerinde larva tamamen oluşup C şeklini alır (Collins, 2004).

Larva safhasında, bakıcı arılar petek gözlerine başlarını sokarak larvaları beslerler. Dış iskeletin her gün değişmesiyle larvalar hızlı bir şekilde gelişir. Bu durum beş aşamada gerçekleşir. Altıncı gün, bakıcı arılar petek gözlerini bal mumu ile kapatırlar ve bu aşamadan sonra larvalar pupa dönemine girmiş olur. Petek gözlerinin kapanma süresi kast sistemine göre değişmektedir. İşçi arıların 5.5 gün, ana arı için 4.6 gün ve erkek arı için 6.3 günlerinde

olur. Pupa aşaması, baş, gözler, antenler, ağız parçaları, göğüs, bacaklar ve karın kısmının oluştuğu aşamadır. Üst deri koyulaşması da pupa döneminin en belirgin özelliklerinde biridir. Tipik olarak, işçi ve erkek arıların pupa süresi sekiz ile dokuz gün sürmektedir. Bu süre ana arılarda daha kısa olup dört ile beş gün arasındadır. Son olarak, pupa döneminde sonra bal arısı ergin döneme geçer. Petek gözünün üstüne kapatan bal mumunu yiyerek dışarıya çıkarlar. Ana arı, işçi arı ve erkek arının toplam gelişim sürelerine bakıldığında zaman, sırasıyla 16, 21, 24 gün olduğu gözlemlenmiştir (Winston, 1987).

Bal arısı araştırmalarının ilginç yanlarından bitanesi de larva gelişim süresince dişi cinsiyetinin belirlenmesidir. Ana arı kolonide tek üreyen dişi olmasına rağmen işçi arıların %0,01'in de tam gelişmiş yumurta bulunmaktadır (Ratnieks, 1993). Ana arı, mandibula bezi, Dufor bezi ve tergal bezi çeşitli bezlerdeki salgılardan oluşan ana arı retineri feromonu (QRP) ile işçi arıları kontrol etmektedir. Retineri feromonu, ana arının beslenmesi ve tırmanması için işçileri uyarır. Temas yoluya bulaşan bu kimyasal koloni boyunca diğer işçi arılara da yayılmış olur. Ana arının salgıladığı feromonun hızla yayılmasıyla, işçilerin yeni ana arı yetiştirmeleri ve işçilerin yumurta bırakması engellenmiş olur (Keeling ve ark., 2003; Hoover ve ark., 2003; Le Conte ve Hefetz, 2008). Bu nedenle, ana arısı bulunan bir kovanda üretilen dişi yumurtaların büyük bir kısmı işçi arı olarak yetiştirilmektedir. Dişi larvalarının ilk üç günü aydırlar, daha sonra beslenmeye ve çevre şartlarına göre kast gelişimleri değişmektedir. Normal şartlardaki bir kolonide tek üreyen dişi ana arı olduğu için bal arısı kolonisinin devamlılığını sürdürmesi totipotent mekanizmasına dayanmaktadır. İşçi arılar, 24 saat içinde ana arının yokluğunu hissederek kolonideki döllenmiş yumurta ve larvalardan yeni bir ana arı yetiştirir (Hatch ve ark., 1999). Genellikle, işçi arı larvalarına verilen besinin kalitesi ve miktarı kast farklılaşmasını belirlerken genetik ve hücre boyutlarında bu farklılaşmaya etkisi olduğu bilinmektedir (Winston, 1987; Kucharski ve ark., 2008; Shi ve ark., 2011). İlk üç gün içinde ana arı gözüne alınan işçi larvalarında kast değişimi olduğu gözlemlenmiştir (Weaver, 1957; Woyke, 1971). Ana arı larvalarına işçi arı larvalarına göre daha fazla arı sütü verilir. Yapılan çalışmalarda ana arı larvalarının ilk üç gün içinde işçi arı larvalarına göre %13 daha fazla besin tükettiği altıncı gün ise bu oranının %40'a çıktığı tespit edilmiştir (Dietz ve Lambremont, 1970). Ayrıca, elektroforetik analiz ile ana arı larvalarına verilen besin ile işçi arı larvalarına verilen besin arasında farklı protein bileşenleri ortaya çıkarılmıştır (Pate ve ark., 1960). Larval hayatın üçüncü gününden sonra işçi arılar arı sütü, bal ve polen karışımı ile beslenirken, ana arı larvası saf arı sütü beslenmektedir. Bu beslenme farklılığı da kast farklılaşmasını sağlayan en önemli olay olarak gösterilmektedir (Winston, 1987). Daha sonra besin diyetlerinin bal arısı endokrin

sistemi üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Üç ve beş günlük larvalara lokal olarak juvenil hormonu (JH) uygulandığı zaman ana arı oluşmasını sağlamıştır (Asencot ve Lensky, 1976; Wirtz ve Beetsma, 1972; Rembold ve ark., 1974). Ayrıca, JH'un beşinci dönemdeki larvalarda programlı yumurta ölümünü önlediği gözlemlenmiştir (Capella ve Hartfelder, 1998). Beslenme algı yolları olan IIS (insülin / insülin benzeri sinyalizasyon) ve TOR (rapamisinini hedefi), JH tarafından kast farklılaşmasını kontrol ettiği gösterilmiştir. Ana arı diyetiyle beslenen larvalar, her iki yolağında bileşenleri ile RNA interfaz (RNAi) knockdown'u ile işçi arı fenotipi olarak ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Patel ve ark., 2007; Wolschin ve ark., 2011; Mutti ve ark., 2011a). JH lokal olarak uygulanması knockdown larvalarında ana arı fenotipi gösterebilir (Mutti ve ark., 2011a). Son zamanlarda yapılan çalışmalar ise arı sütünden ekstrakte edilen 57k-Da (royalaktin) proteininin fenotipi ana arı olarak değiştirdiği gösterilmiştir. Royalaktin olmayan bir diyetle beslenen larvalar, işçi arı olarak çıktığı, royalaktin olan diyetlerde ise fenotipin ana arı olduğu gözlemlenmiştir. Royalaktin, JH seviyesinin yükselmesini sağlayarak ana arı karakteristik özelliklerini sağlayan epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) aktive eder ve hem mitojenle aktive edilmiş kinazın hem de p70 S6 kinazın aktivasyonunu sağlar (Kamakura, 2011).



Şekil 2.2. İşçi arılarda gelişim (Chan, 2009).

2.4 Bal Arılarında Beslenme

Beslenme, bal arısının gelişimi, kast farklılığı, genel koloni sağlığı ve çeşitli hastalıklara karşı direnç ile bağlantılıdır. Bal arılarının gelişimi için gerekli olan temel besin maddeleri arasında proteinler, karbonhidratlar, mineraller, yağlar, vitaminler ve su bulunur. Bu besinler tarlacı arıların topladığı polen, nektar ve sudan sağlanır. Bal arıları için protein

kaynağı polen, balda olgunlaştırılan nektar veya basura ise önemli bir karbonhidrat kaynağıdır (Ambrose ve ark., 1992).

Bal arıları sosyal bir canlı olduğu için süper organizma olarak adlandırılır (Seeley, 1989). Bunun için, beslenme, koloni beslenmesi, erişkin beslenmesi ve larval beslenme olarak üç grupta incelenebilir. Kolonilerdeki besin durumu bal arılarının larval dönemde ki gelişimlerini, ergin bal arılarının gelişimlerini ve kolonideki arı popülasyonunu etkileyebilir (Crailsheim, 1991; 1998).

2.4.1 Koloni Beslenmesinde Karbonhidratlar

Bal arılarının doğal karbonhidrat kaynağı tarlacılar tarafından toplanan nektar veya basuradan sağlanır. Kovana taşınan nektar, petek gözlerine koyulur ve olgunlaşması için işçi arılar tarafından üzeri bal mumu ile kapatılır. Nektardan bala dönüşüm kademeli olarak gerçekleşir ve tarlacı arıların kovana dönüşü sırasında kursakta başlar (Nicolson ve Human, 2008). Kolonide su içeriği %16-20' ye düşürülür ve baldaki şeker kompozisyonunu düzenleyen enzimler (invertaz, diyaztaz ve glikoz oksidaz) eklenir. Balın ortalama şeker bileşimi (Çizelge 2.2); %38 fruktoz, %31 glikoz ve diğer disakkarit ve trisakkaritler bulunmaktadır (Doner, 1977). Yıllık bal verimi, iklim, arıcıların teknikleri ve tarlacı arıların aktivasyonuna göre değişmektedir. Koloni başına 24,3-31,3 kg bal verimi olarak kayıtlara geçmiştir (Avni ve ark., 2009). Bu sayının karbonhidrat desteği verilen kolonilerde 50 kg civarında olduğu gözlemlenmiştir (Severson ve Erickson, 1984). Buna bağlı olarak, kolonilerden bal alınmadığı sürece dışarıdan nektar akışı olmasa bile koloniler uzun süre yaşamlarını sürdürebilir. Kışlamada enerji ihtiyaçları yüksektir. Ilıman iklimlerdeki kolonilerin Temmuz ve Nisan ayları arasında bal tüketimi 20 kg olduğu gözlemlenmiştir. Ağırlık kaybı ve dolayısıyla enerji harcamaları, kış aylarında hayatta kalmaları için gerekli olan ısıyı korumak için harcanan enerji miktarı kuluçkalı kolonilerde (0,84 kg / hafta), kuluçkasız kolonilerde ise (0,42 kg / hafta) olarak tespit edilmiştir (Seeley ve Visscher, 1985).

Çizelge 2.2. Balın Bileşimi (Bogdanov ve ark., 2008)

	Çiçek balı		Salgı balı	
	Ortalama	min-max	Ortalama	min-max
Su	17.2	15- 20	16.3	15- 20
Monosakkaritler				
Fruktoz	38.2	30- 45	31.8	28- 40
Glukoz	31.3	24- 40	26.1	19- 32
Disakkaritler				
Sukroz	0.7	0.1- 4.8	0.5	0.1- 4.7
Diğerleri	5.0	2- 8	4.0	1- 6
Trisakkaritler				
Melezitoz	<0.1		4.0	0.3- 22.0
Erloz	0.8	0.5- 6	1.0	0.1- 6
Diğerleri	0.5	0.5- 1	3.0	0.1- 6
Tanımlanamayan oligosakkaritler	3.1		10.1	
Mineraller	0.2	0.1- 0.5	0.9	0.6- 2.0
Aminoasitler	0.3	0.2- 0.4	0.6	0.4- 0.7
Asitler	0.5	0.2- 0.8	1.1	0.8- 1.5
pH değeri	3.9	3.5- 4.5	5.2	4.5- 6.5

2.4.2 Ergin Bal Arılarının Beslenmesinde Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, bal arıları için önemli enerji kaynaklarıdır. Ergin işçi arılar, vücutlarında protein, karbonhidrat ve yağ depolayamadıklarından hayatta kalmak için kolonilerde bulunan besin stoklarına ihtiyaç duyarlar (Kunert ve Crailsheim, 1988; Hrassnigg ve Crailsheim, 2005). Larvaların aksine ergin arılar, daha düşük glikojen depolarına sahiptir (Her bir işçi arı 0,05-0,47 mg). Enerji ihtiyaç duydukları zaman bunu stok olarak tutulan ballardan karşılarlar (Hrassnigg ve Crailsheim, 2005). Ergin bir arı günlük ortalama 4 mg şekere ihtiyaç duymaktadır (Barker ve Lehner, 1974). (Hrassnigg ve ark., 2005).

2.4.3 Larval Beslenmede Karbonhidratlar

Larvalar düzenli aralıklarla bakıcı arılar tarafından beslenirler. Kuluçkaya verilen gıdaların şeker içeriği fruktoz ve sukrozdan oluşmaktadır. Bu oran larval gelişimin ilk üç gününde %18 son ikin gününde ise % 45'e çıkmaktadır (Brodschneider ve Crailsheim, 2010). Bir işçi larvasının gelişim çağında 59,4 mg karbonhidrat tükettiği belirlenmiştir (Rortais ve ark., 2005). Nektar kaynaklarının zayıf olduğu dönemlerde, stoklardaki ballar tükendiği zaman ve bal hasadı yapıldıktan sonra oluşan karbonhidrat eksikliğinde larva sayısının gerilediği gözlemlenmiştir. Bilinen başka bir unsur ise, Hidroksimetilfurfural (HMF) ve toksit etkisi olan şekerlerdir (Brodschneider ve Crailsheim, 2010).

2.4.4 Bal İkame Yemleri ile Besleme

Arıcılar, doğada nektar olmadığı dönemlerde veya bal hasadı yapıldığı zaman koloninin karbonhidrat ihtiyaçlarını karşılamak için kolonileri karbonhidrat kaynaklı ikame yemlerle beslerler. Arıcılar, şeker şurubu, inverte edilmiş şeker şerbeti, mısır şurubu ve çeşitli meyve şuruplarını kovan içine koyarak besleme yaparlar (Neupane ve Thapa, 2005). Ilıman iklimlerdeki ergin işçi arılar, Kasım ve Nisan ayları arasında yaklaşık olarak 20-25 kg şurup tüketmektedirler (Severson ve Erickson, 1984). Şuruplar kovan içinde görev yapan bakıcı arılar tarafından tüketilir ve petek gözlerine taşınır (DeGrandi-Hoffman ve Hagler, 2000). Genç arılar tarlacılara göre daha fazla şekerle beslendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, yaz aylarında kovan içinde, şeker çözeltisi tüketen arıların nektarı işleyen arılarla aynı yaşta olduğu gözlemlenmiştir (Free, 1965; Brodschneider ve ark., 2007). Doğada nektar olmadığı dönemlerde arıcılar arı kolonilerini bal ikamesi olarak şeker şurubuyla beslerler. Şeker şurubunun hazırlanmasında şeker su içerisinde çözelti haline getirilirken yüksek ısı uygulanması şurubun içerisinde HMF oranının artmasına neden olur. HMF; pişirme veya sterilizasyon için gıda maddelerine uygulanan ısıl işlemler sonucu, enzimatik olmayan maillard reaksiyonu veya heksozların asit katalizörlüğünde dehidrasyonu sonunda ortaya çıkan ürüne denmektedir (Fallico ve ark., 2004; Turkmen ve ark., 2006; Turhan ve ark., 2008; Khalil ve ark., 2010). HMF'nin bal arısı yaşam uzunluğuna etkisi üzerine yapılan kafes çalışmasında 150 ppm HMF içeren şeker çözeltisi ile beslenen arılarda 20 gün içinde %58,7 oranında ölüm olduğu gözlemlenmiştir. 30 ppm HMF içeren şeker çözeltisi ile beslenen arılarda ise %15 oranında ölüm belirlenmesine rağmen kontrol grubu (%12,5) ile arasında istatistiki fark önemli bulunmamıştır. Bu nedenle, 30 ppm altı arılar için güvenli sayılabilir (LeBlanc ve ark., 2009). TGK, CAC ve AB kriterlerine göre balın HMF oranı en fazla 40 mg/kg olmalıdır. Ancak, tropik bölgelerde bu rakam 80 mg/kg olarak sınırlandırılmıştır (Codex Alimentarius Commission Standards 2001; Council Directive of the European Union 2002; Bal Tebliği, 2005). Ayrıca, tarım arazilerinde kullanılan kimyasal ilaçlar nektar ve polen toplayan tarlacı arılar tarafından koloniye taşınıp kolonideki diğer arıların ömür uzunluğunu azalttığı gözlemlenmiştir (Rortais ve ark., 2005).

2.4.5 Koloni Beslenmesinde Proteinler

Bal arılarının tek doğal protein kaynağı polendir. Koloniler, yıllık 10-26 kg arasında polen toplamaktadır (Wille ve ark., 1985). Kolonide her zaman baldan daha az miktarda polen depolanır. Tarlacılık faaliyetleri olmadığı veya az olduğu dönemlerde polen hızlı bir şekilde tüketilir (Schmickl ve Crailsheim, 2001; 2002). Kolonide, arılar tarafından bal yapılmayan

nektar ve salgılar polenle karıştırılarak arı ekmeği üretilir. Bu ürün, daha düşük pH' ya ve nişastaya sahiptir (Herbert ve Shimanuki, 1978; Ellis ve Hayes, 2009). Arı ekmeğinin, besin değeri taze polenden, laboratuvar ortamında depolanan ve birkaç istisna dışında depolanmış polenden daha yüksektir (Hagedorn ve Moeller, 1968; Herbert ve Shimanuki, 1978; Dietz ve Stevenson, 1980; Cremonez ve ark., 1998; Pernal ve Currie, 2000). Polenlerin protein içerikleri buldukları bölgeye göre değişkenlik göstermektedir (Roulston ve ark., 2000). Farklı oranlarda gelen protein oranlarının arıların kuluçka alanlarına (Campana ve Moeller, 1977; Loper ve Berdel, 1980a;b; Dietz ve Stevenson, 1980) yaşam uzunluklarına ve diğer fiziksel parametrelere etkisi görülmüştür (Schmidt ve ark., 1987).

Çizelge 2.3. Polen bileşimi (Krell, 1996)

İçerik	Arılarca Toplanan (%)	Elle Toplanan (%)
Su	11	10
Ham Protein	21	20
Kül	3	4
Eter Ekstraktı (Ham Yağ)	5	5
İndirgenmiş Şeker	26	3
İndirgen Olmayan Şeker	3	8
Nişasta	3	8
Diğer	29	43

2.4.6 Ergin Bal Arılarının Beslenmesinde Proteinler

Ergin arıların %66-74'ü proteinler tarafından oluşturulmaktadır (Hrassnigg ve ark., 2005). Bir işçi arı günde yaklaşık 3,4-4,3 mg polen tüketmektedir ve en yüksek tüketim miktarı bakıcılık döneminde (Crailsheim, ve ark, 1992). Petek gözünden yeni çıkmış arıların kanındaki protein miktarı 11,4–27,6 µg/µL (Cremonez ve ark, 1998) 6,0-9,4 µg / µL olarak belirlenmiştir (De Jong ve ark., 2009). Arıların vücudunda bulunan protein oranı mevsimlere göre de değişiklik göstermektedir. Yaz sonunda gözden çıkan arıların fizyolojik olarak (De Groot, 1953; Crailsheim, 1986; Kunet ve Crailsheim, 1988) ve yaşam uzunluklarında farklılıklar gözlemlenmiştir (Maurizio, 1954).

2.4.7 Larval Beslenmede Proteinler

Bir larvanın gelişimi için 125–187,5 mg protein gerekmektedir. Larvalara polen direk olarak verilmemektedir. Larvaların aldığı esas protein kaynağı polenin bakıcı arılar tarafından işlenmiş halidir (Hrassnigg ve Crailsheim, 2005). Larvaların direk polenden aldığı protein

oranı %5'tir (Babendreier ve ark., 2004). Bakıcı arılar, larvaları beslemek için özel bir enzimatik sisteme sahiptirler (Moritz ve Crailsheim, 1987). Bakıcı arılar tarafından yapılan bu beslenme şekli larvaların yaşlarına göre değişmektedir ve genç larvalar, yaşlı larvalara göre daha az beslenmektedir (Haydak, 1970; Schmickl ve Crailsheim, 2002).

2.4.8 Polen İkame Yemleri ile Besleme

Doğada polen olmadığı veya düşük kaliteli polenler olduğu zaman arıcılar bahar aylarında arıları polen ikame yemleri ile beslerler (Somerville ve Nicol, 2006). Polen ikame yemlerinde protein kaynağı olarak, soya fasülyesi, inaktif maya, süt ve algler kullanılmaktadır (Standifer ve ark., 1977). Protein kaynağı ile besleme kolonideki kuluçka alanını artırmaktadır. Bu sebepten dolayı kullanılan polen ikame yemleri kolonilerdeki birey sayısı ve kalitesi açısından büyük öneme sahiptir (Brodschneider ve Crailsheim, 2010).

2.4.9 Diğer Besin Maddeleri

Bal arıları için karbonhidratlar ve proteinler kadar makro besinler olan yağlar, vitaminler ve minerallerde önemlidir (Haydak, 1970). Bal arıları yağ ihtiyaçlarını polenden karşılarlar. Polenlerin içindeki yağ miktarları türlere göre farklılık göstermekle birlikte %0,8 ile %18,9 arasındadır (Roulston ve Cane, 2000). Lipidler esas olarak bal arılarının gelişiminde rol oynarlar ve önemli bir enerji kaynağıdır (Cantrill ve ark., 1981).

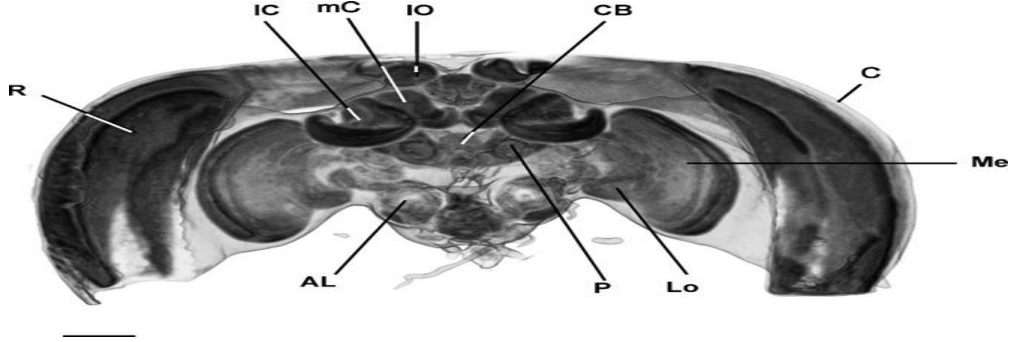
Polenlerin içeriğinde yağda çözünenlerin aksine suda çözünen vitaminler daha yaygındır (Roulston ve Cane, 2000). Polenlerdeki C vitamini mevsime bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Ayrıca, C vitamini larvaların gelişiminde rol oynamaktadır (Herbert, 1985).

Bal arıları ağırlıklı olarak mineral madde ihtiyacını polenden karşılar. Ancak, doğada polen kıtlığı olduğu dönemlerde ihtiyaçlarını nektar ve sudan da karşılayabildikleri gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda mineral maddelerin kuluçka alanına etkisi olduğu tespit edilmiştir (Imdorf ve ark., 1998).

2.5 Bal Arısı Beyni

Bal arıları, nörobiyolojide önemli bir model hayvandır. Bunun nedeni nispeten basit olan sinir sistemlerinden kaynaklanmaktadır. Yapısı ve sinir hücrelerinin sayısı açısından bal arısı beyne insan beynindeki milyardan fazla hücreye kıyasla yaklaşık 1 milyon nörona sahiptir. Bununla birlikte, bal arısının 'basit' beyne, öğrenme ve hafıza fenomeni ve diğer bilişsel yetenekler (iletişim, navigasyon vb) şaşırtıcı bir repertuara sahiptir. Bu nedenle bal arısı, sinirsel mekanizmaları analiz etmek için popüler sisteme sahiptir. 17. yüzyıldan beri ve

çoğunlukla 19. yüzyıldan beri, bal arısı beyнинin anatomisi üzerinde ağırlıklı olarak diseksiyon, histolojik inceleme ve beyin rekonstrüksiyonu şeklinde kapsamlı bir çalışma yapılmıştır (Swammerdam, 1758; Kenyon, 1896; Cajal ve Sanchez, 1915). Bal arısının beyninin yaklaşık olarak kapladığı alan 1 mm^3 ve ağırlığı 1 mg dır. Beyinde ki tahmin edilen nöron sayısı ise 850 – 950 000 dir (Witthöft, 1967). Beyin, bal arısının başlıca yönetim merkezidir. Çok genel olarak beyin bir hücre tabakasından oluşur. Beynin başlıca kısımları, optik loblar, anten loblar, merkezi ve mantarsı yapılardan oluşmaktadır (Ribi ve ark., 2008).



Şekil 2.3. Bal Arısının Baş X-ray'i: AL: Anten Lob, C: Kornea, CB: Merkez Yapı, IC: Sol Lateral Calyx, Lo: Lobula, mC: Sol Median Calyx, Me: Medulla, IO: Sol Lateral Ocellus, P: Sağ Pedunculus, R: Retina

2.5.1 Optik Lob

Optik loblar; görme duyularından sorumlu olan kısımdır. Optik loblar, bileşik gözlere beynin ön lobunun yanal uzantılarıdır. Optik loblar; lamina, medulla ve lobula olmak üzere 3 kısımdan oluşurlar. Bu kısımlar farklı nöron bölgelerinden oluştuğu için katmanlı bir görünüm ortaya çıkarır (Ribi ve ark., 2008).

2.5.2 Anten Lob

Anten lobları, koku alma uyarılarını işleme merkezidir (Homberg ve ark., 1989). Ayrıca bal arıların erken yaşta kokuyu öğrenmelerini sağlayan bölgedir (Heisenberg ve ark, 1985; Erber ve ark., 1987).

2.5.3 Mantarsı Yapı

Bal arılarında, öğrenme ve bellek, özellikle kokuyu öğrenme vb. duyuşal bilginin entegrasyonu mantarsı yapıda olduğu düşünölmektedir. Koku ile haberleşme sosyal olan bal arılarının önemli parçalarındandır (Erber ve ark., 1980; Durst ve ark., 1994; Fahrbach ve Robinson, 1995; Hammer ve Menzel, 1995; Meller ve Davis, 1996; Menzel, 2001; Menzel ve Giurfa, 2001). Mantarsı yapılar yaklaşık olarak birbirine sıkıca bağlanmış olan paralel

170,000 nörondan oluşmaktadır. Bunlara Kenyon hücreleri (K- cells) denmektedir (Witthöft, 1967). Mantarsı yapı, çift yönlü simetrik yapılardır. Dört farklı bölgeden oluşur. Bunlar; fincan şeklinde kalyes, orta ve yanal kaliksler ve pedunculustur (Ribi ve ark. 2008).

2.6 Gelişim ve Davranışı Etkileyen *AmILP* Genleri Nörotransmitter Salınımı Düzenleyen BRP Proteini ve Ömür Uzunluğunu Etkileyen *Vitellogenin*

İnsülin/ İnsülin benzeri büyüme faktörü sinyalleri (ISS), metabolizma (Broughton ve ark., 2005) ve beslenme ile ilgili olan davranışların (Wu ve ark., 2005) düzenlenmesinin yanında yumurtlama ve ömür uzunluğunda da önemli rol oynar (Colombani ve ark., 2003; Oldham ve Hafen 2003). ISS işçi bal arılarının sinir ve periferel dokularda eksprese edilen ILP-1 ve ILP-2 genlerini içermektedir (Corona ve ark., 2007; Ament ve ark., 2008). Besin alımı veya besin stoklarının yüksek düzeyde olması insülin (Schwartz ve ark., 1997) veya böceklerde bulunan insülin benzeri peptitlerin sentezlenmesine yol açar (Ikeya ve ark., 2002) ve adipokinetik hormonun sentezini baskı altına alır (Kim ve Rulifson, 2004). ISS, TOR yolağının (Edgar, 2006) hem de JH'nun yukarı düzenlenmesini sağlar (Tu ve ark. 2005; Corona ve ark., 2007). JH'nun bal arısı davranışlarının olgunlaşmasında rol oynadığı bilinmektedir (Robinson, 1987; Sullivan ve ark., 2000).

Bal arılarının beyinde duyuusal bilginin işlenmesinde yer alan belirgin beyin nöropilleri olan bölgeye mantarsı yapı (MB) denmektedir. MB yaşa bağlı olarak şekil değişiklikleri gösterebilir (Withers ve ark., 1993;Krofczik ve ark., 2008). Bunun sebebi, mikrogranüllerde ki presinapsların transmitter salımında presinaptik proteinlerinde artış olmasından kaynaklanmaktadır. BRP, birçok böceğin presinapslarının aktif bölgedeki sitomatriks'de bulunan ve nörotransmitter salımını kontrol eden proteindir (Wagh ve ark.. 2008; Leitinger ve ark., 2012).

Vitellogenin (*Vg*), kraliçe arılarda yumurta üretimiyle ilişkili olan bir proteindir (Engels, 1974; Tanaka ve Hartfelder, 2004). Bal arılarını, oksidatif strese karşı koruyan ve yaşam uzunluklarını arttıran fonksiyonları da vardır (Seehuus ve ark., 2006; Corona, ve ark., 2007). Bununla birlikte, vücut yağının gelişimini sağladığı için gelişmeye de etkisi olduğu bilinmektedir (Haydak, 1970; Alaux ve ark., 2010). Bal arılarında bulunan Vg 180- kDA glikoproteindir (Wheeler ve Kawooya, 1990) ve vücut yağından sentezlenir (Fleig, 1995).

2.7 Kaynak Özetleri

Bal arısı kolonilerinde işçi arıların yaşa bağlı iş bölümü düzenlenmesinde insülin sinyallerinin rolü incelenmiştir. Beslemenin yaşa bağlı iş bölümünü etkilediği bilinmektedir

(Winston, 1987). Çalışmada *AmILP-1*, *AmILP-2*, *Apis mellifera* Adipokinetik Hormon (*AmAkh*) bu genlere reseptör olan *Apis mellifera* İnsülin Benzeri Peptit Reseptörü 1 (*AmInR1*), *Apis mellifera* İnsülin Benzeri Peptit Reseptörü 2 (*AmInR2*) ve *Apis mellifera* Adipokinetik Hormon Reseptörü (*AmAkhR*) kullanılmıştır. Deney 4 farklı kısımda yapılmıştır. 1. kısım; bakıcı ve tarlacı arılarda insulin sinyali gen ekspresyonu, 2. kısım; beslenmeye bağlı *AmILP-1* ve *AmInR1*'in değişimi, 3. kısım; TOR besin maddesi algılama yolları davranışları etkilemesi, 4. kısım; düşük insülin sinyalizasyonuna sahip bakıcı arılarda beyin enerjisinin yukarı doğru düzenlenmesi incelenmiştir. Davranış olgunlaşması için arıların toplanması; Deney 1, bakıcı arıları tespit etmek için larvalı petek gözlerine başlarının birçok kez sokup çıkarma davranışı ve tarlacıların tespit edilmesinde, kovanın giriş kısmında ayaklarında polen olan arılar toplanmıştır. Deney 4, gerekli olan bakıcı arılar da bu şekilde tespit edilmiştir. Yakalanan arılar sıvı azot içine atılarak öldürülmüştür. Deney 2 ve 3 için; 1 günlük yaştaki arıları sağlanmasında çıkmak üzere pupalı petekler inkübatör içerisine konulmuştur. Davranışlarının incelenmesi için göğüs kısmından işaretlenmiştir. İşaretli arılar kafese yerleştirilmiştir. Arılar 3-5 gün karanlıkta bekletilmiştir. Deney 2'deki bal arıları şeker şurubu ve arı ekmeği ile beslenmiştir. Deney 3 teki bal arılarına rapamycin verilmiştir. Grupların kötü beslenmesi için, 1200 adet bir günlük yaşta ki işçi arı ve bir adet kraliçe arı ile koloni oluşturulmuştur. Kötü beslenecek kolonilere 2 gün bal verilmiştir ve daha sonra ki 2 gün boyunca yiyecek verilmemiştir. İyi beslenen kolonilere ise devamlı bal ve polen verilmiştir. Arılar 5 günlük yaşa gelince sıvı azota atılarak öldürülmüştür ve RT-PCR analizleri yapılmıştır. 1. kısım için bulunan sonuçlar; beyinde bulunan *AmILP-1* ve karında bulunan *AmInR1*, *AmInR2*, tarlacılarda bakıcılara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Fakat, *AmAkh* ve *AmAkhR* için istatistiki olarak fark bulunmamıştır. 2. kısım için; sadece şeker kaynağı ile beslenen grupta ki *AmILP-1* seviyesi protein kaynağı ile beslenen gruptan yüksek çıkmıştır. Ayrıca kötü beslenen kolonilerde de *AmILP-1*'ni yükselttiği gözlemlenmiştir. 3. kısım; insülin sinyalizasyon yollarının, bal arısı davranışlarını olgunlaşması denenmiştir. Bunun için arılara rapamisin verilmiştir. yaz başında yapılan denemelerde rapamisin verilen arılarda tarlacılık yaşının geciktiği gözlemlenmiştir. Buna karşılık, yaz sonunda beslenen arıların tarlacılık yaşında bir etki görülmemiştir. 4. kısım; bakıcı arıların beyin enerjilerinin tarlacı arıların beyin enerjilerinden yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Ament ve ark., 2008).

Azevedo ve Hartfelder, (2008) kraliçe ve işçi arı larvalarında ki insülin like peptide ve insülin reseptörlerinin diferansiyel ifadesi üzerine çalışmışlardır. Bal arısı genomunda insülin like peptide olarak bulunan *AmILP-1* ve *AmILP-2* genlerini ve bu iki genin reseptörü olan *AmInR1* ve *AmInR2* gelişimsel ekspresyon profillerini araştırılmıştır. Deneyde, ikinci dönem

15 tane larva (L2), üçüncü dönem 7 tane larva (L3), dördüncü dönem 4 tane larva (L4) kullanılıp diğer dönemlerde ki larvalardan (F1,F2,F3,S1) tek larva RNA çıkarma için kullanılmıştır. Ovaryumları incelemek için dördüncü ve daha erken dönemde bulunan 8-12 arası larva kullanılmıştır. Kraliçe ve işçi larvalarında *AmILP-1* ve *AmILP-2* genleri karşılaştırıldığı zaman, iki sınıfta da *AmILP-2*'nin *AmILP-1*'e göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Her iki kast için ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, *AmILP-1*, kraliçe bal arılarının F1 ve F2 dönemlerinde en üst noktaya ulaştığı ve işçi arı larvarına göre istatistiki olarak fark gözlemlenmiştir. *AmILP-2* içinse bu durum tam terstir. Larvaların F3 ve S1 dönemlerinde fark gözlemlenmiştir. Bu iki kast için *AmInR1* ve *AmInR2* karşılaştırıldığı zaman herhangi bir fark görülmemiştir. Ovaryumda bulunan *AmInR1* seviyesi incelendiği zaman iki kast arasında ki seviyeler birbirine yakın çıkmıştır. Sadece kraliçe arılarda pupa öncesi artış göstermiştir. *AmInR2*' de ise sonuç tam tersi çıkıp kraliçe arıların L4 döneminde farklılık görülmüştür.

Wheeler ve ark. 2006'da bal arılarında kast sistemini ve beslenmeye dayalı büyümenin düzenlenmesinde merkez olan insülin sinyalinin yolağı olan *AmILP-1* ve *AmILP-2* genleri ve bu genlerin reseptörleri olan *AmInR1* ve *AmInR2* incelenmiştir. Kraliçe arılarda işçi arılara göre bu genlerin daha fazla ekspresyon olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu genler kraliçe arı larvalarının ikinci döneminde daha yüksek seviyelerde eksprese edilmiştir. Bu sonuçlara göre, insülin yolağının, diyet, kast belirleme ve farklılaşmada rol oynadığı gözlemlenmiştir.

İnsülinin bal arısı davranışları üzerine etkisini incelemek için yapılan başka bir çalışmada da; sakkaroz tepki deneyleri için arıları üç gruba ayrıldı; kış arısı, savunmacı ve tarlacı olarak ayrılmıştır. Örnek başına toplanan 4 işçi arıyı bir şişeye nakil edilmiştir. Bal arıları insülini yerine diğer araştırmaları takiben bovine insülini kullanılmıştır. Toplanan bu işçi arıları rastgele; kontrol, buffer ve insülin olmak üzere üç deney grubu oluşturulmuştur. Buffer grubuna HEPES, insülin grubuna ise bovine insülin enjekte edilmiştir. Kış arılarında insülin dengesinin değişmesiyle bağlantılı olarak beslenme davranışının değişimde gözlemlenmiştir. Arılardan suya ya da çok düşük sukroz konsantrasyonlarına yanıt veren arılarda, yüksek sukroz konsantrasyonlarına tepki veren veya tedavilerde hiç yanıt vermeyen arılar arasında fark olduğu gözlemlenilmiştir. Yaz arılarında ise; istatistiki olarak herhangi bir fark gözlemlenmemiştir (Mott ve Breed, 2012).

Alaux ve ark. 2011'de bal arılarının beslenmenin patojenler ve parazitler üzerine bir çalışmışlardır. Bu amaçla, arıların bağışıklık sistemini baskılamak ve ömrünü azaltmak için *Varroa* akarı kullanılmıştır. 4 deney grubu kurulmuştur. 1. grup; polen diyeti bulunmayan ve *varroa* paraziti bulaştırılmamış grup (P-, V-), 2. grup polen diyeti ile beslenen ve *varroa*

paraziti bulaştırılmamış grup (P+, V-), 3. grup varroa paraziti bulaştırılmış polenle beslenmeyen grup (P-, V+), 4. grup varroa paraziti bulaştırılmış polenle beslenen grup (P+, V+) olarak ayrılmışlardır ve abdomen kullanılarak dijital gen ekspresyonu yapılmıştır. Polenle beslenen ve varroa bulaştırılmamış grupta Vg en yüksek çıkmıştır. Polenle beslenip varroa bulaştırılmış arılarda ise bu seviye düşük çıkmıştır. En düşük seviye ise polenle beslenmeyen gruplarda görülmüştür. Varroa akarı bulaştırılmış ve sadece şeker kaynağı ile beslenmiş arılarda *malvolio* geni seviyesi en yüksek çıkmıştır. Ekspresyon miktarı en az olan ise polen ile beslenmiş arılarda görülmüştür. *Prophenoloxidase* geni seviyesi en yüksek grup varroa paraziti bulaştırılmamış gruplar olarak gözlemlenmiştir. *Spaetzle* gen seviyesi ise en yüksek polenle beslenen ve varroa paraziti bulaştırılmamış grup olmuştur. Zayıf besleme koşullarında ILP-1'nin daha yüksek çıktığı gözlemlenmiştir. Ayrıca varroa akarı bulaştırılmış gruplarda da ILP-1 seviyesinin yüksek olduğu bulunmuştur.

Fischer ve Grozinger 2008'de işçi arıların vücut yağında, mandibular feromonun açlık direncine, vücudunda yağ depolamaya ve gen ekspresyonları üzerine çalışmışlardır. Kraliçe tarafında salgılanan mandibular feromonu tarafından uyarılan işçi arıların kontrol grubunda bulunan ve şeker kaynağı ve kuru polenle beslenen işçi arılardan daha uzun yaşadığı ayrıca vücutlarında ki yağ seviyelerinin de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Mandibular feromonuna mağruz bakıcı arılarda *Vitellogenin* seviyesi tarlacılık görevi yapan arılara göre daha yüksek çıkmıştır. İnsülin sinyal yollarında ise herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bu çalışma; bal arılarında feromona mağruz kalmanın, besin depolama yollarında, vücut yağı gen ekspresyonlarını değiştirebildiğini ayrıca kimyasal iletişiminden dolayı sosyal etkileşiminde değiştirebildiğini göstermiştir.

Mutti ve ark. 2011b'de yaptığı çalışmada IRS ve TOR besin yollarının bal arılarında ki kast sistemini etkileyen juvenil hormon seviyelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada bal arıları larvaları kraliçe arı diyetinde beslenmiştir ve bunlara ek olarak larvalara IRS, TOR, IRS/TOR ve kontrol grubunda bulunan larvalara yeşil florasanlı protein (*dsGFP*) verilmiştir. Uygulanan diyetlerinden dolayı kastlar arasında fark olduğu bulunmuştur. Bunlara ek olarak transkript profilleri, proteomik kalıplar, lipid seviyeleri DNA metilasyonları ve morfolojik değişimler olduğu gözlemlenmiştir. IRS ve TOR diyetleri ile beslenen larvaların JH seviyesinin kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Buna rağmen; normal gelişimlerini devam ettirebildikleri görülmüştür.

Drosophila'lar üstüne yapılan bir deneyde ise; insülin benzeri sinyalden bağımsız olarak diyet ve yaşam uzunluğunun incelemesi olmuştur. *Drosophila*'lara besin kısıtlaması yapılmış ve farklı maya konsantrasyonlarında beslenmiştir. Bunun sonucunda; yüksek maya

diyetleri ile beslenen *Drosophila*' ların yaşam uzunluğunun daha uzun olduğu ve ILP-2 seviyesinin seviyesinin düştüğü gözlemlenmiştir. Yaşam uzunluğu artırılacağı düşünülen besin kısıtlaması ise sadece ILP-5 seviyesini değiştirmiştir. Böylece; ILP-5'teki indirgenme besin kısıtlaması ile ilgili ILP-2'de ki düşüşün sebebi de maya diyetleri ile ilgili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca; besin kısıtlaması için ILP-5'in azalmasının ömür uzuluğuna etkisini ölçmek için RNAi ile bloke edilmiştir. ILP-5 kaybının besin kısıtlamasının yaşam uzunluğa bir etkisi olmadığı görülmüştür. Son olarak, dFOXO'un besin kısıtlamasının ömür uzunluğuna etkisi değerlendirilmiştir. ILP-5'in düşürülmesinde olduğu gibi besin kısıtlamasının dFOXO'lu ve dFOXO'suz genotipler arasında eşit derecede etkili olduğu gözlemlenmiştir (Min ve ark., 2008).

Drosophila' lar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise; proteince ve şekerce zengin besin diyetlerinin *Drosophila* beyininde bulunan insülin benzeri peptid sinyallerine etkisi incelenmiştir. *Drosophila*'larda yapılan mikrodizi analiz yöntemi ile, insülin üreten hücrelerin ortadan kaldırdığı ve evrimsel olarak korunmuş bir a-glukozidazi kodlayan beyin insülin (*tobi*) geni belirlenmiştir. *Tobi* seviyesi yüksek *Drosophila*'ların yaşamlarını sürdürebildiği fakat *tobi* seviyesi yüksek olanlarda ise büyüme kusurlarına ve vücut glikojeninde düşüşe rastlanmıştır. Yüksek protein diyeti ile beslenen *Drosophila*'larda *tobi* seviyesinin arttığı, şeker diyeti ile beslenenler de ise bu seviyenin düştüğü gözlemlenmiştir. *Tobi*'nin bir glukagon analogu ile düzenlendiği düşünülmektedir. *Tobi* seviyesi, glukagon analogları olan adipokinetik hormon üreten nöroendokrin hücreleri aracılığıyla ortadan kaldırılır. Böylece, protein ve şeker diyetine karşı tepki veren insülin ve glukagon benzeri sinyalizasyon sisteminin bir hedefi olduğu gözlemlenmiştir (Buch ve ark., 2008).

Besin yoksunluğuna tepki olarak, beyinde ki *dilp* geninin IPC'lerde saklanmadığını *Drosophila*'lar üzerinde yapılan deneyde gözlemlenmiştir. Ayrıca omurgalı karaciğerinin ve beyaz yağ ile aynı işlevde olan larval vücut yağının TOR/RAPTOR'a bağlı bir mekanizma yolu ile *dilp* salınımını uzaktan kontrol ederek *dilp* seviyesinin aminoasit seviyeleri ile birleştirildiği tespit edilmiştir. Son olarak ex vivo doku kültürü, yağ gövdesi tarafından yayılan humoral bir sinyalin hemolimf üzerinden geçip ILP'lerde *dilp* salgılanmasının aktive ettiğini göstermek için kullanılmışlardır. Böylelikle, besin maddelerinin varlığı vücut yağlarında hissedilebilir ve ILP salınımını kontrol eden sinyallerle beyin IPC'lerine iletilir (Geminard ve ark., 2009).

Bal arılarının beyininde bulunan mantarsı yapı yaşla ilişkili olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Mantarsı yapının calyces bölgesinde ki çıkık bölgelerin mikro glomerül (MG) boyutları ve yoğunlukları yaşa göre değişti belirlenmiştir. Presinaptik protein

brunchpilot (BRP) aktif bölgede tespit edilmiştir. *Drosophila*' da nörotransmitter salınımının düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada; Bal arısı beyinde bulunan *AmBRP* seviyesinin yaşa bağlı değişimi incelenmiştir. İki haftalık bal arılarının beyinde *AmBRP* miktarı artarken, diğer bir nörotransmitter salınımında rol oynayan Synapsin proteini ise ilk iki hafta boyunca artış gösterdikten sonra düşüşe geçmiştir. Buna ek olarak; mantarsı yapıda ki calyces bölgesinde bulunan mikro glomerül içerisinde ki presinaptik butonların yakınında bulunan *AmBRP*'nin yaşla ilişkili bir modülasyonu olduğu tespit edilmiştir (Gehring ve ark., 2017).

Groh ve ark. 2012'de beyinde bulunan koku ve görsel bölgelerde bulunan mikro glomerularda giriş sinapslarının yaşa bağlı değişimi araştırmışlardır. Bakıcılıktan tarlacılığa geçiş dönemlerinde beyin calycal bölümlerinde hacim artışı, giriş nöronlarında ki boutonların azalmasına neden olduğunu belirlenmiştir. Mikro glomerüllerin pre ve postsinaptik bölgelerinde ki değişimleri araştırmak için seri kesit elektro mikroskobu kullanılmıştır. Tarlacılık görevine gelen arıların koku ve görsel nöron boutonlarının yüzey alanı 1 günlük arılara göre belirgin bir şekilde artmıştır. Şerit sinaps yüzdesi tarlacı arılarda önemli olarak gelişim gözlemlenmiştir. Her presinaptik alanda postsinaptik partnerlerin (Kenyon Hücreleri) sayısı artmıştır. Görsel bölgede bulunan kenyon hücre dalları 95 adetken tarlacılık görevinde olan arılarda ise 140 adet bulunmuştur. Mantarsı yapının calycal bölgesinde olan değişimlerin bal arısının koloni içinde ki sosyal davranışları değiştirdiği düşünülmektedir.

Biyolojik aminler; dopamin, serotonin ve oktopomin düzeyleri, yaşa bağlı işbölümünün bir fonksiyonu olarak yaş ve davranışsal durumu birbirine bağlamak için manüpülasyonlar kullanılarak ergin işçi bal arılarının beyinlerinde ölçülmüştür. Beyinde ki anten lob bölgesinde üç amin tarlacılarda bakıcı arılara göre daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca oktopamin miktarı, serotonin ve dopamine göre daha fazla çıkmıştır. Beyinde bulunan mantarsı yapıda ise davranışsal durum ne olursa olsun yaşlı arılarda bulunan dopamin, serotonin ve oktopamin seviyeleri genç arılara göre daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlara göre; anten loblarda ki oktopamin artışının bal arılarında yaşa bağlı iş bölümünde önemli olduğu düşünülmektedir (Schulz ve Robinson, 1999).

Alaux ve ark. 2010 yılında bal arılarında diyet protein miktarının (monofloral polen) ve diyet çeşitliliğinin (polifloral polen) birey bağışıklık sistemi parametreleri (Hemosit yoğunluğu, vücut yağı içeriği ve fenoloksidaz aktivitesi) kullanılarak temel bağışıklık sistemine etkisi ve arılarda sosyal bağışıklığın bir parametresi olarak koloni ve kuluçka besinlerini steril etmesini sağlayan glukoz oksidas aktivitesi üzerine çalışma yapmışlardır.

Proteinle besleme hem bireysel hem de sosyal bağışıklık sistemini değiştirdiği gözlemlenmiştir. Ancak; diyet proteinin (monofloral polen) bağışıklık sisteminde herhangi bir değişim yapmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte diyet çeşitliliğinin (polifloral diyet) bağışıklık sistemi seviyesini arttırdığı bulunmuştur. Özellikle polifloral diyetlerde ki glukoz oksidas aktivitesinin seviyesi monofloral diyetlerden daha fazla görülmüştür. Bu sonuçlar, bal arılarında ki protein beslenme çeşitliliği ile bağışıklık sisteminin bağlantılı olduğu ve polinatör sağlığı açısından kaynak kullanılabilirliğinin kritik rolü kanıtlanmıştır.

Mattila ve Otis 2004'ten 2006'ya kadar sürdürdüğü çalışmada bal arıları polen, polen ikamesi ve kısıtlı polen verilerek gözlemlenmişlerdir. Protein kaynağı olan polen ve polen ikamesi ile beslenen bal arılarının erken ilkbahar döneminde diğer gruplara göre daha fazla kuluçka alanının daha fazla olduğunu gözlemlenmişlerdir. Bununla birlikte, bal veriminde kısıtlı polenle beslenen bal arılarına göre iki kat artmıştır.

Brodshneider ve Crailsheim 2010 yılında beslemenin işçi bal arıları üzerine etkisini üç aşamada incelemişlerdir. 1) Karbonhidrat ve protein ikame yemleri ile koloni beslenmesi, 2) Ergin beslenmesi, 3) Larva beslenmesi. Larva gelişiminin proteine ihtiyaç duyduğunu ve eksikliği halinde kuluçka üretiminde ciddi problemler çıktığını belirtmişlerdir. Larvaların protein eksikliği ileri ki dönemlerde işçi arılarında etkileyebileceğini göstermişlerdir. Larva açlığının, tek başına ve diğer stres faktörleri ile birlikte koloniyi zayıflattığı gözlemlenmiştir.

DeGrandi-Hoffman ve ark. (2010) polen, polen ikame yemi ve şeker şurubu ile beslenen arılarda arı sütü bezlerinde ki gelişim ve virüse karşı direnç gelişimi üzerine araştırma yapmıştır. Polen, polen ikame yeminden daha fazla tüketilmesine rağmen arı sütü salgılama bezlerinin gelişiminde fark görülmemiştir. Şeker şurubu ile beslenen arılarda ise arı sütü salgıma bezlerinde ki gelişimin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. İşçi arıların yaşları arttıkça şeker şurubu ile beslenen arılarda bulunan deforme olmuş kanat virüsü miktarı protein ile beslenen arılarda ki virüs miktarından daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda, protein kaynaklı besleme ile bağışıklık sistemi arasında bir bağlantı olduğu ve polen ikame yemlerinin kolonide ki protein stresini azaltıp koloni kayıplarının azabileceği bildirilmiştir.

Greenberg ve ark. (2012) bal arısında davranışsal esnekliğin beyinde bulunan micro RNA (miRNA) transkriptom değişimlerini incelemişlerdir. Bal arılarında ki miRNA bakıcılıktan tarlacılığa geçerken düzenli olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Sonuçlara göre bu düzenli azalmaların sosyal davranışa bağlı olduğu tespit edilmiştir.

Ergin işçi arıları için esansiyel aminoasit ve karbonhidrat gereksinimlerini beslenme için geometrik çerçeve kullanarak davranışsal olgunlaşmaya etkisi *Paoli ve ark.* (2014)

tarafından araştırılmıştır. Aynı yaştaki 20 tane bal arısı belirli oranda esansiyel aminoasitler ve sükröz verilerek alım miktarı hesaplanmıştır. Genç ve ana arısız kolonilerin tüketim miktarı 2 haftalık bir periyotta esansiyel aminoasitlerden karbonhidratlara kaymıştır. Bunun sonucunda; esansiyel aminoasitlerle beslenen grubun ömür uzunluğunda azalma belirlenmiştir. Tarlacı arılarda da en düşük yaşam uzunluğu yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenen arılarda gözlemlenmiştir. Ana arı mandibular feromonuna maruz kalan işçiler yüksek esansiyel aminoasit diyetlerinde uzun yaşadıkları tespit edilmiştir.

Mattila ve Otis (2006a), bahar döneminde kolonilerde polen durumunun değişmesinin ilkbahar mevsiminde işçi arıların fizyolojisi, yaşam uzunluğu ve yaşa bağlı iş bölümü üzerine iki yılı geçen bir çalışma yapmışlardır. Polenle desteklenen kolonilerin, polen kısıtlı yaşayan kolonilere göre daha uzun yaşadıklarını tespit etmişlerdir. İkinci yıl ise; polenle beslenen koloniler, kısıtlı polenle yaşayan kolonilere göre daha az yaşamışlardır. Ancak; fizyolojilerinde herhangi bir değişiklik yoktur. Yetişkinler ise; polenle desteklenen grubun, kısıtlı polen beslenen gruba göre daha fazla bakıcılık yaptığı ve tarlacılık yaşına daha geç ulaştığı gözlemlenmiştir. Larval gelişim döneminde polenle beslenen işçilerin özelliklerini etkilediği belirtilmiştir.

Mattila ve Otis (2006b) ilkbaharda kolonilerde ki polen talebinin, nosema bulaştırılmış ve bulaştırılmamış arıların yaşam uzunluğuna, hijyenik davranışı ve beslenme şekilleri üstüne etkileri araştırılmıştır. Arazi şartlarında, polen takviyesi yapılan nosema sporu bulaştırılmış arıların ömründe azalma olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan kafes çalışmasında polen takviyesi yapıp nosema bulaştırılmış arıların ömürlerinde uzama olduğu gözlemlenmiştir. Bu tutarsızlığın işçi arıların faaliyet alanlarıyla ilgili olduğu düşünülüp arıların bulunduğu alan değiştirilmiştir. Bunun üzerine; işçiler yetişkin oldukları zaman gözlem kovanına aktarılmıştır ve polenle beslenen arıların yaşam uzunluğunun arttığı ve nosema sporunun etkisinin kalmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, polen takviyesi alan arıların daha aktif olduğu gözlemlenmiştir.

Nunes ve ark. (2013), vitellogeninin bal arısı vücut yağı ve beyinde mikroRNA regülasyon etkilerini araştırmışlardır. Vg knockdown'un etkilerini incelemek için tarlacılık görevine gelmiş arılar kullanılmıştır. Tarlacı arıların beyin ve vücut yağı dokusunda ki Vg knockdown'un mikroRNA miktarına olan etkilerini gözlemek için RNAi protokolü kullanılmıştır. Kontrol grubu ve knockdown arasında farklı şekillerde ifade edilen mikroRNA'ları tanımlamak için, µParaflo mikroakışkan oligonükleotid mikroRNA mikroarray'ler kullanılmıştır. Alınan sonuçlara göre; kontrol ve knockdown grubunda ki tarlacı arıların beyininde 76 ve 74 mikroRNA ekspres edilirken vücut yağında ise 66 ve 69'

dur. Buna göre; *Vg* knockdown'dan etkilenen mikroRNA farklı şekilde ifade edilen bir alt grubu için potansiyel eşleştirmeler tespit edilmiştir. Bu aday genler, insülin sinyalleri, JH ve ekstristeroid sinyalleri gibi biyolojik açıdan tarlacılık davranışını etkilediğini gösteren çok sayıda biyolojik süreçte yer almaktadırlar. Böylelikle, *Vg* knockdown, tarlacı fenotipi ile beyin ve vücut yağında ki mikroRNA miktarı arasında bir bağlantı olduğunu ve tarlacılık düzenlenmesi için olası sonuçlarla ortaya çıktığı gösterilmektedir.

Bal arılarında sosyal yaşam ve beslenme, davranışsal olgunlaşmayı düzenlemek için endokrin faktörlere etki ettiği bilinmektedir. Ancak, nörosekratuar sistemlere etkisi bilinmemektedir. Bu doğrultuda, *Wheeler ve ark.* (2015) beyinin nörosekratuarlı bölgesi olan pars intercerebralis (PI)'in profillemesini yapmışlardır. İlk olarak kovan içinde çalışan bakıcı arılar ve dışarıdan polen ve nektar getiren tarlacı arıların PI profilleri karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, PI' nin diyet değişikliklerine ve juvenil hormon (JH) düzeylerindeki değişikliklere duyarlı olup olmadığı test etmek için bir takım deneyler yapılmıştır. Sonuçlar, PI'nin davranışsal olgunlaşmaya güçlü bir etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca bu olgu gen ekspresyonu değişikliklerinin bir alt kümesi olan JH ile ortaya çıkan değişikliklerle tutarlıdır. Buna karşın, diyet değişiklikleri PI'de davranışsal olgunlaşma veya JH ile tutarlı transkriptomik değişikliklere neden olmamıştır. Sonuç olarak, diyet ve beslenme fiziolojisi arasındaki bağın zayıfladığı, JH tarafından aracılık edilen sosyal sinyaller ile beslenme fiziolojisi arasındaki bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

Qi ve ark. 2014 yılında farklı davranış tiplerindeki işçi bal arılarının beyinindeki serotonin ve glutamat reseptör genlerinin ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir. Bal arısında glutamat reseptör geni N-metil-D-aspartat reseptör (NMDAR) geni, NMDAR1 ve NMDAR2 α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol reseptörü (AMPA) genleri, AMPAR Δ 2-a AMPAR Δ 2-b AMPAR Δ 2-c AMPAR Δ 2-d ve mGluR1, mGluR4 ve mGluR7 genleri seçilmiştir. Deney için, 1 günlük yaşta ki arılar, bakıcılık yapan arılar ve tarlacılık yaşına gelmiş arılar kullanılmıştır. En yüksek NMDAR gen ekspresyon miktarı 1 günlük yaşta ki bal arılarında görülmüştür ($p < 0.001$). AMPAR Δ 2-b AMPAR Δ 2-c AMPAR Δ 2-d seviyesinde ise 1 günlük işçi arılar ile bakıcı işçi arılar arasında istatistiki olarak fark bulunmazken tarlacılık yapan işçi arılarla fark önemli çıkmıştır ($p < 0.05$). Bununla birlikte, mGluR7 gen ekspresyon seviyesi tarlacılık yapan arılarda daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Fakat, üç grubun mGluR1 ve mGluR4 genlerinin ekspresyon seviyeleri arasında fark istatistiki olarak önemsiz çıkmıştır. Serotonin miktarları karşılaştırıldığında ise bakıcılık yapan arılar ve tarlacılık yapan arılar arasındaki fark önemli çıkmamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, glutamat ve serotonin genlerinin arılarda yaşa bağlı görev değişikliğinde rol oynadığını göstermişlerdir.

Schulz ve ark. (1998) besin sıkıntısında bal arısı kolonilerinin davranışsal gelişim üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırma için üç deney yapılmıştır. Deneyler için aynı yaştaki arılardan oluşan bir kovan hazırlanmıştır. Böylelikle, bal arılarında ki gelişim daha kolay gözlenmiştir. Deney 1’de; gıda sıkıntısı olan kolonilerde davranışsal gelişimin hızlanmasına neden olmuştur. Besin sıkıntısı çeken kolonilerin büyük kısmında ki bal arıları beslenmiş kolonilerdeki arılardan daha genç yaşta tarlacılığa başlamış olduğu gözlenmiştir. Deney 2’de ise; daha önce besin sıkıntısı çeken koloniler beslenmeye, beslenen koloniler ise aç bırakılmışlardır. Beslemeden 1 gün sonra önceden beslenip şimdi aç bırakılmış kolonilerin yeni tarlacı arı sayısında bir düşüş gözlemlenmiştir. Önceden aç bırakılan ve şimdi beslenen kolonilerdeki yeni tarlacı arı sayısında artış görülmüştür. Bu sonuçlara göre, koloni besin durumunun uzun vadeli davranışsal gelişimi önemli derecede etkilediği ortaya çıkmıştır. Deney 3’ te bir koloninin beslenme durumu koloni bireylerinden ayrı olarak incelenmiştir. Aç bırakılmış kolonilerdeki arıların davranışı ile beslenmiş kolonilerdeki arıların davranışları arasında fark yoktu. Ancak, açlık çekmiş kolonilerdeki arıların tarlacı arıların sayıları ve yaş dağılımlarının farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre; açlığın yaşa bağlı iş bölümü üzerindeki etkilerinin, işçi-yuva etkileşimi içinde olmadığı, direk olarak kolonideki gıda stoklarıyla ilgili olduğunu göstermektedir.

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise beslenme bozukluğu rahim içindeki dönemlerde başladığı zaman beyin gelişimini olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Bunun nedeni olarak ise hücre sayısı ile bağlantı olan DNA miktarında azalma olduğu gözlemlenmiştir (Levitsky ve Strupp, 1995).

Groźinger ve ark. 2003’te kraliçe mandibular feromonun (QMP) ergin işçi arı beyinindeki gen ekspresyonlarına ve buna bağlı olarak mandibular feromon (QMP) tarafından düzenlenen davranışlara etkisini araştırmışlardır. Birinci hipotez için; yapılan kafes deneylerinde QMP’nin birkaç yüz gen ifadesini geçici olarak değiştirdiğini ve 19 tane genin ekspresyonunu sürekli olarak düzenlediği ortaya konmuştur. Arazideki kolonilerle yapılan deneylerde ise bu genlerin birçoğunun QMP’den etkilenmiş olup güçlü bir gen düzenlemesi olduğu gözlemlenmiştir. İkinci hipotezi değerlendirmek için; QMP’nin fonksiyonlarında biri olan tarlacılık yaşını geçiktirme üzerine durulmuştur. QMP’nin ‘‘bakıcılık genlerini’’ sürekli aktive ettiği ‘‘tarmacılık genlerini’’ ise bastırdığı gözlemlenmiştir. Buna göre; QMP’nin beyinde bulunan genleri düzenleyerek davranışsal olgunlaşmayı erteleyebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte arı beyininde ki mantarsı bölgede, QMP tarafından güçlü bir şekilde düzenlenen ve *Drosophila* transkripsiyon faktörü *kruppel homolog 1*’ in bir

ortoloğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre; feromon ile kronik gen düzenlenişini ve feromonların bal arılarındaki toplumsal yaşamı düzenlediği gösterilmiştir.

Gregory (2006)'da küçük kolonilerde farklı diyetlerle beslenen arıların ömür uzunluklarını: yaşam uzunlukları sırasıyla taze polen, soya bulunmayan ikame yemi, içeriğinde soya bulunan polen ikame yemi ve bayat polen olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan kafes çalışmalarında ise, içeriğinde soya bulunmayan palem ikame yemi ile taze polenle beslenen arıların benzer hemolimf protein seviyelerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Arıların Temini

Porto Riko Üniversitesi, Biyoloji Bölümü arılığında (Şekil 3.1.) bulunan langstroth tipi kovanlardan 11 koloni içinden rastgele 6 koloni seçilmiştir. Seçilmiş olan her koloniden 1 günlük yaşta işçi arı elde etmek için çıkmak üzere bir pupalı petek, $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de %70 nem oranında olan inkübatör içine konulup yavruların petek gözlerinden çıkması için 1 gün bekletilmiştir.



Şekil 3.1. Porto Riko Üniversitesi Biyoloji Bölümü Arılığı

3.2 Kafeslerin Temini

Kafeslerin boyutu 14 cmx13 cm olup hacmi 1,5 lt'dir. Kafeslerin geniş kısmı zemine gelecek şekilde ters çevrilip ve zeminden 4 cm yukarıda 2 cm çapında 4 havalandırma deliği, kafesin üst kısmına ise 4 adet 2 cm çapında delik açılmıştır. Kafesin yan havalandırma delikleri sinek teli ve silikon yardımıyla kapatılmıştır. Üst kısmından açılan deliklere 15 ml falkon tüplerine 5 ml seviyesinden beslenme deliği açılıp, kafeslerin üst kısmına yerleştirilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Besleme kafesleri

3.3 Deneme Dizaynı ve Besleme Çalışmaları

Besleme çalışmalarının yapıldığı 3 adet kafesin her birine 150 adet olacak şekilde toplam 450 tane 1 günlük yaşta ki işçi arılardan konulmuştur (Şekil 3.3). Bal arıları deneme süresince 35°C derece sıcaklık ve %70 nem oranına ayarlanmış içi karanlık inkübatöre yetiştirilmiştir. Bal arılarına beslenmesinde kullanılan polen ikame yemi; Apipark Arıcılık A.Ş'nin geliştirerek ürettiği, protein kaynağı olarak inaktif maya ekstraksiyonun, bal, polen, şeker, bitkisel yağ içeriğindeki %10 protein içeren arı yemi kullanılmıştır. İvert şurup olarak; Apipark Arıcılık A.Ş.'nin geliştirip ürettiği pancar şekeri, su ve invertaz enzimi içerikli sıvı arı yemi kullanılmıştır. Polen, N.K.Ü kampüsü içerisinde Apipark Arıcılık A.Ş'ye ait kolonilerden üretilmiştir. Bal ise Porto Riko'nun San Juan şehrindeki süper marketten temin edilmiştir.

A Grubu: Polen ikame yemi + %70 invert şeker şurubu + Su

B Grubu: %70 invert şeker şurubu + Su

C Grubu: Polen + Bal + Su olarak hazırlanmıştır.



Şekil 3.3. Arıların kafese konulması

3.4 Yaşam Uzunluklarının Hesaplanması

Her gün kafeslerdeki ölü arıların sayımı yapılmıştır. Bu şekilde gruplar arasında beslenme farklılığının yaşam uzunluğuna etkisi hesaplanmıştır.

3.5 Bal Arılarından Doku Örneklerinin Alınması

Her gruptan ilk olarak 14 günlük yaşta, ikinci aşamada 21 günlük yaştaki bal arıları kafeslerden 10'ar adet çıkartılmıştır. Ardından 15 ml'lik tüpe konulup sıvı azotta (-196°C) öldürülmüştür. Beyin çıkarma ve vücut yağı elde etme işlemlerine kadar -80°C' de muhafaza edilmiştir.

3.5.1 Beyin Çıkarma

Herbir bal arısının baş kısmı gövdesinden kuru buz üzerinde ayrılmıştır. Kafanın içinden beyin çıkartılıp içinde 200 µl RNA Later (QIAGEN, Cat. No: 76106) bulunan 2 ml steril tüplerin içine konulmuştur (Şekil 3.4). RNA ekstraksiyonu yapılana kadar -20 °C' de saklanmıştır.



Şekil 3.4. Kuru buz üzerinde beyin çıkarma işlemi ve baş kısmından ayrılmış arı beyni

3.5.2 Vücut Yağı Elde Edilmesi

Beyinleri çıkarılan bal arıların abdomende bulunan organları cımbız yardımıyla abdomenden ayrılmıştır. Organlardan temizlenen abdomen 2 ml steril bir tüpe konulup üzerine 200 µl RNA Later (QIAGEN, Cat. No: 76106) eklenmiştir. RNA ekstraksiyonu yapılabildiği kadar -20 °C’ de saklanmıştır.

3.6 RNA Ekstraksiyonu

Beyin ve abdomenin RNA ekstraksiyonu Sigma Aldrich TRI Reagent Cat#9424 protokolüne göre yapılmıştır:

- 1) RNA Later içinden aldığımız beyin ve abdomen örneklerinin her birini 2 ml steril tüplere taşınmıştır.
- 2) Her bir örneğin içerisine 500 µl Sigma Aldrich TRI Reagent ekleyip beyin ve abdomen örnekleri şırınga yardımıyla homojenize edilmiştir. Her bir örnek için farklı şırıngalar kullanılmıştır.
- 3) Örnekler homojenize edildikten sonra 500 µl daha Sigma Aldrich TRI Reagent üzerine eklenmiştir.
- 4) Buzun üstünde tutulan örneklere 120 µl 1-Bromo-3-chloropropane (BCP) ilave edilmiştir.
- 5) BCP eklenmiş örnekler 15 sn vorteks yardımıyla karıştırılmıştır.
- 6) Bu işlemler uygulandıktan sonra 15 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- 7) Örnekler, 14000 rpm’ de 15 dk santrifüj edildikten sonra buz dolu kaba geri konulmuştur.
- 8) Santrifüjlenen örneklerde oluşan 2 fazdan üst faz (süpernatant) alınarak yeni steril 2 ml’lik eppendorf tüplere aktarılmıştır.
- 9) Tüplerin içerisine alınan örneklerin üzerine 600 µl isopropanol eklenip, karıştırıldıktan sonra 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve 14000 rpm’de 8 dk santrifüj edilmiştir.
- 10) Santrifüjden alınan örneklerin süpernatantları dökülerek üzerlerine 1,2 ml %75’lik ETOH ilave edilmiştir.
- 11) %75 ETOH eklenmiş tüpler ağzı açık bir şekilde 14000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatantlar boşaltılarak tüpün içinde ki ETOH uçuncaya kadar tüpler

oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örneklerin üzerine 20 µl DEPC- water eklenerek 65 °C’de 10 dk sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır.

12) Örnekler, cDNA sentezi yapılarına kadar -20 °C’ de saklanmıştır.

3.7 Ters Transkriptaz PCR ile cDNA Sentezi

Hücrelerden izole edilen RNA moleküllerinin retrovirüslerden izole edilen Ters transkriptaz enzimi yardımıyla komplementer DNA (cDNA) sentezini gerçekleştirmesi sonucu, gen ekspresyonu analizlerinin yapılabildiği hızlı ve hassas bir yöntemdir (Santagati ve ark., 1997). mRNA’lardan iScript Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR (BioRad-Cat# 1708841) kiti ile cDNA aşağıdaki şekilde sentezlenmiştir ve PCR karışımları Çizelge 3.1 ve 3.2’ de verilmiştir:

1) cDNA sentezi için konsantrasyonu ölçmek yerine RNA örneklerinin işlenmesini arttırmak için numunenin protokolün gösterdiği aralık doğrultusunda her bir tüpe 2 µl RNA örneği ilave edilmiştir. Ayrıca, RT-PCR plate’inde 48 kuyucuk olduğu için her bir grup için 10 yerine 8 tane örnekle çalışmaya karar verilmiştir.

2) İlk olarak tüm 0,2 ml PCR tüplerine beyin ve abdomen olmak üzere etiketlendi.

3) Her parti için aşağıdaki çizelgelere göre; iScript RT Supermix ve Nuclease – free water içeren bir karışım hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Beyin Örnekleri için PCR Karışımı

Beyin Örnekleri için PCR Karışımı			
Hacim (µl)	Reagent	Beyin Örnekleri	Toplam + 10% Extra
4	iScript RT Supermix	48	211,2
14	Nuclease-free water	48	739,2

Çizelge 3.2. Abdomen Örnekleri için PCR Karışımı

Abdomen Örnekleri için PCR Karışımı			
Hacim (µl)	Reagent	Abdomen Örnekleri	Toplam + 10% Extra
4	iScript RT Supermix	48	211,2
14	Nuclease-free water	48	739,2

- 4) Beyin örnekleri (birinci parti) -20 °C'den çıkartılıp buz içinde çözdürülmüştür.
- 5) Her bir beyin örneğinin 2 µl si daha önceden etiketlenmiş tüplere konmuştur.
- 6) Beyin örneklerinin bulunduğu PCR tüplerine 18 µl ‘‘Beyin Örnekleri için RT Master Mix’’ eklenmiştir.
- 7) Karışım pipet ile karıştırılmıştır.
- 8) Thermal cycler’da uygulanan PCR döngüsü Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR Aşamaları

Zaman/Sıcaklık	Aşama
5 dk. / 25 °C	Başlangıç
20 dk. / 46 °C	Ters Transkripsiyon
1 dk. / 95 °C	RT inaktivasyonu

- 9) Beyin örnekleri beklenirken, abdomen için 4,5,6,7. basamakları tekrarlanmıştır.
- 10) PCR işleminden sonra örnekler -20 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.5. cDNA sentezi için kullanılan PCR

3.8 Genlere Spesifik Primerler

Çizelge 3.4. Kullanılan Primerler, Primer Dizileri, Ürün Uzunlukları ve Kaynaklar

Primer adı	Primer dizisi (sekansı) 5' → 3' [F: Forward (ileri) primer, R: Reverse (geri primer)]	Ürün Uzunluğu (bp)	Kaynaklar
<i>AmILP-1</i>	F: 5'-CGATAGTCCTGGTCGGTTTG-3' R: 5' -CAAGCTGAGCATAGCTGCAC -3'	237	<i>Azevedo ve Hartfelder (2008)</i>
BRP	F: 5'-ACA ACG AGA ACG AGC ATCTG-3' R: 5' -CCC TTT GTT TTG GAG CAT CTC- 3'	149	<i>Gehring ve ark (2017)</i>
<i>Vg</i>	F: 5'- ACG ACT CGA CCA ACG ACT T -3' R: 5' -AAC GAA AGG AAC GGT CAA TTC C-3'	494	<i>Guidugli ve ark. (2005)</i>
RPS5	F: 5'-AAT TAT TTG GTC GCT GGA ATT-3' R: 5'- TAA CGT CCAGCA GAA TGT GGT A -3'	115	<i>Evans (2006)</i>

3.9 qRT – PCR Uygulamaları

Bu yöntemde, mRNA'dan ters transkripsiyon ile elde edilen cDNA, florokromlu bir prob varlığında araştırılan gene özgü primerler kullanılarak PCR ile amplifiye edilmekte ve oluşan sinyal PCR işlemi esnasında ölçülmektedir. Bu yöntemde çeşitli örneklerden izole

edilen RNA'ların tam olarak karşılaştırılabilmesi için, test probunun floresansı referans proba karşı normalizasyonu yapılmaktadır (Ginzinger, 2002).

Elde edilen cDNA'lar üzerinde ilgili genlere ait bölgelerin amplifikasyonu Real-time PCR'da yapılmıştır. SYBR Green iki primer arasındaki bölgeye bağlanacak şekilde dizayn edilir. Bu yöntemde 5' ucunda flouresan işaretli Reporter ve 3' ucunda da SYBR Green boya kullanılmıştır. Reaksiyon esnasında serbest kalan reporter boya ışınım yapar. Bu ışınım, her döngüde kopan prob sayısı ile orantılı olarak artmaktadır. Böylece oluşan ürünün miktarı kantitatif olarak ölçülmektedir. iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio Rad Cat#1725120) kullanılarak yapılan qRT-PCR karışımı Çizelge 3.5. ve Çizelge 3.6.' da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Toplam PCR Karışım Miktarı

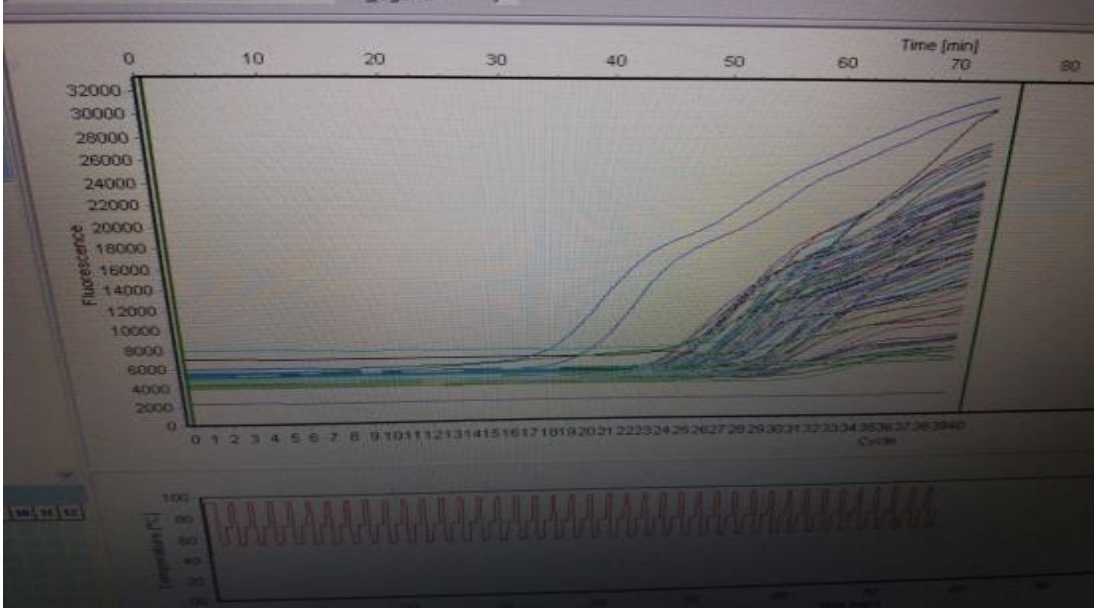
96 Kuyucuk için Gerekli Olan PCR Karışımı			
iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio Rad Cat#1725120)	µl/rxn	Kuyucukların sayısı (=rxns)	Toplam Hacim + 10% Extra
iTaq Universal SYBR Green supermix (2x)	10	96	1056
***İleri (Forward) Primer (5µM)	2	96	211,2
***Geri (Reversed) Primer (5µM)	2	96	211,2
Nuclease Free Water	4	96	422,4
		Total	1900,8

Çizelge 3.6. Karışıma Eklenen cDNA Örnekleri

cDNA Örnekleri			
RT Rxns	µl/rxn	Tekrarlanma	Toplam Hacim + 5% Extra
cDNA Örnekleri(µl.)	2	2	4,2

- 1) 96 kuyucuklu plate'in her bir kuyucuğuna 18 µl. PCR karışımı konulduktan sonra
- 2) 2 µl. cDNA örnekleri ilave edilmiştir.
- 3) Örnekler ve PCR karışımı pipetaj uyguladıktan sonra 4,000 rpm'de kısa bir süre santrifüj yapılmıştır.

4) Örnekler analiz edilmek üzere Eppendorf Realplex⁴ qRT-PCR cihazına yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. AmIlp-1 geninin Mastercycler ep realplex bilgisayar programındaki görüntüsü

3.10 qRT-PCR Çıktısının Yorumlanması

qRT- PCR sonuçlarının değerlendirilmesi için, örneklerin referans ve hedef gen C_T değerlerinin farkını gösteren $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılmıştır (Pfaffl 2001). Farklı diyetlerle beslenen grupların ekspresyon seviyelerinin hesaplanması için aşağıda ki $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülüne göre metoduna göre hesaplanılmıştır. Referans gen olarak RPS5 geni kullanılmıştır.

$$2^{-\Delta\Delta C_t} = 2^{-(\Delta C_t \text{ Örnek} - \Delta C_t \text{ Referans})}$$

3.11 Sonuçların İstatiksel Değerlendirilmesi

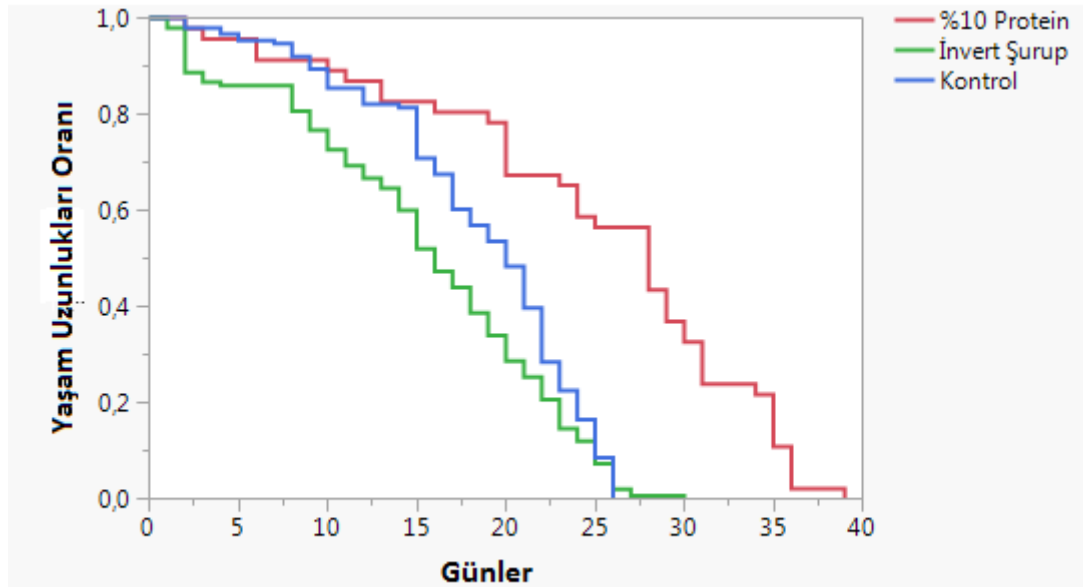
Veriler JMP 13 (SAS) programında yaşam uzunlukları için Surviving Test, gen ifadelerinin sonuçları için ilk olarak Kolmogorov-Smirnov Normallik testi uygulanmıştır.

Buradan çıkan sonuçlar doğrultusunda parametrik olmayan testler uygulanmıştır. Aynı besin diyetleri ile beslenen bal arılarının 14 günlük yaş ve 21 günlük yaştaki farklılıklarını karşılaştırmak için Mann-Whitney Testi, 14 günlük yaş ve 21 günlük yaşta bulunan arıların farklı besin diyetleri ile beslendiği gruplardaki farklılıklarının karşılaştırması için Kruskal – Wallis Testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Yaşam Uzunlukları

Farklı besin diyetlerine göre beslenmiş bal arılarının yaşam uzunlukları aşağıda belirtilen çizelgede (Şekil 4.1) verilmiştir. Gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($\chi^2= 43,51$; $p < 0,0001$). Yaşam uzunluklarının ortalamaları ele alındığı zaman en düşük ortalama 15,37 gün ile %70 invert şurubu ile beslenmiş arılarda gözlemlenmiştir. En yüksek ortalama, 25,26 gün ile polen ikame yemi ile beslenen arılarda tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan arıların yaşam uzunluğunun ortalaması ise 18,47 gün olarak bulunmuştur. Üç grup arasında da istatistiksel fark önemli bulunmuştur ($p < 0,0001$).

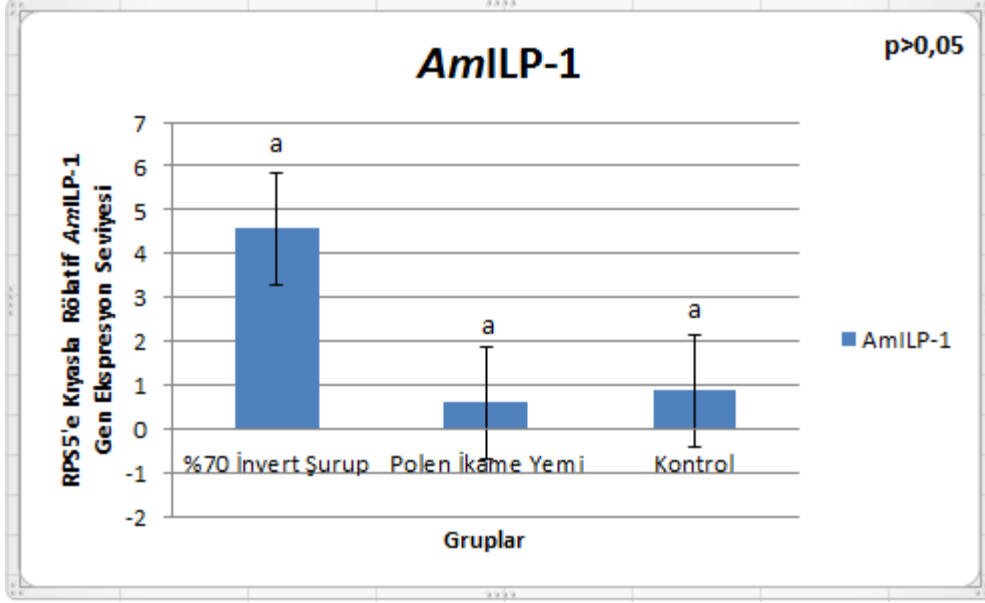


Şekil 4.1. Gruplar arasındaki yaşam uzunluğu

4.2 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan *AmILP-1* mRNA Seviyeleri

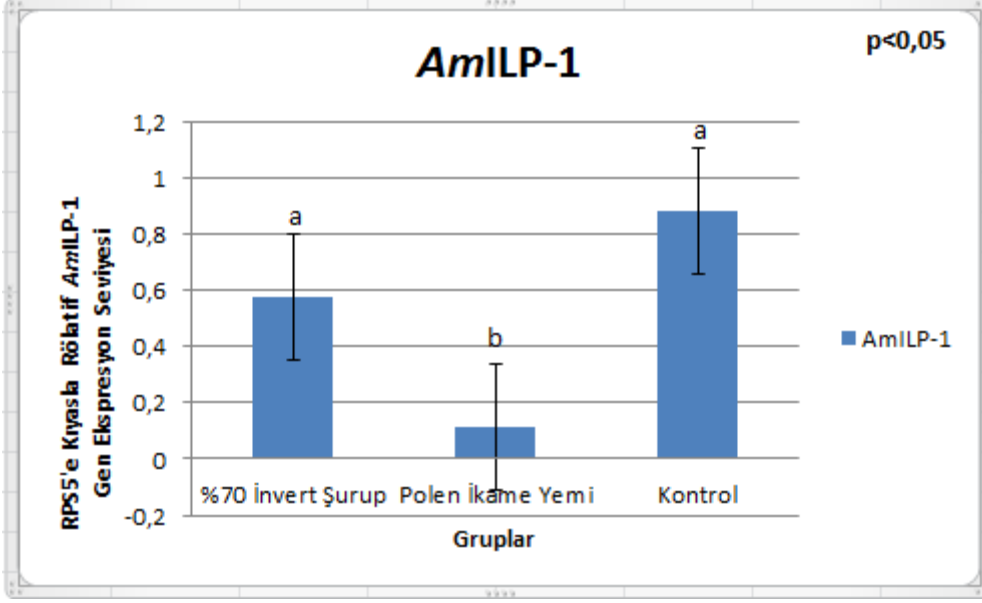
Araştırmada yaşam uzunluğu, yaşlanma gibi faktörleri etkileyen, farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının (*Apis mellifera*) beyin dokusundan elde edilen *AmILP-1* mRNA seviyelerine ait farklılıklar Şekil 4.2. , Şekil 4.3. , Şekil 4.4. , Şekil 4.5. , Şekil 4.6.'da sunulmuştur.

14 günlük yaştaki bal arılarında en yüksek *AmILP-1* gen ekspresyon seviyesi %70 invert şurupla beslenen bal arılarında 4,56 olarak belirlenirken en düşük ekspresyon miktarı 0,59 ile polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bal arılarının ekspresyon seviyesi ise 0,86 olduğu gözlemlenmiştir. Polen ikamesi, invert şurupla beslenen ve kontrol grubunda bulunan bal arıları arasında *AmILP-1* mRNA seviyesi bakımından istatistiki olarak fark önemli bulunmamıştır.



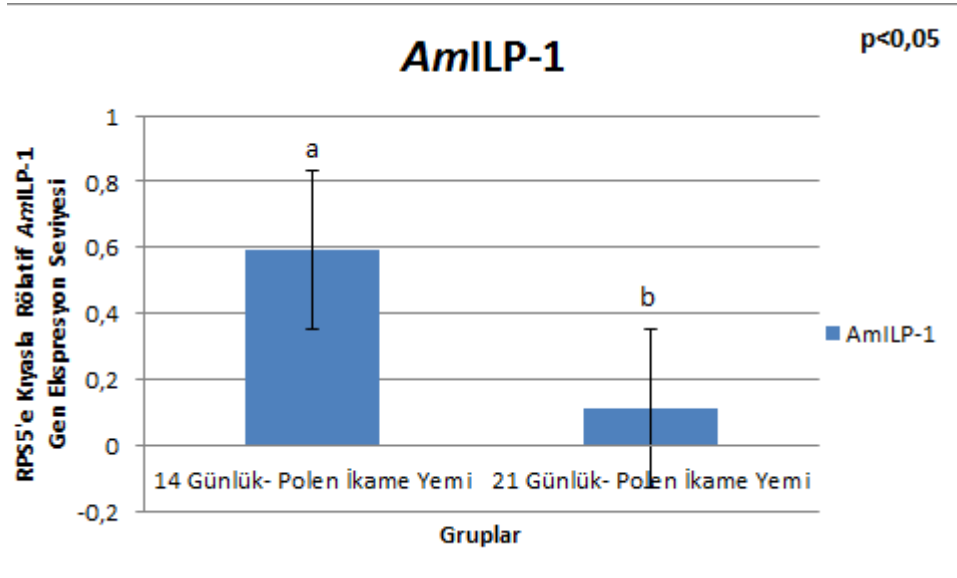
şekil 4.2. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyeleri

21 günlük yaştaki bal arılarında ise en yüksek *AmILP-1* gen ekspresyon miktarı 0,89 ile kontrol grubuna ait olduğu gözlemlenirken en düşük ekspresyon seviyesi polen ikame yemi ile beslenen arılarda 0,11 olarak belirlenmiştir. %70 invert şurup ile beslenen ekspresyon seviyesi 0,58 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde %70 invert şurupla beslenen ve kontrol grubunda ki bal arıları arasında istatistiki fark önemli bulunmamıştır. Polen ikame yemi ile beslenen bal arılarının mRNA seviyelerinin ise diğer gruplardan daha düşük olup göre istatistiki farkın önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,05$).

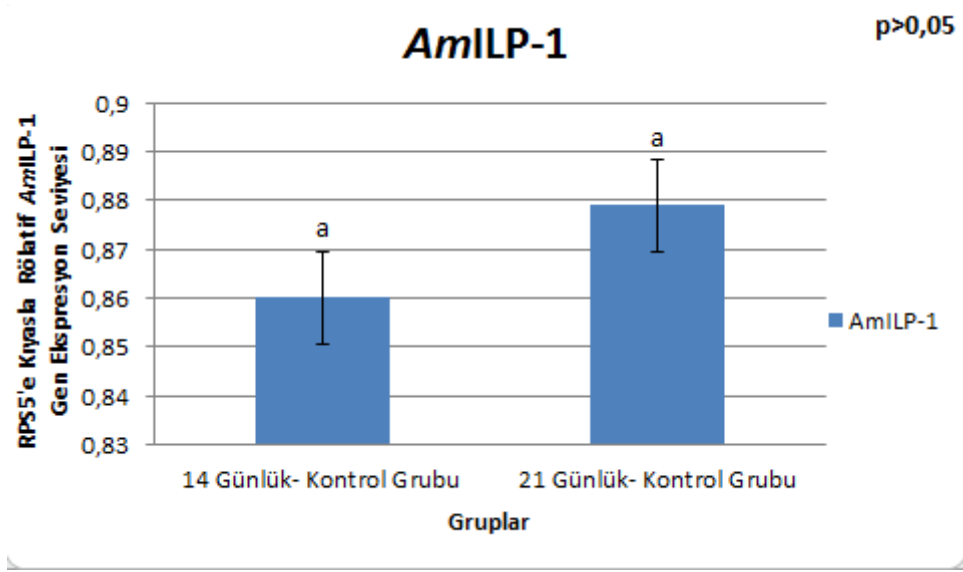


Şekil 4.3. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyeleri

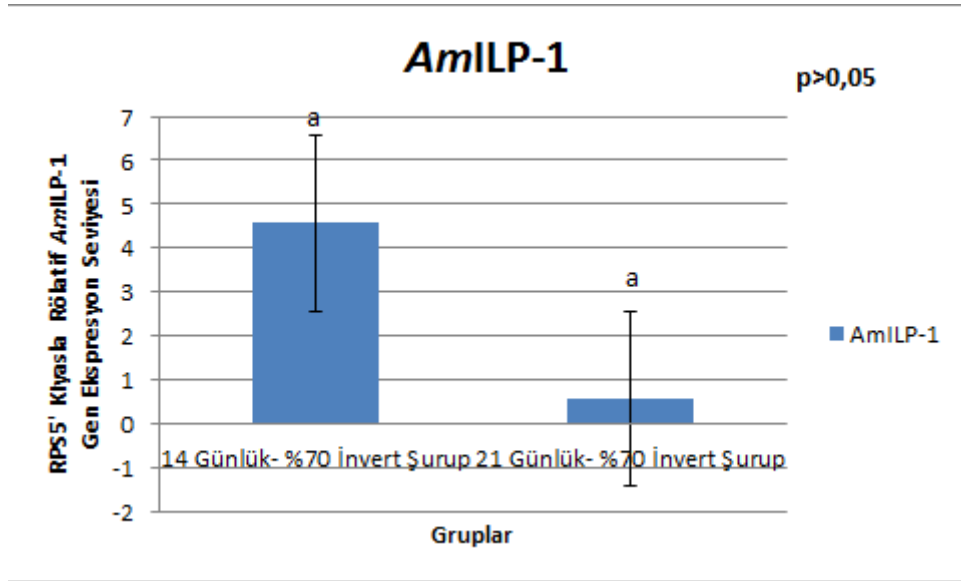
Aynı diyet grubu içinde bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyelerini karşılaştırdığımız zaman; invert şurupla beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının ekspresyon miktarında istatistiki olarak fark önemli bulunmamıştır. Kontrol grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarındaki ekspresyon miktarı da invert şurupla beslenen bal arılarında olduğu gibi aralarındaki istatistiki fark önemli bulunmamıştır. Diğer taraftan, polen ikame yemi ile beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının arasında istatistiki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.4. Polen ikame yemi ile beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.5. Kontrol Grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyeleri



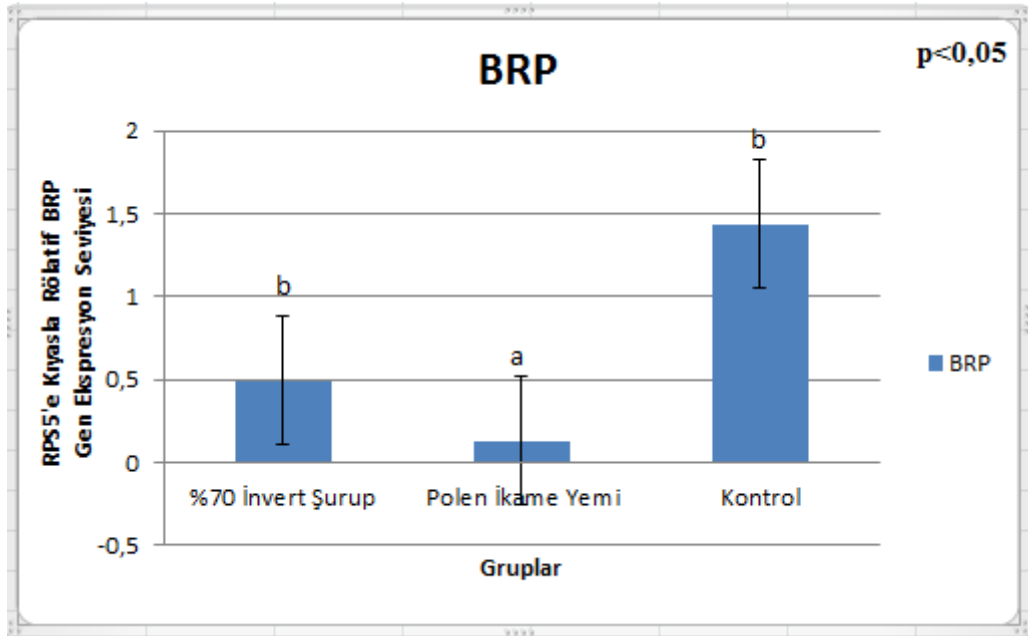
Şekil 4.6. % 70 İvert şurup yemi beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* gen ekspresyon seviyeleri

4.3 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan BRP mRNA Seviyesi

Nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir hücre arasından iletişimi sağlamada görev alan nörotransmitter salınımı düzenleyen BRP proteini farklı diyetlerle beslenmiş bal

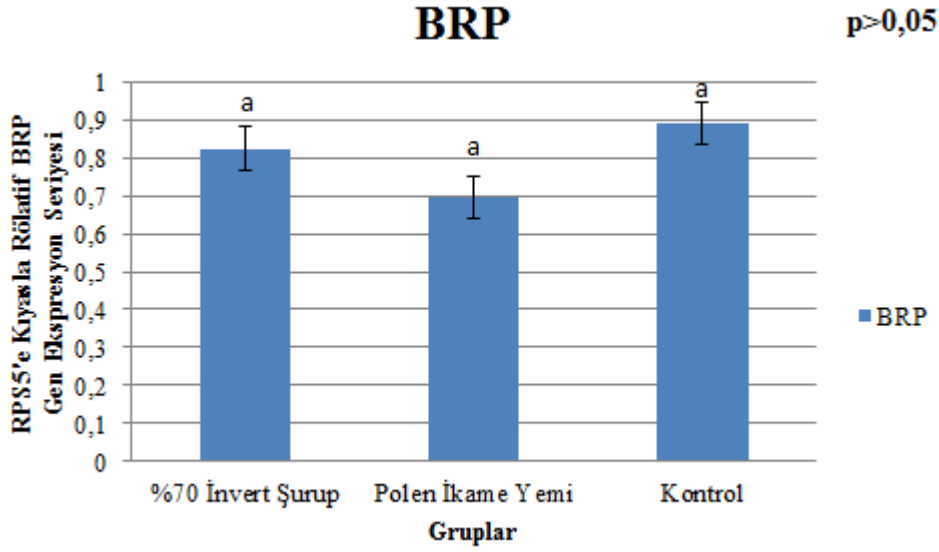
arısı örneklerinin beyin dokusundan elde edilen BRP mRNA seviyelerine ait farklılıklar Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11’de sunulmuştur.

Yapılan qRT-PCR analizlerinin sonuçlarına göre farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük yaştaki bal arılarının en yüksek BRP geni ekspresyon seviyesi 1,43 ile kontrol grubunda bulunan bal arılarında görülmüştür. En düşük ekspresyon miktarı polen ikame yem arılarında 0,13 olarak tespit edilmiştir. %70 invert şurupla beslenen bal arılarının ekspresyon seviyesi ise 0,45 olduğu gözlemlenmiştir. 14 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyonu seviyelerinde polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında diğer gruplardan istatistiki olarak farkın önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



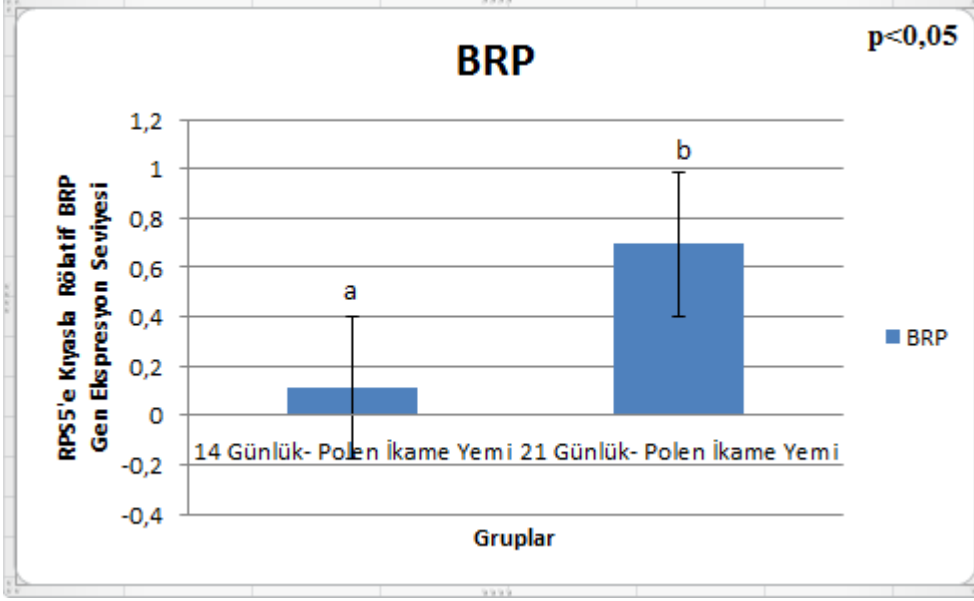
Şekil 4.7. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon seviyeleri

21 günlük yaştaki bal arılarının en yüksek gen ekspresyon miktarı 0,90 ile kontrol grubunda olduğu gözlemlenmiştir. En düşük ekspresyon seviyesi ise polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında 0,70 olduğu görülmüştür. %70 invert şurupla beslenen bal arılarında ki ekspresyon miktarı ise 0,82 olarak tespit edilmiştir. Tüm diyet gruplarına göre bu genin mRNA seviyesi bakımından istatistiki bakımdan bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.

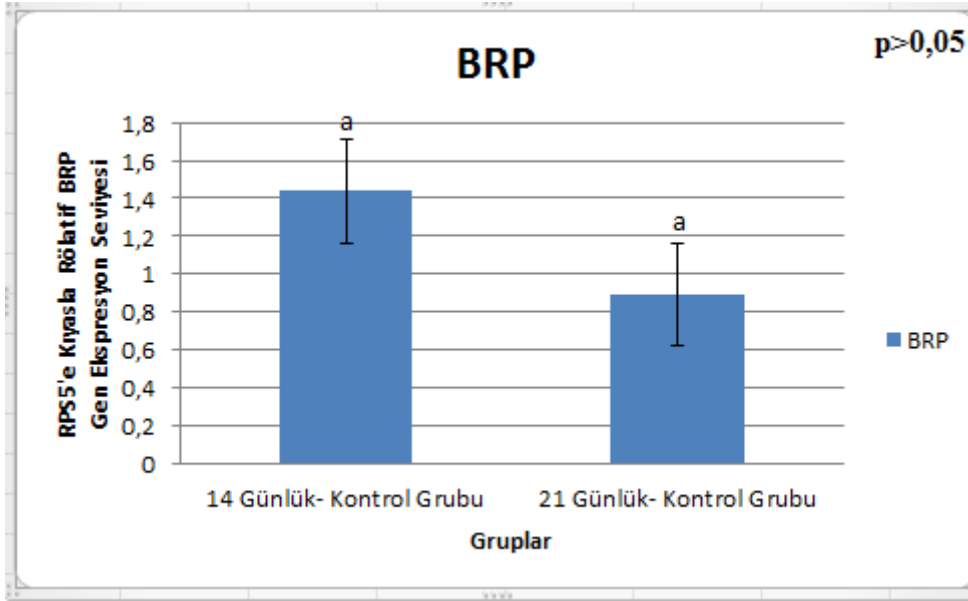


Şekil 4.8. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon seviyeleri

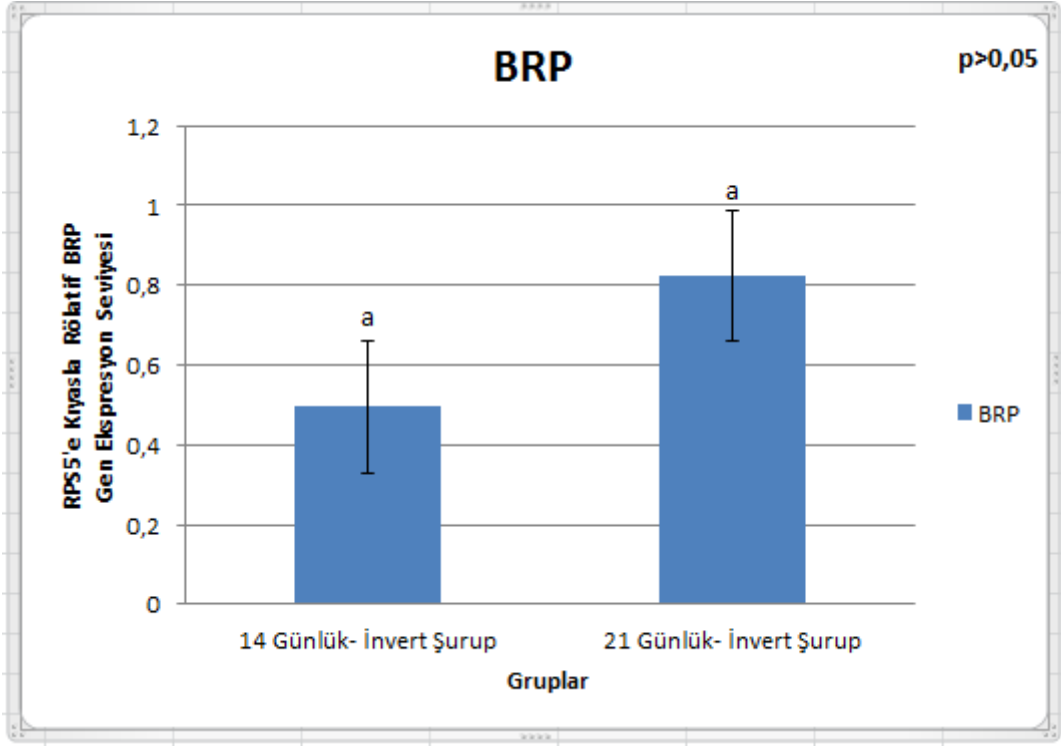
Aynı beslenme grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon miktarlarını karşılaştırdığımız zaman; invert şurupla beslenen ve kontrol grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaşlardaki bal arılarının gen ekspresyonu seviyesi bakımından istatistiki olarak fark tespit edilmemiştir. Sadece polen ikame yemi ile beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının gen ekspresyon seviyeleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.9. Polen ikame yemi ile beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.10. Kontrol grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon seviyeleri

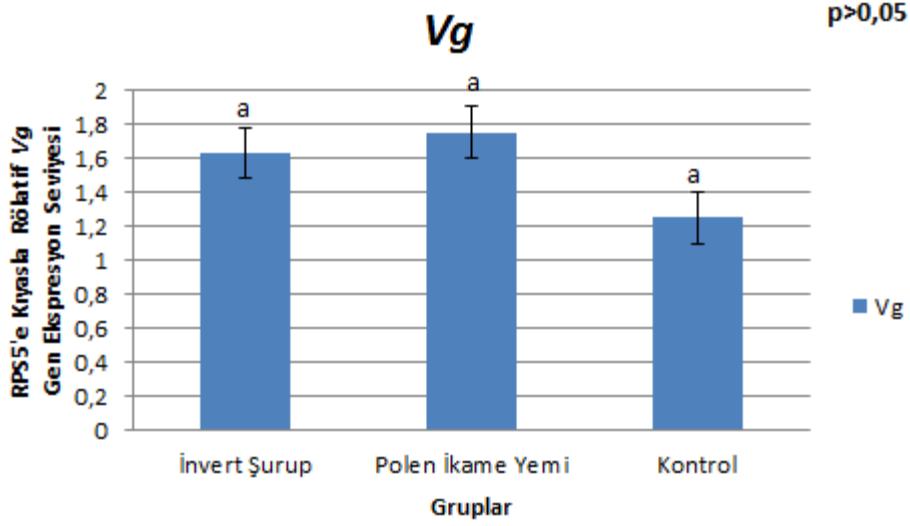


Şekil 4.11. %70 İvert şurup yemi beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP gen ekspresyon seviyeleri

4.4 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vücut Yağından Elde Edilen Vg mRNA Seviyesi

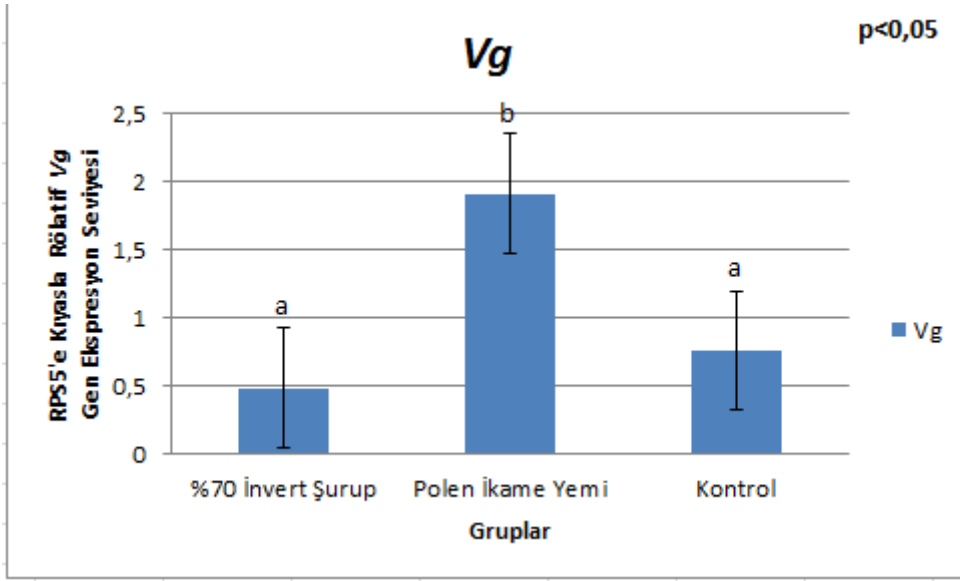
İmmun sistemde önemli rol oynayan aynı zamanda büyüme mekanizmasında da yer alan Vg genine ait gen ekspresyonu seviyeleri Şekil 4.12. , Şekil 4.13. , Şekil 4.14. , Şekil 4.15. , Şekil 4.16.'da sunulmuştur.

İlk olarak 14 günlük yaştaki bal arılarını ele aldığımız zaman en yüksek gen ekspresyon seviyesinin 1,74 ile polen ikame yemi ile beslenen bal arılarının vücut yağı dokularında bulunmuştur. En düşük ekspresyon seviyesi ise 1,24 kontrol grubunda olduğu gözlemlenmiştir. %70 invert şurupla beslenen beslenen bal arılarının gen ekspresyon miktarı 1,62 olarak tespit edilmiştir. Üç gruptaki 14 günlük yaştaki bal arılarının gen ekspresyon seviyeleri arasında istatistiki fark önemli bulunmamıştır.



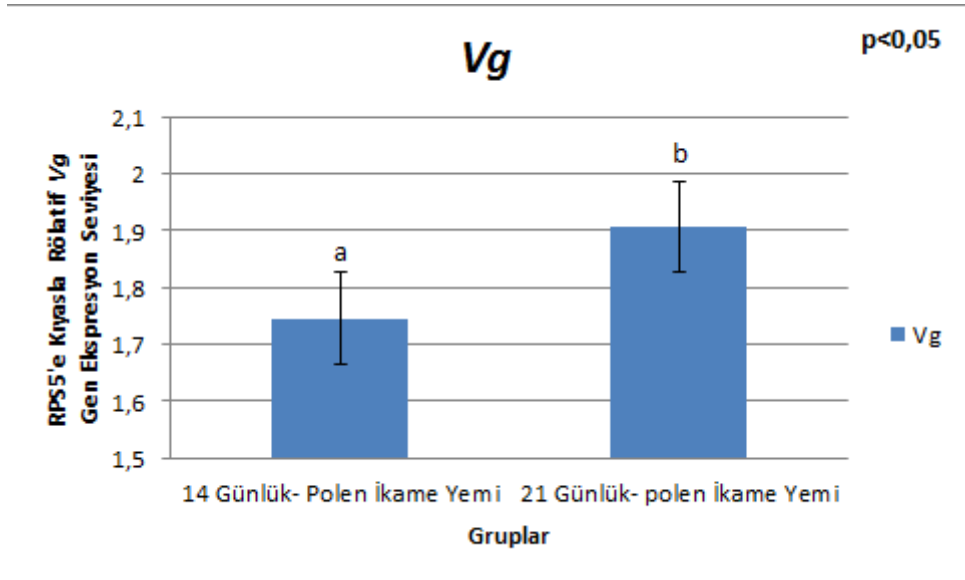
Şekil 4.12. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük yaştaki bal arılarının *Vg* gen ekspresyon seviyeleri

21 günlük yaştaki bal arılarının *Vg* gen ekspresyon seviyelerinde ise; en yüksek gen ekspresyon miktarı 1,91 ile polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında olduğu gözlemlenmiştir. En düşük ekspresyon seviyesi 0,41 ile %70 invert şurupla beslenen bal arılarında görülmüştür. Kontrol grubunda bulunan bal arılarının *Vg* gen ekspresyon miktarı 0,75 olarak tespit edilmiştir. 21 günlük yaştaki bal arılarının da gen ekspresyon seviyelerinde polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında diğer gruplardan istatistiki olarak farkın önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

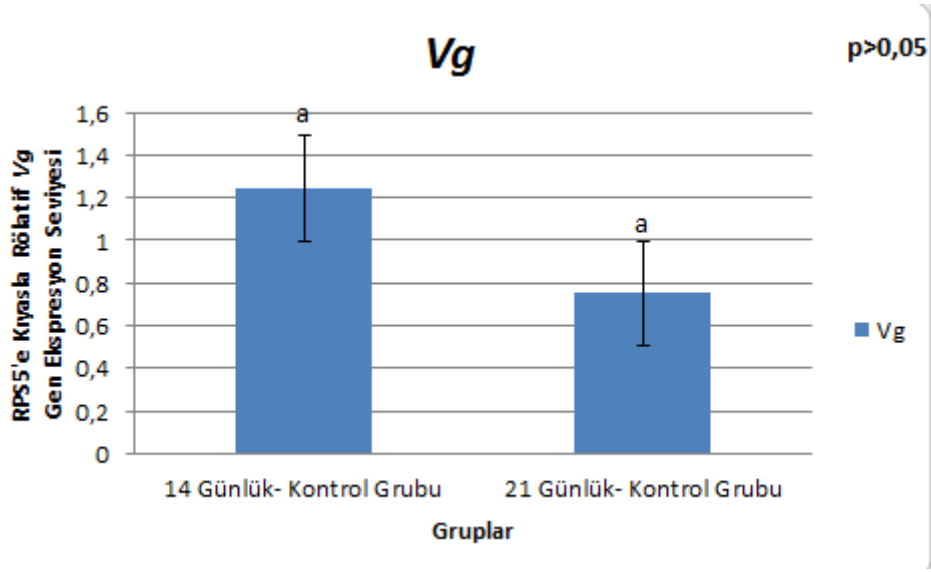


Şekil 4.13. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 21 günlük yaştaki bal arılarının *Vg* gen ekspresyon seviyeleri

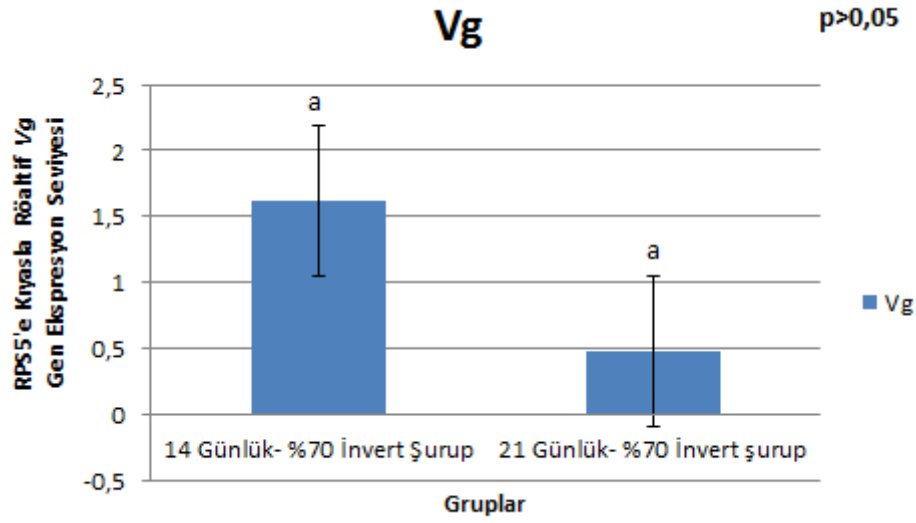
Aynı besin gruplarında bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *Vg* gen ekspresyon seviyesi karşılaştırıldığı zaman; sadece polen ikame yemi ile beslenen arılarda istatistiki olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.14. Polen ikame yemi ile beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *Vg* gen ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.15. Kontrol grubunda bulunan 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının Vg gen ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.16. İvert şurup yemi beslenen 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının Vg gen ekspresyon seviyeleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 Yaşam Uzunlukları

Önemli bir rol model olan bal arısı (*Apis mellifera*) davranış, beslenme, genetik ve laboratuvar çalışmalarında sık olarak kullanılmaktadır. Araştırma bulgularında bahsedildiği ve Çizelge 4.1' deki gibi deneme sonunda yaşam uzunlukları arasında istatistiki fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0,0001$). Kafes ortamında yapılan diğer çalışmalarda enerji içeriği yüksek diyetle beslenen arıların, proteince zengin diyetlerle beslenen arılarından daha az yaşam uzunluğuna sahip olduğu gösterilmiştir (Maurizio, 1954; Schmidt ve ark., 1987; Schmidt ve ark., 1995; Alqarni, 2006; Manning ve ark., 2007). Kontrol grubunda bulunan arıların protein kaynağı olan polenle beslenmesine rağmen polen ikame yemi ile beslenen arılardan düşük yaşam uzunluğu ortalamasına sahip olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin; kontrol grubunda besin olarak kullanılan balın HMF (hidroksimetilfurfural), polenin ise zirai kimyasal kalıntı içeriğinin olabileceğidir.

5.2 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan *AmILP-1* mRNA Seviyeleri

İnsülin/ İnsülin benzeri sinyaller (IIS), metabolizma (Broughton ve ark., 2005) ve beslenme ile ilgili olan davranışları (Wu ve ark., 2005) açısından anahtar bir düzenleyicidir. Ayrıca insülin/ insülin benzeri sinyalleri üreme ve ömür uzunluklarına da etki etmektedir (Colombani ve ark., 2003, Oldham ve Hafen 2003). Besin alımı veya besin stolkarının yüksek düzeyde olması insülin (Schwartz ve ark., 1997) veya böceklerde bulunan insülin-like peptide'in yükselmesini sağlar (Ikeya ve ark., 2002). Deneme için beyin dokularından elde ettiğimiz *AmILP-1* geninin seviyeleri 14 ve 21 günlük yaştaki arılarda incelendiğinde; 14 günlük yaştaki arıların en yüksek *AmILP-1* miktarı %70 invert şurupla beslenen bal arılarında olduğu gözlemlenmiştir. Buna rağmen; üç grup arasında istatistiki fark bulunmamıştır. 21 günlük yaştaki arılarda ise en yüksek *AmILP-1* seviyesi kontrol grubuna en düşük seviye ise polen ikame yemi ile beslenen gruba ait olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubu ve invert şurupla beslenen arıların *AmILP-1* seviyeleri arasında ki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında ki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı besin diyeti ile beslenmiş 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının *AmILP-1* seviyesi karşılaştırıldığı zaman polen ikame yemi ile beslenen arılarda ki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu sonuçların Ament ve ark 2008 de yaptığı çalışma ile örtüştüğü tespit edilmiştir. Kontrol grubunun yüksek çıkmasının sebebi olarak baldaki

HMF oranından olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca, yapılan aynı çalışmada tarlacı arılarda ki *AmILP-1* miktarı bakıcı arılarından yüksek çıkıp yaptığımız çalışma ile farklı çıkmıştır. Bunun nedeni olarak; yaptığımız deneme kafes ortamında yapıldığı için bu farklılığın çıktığı düşünülmektedir.

5.3 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Beyin Dokusunda Bulunan BRP mRNA Seviyeleri

Bal arısı beyinde bulunan mantarsı yapıdaki değişimler nörotransmitter salımının artmasıyla olabilir (Groh ve ark., 2012). Bunun ön koşulu olarak, microglomerulilerde bulunan presinapların nörotransmitter salımını kontrol eden presinaptik proteinlerin artmasıyla olduğu görülmüştür. Nörotransmitter salımını kontrol eden proteinlerden biri de birçok böcekte presinapslarının aktif bölgedeki sitomatrikste bulunan BRP proteindir (Wagh, ve ark., 2006; Fouquet, ve ark., 2012). Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 14 günlük yaştaki bal arılarında en yüksek BRP seviyesi kontrol grubunda olduğu gözlemlenmiştir. En düşük BRP miktarı ise polen ikame yem ile beslenen bal arılarının beyinde tespit edilmiştir. İnvirt şurup ile beslenen ve kontrol grubundaki bal arılarının BRP oranı arasında istatistiki fark önemsiz bulunmuştur. Polen ikame yem ile beslenen bal arılarında bu iki gruba göre istatistiki olarak fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Farklı besin diyetleri ile beslenen 21 günlük yaştaki bal arılarında ise üç grup arasında istatistiki fark önemsizdir. Aynı besin diyeti ile beslenen 14 ve 21 gün yaştaki bal arılarının BRP seviyesi karşılaştırıldığı zaman polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında istatistiki olarak fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). *Gehring ve ark* 2017 yaptığı çalışmada BRP miktarının yaşa bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubu hariç, 14 günlük ve 21 günlük yaştaki bal arılarının BRP seviyesinde yükselme görülmüştür. Ancak, invert şurupla beslenen arılarda istatistiki olarak fark önemsiz bulunmuştur. Bunun sebebinin, sadece şeker kaynağı ile beslenen arıların erken yaşta tarlacı arı olduğu düşünülmektedir (Schulz ve ark., 1998).

5.4 14 ve 21 Günlük Yaştaki Bal Arılarının Vücut Yağından Elde Edilen Vg mRNA Seviyeleri

Vitellogenin, kraliçe arılarda yumurta üretimiyle ilişkili olan bir proteindir (Engels, 1974; Tanaka ve Hartfelder, 2004). Bununla birlikte bal arılarını oksidatif strese karşı koruyan ve yaşam uzunluklarını arttıran fonksiyonları da vardır (Seehuus ve ark., 2006; Corona, ve ark., 2007). Farklı besin diyetleri ile beslenen 14 günlük yaştaki arılardaki en yüksek Vg gen ekspresyonu polen ikame yemi ile beslenen arılarda , en düşük gen

ekspresyonu seviyesi ise kontrol grubundaki arılarda gözlemlenmiştir. Buna rağmen, üç grup arasında da istatistiki olarak fark görülmemiştir. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş 21 günlük yaştaki bal arılarında ise 14 günlük yaşta olduğu gibi en yüksek *Vg* gen ekspresyon miktarına sahip olan arıların polen ikame yemi ile beslenen bal arılarında olduğu gözlemlenmiştir. En düşük *Vg* gen ekspresyon seviyesi ise %70 invert şurupla beslenen arılarda gözlemlenmiştir. Polen ikame yemi ile beslenen arıların olduğu grupta, diğer gruplar arasında istatistiki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı besin diyetleri ile beslenen 14 ve 21 günlük yaştaki arıların arasında polen ikame yemi ile beslenenlerde fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Yapılan çalışmalarda da protein kaynağı ile beslenen bal arılarındaki *Vg* seviyesinin yüksek olduğu görülmüştür (Bitondi ve Simões, 1996). Bu durumda, yaptığımız çalışmayla daha önce yapılan çalışmaların örtüştüğü gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan arılarda protein kaynağı olan polen ile beslenmesine rağmen *Vg* seviyesi düşük çıkmıştır. Bunun sebebinin balın içindeki HMF'den olduğu düşünülmektedir.

5.5 Sonuç

Arı kolonilerinin farklı dönemlerde, polen ve bal stoklarının durumuna, davranış biyolojisine göre, hazırlanan ikame yemlerdeki protein ve enerji dengesinin göz önünde bulundurulması, içeriğinde kullanılan bal, polen, şeker şurubunda zirai kimyasalların olmaması, balda ve şeker şurubunda HMF oranının düşük olması, protein kaynağı olarak kullanılan ham maddelerin bitkisel kaynaklı olması, arılara bal ve polenden geçebilecek hastalıkların engellenmesi amacıyla balın ve polenin sterilize edilmesi bal arısında yaşam uzunluğunu önemli derecede etkilediği görülmüştür. Ayrıca, bu çalışmada proteince ve enerjice dengelenmiş diyetler ile beslenen bal arılarında büyüme, gelişme ve yaşam uzunluğunu etkileyen genlerin (*AmILP-1*, *BRP*, *Vg*) gen ekspresyon seviyeleri olumlu yönde değişim göstermiştir.

6. KAYNAKLAR

- Alaux C, Dantec C, Parrinello H, Conte YL (2011). Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varro-parasitized bees. *BMC Genomics*, 12: 1-14.
- Alaux C, Ducloz F, Crauser D, Conte YL (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*(6): 562–565.
- Allen MD, & Jeffree EP (1956). The influence of stored pollen and of colony size on the brood rearing of honeybees. *Ann. Appl. Biol.*, 44: 649-656.
- Alqarni A (2006). Influence of some protein diets on the longevity and some physiological conditions of honeybee *Apis mellifera* L. workers. *J. Biol.Sci.*, 6: 734–737.
- Ambrose J, Atkins E, Avitabile A, Ayers G, Blum M, Buchmann, S, et al. (1992). *The Hive and the honey bee: a new book on beekeeping which continues the tradition of "Langstroth on the hive and the honeybee"* (Cilt 3). Hamilton: Dadant & Sons.
- Ament SA, Corona M, Pollock H S, Robinson G. (2008). Insulin Signaling Is Involved in the Regulation of Worker Division of Labor in Honey Bee Colonies. *National Academy of Sciences*, 105(11): 4226-4231.
- Anonim. (2014). *Biyoteknoloji*. Kasım 24, 2017 tarihinde <http://www.ortohum.gov.tr/Tekbul/biotek.doc> . adresinden alındı
- Anonim. (2015). http://www.turkhaygen.gov.tr/doc/VIZYON_2023.pdf. adresinden alınmıştır
- Asencot M, Lensky Y. (1976). "The effect of sugars and juvenile hormone on the differentiation of the female honeybee larvae (*Apis mellifera* L.) to queens. *Life Sciences*, 18(7): 693-699.
- Avni D, Dag, A, & Shafir S. (2009). The effect of surface area of pollen patties fed to honey bee (*Apis mellifera*) colonies on their consumption, brood production. *J. Apic. Res*;; 48, 23–28.
- Azevedo SV, Hartfelder K (2008). The insulin signaling pathway in honey bee (*Apis mellifera*) caste development — differential expression of insulin-like peptides and insulin receptors in queen and worker larvae. *Journal of Insect Physiology* 54: 1064–1071.
- Babendreier D, Kalberer N, Romeis J, Fluri P, Bigler F. (2004). Pollen consumption in honey bee larvae: a step forward in the risk assessment of transgenic plants. *Apidologie*, 35; 293–300.
- Bal Tebliği. (2005). Kasım 24, 2017 tarihinde www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2005-49.html. adresinden alındı

- Barker R, Lehner Y (1974). Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J. Exp. Zool.*: 187, 277–285.
- Ben-Shahar Y (2005). The foraging gene, behavioral plasticity, and honey bee division of labor. *J. Comp. Physiol A Neuroethol sens Neural behav Physiol*, 191: 987-994.
- Ben-Shahar Y, Robinson G (2001). Satiation differentially affects performance in a learning assay by nurse and forager honey bees. *J. Comp Physion A Neuroethol Sens Neural Behav Physion*, 187: 891-899.
- Ben-Shahar Y, Dudek N, Robinson G (2004). Phenotypic deconstruction reveals involvement of manganese transporter malvolio in honey bee division of labor. *J.Exp.Biol.*, 207: 3281-3288.
- Ben-Shahar Y, Leung H, Pak W, Sokolowski M, Robinson G (2003). cGMP-dependent changes in phototaxis: a possible role for the foraging gene in honey bee division of labor. *J.Exp.Biol.*, 206 :2507-2515.
- Ben-Shahar Y, Robichon A, Sokolowski M, Robinson G (2002). Influence of gene action across different time scales on behavior. *Science*, 296: 741-744.
- Ben-Shahar Y, Thompson C, Hartz S, Smith B, Robinson G (2000). Differences in performance on a reversal learning test and division of labor in honey bee colonies. *Anim. Cogn.*, 3: 119-125.
- Beye M, Hasselmann M, Fondrk M, Page R, Omholt S (2003). The gene *csd* is the primary signal for sexual development in the honeybee and encodes an SR-type protein. *Cell*, 114(4): 419-429.
- Bitondi M, Simões Z. (1996). The relationship between level of pollen in the diet, vitellogenin and juvenile hormone titres in Africanized *Apis mellifera* workers. *J Apic Res*, 35: 27-36.
- Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A Review. *J Am Col Nutr*, 27(6): 677–689.
- Broschneider R, Crailsheim K (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41(3): 278 - 294.
- Broschneider R, Hrassnigg N, Vollmann JMP, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K (2007). Liquid nutrition within a honeybee colony – who feeds? *Apidologie*, 38: 492.
- Broughton S, Piper MDW, Ikeya T, Bass TM, Jacobson J, Drieger Y, Martinez P, Hafen E, Withers DJ, Leivers SJ, Partridge L (2005). Longer lifespan, altered metabolism, and stress resistance in *Drosophila* from ablation of cell making insulin- like ligands. *Proc Nati Acad Sei USA*, 102: 3105-3110.

- Buch S, Melcher C, Bauer M, Katzenberger J, Pankratz MJ (2008). Opposing Effects of Dietary Protein and Sugar Regulate a Transcriptional Target of Drosophila Insulin-like Peptide Signaling. *Cell Metabolism*(7): 321–332.
- Cajal S, Sanchez D (1915). Contribution a conocimiento de los centros nerviosos de los insectos . *Trab Lab Invest Biol Univ Madrid*, 13: 1-168.
- Calderone N. (1998). Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. . *Apidologie*, 29: 127–158.
- Calderone N, Johnson B (2002). The withinnest behavior of honey bee pollen foragers in colonies with a high or low need for pollen. *Animal Behaviour*, 63: 749-758.
- Campana B, Moeller F (1977). Honey bees: preference for and nutritive value of pollen from five plant sources. *J. Econ. Entomol.*, 70: 39-41.
- Cantrill R, Hepburn H, Warner S (1981). Changes in lipid composition during sealed brood development of African worker honeybees. *Comp. Biochem. Physiol.*, B 68: 351–353.
- Capella I, Hartfelder K (1998). Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. *Journal of insect physiology*, 44(5-6): 385-391.
- Chan MYM (2009). Development And Application Of Honey Bee *In Vitro* Systems. Yüksek Lisans, The University of British Columbia.
- Collins A (2004). Variation in Time of Egg Hatch by the Honey Bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 97(1): 140-146.
- Colombani J, Raisin S, Pantalacci S, Radimerski T, Montagne J, Leopold P (2003). A nutrient sensor mechanism controls Drosophila growth. *Cell*, 114(6): 739-749.
- Corona M, Velarde R, Remolina S, Moran-Lauter A, Wang Y, Hughes K, Robinson GE (2007). Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(17): 7128-7133.
- Crailsheim K (1986). Dependence of protein metabolism on age and season in the honeybee (*Apis mellifica carnica* Pollm). *J. Insect Physiol.*, 32: 629–634.
- Crailsheim K (1991). Interadult feeding of jelly in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J. Comp. Physiol.*, B 161: 55–60.
- Crailsheim K (1998). Trophallactic interactions in the adult honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 29: 97–112.
- Crailsheim K, Schneider L, Hrassnigg N, Bühlmann G, Brosch U, Gmeinbauer R, Schöffmann B (1992). Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *J. Insect Physiol.*, 38: 409-419.

- Crane E (1999). *The world history of beekeeping and honey hunting*. New York: Routledge.
- Cremonese T, de Jong D, Bitondi M (1998). Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 1284–1289.
- De Groot A (1953). Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifera L.*). *Physiol. Comp. Oecol.*, 3: 197–285.
- De Jong D, da Silva E, Kevan P, Atkinson J (2009). Pollen substitutes increase honey bee haemolymph protein levels as much as or more than does pollen. *J. Apic. Res.*, 48: 34–37.
- DeGrandi-Hoffman G, Hagler J (2000). The flow of incoming nectar through a honey bee (*Apis mellifera L.*) colony as revealed by a protein marker. *Insectes Soc*, 47: 302–306.
- DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Huang E, Huang MH (2010). The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera L.*). *Journal of Insect Physiology*, 56: 1184–1191.
- Dietz A, Lambremont E (1970). Caste Determination in Honey Bees. II. Food Consumption of Individual Honey Bee Larvae, Determined with ³²P-Labeled Royal Jelly. *Annals of the Entomological Society of America*, 63(5): 1342-1345.
- Dietz A, Stevenson H (1980). Influence of long term storage on the nutritional value of frozen pollen for brood rearing of honey bees. *Apidologie*, 11: 143-151.
- Doner L (1977). The sugars of honey - a review. *J. Sci. Food Agric.*, 28: 443–456.
- Doull KM (1973). Relationships between pollen, broodrearing and consumption of pollen supplements by honeybees. *Apidologie*, 4: 285-293.
- Draft revised standart for honey (at step 10 of the Codex procedure). Alinorm 01/2519, 26 Eylül 4, 2017 tarihinde Codex Alimentarius Commission Standards. adresinden alındı*
- Durst C, Eichmüller S, Menzel R (1994). Development and experience lead to increased volume of subcompartments of the honey bee mushroom body. *Behav. Neural. Biol.*, 2: 259-263.
- Dzierzon J (1845). Gutachten über die von Herrn Direktor Stöhr im ersten und zweiten Kapitel des General-Gutachtens aufgestellten Fragen. *Eichstädter Bienenzeitung*, 1, 109-113, 119-121.
- Edgar B (2006). How flies get their size: Genetics meets physiology. *Nat. Rev. Genet.*, 7: 907-916.
- Ellis A, Hayes GJ (2009). An evaluation of fresh versus fermented diets for honey bees (*Apis mellifera*). *J. Apic. Res.*, 48: 215–216.
- Engel MS (1999). The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal of Hymenoptera Research*, Volume 8(2): 165-196

- Engels E (1974). Occurrence and significance of vitellogenins in female castes of social Hymenoptera. *Am Zool*, 14: 1229-1237.
- Erber J, Homberg U, Gronenberg W (1987). *Functional roles of the mushroom bodies in insects* In: Gupta AP (ed) *Arthropod brain: its evolution, development, structure and functions*. New York, Wiley.
- Erber J, Masuhr T, Menzel R (1980). Localization of short-term memory in the brain of the bee *Apis mellifera*. *Physiol. Entomol.*, 5: 343-358.
- Evans J (2006). Beepath: An ordered quantitative-PCR array for exploring honey bee immunity and disease. *Journal of Invertebrate Pathology* , 93: 135-139.
- Fahrbach S, & Robinson G (1995). Behavioral development in the honey bee toward the study of learning under natural conditions. *Learn. Memory*, 2: 199-224.
- Fahrbach S, Robinson G (1995). Behavioral development in the honey bee toward the study of learning under natural conditions. *Learn Memory*, 2: 199-224.
- Fallico B, Zappala M, Arena E, Verzera A (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chem*, 85: 305-313.
- FAO. (2014). Kasım 13, 2014 tarihinde <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>. adresinden alındı
- Farrar CL (1936). Influence of pollen reserves on the surviving populations of over-wintered colonies. *Am. Bee J.*, 133: 452-454.
- Farrar CL (1993). Productive management of honey-bee colonies. *Am. Bee J.*, 133: 261-263.
- Fischer P, Grozinger CM (2008). Pheromonal regulation of starvation resistance in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*(95): 723–729.
- Fleig R (1995). Role of the follicle cells for yolk uptake in ovarian follicles of the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera:Apidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 24(4): 427-433.
- Fouquet W, Oswald D, Wichmann C, Mertel S, Depner H, Dyba M (2012). Structural organization of the presynaptic density at identified synapses in the locust central nervous system. *J Comp Neurol.*, 520: 384-400.
- Free J (1965). The behaviour of honeybee foragers when their colonies are fed sugar syrup . *J. Apic. Res.*, 4: 85–88.
- Fries I (1993). Nosema Apis-A Parasite in the Honeybee Colony . *Bee World*, 75: 5-19.

- Gehring KB, Heufelder K, Depner H, Kersting IJ, Sigrist S, Eisenhardt D (2017). Age-associated increase of the active zone protein Bruchpilot within the honeybee mushroom body. *Plos One*: 1-19.
- Geminard C, Rulifson EJ, Leopold P (2009). Remote Control of Insulin Secretion by Fat Cells in Drosophila. *Cell Metabolism* 10: 199–207.
- Genç F, Dodoloğlu (2002). *Arıcılığın Temel Esasları*. Erzurum: Atatürk Üniv Ziraat Fak Yayınları.
- Greenberg J, Xia J, Zhou X, Thatcher S, Gu X, Ament SA, Newman TC, Green PJ, Zhang W, Robinson GE, Ben-Sharar Y (2012). Behavioral Plasticity in Honey Bees is Associated with Differences in Brain microRNA Transcriptome. *Genes, Brain and Behavior*, 11: 660-670.
- Greenspan R (1997). A kinder, gentler genetic analysis of behavior: dissection gives way to modulation. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 7: 850.
- Gregory PG (2006). Protein diets and their effects on worker weight, longevity, consumption and haemolymph protein levels of *Apis mellifera*. *American Bee Journal*(146): 447.
- Groh C, Lu Z, Meinertzhagen IA, Rössler W. (2012). Age-Related Plasticity in the Synaptic Ultrastructure of Neurons in the Mushroom Body Calyx of the Adult Honeybee *Apis mellifera*. *The Journal of Comparative Neurology*(520): 3509–3527.
- Grozinger CM, Sharabash NM, Whitfield CW, Robinson GE (2003). Pheromone-mediated gene expression in the honey bee brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(2): 14519–14525.
- Guidugli K, Piulachs MD, Bellés X, Lourenço A, Simões Z (2005). Vitellogenin Expression in Queen Ovaries and in Larvae of Both Sexes of *Apis mellifera*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 59: 211-218.
- Guizeit H, Zissler D, Fleig R (1993). Oogenesis in the honeybee *Apis mellifera*: cytological observations on the formation and differentiation of previtellogenic ovarian follicles. *Development genes and evolution*, 202(3): 181-191.
- Hagan D (2015). The Social Organization of Honey Bee. University of Florida, <http://blogs.ifas.ufl.edu/edis/2015/12/02/the-social-organization-of-honey-bees/>. Erişim Tarihi 25.11.2017
- Hagedorn H, Moeller F (1968). Effect of the age of pollen used in pollen supplements on their nutritive value for the honeybee. I. Effect on thoracic weight, development of hypopharyngeal glands, and brood rearing. *J. Apic. Res*, 7: 89–95.
- Hammer M, Menzel R. (1995). Learning and memory in the honeybee. *J. Neurosci*, 15: 1617-1630.

- Hasselmann M, Gempe T, Schiott M, Nunes-Silva C, Otte M, Beye M (2008). "Evidence for the evolutionary nascence of a novel sex determination pathway in honeybees. *Nature*, 454(7203): 519-522.
- Hatch S, Tarpy D, Fletcher D (1999). Worker regulation of emergency queen rearing in honey bee colonies and the resultant variation in queen quality. *Insectes Sociaux*, 46: 372-377.
- Haydak, M. (1970). Honey bee nutrition. *Annu Rev Entomol*, 15:143-156.
- Heimpel G, de Boer J (2008). Sex determination in the hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 53: 209-230.
- Heisenberg M, Borst A, Wagner S, Byers D (1985). Drosophila mushroom body mutants are deficient in olfactory learning. *J Neurogenet*, 2: 1-30.
- Hellmich RL, Rothenbuhler WC (1986). Relationship between different amounts of brood and the collection and use of pollen by the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 17: 13-20.
- Herbert E, Shimanuki H (1978). Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*, 9: 33-40.
- Herbert E, Vanderslice J, Higgs D (1985). Effect of dietary vitamin C levels on the rate of brood production of freeflying and confined colonies of honey bees. *Apidologie*, 16: 385-394.
- Herrmann M, Trenzcek T, Fahrenhorst H, Engels W (2005). Characters that differ between diploid and haploid honey bee (*Apis mellifera*) drones. *Genetics and molecular research : GMR*, 4(4): 624-641.
- Homberg U, Christensen T, Hildebrand J. (1989). Structure and function of the deutocerebrum in insects . *Annu Rev Entomol*(34): 477-501.
- Hoover S, Keeling C, Winston M, Slessor K. (2003). The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Die Naturwissenschaften*, 90(10): 477-480.
- Grassnigg N, Brodschneider R, Fleischmann PH, Crailsheim K. (2005). Unlike Nectar Foragers, Honeybee Drones (*Apis mellifera*) are not able to utilize starch as fuel for flight. *Apidologie*, 36: 547-557.
- Grassnigg N, Crailsheim K. (2005). Differences in drone and worker physiology in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 36: 255-277.
- Huang Z, Robinson G. (1996). Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Bheav. Ecol. Sociobiol*, 39: 147-158.
- Ikeya T, Galic M, Belawat P, Nairz K, Hafen E (2002). Nutrient-dependent expression of insulin-like peptides from neuroendocrine cells in the CNS contributes to growth regulation in Drosophila. *Curr Biol*, 12: 1293-1300.

- Imdorf A, Rickli M, Kilchenmann V, Bogdanov S, Wille H (1998). Nitrogen and mineral constituents of honey bee worker brood during pollen shortage. *Apidologie*, 29: 315–325.
- İpçak HH, Işık R, Alçiçek A (2015). Kanatlı Hayvan Üretiminde Yeni Beslenme Uygulamaları: Nutrigenomik.
- Kaftanoğlu O, Kumova U. (1989). *Çukurova Bölgesi Koşullarında Ana Arı (Apis mellifera L.) Yetiştirme Mevsiminin, Ana Arıların Kalitesine Olan Etkileri Üzerine Bir Araştırma Proje resmi sonuç raporu*. Ankara: Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veteriner ve Hayvancılık Grubu.
- Kamakura M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*, 473(7348): 478-483.
- Kandemir I, Kence A. (1995). Allozyme variation in a central Anatolian honeybee (*Apis mellifera L.*) population. *Apidologie*, 26: 503-510.
- Keeling C, Slessor K, Higo H, Winston M. (2003). New components of the honey bee (*Apis mellifera L.*) queen retinue pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(8): 4486-4491.
- Kenyon F (1896). The brain of honey bee. A preliminary contribution to the morphology of the nervous system of the arthropoda. *J. Comp. Neurol*, 6: 133-210.
- Khalil M, Sulaiman S, Gan S (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food Chem Toxicol*, 48: 2388–2392.
- Kim S, Rulifson E (2004). Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila* corpora cardiaca cells. *Nature*, 431: 316-320.
- Krell R. (1996). Value-Added Products From Beekeeping. *FAO Agricultural Services Bulletin*: 124-409.
- Krofczik S, Khojasteh U, Hempel De Ibarra N, Menzel R (2008). Adaptation of microglomerular complexes in the honeybee mushroom body lip to manipulations of behavioral maturation and sensory experience. *Dev Neurobiol.*, 17: 68.
- Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R (2008). Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319(5871): 1827-1830.
- Kunert K, Crailsheim K (1988). Seasonal changes in carbohydrate, lipid and protein content in emerging worker honeybees and their mortality. *J. Apic. Res.*, 27: 13–21.
- Le Conte Y, Hefetz A (2008). Primer pheromones in social hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 53: 523-542.

- LeBlanc B, Eggleston G, Sammataro D, Cornett C, Dufault R, Deeby T, Cyr ES (2009). Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 57: 7369–7376.
- Lee P, Winston M (1987). Effects of reproductive timing and colony size on the survival, offspring colony size and drone production in the honey bee (*Apis mellifera*). *Ecological Entomology*, 12(2): 187-195.
- Leitinger G, Masich S, Neumüller J, Pabst M, Pavelka M, Rind F, Shupliakov O, Simmons PJ, Kolb D (2012). Structural organization of the presynaptic density at identified synapses in the locust central nervous system. *J Comp Neurol.*, 520: 384-400.
- Leoncini L, Le Conte Y, Costagliola G, Pletter E, Toth A, Wang, M, Huang Z, Becard JM, Crauser D, Slessor KN, Robinson GE (2004). Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 17559-17564.
- Levitsky D, Strupp B (1995). Malnutrition and the brain:changing concepts, changing concerns. *J Nutr*(125): 2221S-2232S.
- Linksvayer T, Fewell J, Gadau J, Laubichler M (2012). Developmental Evolution in Social Insects: Regulatory Networks from Genes to societies. . *J Exp Zool (Mol Dev Evol)*, 318: 159–169.
- Loper G, Berdel R (1980a). A nutritional bioassay of honeybee brood-rearing potential. *Apidologie*, 11: 181–189.
- Loper G, Berdel R (1980b). The effects of nine pollen diets on broodrearing of honeybees. *Apidologie*, 11, 351–359.
- Manning R, Rutkay A, Eaton L, Dell B (2007). Lipid-enhanced pollen and lipid-reduced flour diets and their effect on the longevity of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Aust. J. Entomol*(46): 251–257.
- Mattila HR, Otis GW (2006a). Influence of Pollen Diet in Spring on Development of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Economic Entomology*, 99(3): 604-613.
- Mattila HR, Otis GW (2006b). The effects of pollen availability during larval development on the behaviour and physiology of spring-reared honey bee workers. *Apidologie*, 37: 533–546.
- Mattila HR, Otis G (2006). Effects of Pollen Availability and Nosema Infection During the Spring on Division of Labor and Survival of Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Environmental Entomology*, 35(3): 708–717.
- Maurizio A (1954). Pollenernährung und Lebensvorgänge bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). *Landwirtsch. Jahrb. Schweiz*, 62: 115-182.

- Meller V, Davis R (1996). Biochemistry of insect learning: lessons from bees and flies,. *Insect Biochem. Molec.*, 26: 327-335.
- Menzel R (2001). Searching for the memory trace in a mini-brain, the honeybee. *Learn Memory*, 8: 53-62.
- Menzel R, Giurfa M (2001). Cognitive architecture of a mini-brain the honeybee. *Trends Cogn. Sci.*, 5: 62-71.
- Michener C (1974). *The social behavior of the bees*. Cambridge: Harvard University Press.
- Milne C, Phillips J, Krell P (1988). A photomicrographic study of worker honeybee embryogenesis. *Journal of Apicultural Research*, 27(2): 69-83.
- Min KJ, Yamamoto R, Buch S, Pankratz M, Tatar M (2008). *Drosophila* lifespan control by dietary restriction independent of insulin-like signaling. *Aging Cell*(7): 199–206.
- Moritz B, Crailsheim K (1987). Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera L.*) . *J. Insect Physiol*, 33: 923–931.
- Moritz R, Southwick E (1992). Bees as Superorganisms. *Springer*.New York: 395
- Mott CM, Breed MD (2012). Insulin Modifies Honeybee Worker Behavior. *Insects*, 3: 1084-1092.
- Mutti NS, Dolezal AG, Wolschin F, Mutti JS, Gill KS, Amdam GV (2011). IRS and TOR nutrient-signaling pathways act via juvenile hormone to influence honey bee caste fate. *The Journal of Experimental Biology*(214): 3977-3984.
- Mutti N, Dolezal A, Wolschin F, Mutti J, Gill K, Amdam G. (2011a). "IRS and TOR nutrient-signaling pathways act via juvenile hormone to influence honey bee caste fate. *The Journal of experimental biology*, 214(Pt 23): 3977-3984.
- Neupane K, Thapa R. (2005). Alternative to offseason sugar supplement feeding of honeybees,. *J. Inst. Agric. Anim. Sci.*, 26: 77–81.
- Nicolson S, Human H (2008). Bees get a head start on honey production. *Biol. Lett.*, 4: 299–301.
- Nunes FM, Ihle KE, Mutti NS, Simões ZL, Amdam GV (2013). The gene vitellogenin affects microRNA regulation in honey bee (*Apis mellifera*) fat body and brain. *The Journal of Experimental Biology*, 216: 3724-3732.
- Oldham S, Hafen E (2003). Insulin/IGF and target of rapamycin signaling: a TOR de force in growth control. *Trends Cell*, 13(2): 79-85.
- Özbilgin N, Alatas İ, Balkan C, Öztürk A, Karaca Ü. (1999). Ege Bölgesi Arıcılık Faaliyetlerinin Teknik ve Ekonomik Başlıca Karakteristiklerinin Belirlenmesi. *J AARI*, 9: 149-170.

- Page R Jr, Peng C (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental gerontology*, 36(4-6) 695-711.
- Palmer M, Smith D, Kaftanoğlu O (2000). Turkish honeybees: Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *J. Hered.*, 91: 42-46.
- Paoli PP, Donley D, Stabler D, Saseendranath A, Nicolson SW, Simpson SJ, et al. (2014). Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age. *Amino Acids*, 46, 1449–1458.
- Patel A, Fondrk M, Kaftanoglu O, Emore C, Hunt G, Frederick K, Amdam GV (2007). The making of a queen: TOR pathway is a key player in diphenic caste development. *PloS one*, 2(6): e509.
- Patel N, Haydak M, Gochnauer T. (1960). Electrophoretic components of the proteins in honeybee larval food. *Nature*, 186: 633-634.
- Pernal S, Currie R (2000). Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 31: 387–409.
- Pernal S, Currie R. (2001). The influence of pollen quality on foraging behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Springer-Verlag*, 51(1): 53-68.
- Pfaffl M (2001). A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. . *Nucleic Acids Research*, 29(9): 2003-2007.
- Qi Qh, Han X, Liu H, Zhang, S-W, Zeng Z.-J. (2014). Expression levels of glutamate and serotonin receptor genes in the brain of different behavioural phenotypes of worker honeybee (*Apis mellifera*). *Türk. entomol. derg.*, 38(4),: 431-441.
- Ratnieks F. (1993). Egg-laying, egg-removal, and ovary development by workers in queenright honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32: 191-198.
- Rembold H, Czoppelt C, Rao P (1974). Effect of juvenile hormone treatment on caste differentiation in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of insect physiology*, 20(7): 1193-1202.
- Ribbands R. (1953). *The behaviour and social life of honeybees*. New York: London Dover Publ Inc.
- Ribi W, Senden T, Sakellariou A, Limaye A, Zhang S (2008). Imaging honey bee brain anatomy with micro-X-ray-computed tomography. *Journal of Neuroscience Methods*, 171: 93-97.
- Robinson G (1987). Regulation of honey-bee age polyethism by juvenile-hormone. *Behav Ecol Sociobiol*, 20: 329-338.
- Robinson G (1992). Regulation of division of labor in insect societies. *Annu Rev Entomol.*, 37: 637–665.

- Rortais A, Arnold G, Halm M, Touffet-Briens F. (2005). Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*, 36: 71–83.
- Roulston T, Cane J, Buchmann S. (2000). What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny? *Ecol. Monogr.*, 70: 617–643.
- Ruttner, F. (1992). *Naturgeschichte der Honigbienen*. . Munich: Ehrenwirth.
- Santagati S, Garnier M, Carlo P. (1997). Quantitation of low abundance mRNAs in glial cells using different polymerase chain reaction (PCR)-based methods. *Br Res Prot*, 217.
- Schmidt J (1997). Bee Product: Chemical Composition and application Conference on Bee Product Properties. *Applications and Apitherapy*, (s. 15-26). Israel.
- Schmickl T, Crailsheim K. (2001). Cannibalism and early capping: strategies of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *J. Comp. Physiol., A* 187: 541–547.
- Schmickl T, Crailsheim K. (2002). How honeybees (*Apis mellifera* L.) change their broodcare behavior in response to nonforaging conditions and poor pollen conditions. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 51: 415–425.
- Schmidt J, Thoenes S, Levin M. (1987). Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources . *J. Econ. Entomol.*, 80: 176–183.
- Schmidt L, Schmidt J, Rao H, Wang W, Xu L. (1995). Feeding preference of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen. *J. Econ. Entomol.*(88): 1591-1595.
- Schulz DJ, Robinson GE (1999). Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies: behaviorally related changes in the antennal lobes and age-related changes in the mushroom bodies. *Journal of Comparative Physiology* (184): 481-488.
- Schulz DJ, Huang ZY, Robinson GE (1998). Effects of colony food shortage on behavioral development in honey bees. *Behav Ecol Sociobiol*(42): 295-303.
- Schwartz M, Prigeon R, Kahn S, Nicolson M, Moore J, Boyko E, Daniel P. (1997). Evidence that plasma leptin and insulin levels are associated with body adiposity via different mechanisms. *Diabetes Care*, 20: 1476-1481.
- Seehuus S, Norberg K, Gimsa U, Krekling T, Amdam G (2006). Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(4): 962-967.
- Seeley T (1982). Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behav Ecol Sociobiol*, 11: 287–293.
- Seeley T (1989). The honey bee colony as a superorganism. *Am. Sci.*, 77: 546–553.

- Seeley T (1995). *The wisdom of the hive*. Cambridge: Harvard University Press.
- Seeley T, Visscher P (1985). Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecol. Entomol.*, 10: 81-88.
- Severson D, Erickson E (1984). Honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony performance in relation to supplemental carbohydrates. *J. Econ. Entomol.*, 77: 1473–1478.
- Shi Y, Huang Z, Zeng Z, Wang Z, Wu X, Yan W. (2011). Diet and cell size both affect queen-worker differentiation through DNA methylation in honey bees (*Apis mellifera*, Apidae). *PloS one*, 6(4): e18808.
- Somerville D, Nicol H (2006). Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and a note on laboratory disparity. *Aust. J. Exp. Agr.*, 46, 141-149.
- Standifer L, Moeller F, Kauffeld N, Herbert E, Shimanuki H (1977). Supplemental feeding of honey bee colonies. *USDA Agr. Inform. Bull.*(413): 8.
- Sullivan J, Fahrbach S, Robinson G. (2000). Juvenil hormone paces behavioral development in the adult worker honey bee. *Horm. Behav.*, 37: 1-14.
- Swammerdam, J. (1758). *The book of nature*.
- Tanaka E, Hartfelder K (2004). The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Struct Dev* , 33(4): 431-442.
- Todd FE, Bishop RK (1941). The role of pollen in the economy of the hive. *United States Department of Agriculture, Bureau of Entomology and Plant Quarantine, Orange County, CA*.
- Trumbo S, Huang Z, Robinson GE. (1997). Division of labor between undertaker specialists and other middle-aged workers in honey bee colonies. *Behav Ecol Sociobiol*, 41: 151–163.
- Tu M, Yin C, Tatar M (2005). Mutations in insulin signaling pathway alter juvenile hormone synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Gen. Comp. Endocrino.*, 142: 347-356.
- Turhan I, Tetik N, Karhan M, Gurel F, Tavukcuoglu H (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *Lebensm Wiss Technol*, 41: 1396–1399.
- Turkmen N, Sari F, Poyrazoglu E, Velioglu Y (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem*, 95: 653–657.
- Vries H, Biesmeijer J (1998). Modelling collective foraging by means of individual behaviour rules in honey-bees. *Behav Ecol Sociobiol*, 44: 109–124.
- Wagh D, Rasse T, Asan E, Hofbauer A, Schwenkert I, Dürrbeck H, Buchner S, Dabauvalle MC, Schmidt M, Qin G, Wichmann C, Kittel R, Sigrist SJ, Buchner E (2008). Neuron.

- Bruchpilot, a protein with homology to ELKS/CAST, is required for structural integrity and function of synaptic active zones in *Drosophila*. *49(6)*: 833-844.
- Weaver N (1957). Effects of Larval Age on Dimorphic Differentiation of the Female Honey Bee. *Annals of the Entomological Society of America*, *50(3)*: 283-294.
- Wheeler DE, Buck N, Evans JD (2006). Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, *15(5)*: 597–602.
- Wheeler DE, Kawooya J (1990). Purification and characterization of honey bee vitellogenin. *Arch Insect Biochem Physiol*, *14(4)*: 253-267.
- Wheeler MM, Ament SA, Rodriguez-Zas SL, Southey B, Robinson GE (2015). Diet and endocrine effects on behavioral maturation-related gene expression in the pars intercerebralis of the honey bee brain. *Journal of Experimental Biology*, *218*: 4005-4014.
- Whitfield C, Behura S, Berlocher S, Clark A, Johnston J, Sheppard W, Smith DR, Suarez A, Wearver D, Tsutsui ND (2006). Thrice out of Africa: Ancient and Recent Expansions of the Honey Bee, *Apis mellifera*,. *Science*, *314*: 642–645.
- Whitfield C, Ben-Shahar Y, Brillet C, Leoncini I, Crauser D, Leconte Y, Rodriguez-Zas S, Robinson GE (2006). Genomic dissection of behavioral maturation in the honey bee. *PNAS*, *103(44)*:. 16068-16075.
- Wille H, Wille M, Kilchenmann V, Imdorf A, Bühlmann G (1985). Pollenernte und Massenwechsel von drei *Apis mellifera*-Völkern auf demselben Bienenstand in zwei aufeinanderfolgenden Jahren. *Rev. Suisse Zool.*, *92*: 897–914.
- Wilson E, Holldobler B. (2005). Eusociality: origin and consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *120(38)*: 13367-13371.
- Winston M (1987). *The biology of the honey bee*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- Winston ML (1991). *The Biology of the Honey Bee*. London: Harvard University Press.
- Wirtz P, Beetsma J (1972). Induction of caste differentiation in the honeybee (*Apis mellifera*) by juvenile hormone. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, *15(4)*: 517-520.
- Withers G, Fahrbach S, Robinson G (1993). Selective neuroanatomical plasticity and division of labour in the honeybee. *Nature*, *40(238)*: 364.
- Witthöft W (1967). Absolute Anzahl und Verteilung der Zellen im Hirn der Honigbiene . *Z. Morph. Tiere*, *61*: 160-184.

- Wolschin F, Amdam G (2007). Plasticity and robustness of protein patterns during reversible development in the honey bee (*Apis mellifera*). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 1098: 1095-1100.
- Wolschin F, Mutti N, Amdam G (2011). Insulin receptor substrate influences female caste development in honeybees. *Biology letters*, 7(1): 112-115.
- Woyke J (1963). Drone larvae from fertilized eggs of the honeybee. *Journal of Apicultural Research*, 2: 19-24.
- Woyke J (1971). Correlations between the age at which honeybee brood was grafted, characteristics of the resultant queens, and results of insemination. *Journal of Apicultural Research*, 10: 45-55.
- Wu Q, Zhao Z, Shen P (2005). Regulation of aversion to noxious food by *Drosophila* neuropeptide Y- and insulin-like systems. *Nat Neurosci*, 8: 1350-1355.

ÖZGEÇMİŞ

Yılmaz Berk KORU 1990 yılında Keşan'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Çanakkale'nin Gelibolu ilçesinde tamamladı. Lisans eğitimi için 2009 yılında Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ne girdi. Bu bölümden 2015 yılında mezun oldu. Eylül 2015'te Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, Bal Arısı üzerine yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında yüksek lisans eğitimi devam ederken KOSGEB desteği ile Apipark A.Ş 'nde Ar-GE personeli olarak çalıştı. Yüksek lisans deneylerini yapmak için gittiği Porto Riko Üniversitesi Biyoloji Bölümü Tuğrul Giray'ın laboratuvarında 40 gün çalışma şansı yakalamıştır.