

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BAZI BAL ARISI İRKLARINDA TIMAR DAVRANIŞI İLE İLGİLİ ADAY
GENLERİN RT-PCR YÖNTEMİYLE KANTİTASYONU**

Berkant İsmail YILDIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BAZI BAL ARISI İRKLARINDA TİMAR DAVRANIŞI İLE İLGİLİ ADAY
GENLERİN RT-PCR YÖNTEMİYLE KANTİTASYONU**

Berkant İsmail YILDIZ

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

TEMMUZ 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BAL ARISI İRKLARINDA TIMAR DAVRANIŞI İLE İLGİLİ ADAY
GENLERİN RT-PCR YÖNTEMİYLE KANTİTASYONU**

Berkant İsmail YILDIZ

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez, T.C. Akdeniz Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2019-4245 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BAL ARISI İRKLARINDA TIMAR DAVRANIŞI İLE İLGİLİ ADAY
GENLERİN RT-PCR YÖNTEMİYLE KANTİTASYONU**

Berkant İsmail YILDIZ

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 19/07/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kemal KARABAĞ
Doç. Dr. Rahşan İVGİN TUNCA
Dr. Öğr. Üyesi Demir Özdemir

ÖZET

BAZI BAL ARISI IRKLARINDA TİMAR DAVRANIŞI İLE İLGİLİ ADAY GENLERİN RT-PCR YÖNTEMİYLE KANTİTASYONU

Berkant İsmail YILDIZ

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Temmuz 2019; 92 sayfa

Koloni Çökme Bozukluğu (CCD) olarak adlandırılan küresel bal arısı koloni kayıplarının bir numaralı sorumlusu ektoparazitik akar olan *Varroa destructor* gösterilmektedir. Bal arılarının karşı karşıya olduğu bu sorun yakın zamanda dünyanın ekolojik dengesini de bozabilecek bir tehdit olarak değerlendirilmektedir. Uzun zamandır *Varroa*'ya karşı organik asitler, insan sağlığını da tehdit eden kimyasallar, esansiyel yağlar ve mekanik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak, tüm bu uygulamalara rağmen istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Yapılan araştırmalar, bazı bal arısı kolonilerinin diğerlerine göre belli hastalık veya zararlılara karşı daha yüksek düzeyde direnç veya duyarlılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Genetik temele dayanan direnç mekanizmalarından biri de tımar davranışıdır. Gerçekleştirilen tez çalışmasında, Türkiye'de yaygın olarak kullanılan bal arısı ırklarından; Anadolu (*Apis mellifera anatoliaca*), Kafkas (*Apis mellifera caucasica*), Karniyol (*Apis mellifera carnica*), İtalyan (*Apis mellifera ligustica*) ve Suriye (*Apis mellifera syriaca*) ırkları materyal olarak seçilmiştir. Bu bal arısı ırklarını temsilen 20 adet işçi arının *Varroa destructor*'a karşı tımar davranışı tepkilerinin *in vitro* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır. Buna göre, literatürde bal arılarında tımar davranışı ile ilişkili olduğu bildirilen 3 aday genin (Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin) ifade miktarları araştırılmıştır. Seçilen aday genlere özgün primer çiftleri ve SYBR Green floresan boya kullanılarak gerçekleştirilen RT-qPCR (Ters Transkripsiyon-kantitatif Polimeraz Zincir Tepkimesi) yöntemiyle moleküler düzeyde tımar davranışı belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; fenotipik olarak 5 bal arısı ırkı arasında tımar davranışı bakımından istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Tımar davranışı ile ilgili aday genler olan Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin genlerinin ifade seviyeleri, ırklar arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. Fakat tımar davranışının ilgili aday genlerin ifade seviyesi ile ilişkisi olmadığı saptanmıştır. Gen seviyesinde tımar davranışının bal arısı ırkları arasında ilk kez karşılaştırıldığı bu çalışmanın sonuçlarına göre tımar davranışı ile ilgili daha fazla moleküler çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Aday gen, *Apis mellifera*, RT-PCR, Tımar davranışı, *Varroa destructor*.

JÜRİ: Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Doç. Dr. Rahşan İVGİN TUNCA

Dr. Öğr. Üyesi Demir Özdemir

ABSTRACT

QUANTITATION OF SOME CANDIDATE GENES RELATED TO GROOMING BEHAVIOUR BY USING RT-PCR IN SOME HONEY BEE RACES

Berkant İsmail YILDIZ

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

July 2019; 92 pages

Varroa destructor is the number one responsible for global honey bee losses called colony collapse disorder. This problem faced by honey bees has recently been accepted as a threat that could disrupt the ecological balance of the world. Organic acids, chemicals that threaten human health, essential oils and mechanical methods have been used against *Varroa* for a long time. However, despite all these applications, the desired results could not be obtained. Research has shown that some honey bee colonies exhibit higher resistance or sensitivity to certain diseases or pests than others. One of the resistance mechanisms based on a genetic basis is grooming behavior. In this thesis study, twenty worker bees were selected as material from the widely used honey bee races in Turkey; Anatolia (*Apis mellifera anatoliaca*), Caucasian (*Apis mellifera caucasica*), Carniol (*Apis mellifera carnica*), Italian (*Apis mellifera ligustica*) and Syria (*Apis mellifera syriaca*). The aim of this study was to determine expression amounts of three candidate genes (Neuroxin-1, Ataxin-3, and Atlastin) which were reported to be related to grooming behavior in honey bees. The responses of candidate genes of the 20 individuals with and without grooming behavior from five honey bee races were tested against *Varroa destructor* in laboratory conditions. Grooming behavior was determined at molecular level by RT-qPCR (Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction) method which using primer pairs specific to selected candidate genes and SYBR Green fluorescent dye. According to the results of this study; phenotypically, no statistical difference was found between the five honey bee races in terms of grooming behavior. Expressions of Neuroxin-1, Ataxin-3 and Atlastin candidate genes related to grooming behavior showed significant differences between the races. However, it has been found that grooming behavior is not related to expression level of the candidate genes in this. Grooming behavior was compared for the first time at gene level in honey bee races. So, as there are many unanswered questions it is seen that more molecular studies related to grooming behavior are needed.

KEYWORDS: *Apis mellifera*, Candidate gene, Grooming behaviour, RT-PCR, *Varroa destructor*.

COMMITTEE: Prof. Dr. Kemal KARABAĞ

Assoc. Prof. Dr. Raşan İVGİN TUNCA

Asst. Prof. Dr. Demir ÖZDEMİR

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, Türkiye’de yaygın olarak kullanılan bal arısı ırklarından; Karniyol (*Apis mellifera carnica*), İtalyan (*Apis mellifera ligustica*), Suriye (*Apis mellifera syriaca*), Anadolu (*Apis mellifera anatoliaca*) ve Kafkas (*Apis mellifera caucasica*) arısı işçilerinin Varroa’ya karşı tımar davranışı tepkileri hem *in vitro* koşullarda fenotipik olarak belirlenmiş hem de tımar davranışı ile ilgili olduğu bildirilen Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin genlerinin ifade miktarları özgün primerler ve SYBR Green floresan boya kullanılarak RT-qPCR yöntemiyle tespit edilmiştir.

Tımar davranış testleri sonucunda arı ırkları arasında belirlenen fenotipik farklılıkların istatistiksel açıdan önemsiz olduğu ancak Atlastin, Ataksin-3 ve Nöroksin-1 genlerinin determinasyon miktarlarının arı ırkları bakımından anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın en ilginç sonucu ise literatürde tımar davranışı ile ilgili olduğu bildirilen Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin genlerinin determinasyon miktarının tımar yapan ve yapmayan bireyler arasında farklılık göstermemesidir.

Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Yüksek Lisans eğitim sürem boyunca bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım, bana her türlü imkânı sunarak manevi desteğini esirgemeyen, tezimin yazım aşamasında ve tezimin son halini almasında yardımcı olan, değerli danışman hocam Prof. Dr. Kemal KARABAĞ’a, çalışmalarında desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan başta Kemal ESKİOĞLU’na ve Mustafa ERSAL’a ve tüm çalışma arkadaşlarıma, eğitim hayatımın her aşamasında bana destek olan ve rehberlik eden Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TORUN’a, maddi ve manevi olarak her zaman destek olan, bana inanan ve güvenen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca tez projemin gerçekleşmesi sürecini destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne ve 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı ile beni destekleyen TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Bal Arısının (<i>Apis mellifera</i>) Sınıflandırılması	4
2.2. <i>Apis mellifera</i> Biyolojisi ve Koloni Yapısı	6
2.3. Türkiye’de Bulunan Önemli Bal Arısı Irkları	7
2.3.1. Karniyol arısı (<i>Apis mellifera carnica</i>)	7
2.3.2. İtalyan arısı (<i>Apis mellifera ligustica</i>).....	8
2.3.3. Suriye arısı (<i>Apis mellifera syriaca</i>)	8
2.3.4. Anadolu arısı (<i>Apis mellifera anatoliaca</i>)	8
2.3.5. Kafkas arısı (<i>Apis mellifera caucasica</i>).....	9
2.4. Tımar davranışı.....	9
2.5. Nöroksin-1, Atakin-3 ve Atlastin genleri	11
2.6. <i>Varroa destructor</i>	11
2.7. PCR (Quantitative PCR (qPCR), Reverse Transcription PCR (RT-PCR))	13
2.8. Bal Arılarında Tımar Davranışı ile İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar	15
3. MATERYAL VE METOT.....	18
3.1. Materyal	18
3.2. Metot.....	19
3.2.1. Tımar davranışının test edilmesi ve analizi	19
3.2.2. Total RNA Ekstraksiyonu	20
3.2.3. cDNA eldesi.....	22
3.2.4. Primerlerin seyreltilmesi	22
3.2.5. qPCR mix hazırlığı.....	23
3.2.6. qPCR cihaz protokolü	24
4. BULGULAR	26

4.1. Fenotipik Analiz Bulguları.....	26
4.2. Moleküler Analiz Bulguları	26
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR.....	55
7. KAYNAKLAR.....	56
8. EKLER	67
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Bazı Bal Arısı Irklarında Tımar Davranışı ile İlgili Aday Genlerin RT-PCR Yöntemiyle Kantitasyonu” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

19/07/2019

Berkant İsmail YILDIZ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	: Santimetre
dk	: Dakika
ddH ₂ O	: Çift distile su
G	: Göreceli santrifüj kuvveti
M	: Molar
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
nM	: Nanomolar
sn	: Saniye
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde

Kısaltmalar

ANOVA	: Varyans Analizi
Ct	: Eşik Döngüsü
Cq	: Kantitasyon Döngüsü
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dsDNA	: Çift zincirli DNA
mRNA	: Haberci RNA
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qPCR	: Kantitatif PCR
QTL	: Kantitatif Karakter Lokus

RNA	: Ribonükleik Asit
RT-PCR	: Ters Transkripsiyon PCR
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
Taq	: <i>Thermus Aquaticus</i>
vb	: ve benzeri
vd	: ve diğeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Apis cinsi arıların başlıcatürleri; a) <i>Apis mellifera</i> (Avrupa bal arı), b) <i>Apis dorsata</i> (Dev bal arısı), c) <i>Apis florea</i> (Cüce bal arısı) d) <i>Apis cerena</i> (Hint bal arısı)....	6
Şekil 2.2. <i>Varroa destructor</i> 'ın görünümü; a) <i>Varroa destructor</i> , b) Üzerinde <i>Varroa destructor</i> bulunan bir bal arısı.....	12
Şekil 2.3. <i>Varroa destructor</i> 'ın kuluçka hücrelerini istilası	13
Şekil 2.4. qPCR amplifikasyonlarında kantitasyon döngüsü (quantification cycle, C _q)	14
Şekil 2.5. SYBR Green floresan boyası ve dsDNA'ya bağlanma şekli	15
Şekil 3.1. Deneme materyali oluşturulurken örnek alınan arılıklardan bazıları.....	18
Şekil 3.2. Petek gözlerinden Varroa'ların toplanması ve petri kaplarında muhafazası ..	19
Şekil 3.3. Tımar davranışının <i>in vitro</i> olarak test edilmesi	20
Şekil 4.1. Karniyol (K) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları	30
Şekil 4.2. İtalyan (I) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları.....	30
Şekil 4.3. Suriye (S) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları.....	31
Şekil 4.4. Anadolu (A) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları.....	31
Şekil 4.5. Kafkas (F) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları.....	32
Şekil 4.6. Bal arısı ırklarında Nöroksin-1 geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği	41
Şekil 4.7. Bal arısı ırklarında Ataksin-3 geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği	41
Şekil 4.8. Bal arısı ırklarında Atlastin geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği.....	42
Şekil 4.9. Bal arısı ırklarında Nöroksin-1 geni için tespit edilen C _q değerlerinin boxplot grafiği	42
Şekil 4.10. Bal arısı ırklarında Ataksin-3 geni için tespit edilen C _q değerlerinin boxplot grafiği	43
Şekil 4.11. Bal arısı ırklarında Atlastin geni için tespit edilen C _q değerlerinin boxplot grafiği	43

Şekil 4.12. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	44
Şekil 4.13. Ataksin-3 geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	44
Şekil 4.14. Atlastin geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	45
Şekil 4.15. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	45
Şekil 4.16. Ataksin-3 geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	46
Şekil 4.17. Atlastin geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı.....	46
Şekil 4.18. Nöroksin-1 geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	47
Şekil 4.19. Ataksin-3 geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	47
Şekil 4.20. Atlastin geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	48
Şekil 4.21. Beta Aktin geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	48
Şekil 4.22. Nöroksin-1 geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	49
Şekil 4.23. Ataksin-3 geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	49
Şekil 4.24. Atlastin geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bal arılarının sınıflandırılması	5
Çizelge 3.1. cDNA sentezinde kullanılan PCR sıcaklık döngü protokolü	22
Çizelge 3.2. Bal arılarında tımar davranışı ile ilgili aday genler ve primerleri.....	23
Çizelge 3.3. qPCR mix hazırlığında kullanılan kimyasallar	24
Çizelge 3.4. qPCR cihaz protokolü	24
Çizelge 4.1. Arı ırklarında saptanan tımar davranışı durumları.....	26
Çizelge 4.2. Tımar davranışı göstermenin arı ırkına bağlı olup olmadığının belirlenmesi için yapılan ki-kare testi sonucu	26
Çizelge 4.3. Materyal olarak kullanılan bal arısı ırklarına ait bireylerden ekstrakte edilen total RNA'ların Biodrop cihazında verdiği absorbans değerleri.....	27
Çizelge 4.4. Tımar davranışı gösteren ve göstermeyen bireylerin Ct ve Cq değerlerinin tanımlayıcı istatistikler	33
Çizelge 4.5. Karniyol ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları.....	34
Çizelge 4.6. İtalyan ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları.....	35
Çizelge 4.7. Suriye ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları	36
Çizelge 4.8. Anadolu ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları	37
Çizelge 4.9. Kafkas ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları	38
Çizelge 4.10. Genlerin Ct ve Cq değerlerinin tanımlayıcı istatistiksel verileri	39
Çizelge 4.11. Aday genler birlikte değerlendirildiğinde hesaplanan Ct ve Cq ölçümlerinin normal dağılım testi sonuçları.....	39
Çizelge 4.12. Aday genlerin her bir ırk için hesaplanan Ct ve Cq değerlerinin normal dağılım testi sonuçları	40

1. GİRİŞ

Avrupa bal arısı (*A. mellifera*), besin olarak tüketilen bitkilerin üçte biri ve birçok yabancı bitkinin tozlaşmasını sağlamakla (Gallai vd. 2009) birlikte ürettiği benzersiz insan gıdaları ile önemli bir türdür. Ancak, bal arılarında koloni kayıpları, modern arıcılık başlangıcından beri önemli bir sorun olmuştur. Buna sebep olarak, zayıf beslenme, ekto- ve endoparazitlerin baskısı, bakteriyel ve viral hastalıkların artması ve sinerjistik pestisit etkileşimleri dahil olmak üzere çok sayıda etken gösterilmiştir. Arıcılık sektörü son yıllarda hiç olmadığı kadar büyük bir krizle (CCD: Colony Collapse Disorder) karşı karşıyadır (Van Engelsdorp vd. 2017). Avrupa’da %51 ve Ortadoğu’da %85’lere (Neumann ve Carreck 2010) varan koloni kayıplarının ülkemizin özellikle Kuzeydoğu bölgesinde %70’ler seviyesine kadar çıktığı bildirilmiştir (Giray vd. 2007). Parazitler ve patojenler arıcılık endüstrisini ve bir bütün olarak tarımı tehdit eden koloni kayıplarının altında yatan temel faktörlerdir. Bugüne kadar yaşanan kayıpların birinci sorumlusu ise *Varroa destructor* olarak gösterilmektedir (Eliash 2017).

V. destructor, larvaların ve ergin bal arılarının yağ dokusundan beslenen (daha önceleri hemolenften beslendiği düşünülmekteydi (Anderson ve Trueman 2000)) beslenen obligat bir ektoparazittir (Ramsey vd. 2019). *Varroa* akarları, arı larvalarını petek gözleri mühürlenmeden önce istila eder ve gelişmekte olan arı larvalarından beslenerek orada çoğalmaktadırlar. Peteklerden çıkan arılara tutunan dişi akarlar da birlikte çıkar ve başka bir arıya ya da başka bir arı larvasına transfer olmaktadır (Rosenkranz vd. 2010; Shimanuki vd. 1994). Uygun mücadele yöntemi kullanılmadığı takdirde *V. destructor* ile enfekte olmuş koloni 2-3 yıl içerisinde çökmektedir (Boecking ve Genersch 2008; Rosenkranz vd. 2010). Arıcılar *Varroa* akarını kontrol etmek için; Organofosfat kaumafos, Tau-fluvalinat, Formamidin amitraz gibi kimyasalları kullanılmaktadırlar. Ancak, arıcıların ilaç kullanımını doğru zamanda ve senkronize yapmaması ve *Varroa*’nın kimyasallara karşı direnç geliştirmesinden dolayı (Pettis 2004; Maggi vd. 2010) istenilen sonuçlar sağlanamamaktadır. Ayrıca, arı ürünlerindeki kimyasalların kalıntıları insan sağlığını tehlikeye sokmaktadır.

Bal arısı kolonilerinde çeşitli hastalık ve parazitlere karşı doğal direnç mekanizmalarının olduğu bilinmektedir (Fries vd. 2006; Le Conte vd. 2010; Seeley 2007). Bazı koloniler belli hastalık veya zararlılara karşı daha yüksek düzeyde direnç veya duyarlılık gösterebilmektedir. Bu değişkenlik, kolonilerdeki genetik çeşitlilikten kaynaklanmaktadır. Bal arılarındaki direnç mekanizmaları; fiziksel, davranışsal ve fizyolojik yollarla çalışmaktadır ve bu mekanizmaların genetik temelli olduğu bilinmektedir.

Dünya genelinde bal arılarında yaşanan kayıplara rağmen Avrupa’daki bazı bal arısı popülasyonlarının herhangi bir mücadele yapılmadığı halde hayatta kalabildiği tespit edilmiştir. Bu popülasyonların hastalık ve parazitlere karşı doğal seleksiyona uğradıkları ve sahip oldukları bazı fizyolojik özellikler sayesinde bunlara karşı koymak için bir veya daha fazla davranış gösterdikleri bildirilmiştir (Fries vd. 2006; Le Conte vd. 2007; 2010; Seeley 2007). Bu nedenlerden dolayı *Varroa*’ya karşı davranışsal direnç bakımından arı ıslahı gibi alternatif önlemler aranmaya başlanarak (Rosenkranz vd. 2010) dirençli ırkların ve genotiplerin tanımlanması üzerine yoğunlaşmıştır.

Bal arılarında ekto-parazitlere karşı önemli davranışsal direnç mekanizmalarının bir tanesi de tımar davranışıdır. Tımar davranışı, omurgalılar ve eklembacaklılar arasında ektoparazitlerden kurtulmak için kullanılan yaygın bir stratejidir (Aumeier 2001). Arılarda bu davranış, bireysel işçilerin ve tüm koloninin sağlığını korumak için gelişmiştir (De Figueiró Santos vd. 2016). Yetişkin arılar tarafından yapılan tımar davranışı, akarları kendi bedenlerinden (oto-tımar) veya başka bir arı vücudundan (allo-tımar) tespit etmeyi ve ortadan kaldırmayı içerir (De Figueiró Santos vd. 2016). Arıların diğer arıları temizleyerek vücutlarındaki akarları gidermesi, sosyal tımar davranışı olarak da adlandırılır (Peng 1988). Arılar tımar davranışı sırasında, kendi vücut kısımlarını temizlerken vücutlarını sallayıp bukerler ve bu yüzden bu davranışa tımar dansı adı verilir. Bu dans, geçici olarak tımar davranışı yapan arılardaki sosyal tımar davranışlarını da kışkırtmakta ve sık sık diğer arıları temizlemesini sağlamaktadır (Kolmes 1989).

Bal arılarında yapılan tımar davranışıyla ilgili moleküler çalışmalara bakıldığında; bağışıklık ile ilişkili hymenoptaecin (Hym), hücre proliferasyon regülatörü, poli U bağlanma faktörü kd 68 (pUf68), vitellogenin (Vg), otofajiye bağlı FYVE proteini, mavi peynir (BICH) geni gibi genlerin ifadeleri, Varroa'ya maruz bırakılan arılarda ölçülerek belirlenmeye çalışılmıştır. Tımar davranışının mekanizması tam olarak çözülememiş olmasına rağmen, tımar davranışı, kolonilerdeki akarların miktarı ile negatif ilişkili olduğu açıktır (Andino ve Hunt 2011; Arechavaleta-Velasco ve Guzman-Novoa 2001; Boecking ve Ritter 1993; Büchler, 1993; Delfinado-Baker vd., 1992; Guzman-Novoa vd. 2012; Mondragon vd. 2005). Ayrıca bu davranışın bal arısı türleri ve ırkları arasında değişkenlik gösterdiği de bilinmektedir.

Gen ifadesi ölçümünde farklı metotlar olsa da Gerçek Zamanlı PCR ya da qPCR (Real-Time PCR/Quantitative PCR), doğruluk, duyarlılık ve hızlı sonuç verme açısından mevcut diğer yöntemlerden ayrılmaktadır. Bu teknik, PCR'ın muazzam duyarlılığı ile amplifikasyonların gerçek zamanlı olarak izlenebilmesinin bir kombinasyonudur. qPCR ile gen ifadesinin ölçümünde başlangıç genetik materyali olarak RNA molekülü kullanılmaktadır ve retrovirüslerden elde edilen ters transkriptaz enzimi yardımıyla komplementer DNA (cDNA)'ya çevrilerek amplifiye edilmektedir. Reaksiyonda kullanılan probler sayesinde her bir amplifikasyon ışına yapmaktadır ve bu ışınların cihaz tarafından algılanmasıyla kantitasyon mümkün olmaktadır. PCR işlemlerinden sonra jel dokümantasyonu gibi uygulamalara gerek kalmadan hem daha hızlı sonuç vermektedir hem de olası kontaminasyon riskini en aza indirmektedir. Fazla sayıdaki örnekler ile çalışırken sağladığı bu yararlar daha önemli hale gelmektedir. qPCR tekniği temel protokoller kullanılarak farklı laboratuvarlarda pratik bir şekilde uygulanabilmektedir. Yapılan uygulamalarda kullanılan primer sekansları da tüm laboratuvarlarda neredeyse aynı başarıyı göstermektedir.

Analizlerde kullanılan, SYBR Green floresan boya ve TaqMan prob yöntemleri oldukça popüler yöntemler arasındadır. SYBR Green nispeten maliyet faydası olmakla birlikte kullanımı kolaydır. Teknik olarak floresan boyanın çift zincirli deoksiribonükleik asitin (dsDNA) minör oluşuna bağlanmasına dayanmaktadır. TaqMan prob yöntemi ise; Taq polimeraz enziminin, iki ucu çift röportör boya ile etiketli oligonükleotidin ekzonükleaz aktivitesiyle kesilip ışına gerçekleştirilmesine dayanmaktadır.

Türkiye’de yaygın bulunan ırklarda davranışsal tepkilerinin tanımlanmasıyla ilgili moleküler genetik çalışma bulunmaması, bu alanda projelerin geliştirilmesini elzem kılmaktadır. Bu sebeplerden dolayı, tamamlanan bu tez çalışmasında ülkemizde yaygın olarak kullanılan; Karniyol (*Apis mellifera carnica*), İtalyan (*Apis mellifera ligustica*), Suriye (*Apis mellifera syriaca*), Anadolu (*Apis mellifera anatoliaca*) ve Kafkas (*Apis mellifera caucasica*) ırklarının *V. destructor*’a karşı tımar (grooming) davranışı durumları *in vitro* koşullarda ortaya koyulmuştur. Tımar davranışı durumları *in vitro* olarak ortaya koyulan 5 ırkta, literatürde bildirilen tımar davranışı ile ilgili; Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin aday genlerinin mRNA miktarlarını belirlemek için özgün primerler ve SYBR Green floresan boya kullanılarak RT-qPCR yöntemi uygulanmıştır. Yapılan bu çalışma, tımar davranışı bakımından üstün genotiplerin ve sorumlu genlerin belirlenmesine ve çeşitli ıslah çalışmaları için ırkların hızlı ve kolay seçilmesine katkı sağlayacaktır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Bal Arısının (*Apis mellifera*) Sınıflandırılması

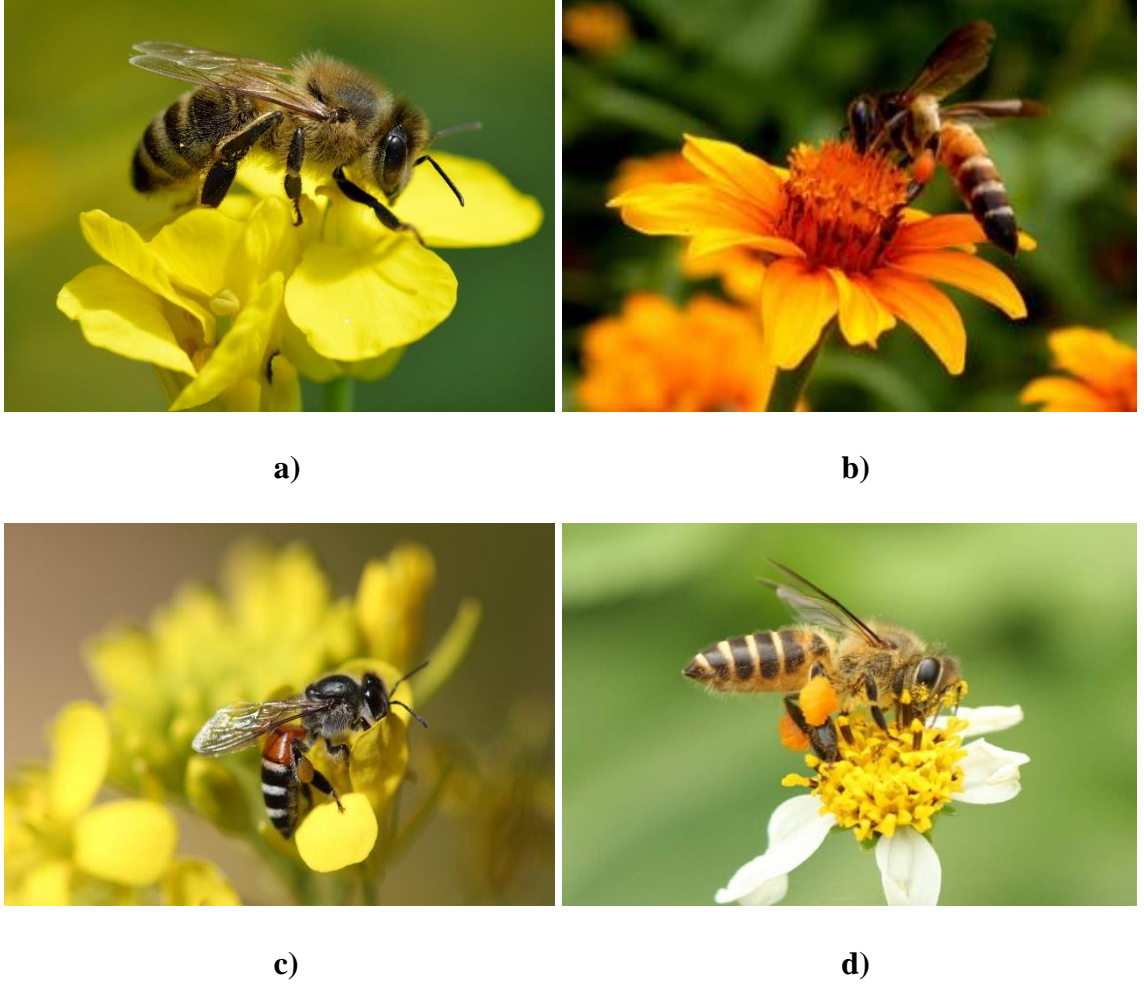
Bal arısı (apis), taksonomik sınıflandırmaya göre; hayvanlar (animalia) aleminin eklem bacaklılar (Arthropoda) şubesi'nin zarkanatlılar (hymenoptera) takımında ve arılar (apidea) familyasında yer almaktadır (Çizelge 2.1). Bal arıları "Apidae" familyası içerisinde 4 tür altında incelenmektedir. Bunlar *Apis mellifera* (Avrupa bal arısı), *Apis dorsata* (Dev bal Arısı), *Apis florea* (Cüce bal arısı) ve *Apis cerana* (Doğu bal arısı)'dır (Şekil 2.1). Arı türleri çeşitli özellikler bakımından diğer bir türden üstünlük ve farklılıklar gösterebilir. Arı türleri içerisinde en önemli olanı ve dünyanın bal ihtiyacının büyük çoğunluğunu karşılayan tür *Apis mellifera*'dır. Üretkenliğinin yüksek olması ve koloni yönetiminin kolay olması arıcular tarafından *Apis mellifera*'yı tercih edilen bir arı türü olmuştur (Crane 1999).

Apis mellifera'nın doğal yayılımı Orta Asya, Avrupa, Yakın Doğu ve Sahraaltı Afrika'yı kapsamaktadır ancak ekonomik faydaları dolayısıyla Doğu ve Güneydoğu Asya'ya, Avustralya'ya ve Amerika'ya yetiştirilme amacıyla götürülmüştür (Ruttner 1988). Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi bal arıları da yaşadığı yerin çevre koşullarına uyum sağlamasıyla, coğrafik özelliklere ve farklı iklimlere göre çeşitli alttürler, ırklar ve ekotipler meydana gelmiştir. Farklı morfolojik ve fizyolojik özelliklerin kazanılması, evrimleştikleri bu ortamların çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır.

Türkiye, iklim, bitki örtüsü ve topoğrafik yapı gibi doğal koşullar itibariyle arı çeşitliği ve arıcılık açısından son derece önemli bir potansiyele sahiptir. Ülkemizin sahip olduğu bu ekolojik çeşitlilik sayesinde, *A. mellifera*'nın her bölgemizde farklı ırklarına ve ekotiplerine rastlamak mümkündür. Türkiye'de yaygın olarak kullanılan önemli bal arısı ırkları arasında; *Apis mellifera carnica*, *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera syriaca*, *Apis mellifera anatoliaca* ve *Apis mellifera caucasica* bulunmaktadır.

Çizelge 2.1. Bal arılarının sınıflandırılması (Engel 1999):

Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Şube:	Arthropoda (Eklembacaklılar)
Sınıf:	Insecta (Böcekler)
Takım:	Hymenoptera (Zar Kanatlılar)
Familya:	Apidae (Arılar)
Cins:	<i>Apis</i> (Bal Arıları)
Tür:	<i>Apis mellifera</i> (Avrupa bal arısı)
	<i>Apis dorsata</i> (Dev bal arısı)
	<i>Apis florea</i> (Cüce bal arısı)
	<i>Apis cerana</i> (Doğu bal arısı)



Şekil 2.1. Apis cinsi arıların başlıcatürleri; **a)** *Apis mellifera* (Avrupa bal arı), **b)** *Apis dorsata* (Dev bal arısı), **c)** *Apis florea* (Cüce bal arısı) **d)** *Apis cerena* (Hint bal arısı) (Anonim 2019a)

2.2. *Apis mellifera* Biyolojisi ve Koloni Yapısı

Tipik olarak *Apis mellifera* kolonisi, bir adet kraliçe, 20.000-60.000 yetişkin işçi, 10.000-30.000 işçi kuluçkası (yumurtalar, larvalar ve pupalar) ve birkaç yüz erkek arı içermektedir (Bailey ve Ball 1991). Bal arısı kolonilerindeki döllenmiş (diploid) yumurtalar işçi arılar haline gelirken, döllenmemiş (haploid) yumurtalar ise erkek arılara dönüşmektedir. Diploid dişi larvaların beslenme şekli ise kraliçe ya da işçi arı olmasını belirlemektedir. Tüm larvalar işçi arılar tarafından arı sütü ile beslenmektedir fakat uzun süre ve fazla miktarda arı sütü ile beslenen larvalar kraliçe arı haline gelmektedir.

Ortalama bir işçi 21, erkek arı 24 ve kraliçe arı ise 16 gün içerisinde yetişkinliğe erişmektedir (Winston 1987). Kraliçenin kolonideki en önemli görevi yumurtlamak ve çiftleşmektir. Koloni içerisindeki bireylerin tümü ana arının petek gözleri tabanına bıraktığı yumurtalardan meydana gelmektedir (Genç 2000). Çok sayıda erkekle çiftleşen kraliçe arı, çiftleşmeler sırasında sperm kesesine doldurduğu spermatozoalarla ömrü boyunca dömlü yumurta üretebilmektedir. Bu sayede bal arısı kolonisinde çok sayıdaki

döllerin tümü birbirleriyle öz kardeş olmamakta ve böylece bir arı ailesinde yaklaşık 8-10 tane üvey kardeş familyası bulunmaktadır (Güler 2006). Kraliçe arının yaşlanmasıyla, sperm kesesinde depolanmış olan spermatozoaların tükenmesi durumunda döllenmemiş yumurta bırakmaya başlar ve bu durumda yumurtalardan, kovandaki işlerde görev almayan erkek arılar meydana gelmektedir. Bu durumda işçi arılar yeni bir kraliçe arı yetiştirir ve yaşlı kraliçeyi kovandan uzaklaştırmaktadır. Erkek arılar sadece erken yaz mevsiminde kovanda mevcuttur ve tek işlevi kraliçe arıyla çiftleşmektir. İşçi arılar ise temel temizlik, petek yapımı, yavru ve kraliçe bakımı koloni havalandırması, koruma ve yiyecek arama gibi görevleri yerine getirerek iş gücü sağlamaktadır. Fakat işçi arıların bu görevleri yaş dönemlerine göre değişiklik göstermektedir. Bal arıları ilk günlerinde uçuş ve sokma gibi yeteneklere sahip değildir (Winston 1987; Calderone 1998). Bu dönemde işçi arılar; petek gözü temizliği, kalan zamanda ise tımar yapma görevindedir (Seeley 1982). 4-12 günlük yaştaki işçi arılar bakıcılık görevini üstlenmektedir (Ribbands 1953; Seeley 1982). Bakıcı arılar, kuluçka yemi denilen, bünyelerinde işledikleri bir yem ile gözlerdeki larvaları beslemektedir (Michener 1974). Bakıcı arıların diğer bir görevi ise ana arının etrafını sararak beslenmesini sağlamaktır (Winston 1987). 12-21 günlük yaştaki arılar orta yaş arılar olarak adlandırılmaktadır (Seeley 1982). Orta yaş arıların görevleri bakıcı arılarınkine benzer fakat daha farklı davranırlar ve yavrularla ilgilenmezler. Bu arıların görevleri; petek örme ve kovan girişinin korunmasıdır (Seeley 1982; Trumbo vd. 1997). Arılar, 21 günden sonra, tarlacılık denilen görevi üstlenerek koloninin ihtiyaç duyduğu polen, nektar, propolis ve su gibi kaynaklara yoğunlaşır, kovan içindeki görevlerle ilgilenmez ve ölüncüye dek bu göreve devam etmektedir (Winston 1987; Seeley 1995; Robinson 1992; Seeley 1995; Calderone 1998). Polen ve nektar toplama tarlacılık görevinin genelini oluşturmaktadır fakat koloni sıcaklık stresine girdiği zaman tarlacı arılar daha çok suya yönelmektedir (Seeley 1995).

Kolonilerin yaşam süresi büyük ölçüde değişmektedir çünkü koloniler sürekli olarak ayrılabilen, terk edilebilen ya da herhangi bir hastalığa maruz kalarak ölebilmektedir. Yaklaşık olarak kraliçe arı 3-4 yıl yaşayabilirken, işçi arıların ömrü yaz mevsiminde birkaç hafta ve kış mevsiminde ise birkaç ay olabilir. Erkek arılar çiftleştikten sonra ölür ya da kıştan önce koloniden uzaklaştırılır. Koloni sağlığı tüm bireylere bağlıdır ve hayatta kalmak için gerekli besinlerin toplanması ve üretilmesiyle birlikte koloninin devamlılığının sağlanması da önemli olmaktadır.

2.3. Türkiye’de Bulunan Önemli Bal Arısı Irkları

2.3.1. Karniyol arısı (*Apis mellifera carnica*)

Karniyol arısı, *Apis mellifera carnica* Pollmann, Slovenya’da ve eski Yugoslavya’nın bazı bölgelerine, güney Avusturya’ya, Macaristan’a, Romanya ve Bulgaristan’ın bazı bölgelerine özgü bir arı ırkıdır (Ruttner 1988). Karniyol arısı günümüzde ülkemizin trakya bölgesi de dahil olmak üzere dünyanın birçok bölgesine yayılmış durumdadır.

Adını anavatanı Yugoslavya’nın Karniol şehrinden alan karniyol arısı en sakin ve en uysal arı ırkı olarak bilinmektedir. Esmer gri kılları sayesinde esmer bir görünüşü olan bu arılar ince yapılı ve uzun dilli olup dil uzunluğu 6.4-6.8 mm uzunluğundadır (Genç 1993).

Karniyol arısı, İtalyan arısına (*A. m. ligustica*) benzetilmektedir fakat boyut olarak daha küçüktür ve dil yapısı daha uzundur. Yüksek verimli bu arı ırkı için henüz herhangi bir ıslah programı uygulanmamıştır. Bu sebeple Karniyol arısı (*Apis mellifera carnica*) kraliçeleri başta Almanya ve Avusturya olmak üzere Avrupa'dan ithal edilmektedir (Smith vd. 1997).

2.3.2. İtalyan arısı (*Apis mellifera ligustica*)

Türkiye'de yaygın olarak kullanılan ekonomik değeri yüksek bal arısı ırklarından bir tanesi de İtalyan arısıdır. Anavatanı İtalya ve Sicilya olan İtalyan arısı; kısa, ılımlı ve nemli kışları, uzun bal akımlı kurak yazları olan Akdeniz iklimi arısıdır. Benzer iklimlerde oldukça yüksek performans göstermektedir.

Sakin yapıda olması, bal veriminin yüksek olması, çok hızlı çoğalması ve oğul verme eğiliminin düşük olmasından dolayı dünya çapında birçok arıcı tarafından tercih edilmektedir.

İtalyan arısı, ince bir karna ve nispeten uzun bir dile sahip olup dil uzunluğu 6.3-6.6 mm civarındadır. Kitin rengi karın altında ve ilk 2-4. segmentlerde daha parlak yapıdadır. Açık renkli ve geniş bantları olan İtalyan arılarının yanı sıra farklı kahve rengi tonlarda ve çizgi şeklinde daha dar bantlı arılara rastlamak da mümkündür (Genç 1993).

2.3.3. Suriye arısı (*Apis mellifera syriaca*)

Suriye arısı, *Apis mellifera syriaca*, doğu Akdeniz bölgesinde bulunan yerli ve en eski bal arısı ırklarından biridir (Zaitoun vd. 2000). Suriye arısı; Suriye, Lübnan, Irak, Ürdün, Filistin ve Güney Türkiye'ye dağılmıştır (Zakour vd. 2012). Suriye arısı aşırı sıcak ve kuru iklimlere iyi uyum sağlama (Zaitoun vd. 2000; Al-Ghzawi vd. 2001), yumurtlamasını polen mevcudiyetine ve nektar akışına adapte etme kabiliyetine sahiptir (Haddad ve Fuchs 2004). Çiftleşme döneminde kısa bir süre de olsa monogami alışkanlığını bırakması ve genç kraliçe arılardan biri çiftleşip kuluçkaya yatıncaya kadar kolonide birkaç düzine genç kraliçe arı bulundurması en belirgin özellikleridir (Buttel-Reepen 1906). Ayrıca, Zaitoun vd. (2001) Suriye arısında, ektoparazitik akar *Varroa destructor*'a karşı önemli bir direnç mekanizması olduğu düşünülen tımar davranışının yoğun olduğunu bildirmişlerdir (Peng vd. 1987).

2.3.4. Anadolu arısı (*Apis mellifera anatoliaca*)

Türkiye'nin Orta Anadolu bölgesinde dağılım gösteren Anadolu arısı (*Apis mellifera anatoliaca*), T. Maa tarafından 1953 yılında arı ırkı olarak tanımlanmış ve taksonomik olarak sınıflandırılmıştır (Güler 2006).

Anadolu'da, aynı taksonomik birimde mevcut olmakla beraber sahil kesimindeki arılar ile Orta Anadolu yaylalarındaki arıların davranış ve fizyolojik özellikleri farklı oldukları (Adam 1983), Türkiye'nin Avrupa kıtasındaki bal arısı popülasyonlarının da tipik Anadolu arısından oldukça farklı özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Ruttner 1988).

Arı ıslahçısı Brother Adam, Anadolu arısını yetiştirildiği bölgenin adıyla tanımlayarak (Genç 1993), Anadolu arısının değerli bir ırk olduğundan ve ülkemizde bu ırkın birçok ekotipinin bulunduğundan söz etmiştir (Doğaroğlu 2004). Anadolu arısı, Türkiye'nin kuzeydoğu ve güneydoğu bölgeleri dışında ülkenin orta bölgelerindeki yerli arı popülasyonunu oluşturmaktadır (Ruttner 1988; Anonim 2016). Orta Anadolu bölgesinin kurak iklimine adapte olan Anadolu arısı (Kaftanoğlu 2001), genellikle bozkır bitki örtüsüne bağımlı olarak varlığını sürdürür (Adam 1964). Kuzeyde Sinop ve Karadeniz Dağları, batıda Ege Bölgesi, güneyde Toros dağları, doğuda Sivas'a kadar olan geniş bölge Anadolu arısının (*Apis mellifera anatoliaca*) yayılma alanıdır (Öder 1987).

Adam (1983), gerçekleştirmiş olduğu 30 yılı aşkın bilimsel gezilerinde Anadolu arılarının ve melezlerinin davranışlarını ve performanslarını inceleyerek, özellikle Anadolu arısının Orta Anadolu'nun yüksek rakımlı bozkırlarının aşırı sert koşullarına çok iyi uyum sağladığını, gıda kaynağı ve enerjiden tasarruf etmek için yetiştirme faaliyetini azaltarak kıtlık zamanlarında hızla tepki verdiğini ve Kuzey Avrupa arı ırklarından daha iyi kışlama yeteneğine sahip olduğunu bildirmiştir.

2.3.5. Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*)

Ülkemizin kuzeydoğusunda görülen Kafkas arı ırkı, 1916 yılında Gorbachev tarafından *A. m. caucasica* olarak adlandırılmış ve bu isim arıcılıkta kabul edilmiştir (Ruttner 1988). Bu arılar özellikle yüksek rakımlarda oldukça uysal ve verimli arılardır. Hayatta kalma ve koloni gelişimi baharda düşük olmakla birlikte, subtropikal ve Akdeniz iklimlerinde bal verimi düşüktür (Akyol ve Kaftanoğlu 2001).

En uzun dile sahip arı ırkı Kafkas ırkı olup dil uzunluğu yaklaşık 7.2 mm'ye kadar çıkmaktadır. Bu özellikleri sayesinde derin tüplü çiçeklerden daha iyi faydalanmaktadır (Genç 1993).

Bal üretiminde verimli olması ve uysal yapısıyla ünlü Kafkas ırkı ikiye ayrılmaktadır. Bunlardan bir tanesi; kökeni Kafkas dağları olan gri renkli Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*), diğeri ise; yine kökeni aynı bölge olup fakat daha alçak bölgelerde görülen sarı tip Kafkas arısıdır. Sarı tip Kafkas arısı bal arısı ırkları içinde en uzun dile sahip olmalarıyla ve fazla oğul yapmamalarıyla tanınırlar.

2.4. Tımar davranışı

Omurgalılarda, tımar davranışı, toplumsal kabulün karşılıklı ifadesi ve ailenin yanı sıra bir grubun farklı üyeleri arasındaki ilişkilerin bir göstergesi olarak tanımlanan çok amaçlı ve kompleks bir davranıştır (Zhukovskaya vd. 2013). Arılarda bu davranışı hem bireysel hem de koloni sağlığını ekto-parazitlerden korumak için gelişmiştir (De Figueiró Santos vd. 2016). Tımar davranışı, gerçekleştirilme şekline göre oto-tımar ve allo-tımar/sosyal tımar olarak iki şekilde adlandırılmaktadır. Oto-tımar, ağız kısımlarının veya ön bacakların hareketi ile kendi kendini temizleme davranışıdır. Allo-tımar ise iki arının ya da birlikte hareket eden birkaç arının birbirini tımarlamasıyla gerçekleşebilmektedir. Allo-tımar sırasında arılar, akarları veya akar parçalarını diğer arıların üzerinden uzaklaştırmak için ağız kısımlarını kullanmaktadırlar (Milum 1947).

Tımar davranışı adeta bir dans gösterisini andırdığı için bu davranışa tımar dansı adı da verilir. Tımar dansı arıların vücudunu sallayıp bükerek, bacaklarıyla hızlı bir şekilde kendi kendini temizlesini tanımlar (Milum 1947). Bu dans geçici olarak tımar davranışı görevinde olan arılarda, sosyal tımar davranışını kışkırtmaktadır ve bu sayede art arda birkaç farklı arıyı temizlemesini sağlamaktadır (Kolmes 1989).

Arıların türlere ve ırklara göre farklı tımar davranışları sergiledikleri yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Afrika ve doğu bal arılarının, Avrupa bal arılarından daha etkili bir tımar davranışı sergilediği birçok çalışmada bildirilmektedir (Aumeier 2001; Guzman-Novoa vd. 1999; Guzman-Novoa vd. 2012; Moretto vd. 1993; Pritchard 2016). ABD'de, Rinderer vd. (2001), Primorsky bölgesinden getirilen arıların (Rusya), Louisiana'daki arılardan daha yoğun tımar davranışı gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu farklılıkların temeli kuşkusuz genetik çeşitliliğe dayanmaktadır. Villa ve Rinderer (2008), tımar davranışının genetik temelini poligenik olduğunu ve bazı alellerin güçlü bir baskınlığa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Tımar davranışından sorumlu genler tam olarak bilinmemekle birlikte, bu davranışın genetik mekanizmasını çözmek için çalışmalar devam etmektedir.

Bal arılarındaki tımar davranışının belirlenmesinde dip tahtası yöntemi, Aumerier yöntemi ve çeşitli yardımcı moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Dip tahtası yöntemi; çoğunlukla kovanın alt temel kısmı olan dip tahtasına yerleştirilen yapışkan bir tuzak yardımıyla, bal arısı kovanlarında Varroa istilasının seviyesinin ve tımar davranışının yoğunluğunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Tımar davranışının yoğun olarak gerçekleştirildiği kovanlarda, dip tahtasına yerleştirilen yapışkan tuzakta diğer kovanlara göre fazla miktarda tahrip edilmiş Varroa gözlenmesi beklenmektedir. Andino ve Hunt (2011), laboratuvar analizlerinde arılar tarafından temizlenen akarların oranı ile kovan altındaki tuzaktaki hasarlı Varroa akarlarının oranı arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Bu yöntem diğer yöntemlerle birlikte kullanılarak kolonilerde tımar davranışının belirlenmesinde daha doğru sonuçlara ulaşmak açısından fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Bal arılarında tımar davranışının belirlenmesine ilişkin moleküler çalışmalar çoğunlukla QTL (Quantitative Trait Locus (Kantitatif özellik lokusu)) analizi ve gen ifadesi çalışmalarından oluşur. Moleküler yöntemler arasında gen ifadesi analizi, sosyal böceklerde davranışsal farklılıkların temellerinin araştırılmasında oldukça önemli bir yöntemdir. Bu çalışmalar, tımar davranışı ile ilgili olabilecek genlerin seçilmesini ve ardından tımar davranışı gösteren bal arılarındaki ifade düzeylerinin araştırılmasını kapsamaktadır.

Aumeier (2000) tarafından geliştirilen yöntem ise laboratuvarda tımar davranışının fenotipik olarak değerlendirilmesinde oldukça tavsiye edilen başarılı bir yöntemdir (Mattos vd. 2014). Laboratuvar koşullarında doğrudan gözlem yapılması, arılardaki belirli davranışları kısa sürede ve sabit ortam koşullarında gözlemlenmesini sağlamıştır. Bu yöntemde işçi arılar karbondioksit ile bayıltılarak bir petri kabına koyulur. Ardından arılar karanlıkta bir inkübatörde 30 °C'de 30 dakika boyunca bekletilerek kendilerine gelmesi sağlanarak şekerli su ile beslenir. Anormal davranışlar sergileyen arılar deneyden çıkarılır. Petri içindeki arıların toraksına birer adet Varroa yerleştirilir ve 3 dakika boyunca izlenir. Tımar davranışı başarısı ise, arıların üzerinden Varroa'yı atmalarına göre değerlendirilmektedir.

2.5. Nöroksin-1, Atakin-3 ve Atlastin genleri

Nöroksin'ler, hücre adezyon molekülleri olarak işlev gören, sinaptik bilginin aktarımında ve korunumunda kilit bir rol oynayan bir protein ailesidir (Craig ve Kang 2007; Dean ve Dresbach 2006). Üç gen; NRXN, NRXN2 ve NRXN3, kendi promotorları tarafından bağımsız olarak düzenlenen ve tümü esas olarak nöronlarda ifade edilen, hem uzun a- nöroksin'ler hem de kesilmiş bir β - nöroksin üretir (Rowen vd. 2002; Tabuchi vd. 2002). İnsanlarda, NRXN1 geninde meydana gelen nokta mutasyonları (Feng vd., 2006; Yan vd., 2008) ve delesyonların (Glessner vd. 2009; Marshall vd, 2008; Morrow vd. 2008; Szatmari vd. 2007) otizm spektrum bozuklukları ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar artmaktadır.

Ataksin-3, sitoplazmada olduğu kadar çekirdekte de bulunmakta ve birçok farklı fonksiyonu olduğu düşünülmektedir (Tait vd. 1998). Bağımsız çalışmalar, ATXN3'ün ubiquitin (Ub) proteazom sistemine (UPS) dahil olduğunu ileri sürmektedir. ATXN3, Ub proteaz özelliği gösterir (Scheel vd. 2003); Ub proteazların substratlarını ayırdığı ve spesifik Ub proteaz inhibitörü Ub-aldehit'i bağladığı gösterilmiştir (Burnett vd. 2003). İnsanlarda, bu proteindeki herhangi bir yapısal bozukluğun çeşitli nörodejeneratif hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (Kawaguchi vd. 1994).

Atlastinler, GBP (Guanilat Bağlanma Proteinleri) ailesi ile en yakından ilgili olan bir dinamin süper ailesidir. Atlastin proteini, endoplazmik retikulum içine gömülüdür (ER) ve granüllü ER gelişimi için kritik öneme sahiptir (Arechavaleta-Velasco vd. 2012). İnsanlarda atlastin genindeki mutasyonlar, kalıtsal spastik parapleji rahatsızlığı açısından yaygın bir risk faktörüdür (Arechavaleta-Velasco vd. 2012). Tanımlanan 28 missense atlastin mutasyonunun indüklediği hastalıklarda katlanma ve dimerizasyon eksiklikleri görülmektedir (Byrnes ve Sonderrmann 2011). Bu mutantların bazıları için, hastalığa yol açan moleküler bozukluklar hala belirsizdir.

2.6. *Varroa destructor*

Varroa destructor'ın asıl konukçusu Doğu (Asya) bal arısı *Apis cerena*'dır ve *Apis mellifera*'da ilk kez 1958 yılında tanımlanmıştır (Mikawa 1986). *A. mellifera*'daki Varroosis'in semptomlarından sorumlu olan akar, 2000 yılına kadar *Varroa jacobsoni* olarak kabul edilmiştir ancak daha sonra *V. destructor* türüne ait olduğu anlaşılmıştır (Anderson ve Trueman 2000). Bundan dolayı, geçtiğimiz yüzyılda yapılan tüm *Varroa* makalelerinde *V. jacobsoni*'ye atıfta bulunulmuş olsa da neredeyse her durumda *V. destructor* araştırma konusu olmuştur (Rosenkranz vd. 2010). Akar, *Apis mellifera*'da tanımlandıktan sonra, arıların insanlar tarafından kontrolsüz bir şekilde coğrafi bölgeler arasında taşınmasından dolayı, sırasıyla; Avrupa'ya (1967), Kuzey Afrika'ya (1975), Güney Amerika'ya (1971), ve ABD'ye (1987) yayılmasına neden olmuştur (De Jong vd. 1984; Needham 1988; Matheson 1995).

Ergin dişi Varro'lar koyu kırmızı-kahverengi renkte, kısa ve güçlü bacak yapısına sahiptir (Şekil 2.2). Dişiler, yaklaşık olarak 1.1-1.2 mm uzunluğunda ve 1.5-1.7 mm genişliğindedir. Dişilerden daha küçük yapıda olan erkek Varro'lar yaklaşık 0.8-1.0 mm uzunluğundadır ve vücut rengi soluk kahverengi ve sarı tonlarındadır. Vücut gnathosoma ve idiosoma delinen iki ana kısımdan oluşur. Gnathosoma iki adet duyu pedipalp ve bir çift keliser (Chelicerae) içerir. Dişiler, ağızlarında bulunun eğri uçlu ve

keskin keliserleri ileri geri hareket ettirebilir ve keliserlerin ön kısmında bulunan iğneler yardımıyla arının vücut segmentleri arasında rahatlıkla gezinebilmektedir. Pedipalpus, kütikulanın delinmesinde ve açılan delikten hemolenfin emilmesinde rol oynamaktadır. Erkeklerdeki keliserlerin ön kısmı da hareket edebilmektedir fakat bu kısım dişilerin genital sistemine sperm transferini sağlayan spermodaktil (spermatodactyl) denen bir yapıya evrilmiştir. İdiosoma ise gnathosomanın arkasında bulunur ve 4 çift bacak içermektedir.

Delici-emici ağız yapısına sahip dişi *Varroa destructor*, tüm yaşam evresi boyunca, gelişmekte olan veya erişkin arıların kütikulasını delerek birinci olarak yağ dokusundan ve ikincil olarak hemolenflerinden beslenmektedir (Ramsey vd. 2019; Oldroyd 1999). Dişi *Varroa* konukçu pupayı, özellikle dron larvalarında, yalnızca ikinci abdominal sternitten delmektedir (Kanbar ve Engels 2005). Akarın ve yavrularının aynı fistülde tekrar tekrar beslenmesi o bölgenin iyileşmesini önler ve böylece sürekli bir hemolenf kaynağı sağlanmış olur (Gelbe vd. 1987; Donze ve Guerin 1994).



a)

b)

Şekil 2.2. *Varroa destructor*'ın görünümü; **a)** *Varroa destructor*, **b)** Üzerinde *Varroa destructor* bulunan bir bal arısı (Anonim 2019b)

Döllenmiş dişi akarlar, arı larvası bulunan bir hücreyi istila eder, hücre kapanmadan önce arı larvaları tarafından salınan uçucu maddeler tarafından hücreye çekilmektedir (Le Conte vd. 1989) ve dron kuluçka hücrelerini, işçi hücrelerine tercih etmektedir (Fuchs 1990). Akar, hücre kapatılmaya kadar kendini arı sütünde gizlemektedir (Ifantidis 1988). Hücre kapatıldıktan sonra, larvaların hemolenfleri ile beslenmekte ve bulunduğu hücreye yumurtalarını bırakmaktadır. Bırakılan ilk yumurta bir erkek olarak gelişmektedir, daha sonraki tüm yumurtalar dişi akarlar olarak gelişmektedir (Shimanuki vd. 1992). Genel olarak üreme, yetişkin arının ortaya çıkmasından önce, iki-dört dişinin erkek kardeşleri tarafından döllenmesinden ibaret olmaktadır (Şekil 2.3). Daha sonra ağız yapısı beslenmeye uygun olmayan erkek yavru ölmektedir, anne akar ve çiftleşen kızları ise genç arı ortaya çıktığında hücreyi terk etmektedir. Yetişkin akarlar, yetişkin arıların yağ dokusu ve hemolenfleriyle beslenmekte ve yaklaşık 2-3 aylık bir ömre sahip olmaktadır (Fries vd. 1994).



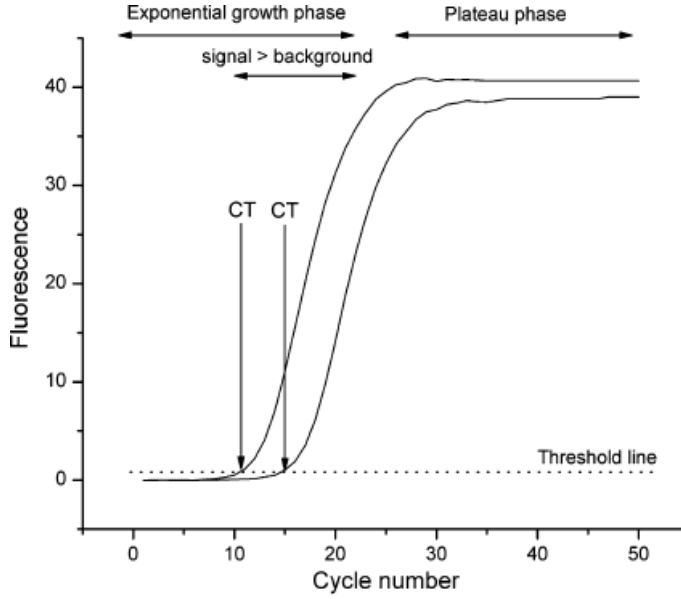
Şekil 2.3. *Varroa destructor*'ın kuluçka hücrelerini istilası (Anonim 2019c)

2.7. PCR (Quantitative PCR (qPCR), Reverse Transcription PCR (RT-PCR))

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Henry A. Erlich, Kary Mullis, Randall K. Saiki tarafından 1986 yılında; belirli DNA parçalarının, sıcaklık döngüsü boyunca *in vitro* olarak çoğaltılması için geliştirilmiştir. Hedef DNA'nın çoğaltılması, PCR cihazında, birtakım kimyasallar, primerler ve enzimler kullanılarak tüp içinde gerçekleşmektedir.

PCR reaksiyonu kısaca 3 aşamadan oluşmaktadır; bu aşamalar sırasıyla, iki DNA zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (denaturation), primerlerin hedef DNA molekülüne bağlanması (annealing) ve polimeraz enzimi yardımıyla DNA zincirinin uzaması (extention)'dir.

Moleküler genetik laboratuvarlarında rutin bir teknik haline gelen PCR'nin ışığında daha yeni bir teknik olan qPCR geliştirilmiştir. 1990'lı yılların ortalarında piyasaya sürülen yüksek duyarlılığa sahip bu teknik, standart PCR'nin birçok sınırlamasını ortadan kaldırmıştır. Bunun yanında, her bir DNA amplifikasyon döngüsünün floresan ışımaya yapan boyalar (SYBR Green) ya da diziyeye özgü dizayn edilmiş prob adı verilen sentetik oligonükleotidler (TaqMan prob vb.) kullanılmasıyla bilgisayar ekranında eş zamanlı olarak gözlenmesini sağlar ve çapraz kontaminasyon riskini azaltır. Prob yeni ürüne bağlanır ve ürünün son miktarını yansıtan bir floresan sinyali üretir. İlk devirlerde sinyal zayıf ve ayırt edilemez. PCR ürünü biriktikçe, sinyal miktarı katlanarak artar (Şekil 2.4).



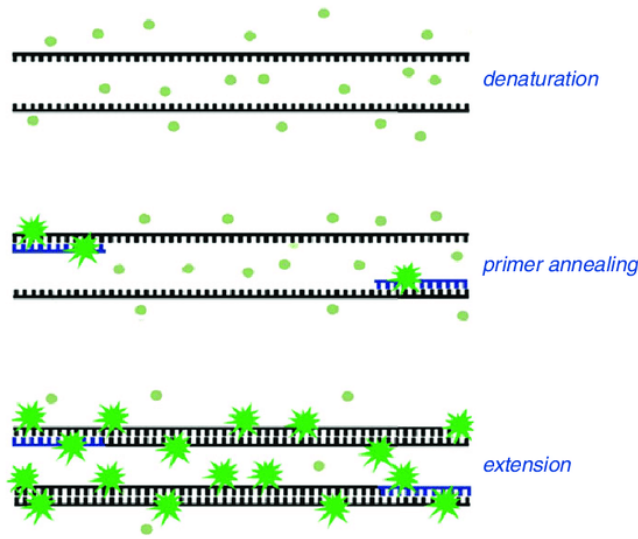
Şekil 2.4. qPCR amplifikasyonlarında kantitasyon döngüsü (quantification cycle, C_q)

qPCR yöntemi; mRNA seviyesinin sayısal olarak tespiti, tek nokta mutasyonlarını, DNA hasarını ve patojenleri tespit edebilme, metilasyon tespiti, SNP (Tek nükleotit polimorfizmi) analizleri ve kromozom bozukluklarının belirlenmesi gibi amaçlar için kullanılmaktadır (Logan ve Edwards 2009).

qPCR teknolojisi, gen ifadesindeki değişikliklerin hızlı ve kolay bir şekilde değerlendirilmesinde oldukça başarılıdır. Gen ifadesinin ölçümü, izole edilen RNA moleküllerinin, retrovirüslerden elde edilen ters transkriptaz enzimi yardımıyla komplementer DNA (cDNA)'ya çevrilmesiyle mümkün olur (Santagati vd. 1997). Bu yöntemde Ters Transkripsiyon Kantitatif PCR (RT-qPCR) da denmektedir. Ayrıca ters transkripsiyon işleminin gerçekleştirilmesi durumuna göre de 2 farklı şekilde adlandırılmaktadır; PCR işlemi ile ters transkripsiyon işlemi aynı tüp içinde gerçekleştirilirse Tek Adımlı RT-qPCR, ters transkripsiyon ve PCR reaksiyonu ayrı tüplerde gerçekleşiyorsa bu işlem iki adımlı RT-qPCR olarak adlandırılmaktadır (Zhao ve Wurst 2001).

Bu tez çalışmasında iki adımlı RT-qPCR yöntemi tercih edilmiştir. Araştırma konusu genlerin ifade miktarlarının belirlenmesinde SYBR Green floresan boya kullanılmıştır.

SYBR Green, dsDNA'nın minör oluşuna bağlanan sekans spesifik olmayan bir floresan boyadır (Arya vd. 2005). SYBR Green floresan boyası DNA'ya bağlanmadığı zaman daha zayıf ışımaya yapmaktadır, minör oluşa bağlandığı zaman daha güçlü ışımaya yapmaktadır (Şekil 2.5). Böylece, reaksiyon tüpünde bulunan dsDNA miktarı arttıkça SYBR Green daha fazla miktarda bağlanmaktadır ve floresan sinyalinin daha fazla ışımaya yapmasına yol açmaktadır (Tajadini vd. 2014).



Şekil 2.5. SYBR Green floresan boyası ve dsDNA'ya bağlanma şekli

2.8. Bal Arılarında Tımar Davranışı ile İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar

Bak ve Wilde (2015), bal arıları tarafından yapılan oto-tımar işleminin Varroa akarlarını yok etmede ne kadar etkili olduğunu araştırmak için bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca tımar davranışı bakımından; Karniyol arısını (*Apis mellifera carnica*) temsilen Kortowka ve Dobra hattı, Kafkas arısını (*Apis mellifera caucasia*) temsilen Woznica hattı, Siyah arıyı (*Apis mellifera mellifera*) temsilen Augustowska hattı ve *Apis mellifera capensis* x *Apis mellifera carnica* melezi karşılaştırılmıştır. Güçlü motor aktivitesi ile kendini gösteren en yoğun reaksiyon, *A. m. mellifera* işçi arılarında olmuştur. Bu gruptaki işçi arıların %98 kadarı akarları temizleme girişiminde bulunmuştur. Kalan gruplarda ise, Kafkas arıları için %86, Dobra hattında, Karniyol arıları için %89,3 oranında bir yanıt gözlenmiştir. Temizlenen akarların en yüksek yüzdesi Kafkas arılarında (%11), en düşük yüzdesi karniyol arılarının Kortowka hattında (%1,5) not edilmiştir.

Guzman-Novoa vd. (2012), arıların oto-tımar davranışını test etmek için dirençli ve dirençsiz kolonilerden aldıkları örneklerin toraklarına tek bir akar yerleştirerek 3 dakika boyunca gözlemlemiştir. Sadece bir veya iki bacağı kullanarak yavaş darbeler yapan arılar “düşük tımar” grubu olarak değerlendirilirken, genellikle iki bacak ve fazlasını kullanarak daha güçlü tımar gerçekleştiren arılar “yoğun tımar” grubu olarak değerlendirilmiştir. Varroa'ya karşı dirençli olduğu varsayılan arıların 4 kat daha fazla tımar davranışı gösterdikleri ve vücutlarından, düşük tımar davranışı gösteren gruptan 7 kat daha fazla akar çıkardığını gözlemlemiştir.

Fries vd. (1996), *Apis cerana cerana* Fabr ve *Apis mellifera ligustica* Spin kolonilerine akarlar ilave ederek arıların tımar davranışını, kovandaki Varroa mortalitesi ve hasarını incelemiştir. Sonuç olarak *Apis cerana*'da tımar davranışı gözlemlemiştir fakat daha önceki çalışmalarda kaydedilenlere göre bu davranışın daha az etkili olabileceğini belirtmişlerdir. *Apis mellifera* ile karşılaştırıldığında ise

Apis cerana'nın hem akarları gidermede hem de akar hasarında daha etkili olduğunu söylemişlerdir.

Büchler vd. (1992), *Apis cerana*, *Apis mellifera* ve *Apis dorsata*'nın tımar davranışları ve parazitik akarlar *Varroa jacobsoni* ve *Tropilaelaps clareae* üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *A. mellifera* için çoğu durumda oto-tımar davranışı gözlemlendiğini ancak *A. cerana*'ya kıyasla gecikme olduğunu ve allo-tımarın nadiren görüldüğünü bildirmişlerdir. 5 dakika içinde, akarların %48'inin (n = 25) yok edildiğini, fakat akarların hiçbirinin bal arılarının ağızlarıyla yakalanmadığını bildirmişlerdir.

Aumeier (2001), Afrika ve Karniyol bal arılarında *Varroa destructor*'a karşı tımar davranışı etkinliğini araştırmıştır. Toplam 226 testte, Afrika bal arılarının, Karniyol bal arılarından daha hızlı ve daha yoğun bir şekilde tımar davranışı gösterdiğini ancak akarların arı türlerine göre uzaklaştırılmasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını belirtmiştir.

Stevanovic vd. (2012), şeker tozunun bal arısı tımar davranışı üzerindeki uyarıcı etkisini araştırmışlardır. Tımar davranışı potansiyelinin değerlendirilmesi için kriter olarak kovanların dip tahtalarındaki toplam hasarlı akarların sayısı belirlenmiştir. Her şeker muamelesi yapılan grupta hasarlı akar yüzdesi hem negatif kontrolde hem de muamele öncesi değerlerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Currie ve Tahmasbi (2008), *Varroa*'ya karşı yoğun ve düşük tımar davranışı gösteren işçi bal arısı gruplarında sıcaklık ve nemin tımar davranışına etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak yoğun ve düşük tımar davranışı gösteren grupların çevre şartlarından göreceli olarak etkilendiğini göstermişlerdir. Hatlar arasındaki tımar davranışı farklılıkları 25 °C'de en fazla olduğunu ve düşük nem seviyelerinde yüksek nem seviyesine göre biraz daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ancak sıcaklık 10°C'deyken akar ölüm oranları arasındaki farkın benzer olduğunu söylemişlerdir.

Bazı araştırmalar göstermiştir ki, *Varroa* bulaşmış kolonilerde bağışıklıkla (Yang ve Cox-Foster 2005; Navajas vd. 2008; Hamiduzzaman vd. 2012) ve davranışlarla (Le Conte vd. 2012) ilgili genlerin ifadelerinde değişiklikler olmaktadır. Bununla birlikte, yoğun tımar davranışı sergileyen arılarda gen ifadesi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır (Arechavaleta-Velasco vd. 2012; Hamiduzzaman vd. 2017). Tımar davranışının genetik temelleri ve doğrudan sorumlu genler tam olarak bilinmemektedir. Ancak, yapılan bazı çalışmalar tımar davranışıyla yakından ilişkili aday genler tespit etmiş ve bu genlerin ıslah çalışmalarında moleküler marker olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Hamiduzzaman vd. 2017).

Bal arılarının *Varroa* akarına karşı davranışsal direnç mekanizmalarında rol oynayabilecek genler hakkında daha fazla bilgi edinmek için, bu özellikleri ifade eden genlerin mRNA miktarındaki değişimler ilk defa Hamiduzzaman vd. (2017) tarafından kantitatif polimeraz zincir tepkimesiyle (qPCR) incelenmiştir.

Bağışıklık ile ilişkili hymenoptaecin (Hym), hücre proliferasyon regülatörü, poli U bağlanma faktörü kd 68 (pUf68), vitellogenin (Vg), otofajiye bağlı FYVE proteini, mavi peynir (BlCh) geni *Varroa*ya karşı direnç mekanizmalarını kontrol eden aday

genler olarak gösterilmiştir (Yang ve Cox-Foster 2005; Navajas vd. 2008; Dainat vd. 2012; Hamiduzzaman vd. 2012, 2017).

Arechavaleta-Velasco vd. (2012), bal arılarında Varroa'ya karşı tımar davranışına yönelik aday genleri tanımlamak için QTL haritalama çalışması yapmışlardır. Anlamlı buldukları kromozom 5 üzerinde, potansiyel nörogelişimsel ve davranışsal etkileri olan Atlastin, Ataksin-3 ve Nöroksin-1 dahil sadece 27 gen bulunmaktadır. Nöral gen Nöroksin-1'in (AmNrx1) ifadesi, esas olarak, merkezi sinir sisteminde ve beynin mantar gövdesinde ortaya çıkar ki bu, arıda yüksek dereceli işleme ve öğrenme için önemli bir organdır (Heisenberg 1998; Szyska vd. 2008). Ancak bu gen sadece bir çalışmada Hamiduzzaman vd. (2017), tımar davranışı bakımından ele alınmıştır.

Mustard vd. (2010), Bal arılarında yürüme, hareketsiz kalma, başaşağı durma, tımar, uçuş ve fan gibi davranışların düzenlenmesinde dopaminin rolünü araştırmışlardır. Genel olarak, dopamin seviyesindeki artışlar yürüyüşün azalmasına ancak fan ve tımar gibi diğer aktif davranışlarda artışa neden olduğu bildirilmiştir. Dopamin sinyalini bloke etmenin, yürüme ve uçuş gibi aktif davranışlarda daha az zaman harcanmasına ve durma veya tımar davranışında artışa neden olduğu bildirilmiştir.

Fussnecker vd. (2006), biyojenik aminlerin bal arısı motor davranışlarına etkisini araştırmak için işçi bal arılarına farklı konsantrasyonlarda octopamine, tyramine, mianserin ve yohimbine enjekte etmişlerdir. Belirli bir süre boyunca arıları izleyerek bu muamelelerin yürüme, tımar, fan (kanat çırpma) ve uçuş gibi davranışlara etkilerini gözlemlemişlerdir. Tımar davranışının, en azından bir dereceye kadar, dört biyojenik amin muamelesinin herhangi birinde arttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, Yellman vd. (1997), Drosophila'nın sinir kordonuna oktopamin, tiramin veya dopamin uygulamasının bacaklarıyla gösterdiği tımar davranışının artmasına yol açtığını gözlemlemişlerdir.

Kirrane vd. (2018), Varroa'ya karşı duyarlı hijyenik Rus bal arılarında, bireysel tımar davranışını 3 farklı grup (Yüksek hijyenik, orta hijyenik ve düşük hijyenik) kullanarak ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonucunda yüksek hijyenik bal arılarında daha fazla tımar davranışını gözlemlendiğini bildirmişler ve Rus bal arılarında hijyenik davranış ile tımar davranışı arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bal arısı örneklerinin temini:

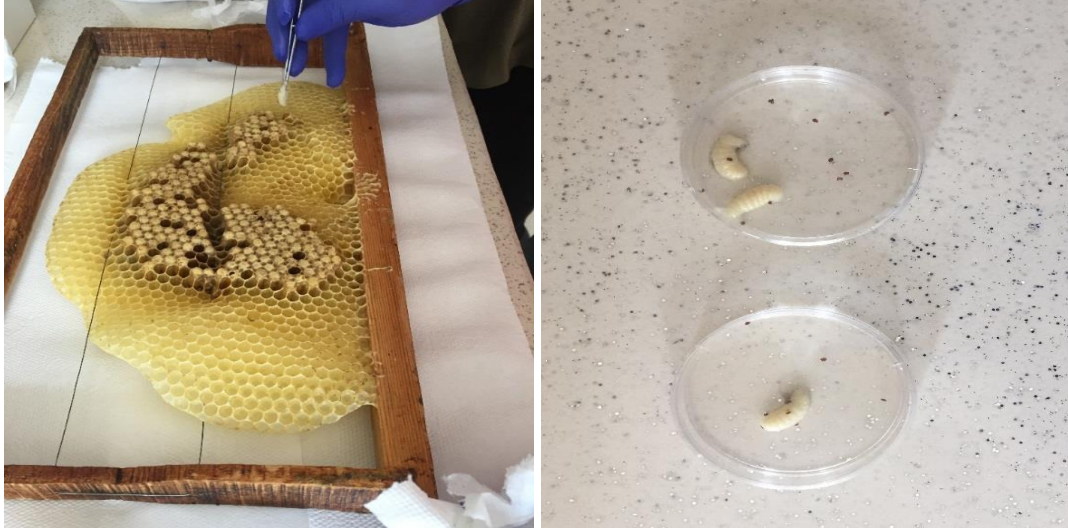
Türkiye’de yaygın kullanılan bal arısı ırklarından; Karniyol arısı (*A.m. carnica*), İtalyan arısı (*A.m. ligustica*), Suriye arısı (*A.m. syriaca*), Anadolu arısı (*A.m. anatoliaca*) ve Kafkas arısı (*A.m. caucasica*) olmak üzere 5 bal arısı ırkından 30’ar işçi arı ticari olarak satın alınmıştır. Arı örnekleri seçilirken (Şekil 3.1) üretici bilgilerine dayanarak orijinini en iyi şekilde temsil etme niteliğine dikkat edilmiştir. Anadolu ırkını temsilen Muğla yöresinden, Kafkas arısını temsilen Artvin yöresinden, Karniyol ırkını temsilen Kırıkkale yöresinden, Suriye ve İtalyan ırkını temsilen Hatay yöresinden işçi arı örnekleri alınmıştır. İşçi arılar içerisinde arı keki bulunan tel kafesler içerisinde nakledilmiştir. Ayrıca, uzak illerden getirilen işçi arıların strese girmesini önlemek için yanlarına bir adet ana arı konulmuştur. Alınan arılar aynı gün sıcaklığı 30°C’ye ayarlanmış laboratuvar ortamında muhafaza edilmiştir. Arılara içerisinde 10 ml %50 sükröz içeren şeker şurubu verilmiştir. Bir geceyi bu şekilde geçiren arıların streslerini atmaları sağlanmıştır. Ertesi gün her bir arı türünü temsilen fenotipik görüntüsü en iyi olan 20 işçi arı seçilmiştir ve arıların petri kaplarında Varroa’ya karşı tımar davranışı testleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Deneme materyali oluşturulurken örnek alınan arılıklardan bazıları

Varroa destructor örneklerinin temini:

Varroa örnekleri Antalya yöresinde arı yetiştiricileri elinde bulunan kolonilerdeki erkek arı peteklerinden elde edilmiştir. Laboratuvar ortamına getirilen peteklerde bulunan gözler pens yardımıyla açılarak *Varroa*'lar tek tek toplanmıştır ve testte kullanılmaya kadar petri kaplarında beyaz-göz fazındaki erkek arı pupalarıyla beslenmiştir (Şekil 3.2). *Varroa*'lar petri kapları içerisinde 28° C'de ve %75 nispi nem (RH) ayarlı inkübatörde muhafaza edilmiştir (Huang vd. 2017).



Şekil 3.2. Petek gözlerinden *Varroa*'ların toplanması ve petri kaplarında muhafazası

3.2. Metot

Tez kapsamında uygulanan metotlar alt başlıklar halinde aşağıda sıralanmıştır.

3.2.1. Tımar davranışının test edilmesi ve analizi

Tımar davranış testleri petri kabı içerisinde her bir arı ırkı için sırayla yapılmıştır. Petri kaplarında her bir arı için bireysel test gerçekleştirilmiştir. Petri kapları (2r=9 cm) ıslak kâğıt parçalarıyla nemlendirilmiştir. Petri kaplarının bulunduğu ortam ise 30 °C'de sabit tutulmuştur. Bal arıları kovan dışında kaldıklarından dolayı testlerin zaman kaybedilmeden yapılmasına dikkat edilmiştir. Arılarda strese dayalı sorunların yaşanmasını önlemek amacıyla aynı ırkın işçi arıları aynı gün içerisinde davranışsal olarak test edilmiştir. Bunu başarabilmek için testlerde kullanılan petri kabı üzerine birer adet aksiyon kamera düzeneği yerleştirilmiştir ve tımar davranışları kayıt altına alınmıştır. Tımar davranışı, bireysel olarak; Aumeier (2000), tarafından tarif edilen yöntemin uyarlanmış bir versiyonu laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tımar davranışı test edilirken her seferinde petri kaplarına birer adet işçi arı konulmuştur. Daha sonra petri kaplarında bulunan işçi arıların torakları üzerine birer adet *Varroa* yerleştirilmiştir. *Varroa*'lar arıların üzerine yerleştirildiği andan itibaren 3 dakika boyunca kronometre tutularak kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.3). Petri kabından alınan arı örnekleri hemen numaralı, steril ve içerisinde RNAlater solüsyonu bulunan 1,5 ml'lik tüplere konularak -80°C'de depolanmıştır.

Tımar testleri tamamlandıktan sonra video kayıtları bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Video kayıtları incelenerek her bir arının tımar yapıp yapmadığı ve yapıyorsa ne kadar süre zarfında tımar yaptığı belirlenmiştir. Arıların tımar davranışı göstermelerine göre “Tımar Var” ve “Tımar Yok” şeklinde gruplandırılmıştır. qPCR çalışmaları sonucunda, ilgili genlerin ifade miktarlarına göre bireyler arasında ve ırklar arasında tımar davranışı bakımından farklılık olup olmadığı istatistiksel olarak test edilmiştir.



Şekil 3.3. Tımar davranışının *in vitro* olarak test edilmesi

3.2.2. Total RNA Ekstraksiyonu

Tez konusu olan tımar davranışıyla ilgili olduğu bildirilen 3 aday genin (Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin) test edilen işçi arılardaki ifade miktarlarını belirlemek için SYBR Green floresan boya ve özgün primerler kullanılarak qPCR çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla önce tımar davranış testine tutulan herbir işçi arıdan total RNA ekstraksiyonu, daha sonra cDNA sentezi ve son olarak İki adımda gerçekleştirilen kantitasyon çalışmaları için önce -80°C dondurucuda depolanan örneklerden total RNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Bu amaçla, bal arıları derin dondurucudan alınır alınmaz üzerlerine soğuk azot dökülerek steril çubuklarla ezilip total RNA ekstraksiyonuna geçilmiştir. RNA örnekleri qPCR çalışmalarında kullanılıncaya kadar -80°C’de saklanmıştır.

Total RNA ekstraksiyonu aşamaları:

Torakslardan RNA ekstraksiyonu Norgen Total RNA Ekstraksiyon Kit protokolüne göre yapılmıştır:

- 1) RNA Later içinden alınan arı örneklerinin her biri 2 ml steril tüplere taşınmıştır.
- 2) Her bir örneğe sıvı azot ilave edilerek steril plastik çubuklar yardımıyla homojenize edilmiştir. Her bir örnek için farklı plastik çubuk kullanılmıştır.
- 3) Doku örneğine 600 µl tampon RL eklenmiştir ve numune homojenize olana kadar 5-10 kez bir şırıngaya bağlı 25 ayar iğneden geçirilmiştir.
- 4) Pipet yardımıyla lizat RNaz'sız bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılarak herhangi bir hücre kalıntısını uzaklaştırmak için 2 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant başka bir RNaz içermeyen mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
- 5) Toplanan lizat hacmine eşit miktarda %70 etanol eklenmiştir.
- 6) Elde edilen etanol lizat karışımından 600 µl kolona aktarılıp ve $\geq 3.500 \times g$ (~ 6.000 RPM) 'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- 7) Süzüntü atılarak kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 8) Kolona 400 µl yıkama işlemi için solüsyon A uygulanmıştır ve 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- 9) Süzüntü atılarak kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 10) Kolona 400 µl yıkama işlemi için solüsyon A uygulanmıştır ve 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- 11) Süzüntü atılarak kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 12) Tekrar 400 µl yıkama solüsyonu A eklenerek 1 dakika santrifüj edilmiştir ve kolon üçüncü kez yıkanmıştır.
- 13) Süzüntü atılarak kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 14) Kolonun iyice kuruması için 2 dakika santrifüj edilmiştir ve tüp atılmıştır.
- 15) Kolon kit ile verilen 1,7 mL elüsyon tüpüne yerleştirilmiştir.
- 16) Kolona 50 µl elüsyon solüsyonu A eklenmiştir.
- 17) 200 x g'de (~ 2.000 RPM) 2 dakika ve ardından 14.000 x g'de (~ 14.000 RPM) 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- 18) Elde edilen elüt hacmi not edilmiştir ve RNA RT-PCR işlemine kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.2.3. cDNA eldesi

Örneklerden ekstrakte edilen RNA'lar qPCR cihazında kullanılmak üzere thermal cycler cihazında reverse transkripsiyon işlemiyle cDNA'ya çevrilmiştir.

- 1) Her bir birey için hazırlanan pcr tüplerine sırasıyla 9 µl su ve 4 µl reaction buffer eklenmiştir.
- 2) Su ve reaction buffer bulunan tüplere eşit miktarlarda 5 µl RNA eklenmiştir. RNA eklendikten sonra tüpler 5 dakika boyunca buz üzerinde bekletilmiştir.
- 3) Buz üzerinden alınan tüplere 2'şer µl enzim eklenerek reverse transkripsiyon işlemi için thermal cycler cihazına koyulmuştur. Cihaz protokolü Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. cDNA sentezinde kullanılan PCR sıcaklık döngü protokolü

42°C 5 dk	1 Döngü
85°C 5 dk	
65°C 5 dk	
4°C 60 dk	

3.2.4. Primerlerin seyreltilmesi

- 1) qPCR'da kullanılacak primerlerin seyreltilmesi gerekmektedir. Bu amaçla öncelikle, kullanılacak primerler +4°C den çıkarılarak 10 saniye santrifüj edilmiştir.
- 2) 4 farklı gen için forward ve reverse olmak üzere toplamda 8 adet primer Data Sheet'te belirtilen miktarlara göre saf su eklenerek seyreltilmiştir.
- 3) Seyreltilen primerler vortekslenip ardından santrifüj edilmiştir.
- 4) 10 µM derişim için ana stoktan 10 µl alınarak 90 µl saf su eklenmiştir. Ardından vortekslenip santrifüj edildikten sonra -20°C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılan primerlerin sekansları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Bal arılarında tımar davranışı ile ilgili aday genler ve primerleri

Gen Sembolü	Gen Adı	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')	Gen Bankası (NCBI) ID
NRX-1	Nöroksin-1	TCTGCACATA AAGCC TGTTTC	ACTCCATTTT CACCCCCTC	LOC724217
ATXN-3	Ataksin-3	TGCACTTTTA CAAGGTCCG	CCCCAAACTT TTAATGCACT AC	LOC410162
ATL	Atlastin	GGCATA CATT AGATA CAGCGG	GGGACACAA AGGGAATGA AC	LOC550886
Act	β -aktin	GACGAAGCC CAATCAAAG AG	GGCGACATAC ATAGCAGGA G	AB023025

3.2.5. qPCR mix hazırlığı

- 1) Bal arısı örneklerinde ifadesi ölçülecek olan 4 gen için ayrı ayrı hazırlanmış olan primerler, ifadesi ölçülecek olan genlere göre değişmekle birlikte diğer kimyasallar 500 μ l'lik mikrosantrifüj tüplerine aynı oranda eklenmiştir.
- 2) Tüplere öncelikle saf su eklenip sırasıyla; reaction buffer, primer, enzyme, su koyularak, her kimyasal eklendiğinde pipetaj yapıldıktan sonra vortex cihazında karıştırılmıştır.
- 3) qPCR için son solüsyon hazır olduğunda PCR pleyti buz üzerine alınmış ve A1 kuyucuğundan başlanarak yukarıdan aşağıya doğru kuyucuklara hazırlanan mixten 7,5'ar μ l koyulmuştur.
- 4) Kuyucuklara mixler koyulduktan sonra üzerlerine 2,5 μ l cDNA örnekleri eklenmiştir. PCR pleytinin en sağında yer alan A12 kuyucuğuna gelinerek negatif kontrol için yukarıdan aşağıya 4 gen için qPCR mixi eklenmiştir (cDNA eklenmemiştir). Kullanılan kimyasallar ve miktarları aşağıda Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. qPCR mix hazırlığında kullanılan kimyasallar.

Kimyasallar	1X
H ₂ O (PCR-grade)	1,5 µl
SYBR Green Master	5 µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
Toplam	7,5 µl
Örnek cDNA	2,5 µl
Toplam Hacim	10 µl

3.2.6. qPCR cihaz protokolü

Total RNA izolasyonları yapılan bal arısı örneklerinde 4 farklı genin ifade seviyelerinin araştırılması için Roche Lightcycler 96 cihazı kullanılmıştır. qPCR cihaz protokolü başlıca 4 kısımdan oluşmaktadır: Denatürasyon, amplifikasyon, melting (erime) aşaması ve son aşama soğutma işleminin gerçekleştirildiği cooling aşamasıdır. Cihaz uygulamaları ayrıntılı olarak aşağıda Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. qPCR cihaz protokolü

Denaturasyon		Amplifikasyon			Erime Eğrisi			Soğutma
Parametre								
Analiz Modu	Yok	Kantifikasyon Modu			Erime Eğrisi Modu			Yok
Döngü	1	45			1			1
Hedef [°C]	95	95	60	72	95	60	95	40
Süre	10dk	10sn	10sn	15sn	10sn	30sn	00	30sn
Elde Etme Modu	Yok	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Sürekli	Yok

3.2.7. İstatistiksel analizler

Beş arı ırkına ait bal arısı örnekleri için gerçekleştirilen qPCR amplifikasyon sonuçları değerlendirilirken β -aktin (Housekeeping)'e göre çizilen standart eğri dikkate alınmıştır. Hesaplanan gen amplifikasyonları istatistiksel olarak karşılaştırılmadan önce tüm verilerde Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk (normal dağılım testi) testi yapılmıştır. Tımar davranışı ile ilgili aday genlerin qPCR kantitasyon miktarlarının hesaplanmasında çalışılan örneklerin referans ve hedef gen C_T değerlerinin farkını gösteren Hedef Gen Oran metodu kullanılmıştır. Burada, C_T her bir gen için qPCR'daki kantitasyon eşik değerini göstermektedir.

$$\left\{ 1 - \frac{2^{[C_T(\text{aktin}) - C_T(\text{hedef gen})]}}{2^{[C_T(\text{aktin}) - C_T(\text{GFP geni})]}} \right\}$$

Tımar davranışı bakımından “VAR” ve “YOK” olarak kodlanan bireylerin sayıları ırka bağlı olarak değişip değişmediği ve C_t ve C_q değerleri bakımından arı ırkları arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek için Ki-Kare testi yapılmıştır. Arı ırklarını C_t ve C_q değerleri bakımından karşılaştırmak için Tek Yönlü Normal ANOM analizi kullanılmıştır (MINITAB 18).

Normal dağılım göstermeyen gen amplifikasyon verileri bakımından arı ırkları arasındaki farklılıklar ANOVA (Analysis of Variance)'nın non-parametrik alternatifi olan Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır (SPSS v.24). Tımar davranışı gösteren ve göstermeyen bireyler arasında tezde çalışılan 3 aday genin ifade miktarları arasındaki farklılıklar T-testi ile analiz edilmiştir (SPSS v.24).

4. BULGULAR

4.1. Fenotipik Analiz Bulguları

Yapılan davranış testlerinin sonucunda tımar davranışı durumlarına göre bal arıları Tımar Yok “TY” ve Tımar Var “TV” olarak 2 gruba ayrılmıştır. Arı ırklarında saptanan tımar davranış durumları Çizelge 4.1’de verilmiştir. İtalyan bal arısı ırkında 20 işçi arıdan 13 birey tımar davranışı göstererek en fazla tımar davranışı gösteren ırk olmuştur. Kafkas bal arısı ırkında ise sadece 5 birey tımar davranışı göstermiştir.

Çizelge 4.1. Arı ırklarında saptanan tımar davranışı durumları

		Arı Irkları					Toplam
		Karniyol	İtalyan	Suriye	Anadolu	Kafkas	
Tımar Davranışı	Tımar Yok	13	7	9	9	15	53
	Tımar Var	7	13	11	11	5	47
Toplam		20	20	20	20	20	100

Tımar davranışı göstermenin arı ırklarına bağlı olup olmadığı ki-kare testi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda ırklar arasında tımar davranışı gösteren ve göstermeyen birey sayısı bakımından bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir ($p:0,07>0,05$).

Çizelge 4.2. Tımar davranışı göstermenin arı ırkına bağlı olup olmadığının belirlenmesi için yapılan ki-kare testi sonucu

	Değer	sd	Asimptotik Önem (2- tarafli)
Pearson Ki-Square	8,671	4	,070
Olabilirlik Oranı	8,929	4	,063
Doğrusal-Doğrusal İlişki	,715	1	,398
McNemar-Bowker Testi	.	.	. ^b
Geçerli Durumların N sayısı	100		

4.2. Moleküler Analiz Bulguları

RT- qPCR ile gen ifadesi ölçümlerine başlamadan önce izole edilen RNA’ların kalite ve konsantrasyonları Biodrop cihazında belirlenmiştir. Elde edilen RNA ölçüm değerleri Çizelge 4.3’te verilmiştir. DNA ve RNA’nın saflığını değerlendirmek için 260 nm ve 280 nm’de absorbans oranı kullanılmaktadır. 2.00 değeri genellikle saf RNA’yı ifade etmektedir.

Çizelge 4.3. Materyal olarak kullanılan bal arısı ırklarına ait bireylerden ekstrakte edilen total RNA'ların Biodrop cihazında verdiği absorbans değerleri

Bireyler	A260/230	A260/280	Konsantrasyon (µg/ml)
A1	1,24	2,33	44,80
A2	2,26	2,37	199,20
A3	0,28	2,16	32,80
A4	1,23	2,41	94,40
A5	2,22	2,36	113,60
A6	2,30	2,30	73,60
A7	1,61	2,34	103,2
A8	0,82	2,27	60,00
A9	2,28	2,33	102,40
A10	1,04	2,39	88,00
A11	2,20	2,32	68,80
A12	1,42	2,37	56,80
A13	1,51	2,38	49,60
A14	2,47	2,34	108,80
A15	2,51	2,34	82,40
A16	1,13	2,25	63,20
A17	2,20	2,33	156,80
A18	2,51	2,32	70,40
A19	2,56	2,33	102,40
A20	1,70	2,29	68,00
F1	1,34	2,39	44,00
F2	2,02	2,35	90,40
F3	1,22	2,40	48,00
F4	1,84	2,33	85,60
F5	2,02	2,38	64,80
F6	1,63	2,35	80,80
F7	1,06	2,32	80,00
F8	1,35	2,31	107,20
F9	1,96	2,39	111,20
F10	1,56	2,36	64,40
F11	1,95	2,36	62,40
F12	0,91	2,41	42,40
F13	1,56	2,40	67,20
F14	2,10	2,33	67,20
F15	2,06	2,33	56,00
F16	2,25	2,36	72,60
F17	1,63	2,23	53,60
F18	2,45	2,39	92,00
F19	1,80	2,31	64,80
F20	2,05	2,31	29,60

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.3.'ün devamı

Bireyler	A260/230	A260/280	Konsantrasyon (µg/ml)
I1	2,33	2,25	160,8
I2	2,25	2,25	100,8
I3	1,78	2,27	80,00
I4	1,80	2,25	50,40
I5	1,14	2,28	38,40
I6	2,16	2,25	93,60
I7	2,35	2,27	112,8
I8	2,02	2,23	68,00
I9	1,52	2,27	67,20
I10	2,08	2,25	113,6
I11	1,59	2,25	56,00
I12	1,18	2,34	82,40
I13	1,91	2,26	68,80
I14	1,69	2,27	80,00
I15	2,17	2,28	71,20
I16	1,95	2,28	76,80
I17	2,22	2,32	208,00
I18	2,00	2,25	86,40
I19	1,69	2,24	44,80
I20	2,00	2,29	62,40
K1	0,07	3,00	7,200
K2	0,17	2,75	8,800
K3	0,14	2,33	5,600
K4	0,48	2,40	9,600
K5	0,17	2,66	6,400
K6	0,15	2,33	5,600
K7	0,70	2,33	5,600
K8	0,35	2,75	8,800
K9	0,72	2,00	6,400
K10	0,36	2,33	5,600
K11	0,31	2,50	8,000
K12	0,25	2,25	7,200
K13	0,14	2,00	6,400
K14	0,87	1,75	5,600
K15	0,303	2,00	8,000
K16	0,39	2,20	8,800
K17	0,32	3,00	7,200
K18	0,34	2,00	6,400
K19	0,88	2,00	6,400
K20	0,45	2,00	4,800

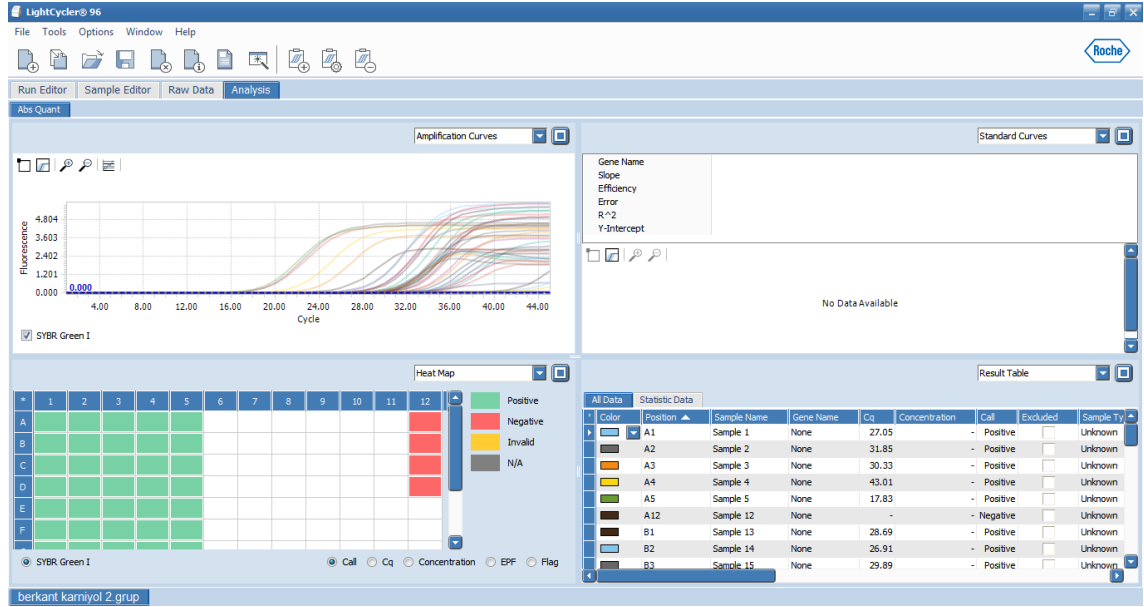
(Devamı Arkada)

Çizelge 4.3.'ün devamı

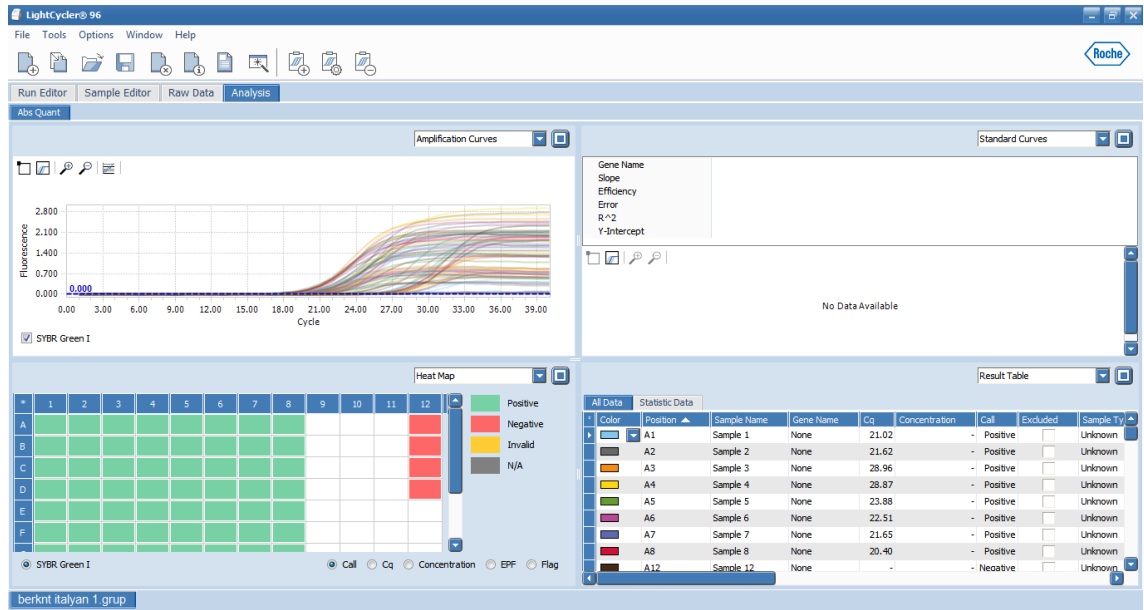
Bireyler	A260/230	A260/280	Konsantrasyon (µg/ml)
S1	0,82	2,26	34,40
S2	1,37	2,26	47,20
S3	1,48	2,33	39,20
S4	0,54	2,29	44,00
S5	0,24	2,30	24,00
S6	1,83	2,35	26,40
S7	1,43	2,26	47,20
S8	1,63	2,34	125,6
S9	1,12	2,30	36,80
S10	1,80	2,23	37,60
S11	1,73	2,26	41,60
S12	1,71	2,20	42,40
S13	0,63	2,23	46,40
S14	1,70	2,24	73,60
S15	1,52	2,23	46,40
S16	1,20	2,18	28,00
S17	0,60	2,29	44,00
S18	1,08	2,07	43,20
S19	1,22	2,16	43,20
S20	1,25	2,22	32,00

A: Anadolu arısı, F: Kafkas arısı, S: Suriye arısı, K: Karniyol arısı, I: İtalyan arısı

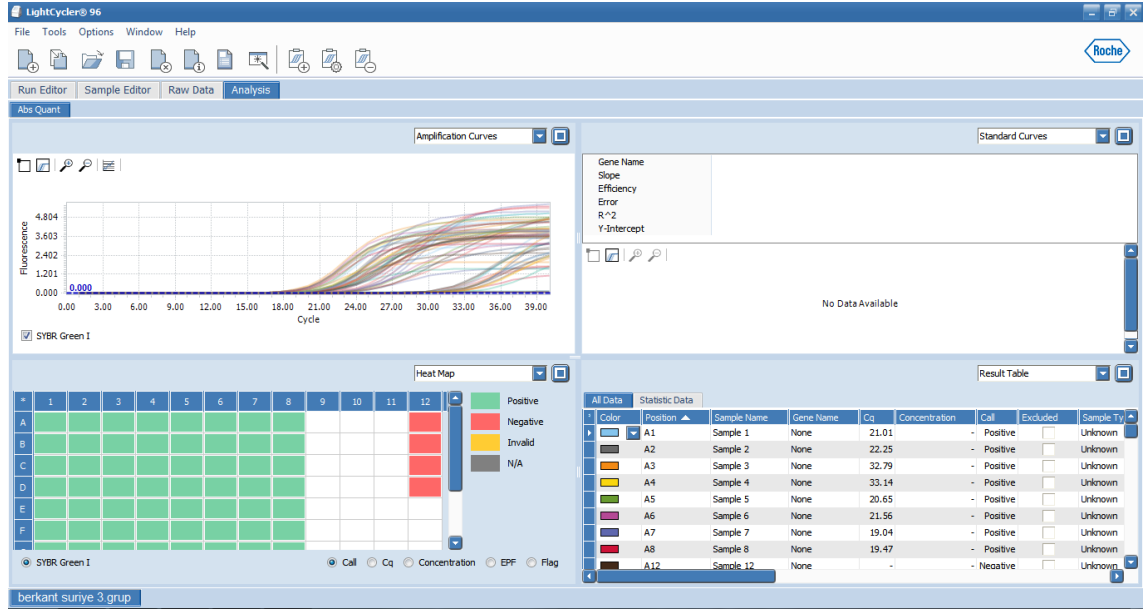
İzole edilen RNA'ların kalite ve konsantrasyonları belirlendikten sonra RNA'lar thermal cycler cihazında Çizelge 3.1'deki protokol kullanılarak cDNA'ya çevrilmiştir. Elde edilen cDNA'lar tez konusu aday genlerin qPCR cihazında kantitasyon ölçümünde kullanılmıştır. Kantitasyonu gerçekleştirilen aday genlerin qPCR cihazında elde edilen sonuçları aşağıda Şekil 4.1-5'te özetlenmiştir.



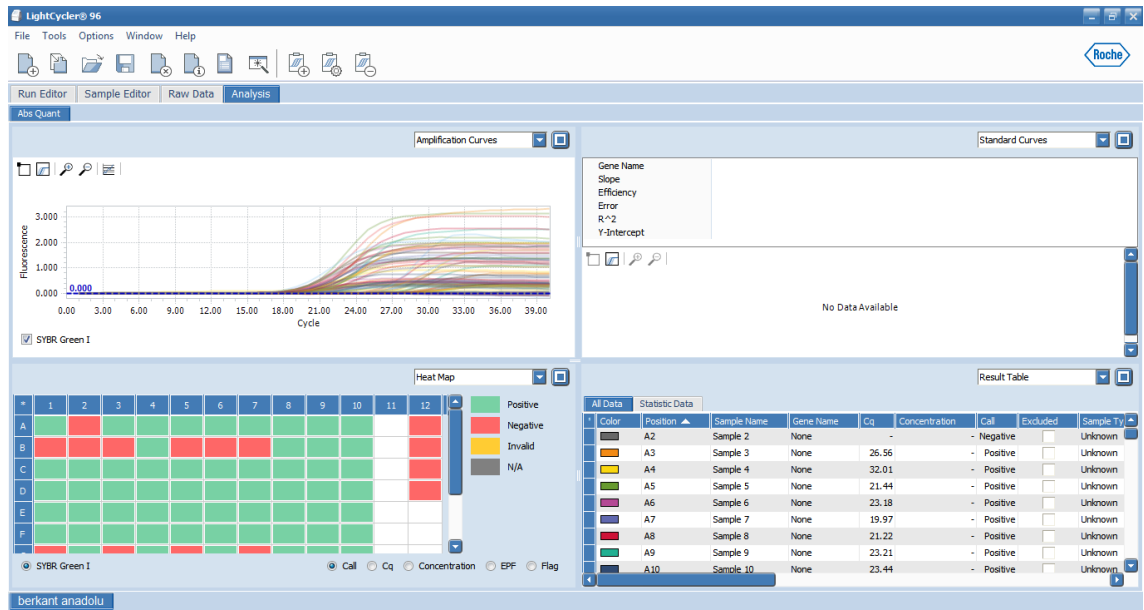
Şekil 4.1. Karniyol (K) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları



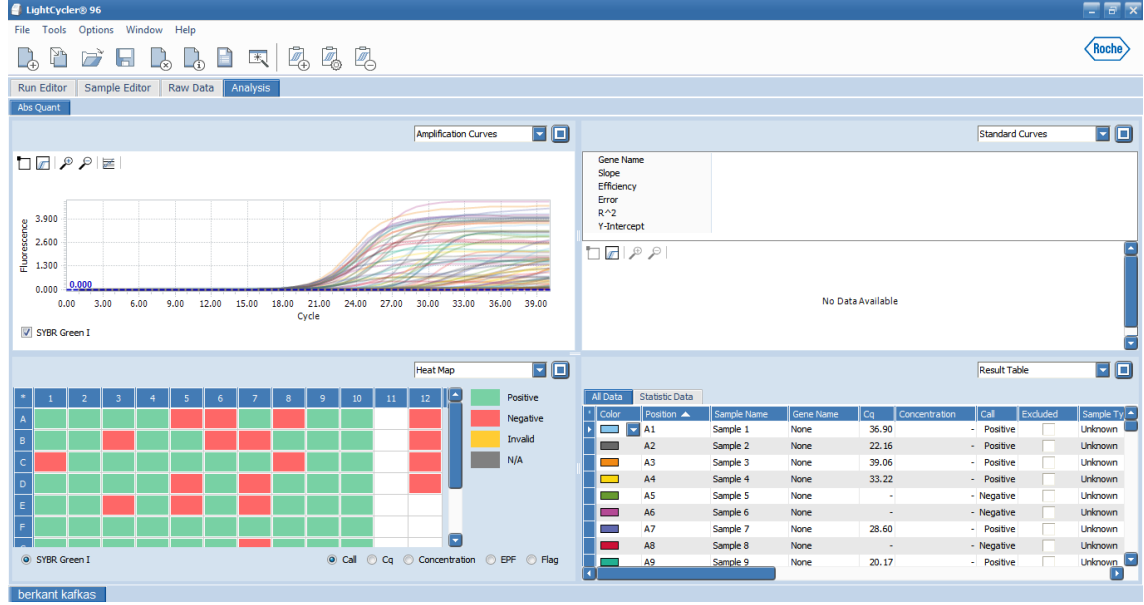
Şekil 4.2. İtalyan (I) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları



Şekil 4.3. Suriye (S) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları



Şekil 4.4. Anadolu (A) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları



Şekil 4.5. Kafkas (F) bal arısında aday genlerin RT-qPCR sonuçları

Tımar davranışı gösteren ve göstermeyen bireyler birlikte değerlendirildiğinde, qPCR analizleri sonucunda hesaplanan Ct ve C_q değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Ayrıca her bir arı ırkında tüm bireylerin tımar davranışı durumu, her bir aday genin her bir bireyde tespit edilen C_q değerleri ve tez konusu olan aday genlerin ifade miktarları (Δ) Çizelge 4.5-9'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.4. Tımar davranışı gösteren ve göstermeyen bireylerin Ct ve Cq değerlerinin tanımlayıcı istatistikler

	Tımar Davranışı	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata
Nöroksin-1 Ct	Yok	53	,063187	,1158677	,0159156
	Var	47	,048166	,1443147	,0210505
Ataksin-3 Ct	Yok	53	,908166	1,7406809	,2391009
	Var	47	,881372	1,6298025	,2377311
Atlastin Ct	Yok	53	1,866489	2,5255425	,3469099
	Var	47	1,680949	2,3996974	,3500318
Beta Aktin Cq	Yok	53	24,7657	4,95692	,68088
	Var	47	23,0728	3,53856	,51615
Nöroksin-1 Cq	Yok	53	32,3906	3,51579	,48293
	Var	47	30,4364	3,18023	,46388
Ataksin-3 Cq	Yok	53	23,9009	4,09156	,56202
	Var	47	22,8028	3,47404	,50674
Atlastin Cq	Yok	53	21,2426	3,06755	,42136
	Var	47	20,2004	1,30860	,19088

Çizelge 4.5. Karniyol ırkı Cq, Δct değerleri ve tımar durumları

Örnekler	Beta-aktin Cq	Nöroksin- 1 Cq	Ataksin-3 Cq	Atlastin Cq	Nöroksin- 1 Δct	Ataksin-3 Δct	Atlastin Δct	Tımar
K1	27,05	30,33	17,83	17,67	1,03E-01	5,96E+02	6,66E+02	+
K2	28,69	29,89	20,65	17,97	4,35E-01	2,63E+02	1,69E+03	-
K3	26,90	29,94	22,62	18,07	1,22E-01	1,94E+01	4,55E+02	-
K4	30,53	31,12	18,21	19,34	6,64E-01	5,11E+03	2,34E+03	+
K5	29,60	31,02	41,95	18,87	3,74E-01	1,92E-04	1,70E+03	+
K6	28,48	34,34	25,16	18,66	1,72E-02	9,99E+00	9,04E+02	-
K7	28,14	30,24	18,33	21,19	2,33E-01	8,98E+02	1,24E+02	-
K8	32,64	34,98	28,16	22,43	1,98E-01	2,23E+01	1,18E+03	-
K9	31,85	43,01	22,88	19,60	4,37E-04	5,01E+02	4,87E+03	+
K10	26,91	32,75	23,05	19,00	1,75E-02	1,45E+01	2,41E+02	-
K11	31,31	34,75	23,28	20,35	9,21E-02	2,61E+02	1,99E+03	-
K12	30,63	34,18	23,08	19,52	8,54E-02	1,87E+02	2,21E+03	-
K13	31,01	41,27	23,66	21,01	8,16E-04	1,63E+02	1,02E+03	-
K14	30,71	35,70	23,44	20,81	3,15E-02	1,54E+02	9,55E+02	+
K15	31,52	33,26	23,67	21,17	2,99E-01	2,31E+02	1,31E+03	-
K16	34,39	35,30	23,90	21,08	5,32E-01	1,44E+03	1,02E+04	-
K17	31,15	33,94	21,04	18,10	1,45E-01	1,11E+03	8,48E+03	+
K18	33,03	35,29	22,91	19,70	2,09E-01	1,11E+03	1,03E+04	-
K19	32,52	33,10	22,70	19,11	6,69E-01	9,04E+02	1,09E+04	+
K20	32,44	35,06	22,17	18,22	1,63E-01	1,23E+03	1,91E+04	-

Çizelge 4.6. İtalyan ırkı Cq, Δct değerleri ve tımar durumları

Örnekler	Beta- aktin Cq	Nöroksin- 1 Cq	Ataksin-3 Cq	Atlastin Cq	Nöroksin- 1 Δct	Ataksin Δct	Atlastin Δct	Tımar
I1	21,02	28,96	23,88	21,65	4,07E-03	1,38E-01	6,46E-01	+
I2	20,39	26,40	21,75	20,36	1,55E-02	3,90E-01	1,02E+00	+
I3	21,23	30,01	22,44	19,96	2,27E-03	4,32E-01	2,41E+00	+
I4	20,52	28,29	22,33	20,79	4,58E-03	2,85E-01	8,29E-01	-
I5	21,01	28,01	22,50	20,26	7,81E-03	3,56E-01	1,68E+00	+
I6	22,71	28,08	25,46	23,86	2,42E-02	1,49E-01	4,51E-01	+
I7	21,59	25,63	23,34	22,32	6,08E-02	2,97E-01	6,03E-01	+
I8	20,43	28,88	22,63	21,72	2,86E-03	2,18E-01	4,09E-01	-
I9	21,62	28,87	22,51	20,40	6,57E-03	5,40E-01	2,33E+00	+
I10	21,69	29,66	24,59	23,07	3,99E-03	1,34E-01	3,84E-01	+
I11	21,89	27,65	23,01	20,78	1,85E-02	4,60E-01	2,16E+00	+
I12	23,48	31,11	25,56	22,52	5,05E-03	2,37E-01	1,95E+00	+
I13	21,06	28,71	21,81	20,29	4,98E-03	5,95E-01	1,71E+00	+
I14	21,44	28,48	23,25	22,18	7,60E-03	2,85E-01	5,99E-01	-
I15	23,00	29,89	23,61	21,07	8,43E-03	6,55E-01	3,81E+00	-
I16	24,23	27,49	21,94	19,90	1,04E-01	4,89E+00	2,01E+01	-
I17	26,34	35,61	26,81	24,98	1,62E-03	7,22E-01	2,57E+00	-
I18	24,46	31,58	26,63	21,87	7,19E-03	2,22E-01	6,02E+00	+
I19	23,45	31,77	22,77	21,11	3,13E-03	1,60E+00	5,06E+00	+
I20	23,56	31,94	27,97	22,11	3,00E-03	4,70E-02	2,73E+00	-

Çizelge 4.7. Suriye ırkı Cq, Δct değerleri ve tımar durumları

Örnekler	Beta- aktin Cq	Nöroksin -1 Cq	Ataksin-3 Cq	Atlastin Cq	Nöroksin -1 Δct	Ataksin-3 Δct	Atlastin Δct	Tımar
S1	21,01	32,79	20,65	19,04	2,84E-04	1,28E+00	3,92E+00	-
S2	22,04	32,83	20,57	19,05	5,65E-04	2,77E+00	7,94E+00	-
S3	21,29	31,72	21,60	19,10	7,25E-04	8,07E-01	4,56E+00	-
S4	21,67	31,99	21,04	19,07	7,82E-04	1,55E+00	6,06E+00	-
S5	21,77	30,86	22,25	18,71	1,84E-03	7,17E-01	8,34E+00	-
S6	23,49	32,43	25,02	20,57	2,04E-03	3,46E-01	7,57E+00	-
S7	23,98	34,32	24,42	19,93	7,72E-04	7,37E-01	1,66E+01	+
S8	23,89	33,08	23,72	21,30	1,71E-03	1,13E+00	6,02E+00	-
S9	22,25	33,14	21,56	19,47	5,27E-04	1,61E+00	6,87E+00	-
S10	23,52	32,09	24,13	21,02	2,63E-03	6,55E-01	5,66E+00	+
S11	22,00	30,66	21,44	19,16	2,47E-03	1,47E+00	7,16E+00	+
S12	23,09	31,47	21,70	19,81	3,00E-03	2,62E+00	9,71E+00	+
S13	21,38	30,72	20,86	18,89	1,54E-03	1,43E+00	5,62E+00	+
S14	21,54	31,27	21,12	19,83	1,18E-03	1,34E+00	3,27E+00	-
S15	22,46	32,06	20,95	19,26	1,29E-03	2,85E+00	9,19E+00	+
S16	24,66	31,19	21,20	19,67	1,08E-02	1,10E+01	3,18E+01	+
S17	23,20	30,56	20,27	18,71	6,09E-03	7,62E+00	2,25E+01	+
S18	21,95	29,89	20,20	18,60	4,07E-03	3,36E+00	1,02E+01	+
S19	22,82	30,48	20,62	18,77	4,94E-03	4,59E+00	1,66E+01	+
S20	23,08	31,64	20,37	19,24	2,65E-03	6,54E+00	1,43E+01	+

Çizelge 4.8. Anadolu ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları

Örnekler	Beta- aktin Cq	Nöroksin -1 Cq	Ataksin-3 Cq	Atlastin Cq	Nöroksin -1 Δ ct	Ataksin-3 Δ ct	Atlastin Δ ct	Tımar
A1	18,56	26,56	21,44	19,97	3,91E-03	1,36E-01	3,76E-01	+
A2	-	35,22	20,91	19,78	-	-	-	+
A3	19,63	27,16	21,48	19,48	5,41E-03	2,77E-01	1,11E+00	+
A4	21,18	31,12	23,09	21,89	1,02E-03	2,66E-01	6,11E-01	+
A5	21,38	30,44	24,88	21,68	1,87E-03	8,84E-02	8,12E-01	+
A6	19,72	27,10	20,93	19,27	6,00E-03	4,32E-01	1,37E+00	+
A7	24,78	36,32	20,75	19,21	3,36E-04	1,63E+01	4,75E+01	+
A8	19,13	26,03	21,15	19,21	8,37E-03	2,47E-01	9,46E-01	-
A9	-	32,01	23,18	21,22	-	-	-	-
A10	20,09	32,50	21,65	21,65	1,84E-04	3,39E-01	3,39E-01	-
A11	20,31	27,71	21,67	19,91	5,92E-03	3,90E-01	1,32E+00	-
A12	19,52	26,41	20,82	19,34	8,43E-03	4,06E-01	1,13E+00	+
A13	20,44	28,90	22,13	20,52	2,84E-03	3,10E-01	9,46E-01	+
A14	22,36	31,73	23,62	21,97	1,51E-03	4,18E-01	1,31E+00	+
A15	22,29	31,99	24,70	22,74	1,20E-03	1,88E-01	7,32E-01	-
A16	22,07	28,71	20,99	19,31	1,00E-02	2,11E+00	6,77E+00	-
A17	23,21	32,34	23,44	22,45	1,78E-03	8,53E-01	1,69E+00	-
A18	20,18	27,90	21,59	20,23	4,74E-03	3,76E-01	9,66E-01	+
A19	20,17	30,30	21,87	20,53	8,92E-04	3,08E-01	7,79E-01	-
A20	19,88	30,09	23,73	22,54	8,44E-04	6,93E-02	1,58E-01	-

Çizelge 4.9. Kafkas ırkı Cq, Δ ct değerleri ve tımar durumları

Örnekler	Beta- aktin Cq	Nöroksi- 1 Cq	Ataksin-3 Cq	Atlastin Cq	Nöroksin -1 Δ ct	Ataksin-3 Δ ct	Atlastin Δ ct	Tımar
F1	36,90	39,06	20,89	28,60	2,24E-01	6,60E+04	3,15E+02	-
F2	20,08	32,11	28,56	19,71	2,39E-04	2,80E-03	1,29E+00	+
F3	36,14	38,39	30,33	29,15	2,10E-01	5,61E+01	1,27E+02	-
F4	26,25	36,61	21,15	20,04	7,61E-04	3,43E+01	7,40E+01	-
F5	21,99	32,52	20,67	19,30	6,76E-04	2,50E+00	6,45E+00	-
F6	23,47	39,91	30,10	29,97	1,12E-05	1,01E-02	1,10E-02	-
F7	33,56	35,88	30,93	19,41	2,00E-01	6,19E+00	1,82E+04	-
F8	19,54	33,97	39,92	22,21	4,53E-05	7,33E-07	1,57E-01	-
F9	22,16	33,22	22,75	21,30	4,68E-04	6,64E-01	1,82E+00	-
F10	24,61	37,37	21,09	33,45	1,44E-04	1,15E+01	2,18E-03	-
F11	21,91	35,12	34,87	19,84	1,06E-04	1,26E-04	4,20E+00	-
F12	20,19	32,94	34,17	25,27	1,45E-04	6,19E-05	2,96E-02	-
F13	19,29	29,21	27,20	20,79	1,03E-03	4,16E-03	3,54E-01	-
F14	19,36	28,31	23,34	19,78	2,02E-03	6,34E-02	7,47E-01	+
F15	19,41	27,00	22,30	20,19	5,19E-03	1,35E-01	5,82E-01	-
F16	20,30	27,16	22,00	20,13	8,61E-03	3,08E-01	1,13E+00	+
F17	20,17	26,64	21,58	20,12	1,13E-02	3,76E-01	1,04E+00	-
F18	20,29	25,80	21,92	20,16	2,19E-02	3,23E-01	1,09E+00	+
F19	20,50	28,53	23,81	21,29	3,83E-03	1,01E-01	5,78E-01	+
F20	20,92	25,24	19,71	19,40	5,01E-02	2,31E+00	2,87E+00	-

Beş arı ırkında amplifikasyonu gerçekleştirilen aday genler birlikte değerlendirildiğinde hesaplanan Ct ve Cq değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Genlerin Ct ve Cq değerlerinin tanımlayıcı istatistiksel verileri

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama		Std. Sapma
	İstatistik	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik
Nöroksin-1 Ct	100	,0000	,6690	,056127	,0129559	,1295589
Ataksin-3 Ct	100	,0000	9,9900	,895573	,1681041	1,6810414
Atlastin Ct	100	,0000	9,7100	1,779285	,2456543	2,4565429
Beta Actin Cq	100	18,56	36,90	23,9700	,44097	4,40966
Nöroksin-1 Cq	100	25,24	43,01	31,4721	,34861	3,48608
Ataksin-3 Cq	100	17,83	41,95	23,3848	,38346	3,83463
Atlastin Cq	100	17,67	33,45	20,7528	,24518	2,45185
Geçerli N (listwise)	100					

Arı ırklarını aday genlerin kantitasyonu bakımından karşılaştırmak için yapılacak olan istatistiksel analizlere başlamadan önce tüm verilere normal dağılım testi yapılmıştır (Çizelge 4.11 ve 4.12). Normal dağılım test sonuçlarında Ct ve Cq ölçümlerinin normal dağılım göstermediği belirlenmiştir.

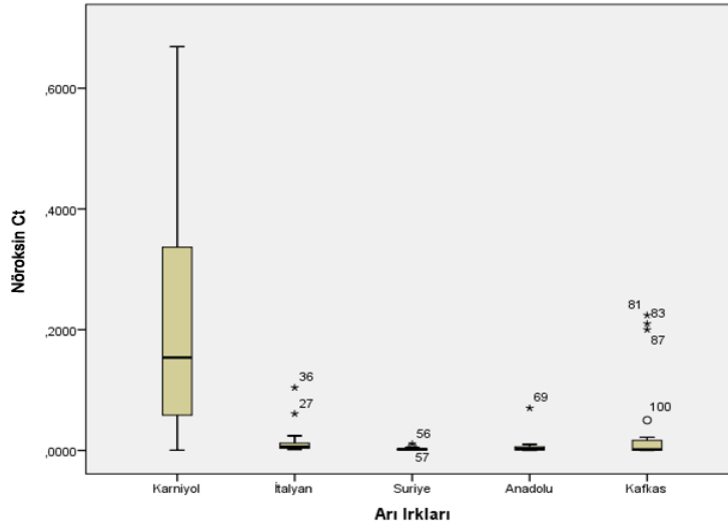
Çizelge 4.11. Aday genler birlikte değerlendirildiğinde hesaplanan Ct ve Cq ölçümlerinin normal dağılım testi sonuçları

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	sd	Sig.	İstatistik	sd	Sig.
Nöroksin-1 Ct	,367	100	,000	,491	100	,000
Ataksin-3 Ct	,298	100	,000	,553	100	,000
Atlastin Ct	,246	100	,000	,733	100	,000
Beta Aktin Cq	,197	100	,000	,849	100	,000
Nöroksin-1 Cq	,074	100	,200	,969	100	,017
Ataksin-3 Cq	,227	100	,000	,739	100	,000
Atlastin Cq	,172	100	,000	,739	100	,000

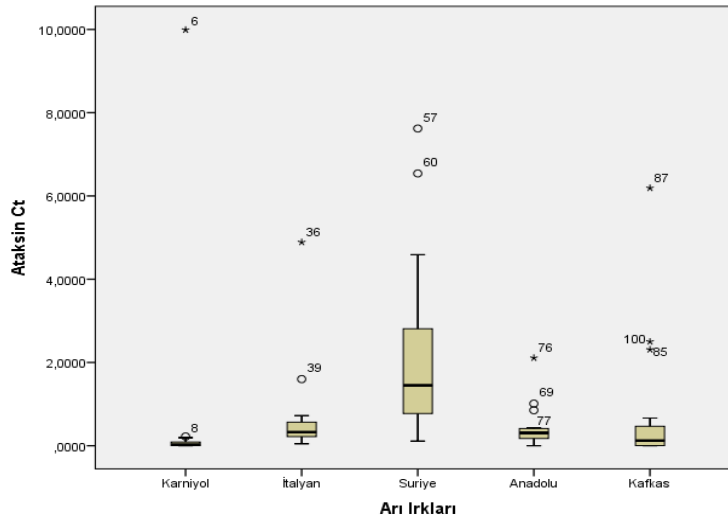
Çizelge 4.12. Aday genlerin her bir ırk için hesaplanan Ct ve Cq değerlerinin normal dağılım testi sonuçları

	Arı Irkları	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	sd	Sig.	İstatistik	sd	Sig.
Nöroksin-1 Ct	Karniyol	,175	20	,111	,867	20	,010
	İtalyan	,352	20	,000	,537	20	,000
	Suriye	,220	20	,013	,761	20	,000
	Anadolu	,366	20	,000	,406	20	,000
	Kafkas	,382	20	,000	,530	20	,000
Ataksin-3 Ct	Karniyol	,508	20	,000	,257	20	,000
	İtalyan	,366	20	,000	,472	20	,000
	Suriye	,261	20	,001	,809	20	,001
	Anadolu	,339	20	,000	,667	20	,000
	Kafkas	,360	20	,000	,527	20	,000
Atlasin Ct	Karniyol	,323	20	,000	,633	20	,000
	İtalyan	,154	20	,200*	,863	20	,009
	Suriye	,199	20	,036	,885	20	,022
	Anadolu	,300	20	,000	,578	20	,000
	Kafkas	,268	20	,001	,709	20	,000
Beta Aktin Cq	Karniyol	,160	20	,192	,948	20	,342
	İtalyan	,191	20	,054	,907	20	,056
	Suriye	,142	20	,200*	,960	20	,537
	Anadolu	,207	20	,025	,905	20	,052
	Kafkas	,284	20	,000	,699	20	,000
Nöroksin-1 Cq	Karniyol	,208	20	,024	,865	20	,010
	İtalyan	,169	20	,136	,933	20	,178
	Suriye	,091	20	,200*	,974	20	,834
	Anadolu	,118	20	,200*	,945	20	,301
	Kafkas	,139	20	,200*	,938	20	,220
Ataksin-3 Cq	Karniyol	,313	20	,000	,675	20	,000
	İtalyan	,187	20	,066	,875	20	,014
	Suriye	,246	20	,003	,823	20	,002
	Anadolu	,206	20	,026	,879	20	,017
	Kafkas	,239	20	,004	,859	20	,008
Atlasin Cq	Karniyol	,118	20	,200*	,945	20	,297
	İtalyan	,131	20	,200*	,924	20	,120
	Suriye	,203	20	,029	,870	20	,012
	Anadolu	,155	20	,200*	,889	20	,026
	Kafkas	,311	20	,000	,723	20	,000

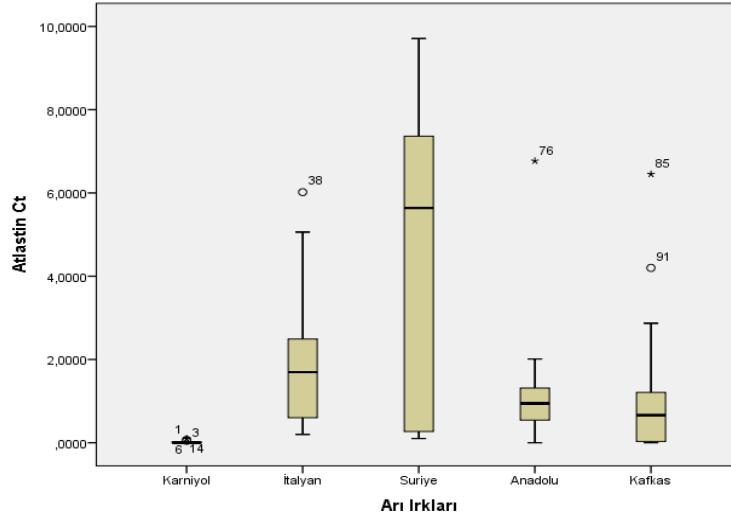
Aday genlerin her bir bal arısı ırkındaki Ct ve Cq değerlerinin dağılımı boxplot grafikleri kullanılarak gösterilmiştir (Şekil 4.6–11).



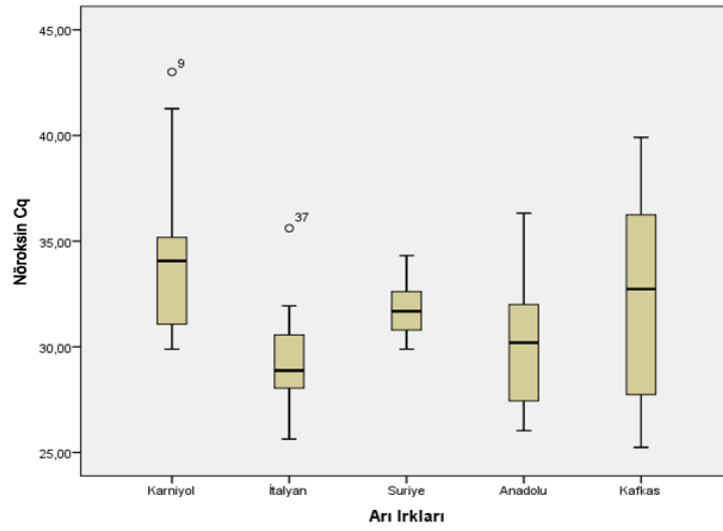
Şekil 4.6. Bal arısı ırklarında Nöroksin-1 geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği



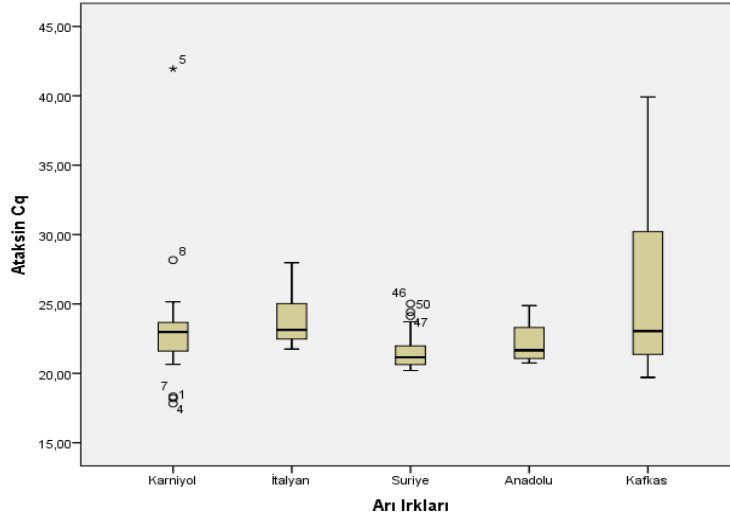
Şekil 4.7. Bal arısı ırklarında Ataksin-3 geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği



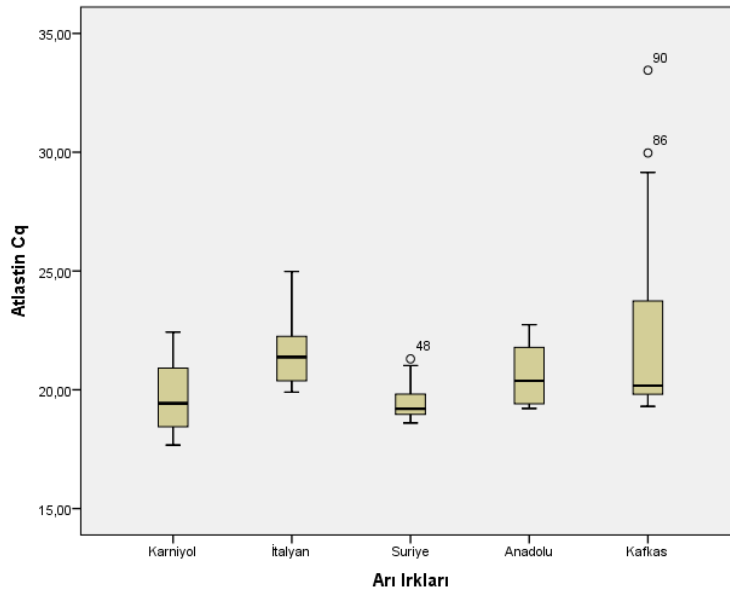
Şekil 4.8. Bal arısı ırklarında Atlastin geni için tespit edilen Ct değerlerinin boxplot grafiği



Şekil 4.9. Bal arısı ırklarında Nöroksin-1 geni için tespit edilen Cq değerlerinin boxplot grafiği

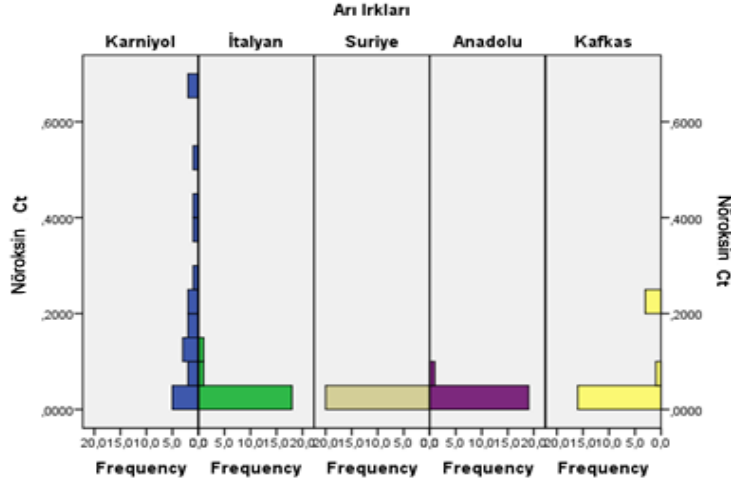


Şekil 4.10. Bal arısı ırklarında Ataksin-3 geni için tespit edilen Cq değerlerinin boxplot grafiği

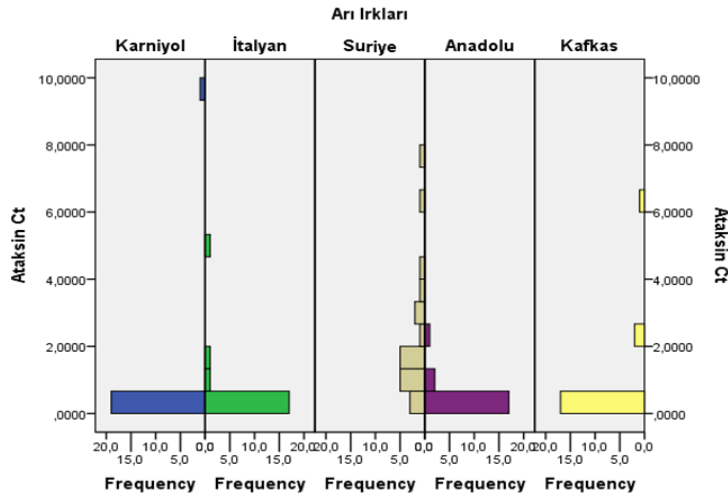


Şekil 4.11. Bal arısı ırklarında Atlastin geni için tespit edilen Cq değerlerinin boxplot grafiği

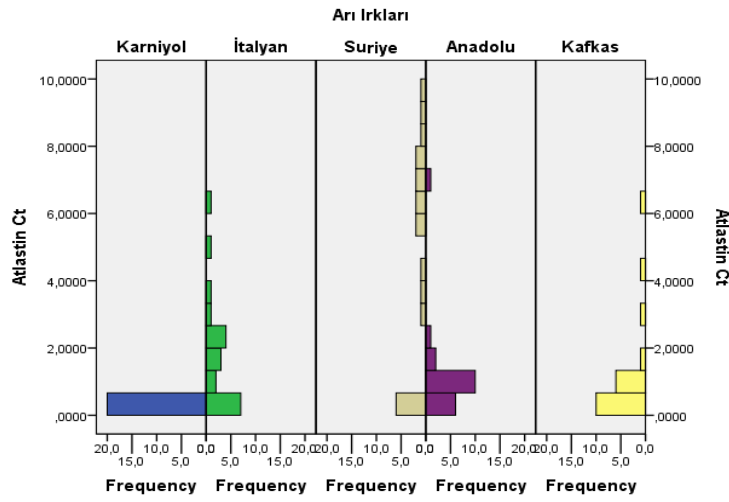
Ayrıca çalışılan bal arısı ırklarında belirlenen Ct ve Cq değerlerinin bireysel dağılımları histogram grafiği şeklinde aşağıda şekil 4.12- 17’de verilmiştir.



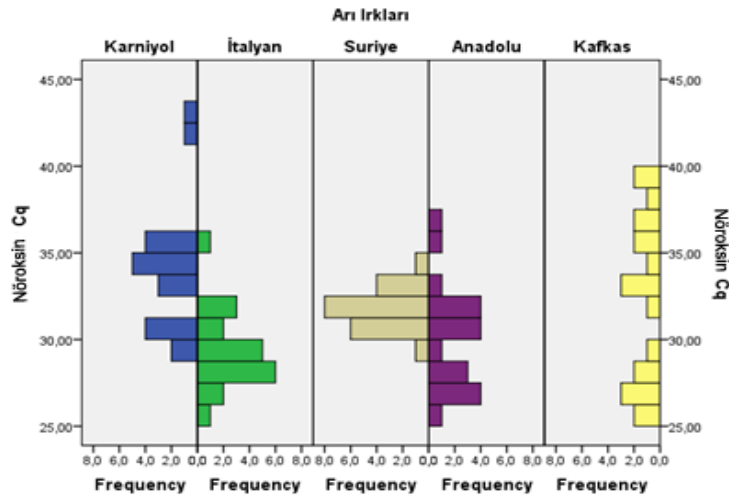
Şekil 4.12. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı



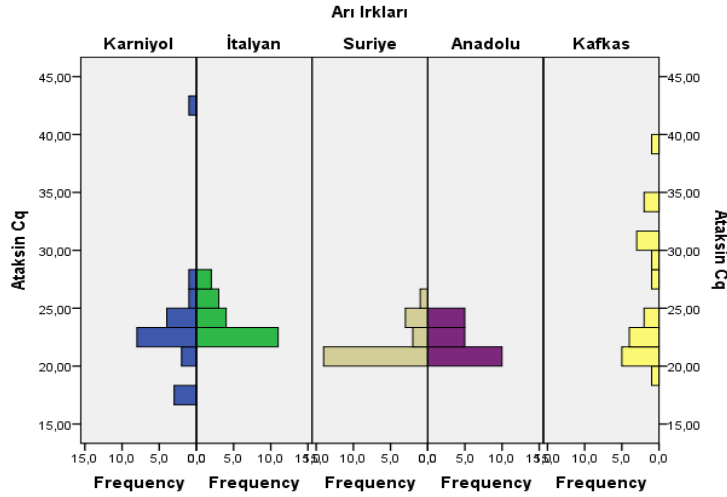
Şekil 4.13. Ataksin-3 geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı



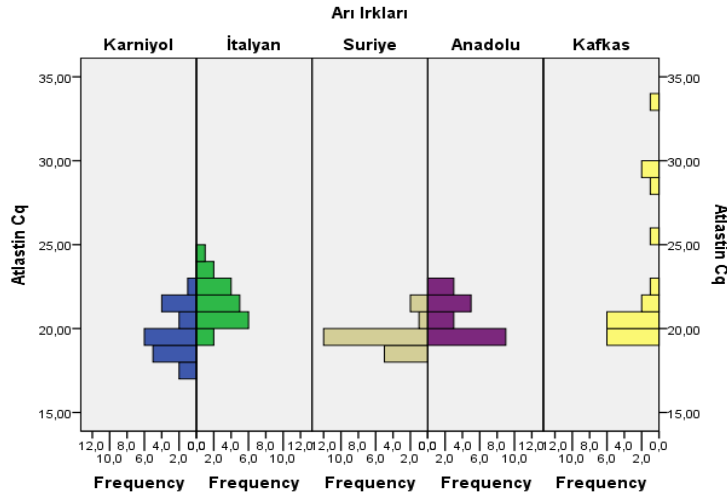
Şekil 4.14. Atlastin geni için hesaplanan Ct değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı



Şekil 4.15. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı



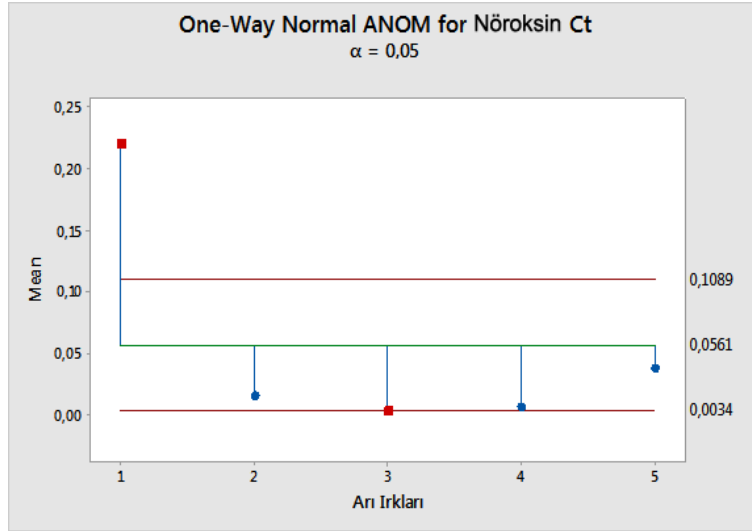
Şekil 4.16. Ataksin-3 geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı



Şekil 4.17. Atlastin geni için hesaplanan Cq değerlerinin arı ırklarında dağılım histogramı

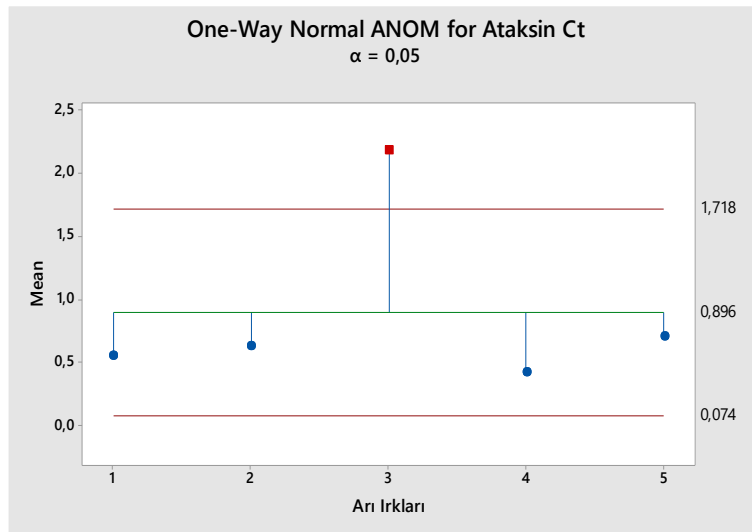
Aday genler için hesaplanan Ct ve Cq değerlerinin bal arısı ırkları bakımından farklılık gösterip göstermediği Tek Yönlü Normal ANOM analizi (Şekil 4.18-24) ve Kruskal-Wallis analizleri (Ek 1-7) kullanılarak araştırılmıştır. Ct değerleri referans gen baz alınarak hesaplandığı için referans gene ait Ct değeri hesaplanmamaktadır. Bu sebeple Ct değerleri karşılaştırılırken referans gen bir grup olarak kullanılmıştır. Cq değerlerinin ortalamaları ne kadar düşükse, hedef gen amplifikasyon miktarı eşik değerini o kadar erken aşmış demektir. Ct değeri ortalamalarının yüksek olması da ilgili genin ifadesinin yüksek olduğu manasına gelmektedir.

Nöroksin-1 geni için hesaplanan Ct değeri bakımından Karniyol ve Suriye arı ırklarının diğer arı ırklarından farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18). Karniyol arı ırkı Nöroksin-1 geni bakımında diğer ırklardan daha yüksek Ct değerleri göstermiştir.



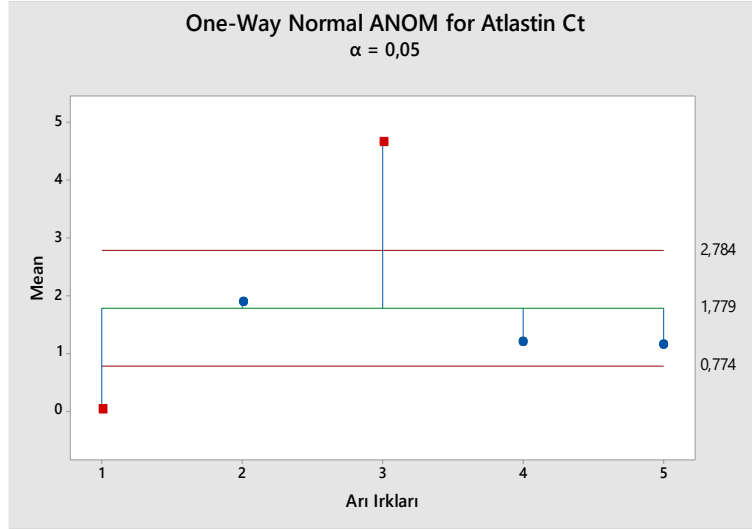
Şekil 4.18. Nöroksin-1 geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Ataksin-3 geni için hesaplanan Ct değeri bakımından Suriye arı ırkının diğer arı ırklarından farklı değerler gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.19). Suriye arı ırkı Ataksin-3 geni bakımından diğer ırklardan daha yüksek Ct değerleri göstermiştir.



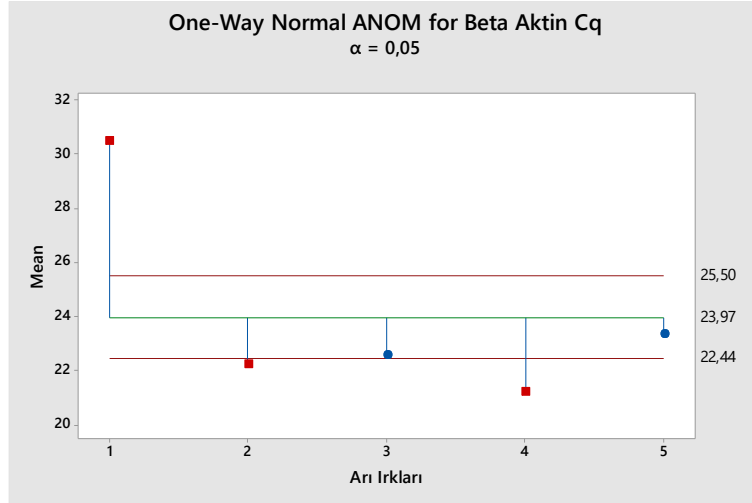
Şekil 4.19. Ataksin-3 geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Atlastin geni için hesaplanan Ct değeri bakımından Karniyol ve Suriye arı ırklarının diğer arı ırklarından farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20). Suriye arı ırkı Atlastin geni bakımından diğer ırklara göre daha yüksek Ct değeri gösterirken karniyol arı ırkının daha düşük değere sahip olduğu hesaplanmıştır.



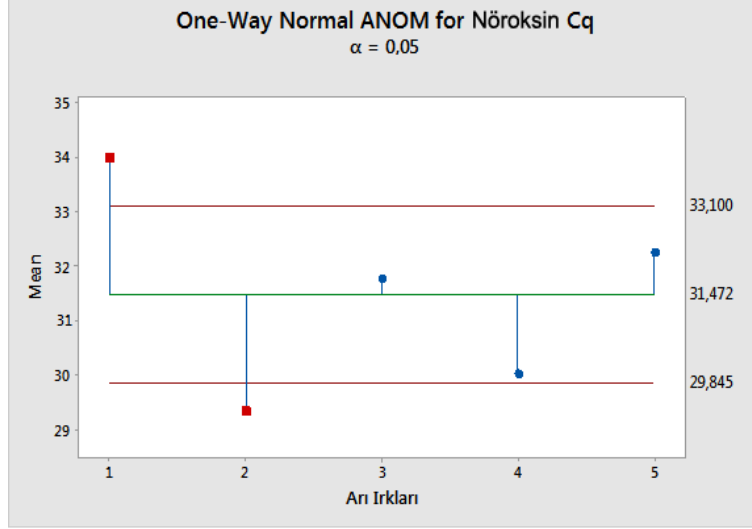
Şekil 4.20. Atlastin geni Ct değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Aday genler ve referans gen için belirlenen Cq değerleri ANOM analizleri yapılarak karşılaştırılmıştır (Şekil 4.21-24). Referans gen (Housekeeping)'in qPCR amplifikasyonlarında hesaplanan Cq değerleri bakımından Karniyol arı ırkı diğerlerinden daha yüksek değer gösterirken, İtalyan ve Anadolu ırkları daha düşük değerler göstermiştir (Şekil 4.21).



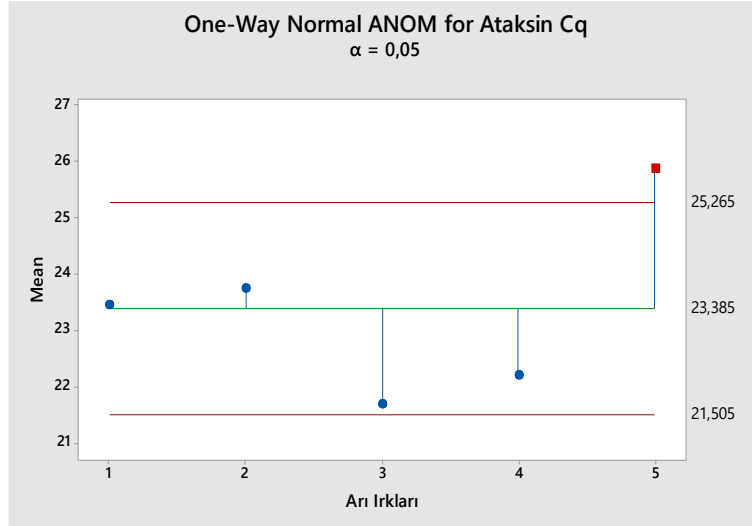
Şekil 4.21. Beta Aktin geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Nöroksin-1 geni için belirlenen Cq değerleri bakımından Karniyol arı ırkının diğer ırklardan daha geç amplifikasyon gösterdiği ancak İtalyan arı ırkının diğerlerine göre daha erken amplifikasyon gösterdiği görülmüştür (4.22). Anadolu, Suriye ve Kafkas arı ırklarında ise Nöroksin-1 geninin qPCR kantitasyon başlama döngü değerlerinin farklı olmadığı saptanmıştır.



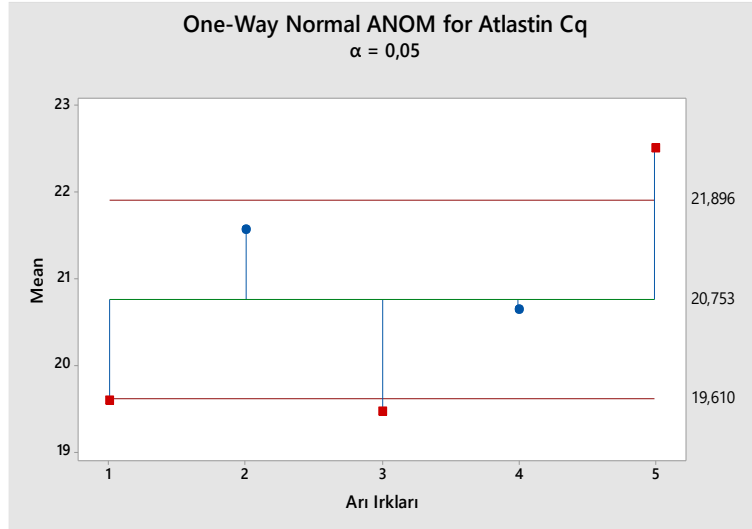
Şekil 4.22. Nöroksin-1 geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Ataksin-3 geni kantitasyon döngü değerleri dikkate alındığında Kafkas arı ırkının diğer arı ırklarından daha yüksek değerler gösterdiği ancak diğer ırkların birbirinden farklı olmadığı anlaşılmıştır (Şekil 4.23). Bu durum Kafkas arı ırkının Ataksin-3 geni bakımından daha geç amplifikasyona sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.23. Ataksin-3 geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Atlastin geni için hesaplanan kantifikasyon döngü değerleri bakımından Karniyol, Suriye ve Kafkas arı ırklarının diğer arı ırklarından farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.24). Suriye arı ırkı Atlastin geni bakımından diğer ırklardan daha düşük Cq değerleri göstermiştir. Buradan Suriye arı ırkının Atlastin geni bakımından daha geç kantifikasyona sahip olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.24. Atlastin geni Cq değerinin ırklara göre Tek Yönlü Normal ANOM (Analysis of mean) analizi sonucu (1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

Bal arısı ırkları arasında tez konusu genlerin ifade miktarları bakımından farklılık olup olmadığı istatistiki olarak test edilirken, elde edilen veriler normal dağılım göstermediğinden dolayı ANOVA (Analysis of Variance)'nın non-parametrik alternatifi olan Kruskal-Wallis testi yapılmıştır (EK-1-7).

Ct ve Cq değerleri analiz edildiğinde Nöroksin-1, Ataksin-3, Atlastin ve Beta Aktin genlerinin determinasyonlarının arı ırkları arasında önemli istatistiksel farklılıklar ($p < 0,01$) gösterdiği belirlenmiştir (EK-1-7).

Ancak, yapılan T-testi sonucunda tımar davranışı gösteren ve göstermeyen arılar arasında tez konusu aday genlerin determinasyonu bakımından (Ct) bir farklılık bulunamamıştır (EK-8). Tımar davranışı gösteren ve göstermeyen arılar Cq değerleri bakımından karşılaştırıldığında ise yalnızca Nöroksin Cq ve Atlastin Cq bakımından fark bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Varroa akarı hem doğrudan hem de çeşitli hastalıklara vektör görevi görmesinden dolayı bal arılarına büyük zarar vermektedir. Bireysel olarak işçi arıların sağlığı ve tüm koloni üzerindeki bu zararlı etkiler, hijyenik davranış ve tımar gibi davranışsal dirençlerin gelişmesine yol açmıştır.

Bal arılarında, Varroa akarlarına karşı önemli bir savunma mekanizması olarak kabul edilen tımar davranışının altında yatan moleküler mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır. Varroa parazitizmi, bal arılarının embriyonik gelişimi, hücre metabolizması ve bağışıklık ile ilgili genlerin ifade seviyelerinde değişikliklere neden olmaktadır. Bununla birlikte daha önce gerçekleştirilmiş olan moleküler çalışmalarda nöral genlerle ilgili bulgular dikkat çekmektedir. Bu çalışmada bal arılarında tımar davranışı ile ilgili olduğu literatürde bildirilen Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin nöral genlerinin determinasyon miktarları; Anadolu bal arısı (*Apis mellifera anatoliaca*), Kafkas bal arısı (*Apis mellifera caucasica*), Suriye bal arısı (*Apis mellifera syriaca*), Karniyol bal arısı (*Apis mellifera carnica*) ve İtalyan bal arısı (*Apis mellifera ligustica*)'nda özgün primerler ve SYBR Green floresan boya kullanılarak bal arısı ırklarında tımar davranışı başarısı araştırılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda 5 arı ırkı arasında tımar davranışıyla ilgili aday genlerin ifadesinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Ayrıca aday genlerin ifadesi bakımından ırk içindeki bireyler arasında da farklılıklar olduğu saptanmıştır. Çalışılan ırklarda aday genlerin Ct ve Cq değerlerinin ortalamalarının ANOM testi sonuçlarına göre; Nöroksin-1 geni Ct değeri için en yüksek ortalama Karniyol ırkında, Ataksin-3 geni Ct değeri için en yüksek ortalama Suriye ırkında, Atlastin geni Ct değeri için en yüksek ortalama Suriye ırkında, housekeeping gen olarak kullanılan Beta Aktin geni Cq değeri için en düşük ortalama Anadolu ırkında, Nöroksin-1 geni Cq değeri için en düşük ortalama İtalyan ırkında, Ataksin-3 geni Cq değeri için en düşük ortalama Suriye ırkında, Atlastin geni Cq değeri için en düşük ortalama Suriye ırkında bulunmuştur. Cq değerinin düşük olması amplifikasyonun eşik değerini daha erken döngülerde aştığını göstermektedir. Fakat bu her zaman gen ifadesi seviyesinin yüksek olduğu anlamına gelmemektedir çünkü bazı durumlarda eşik değeri aşıldıktan sonra amplifikasyon devam etmeyebilmektedir. Bu yüzden Δ ct değerlerini dikkate almak faydalı olacaktır. Bu genler arasında tımar davranışıyla en çok bağlantı kurulan gen olan Nöroksin-1 geninin Ct değerinin en yüksek ortalaması, tımar davranışı testinde nispeten en başarısız ırk olan Karniyol ırkında çıkmıştır. Fakat Nöroksin-1 geni Cq değerinin en düşük ortalamasının, tımar davranışı testinde en başarılı 2. ırk olarak Suriye ırkının çıkması Hamiduzzaman vd. (2017)'nin sonuçlarıyla örtüşmektedir. Hamiduzzaman vd. (2017) Nöroksin-1 geninin ifadesinin yoğun tımar davranışı gösteren arılarda düşük tımar davranışı gösteren arılara kıyasla önemli bir fark olduğunu ve yoğun tımar davranışı gösteren arılarda AmNrx1 geninin daha fazla ifade olduğunu belirtmişlerdir. Tımar davranışı göstermeyen arılarda, düşük tımar davranışı gösteren arılarda ve kontrol grubu arasında ise bu genin ifadesiyle ilgili bir farklılık gözlemlenmediğini söylemişlerdir.

Cq değerlerinin düşük ya da yüksek olmasına RNA konsantrasyonlarının da etkili olabileceği unutulmaması gerekmektedir. Buna göre, Karniyol ırkının diğer ırklara kıyasla en az RNA konsantrasyonuna sahip olmasının, Karniyol ırkındaki aday genlerin Cq değerleri ortalamalarının yüksek çıkmasına sebep olabileceği düşünülmüştür. Bu

durum göz önüne alınarak Cq ortalamaları incelendiği zaman, Aktin ve Nöroksin-1 genlerinin Cq değerlerinin en yüksek ortalamasına sahip ırk Karniyol ırkının olması düşündürülebilmektedir. Öte yandan Atlastin geninin Cq ortalamalarına baktığımızda 5 ırk içinde en düşük 2. ve Ataksin-3 geninin Cq ortalamalarında en düşük 3. ortalamanın Karniyol ırkında olması bu endişeleri ortadan kaldıracılabilmektedir. Nispeten yüksek RNA konsantrasyonlarına sahip İtalyan ırkında ise Nöroksin-1 geni Cq ortalamalarında en düşük, Beta Aktin geninin Cq ortalamalarında en düşük 2., Ataksin-3 ve Atlastin genlerinin Cq ortalamalarında ise en yüksek 2. ortalamaya sahiptir. Sonuçlara bakıldığında RNA konsantrasyonunun Cq değerlerinde dikkate değer bir fark yaratmayacağı görülmektedir. 260/280 RNA absorbans değerlerine bakıldığında ise daha homojen bir dağılım göstermektedir, RNA konsantrasyonlarındaki varyasyon kadar bir varyasyon göze çarpmamaktadır.

Çalışmamızda yer alan Nöroksin-1 ve Ataksin-3 nöral genlerinin ifadelerine baktığımızda, tımar davranışının diğer ırklara göre daha az gözleendiği Kafkas ırkında daha azdır. 5 arı ırkı içinde tımar davranışı başarıları İtalyan, Suriye ve Anadolu ırklarında birbirlerine çok yakındır bu yüzden bu 3 arı ırkı arasında gen ifadeleri bakımından büyük bir fark gözlemlenmese de nispeten belirgin olarak başarısız olan Kafkas ve Karniyol ırkları ile diğer 3 ırk arasında gen ifadeleri bakımından bu farklılık gözlemlenmektedir. İtalyan, Suriye ve Anadolu ırklarında gen ifadeleri Karniyol ve Kafkas ırklarına göre daha fazladır. Fakat istatistiksel analizler sonucunda arıların tımar davranışı gösterip göstermeme durumlarının Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin aday genlerinin ifadeleriyle ilişkisi bulunamamıştır. Hamiduzzaman vd. (2017), tımar davranışı sırasında yoğun fiziksel aktivitenin bazı nöral genlerin ürünleri tarafından uyarılan sinir sistemi ile ilişkili olabileceği ve bu genlerin de bazı yaşamsal genleri baskılamasına neden olabileceğini söylemişlerdir. Varroa'ya toleranslı arılar, temel olarak, nöral gelişimi, nöral duyarlılığı ve koku alma düzenleyen genlerin ifadesindeki farklılıklar ile karakterize edilse de Navajas vd. (2008), yaptıkları çalışmada otofajiye bağlı gen olan BlCh ifadesinin Varroa-toleranslı olduğu tahmin edilen arılarda fazla olduğunu, sinirsel reaksiyonları etkileyen Dlic2 ve Atg18 genlerinin ifade seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Aksine Strn-Mlck nöral geni, hem Varroa-toleranslı hem de toleranssız arılarda ifadesi azalmıştır. Bu çalışmalara ve elde ettiğimiz bulgulara göre nöral gen ifadelerinin her zaman tımar davranışıyla ilişkili olmayabileceği söylenebilir. Ayrıca aday gen olarak seçilen genlerin de her zaman aynı sonuçları vermeyebileceği düşünülebilir.

İlginçtir ki sakin yapısıyla tanınan İtalyan ırkında, 20 bireyde toplam 13 birey tımar davranışı göstermiştir ve en fazla tımar davranışı gösteren ırk olmuştur. İtalyan ırkının ardından en başarılı olan ırklar 20 bireyde 11 tımar davranışıyla eşit tımar davranışı göstererek Suriye ve Anadolu ırkları olmuştur ve 2. sırada yer almışlardır. 3. sırada ise 20 bireyde 7 tımar davranışıyla Karniyol ırkı olmuştur. Kafkas ırkı 20 bireyde 5 birey tımar davranışı göstermiştir ve en az tımar davranışı gösteren ırk olmuştur. İrklar arasında tımar davranışı bakımından fark olsa da bu fark istatistiksel açıdan önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$).

Aumeier (2001) yapay olarak istila edilmiş karniyol arılarının %66'sının ilk 30 saniye içinde vücutlarındaki akarların varlığına tepki gösterdiğini belirtmiştir. İlk 30 saniyede gözlenen bu tepkiler “anında tepki” olarak kaydedilmiştir. Yaptığımız çalışmada Karniyol ırkında bu kadar başarı gözlenmemiştir. Diğer arı ırklarına kıyasla

Karniyol ırkı tımar başarısında 3. ırk olmuştur. Zaitoun vd. (2001) *A. mellifera syriaca* işçilerinin ektoparazitik akar Varroa'ya karşı aktif olarak tepki verme konusunda olağanüstü bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim tımar testi sonuçlarımızda da aynı şekilde Suriye ırkı oldukça başarı göstermiştir. Suriye ırkı tımar davranışı bakımından ırklar arasında en başarılı 2. ırk olmuştur ve 1. olan İtalyan ırkıyla aralarında çok az bir fark bulunmaktadır.

Vandame vd. (1999) neredeyse tüm Afrika bal arılarında ve Avrupa arılarının yarısından fazlasının, akarların vücutlarına yerleştirildiği andan itibaren aktif olduklarını ve etkinliklerin 8 dakika içinde neredeyse hiç azalmadığını bildirmişlerdir. Moretto vd. (1993), Afrika bal arılarının tımar davranışlarının 30 dakikalık gözlemlenmesi sırasında, ilk beş dakikada akarların yaklaşık %80'inin çıkarıldığını bildirmişlerdir. Fakat arıların *V. destructor*'ı yok etme davranışlarını belirleyen testlerin çoğunda, akar kalıntılarının ve akarların vücutlarına verilen hasarın ölçümlerine dayanmaktadır (Boot ve Beetsma 1994; Boot ve Calis 1995; Boot ve Schoenmaker 1995; Camazine 1988; Fries ve Camazine 1994; Fries ve Rosenkranz 1996; Fuchs ve Langenbach 1998; Omholt ve Crailsheim 1991; Romaniuk ve Duk 1983; Schulz 1984). Bizim çalışmamızda arıların akar zararı dikkate alınmamıştır ve zaten böyle bir durum hiçbir arı ırkında gözlenmemiştir.

Tımar davranışının test edilmesini akarın, arının üzerinde hangi bölgede olduğu da etkilemektedir. Çalışmamızda, arıların toraksına koyulan akarların farklı vücut bölgelerine doğru hareketi arının tımar davranışını etkilemiştir. Akarın, arının baş bölgesinde bulunması tımar davranışını daha fazla tetiklerken, abdomende bulunduğu zamanlarda ise nispeten tımar davranışı daha az gözlenmiştir. Akarların propodyumda bulunduğu durumlarda hiç tımar davranışı gözlemlenmemiştir. Bak ve Wilde (2015), akarın arı üzerinde hangi bölgede olduğunun da arının tımar davranışına etkili olduğunu, genellikle akarın baş, bacaklar ve karın bölgesinin distal kısmında bulunduğu durumlarda başarıyla çıkarıldığını söylemişlerdir. Propodium bölgesine akar yerleştirdikleri arıların hiçbirinin akardan kurtulamadıklarını belirtmişlerdir. Vandame vd. (2002), çalışmalarında benzer sonuçları belirtmişlerdir.

Bazı çalışmalarda akarların bal arısı üzerinden diğer arılara geçmesi de başarılı akar giderilmesi olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda herhangi bir allo-tımar testi yer almadığı için bu tarz bir gözlem yapılmamıştır. Fakat bizim testlerimizde akarın arı üzerinden tımar davranışı haricinde başka sebeplerden uzaklaşması durumunda test iptal edilmiştir ve tekrar farklı bir arı ve farklı bir akarla yinelenmiştir. Peng vd. (1987), gözlem kovanlarında yaptıkları çalışmada akarların bir arıdan diğerine hareketlerini de başarılı akar giderilmesi olarak kabul etmişlerdir. Ayrıca koloni toleransı düşünüldüğünde akarların bireylerin üzerinden değil koloniden uzaklaştırılması göz önünde bulundurulmalıdır.

Varroa akarlarına karşı tımar davranışının yoğunluğu ve etkinliğini değerlendirmenin zor olduğu unutulmamalıdır (Aumeier 2001). Tam boyutlu koloniler veya gözlem kovanlarındaki (Bozic ve Valentincic 1995; Fries vd. 1996; Moretto vd. 1993, 1997; Peng vd. 1987) çalışmaların hazırlanması zaman alıcıdır ve o zaman bile belirli bir arının davranışının sürekli olarak kaydedilmesi garanti edilemez (Büchler vd. 1992; Peng vd. 1987; Thakur vd. 1997). Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen tımar

davranışı testleri, bireysel akar istilasına uğramış arıların tımar yanıtlarını basit ve ekonomik bir şekilde incelenmesini sağlamaktadır (Aumeier 2001).

Bal arılarında akarlara karşı mekanizmaların çalışılmasında kullanılan farklı moleküler yöntemler de mevcuttur. Gen ifadesindeki farklılıkların mikrodizi analizi, arıların toleransında ve konukçu-patojen etkileşimlerinde genotipik varyans çalışmalarında güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır (Zakar vd. 2014). Ayrıca RNA interferans (RNAi) teknolojisi de Varroa kontrolü üzerinde etkili olabilecek genlerin ve proteinlerin tanımlanması için önemli bir yöntemdir (Garbian vd. 2012). Tımar davranışıyla ilgili aday genler farklı yöntemler kullanılarak daha fazla çalışmada test edilmelidir. Bu şekilde türlerin, alt türlerin ve ırkların tımar davranışı bakımından moleküler olarak tanımlanması için daha güçlü sonuçlar elde edilecektir. Aynı zamanda mevcut sonuçların da güçlenmesinde fayda sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR

Tamamlanan bu tez çalışmasında Türkiye’de yaygın bulunan; Karniyol arısı (*Apis mellifera carnica*), İtalyan arısı (*Apis mellifera ligustica*), Suriye arısı (*Apis mellifera syriaca*), Anadolu arısı (*Apis mellifera anatoliaca*) ve Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*) ırklarının tımar davranışı seviyesi ve bu ırklarda tımar davranışıyla ilgili 3 aday genin (Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin) determinasyon seviyeleri belirlenmiştir.

Yapılan tımar davranışı testlerinde ırkları tımar davranışı göstermelerine göre sıralandığında İtalyan ırkı ilk sırada, Suriye ve Anadolu ırkı 2. sırada, Karniyol ırkı 3. sırada, Kafkas ırkı ise en az tımar davranışı gösteren ırk olarak 4. sıradadır. İrklar arasında tımar davranışı bakımından fark olsa da bu fark istatistiksel açıdan önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$). Tımar davranışı ile ilgili aday genler olan Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin genlerinin ifadeleri 5 ırk arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. Fakat yapılan istatistiksel analizler sonucunda tımar davranışının ilgili aday genlerin ifadesi ile ilişkisine rastlanmamıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlar, bu davranışın belirlenmesinde örnek sayısının artırılmasının faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca tımar davranışı ile Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin aday genlerinin ilişkilerinin açıklanmasında, farklı moleküler yöntemlerin de denenmesinin, mevcut çalışmalardan elde edilen sonuçların desteklenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Literatürde tımar davranışı ile ilgili aday genler olduğu bildirilen ve bu sebeple bu çalışmada konu edinilen Nöroksin-1, Ataksin-3 ve Atlastin genleriyle ilgili daha fazla çalışma yapılması gerektiği ve tımar davranışı ile ilgili ilişkilerinin daha net ortaya çıkarılması gerekmektedir. Ayrıca tımar davranışı ile ilgili olduğu bildirilen bu aday genlerin dışında ilişkili olabilecek başka genlerin de araştırılması gerekmektedir. Tımar gibi davranışların birkaç gen ile ilişkilendirilemeyeceği ve bireyler arasındaki davranışsal farklılıkların birkaç gen ile izah edilemeyeceği anlaşılmaktadır.

Tamamlanan bu çalışma konusu ve kullanılan test yöntemleri bakımından alanında yapılmış az sayıda çalışmadan biridir. Gen bazında moleküler yöntemlerle yürütülmesi bakımından ise alanında ilk özelliği taşımaktadır. Bu nedenle, burada sunulan sonuçlar büyük bir dikkatle yorumlanmalıdır ve benzer çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Adam, B. 1964. In Search of Best Strains of Honey Bees. *Bee World*. 45 (1): 70-83.
- Adam, B. 1983. In Search of Best Strains of Honey Bees. 2nd Edition. Northern Bee Books. 2006 pp. West Yorkshire. U.K.
- Adam, B. 1987. Breeding the Honeybee. Northern Bee Books. Mytholmoryd: Hebden Bridge. West Yorkshire. U.K.
- Akyol, E., Kaftanoglu, O. 2001. Colony characteristics and the performance of Caucasian (*Apis mellifera caucasica*) and Mugla (*Apis mellifera anatoliaca*) bees and their reciprocal crosses. *Journal of Apicultural Research*, 40(3-4), 11-15.
- Al-Ghzawi, A.M.A., Zaitoun, S.T., Shannag, H.K. 2001. Seasonal cycles of *Apis mellifera syriaca* under Jordanian desert conditions. *Journal of Apicultural Research*, 40(2), 45-51.
- Anderson, D.L. and Trueman, J.W.H. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.*, 24, 165–189. PMID: 11108385.
- Andino, G.K., Hunt, G.J. 2011. A scientific note on a new assay to measure honey bee mite-grooming behavior. *Apidologie*, 42, 481–484. doi:10.1007/s13592-011-0004-1.
- Anonim, 2016. *Apis mellifera anatoliaca*. 13 Şubat 2016 tarihli internet sayfası erişimi. https://en.wikipedia.org/wiki/Apis_mellifera_anatoliaca.
- Anonim, 2019a: <https://www.google.com/imghp?hl=tr> [Son erişim tarihi: 12.03.2019].
- Anonim, 2019b: <https://www.google.com/imghp?hl=tr> [Son erişim tarihi: 12.03.2019].
- Anonim, 2019c: <https://www.google.com/imghp?hl=tr> [Son erişim tarihi: 12.03.2019].
- Arechavaleta-Velasco, M.E., Alcalá-Escamilla, K., Robles-Rios, C., Tsuruda, J.M., Hunt, G.J. 2012. Fine-scale linkage mapping reveals a small set of candidate genes influencing honey bee grooming behavior in response to varroa mites. *PLoS One*, 7:e47269.
- Arechavaleta-Velasco, M.E., Guzman-Novoa, E. 2001. Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, 32, 157–174. doi:10.1051/apido:2001121.
- Arya, M., Shergill, I. S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., & Patel, H. R. 2005. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert review of molecular diagnostics*, 5(2), 209-219.
- Aumeier, P. 2000. Grooming as a tolerance factor against *Varroa jacobsoni*: a critical assessment on Africanized bees. *Apidologie*, 31, 633–634.
- Aumeier, P. 2001. Bioassay for grooming effectiveness towards *Varroa destructor* mites in Africanized and Carniolan honey bees. *Apidologie*, 32, 81–90.
- Bailey, L. and Ball, B.V. 1991. Honey Bee Pathology (2nd Ed.), Academic Press, London.

- Bak, B. and Wilde, J. 2015. Grooming behavior by worker bees of various subspecies of honey bees to remove *Varroa destructor* mites. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 207-215.
- Boecking, O. and Genersch, E. 2008. Varroosis - the ongoing crisis in bee keeping, *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit. Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 3, 221–228.
- Boecking, O. and Ritter, W. 1993. Grooming and removal behavior of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, 32, 127–134. doi:10.1080/00218839.1993.11101297.
- Boot, W.J., Beetsma, J., Calis, J.N.M. 1994. Behaviour of varroa mites invading honey bee brood cells. *Experimental and Applied Acarology*, 18, 371–379. doi:10.1007/BF00116318.
- Boot, W.J., Calis, J.N.M., Beetsma, J. 1995. Does timespent on adult bees affect reproductive success of Varroa mites? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 75, 1–7.
- Boot, W.J., Schoenmaker, J., Calis, J.N.M. 1995. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 26, 109–118. doi:10.1051/apido:19950204.
- Bozic, J. and Valentincic, T. 1995. Quantitative analysis n of social grooming behaviour in the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Apidologie*, 26, 141–147.
- Burnett, B., Li, F., Pittman, R.N. 2003. The polyglutamine neurodegenerative protein ataxin-3 binds polyubiquitylated proteins and has ubiquitin protease activity. *Human molecular genetics*, 12(23), 3195-3205.
- Buttel-Reepen, H. 1906. Apistica Beitrage zur Systematik, Biologie, sowie zur geschichtlichen und geographischen Verbreitung der Honigbiene (*Apis mellifera* L.) ihrer Varietaten und der ubrigen Apis-Arten. Veroff Zool Mus Berlin.
- Büchler, R. 1993. Rate of damaged mites in natural mite fall with regard to seasonal effects and infestation development. *Apidologie*, 24, 492–493.
- Büchler, R., Berg, S., Le Conte, Y. 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. *Apidologie*, 41, 393-408.
- Büchler, R., Drescher, W., Tornier, I. 1992. Grooming behaviour of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata* and its effect on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*. *Exp. Appl. Acarol.* 16, 313–319.
- Byrnes, L.J. and Sondermann, H. 2011. Structural basis for the nucleotide-dependent dimerization of the large G protein atlastin-1/SPG3A. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(6), 2216-2221.
- Calderone, N. 1998. Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 29: 127–158.
- Camazine, S. 1988. Factors affecting the severity of *Varroa jacobsoni* infestations on European and Africanized honeybees. In G.R. Needham, R.E. Peg, M. Delfinado-Baker, & C.E. Bowman (Eds.), *Africanized honey bees and bee mites* (pp. 444–451). Chichester: Ellis Horwood.

- Craig, A.M. and Kang, Y. 2007. Neurexin–neuroligin signaling in synapse development. *Current opinion in neurobiology*, 17(1), 43-52.
- Crane, E. 1999. The world history of beekeeping and honey hunting. New York: Routledge.
- Currie, R.W. and Tahmasbi, G.H. 2008. The ability of high-and low-grooming lines of honey bees to remove the parasitic mite *Varroa destructor* is affected by environmental conditions. *Canadian Journal of Zoology*, 86(9), 1059-1067.
- Dainat, B., Evans, J.D., Chen, Y.P., Gauthier, L., Neumann, P. 2012. Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS One*, 7:e32151.
- Dean, C. and Dresbach, T. 2006. Neuroligins and neurexins: linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function. *Trends in neurosciences*, 29(1), 21-29.
- De Figueiró Santos, J., Coelho, F.C., Bliman, P.A. 2016. Behavioral Modulation of Infestation by *Varroa destructor* in Bee Colonies. Implications for Colony Stability. *PLoS ONE*, 11(9): e0160465. doi:10.1371/journal.pone.0160465.
- De Jong, D. 1984. Current knowledge and open questions concerning reproduction in the honey bee mite *Varroa jacobsoni*. In *Advances in Invertebrate Reproduction 3*, Engels W (ed.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 547-552.
- De Mattos, I., De Jong, D., Prata, M.A., Souza, J., Soares, A.E.E. 2014. Study of methodologies for evaluating effectiveness of the grooming behavior.
- Delfinado-Baker, M., Rath, W., Boecking, O. 1992. Phoretic bee mites and honey bee grooming behavior. *International Journal of Acarology*, 18, 315–322.
- Doğaroğlu, M. 2004. Modern Arıcılık Teknikleri. 295 sayfa. Tekirdağ.
- Donze, G. and Guerin, P.M. 1994. Behavioral attributes and parental care of *Varroa* mites parasitizing honey bee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol*, 34: 305-319.
- Eliash, N., Singh, N.K., Thangarajan, S., Sela, N., Leshkowitz, D., Kamer, Y., Azidman, I., Rafaeli, A., Soroker, V. 2017. Chemosensing of honeybee parasite, *Varroa destructor*: Transcriptomic analysis. *Nature Scientific Reports*, 7, 13091, doi:10.1038/s41598-017-13167-9.
- Engel, M.S. 1999. The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; Apis. *Journal of Hymenoptera Research*, Volume 8(2): 165-196
- Feng, J., Schroer, R., Yan, J., Song, W., Yang, C., Bockholt, A., ... & Sommer, S. S. 2006. High frequency of neurexin 1 β signal peptide structural variants in patients with autism. *Neuroscience letters*, 409(1), 10-13.
- Fries, I., Camazine, S., Sneyd, J. 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni* - a model and a review. *Bee World*, 75, 5-27.
- Fries, I., Huazhen, W., Wei, S., Jin, C.S. 1996. Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie*, 27(1), 3-11.

- Fries, I., Imdorf, A., Rosenkranz, P. 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie*, 37, 564–570.
- Fries, I. and Rosenkranz, P. 1996. Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology*, 20, 103–112. doi:10.1007/BF00051156.
- Fuchs, S. 1990. Preference for drone brood cells in *Varroa jacobsoni* Oud. in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie*, 21, 193-199.
- Fuchs, S. and Langenbach, K. 1998. Multiple infestation of *Apis mellifera* L. brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 20, 257–220. doi:10.1051/apido:19890308.
- Fussnecker, B.L., Smith, B.H., Mustard, J.A. 2006. Octopamine and tyramine influence the behavioral profile of locomotor activity in the honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect physiology*, 52(10), 1083-1092.
- Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaissiere, B.E. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline, *Ecological Economics*, 68, 810–821.
- Garbian, Y., Maori, E., Kalev, H., Shafir, S., Sela, I. 2012. Bidirectional transfer of RNAi between honey bee and *Varroa destructor*: *Varroa* gene silencing reduces *Varroa* population. *PLoS pathogens*, 8(12), e1003035.
- Gelbe, R., Kurscheid, D. Madel, G. 1987. The ectoparasitic bee-mite *Varroa jacobsoni*-investigations on the morphology of mouthparts and histology of salivary glands. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene Series A-Medical Microbiology Infectious Diseases Virology Parasitology*, 265: 554-554.
- Genç, F. 1993. Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yay. No: 149. 286 sayfa. Erzurum.
- Genç, F., Dülger, C., Dodoloğlu, A., Kutluca, S. 1999. Comparison of some physiological characteristics of Caucasian, middle Anatolian and Erzurum honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 23:645-650.
- Gençer, H.V. ve Karacaoğlu, M. 2003. Kafkas ırkı (*Apis mellifera caucasica*) ve Kafkas Irkı ile Anadolu Arısı-Ege Ekotipi (*Apis mellifera anatoliaca*)’nin Karşılıklı Melezlerinin Ege Bölgesi Koşullarında Yavru Yetiştirme Etkinlikleri ve Bal Verimleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*. 13(1): 61-65.
- Giray, T., Cakmak, I, Aydın, L., Kandemir, I., Inci A., Oskay, D., Doke, M.A., Kence, M., Kence, A. 2007. Preliminary survey results on 2006-2007 colony losses in Turkey. *U. Bee J.*, 7, 101–107.
- Glessner, J.T., Wang, K., Cai, G., Korvatska, O., Kim, C. E., Wood, S., ... & Imielinski, M. 2009. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature*, 459(7246), 569.

- Guzman-Novoa, E., Emsen, B., Unger, P., Espinosa-Montano, L. G., Petukhova, T. 2012. Genotypic variability and relationships between mite infestation levels, mite damage, grooming intensity, and removal of *Varroa destructor* mites in selected strains of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Invertebrate Pathology*, 110, 314–320. doi: 10.1016/j.jip.2012.03.020.
- Guzman-Novoa, E., Vandame, R., Arechavaleta-Velasco, M.E. 1999. Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in Mexico. *Apidologie*, 30, 173–182. doi:10.1051/apido:19990207.
- Güler, A. 2006. Bal Arısı (*Apis mellifera*) On Dokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fakültesi. Ders Kitabı No:55, Samsun, 46,61,62,410 s.
- Haddad, N. and Fuchs, S. 2004. Honeybee agrobiodiversity: a project in conservation of *Apis mellifera syriaca* in Jordan. *Uludag Bee Journal*, 2(3), 116-120.
- Hamiduzzaman, M.M., Emsen, B., Hunt, G.J., Subramanyam, S., Williams, C.E., Tsuruda J.M., Guzman Novoa, E. 2017. Differential Gene Expression Associated with Honey Bee Grooming Behavior in Response to Varroa Mites. *Behavioral Genetics*, 47:335–344, doi:10.1007/s10519-017-9834-6.
- Hamiduzzaman, M.M., Sinia, A., Guzman-Novoa, E., Goodwin, P.H. 2012. Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ecto-parasitic mite, *Varroa destructor*, and their effect on the immune response of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Invertebrate Pathology*, 111(3):237–243, doi: 10.1016/j.jip.2012.09.001.
- Harbo, J.R. and Harris, J.W. 2009. Responses to Varroa by honey bees with different levels of Varroa Sensitive Hygiene. *Journal of apicultural research*, 48(3), 156-161.
- Heisenberg, M. 1998. What do the mushroom bodies do for insects? *Learn Mem.*, 5, 1–10.
- Huang, Z.Y., Bian, G., Xi, Z., Xie, X. 2017. Genes important for survival or reproduction in *Varroa destructor* identified by RNAi. *Insect science*, 1–8, doi:10.1111/1744-7917.12513.
- Ifantidis, M.D. 1988. Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie*, 19, 387-396.
- Jones, R.L. and Rothenbuhler, W.C. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. II. Response of two inbred lines to various amounts of cyanide-killed brood. *Anim. Behav.* 12, 584-588. 10.1016/0003-3472(64)90083-1.
- Kaftanoğlu, O. 2001. Bal Arılarında Irk Kavramı ve Irk Seçimi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 3 (1): 11- 20. Bursa.
- Kanbar, G. and Engels, W. 2005. Communal use of integumental wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae multiply infested by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Genet. Mol. Res.*, 4: 465-472.
- Kawaguchi, Y., Okamoto, T., Taniwaki, M., Aizawa, M., Inoue, M., Katayama, S., ... & Kimura, J. 1994. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32. 1. *Nature genetics*, 8(3), 221.

- Kirrane, M.J., de Guzman, L.I., Whelan, P.M., Frake, A.M., Rinderer, T.E. 2018. Evaluations of the removal of *Varroa destructor* in Russian honey bee colonies that display different levels of Varroa sensitive hygienic activities. *Journal of insect behavior*, 31(3), 283-297.
- Kolmes, S.A. 1989. Grooming specialists among worker honey bees *Apis mellifera*. *Anim. Behav.* 6, 1048-1049.
- Laidlaw, H.H. and Page, E.R. 1997. Queen Rearing and Bee Breeding. Wicwas Press. Cheshire, Connecticut, USA. 1-224.
- Le Conte, Y., Arnold, D., Trouiller, J., Masson, C., Chappe, B., Ourisson, G. 1989. Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science*, 245, 638-639.
- Le Conte, Y., de Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rouselle, J.C., Bécard, J.M. 2007. Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie*, 38, 566-572.
- Le Conte, Y., Ellis, M., Ritter, W. 2010. Varroa mites and honey bee health: Can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41,353-63.
- Logan, J. and Edwards, K. 2009. An overview of PCR platforms. In: Logan J, Edwards K, Saunders N eds, Real Time PCR: Current technology and applications. Caister Academic Pres; p 8.
- Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Negri, P., Eguaras, M.J. 2010. Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* of Argentina. *Parasitology Research*, 107, 1189-1192.
- Marshall, C.R., Noor, A., Vincent, J.B., Lionel, A.C., Feuk, L., Skaug, J., ... & Thiruvahindrapduram, B. 2008. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *The American Journal of Human Genetics*, 82(2), 477-488.
- Matheson, A. 1995. First documented findings of *Varroa jacobsoni* outside its resumed natural range. *Apiacta*, 30, 1-8.
- Michener, C. 1974. The social behavior of the bees. Cambridge: Harvard University Press.
- Mikawa, F. 1986. A study on the extermination of *Varroa jacobsoni*. In Proceedings of the XXXth International Congress of Apiculture, International Federation of Beekeepers' Associations (eds.). Apimondia, Bucharest, pp. 178-179.
- Milum, V.G. 1947. Grooming dance and associated activities of the honey bee. III Acad. Sci. Trans. 40, 194-196.
- Momot, J.P. and Rothenbuhler, W.C. 1971. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. V. Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow. *J. Apic. Res.*, 10, 11-21. 10.1080/00218839.1971.11099665.
- Mondragon, L., Spivak, M., Vandame, R. 2005. A multifactorial study of the resistance of honey bees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. *Apidologie*, 36, 345-358. doi:10.1051/apido:2005022.

- Moretto, G., Gonçalves, L.S., De Jong, D. 1993. Heritability of Africanized and European honey bee defensive behavior against the mite *Varroa jacobsoni*. *Revista Brasileira de Genetica*, 16, 71–77.
- Moretto, G., Gonçalves, L.S., De Jong, D. 1997. Relação entre o grau de infestação causado pela Varroatose em abelhas adultas e a capacidade das operárias de se livrarem do ácaro *Varroa jacobsoni*. *Naturalia*, S.P 22, pp. 207–211.
- Morrow, E.M., Yoo, S.Y., Flavell, S.W., Kim, T.K., Lin, Y., Hill, R.S., ... & Al-Saad, S. 2008. Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry. *Science*, 321(5886), 218-223.
- Mustard, J.A., Pham, P.M., Smith, B.H. 2010. Modulation of motor behavior by dopamine and the D1-like dopamine receptor AmDOP2 in the honey bee. *Journal of insect physiology*, 56(4), 422-430.
- Navajas, M., Migeon, A., Alaux, C., Martin-Magniette, M.L., Robinson, G.E., Evans, J.D., Cros-Arteil, S., Crauser, D., Le Conte, Y. 2008. Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection. *BMC Genom*, 9:301.
- Needham, G.R. 1988. Status report on *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal*, 128, 106-110.
- Neumann, P. and Carreck, N.L. 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49, 1-6, doi:10.3896/IBRA.1.49.1.01.
- Nganso, B.T., Fombong, A.T., Yusuf, A.A., Pirk, C.W., Stuhl, C., Torto, B. 2017. Hygienic and grooming behaviors in African and European honeybees New damage categories in *Varroa destructor*. *PloS one*, 12(6), e0179329.
- Oldroyd, B.P. 1999. Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honey bees. *Trends Ecol. Evol.*, 14: 312-315.
- Omholt, S.W. and Crailsheim, K. 1991. The possible prediction of the degree of infestation of honey bee colonies (*Apis mellifera*) by *Varroa jacobsoni* Oud. by means of its natural death-rate: a dynamic model approach. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, 5, 393–400.
- Öder, E. 1987. İç Anadolu Arılarının Islahının Olanak ve Koşulları. Türkiye 1. Arıcılık Kongresi (22-24 Ocak 1980). Tar. Orm. ve Köyişleri Bak. Gen. Yay. No: 154. Sayfa 30- 36. Ankara.
- Peng, Y.S.C 1988. The resistance mechanism of the Asian honey bee (*Apis cerana*) to the mite *Varroa jacobsoni*. In: Africanized Honey Bees and Bee Mites (GR Needham, RE Page Jr, M Delfinado-Baker, CE Bowman, eds), Ellis Horwood Limited, Chichester, USA, 426-429.
- Peng, Y.S.C., Fang, Y., Xu, S., Ge, L., Nasr, M.E. 1987. Response of foster Asian honeybee (*Apis cerana* Fabr.) colonies to the brood of European honeybee (*Apis mellifera* L.) infested with parasitic mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of invertebrate Pathology*, 49(3), 259-264.
- Pritchard, D.J. 2016. Grooming by honey bees as a component of varroa resistant behavior. *Journal of Apicultural Research*, 55(1), 38-48.

- Pettis, J.S. 2004. A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States, *Apidologie*, 35: 91–92.
- Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., ... & Hawthorne, D. 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5), 1792-1801.
- Ribbands, R. 1953. The behaviour and social life of honeybees. New York: London Dover Publ Inc.
- Rinderer, T.E., De Guzman, L.I., Delatte, G.T., Stelzer, J.A., Lancaster, V.A., Kuznetsov, V., ... Harris, J.W. 2001. Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie*, 32, 381–394. doi:10.1051/apido:2001138.
- Rinderer, T.E., Harris, J.W., Hunt, G.J., De Guzman, L.I. 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie*, 41, 409-424.
- Robinson, G. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.*, 37: 637–665.
- Romaniuk, K. and Duk, S. 1983. Sezonowa dynamika rozwoju *Varroa jacobsoni* w nie leczonych rodzinach pszczelich. (The seasonal dynamics of development *Varroa jacobsoni* in untreated honey bee colonies). *Medycyna Weterynaryjna*, 39, 725–727.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 10, 96–S119.
- Rothenbuhler, W.C. 1964a. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Anim. Behav.* 12, 578-583. 10.1016/0003-3472(64)90082-X.
- Rothenbuhler, W.C. 1964b. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood. *Am. Zool.*, 4, 111-123. 10.1093/icb/4.2.111.
- Rowen, L., Young, J., Birditt, B., Kaur, A., Madan, A., Philipps, D. L., ... & Graveley, B. R. 2002. Analysis of the human neurexin genes: alternative splicing and the generation of protein diversity. *Genomics*, 79(4), 587-597.
- Ruttner, F. 1969. Biometrische Charakterisierung der Österreichischen Carnica-Biene. *Zeitschrift für Bienenforschung*. 9, 11-12. Verlag.
- Ruttner, F. 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees, 3-34, Springer, Berlin.
- 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.
- Scheel, H., Tomiuk, S., Hofmann, K. 2003. Elucidation of ataxin-3 and ataxin-7 function by integrative bioinformatics. *Human molecular genetics*, 12(21), 2845-2852.

- Schulz, A.E. 1984. Reproduktion und Populations entwicklung der parasitischen Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. in Abhängigkeit vom Brutzyklus ihres Wirts *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 15, 401–420. doi:10.1051/apido:19840404.
- Seeley, T.D. 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 11: 287–293.
- Seeley, T.D. 1995. The wisdom of the hive. Cambridge: Harvard University Press.
- Seeley, T.D. 2007. Honey bees of the Arnot Forest: a population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States. *Apidologie*, 38, 19–29.
- Shimanuki, H., Calderone, N.W., Knox, D.A. 1994. Parasitic mite syndrome the symptoms, *American Bee Journal*, 134, 827–828.
- Sıralı, R., Cımbırtıoğlu, Ş., Develi, Z.Ş. 2017. Anadolu Arısı (*Apis mellifera anatoliaca*)'nın Bazı Önemli Özellikleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 17(2), 82-92.
- Shimanuki, H., Knox, D.A., Furgala, B., Caron, D.M., Williams, J.L. 1992. Diseases and pests of honey bees. In The hive and the honeybee, Graham J (ed.). Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, pp.1083- 1151.
- Smith, D.R., Slaymaker, A., Palmer, M., Kaftanoğlu, O. 1997. Turkish honeybees belong to the east Mediterranean mitochondrial lineage. *Apidologie*, 28:269-274.
- Spivak, M. and Reuter, G.S. 1998. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*, 29(3), 291-302.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Lakic, N., Djelic, N., Radovic, I. 2012. Stimulating effect of sugar dusting on honey bee grooming behaviour. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143(1), 23-30.
- Sumpter, D.J.T. and Martin, S.J. 2004. The dynamics of virus epidemics in Varroa-infested honey bee colonies. *J. Anim. Ecol.*, 73, 51-63.
- Szatmari, P., Paterson, A.D., Zwaigenbaum, L., Roberts, W., Brian, J., Liu, X. Q., ... & Feuk, L. 2007. Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nature genetics*, 39(3), 319.
- Szyska, P., Galkin, A., Menzel, R. 2008. Associative and non-associative plasticity in Kenyon cells of the honey bee mushroom body. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2:3.
- Tabuchi, K., and Südhof, T.C. 2002. Structure and evolution of neurexin genes: insight into the mechanism of alternative splicing. *Genomics*, 79(6), 849-859.
- Tait, D., Riccio, M., Sittler, A., Scherzinger, E., Santi, S., Ognibene, A., ... & Wanker, E. E. 1998. Ataxin-3 is transported into the nucleus and associates with the nuclear matrix. *Human molecular genetics*, 7(6), 991-997.
- Tajadini, M., Panjehpour, M., Javanmard, S.H. 2014. Comparison of SYBR Green and TaqMan methods in quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of four adenosine receptor subtypes. *Advanced biomedical research*, 3.
- Thakur, R.K., Bienefeld, K., Keller, R. 1997. Varroa defense behaviour in *A. mellifera carnica*. *Am. Bee J.*, 2, 143–148.

- Trumbo, S., Huang, Z., Robinson, G.E. 1997. Division of labor between undertaker specialists and other middle-aged workers in honey bee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 41: 151–163.
- Van Engelsdorp, D., Traynor, K.S., Andree, M., Lichtenberg, E.M., Chen, Y., Saegerman, C., Cox-Foster, D.L. 2017. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS ONE*, 12(7): e0179535.
- Vandame, R., Colin, M.E., Otero-Colina, G. 1999. Varroa-toleranz der Afrikanisierten Bienen in Mexiko: Die Unfruchtbarkeit der Milbe ist kein Hauptfaktor der Toleranz. (The Varroa tolerance of Africanized bees in Mexico: Infertility the mite is not a major factor of tolerance). *Api-acta*. XXXIV, 12–20.
- Vandame, R., Morand, S., Colin, M.E., Belzunces, L.P. 2002. Parasitism in the social bee *Apis mellifera*: quantifying costs and benefits of behavioral resistance to *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 33, 433–445. doi:10.1051/apido:2002025.
- Villa, J.D. and Rinderer, T.E. 2008. Inheritance of resistance to *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in crosses between selected resistant Russian and selected susceptible US honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 101, 1756–1759.
- Wilson-Rich, N., Spivak, M., Fefferman, N.H., Starks, P.T. 2009. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual review of entomology*, 54, 405-423.
- Winston, M. 1987. Biology of the honey bee. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Yan, J., Noltner, K., Feng, J., Li, W., Schroer, R., Skinner, C., ... & Sommer, S.S. 2008. Neurexin 1 α structural variants associated with autism. *Neuroscience letters*, 438(3), 368-370.
- Yang, X.Y. and Cox-Foster, D.L. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102(11):7470-7475.
- Yellman, C., Tao, H., He, B., Hirsh, J. 1997. Conserved and sexually dimorphic behavioral responses to biogenic amines in decapitated *Drosophila*. *Proceedings of the national academy of sciences*, 94(8), 4131-4136.
- Zakar, E., Jávora, A., Kusza, S. 2014. Genetic bases of tolerance to *Varroa destructor* in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes sociaux*, 61(3), 207-215.
- Zakour, M.K., Ehrhardt, K., Bienefeld, K. 2012. First estimate of genetic parameters for the Syrian honey bee *Apis mellifera syriaca*. *Apidologie*, 43(5), 600-607.
- Zaitoun, S.T., Al-Ghzawi, A.M., Shannag, H.K. 2000. Population dynamics of the Syrian Honeybee, *Apis mellifera syriaca*, under semi-arid Mediterranean conditions. *Zoology in the Middle East*, 21(1), 129-132.
- Zaitoun, S.T., Al-Ghzawi, A.M., Shannag, H.K. 2001. Grooming behaviour of *Apis mellifera syriaca* towards *Varroa jacobsoni* in Jordan. *Journal of Applied Entomology*, 125(1-2), 85-87.

Zhao, N. And Wurst, H. 2001. U.S. Patent No. 6,300,073. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Zhukovskaya, M., Yanagawa, A., Forschler, B. 2013. Grooming behavior as a mechanism of insect disease defense. *Insects*, 4(4), 609-630.

8. EKLER

EK-1. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Ct değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı istatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	0,15400	81,2	5,29
2	20	0,00585	58,0	1,29
3	20	0,00175	33,1	-2,99
4	20	0,00235	40,0	-1,81
5	20	0,00150	40,2	-1,78
Overall	100		50,5	

Test

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	36,06	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	36,07	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-2. Ataksin-3 geni için hesaplanan Ct değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	0,0246	23,8	-4,60
2	20	0,3265	55,9	0,93
3	20	1,4500	81,5	5,34
4	20	0,3090	51,0	0,08
5	20	0,1250	40,4	-1,74
Hepsi	100		50,5	
Test				

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşittir

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	42,87	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	42,87	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-3. Atlastin geni için hesaplanan Ct değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	0,0021	13,8	-6,33
2	20	1,6950	63,4	2,23
3	20	5,6400	73,8	4,02
4	20	0,9460	54,5	0,69
5	20	0,6610	47,0	-0,61
Hepsi	100		50,5	
Test				

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	49,67	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	49,67	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-4. Beta Aktin geni için hesaplanan Cq değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	30,860	87,5	6,39
2	20	21,655	44,4	-1,05
3	20	22,355	50,7	0,03
4	20	20,375	30,6	-3,44
5	20	20,710	39,3	-1,93
Hepsi	100		50,5	
Test				

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	45,95	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	45,95	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-5. Nöroksin-1 geni için hesaplanan Cq değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	34,060	70,8	3,49
2	20	28,875	30,7	-3,42
3	20	31,680	56,5	1,03
4	20	30,195	38,5	-2,06
5	20	32,730	56,0	0,95
Hepsi Test	100		50,5	

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	24,07	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	24,08	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-6. Ataksin-3 geni için hesaplanan Cq değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	22,980	52,9	0,42
2	20	23,130	64,2	2,37
3	20	21,160	32,3	-3,14
4	20	21,660	42,9	-1,31
5	20	23,045	60,1	1,66
Hepsi	100		50,5	
Test				

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	16,08	0,003
Düzeltilmiş bağlar	4	16,09	0,003

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-7. Atlastin geni için hesaplanan Cq değeri bakımından arı ırklarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis Testi)

Tanımlayıcı İstatistikler

Arı Irkları	N	Medyan	Sıra Ortalaması	Z-Değeri
1	20	19,430	34,1	-2,83
2	20	21,380	72,2	3,73
3	20	19,200	28,3	-3,82
4	20	20,375	55,9	0,93
5	20	20,175	62,0	1,99
Hepsi	100		50,5	
Test				

Boş hipotez H_0 : Tüm medyanlar eşit

Alternatif hipotez H_1 : En az bir medyan farklı

Metot	SD	H-Değeri	P-Değeri
Düzeltilmemiş bağlar	4	33,09	0,000
Düzeltilmiş bağlar	4	33,09	0,000

(1: Karniyol, 2: İtalyan, 3: Suriye, 4: Anadolu, 5: Kafkas)

EK-8. Aday genlerin determinasyon değerlerinin bal arısı ırklarında farklılık testi (T-testi)

		Levene Varyansların Eşitlik Testi		Ortalamaların eşitliği için t testi				
		F	Sig.	t	sd	Sig. (2- uçlu)	Ortalama Fark	Std. Hata Farkları
Nöroksin-1 Ct	Varyansların eşit olduğu varsayımı	,268	,606	,577	98	,565	,015	,026
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			,569	88,143	,571	,015	,026
Ataksin-3 Ct	Varyansların eşit olduğu varsayımı	,002	,960	,079	98	,937	,027	,339
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			,079	97,698	,937	,027	,337
Atlastin Ct	Varyansların eşit olduğu varsayımı	1,545	,217	,375	98	,708	,186	,494
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			,376	97,518	,707	,186	,493
Beta Aktin Cq	Varyansların eşit olduğu varsayımı	9,189	,003	1,943	98	,055	1,699	,871
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			1,981	93,888	,050	1,693	,854
Nöroksin-1 Cq	Varyansların eşit olduğu varsayımı	,916	,341	2,901	98	,005	1,954	,674
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			2,918	97,957	,004	1,954	,670
Ataksin-3 Cq	Varyansların eşit olduğu varsayımı	2,154	,145	1,437	98	,154	1,098	,764
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			1,451	97,827	,150	1,098	,757

(Devamı Arkada)

EK-8.'in devamı

		Levene Varyansların Eşitlik Testi		Ortalamaların eşitliği için t testi				
		F	Sig.	t	sd	Sig. (2- uçlu)	Ortalama Fark	Std. Hata Farkları
Atlastin Cq	Varyansların eşit olduğu varsayımı	7,617	,007	2,160	98	,033	1,042	,482
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			2,253	72,100	,027	1,042	,463

ÖZGEÇMİŞ

Berkant İsmail YILDIZ
berkantyildizz@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2017-2019	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD, Haysansal Biyoteknoloji BD, Antalya.
Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi
2013-2017	Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta.

ESERLER

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. ERSAL M, **YILDIZ B.İ**, KARABAĞ K, **2019**. Mini Review: The Determination of Hsp Regions in Bumblebee by qPCR. “World Conference on Sustainable Life Sciences”, June 30- July 07, Budapest/Hungary.
2. KARABAĞ K, **YILDIZ B.İ**, **2019**. Possible Roles of Insulin Signaling Pathway in Grooming Behavior. “World Conference on Sustainable Life Sciences”, June 30- July 07, Budapest/Hungary.
3. BENER L, ERSAL M, **YILDIZ B.İ**, ÖZDEMİR D., KARABAĞ K, **2019**. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Tespiti ve Ölçümünde Kullanılan Farklı Gerçek Zamanlı PCR Kimyasallarının Karşılaştırılması. “4. Uluslararası Anadolu Tarım, Gıda, Çevre ve Biyoloji Kongresi”, 20-22 Nisan, Afyon/Türkiye.
4. KARABAĞ K, **YILDIZ B.İ**, **2018**. Oncogenic Viruses in Poultry. “International Poultry Science Congress of WPSA Turkish Branch”, 09-12 May, Niğde-Cappadocia/TURKEY.

5. KARABAĞ K, TÜTEN SEVİM E, **YILDIZ B.İ**, TOPARSLAN E, **2018**. Effect of SNP's on the Secondary Protein Structure of Ghrelin Gene in Long-Term Selected Japanese Quail. "International Poultry Science Congress of WPSA Turkish Branch", 09-12 May, Niğde-Cappadocia/TURKEY.

PROJELER

1. **Araştırmacı, 2019-** . Antalya Habitatında Bulunan *Bombus terrestris dalmatinus* Arılarında Sıcak Şok Proteinleri (Hsp60, Hsp70 ve Hsp90) Bakımından Genetik Potansiyelinin Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi BAPKB, Proje No: FKA-2019-4461. (54.253,28 TL).
2. **Araştırmacı, 2019-** . Bazı Bal Arısı Irklarında Tımar Davranışı ile İlgili Aday Genlerin RT-PCR Yöntemiyle Kantitasyonu. Akdeniz Üniversitesi BAPKB, Proje No: FYL-2019-4245. (16.425,10 TL).
3. **Araştırmacı, 2018-2019**. Afyonkarahisar Yöresi Ticari Yumurtacı Tavuk İşletmelerinde ALV Hastalığının ve Tümör Baskılayıcı Gen Metilasyonlarıyla İlişkisinin Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi BAPKB, Proje No: FBA-2018-3614. (57.389,00 TL).

BURSLAR

- TUBİTAK 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı (2018-2019).