

**BAZI *BOMBUS* LATREILLE, 1802 (HYMENOPTERA:
APIDAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE SİSTEMATİK VE
TRANSKRİPTOM ÇALIŞMALARI**

**SYSTEMATIC AND TRANSCRIPTOME STUDIES ON
SOME SPECIES OF *BOMBUS* LATREILLE, 1802
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

BURCU DAŞER ÖZGİŞİ

PROF. DR. NEVİN KESKİN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

“Deney doğanın kendisidir”

Vandana Shiva

ÖZET

BAZI *BOMBUS* LATREILLE, 1802 (HYMENOPTERA: APIDAE) TÜRLERİ ÜZERİNDE SİSTEMATİK VE TRANSKRİPTOM ÇALIŞMALARI

Burcu DAŞER ÖZGİŞİ

Doktora, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nevin KESKİN

Haziran 2022, xvii+128 sayfa

Kimyasal uyarıların algılanması böceklerin yaşam döngüsü boyunca besin bulma, üreme ve predatörlerden kaçınma gibi hayati kararlarda rol oynamaktadır. Koku alma duyusu, sınırsız kimyasal bilgi spektrumundaki hassas ayırım gücü ve yorumu, böceklerin hayatta kalmalarında doğrudan katkıda bulunan çeşitli davranışsal kararları etkilemektedir. Böcekler esas olarak antenlerinde bulunan koku alma duyu nöronları aracılığı ile uçucu molekülleri tanımlarlar. Bu süreçte kemosensör ailelerden koku reseptörleri (OR), tat/temas reseptörleri (GR), iyonotropik reseptörler (IR), koku bağlayıcı proteinler (OBP), kemosensör proteinler (CSP) ve duyuusal nöron membran proteinlerinin (SNMP) katılımı gereklidir.

Bombus cinsi içerisinde türlerin dil uzunlukları; kısa, orta ve uzun olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Dil uzunluğu besin tercihini dolayısıyla beslenme mekanizmasını

etkileyen faktörlerden birisidir. Bu çalışma kapsamında besin tercihlerinde rol oynayan kemosensör gen ailelerindeki ifade farklılaşmasını belirlemek amacıyla, kısa-dilli *B. (Kallobombus) soroensis* ve uzun-dilli *B. (Subterraneobombus) fragrans* işçi bireylerinin antenlerinde *de novo* transkriptom inşası gerçekleştirilmiştir. Referans temelli biyoinformatik yaklaşımlar ile birlikte *B. soroensis* anten transkriptomunda 96 OR, 9 GR, 17 IR, 11 OBP, 5 CSP ve 1 SNMP; *B. fragrans* anten transkriptomunda ise 107 OR, 9 GR, 18 IR, 10 OBP, 5 CSP ve 2 SNMP geninin ifadesi tespit edilmiştir. Kemosensör gen ailelerinin *Bombus* cinsi filogenisi inşa edilmiş ve her bir gen ailesinde seçici baskılar belirlenmiştir. Karşılaştırmalı analizler sonucunda *B. soroensis* ve *B. fragrans* anteninde OR, GR, IR, OBP ve CSP ifadelerinde türe özgü ligand duyarlılıklarındaki farklılaşmalar ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Bombus*, Transkriptom, RNAseq, Koku reseptörleri, Anten

ABSTRACT

SYSTEMATIC AND TRANSCRIPTOME STUDIES ON SOME SPECIES OF *BOMBUS* LATREILLE, 1802 (HYMENOPTERA: APIDAE)

Burcu DAŞER ÖZGİŞİ

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nevin KESKİN

June 2022, xvii+128 pages

The perception of chemical stimuli plays a role in vital decisions such as feeding, reproduction, and avoidance of predators throughout the life cycle of insects. The sense of smell, the sensitive precise discrimination, and interpretation in an unlimited spectrum of chemical information influence a variety of behavioral decisions that directly contribute to the survival of insects. Insects identify volatile molecules mainly through olfactory sensory neurons located in their antennae. In this process, the participation of odorant receptors (ORs), gustatory receptors (GRs), ionotropic receptors (IRs), odorant binding proteins (OBPs), chemosensory proteins (CSPs), and sensory neuron membrane proteins (SNMPs) from chemosensory families are required.

The tongue length of the species of *Bombus* is examined in three groups; short, medium, and long. Tongue length is one of the main factors affecting food preference and the

feeding mechanism. In this study, *de novo* transcriptome assembly was carried out in the antennae of short-tongued *B. (Kallobombus) soroensis* and long-tongued *B. (Subterraneoombus) fragrans* workers to determine the expression variation in chemosensory gene families that play a role in food preferences. With reference-based bioinformatics approaches, 96 ORs, 9 GRs, 17 IRs, 11 OBPs, 5 CSPs, and 1 SNMP genes from the antennal transcriptome of *B. soroensis*; 107 ORs, 9 GRs, 18 IRs, 10 OBPs, 5 CSPs and 2 SNMPs genes from the antennal transcriptome of *B. fragrans* were detected. The genus phylogeny of chemosensory gene families was constructed and selection pressures were determined in each gene family. As a result of comparative analyzes, differences in species-specific ligand susceptibility in ORs, GRs, IRs, OBPs, and CSPs expressions in *B. soroensis* and *B. fragrans* antennae were revealed.

Keywords: *Bombus*, Transcriptomics, RNAseq, Odorant receptors, Antennae

TEŞEKKÜR

Tez alıŐması sűresince desteklerini ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi birikimini ve tecrűbesini her zaman aktaran tez danıŐmanım Prof. Dr. Nevin KESKİN'e,

Lisans eğitimimden itibaren bana inanan, bilgisini sabırla aktaran ve bu tez çalışması için gerekli altyapıyı özveri ile sağlayan Dr. ŐĐr. Őyesi Fatih DİK MEN'e,

Tez alıŐması sűresince bilgileri ile yol gűstereci olan tez izleme komitesi űyeleri Prof. Dr. Mahmut KABALAK ve Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ'a,

Laboratuvar olanaklarını sağlayan ve değerli bilgiler edinmeye katkıda bulunan Dr. ŐĐr. Őyesi Vahap ELDEM'e,

Laboratuvar çalışmalarında destekleri için Tunç DABAK ve Harun Ege İNCİ'ye,

Manevi ve bilimsel katkılarından dolayı iĐdem ŐZENİRLER, B. Seçil DUREL, Deniz MERCAN, Mervenur AYDEMİR, H. Bilal AYDEMİR, Elif YILDIZ ve Hűlya ÇOLAK'a,

Hayatım boyunca yanıbaŐımda duran, tűm özveri ve fedakârlıkları ile beni destekleyen Suzim'e, anneme ve babama,

Hayatımı bir yerden baŐka bir yere eviren, okul hevesime benden çok sabır gűsteren yol arkadaŐım KurtuluŐ ŐZGİŐİ'ye teŐekkűrlerimi borç bilirim.

Bu araŐtırmada yer alan çalıŐmaların bir kısmı TŪBİTAK ULAKBİM, Yűksek BaŐarım ve Grid Hesaplama Merkezi'nde (TRUBA kaynaklarında) gerçekleŐtirilmiŐtir.

Bu tez, İstanbul Őniversitesi Bilimsel AraŐtırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin FDP-2020-36407 numaralı projesi ve TŪBİTAK 118Z386 numaralı 3501 projesi ile desteklenmiŐtir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Böceklerde Periferik Kimyasal Uyarıların Alınması.....	4
2.1.1. Koku Reseptörleri (OR).....	6
2.1.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR).....	10
2.1.3. İyonotropik Reseptörler (IR)	12
2.1.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP).....	14
2.1.5. Kemosensör Proteinler (CSP).....	15
2.1.6. Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP).....	16
2.2. Arıların Önemi	16
2.2.1. <i>Bombus</i> Cinsine Ait Genel Bilgiler	18
2.2.2. <i>Bombus</i> Arılarında Dil Uzunluğu ve Beslenme İlişkisi	20
2.3. Tezin Kapsamı ve Amacı.....	23
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	26
3.1. Arazi Çalışması ve Örneklem	26
3.2. RNA İzolasyonu	27
3.3 RNA-Dizileme Kütüphanelerinin Kurulması ve Dizileme Reaksiyonu.....	27

3.4. <i>De novo</i> Transkriptom Analizi ve Kalite Kontrolü	28
3.5. Açık Okuma Çerçevelerinin Belirlenmesi	28
3.6. Transkriptom Bütünlüğü ve Kalitesinin Kontrolü	28
3.7. Gen Ontoloji Analizi.....	29
3.8. Aday Koku Genlerinin Annotasyonu	29
3.9. Filogenetik Analizler	30
3.10. Genetik Uzaklık Çalışmaları.....	30
3.11. Seçim Analizleri	31
3.12. İfade Analizleri	31
4. SONUÇLAR.....	33
4.1. Tür Teşhisi ve Habitat Bilgisi.....	33
4.2. RNA İzolasyonu	33
4.3. RNA-Dizileme Bulguları.....	34
4.4. <i>De novo</i> Transkriptom Analiz Bulguları ve Transkriptom Bütünlüğü	35
4.5. Protein Kodlayan Transkriptlere Ait Bulgular.....	36
4.6. Transkriptom Bütünlüğü ve Kalitesinin Kontrolü.....	36
4.7. Gen Ontoloji (GO) Analiz Bulguları	38
4.8. Aday Koku Genlerinin Annotasyonuna Dair Bulgular.....	40
4.8.1. Koku Reseptörleri (OR).....	41
4.8.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR).....	44
4.8.3. İyonotropik Reseptörler (IR)	46
4.8.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP)	48
4.8.5. Kemosensör Proteinler (CSP).....	50
4.8.6. Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP).....	52
4.9. Genetik Uzaklık Çalışmaları.....	53
4.10. Seçim Analizleri	57
4.11. İfade Analizleri	64

5. TARTIŞMA.....	67
5.1. Koku Reseptörleri (OR).....	67
5.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR).....	71
5.3. İyonotropik Reseptörler (IR)	72
5.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP), Kemosensör Proteinler (CSP) ve Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP)	74
5.5. Sonuç	76
6. KAYNAKLAR	78
EKLER.....	110
EK 1 – Koku reseptörlerine (OR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri	110
EK 2 – Tat/Temas reseptörlerine (GR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri	118
EK 3 – İyonotropi reseptörlerine (IR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri	119
EK 4 – Koku bağlayıcı proteinlere (OBP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri	121
EK 5 – Kemosensör proteinlere (CSP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri	122
EK 6– Duyusal nöron membran proteinlerine (SNMP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX eşleşmeleri	122
EK 7– Koku bağlayıcı proteinlerde (OBP) SignalP ile tahmin edilen sinyal ve kesim dizilerine ait bilgiler.....	123
EK 8– Kemosensör proteinlerde (CSP) SignalP ile tahmin edilen sinyal ve kesim dizilerine ait bilgiler.....	123
EK 9– Şekil 4.19.’da belirtilen filogenetik ağaç inşasında kullanılan ve NCBI’den alınan dizilere ait erişim bilgileri.....	124
EK 10– Gen ailelerine ait klavlarda tespit edilen global ω değerleri	125
ÖZGEÇMİŞ.....	126

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen koku reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).	8
Çizelge 2.2.	Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen tat reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).	10
Çizelge 2.3.	Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen iyonotropik reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).	13
Çizelge 2.4.	Tez çalışmasına konu olan türlere ait dil uzunluğu ve IUCN (Nesli Tükenme Tehlikesi Altında Olan Türlerin Kırmızı Listesi) kategorisi bilgileri (LC: asgari endişe, EN: tehlikede) (Williams ve ark., 2008; Anonim 2).	25
Çizelge 3.1.	RNA izolasyonu için kullanılan bireylere ait bilgiler.	27
Çizelge 4.1.	<i>B. soroensis</i> ve <i>B. fragrans</i> türlerinin üç tekrarlı anten dokusundan izole edilen RNA örneklerinin Qubit 4.0 RNA florometrik ölçüm sonucu.	34
Çizelge 4.2.	<i>B. soroensis</i> ve <i>B. fragrans</i> türlerinin üç tekrarlı anten dokusundan oluşturulan kütüphanelerden elde edilen yüksek kaliteli RNA dizilerine ilişkin sonuçları.	35
Çizelge 4.3.	<i>De novo</i> transkriptom inşası ve kalite değerlendirmesi istatistikleri	35
Çizelge 4.4.	<i>B. soroensis</i> ve <i>B. fragrans</i> için inşa edilen transkript kütüphanesine, ilgili türün her bir okuma dosyasının hizalanması ile elde edilen hizalama sonuçları.	36
Çizelge 4.5.	Yedi <i>Bombus</i> türünde koku reseptörlerinin ortalama aminoasit uzunluğu (\pm SS) ve TMHMM tarafından tahmin edilen ortalama transmembran alanları (\pm SS) (<i>B. terrestris</i> karşılaştırma için eklenmiştir.)	41
Çizelge 4.6.	Yedi <i>Bombus</i> türünde her kemosenör gen ailesi için pozitif seçim altındaki dal sayısı ve yüzdeleri.	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1. *Bombus terrestris* türü toplayıcılarının (forager) taramalı elektron mikrografları. A. flagellum bir medial segmentinin ventral görünümü B. trichoid sensillum tip A (TA), tip B (TB) ve placoid sensillum (Pl). C. coeloconic (Co), ampullaceum (Am), trichoid tip B (TB) ve setae (Se) D. basiconic sensillum (Ba) (Anfora ve ark., 2011'den alınmıştır). 5
- Şekil 2.2. Böceklerde koku algılama sürecinin şematik görünümü. Koku maddeleri sensillum gözeneklerine nüfuz ettiğinde OBP'ler tarafından bağlanır ve çözünür hale getirilir. Bağlanan kokular sensillum lenf yoluyla taşınır ve son olarak membrana bağlı OR'leri aktive ettikleri duyuusal dendritlere gelirler. Sinyal iletimi ile tespit edilen/algılanan uyarana karşı böcekte bir tepki davranışı oluşur. OBP'lere bağlı olmayan kokular ise hızla bozular (Brito, Moreira ve Melo, 2016'dan Türkçeleştirilerek alınmıştır). 7
- Şekil 2.3. Hexapoda evrimi. Bitki ve böcek evrimindeki önemli olaylar, böcek koku alma reseptörlerinin ortaya çıkışı. IR'ler ve GR'lerin kökeni böceklerden daha eski iken, OR'ler ve Orco böceklerin evrimi sırasında evrimleşmiştir ve böcek kladı dışında bulunmamaktadır (Missbach ve ark., 2014'den Türkçeleştirilerek alınmıştır). 9
- Şekil 2.4. Karbondioksit duyarlı GR'ler (Sokolinskaya ve ark., 2020' den alınmıştır). 11
- Şekil 2.5. IR'ler, IRcoY yardımcı reseptör proteini ve IRX reseptör proteininden oluşan heterotetramerlerdir (Sokolinskaya ve ark., 2020' den alınmıştır). 14
- Şekil 2.6. *Bombus* türleri arasındaki filogenetik ilişkiler A. türlerin populasyonlarının durumu (Arbetman ve ark., 2017'den alınmıştır). B. Ortalama polen diyet bileşimi farklılığı (Bray-Curtis farklılığı, 0 = tamamen benzer, 1 = tamamen farklı), her tür için, Fabaceae'den oluşan diyet yüzdesi (Wood ve ark., 2021'den alınmıştır). 22

Şekil 3.1.	Tez çalışmasının akışını gösteren şema.	26
Şekil 4.1.	<i>B. soroensis</i> ve <i>B. fragrans</i> türlerinden elde edilen kodlama yapan diziler ve peptit dizilerinin BUSCO Arthropoda kütüphanesinde ortolog genlere dayanarak bütünlüğünün değerlendirilmesi.	37
Şekil 4.2.	Arthropoda kütüphanesinde korunmuş protein domainlerine (keman grafiği) <i>A. B. soroensis</i> ve <i>B. B. fragrans</i> türlerinden elde edilen peptit dizilerinin DOGMA pfam v32 Arthropoda kütüphanesine dayanarak bütünlüğünün (kırmızı nokta) ölçülmesi. Koyu mavi çizgi, Arthropoda proteomlarının medyan DOGMA skorunu temsil etmektedir.	38
Şekil 4.3.	<i>B. soroensis</i> anten transkriptom verisinde Gen Ontoloji (GO) anotasyonu. GO sınıflandırmasının 2. seviyesinde (level 2) temsil edilen (A) biyolojik süreç (BP), (B) moleküler işlev (MF) (C) hücre bileşen (CC) kategorileri ve (D) MF 3. seviye (level 3) bağlayıcı (binding) alt kategorileri.	39
Şekil 4.4.	<i>B. fragrans</i> anten transkriptom verisinde Gen Ontoloji (GO) anotasyonu. Gen Ontoloji (GO) anotasyonu. GO sınıflandırmasının 2. seviyesinde (İng. level 2) temsil edilen (A) biyolojik süreç (BP), (B) moleküler işlev (MF) (C) hücre bileşen (CC) kategorileri ve (D) MF 3. seviye (İng. level 3) bağlayıcı (İng. binding) alt kategorileri.	40
Şekil 4.5.	Bombus arılarında kemoreseptör repertuarı. <i>B. terrestris</i> Sadd ve ark. (2015) çalışmasından alınmıştır.	40
Şekil 4.6.	<i>Bombus</i> türleri OR amino asit dizilerinin N-terminalde GhWP ve C-terminalde SYFT korunmuş motifi.	42
Şekil 4.7.	<i>A. Bombus</i> türlerinde OR gen ailesi filogenisi. Dendogram Orco kladından köklendirilmiştir. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır. Bter: <i>B. terrestris</i> , Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	43
Şekil 4.8.	Bombus arılarında OR kladlarının boyutu. <i>B. terrestris</i> Sadd ve ark. (2015) çalışmasından alınmıştır.	44

Şekil 4.9.	<i>Bombus</i> türleri GR amino asit dizilerinin C-terminalinde korunmuş TYhhhhhQF motifi.	45
Şekil 4.10.	A. <i>Bombus</i> türlerinde GR gen ailesi filogenisi. Dendogram Gr-1/Gr-2 kladından köklendirilmiştir. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır. Bter: <i>B. terrestris</i> , Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	46
Şekil 4.11.	A. <i>Bombus</i> türlerinde IR gen ailesi filogenisi. Dendogram IR25a-IR8a kladından köklendirilmiştir B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Bter: <i>B. terrestris</i> , Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	47
Şekil 4.12.	<i>B. fragrans</i> OBP2 amino asit dizisinde SignalP yazılımı kullanılarak tespit edilen sinyal dizisi.	48
Şekil 4.13.	Koku bağlayıcı proteinlerde altı sistein kalıntısı	49
Şekil 4.14.	<i>Bombus</i> türlerinin koku bağlayıcı proteinlerinde tespit edilen A. C2-X3-C3 B. C5-X8-C6 motifi.....	49
Şekil 4.15.	A. <i>Bombus</i> türlerinde OBP gen ailesi filogenisi. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Bter: <i>B. terrestris</i> , Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	50
Şekil 4.16.	<i>B. soroensis</i> CSP6 amino asit dizisinde SignalP yazılımı kullanılarak tespit edilen sinyal dizisi.	51
Şekil 4.17.	<i>Bombus</i> türlerinin kemoreseptör proteinlerinde dört sistein kalıntısı (C1-X6-C2-X18-C3-X2-C4).....	51
Şekil 4.18.	A. <i>Bombus</i> türlerinde CSP gen ailesi filogenisi. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır.	

	Bter: <i>B. terrestris</i> , Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	52
Şekil 4.19.	Farklı türlere ait SNMP gen ailesi filogenisi. <i>B. fragrans</i> ve <i>B. soroensis</i> anten transkriptom verisinde tespit edilen SNMP'ler kırmızı olarak belirtilmiştir.	53
Şekil 4.20.	OR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bter: <i>B. terrestris</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	54
Şekil 4.21.	GR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bter: <i>B. terrestris</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	54
Şekil 4.22.	IR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bter: <i>B. terrestris</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	55
Şekil 4.23.	OBP gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: <i>B. bifarius</i> , Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bter: <i>B. terrestris</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	56
Şekil 4.24.	CSP gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bfra: <i>B. fragrans</i> , Bimp: <i>B. impatiens</i> , Bsor: <i>B. soroensis</i> , Bter: <i>B. terrestris</i> , Bvan: <i>B. vancouverensis</i> , Bvos: <i>B. vosnesenskii</i>	56
Şekil 4.25.	Her bir gen ailesinde belirlenen kladların global ω oranı.	58
Şekil 4.26.	OR gen ailesi 9-exon kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.	59
Şekil 4.27.	OR gen ailesi J kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.	60
Şekil 4.28.	OR gen ailesi L kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.	61
Şekil 4.29.	OR gen ailesi A. H kladı B. V kladı C. Orphan kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.	62

- Şekil 4.30. GR gen ailesi A. Gr-6 kladı B. Gr-8/9 kladı. epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir. 63
- Şekil 4.31. A. *OBP4* kladı B. *CSP7* kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir. 64
- Şekil 4.32. *B. fragrans* ve *B. soroensis* anten transkriptom verisinde kemosensör ile ilgili farklı ifade ($\log_2FC \geq 2$, adjusted p-value < 0.01) profili gösteren genlerin volkan grafiği. Koku reseptörleri (Or) (yeşil), iyonotropik reseptörler (IR) (sarı), koku bağlayıcı proteinler (OBP) (kırmızı) ve kemosensör proteinler (CSP) (mavi) renk ile gösterilmiştir. 66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
m	Metre
ml	Mililitre
ng	Nanogram
\$	Dolar
€	Euro
ω	omega
μl	Mikrolitre
μg	Mikrogram

Kısaltmalar

9-ODA	9-okso-2-dekenoik asit
Aaeg	<i>Aedes aegypti</i>
Agam	<i>Anopheles gambiae</i>
Amel	<i>Apis mellifera</i>
Aflo	<i>Apis florea</i>
Bbif	<i>Bombus bifarius</i>
bç	Baz çifti
Bfra	<i>Bombus fragrans</i>
Bimp	<i>Bombus impatiens</i>
Bmor	<i>Bombyx mori</i>

BP	Biyolojik süreç
Bter	<i>Bombus terrestris</i>
Bsor	<i>Bombus soroensis</i>
Bvan	<i>Bombus vancouverensis</i>
Bvos	<i>Bombus vosnesenskii</i>
CC	Hücresel bileşen
cds	Kodlama yapan diziler
CHC	Uzun zincirli hidrokarbon
CO ₂	Karbondioksit
CSP	Kemosensör proteinler
Dmel	<i>Drosophila melanogaster</i>
F	Fenilalanin
G	Glisin
GO	Gen ontoloji
GPCR	G protein-bağlı reseptörler
GR	Tat reseptörleri
Harm	<i>Helicoverpa armigera</i>
IR	İyonotropik reseptörler
iGluR	İyonotropik glutamat reseptörleri
MF	Moleküler işlev
OBP	Koku bağlayıcı proteinler
OSN	Koku alma duyu nöronu
OR	Koku reseptörleri
ORF	Açık okuma çerçevesi
P	Prolin
PBP	Feromon bağlayıcı proteinler

PR	Feromon reseptörleri
Q	Glutamin
QMP	Kraliçe mandibular feromonları
S	Serin
SNMP	Duyusal nöron membran proteini
SS	Standart sapma
T	Treonin
W	Triptofan
Y	Tirozin

1. GİRİŞ

Polinatörler, karasal ekosistemde hem yabani bitki topluluklarının (Aguilar ve ark., 2006) hem de tarımsal üretimin sürdürülmesinde (Klein ve ark., 2007) kilit bir ekosistem hizmetine aracılık etmektedirler. Böcekler, özellikle de arılar, çoğu tarımsal ürünün ve yabani bitkinin birincil tozlaştırıcısıdır (Potts ve ark., 2010). Yabani bitkilerin %87,5'i böcek tozlaşmasından yararlanmakta ve bunun da %20'sini arı tozlaşması oluşturmaktadır (Ollerton, Winfree ve Tarrant, 2011). Dünyada doğrudan insan tüketimi için kullanılan 124 ana ürünün %70'i (87 ürün) polinatörlere bağımlıdır (Gallai ve ark., 2009). Böceklerle tozlaşma, hem bir ekosistem hizmeti hem de dünyanın her yerindeki çiftçiler tarafından bitkisel üretim için yaygın olarak kullanılan bir üretim uygulamasıdır. Tüm dünyada bitkisel üretimde böceklerle tozlaşmanın ekonomik değeri 153 milyon € (Gallai ve ark., 2009) iken, ABD'de ise yabani böcekler tarafından sağlanan ekosistem hizmet değerinin yıllık 57 milyar \$ olduğu tahmin edilmektedir (Losey ve Vaughan, 2006).

Küresel ölçekte böceklerin bolluğunda ve dağılımında görülen değişiklikler son birkaç yıldır raporlanmaktadır (Hallmann ve ark., 2017; Sánchez-Bayo ve Wyckhuys, 2019). Polinatör böcekler içerisinde baskın olmaları sebebi ile yabani arılar büyük bir ilgi görürken, bunların içerisinde de en çok çalışılan türler bombus arılarıdır (*Bombus*). Bombus arısının tür zenginliği ve bolluğundaki düşüşler çok faktörlüdür. Özellikle Avrupa'da yaban arısı popülasyonlarını etkileyen ana etmenler, arazi kullanımının yoğunlaşması ile habitat kaybı ve buna bağlı olarak çiçek (besin) kaynaklarının azalmasıdır (Goulson, Lye ve Darvill, 2008; Williams ve Osborne, 2009; Le Féon ve ark., 2010). Diğer yandan iklim değişikliği, pestisitler, fungusitler, patojenler ve genetik faktörlerin kombinatoryal etkileri de bombus arılarının kayıplarına katkıda bulunmaktadır (Sánchez-Bayo ve Goka, 2014; Goulson ve ark., 2015; Kerr ve ark., 2015).

Arılar, besin kaynaklarını (çiçekleri) ararken ve seçerken görsel ve koku ipuçlarını kullanırlar (Lunau ve Maier, 1995; Dyer ve ark., 2016). Toplayıcı arının seçimi doğuştan gelen tercihlerle şekillenirken, belirli renk, şekil ve kokular tercih edilmektedir

(Biesmeijer ve Slaa, 2004; Raine ve Chittka, 2007; Howard ve ark., 2019). Bu doğuştan gelen tercihler, türler arasında farklılık göstermektedir. Sosyal arılarda, besin kaynağı seçimi bireysel yiyecek arama tercihlerinin yanı sıra büyük ölçüde sosyal bilgilere dayanmaktadır (Koethe ve ark., 2020). Bal arıları, arı dansı yaparak besin kaynağı için yön ve mesafe bilgisi sağlarken, aynı zamanda çiçek kokusu ve tadı hakkında da bilgi verir (von Frisch ve Frisch, 1967; Wenner, Wells ve Johnson, 1969; Farina, Grüater ve Díaz, 2005). Buna karşılık, bombus arıları, besin kaynakları hakkında coğrafi bilgi iletmezler, yalnızca ödüllendirici çiçek türlerinden yuva arkadaşlarına koku bilgisi sağlayabilirler (Molet, Chittka ve Raine, 2009).

Bombus arılarında görülen populasyon azalmalarının tür düzeyinde homojen olmaması, dil uzunluğu, polen tercihi, beslenme aralığı ve populasyon düşüşleri arasındaki ilişki ile ilgili bilim dünyasında süregelen tartışmalara neden olmuştur (Goulson ve Darvill, 2004; Goulson ve ark., 2005; Williams, 2005; Kleijn ve Raemakers, 2008; Williams ve Osborne, 2009). Dil uzunluğu, çiçek seçimi (Prÿs-Jones, 1982; Kawakita ve ark., 2004), tozlaşma verimliliği (Harder, 1983; Shimizu ve ark., 2014) ve bitki polinatör ağlarının yapısı (Prÿs-Jones, 1982; Kawakita ve ark., 2004) gibi arı ekolojisinde önemli bir role sahiptir. Genetik ve moleküler biyoloji alanlarında büyük ilerlemeler, iki bombus arısı türü referans genomunun yayınlanması (*B. terrestris* ve *B. impatiens*) (Sadd ve ark., 2015) ve ardından peşi sıra gelen diğer *Bombus* türlerine ait genomik (Kent ve ark., 2018; Heraghty ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020; Crowley, Waterhouse ve Brown, 2021) ve transkriptomik bilgiler (Xu ve ark., 2013; Colgan ve ark., 2011, 2019; Liu ve ark., 2020) çeşitli çevresel faktörlere karşı bombus arılarının tepkilerini anlamada yeni fırsatlar sunmaktadır.

Hayvanlar, çevrelerinin fizyokimyasal özelliklerini tespit edebilmek için çeşitli duyu organları geliştirmişlerdir. Çevresel faktörlerin algılanmasında, her bir duyu sisteminde yer alan ve belirli bir uyarana (görme duyusunda elektromanyetik radyasyon, işitme duyusunda havanın mekanik titreşimleri, koku ve tat duyularında kimyasallar) duyarlı olan küçük bir doku bölgesi bulunmaktadır (Sokolinskaya ve ark., 2020). Çok hücreli organizmalarda, bu tür özel doku yapılarına reseptör denilmektedir. Böceklerin çevrelerindeki sinyalleri algılamasında ve yorumlamasında binlerce kemosenör içeren

sensilla, büyük role sahiptir (Steinbrecht, 1996). Sensilla esas olarak antenlerde yer alırken, her koku algılayıcı sensillum, bir dizi koku alma duyu nöronu (OSN'ler) ve ilgili bilgi kimyasallarının hassas ve spesifik çevresel tanınmasını sağlayan proteinleri ortaklaşa ifade eden ilişkili destek hücreleri ile donatılmıştır (Benton, Vannice ve Vosshall, 2007).

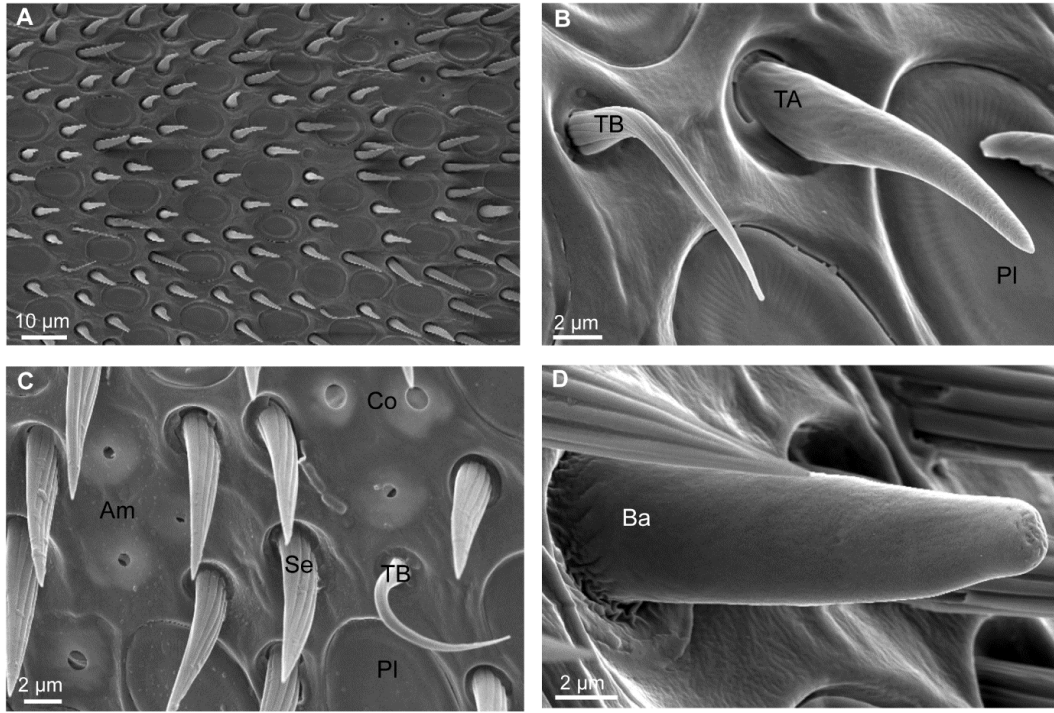
Böceklerin kemosensör repertuvarında altı farklı gen ailesi belirlenmiştir. Kemosensör reseptör proteinleri; koku reseptörleri (OR), tat reseptörleri (GR) ve iyonotropik reseptörlerdir (IR) (Breer ve ark., 2019). Diğer taraftan koku moleküllerinin algılanması için sinyal oluşumunda rol alan ve reseptör olmayan proteinler de görev almaktadır; koku bağlayıcı proteinler (OBP), kemosensör proteinler (CSP) ve duysal nöron membran proteinleri (SNMP) (Sánchez-Gracia, Vieira ve Rozas, 2009; Cassau ve Krieger, 2021).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Böceklerde Periferik Kimyasal Uyarıların Alınması

Böcekler, hemen hemen tüm habitatlarda ve ekosistemlerde yaşayan, son derece başarılı ve oldukça çeşitli bir hayvan grubudur (Gullan ve Cranston, 2014). Günümüzde kayıt altına alınmış yaklaşık 1 milyon böcek türü bulunmakla birlikte tahminler 5.5 milyon türün olduğunu ileri sürmektedir (Stork, 2018). Kimyasal uyarıların algılanması, böceklerin yaşam döngüsü boyunca, yiyecek kaynağının bulunması, çiftleşme, yumurtlama alanı seçimi ve predatörlerden kaçmayı sağlamada önemli rol oynamaktadır (Fleischer ve ark., 2018). Böceklerin sınırsız kimyasal bilgi spektrumundaki hassas ayırım gücü ve yorumu, hayatta kalmalarında doğrudan katkıda bulunan çeşitli davranışsal kararları etkilemektedir.

Böceklerin çevrelerindeki sinyalleri algılamasında ve yorumlamasında yüz ile on binlerce kemosenör içeren sensilla büyük role sahiptir (Steinbrecht, 1996). Sensilla esas olarak antenlerde (Şekil 2.1.) yer alırken diğer vücut parçalarında da (maksiller palp, labium, kanat uçları, bacaklar, ovipozitör) daha az yoğun olarak bulunmaktadır (Suh, Bohbot ve Zwiebel, 2014; Cassau ve Krieger, 2021). Sensilla, trichoid, basiconic, coeloconic, campaniform, placoid ve ampullaceum olarak sınıflandırılan farklı şekillere sahiptir (Nation, 2002). Placoid, trichoid ve basiconic sensilla kemoreseptörlerdir (Snodgrass, 1956; Shanbhag, Müller ve Steinbrecht, 1999). Coeloconic ve ampullaceum sensilla nemi tespit ederken (Kuwabara ve Takeda, 1956; Reborra ve ark., 2007) campaniform sensilla sıcaklık, CO₂ konsantrasyonu ve nemin algılanmasıyla ilgilidir (Dietz ve Humphreys, 1971; Must ve ark., 2006). Böceklerin antenlerindeki sensilla tipi, bolluğu ve dağılımı, böceğin davranışı için kemosenör tespiti ihtiyacına bağlıdır (De Freitas Fernandes, Pimenta ve Linardi, 2004; Faucheux, Kristensen ve Yen, 2006).



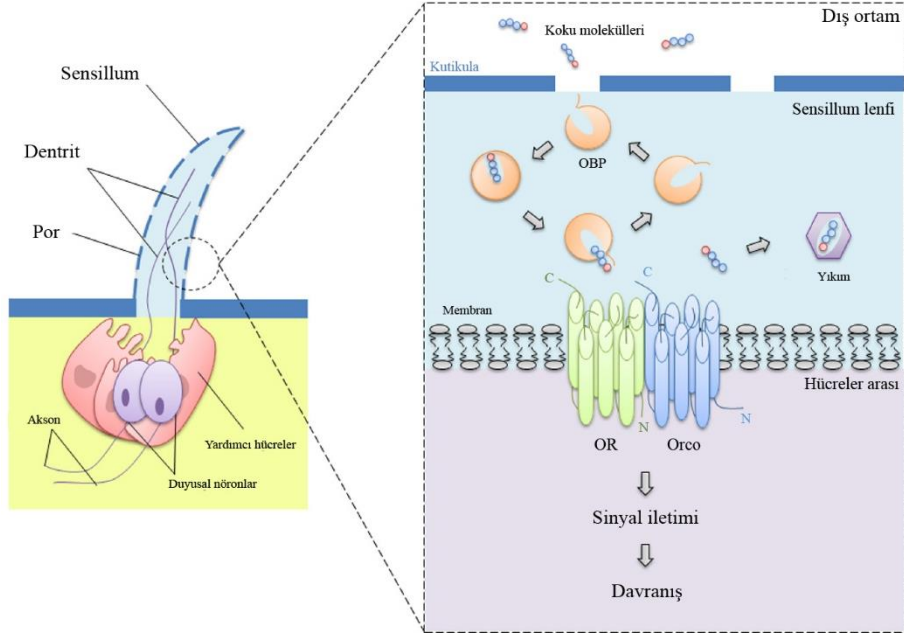
Şekil 2.1. *Bombus terrestris* türü toplayıcılarının (forager) taramalı elektron mikrografları. A. flagellum bir medial segmentinin ventral görünümü B. trichoid sensillum tip A (TA), tip B (TB) ve placoid sensillum (PI). C. coeloconic (Co), ampullaceum (Am), trichoid tip B (TB) ve setae (Se) D. basiconic sensillum (Ba) (Anfora ve ark., 2011'den alınmıştır).

Böceklerde altı farklı gen ailesinin koku ve tat alma mekanizması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çeşitli semiyokimyasalları ve çevresel kokuları tanımada ve ayırt etmede, transmembran reseptörleri içerisinde yer alan koku reseptörleri (OR'ler), tat reseptörleri (GR'ler) ve iyonotropik reseptörler (IR'ler) görev alır (Hansson ve Stensmyr, 2011). Oldukça hidrofobik olan uçucu moleküllerin duyu nöronlarına ulaşmadan önce çözünmesi ve ardından dış ortamdan kemosenör nöronlarına taşınması gerekmektedir. Bu görev, kemosenilla lenfide yüksek oranda bulunan, koku bağlayıcı proteinler (OBP'ler) ve kemosenör proteinler (CSP'ler) olmak üzere iki ana aileye ait küçük çözünür proteinler tarafından gerçekleştirilmektedir (Vogt ve Riddiford, 1981; Gong ve ark., 2012). Diğer taraftan feromona duyarlı OSN'lerin dendritik membranlarında bol miktarda duyuusal nöron membran proteini (SNMP'ler) bulunduğu belirlenmiştir (Rogers ve ark., 1997). Feromona duyarlı OSN'lerdeki ifadeleri ve CD36 ailesi proteinleriyle olan açık evrimsel ilişkilerine dayalı olarak lipofilik bileşiklerin transmembran taşınmasında,

OBP/feromon komplekslerinin membrana kenetlenmesinde ve feromonların koku alıcılarına transferinde SNMP'lerin aracılık eden koreseptörler olarak işleve sahip olabileceği düşünülmektedir (Vogt, 2003).

2.1.1. Koku Reseptörleri (OR)

Böcek OR'leri ilk olarak *Drosophila melanogaster*'de tanımlanıp karakterize edilmiştir (Clyne ve ark., 1999). Böcek OR'lerinin, omurgalılarda bulunan OR'lere kıyasla ters bir topoloji ile yedi zar proteinine bağlı G protein-bağlı reseptörler (GPCR'ler) olduğu düşünülse de (Benton ve ark., 2006), günümüzde genel olarak böcek OR'lerinin, böcek GR'lerinden köken aldığı kabul edilmektedir (Missbach ve ark., 2014). OR'ler, seçici olmayan katyon kanalları olarak işlev gören Orco ile heteromerik kompleksler oluşturarak kimyasal sinyalleri iletir (Sato ve ark., 2008; Wicher ve ark., 2008). Çalışmalar, her iki proteinin de OR/Orco komplekslerinde iyon gözenek oluşumuna katıldığını göstermektedir. Ne Orco ne de OR dizileri, diğer iyon kanallarında bilinen dizilerle homoloji göstermediğinden, böcek OR/Orco kompleksleri yeni yapısal bir alanla donatılmıştır (Sato ve ark., 2008; Nakagawa ve ark., 2012). Öte yandan, G protein aracılı transdüksiyon yollarının böcek antenlerinin OSN'lerinde de ifade edildiği tespit edilmiştir (Miura ve ark., 2005; Rützler, Lu ve Zwiebel, 2006; Boto, Gomez-Diaz ve Alcorta, 2010). Bu bulgulara göre önerilen model; OR'lerin aktivasyonu hızlı bir iyonotropik tepkiye neden olmakta ve bunu daha yavaş ama daha kesin bir metabotropik reaksiyon izlemektedir (Nakagawa ve Vosshall, 2009). OR'lerin yeterli bileşiklerle aktivasyonu, ilgili nöronların depolarizasyonu ile sonuçlanır ve kemo-elektriksel bilgi üretilir. Bu sinyaller anten lobuna ardından böcek beynine iletilerek deşifre edilir (Şekil 2.2.). Her OSN genellikle tek bir OR'yi ifade etmektedir, ancak çalışmalar bazı OSN'lerde birden fazla OR'nin etkin olduğunu göstermiştir (Dobritsa ve ark., 2003; Hallem, Ho ve Carlson, 2004; Goldman ve ark., 2005; Koutroumpa ve ark., 2014).



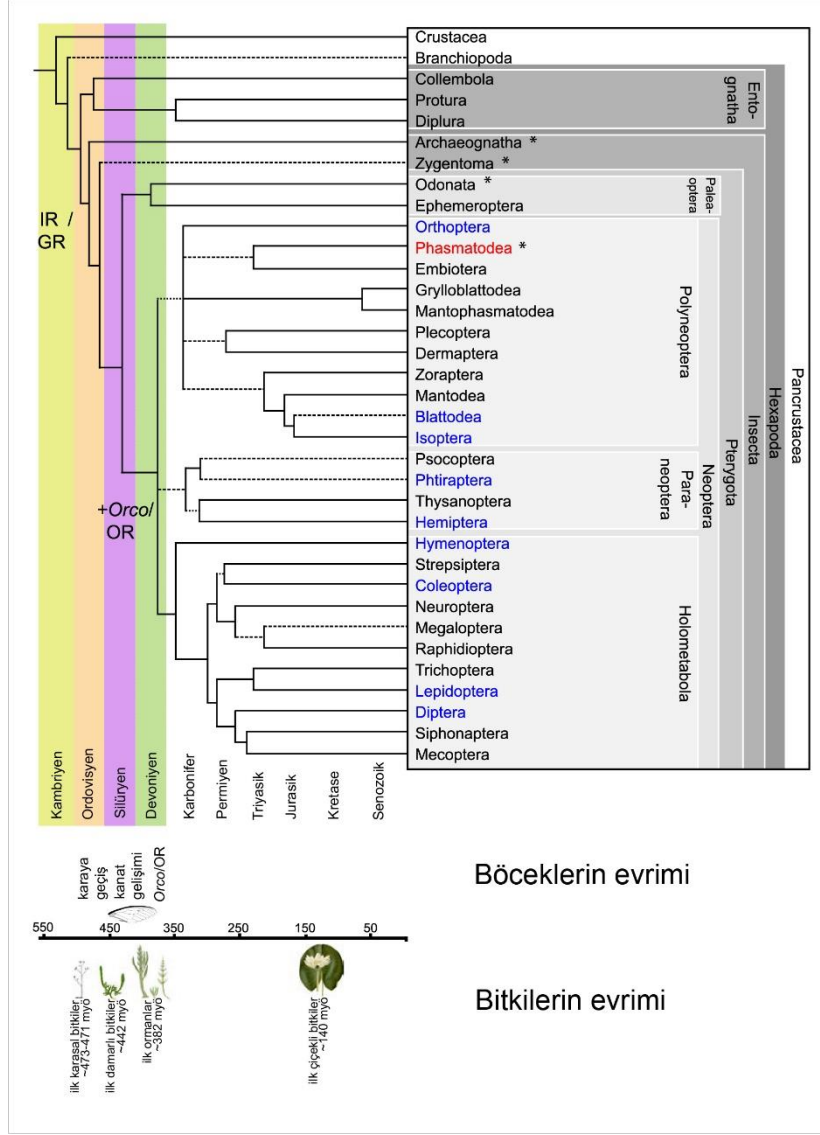
Şekil 2.2. Böceklerde koku algılama sürecinin şematik görünümü. Koku maddeleri sensillum gözeneklerine nüfuz ettiğinde OBP'ler tarafından bağlanır ve çözünür hale getirilir. Bağlı kokular sensillum lenf yoluyla taşınır ve son olarak membrana bağlı OR'leri aktive ettikleri duyuşal dendritlere gelirler. Sinyal iletimi ile tespit edilen/algılanan uyarana karşı böcekte bir tepki davranışı oluşur. OBP'lere bağlı olmayan kokular ise hızla bozular (Brito, Moreira ve Melo, 2016'dan Türkçeleştirilerek alınmıştır).

Bazı koku reseptörleri geniş yelpazede koku maddesine tepki veren "genel" OR'ler olarak tanımlanırken, küçük koku setlerine cevap verenler ise "spesifik" OR'ler olarak tanımlanmaktadır (Carey ve Carlson, 2011). Ekolojik olarak önemli ve spesifik OR'ler içerisinde; bal arılarında (*A. mellifera*) kraliçe feromon maddesi olan 9-oxo-2-decenoic asitle (9-ODA) aktive olan *AmelOR11* reseptörü (Wanner ve ark., 2007), ipek böceğinde (*Bombyx mori*) feromon tespit eden *BmorOR1* ve *BmorOR3* reseptörleri örnek verilebilir (Sakurai ve ark., 2004). Diğer yandan tahtakurusunda (*Cimex lectularius*) bulunan toplanma feromonları geniş yelpazede OR'yi aktive etmektedir (Liu, Xiong ve Liu, 2017). Feromona özel tepki veren OR'lerin, diğer membran bileşenleriyle (SNMP ve feromon bağlayıcı proteinler – PBP– gibi) yeni etkileşimlerini yansıtan "ultra-spesifikler" olduğu düşünülmektedir (Suh, Bohbot ve Zwiebel, 2014).

OR'ler böceklerde en çok çalışılan kemoreseptörlerdir. OR ve Orco gen dizileri üzerinde yapılan çalışmalar Orco'nun böcekler arasında oldukça korunmuş olduğunu, diğer OR gen dizilerinin ise böcek taksonları boyunca hem sayıca hem de primer amino asit dizisi bakımından oldukça farklı olduğunu ortaya koymuştur (Missbach ve ark., 2014; Suh, Bohbot ve Zwiebel, 2014). Genom çalışmalarında şimdiye kadar, OR/Orco gen dizisi üç Collembola türü (Faddeeva-Vakhrusheva ve ark., 2016, 2017; Wu ve ark., 2017) ve bir Diplura (Brand ve ark., 2018) türünde tespit edilmemiştir (Çizelge 2.1.). Ayrıca *Daphnia pulex* genomunda yapılan çalışmada Orco ve OR gen dizilerinin tespit edilmemesi OR'lerin böceklere özgü olduğunu belirlemiştir (Pěalva-Arana, Lynch ve Robertson, 2009) (Şekil 2.3.).

Çizelge 2.1. Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen koku reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).

Tür (Sınıf: Takım)	Koku Reseptörleri		
	Gen	Protein	Pseudogen
<i>Drosophila melanogaster</i> (Insecta:Diptera)	60	60	2
<i>Drosophila sechellia</i> (Insecta:Diptera)	55	51	6
<i>Musca domestica</i> (Insecta:Diptera)	78	72	7
<i>Glossina morsitans</i> (Insecta:Diptera)	46	42	4
<i>Tribolium castaneum</i> (Insecta:Coleoptera)	261	222	39
<i>Apis mellifera</i> (Insecta:Hymenoptera)	165	155	10
<i>Pogonomyrmex barbatus</i> (Insecta:Hymenoptera)	345	290	55
<i>Nasonia vitripennis</i> (Insecta:Hymenoptera)	225	149	76
<i>Ceratosolen solmsi</i> (Insecta:Hymenoptera)	46	44	2
<i>Pediculus humanus</i> (Insecta:Psocodea)	10	10	0
<i>Zootermopsis nevadensis</i> (Insecta:Isoptera)	63	57	6
<i>Blattella germanica</i> (Insecta:Blattodea)	123	105	29
<i>Calopteryx splendens</i> (Insecta:Odonata)	5	5	0
<i>Tetranychus urticaef</i> (Arachnida:Trombidiformes)	-	-	-



Şekil 2.3. Hexapoda evrimi. Bitki ve böcek evrimindeki önemli olaylar, böcek koku alma reseptörlerinin ortaya çıkışı. IR'ler ve GR'lerin kökeni böceklerden daha eski iken, OR'ler ve Orco böceklerin evrimi sırasında evrimleşmiştir ve böcek kladı dışında bulunmamaktadır (Missbach ve ark., 2014'den Türkçeleştirilerek alınmıştır).

Filogenetik çalışmalarla OR'lerin, en son 318-300 milyon yıl önce hemi- ve holometabol böceklerin son ortak atasında, Orco'nun ise her iki grupta bulunduğu tespit edilmiştir (Krieger ve ark., 2003; Pitts, Fox ve Zwiebeil, 2004; Smadja ve ark., 2009; Yang ve ark., 2012; Missbach ve ark., 2014). Bu bulgular, OR ailesinin uçuşun evriminden önce mevcut olduğunu göstermektedir (Robertson, 2019). Buna göre, böceklerde kanatların gelişimi ve ikinci kanat eklemiyle birlikte vasküler bitkilerin artan dağılımının, böcekler için yeni

ve daha geniş habitat alanları ve ekolojik nişler oluşturmaya ve böceklerin bu alanları bulması için alıcıların (reseptörlerin) seçilimine neden olduğu sonucunu doğrulamaktadır (Missbach ve ark., 2014).

2.1.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR)

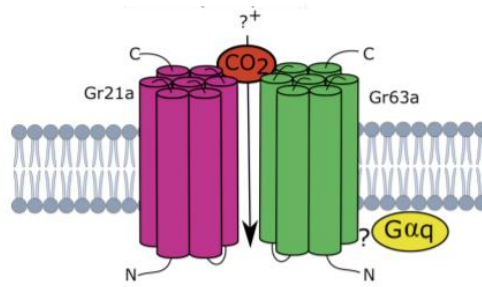
GR'ler, OR'ler ile aynı protein ailesindedir, ancak tat duyu nöronlarında aktiftirler. GR'ler şeker, acı, amino asitler ve CO₂ içeren, uçucu olmayan maddeleri algılar (Jiao ve ark., 2008; Montell, 2009; Agnihotri, Roy ve Joshi, 2016; Yang ve ark., 2017). Böceklerdeki GR'lerin sayısı OR'ler gibi türler arasında değişmektedir (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen tat reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).

Tür (Sınıf: Takım)	Tat Reseptörleri		
	Gen	Protein	Pseudogen
<i>Drosophila melanogaster</i> (Insecta:Diptera)	60	66	2
<i>Drosophila sechellia</i> (Insecta:Diptera)	53	47	13
<i>Musca domestica</i> (Insecta:Diptera)	76	91	11
<i>Glossina morsitans</i> (Insecta:Diptera)	14	15	0
<i>Tribolium castaneum</i> (Insecta:Coleoptera)	215	219	26
<i>Apis mellifera</i> (Insecta:Hymenoptera)	12	11	1
<i>Pogonomyrmex barbatus</i> (Insecta:Hymenoptera)	61	48	13
<i>Nasonia vitripennis</i> (Insecta:Hymenoptera)	47	36	11
<i>Ceratosolen solmsi</i> (Insecta:Hymenoptera)	5	4	1
<i>Pediculus humanus</i> (Insecta:Psocodea)	6	6	0
<i>Zootermopsis nevadensis</i> (Insecta:Isoptera)	80	73	7
<i>Blattella germanica</i> (Insecta:Blattodea)	431	483	62
<i>Calopteryx splendens</i> (Insecta:Odonata)	51	100	15
<i>Tetranychus urticaef</i> (Arachnida:Trombidiformes)	689	469	220

CO₂, gıda kaynakları için önemli uçucu ipuçlarıdır ve sineklerde fermente gıdaları tespit etmede (*D. melanogaster* - *DmelGR21a* ve *DmelGR63a*; Şekil 2.4.) (Faucher ve ark.,

2006; Jones ve ark., 2007), kanla beslenen sivrisineklerde (*Aedes aegypti* – *AaegGR1*, *AaegGR2* ve *AaegGR3*; *Anopheles gambiae* – *AgamGr22*, *AgamGr23* ve *AgamGr24*) konaklarını bulmada (Lu ve ark., 2007; Robertson ve Kent, 2009), güvelerde (*Helicoverpa armigera* - *HarmGr1*, *HarmGR2* ve *HarmGR3*) daha iyi nektar sağlayan taze çiçek kaynağının belirlenmesinde (Xu ve Anderson, 2015; Ning ve ark., 2016; Xu, 2020) CO₂ tespitinden sorumlu GR'ler aktif olarak rol oynamaktadır.



Şekil 2.4. Karbondioksite duyarlı GR'ler (Sokolinskaya ve ark., 2020' den alınmıştır).

Şeker, böcekler için önemli bir enerji ve besin kaynağıdır. *Drosophila* sekiz (Dahanukar ve ark., 2007; Jiao, Seok ve Montell, 2007; Slone, Daniels ve Amrein, 2007; Jiao ve ark., 2008), *B. mori* beş (Wanner ve Robertson, 2008), *H. armigera* sekiz (Xu ve ark., 2017) ve *A. mellifera* türünde ise iki (Jung ve ark., 2015) GR geni şekere tepki veren genler olarak tanımlanmıştır. Diğer taraftan, zorunlu kanla beslenen böceklerin genomlarında şeker reseptör ailesi bulunmamıştır (Kent ve Robertson, 2009; Obiero ve ark., 2014).

Acı tat, toksik maddelerle ilişkilidir ve böceklerin davranışlardan kaçınmaları için ipucu sağlar. Böceklerde bu reseptörleri araştıran birkaç çalışma yapılmıştır. *D. melanogaster* türünde yapılan çalışmalar, acı tatlara yanıt vermede dört GR'nin rol aldığını göstermiştir (Dweck ve Carlson, 2020). Lepidoptera takımında acı tata tepki veren GR'ler, gen yapısı ve uzunluğuna göre üç "tip" olarak sınıflandırılmıştır (Xu ve ark., 2016). GR'ler ayrıca seksüel davranışlar için de gerekli olan genler arasında yer almaktadır (örneğin, *DmelGr39a*, *DmelGr32a*, *DmelGr33a* ve *DmelGr68a*) (Joseph ve Carlson, 2015; Kohl, Huoviala ve Jefferis, 2015).

2.1.3. İyonotropik Reseptörler (IR)

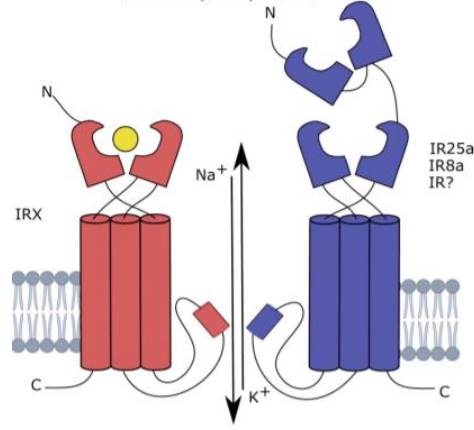
İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR) hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda bulunan ligand kapılı iyon kanallarının korunmuş bir ailesidir. iGluR'ler köken olarak farklı genler tarafından kodlanan protein alanlarının kombinasyonu ile ortaya çıkmıştır (Gereau ve Swanson, 2008; Sobolevsky, Rosconi ve Gouaux, 2009). *D. melanogaster* türünde ilk kez tanımlanan en eski kemoreseptör ailesinden olan iyonotropik reseptörler (IR), evrimsel olarak iyonotropik glutamat reseptörlerinden (iGluRs) köken almaktadır ve buna göre ligand kapılı iyon kanalları olarak işlev gördüğü düşünülmektedir (Benton ve ark., 2009; Croset ve ark., 2010).

OR'ler ve koku alma GR'leri, sensilla trichodea ve sensilla basiconica ile sınırlı olsa da, IR'ler, Orco ifadesinin genellikle bulunmadığı sensilla coeloconica'da ifade edilirler (Yao, Ignell ve Carlson, 2005; Guo ve ark., 2014) ve OR'ler tarafından tespit edilemeyen aminlere veya asit temelli kokulara cevap verirler (Hallem ve Carlson, 2006; Silbering ve ark., 2011). IR genleri, bazı OR ve GR genlerinde olduğu gibi alternatif splayzing göstermemektedir (Robertson, 2019) (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.3. Bazı Arthropoda türlerinde tespit edilen iyonotropik reseptörlerinin gen, protein ve pseudogen sayısı (Robertson, 2019).

Tür (Sınıf: Takım)	İyonotropik Reseptörler		
	Gen	Protein	Pseudogen
<i>Drosophila melanogaster</i> (Insecta:Diptera)	64	60	4
<i>Drosophila sechellia</i> (Insecta:Diptera)	56	43	13
<i>Musca domestica</i> (Insecta:Diptera)	102	93	9
<i>Glossina morsitans</i> (Insecta:Diptera)	14	14	0
<i>Tribolium castaneum</i> (Insecta:Coleoptera)	71	71	9
<i>Apis mellifera</i> (Insecta:Hymenoptera)	21	21	0
<i>Pogonomyrmex barbatus</i> (Insecta:Hymenoptera)	24	24	0
<i>Nasonia vitripennis</i> (Insecta:Hymenoptera)	10	9	1
<i>Ceratosolen solmsi</i> (Insecta:Hymenoptera)	11	11	0
<i>Pediculus humanus</i> (Insecta:Psocodea)	10	10	0
<i>Zootermopsis nevadensis</i> (Insecta:Isoptera)	150	137	13
<i>Blattella germanica</i> (Insecta:Blattodea)	897	604	293
<i>Calopteryx splendens</i> (Insecta:Odonata)	20	20	0
<i>Tetranychus urticaef</i> (Arachnida:Trombidiformes)	4	4	0

IR'ler amino asit dizileri ve ekspresyon modelleri ile iki alt gruba ayrılmaktadır; antende korunan ve ifade edilen "anten IR'leri" veya "koku IR'leri" ile türe özgü (düşük amino asit homolojisini paylaşan) ve tat organlarında ifade edilen "farklı IR'ler" (Croset ve ark., 2010). Croset ve ark. (2010), *IR25a*'nın protostomlar arasında oldukça korunduğunu, *IR8a*'nın böcekler arasında korunduğunu ve bu iki reseptörün, iGluR'lerin amino-terminal alanının özelliklerini koruduğunu kaydetmiştir. Bu kanıtlar ve "anten IR'leri" ile birlikte ifade edilen bu iki korunmuş reseptörün Orco ile benzer bir ortak reseptör olarak hareket edebileceğini göstermektedir (Şekil 2.5.). Bu reseptörlerin işlevleri ile ilgili yapılan çalışmalar *IR25a*'nın amin (Hussain ve ark., 2016), nem (Enjin ve ark., 2016), sıcaklık (Ni ve ark., 2016) ve tuz (Jaeger ve ark., 2018) tespitinden sorumlu olduğunu, *IR8a*'nın ise asit tespiti için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Ai ve ark., 2013; Raji ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019).



Şekil 2.5. IR'ler, IRcoY yardımcı reseptör proteini ve IRX reseptör proteininden oluşan heterotetramerlerdir (Sokolinskaya ve ark., 2020' den alınmıştır).

IR'lerin Protostomia'nın yaklaşık 550-850 milyon yıl önceki son ortak atada bulunma ihtimalinin çok yüksek olduğunu gösterilmiştir (Hedges, Dudley ve Kumar, 2006; Croset ve ark., 2010). *IR25a*, bu repertuarın muhtemel en eski üyesini temsil etmektedir. Mollusca, Nematoda, Crustacea ve Hexapoda'da *IR25a* ortologlarının kemosenör organlarda ekspresyonunun korunmuş olması, bu reseptörün protostom atada kimyasal algılama işlevini yerine getirdiği fikrini kuvvetlendirmektedir (Croset ve ark., 2010).

2.1.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP)

Böceklerde koku bağlayıcı proteinler (OBP) ilk kez erkek *Antheraea polyphemus* güvelerinin antenlerinde bulunmuştur (Vogt ve Riddiford, 1981) ve bu keşif, OBP'lerle ilgili çalışmaları başlatmıştır. OBP'ler küre biçiminde, suda çözünen (14–20 kDa) 6 alfa-helikol domain içeren proteinlerdir (Vieira ve Rozas, 2011). OBP'lerin yapısı korunmuş altı sistein arasında gerçekleşen üç disülfid köprüsü ile stabilize edilir (Leal, Nikonova ve Peng, 1999; Scaloni ve ark., 1999). OBP'ler genellikle korunmuş sistein motifine bağlı olarak sınıflandırılmaktadır; klasik OBP'ler (altı sistein kalıntısı içerenler), dimer OBP'ler (iki altı sistein kalıntısı içerenler), Plus-C OBP'ler (iki ek korunmuş sistein ve bir prolin içerenler), Minus-C OBP'ler (iki korunmuş sisteini kaybedenler) ve Atipik OBP'ler (9-10 sistein ve uzun bir C-terminal içerenler) (Zhou ve ark., 2008a; Zhou, 2010).

OBP'ler tipik olarak koku alımında rol alan periferik dokularda en çok ifade edilen genlerdir (Brito, Moreira ve Melo, 2016). Koku reseptörleri kimyasal sinyalleri algılamadan sorumlu olsa da, koku alma sisteminin fizyolojik duyarlılığı (Xu ve ark., 2005; Biessmann ve ark., 2010) ve kimyasal sinyallerin ayırt edilmesinde (Matsuo ve ark., 2007) OBP'ler rol oynamaktadır. OBP'ler, semiokimyasalların (feromonlar ve feromon olmayanlar) çözünürlüğünü arttırmak ve bunları kendi başlarına veya OBP ile bir kompleks halinde zara bağlı OR'lere iletmek veya SNMP'ye geçirmek için taşıyıcı olarak işlev görmektedir (Zhou, 2010). Ayrıca bazı çalışmalar OBP'lerin, kokulara karşı tepkide OR'leri modüle edebildiğini göstermiştir (Große-Wilde, Svatoš ve Krieger, 2006; Forstner, Breer ve Krieger, 2009; Sun ve ark., 2013; Chang ve ark., 2015). Bu proteinlerin böceklerin farklı dokularında da tespit edilen ifadesi, koku alma ve anten proteini rollerinden farklı rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir (Li ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2018).

2.1.5. Kemosensör Proteinler (CSP)

Duyusal uzantı proteinleri (SAPs) (Pikielny ve ark., 1994) veya OS-D benzeri proteinler (McKenna ve ark., 1994) olarak da adlandırılan kemosensör proteinler (CSP'ler), böceklerin koku alma duyusu ile ilgili bir protein grubunu temsil etmektedir. CSP'ler, küçük bağlayıcı proteinlerin bir diğer korunmuş sınıfıdır ve tahmin edilen bir N-terminal sinyal peptid bölgesini takip eden, iki disülfid köprüsünü oluşturan ve dört korunmuş sisteinden oluşan amino asit (Cys-X₆₋₈-Cys-X₁₈-Cys-X₂-Cys) modelini paylaşır (Angeli ve ark., 1999; Campanacci ve ark., 2003). CSP, OBP ile karşılaştığında daha esnek bir yapıya sahiptir (Zhu ve ark., 2019). CSP'ler, antenler (Robertson ve ark., 1999; Jacquin-Joly ve ark., 2001; González ve ark., 2009; Gu ve ark., 2012; Liu ve ark., 2012), maksiller ve labial palp (Maleszka ve Stange, 1997) ve proboscis (Nagnan-Le Meillour ve ark., 2000) dahil olmak üzere kemosensör dokularda ifade edilirler. Bununla birlikte bu proteinlerin bacaklar (Nomura ve ark., 1992; Kitabayashi ve ark., 1998), kanatlar (Ban ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2008b), feromon bezleri (Jacquin-Joly ve ark., 2001), nöral ve gonadal dokularda da tespit edilmesi (Badisco ve ark., 2011; Guo ve ark., 2011), bazı CSP'lerin üreme, yenilenme ve gelişme gibi farklı biyolojik işlevlere sahip olduğunu göstermektedir.

CSP'ler filogenetik olarak uzak türlerin ortologları arasında genellikle %40-50 benzerlik sergilemektedir ve OBP'lerden daha fazla korunmuş olduğu görülmektedir (Pelosi ve ark., 2018). Buna karşılık OBP'ler türler arasında %10-15 oranında korunmuştur (Pelosi ve ark., 2006). Hexapoda içerisinde OBP ve CSP kodlayan genlerin sayısı türler arasında oldukça değişkendir; OBP'lerin sayısı 12-100, CSP'lerin sayısı ise 4-70 arasında değişmektedir (Pelosi ve ark., 2014).

2.1.6. Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP)

Duyusal nöron membran proteinleri (SNMP'ler) iki transmembran heliks domainli membran proteinleridir (Cassau ve Krieger, 2021). SNMP ilk olarak *Antheraea polyphemus* koku duyu nöronlarında tanımlanmıştır (Rogers ve ark., 1997). Kısa bir süre sonra *Manduca sexta* güvesinde başka bir SNMP alt tipi (*SNMP2*) belirlenmiştir (Rogers, Krieger ve Vogt, 2001). Ardından Lepidoptera, Diptera, Coleoptera ve Hymenoptera gibi farklı takımlarda yer alan türlerde SNMP proteinleri tespit edilmiştir (Vogt ve ark., 2009).

SNMP1, feromon reseptörlerinin (PR'ler; feromona yanıt veren OR'ler) bulunduğu OSN'de ifade edilirken *SNMP2* sensillum lenfinde bulunan destekleyici hücrelerde ifade edilmektedir (Forstner ve ark., 2008; Gu ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2015). PR'lerin etkinleştirilmesi için *SNMP1* gereklidir. *SNMP1*, hücre dışı sıvıdan hidrofobik feromonları entegre membran reseptörleri olan PR'lere yönlendirmektedir (Gomez-Diaz ve ark., 2016). *BmorSNMP1*'in spesifik olarak yetişkin böcek anteninde ifade edildiği, feromon reseptörü (*BmorOR1*) ve koreseptör (*BmorOrco*) ile protein-protein etkileşimlerine sahip olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2018). Yakın zamanda *Drosophila* *SNMP2* ortoloğu olan *BmorSNMP3* tanımlanmıştır (Zhang ve ark., 2020). Coleoptera takımında ise filogeniye, dizi özelliklerine, gen yapısına ve organizasyonuna dayalı dört SNMP grubu rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2020). Bu bulgular farklı böcek türlerinde SNMP'lerin sayı ve işlev açısından farklı olabileceğini düşündürmektedir.

2.2. Arıların Önemi

Tozlaşma, bir çiçeğin anterinden aynı ya da farklı çiçeğin stigmatına polen transferi olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerin çoğunda, tozlaşma tohum bağlama için gereklidir

(Goulson, 2010). Bitkiler rüzgar, su, kuşlar ve yarasalar da dahil olmak üzere polen taşımak için çeşitli vektörleri kullanabilmektedir, ancak bitkilerin önemli bir çoğunluğu böcekler tarafından tozlaştırılmaktadır (Ollerton, Winfree ve Tarrant, 2011). Böcekler tarafından çiçeklerin tozlaştırılmasının birçok avantajı vardır. Geleneksel görüşler böceklerle tozlaşmanın aynı türün çiçekleri arasında poleni doğrudan transfer ettiği için polenlerin daha az israf edilmesini sağladığı yönündedir (Cruden, 2000). Böcekler (özellikle kanatlı olanlar) tarafından tozlaştırma mesafeli olarak gelişen çiçeklerin üremesine de olanak sağlamaktadır (Sharkey, 2007).

Arılar, Hymenoptera takımının Apoidea üstfamilyasının Apiformes (Anthophila) bölümünü oluşturan böceklerdir. Yapılan çalışmalara göre 17.555 tanımlanmış tür bulunmakla birlikte bu sayının 20.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Michener, 2007; Ascher ve Pickering, 2015). Bu türlerin bir kısmı uzun-dilli arıların bulunduğu Apidae ve Megachilidae familyalarına geri kalan kısmı ise kısa-dilli arıların oluşturduğu Colletidae, Halictidae, Andrenidae ve Melittidae familyalarına aittir (Danforth ve ark., 2006).

Arılar, bitki tozlaştırıcısı olarak görev yapmaları nedeniyle tarımda, meyve verimi artırılması konusunda faydalı böcekler olarak kullanılmaktadır (Eardley ve ark., 2006). Dünya'daki 3000 tarım ürününün üçte ikisi, tozlaşma için hayvanlara ihtiyaç duymaktadır ve bu tozlaştırıcıların %73'lük kısmını, yaklaşık 21.000 Apiformes (Hymenoptera: Apoidea) grubu içerisindeki türler oluşturmaktadır (Thakur, 2012). Global bitkisel üretimde tozlaştırıcıların sağladığı verim artışının ekonomik karşılığının 153 milyon € olduğu düşünülmektedir (Gallai ve ark., 2009). Arılar, sadece ekonomik öneme sahip bitkilerin polinasyon servisinde rol oynama yanı sıra, doğadaki yabani bitkilerde de tozlaşmayı gerçekleştirerek, bu bitkilerin çoğalıp yayılmalarına, yaban hayatının gelişmesine, bitki ve hayvanlarda çeşitliliğin artmasına olanak sağlamaktadırlar (Ollerton, Winfree ve Tarrant, 2011). Yabani bitkilerin %87,5'i böceklerle tozlaşırken bunların %20'si arılar aracılığı ile gerçekleşmektedir (Ollerton, 2017). Arılar içerisinde bilinen ve polinatör olarak kullanılan en yaygın türler bal arılarıdır. Örtü altı yetiştiriciliğinde kullanılan bombus arıları hakkında bal arılarına göre görece az bilgi

bulunmaktadır ve bombus arıları bal arılarının kullanılmadığı alan ve koşullarda alternatif bir tozlaştırıcı ajan olarak dikkate değerdir.

Bombus arıları, bal arılarına kıyasla, vücutlarının daha iri ve tüylü olması, dillerinin daha uzun olması ve derin korollalı bitkileri de ziyaret edebilmesi, bal arılarının aksine daha düşük sıcaklık ve ışık yoğunluklarında çalışabilmeleri ile önemli avantajlar elde etmektedir (Goulson, 2010). Ayrıca üretim teknolojilerinin 1980'den bu yana oldukça gelişmiş olması seralarda ve açık alanlarda kullanım olanaklarının yaygınlaşmasına olanak vermiştir (Velthuis ve Van Doorn, 2006).

Bombus arıları polen yayan bitkilerin çiçeklerine tutunarak titreşerek tozlaşma yapma (buzz pollination) olarak adlandırılan kanat kaslarını titreterek silkeleme davranışı göstermeleri nedeni ile de önem taşımaktadırlar (Buchmann, 1983). Bazı bitkiler özel tozlaşma ihtiyaçlarından dolayı *Apis* dışındaki polinatörler ile tozlaşırlar. Örneğin domates ve biber, anterlerindeki polenlerini silkeleme ile serbest bırakırlar ve bombus arıları domates ve biber gibi çiçeklerin bu özel tozlaşma ihtiyaçlarını karşılayabildikleri için seralarda etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Buchmann, 1983). Benzer şekilde yaban mersini türlerinde de (*Vaccinium* sp.) titreşerek tozlaşmaya gereksinim vardır ve her ne kadar bal arıları nektar toplamak için çiçeklerini ziyaret etse de silkeleme davranışı gösteremedikleri için etkin olarak polinasyonunda rol almamaktadırlar (Free, 1993; Javorek, Mackenzie ve Vander Kloet, 2002). Bal arıları ile bombus arılarının aynı miktarda poleni transfer edebilmesi için, bal arısının bombus arısından 4 kat daha fazla ziyaret gerçekleştirmesi gerekmektedir (Dogterom, Winston ve Mukai, 2000).

2.2.1. *Bombus* Cinsine Ait Genel Bilgiler

Takım: Hymenoptera

Alttakım: Apocrita

Üstfamilya: Apoidea

Familya: Apidae

Tribüs: Bombini Latreille, 1802

Genus: *Bombus* (s.l.) Latreille, 1802

Apidae familyasında Bombini tribüsü içerisinde yer alan *Bombus* (s.l.) Latreille, monofiletik bir gruptur (Williams, 1985; 1998). Apini, Bombini, Meliponini ve Euglossini tribüleri korbikulat arıları oluşturmaktadır (Engel, 2001; Cameron, Hines ve Williams, 2007). *Bombus* cinsi; Palaearktik, Nearktik, Oriental ve Neotropik bölgelerde alpin, subalpin ve arktik kuşaklarında sıklıkla bulunur (Cameron ve Williams, 2003). Dünyada 250'den fazla *Bombus* (s. l.) türü olduğu tahmin edilmekle birlikte (Williams ve ark., 2008), Türkiye'nin de içerisinde yer aldığı Batı Palaearktik'de 121 *Bombus* türünün varlığı saptanmıştır (Anonim 1). Ülkemiz *Bombus* cinsi açısından sahip olduğu 47 farklı tür ile Batı Palaearktik'te tür sayısı bakımından en zengin ülkeler arasındadır (Rasmont ve ark., 2009).

Bombus cinsinde vücut oldukça büyük ve kaba yapılı olup, genellikle kırmızı, sarı, beyaz ve siyah renklerde uzun ve sık kıllarla kaplıdır (Özbek, 1979). *Bombus* arılarında renk desenlerinin türler arasında benzer olması ve tür içi yüksek derecede değişkenlik bulunması sebebiyle tüy rengine dayalı sınıflandırmalar güvenli olmamaktadır (Cameron, Hines ve Williams, 2007). Bu nedenle *bombus* arılarında alternatif olarak moleküler filogeni çalışması gerçekleştirilmiş ve altcins sayısı sadeleştirilerek 15'e indirilmiştir (Williams ve ark., 2008).

Primitif eusocial olarak kabul edilen *bombus* arılarında (Ponchau ve ark., 2006) kraliçeler tarafından yuva bulunması ile başlayan yaşam süresi çoğu tür için bir yıldır (Goulson, 2003). Genel olarak bahar başında karların erimesiyle döllenmiş kraliçeler kışlamadan çıkarlar ve küçük memeliler, nadiren de kuşlar tarafından terk edilmiş yuvaları kullanarak bir yuva yeri oluştururlar (Cameron, Hines ve Williams, 2007; Rasmont ve ark., 2008). Böylece yeni işçilerin pupadan çıktıkları hızlı büyüyen bir koloni elde edilmiş olur. Kraliçe arının yumurtlamasının bir süre sonra değişmesi ile yeni işçi arı üretilmemeye başlar. Erkekler döllenmemiş yumurtalardan oluşurlarken, işçiler gibi kraliçeler de döllenmiş yumurtadan çıkar ve daha büyük olma dışında morfolojik açıdan işçilere benzerler. *Bombus* arıları larvalarına ve kendilerine yaz boyu yetecek kadar nektar ve

polen toplayabilmek için, çoğu önemli kültür bitkisinin dahil olduğu çok sayıda bitki türünü ziyaret ederler (Özbek, 1997).

2.2.2. Bombus Arılarında Dil Uzunluğu ve Beslenme İlişkisi

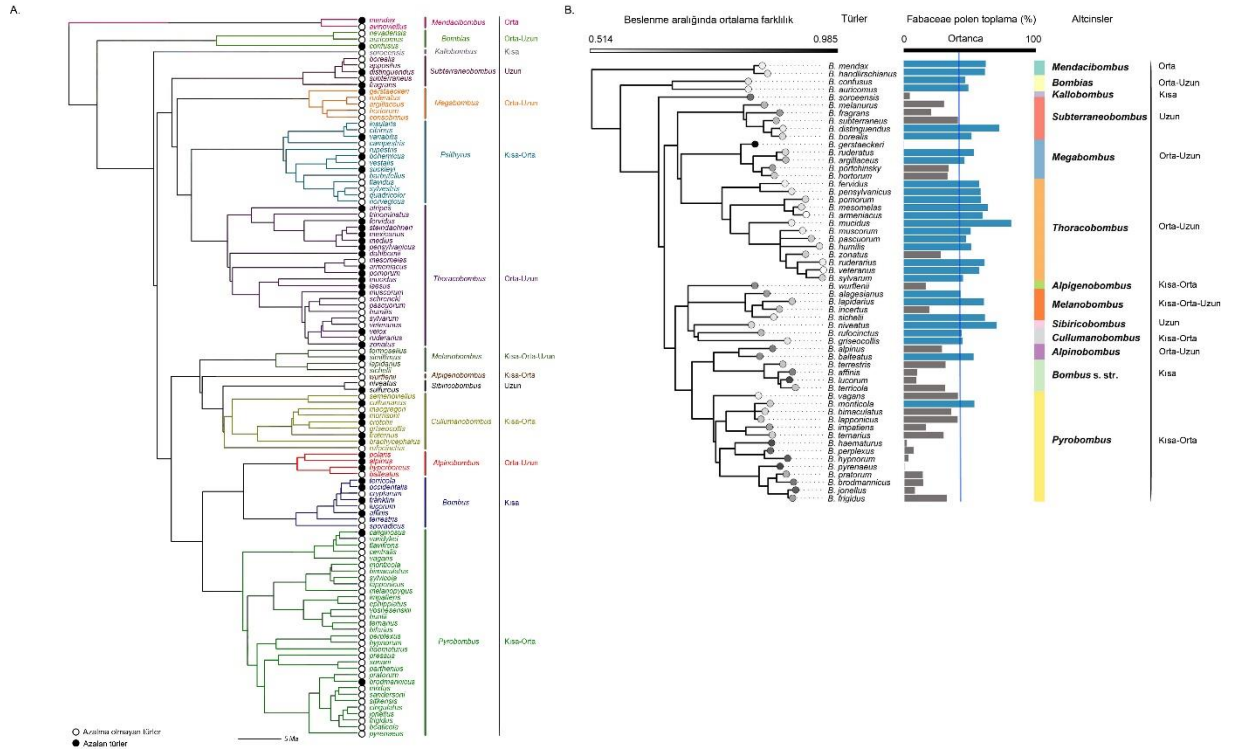
Bombus arıları doğal ekosistemlerin sürdürülebilirliği ve korunmasının yanı sıra başta domates olmak üzere birçok ticari ürün üreten milyarlarca dolarlık endüstriler için gerekli olan bir tozlaşma hizmeti sağlamaktadır. Bombus arıları, birçok farklı bitki ailesinden polen toplayan; oldukça genel bir beslenme düzenine sahip arılardır. Ağırlıklı olarak genelci (generalist: çok çeşitli çevresel koşullara uyum sağlayabilen) olmalarına rağmen bazı türlerinin özelleşmiş (specialist) beslenme tercihleri gösterdikleri saptanmıştır (Goulson ve Darvill, 2004).

Bombus arılarında dil uzunluğunun (özellikle glossa ve prementum uzunluklarının toplamı) ziyaret edilen çiçekleri ve dolayısıyla beslenme tercihlerini şekillendiren bir mekanizma olarak gören görüşler bulunmaktadır. Dil uzunluğunun nektar toplama bakımından farklılık oluşturduğu dolayısıyla polen toplama modellerini şekillendirdiği ve belirli türlerin (uzun dilli türlerin) doğal olarak daha dar ve daha az esnek diyetlere sahip olduğunu, bu durumun da bombus arılarında görülen popülasyon kayıpları ile ilişkili olabileceği konusunda bilim dünyasında bir süredir devam eden tartışma bulunmaktadır (Goulson ve ark., 2005; Miller-Struttman ve ark., 2015). Bombus arılarında dil uzunluğu nektara ulaşım ile ilgili olmakla birlikte, farklı niş bölünmesine neden olan dil uzunluğunun nektardan çok polen tercih etmede önemli olduğu görüşü ileriye sürülmüştür (Goulson ve Darvill, 2004). *Bombus* türlerinde dil uzunluğuna bağlı olarak ziyaret edilen çiçek morfortipleri arasında farklılıklar bulunmakta; tür içinde, morfortip tercihlerinde de, yüksekliğe ve mevsime göre değişiklikler görülmektedir (Sponsler ve ark., 2022). Her ne kadar polen toplarken dil kullanılsa da polen toplayan işçi arılar aynı zamanda nektar da toplamaktadırlar. Sadece nektar toplayan işçi arılar karşılaştırıldığında niş çakışması ve dil uzunluğundaki farklılıklar arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır (Goulson ve Darvill, 2004). Uzun dile sahip bombus arılarının besin tercihlerindeki dar aralık, bombus arılarının küresel değişimlere karşı daha duyarlı olmasına katkıda bulunan bir faktör olarak düşünülmektedir (Goulson ve ark., 2006; Goulson, Lye ve Darvill, 2008). Daha dar besin tercihi aralığına sahip *Bombus* türlerinin

(uzun-dilli), geniş besin aralığına sahip *Bombus* türlerine (kısa-dilli) oranla populasyon yoğunluklarında daha fazla düşüşlerin olduğu bazı çalışmalar ile gösterilmiştir (Williams, 2005; Williams ve Osborne, 2009).

Bombus arılarında vücut büyüklüğü ile dil uzunluğu arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır (Peat, Tucker ve Goulson, 2005). Dil uzunluğunun besin toplama tercihlerini etkilediği göz önüne alındığında koloni içerisinde vücut büyüklüğünde görülen yüksek varyasyon, ilgili koloninin bir dizi bitki türünden verimli bir şekilde besin toplamasına izin vermektedir (Peat, Tucker ve Goulson, 2005). İşçi arı vücut büyüklüğünde yüksek varyasyon gösteren türler, küresel ölçekteki kayıplardan daha az etkilenmektedir ve bu durum özellikle hızlı değişim gösteren vejetasyon yapısına adaptasyonda kilit bir özelliktir (Austin ve Dunlap, 2019).

Arbetman ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada dil uzunluğu, yayılış ve parazit varlığını nicelleştirerek azalan türlerin *Bombus* filogenisinde rastgele dağılmadığını göstermiştir (Şekil 2.6.A.). Diğer taraftan Wood ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada türler arası korunmuş beslenme modeli tespit ederken, beslenme aralığı açısından bir korunmuşluk tespit etmemiştir (Şekil 2.6.B.). Beslenme farklılıkları, en benzer türlerin besinlerinin yaklaşık %50-60'ının Fabaceae'den (Baklagiller) toplanmasından kaynaklanmakta olup, Fabaceae'den toplanan besin oranı korunmuştur. Fabaceae'nin daha fazla toplanması daha uzun dil ile ilişkilendirilmiştir ancak bu sonucun dil tarafından tek başına değil, filogenetik ilişki tarafından yönlendirildiği belirtilmiştir.



Şekil 2.6. *Bombus* türleri arasındaki filogenetik ilişkiler A. türlerin popülasyonlarının durumu (Arbetman ve ark., 2017'den alınmıştır). B. Ortalama polen diyet bileşimi farklılığı (Bray-Curtis farklılığı, 0 = tamamen benzer, 1 = tamamen farklı), her tür için, Fabaceae'den oluşan diyet yüzdesi (Wood ve ark., 2021' den alınmıştır).

Avrupa (Williams, 2005; Vereecken, 2017), Asya (Inoue, Yokoyama ve Washitani, 2008), Güney Amerika (Aizen ve ark., 2019) ve Kuzey Amerika'da (Cameron ve ark., 2011) bombus arılarının azalmasında; (i) kentsel ve tarımsal büyümeye bağlı habitat kaybı (Le Féon ve ark., 2010), (ii) pestisitlerin yaygın kullanımı (Stanley ve ark., 2015) ve (iii) patojenlerin yayılması (Cameron ve ark., 2016; Graystock ve ark., 2016) en temel sebepler olarak görülmektedir. Diğer taraftan Kuzey Amerika'da *Pyrobombus*, sağlıklı ve stabil popülasyonlara sahip iken (Cameron ve ark., 2011); İngiltere'de (örneğin, *B. soroensis*, *B. lapidarius*) (Williams, 2005), Kuzey Amerika'da (örneğin, *B. impatiens*) (Jacobson ve ark., 2018) ve Güney Amerika'da (*B. moderatus*) (Owen ve ark., 2012) bazı türler yayılış alanını doğal olarak genişletmektedir. Bazı türlerin neden azaldığı diğerlerinin ise stabil hatta yayılışını genişlettikleri sorularına kesin olarak cevap verilememektedir (Cameron ve Sadd, 2020).

2.3. Tezin Kapsamı ve Amacı

Yukarıda belirtilen bilgiler doğrultusunda bombus arılarında koku almada ve buna bağlı olarak besinlerin bulunmasında rol oynayan kemosenör gen aileleri çalışma kapsamına alınmıştır. Dil uzunluğu ile beslenme aralığı arasında ilişkileri ortaya koyan çalışmalar temel alınarak türlerin dil uzunlukları göz önünde bulundurulmuştur (Çizelge 2.4.). Türkiye’de yayılış gösteren kısa-dilli *B. (Kallobombus) soroensis* ve uzun-dilli *B. (Subterraneobombus) fragrans* türlerine ait işçi bireylerin anten transkriptom verisinin elde edilmesi hedeflenmiştir.

B. soroensis Anadolu’da 775 - 2570 m yükseklik aralığında yayılış göstermekte; Asteraceae (Papatyagiller), Fabaceae, Lamiaceae (Ballıbabagiller), Rosaceae (Gülgiller) ve Campanulaceae (Çançiçeğigiller) familyalarına ait taksonları ziyaret etmektedir (Özbek, 1998; Rasmont ve ark., 2009).

B. fragrans gerçek steplere özgülük gösteren 1000 - 2325 m aralığında *Astragalus* steplerinde görülmekle birlikte yaygın olmayan bir türdür; Asteraceae, Boraginaceae (Hodangiller), Fabaceae ve Lamiaceae familyalarına ait taksonları ziyaret etmektedir (Rasmont ve ark., 2009).

Kallobombus monotipik altcinstir ve dişileri;

- Orta basitarsusun proksimal kenarına yakın dış yüzeyindeki kılların uzunluğunun basitarsusun distaldeki genişliğinden kısa olması,
- Clypeus orta alanının irili ufaklı noktalarla yoğun bir şekilde kaplı olması,
- Labral yarığın dar, labrumun toplam uzunluğun yaklaşık 1/5’i kadar olması,
- Arka tibia dış korbikular yüzeyi kısa veya orta kılsız, ancak bazen proksimal yarıda merkeze yakın bir veya iki dağınık uzun kalın kıllı olması ile *Bombus* (s.l.) içerisinde incelenen diğer altcinslere ait dişi bireylerden,

Kallobombus altcinsi erkek bireyleri ise;

- Penis valveinin başının dışa dönük ve yassılaştığı olması,

- Gonostylus uzunluğunun genişliğinden fazla olması,
- Volsellanın dar, iç kısımda bulunan kancanın distal uca yakın olması,
- Arka basitarsusun anterior yüzünün proksimalde yassılaştığı olması ile *Bombus* (s.l.) içerisindeki diğer altcinslere bağlı türlerin erkek bireylerinden ayrılmaktadır (Williams ve ark., 2008).

Subterraneobombus altcinsinde bulunan türlerin dişi bireyleri;

- Clypeus düz ve parlak, eğer çok sayıda küçük ve orta noktalar var ise vücut sarı tüylü (*B. fragrans* gibi) ve korbikular fırçayı oluşturan tüyler arka tibianın en geniş yerinden kısa ve arka tibiada orta kısımdan proksimal yarıya doğru uzun tüylerin bulunmaması ile *Bombus* (s.l.) içerisinde incelenen diğer altcinslere ait dişi bireylerden,

Subterraneobombus altcinsinde bulunan türlerin erkekleri ise;

- Penis valveinin başı kavisli kaşık gibi distale doğru içe dönük olması,
- Penis valve uzunluğunun yarısı kadar; ventral ve lateral yöne uzama sonucu oluşan geniş kürek benzeri ventral çıkıntıya sahip olması,
- Mandibulanın distalinin sivri uçlu ve bir anterior diş bulunması ile *Bombus* (s.l.) içerisinde incelenen diğer altcinslere ait erkek bireylerden ayrılmaktadırlar (Williams ve ark., 2008).

Çizelge 2.4. Tez çalışmasına konu olan türlere ait dil uzunluğu ve IUCN (Nesli Tükenme Tehlikesi Altında Olan Türlerin Kırmızı Listesi) kategorisi bilgileri (LC: asgari endişe, EN: tehlikede) (Williams ve ark., 2008; Anonim 2).

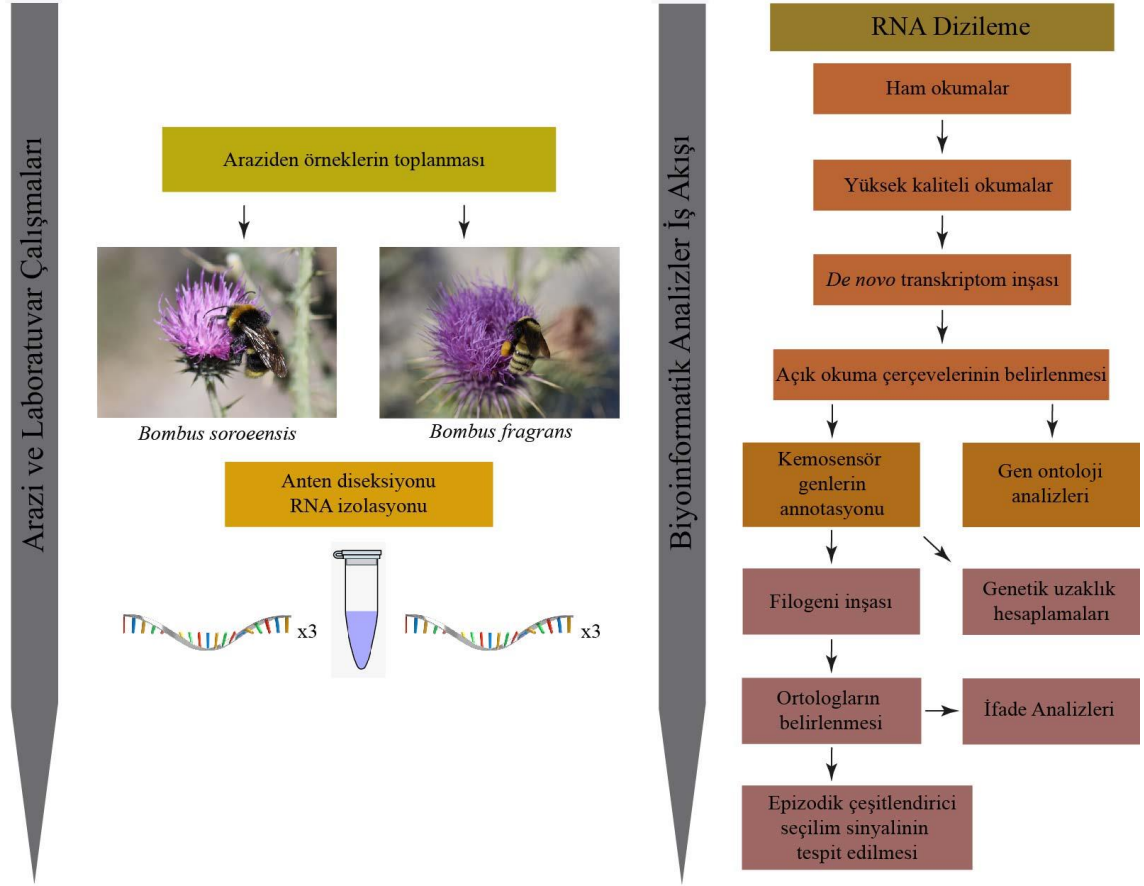
Altıns	Dil uzunluğu	Tür	IUCN kategorisi	IUCN popülasyon eğilimi
<i>Bombus</i>	Kısa	<i>B. terrestris</i>	LC	Artmakta
<i>Kallobombus</i>	Kısa	<i>B. soroensis</i>	LC	Azalmakta
<i>Pyrobombus</i>	Kısa-Orta	<i>B. bifarius</i>	LC	Stabil
		<i>B. impatiens</i>	LC	Stabil
		<i>B. vosnesenskii</i>	LC	Stabil
		<i>B. vancouverensis</i>	-	-
<i>Subterraneobombus</i>	Uzun	<i>B. fragrans</i>	EN	Azalmakta

B. soroensis ve *B. fragrans* türlerinde koku almada en temel organ olan antenin transkriptom verisi elde edilerek; *B. (Bombus) terrestris* türüne ait yayımlanmış kemosensör repertuarına ait veri seti (Sadd ve ark., 2015; Brand ve Ramírez, 2017) ve NCBI veri bankasından *B. (Pyrobombus) bifarius*, *B. (Pyrobombus) impatiens*, *B. (Pyrobombus) vosnesenskii* ve *B. (Pyrobombus) vancouverensis* türlerine ait veri setleri de indirilerek *Bombus* türlerinde şu sorulara cevap aranmaya çalışılmıştır;

- Uzun-dilli *B. fragrans* ve kısa-dilli *B. soroensis* işçi bireylerinde kemosensör ile ilişkili altı gen ailesinin anten transkriptom verisi ile belirlenmesi,
- İşçi arıların antenlerinde ifadesi belirlenen genlerin ait oldukları gen ailesinde alt kladlarının tespit edilerek, yanıt oluşturdıkları kokulara dair çıkarımların eldesi,
- *Bombus* arılarında kemosensör ile ilişkili gen ailelerinde rol oynayan seçici baskıların belirlenmesi,
- *B. fragrans* ve *B. soroensis* işçi bireylerinin antenlerinde kemosensör ile ilişkili genlerin ifadelerinin, tür içi ve türler arası karşılaştırmalarının gerçekleştirilerek benzerlik ve farklılıklarının ortaya konulması.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Tez çalışmasına ait iş akışı Şekil 3.1.'de özetlenmiştir. Bu basamaklara ait detaylar alt başlıklarda detaylandırılmıştır.



Şekil 3.1. Tez çalışmasının akışını gösteren şema.

3.1. Arazi Çalışması ve Örneklem

Çalışma kapsamına dahil edilen *B. soroensis* ve *B. fragrans* türlerine ait işçi bireyler arazi çalışmalarında tül atrap yardımı ile yakalanmıştır. Transkriptom çalışması için hedef olan türlere benzer morfolojik özellik gösteren işçi bireyler ayrı ayrı steril CryoGen® (5 ml) tüplere alınmıştır. Tüpler üzerine etiket bilgileri yazıldıktan sonra tüpler sıvı azot içerisine aktarılmış ve laboratuvar çalışmalarına kadar burada muhafaza edilmiştir. Arazi çalışmalarında tür teşhisi için ayrıca işçi ve erkek bireyler de yakalanmış olup bu örnekler

de ayrı ayrı tüpler içerisine alınmış ve tüpler üzerine etiket bilgileri yazılmıştır. Ardından örnekler büyüklüklerine göre "1" ve "2" numara çelik iğnelerle thoraklarının tam ortasından iğnelenmiş, erkek bireylerin genital organları görünür hale getirilmiş ve etiketleri ile birlikte koleksiyona alınmıştır. Örnekler, Özbek (1983) ve Williams ve ark. (2008)'nın *Bombus* cinsi üyeleri için oluşturdukları teşhis anahtarları kullanılarak teşhis edilmiştir. Ayrıca transkriptom verisinden DNA barkod bölgesi olarak kullanılan sitokrom oksidaz alt ünite 1 geni dizileri çekilmiş BOLD (Barcode of Life DataSystems) veritabanında taranmıştır. Çizelge 3.1.'de bilgileri verilen örnekler İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Zooloji Laboratuvarı'na RNA izolasyonu gerçekleştirilmek üzere sıvı azot içerisinde taşınmıştır.

Çizelge 3.1. RNA izolasyonu için kullanılan bireylere ait bilgiler.

Tür	Birey sayısı	Lokalite	Tarih
<i>B. soroeensis</i>	20	Kayseri-Erciyes Dağı	15.09.2020
<i>B. fragrans</i>	12	Eskişehir-Sivrihisar-Balık Damı	22-26.09.2020

3.2. RNA İzolasyonu

B. soroeensis ve *B. fragrans* türleri için 3 tekrarlı olacak şekilde her bireyin anteni disekte edilmiş ve steril mikrosantrifüj tüpüne (1.5 ml) aktarılmıştır. Doku homojenizasyonu örneklerin bulunduğu tüplerin içerisine 750 µl TRIzol reagent (Invitrogen™ Life Technologies) eklenerek, MagNA Lyser green beads aracılığıyla MagNA Lyser (Roche, Basel, İsviçre) cihazında 5000 rpm'de 60 saniyede gerçekleştirilmiştir. Total RNA ekstraksiyonu TRIzol® (Invitrogen) kullanılarak üretici firmanın protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. RNA içeren tüpler daha sonra kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Her bir örnek için 4 µl RNA kantitatif ölçüm için kullanılmıştır. İlgili ölçüm "Qubit RNA HS Assay (Thermo)" kiti ve Qubit Florometrik ölçüm cihazı (Thermo) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3 RNA-Dizileme Kütüphanelerinin Kurulması ve Dizileme Reaksiyonu

Dizileme reaksiyonu BGI (Çin) firmasında MGISEQ-2000 (MGI, Shenzhen, Çin) platformunda 100 bç uzunluğunda ve çift-yönlü olarak gerçekleştirilmiştir. Yüksek

kaliteli dizilerin elde edilmesi için; (i) adaptör dizilerinin kaldırılması, (ii) phred skoru 20'nin altında (<Q20) olan düşük kaliteli dizilerin çıkarılması, (iv) boyutu 10 bazdan kısa olan dizilerin kaldırılması ve (v) dizi içinde okunmayan veya tespit edilemeyen (N) bazların sayısının beşten fazla olan dizilerin çıkarılması gibi filtreleme işlemleri fastp v0.20 (Chen ve ark., 2018) yazılımında gerçekleştirilmiştir.

3.4. De novo Transkriptom Analizi ve Kalite Kontrolü

Yüksek kaliteli okumalardan *de novo* transkript inşası Trinity v.2.8.5 (Grabherr ve ark., 2011) yazılımında minimum "contig" (kısmi transkript dizisi) uzunluğu 200 ve varsayılan k-mer uzunluğu (k25) ile gerçekleştirilerek referans transkript veri seti oluşturulmuştur. Bu veri setine ait tanımlayıcı istatistikler Trinity_Stats.pl kullanılarak (i) toplam transkript sayısı, (ii) toplam baz sayısı, (iii) N10, N20, N30, N40, N50 değerleri ve %GC içeriği elde edilmiştir. Transkript inşasının kalitesinin değerlendirilmesinde elde edilen transkript dosyasına, her bir okuma bowtie2 (-p 10 -q --no-unal -k 20) (Langmead ve Salzberg, 2012) yazılımı ile hizalanmıştır. Kallisto yazılımı (Bray ve ark., 2016) kullanılarak transkript bolluk tahmini gerçekleştirilmiştir.

3.5. Açık Okuma Çerçevesinin Belirlenmesi

Elde edilen referans transkript veri setinde protein kodlama potansiyeli olan transkriptler TransDecoder v5.5.0 (Haas ve ark., 2015) yazılımı ile belirlenmiştir. İlk olarak transkript dosyasında en az 100 amino asit uzunluğuna sahip açık okuma çerçeveleri (ORF) tanımlanmıştır. Ardından işlevsel öneme sahip ORF'lerin en iyi şekilde tahmin edilme olasılığını artırmak için Uniref90 kütüphanesi ve ortak protein domainlerinin tespiti için de PFAM kütüphanesi kullanılarak homoloji tabanlı taramalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bu çıktılar üzerinden nihai kodlama bölgesi tahminleri içeren peptid dizileri elde edilmiştir.

3.6. Transkriptom Bütünlüğü ve Kalitesinin Kontrolü

Transkriptom bütünlüğünü tespit etmek için, hem kodlama yapan diziler (cds) hem de bu peptid dizileri BUSCO v3 (Waterhouse ve ark., 2017) yazılımı kullanılarak 2675 ortolog

gen barındıran Arthropoda kütüphanesine hizalanmıştır. Ayrıca peptit dizileri kullanılarak DOGMA v3.4 (Dohmen ve ark., 2016) pfam v32 Arthropoda kütüphanesinde korunmuş domainlerin bütünlüğü ölçülmüştür.

3.7. Gen Ontoloji Analizi

B. soroensis ve *B. fragrans* için elde edilen transkriptlerin yer aldığı (i) biyolojik süreç (biological process - BP) , (ii) moleküler işlev (molecular function - MF) ve (iii) hücresel bileşen (cellular component - CC) hakkında bilgi elde edebilmek için Gen Ontoloji (GO) analizi Hmmer2GO v0.18.0 (Staton, 2018) yazılımı ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar WEGO 2.0'da (Ye ve ark., 2018) görselleştirilmiştir.

3.8. Aday Koku Genlerinin Annotasyonu

B. soroensis ve *B. fragrans* türlerine ait peptit dizilerinde PF02949 (7tm Odorant receptor), PF08395 (7tm Chemosensory Receptor), PF06151 (Trehalose receptor), PF00060 (Ionotropic glutamate receptor), PF10613 (Ligated ion channel L-glutamate and glycine binding site), PF01395 (Odorant binding protein) PF03392 (Insect pheromone binding family A10/OS-D) ve PF01130 (CD36) Pfam domainlerini tespit etmek için HMMER v3.3.1 (Finn, Clementsve Eddy, 2011; Potter ve ark., 2018) yazılımı kullanılmış ve en iyi eşleşen diziler (e-value < 1e-5) filtrelenmiştir. BlastX yazılımı ile NCBI non-redundant (Nr) protein veritabanına karşı homoloji taraması ve korbikulat arılarda yayınlanmış olan OR, GR, IR, OBP, CSP ve SNMP protein dizilerinden (Brand ve ark., 2015; Sadd ve ark., 2015; Brand ve Ramírez, 2017) yerel bir kütüphane oluşturularak, BlastP yazılımı ile her bir türe ait diziler hizalanmış ve en iyi eşleşen diziler (e-value < 1e-5) filtrelenmiştir. NCBI veri tabanında annotasyonu var olan *B. bifarius*, *B. impatiens*, *B. vancouverensis* ve *B. vosnesenskii* türlerinin de peptit dizileri oluşturulan yerel kütüphaneye karşı BlastP yazılımı taranmış en iyi eşleşen diziler (e-value < 1e-5) filtrelenmiştir.

B. terrestris türü de dahil olmak üzere yedi *Bombus* türünde ortolog protein gruplarını belirlemek amacı ile OrthoFinder v1.1.2 (Emms ve Kelly, 2015) yazılımı BLAST all-v-

all (aynı anda kendi kendine ve karşılıklı BLAST'lar) algoritması uygulanarak kullanılmıştır.

OR'lerin transmembran sarmalları, TMHMM server v.2.0c (Anonim 3) kullanılarak tahmin edilmiş olup OBP ve CSP aday genlerinde sinyal dizilerinin varlığı SignalP v.5.0 yazılımı (Almagro Armenteros ve ark., 2019) aracılığı ile taranmış ve korunmuş motifler MEME Suite v.5.4.1 yazılımı (Bailey ve ark., 2015) ile belirlenmiştir.

3.9. Filogenetik Analizler

Her kemosenör gen ailesi aday transkriptlerinin dönüştürülmüş peptid dizileri JTT200 matrisi, 1000 maxiterate seçenekleri ve L-INS-I algoritması uygulanarak MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanmıştır. Elde edilen hizalamalar, trimAl yazılımında (Capella-Gutiérrez, Silla-Martínez ve Gabaldón, 2009) 'strict' seçeneği kullanılarak kırpılmıştır. Her bir gen ailesine ait hizalanmış ve kırpılmış peptid dizilerine uygun süstitüsyon modeli ModelTest-NG yazılımı (Darriba ve ark., 2020) kullanılarak 152 protein modeli arasından belirlenmiştir. Her bir gen ailesi için belirlenen süstitüsyon modeli ile birlikte RAxML-NG 1.0.2 yazılımında (Kozlov ve ark., 2019) 100 bootstrap tekrarı ile maksimum olasılık (Maximum Likelihood, ML) ağaçları oluşturulmuş ve Figtree v.1.3.1. (Rambaut, 2009) ile görselleştirilmiştir.

3.10. Genetik Uzaklık Çalışmaları

İlgili gen ailelerinin türler içerisindeki farklılaşma düzeylerini belirlemek için dönüştürülmüş peptid dizileri JTT200 matrisi, 1000 maxiterate seçenekleri ve L-INS-I algoritması uygulanarak MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanmıştır. Hizalanan her bir veri setine ait ikili genetik uzaklık MEGA v.5 (Tamura ve ark., 2011) programında p-distance (Nei ve Kumar, 2000) algoritması kullanılarak hesaplanmıştır. Ardından elde edilen veri setinin tanıtıcı istatistikleri kapsamında merkezi eğim ölçülerinden aritmetik ortalama, ortanca değer ile çeyrekler (Q1 ve Q3) Past v.4 (Hammer, Harper ve Ryan, 2001; Hammer, 2020) programında hesaplanmış, kutu grafikleri ise ggplot2 (Wickham ve Chang, 2016), ile R v.4.0.3 (R Core Team, 2020) yazılımında çizilmiştir.

3.11. Seçilim Analizleri

DNA evrim hızının ve nükleotid sübtütüsyon modellerinin belirlenmesi moleküler genomun hedefleri arasındadır. Protein kodlayan diziler, klasik olarak ana evrim birimi olarak kabul edilmiştir (Buschiazzo ve ark., 2012). Eş anlamlı (sessiz, sinonim) ve eş anlamlı olmayan (non-sinonim) bölgelerdeki mutasyonlar, sırasıyla genler üzerinde etkili olan nötr (veya en azından zayıf) ve aktif seçici kuvvetler arasında ayırım yapmak için kullanılmaktadır. Ortolog genlerin ikili karşılaştırmalarında, eş anlamlı olmayan bölge başına sübtütüsyon sayısının (dN) eş anlamlı bölge başına sübtütüsyon sayısına (dS) oranı, seçilimin yönü ve gücü hakkında genel bir gösterge sunmakta ve seçilim baskılarını nicel hale getirmektedir (Nielsen, 2005; Hurst, 2009). Eş anlamlı olmayan sübtütüsyon fazlalığı (dN/dS > 1), adaptif veya çeşitlendirici (pozitif) seçilimi önerirken, eş anlamlı mutasyonların fazlalığı (dN/dS < 1) arındırıcı (negatif) seçilimi; eş anlamlı ve eş anlamlı olmayan mutasyon oranları arasında hiçbir fark olmaması (dN/dS = 1) nötral evrim kanıtı olarak alınmaktadır (Yang ve Nielsen, 2002).

Filogenetik ağaçlara dayanarak her bir gen ailesinde dört veya daha fazla ortolog kopyadan oluşan - paraloglar dahil olmak üzere – her gen ailesi için belirlenen kladların kodlama yapan dizileri MACSE v2.00 yazılımı (Ranwez ve ark., 2018) ile hizalanmıştır. İlgili kladların global ω (dN/dS) oranı HyPhy 2.5.33 (Kosakovsky Pond ve ark., 2020) yazılımında hesaplanmıştır.

Bombus arılarında kemosensör gen ailelerinin evrimini şekillendiren seçici baskıları belirlemek amacıyla, belirlenen kladlarda pozitif seçilim sinyali (dN/dS >1) olup olmadığını tespit edebilmek için HyPhy 2.5.33 (Kosakovsky Pond ve ark., 2020) yazılımında, aBSREL algoritması (Smith ve ark., 2015) kullanılmıştır.

3.12. İfade Analizleri

Türler arası koku ile ilişkili gen ailelerinin ifade analizleri için Dweck ve ark., (2021) çalışması referans alınmıştır. Bu kapsamda *B. fragrans* ve *B. soroeensis* türlerinde dört farklı yöntem ile analizler gerçekleştirilmiştir; (i) DESeq2 v.1.34.0 (Love, Huber ve

Anders, 2014; Stephens, 2017), (ii) edgeR v3.36.0 (Robinson, McCarthyve Smyth, 2010) (iii) NOIseq - TPM ile normalize edilmiş veri seti (Tarazona ve ark., 2011), (iv) NOIseq - SCBN v.1.4.0 (Zhou ve ark., 2019) ile normalize edilmiş veri seti (Tarazona ve ark., 2011). Tüm analiz yöntemlerinde anlamlı çıkan sonuçlar ($\log_2FC \geq 2$, adjusted p-value ≤ 0.01) dikkate alınmıştır.

4. SONUÇLAR

4.1. Tür Teşhisi ve Habitat Bilgisi

B. soroensis ve *B. fragrans* transkriptom verisinden DNA barkod bölgesi olarak kullanılan sitokrom oksidaz alt ünite 1 geni dizilerinin BOLD veri tabanında taranması sonucu *B. soroensis* veri tabanında bulunan aynı türe ait örnekler ile %98,2; *B. fragrans* ise %98,6 homoloji göstermiştir.

B. soroensis Kayseri Erciyes Dağı'ndan toplanmış olup alanda hakim vejetasyon tipinin dağ stebi olduğu tespit edilmiştir. Örnekler, *Cirsium echinus* (M.Bieb.) Hand.-Mazz. üzerinden toplanmıştır. İlgili vejetasyon tipinde *Acantholimon acerosum* (Willd.) Boiss. var. *acerosum* (Pişikgeveni); *Artemisia alpina* Pall. ex Willd. (Dağ yavşanı); *Astragalus angustifolius* Lam. subsp. *pungens* (Willd.) Hayek (Kör geven); *Astragalus acicularis* Bunge (İğne geveni); *Festuca cappadocica* (Hackel) Markgr.-Dann. (Peri yumağı); *Onobrychis argaea* Boiss. & Balansa (Gümüş korunga); *Stipa pulcherrima* K.Koch subsp. *crassiculmis* (P.Smirn.) Tzvelev (Kabasorguç) taksonlarının baskın olduğu görülmektedir.

B. fragrans ise Eskişehir ili Sivrihisar ilçesinde step vejetasyonunun baskın olduğu alanlardan *Cirsium arvense* (L.) Scop. subsp. *arvense* üzerinden toplanmıştır. Step vejetasyonu içerisinde *Artemisia campestris* L. (Kara yavşan); *Astragalus microcephalus* Willd. (Anadolu kitresi); *Bromus tomentellus* Boiss. (Bozkır bromu); *Eryngium bithynicum* Boiss (Çakırotu); *Gypsophila viscosa* Murray (Sadırlı çöven); *Onobrychis tournefortii* (Evliya otu); *Salvia wiedemannii* Boiss. (Sultantacı); *Thymus leucostomus* Hausskn. & Velen (Ana kekik) türlerinin baskın olduğu görülmektedir.

4.2. RNA İzolasyonu

B. soroensis ve *B. fragrans* türlerine ait örneklerin antenlerinden gerçekleştirilen total RNA izolasyonuna ait florometrik ölçüm sonuçları uygun bulunan ve RNA dizilemesine gönderilen örnekler Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. *B. soroeensis* ve *B. fragrans* türlerinin üç tekrarlı anten dokusundan izole edilen RNA örneklerinin Qubit 4.0 RNA florometrik ölçüm sonucu.

Tür	Örnek kodu	Konsantrasyon (ng/µL)	Hacim (µL)	Total Kitle (µg)
<i>B. soroeensis</i>	SA1	111	45	4,99
	SA2	80	45	3,6
	SA3	68	45	3,06
<i>B. fragrans</i>	FA1	66,6	45	2,99
	FA2	39,6	45	1,78
	FA3	60,7	45	2,73

4.3. RNA-Dizileme Bulguları

Dizileme reaksiyonu sonrasında elde edilen ham okumaların kalite kontrolünden geçirildikten sonra elde edilen yüksek kaliteli okumalarına ait fred kalite skoru (phred (Q) ≥ 20) her kütüphanedeki nükleotidlerin %97 oranında doğru okunduğunu göstermektedir. *B. soroeensis* ve *B. fragrans* için yüksek kaliteli diziler toplam 22 milyar nükleotidden oluşmaktadır ve *B. soroeensis* için %GC içeriği yaklaşık %38 iken *B. fragrans* için yaklaşık %39 olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *B. soroensis* ve *B. fragrans* türlerinin üç tekrarlı anten dokusundan oluşturulan kütüphanelerden elde edilen yüksek kaliteli RNA dizilerine ilişkin sonuçları.

Tür	Örnek kodu	Kaliteli Okuma Sayısı	Kaliteli Baz Sayısı	Okuma Uzunluğu (bç)	Q20(%)	GC(%)
<i>B. soroensis</i>	SA1	74.624.244	7.462.424.400	100	97,26	38,31
	SA2	74.761.792	7.476.179.200	100	97,14	38,41
	SA3	72.147.124	7.214.712.400	100	97,14	38,24
<i>B. fragrans</i>	FA1	74.356.338	7.435.633.800	100	97,13	39,67
	FA2	74.687.330	7.468.733.000	100	97,9	39,57
	FA3	74.175.520	7.417552.000	100	97,28	40,30

4.4. De novo Transkriptom Analiz Bulguları ve Transkriptom Bütünlüğü

De novo transkriptom analizi ile *B. soroensis* ve *B. fragrans* için elde edilen toplam “contig” sayısı sırası ile 160.773 ve 169.675’dir. *B. soroensis* için %GC içeriği 36,89 iken *B. fragrans* için 38,18’dir (Çizelge 4.3.). Birleştirilen transkriptlerin %10’unun *B. soroensis* için en az 12.860 baz (N10) uzunluğunda; *B. fragrans* için ise 11.834 baz (N10) uzunluğunda olduğu tespit edilmiş olup birleştirilmiş bazların en az yarısının uzunluğunun (N50) *B. soroensis* için 5.330; *B. fragrans* için 4.558 olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *De novo* transkriptom inşası ve kalite değerlendirmesi istatistikleri

	<i>B. soroensis</i>	<i>B. fragrans</i>
Toplam trinity ‘genleri’	106.055	116.908
Toplam trinity transkriptleri	160.773	169.675
%GC	36,89	38,18
Contig N10 (bç)	12.860	11.834
Contig N20 (bç)	9.976	8.871
Contig N30 (bç)	7.977	7.074
Contig N40 (bç)	6.555	5.745
Contig N50 (bç)	5.330	4.558
Ortanca contig uzunluğu (bç)	525	485
Ortalama contig (bç)	1.859,55	1.609,62
Toplam birleştirilen (bç)	298.965.154	273.112.430

Transkript inşasına ait kalite değerlendirilmesinde elde edilen transkript dosyası ile herbir temiz okuma dosyasının bowtie2 (Langmead ve Salzberg, 2012) aracı ile hizalanması sonucunda *B. soroensis* için %97,98; *B. fragrans* için %97,59 hizalama başarısı elde edilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. *B. soroensis* ve *B. fragrans* için inşa edilen transkript kütüphanesine, ilgili türün her bir okuma dosyasının hizalanması ile elde edilen hizalama sonuçları.

Hizalama (bowtie2)	<i>B. soroensis</i>	<i>B. fragrans</i>
Okuma sayısı	221.066.314	223.366.470
Eşleştirilen	221.066.314 (% 100)	223.366.470 (% 100)
0 kez hizalanan	11.495.654 (% 5,20)	12.493.630 (% 5,59)
1 kez hizalanan	25.173.307 (% 11,39)	30.287.173 (% 13,56)
> 1 kez hizalanan	184.397.353 (% 83,41)	180.585.667 (% 80,85)
Tüm hizalama oranı	%97,89	%97,59

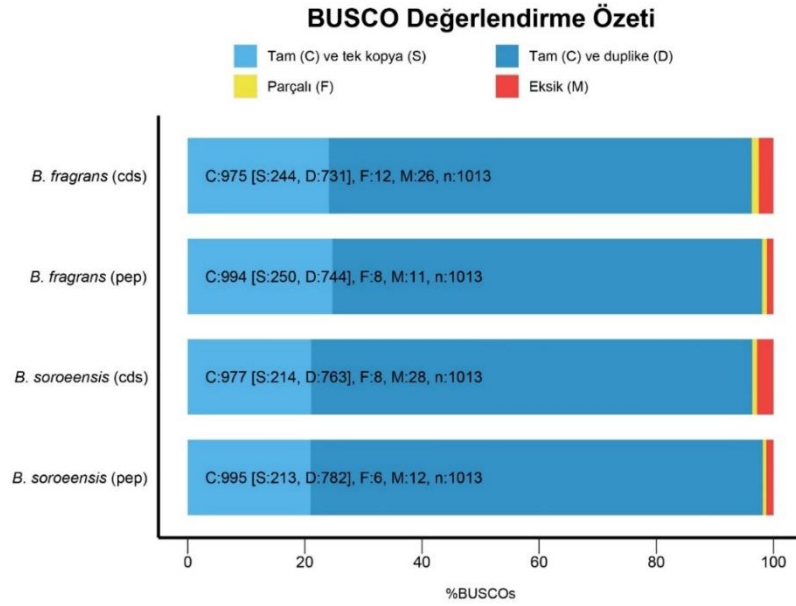
4.5. Protein Kodlayan Transkriptlere Ait Bulgular

De novo transkriptom analizi sonucunda elde edilen diziler mRNA'nın yanı sıra, kodlama yapmayan dizileri de içermektedir. Her bir türün veri seti içerisindeki muhtemel protein kodlayan dizileri belirlemek için tüm transkriptlerin ORF'leri belirlenmiştir (6 farklı çerçeve). 100 amino asitten uzun ORF sayısı *B. soroensis* için 114.871 iken *B. fragrans* için 114.392 olarak belirlenmiştir.

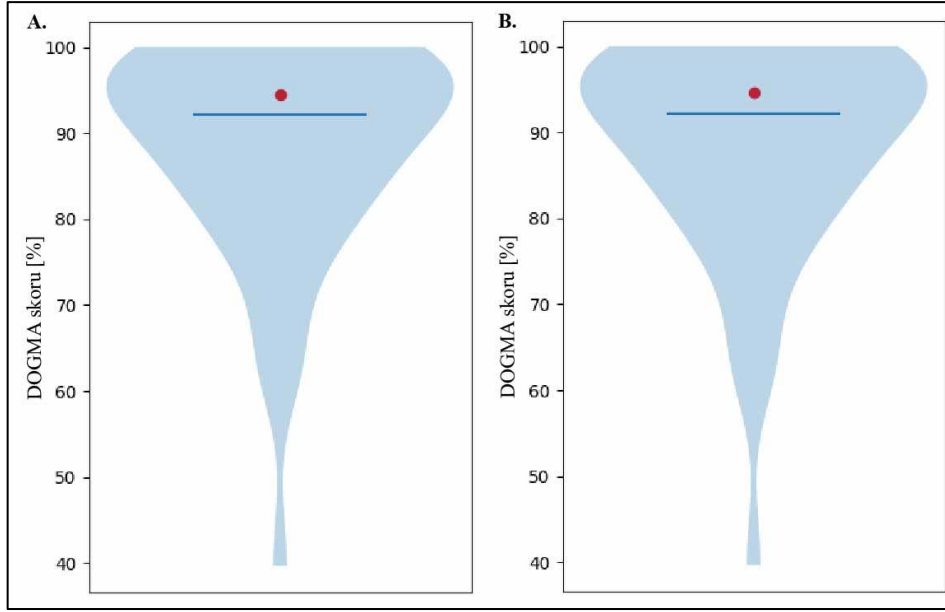
4.6. Transkriptom Bütünlüğü ve Kalitesinin Kontrolü

Transkriptomların bütünlüğü analizinde, *B. soroensis* ve *B. fragrans* için elde edilen kodlama yapan diziler ve peptid dizilerinin BUSCO Arthropoda kütüphanesine hizalanması sonucunda *B. soroensis* transkriptom verisinin %98,22; *B. fragrans* transkriptom verisinin ise %98,59 ortolog gen barındırdığı (Şekil 4.1.); DOGMA pfam v32 Arthropoda kütüphanesine hizalanması sonucu ise *B. soroensis* peptid dizisinde %94,62; *B. fragrans* peptid dizisinde ise %94,41 korunmuş domain olduğu tespit

edilmiştir (Şekil 4.2.). Elde edilen bu bulgular ilgili türlerin, yeterli ve yüksek bir kapsamda transkriptom verisine sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. *B. soroensis* ve *B. fragrans* türlerinden elde edilen kodlama yapan diziler ve peptid dizilerinin BUSCO Arthropoda kütüphanesinde ortolog genlere dayanarak bütünlüğünün değerlendirilmesi.



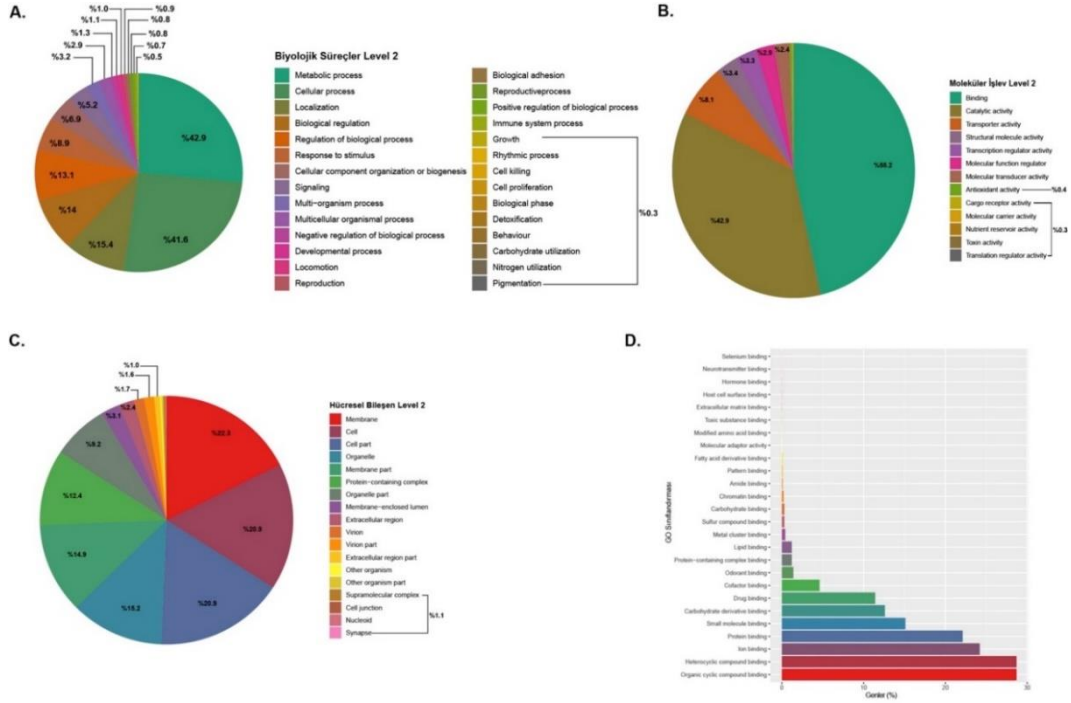
Şekil 4.2. Arthropoda kütüphanesinde korunmuş protein domainlerine (keman grafiği) A. *B. soroensis* ve B. *B. fragrans* türlerinden elde edilen peptit dizilerinin DOGMA pfam v32 Arthropoda kütüphanesine dayanarak bütünlüğünün (kırmızı nokta) ölçülmesi. Koyu mavi çizgi, Arthropoda proteomlarının medyan DOGMA skorunu temsil etmektedir.

4.7. Gen Ontoloji (GO) Analiz Bulguları

B. soroensis ve *B. fragrans* için elde edilen transkriptom verilerinin (i) biyolojik süreç (BP), (ii) moleküler işlev (MF) ve (iii) hücresel bileşen (CC) hakkında bilgi elde edebilmek için gerçekleştirilen Gen Ontoloji (GO) anotasyonu sonucunda *B. soroensis* türünde 43.249 (%26,9) transkript (Şekil 4.3.), *B. fragrans* türünde 39.725 (%23,4) transkript (Şekil 4.4.) 59 fonksiyonel gruba ayrılmış ve üç GO kategorisine sınıflandırılmıştır.

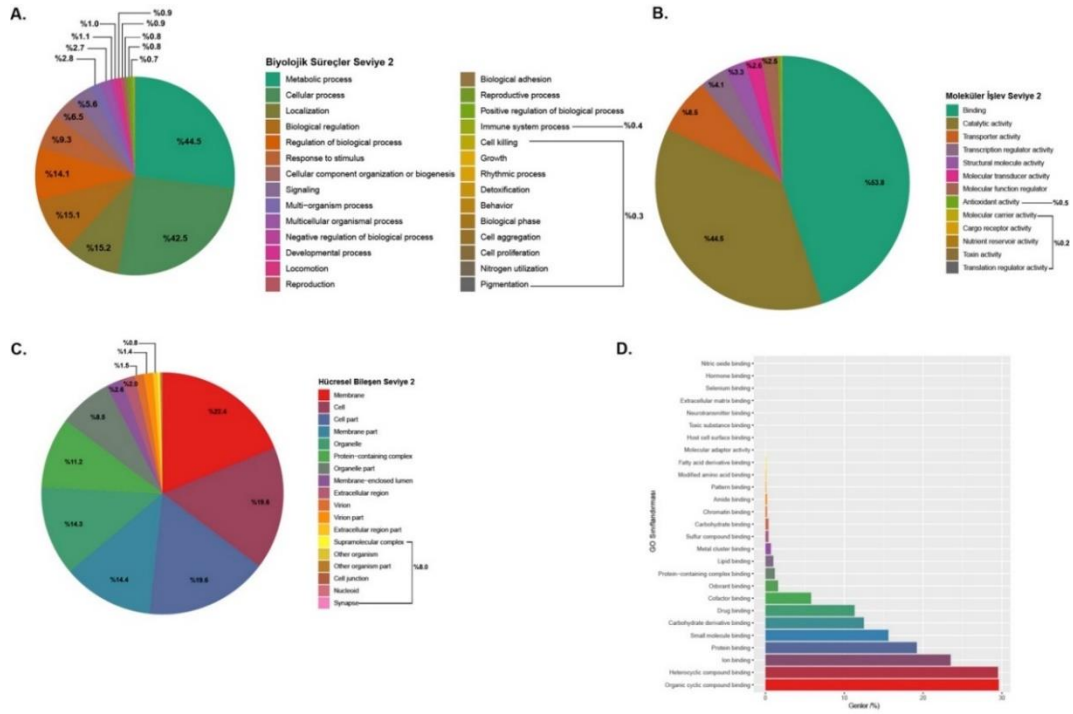
B. soroensis anten transkriptom verisinde MF en fazla temsil edilen (%44,8) kategoridir. Bağlayıcılar (binding) (%55,2) ve katalitik aktivite (catalitic activity) (%42,9) MF’de en çok annotate edilen alt kategorileridir. BP, %34,2 ile temsil edilirken bu kategoride en fazla annotate edilen alt kategoriler metabolik süreç (metabolic process) (%42,9) ve hücresel süreçtir (cellular process - CP) (%41,6). Transkriptlerin %21’i CC kategorisinde yer

alırken bu kategori kendi içerisinde membran (%22,3), hücre (%20,9) ve hücre bileşeni (cell component) (%20,9) alt kategorilere ayrılmaktadır.



Şekil 4.3. *B. soroensis* anten transkriptom verisinde Gen Ontoloji (GO) annotasyonu. GO sınıflandırmasının 2. seviyesinde (level 2) temsil edilen (A) biyolojik süreç (BP), (B) moleküler işlev (MF) (C) hücre bileşen (CC) kategorileri ve (D) MF 3. seviye (level 3) bağlayıcı (binding) alt kategorileri.

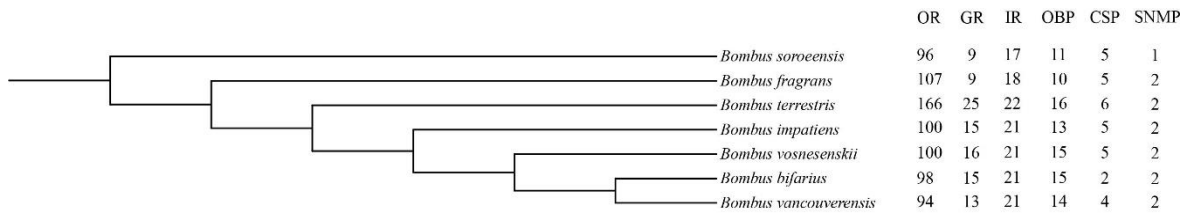
Benzer şekilde *B. fragrans* anten transkriptom verisinde MF en fazla temsil edilen (%44,8) kategoridir. MF’de en çok annotate edilen bağlayıcılar (binding) (%53,8) ve katalitik aktivite (catalytic activity) (%44,5) alt kategorileridir. *B. fragrans* türünde BP %34,9 ile temsil edilirken bu kategoride en fazla annotate edilen alt kategoriler, metabolik süreç (metabolic process) (%44,5) ve hücresel süreçtir (cellular process) (%42,5). Transkriptlerin %20,3’ü ise CC kategorisinde yer alırken bu kategori kendi içerisinde membran (%22,4), hücre (%19,6) ve hücre bileşeni (cell component) (%19,6) alt kategorilerine ayrılmaktadır.



Şekil 4.4. *B. fragrans* anten transkriptom verisinde Gen Ontoloji (GO) anotasyonu. Gen Ontoloji (GO) anotasyonu. GO sınıflandırmasının 2. seviyesinde (İng. level 2) temsil edilen (A) biyolojik süreç (BP), (B) moleküler işlev (MF) (C) hücre bileşen (CC) kategorileri ve (D) MF 3. seviye (level 3) bağlayıcı (binding) alt kategorileri.

4.8. Aday Koku Genlerinin Annotasyonuna Dair Bulgular

Tez çalışması kapsamında *Bombus* türlerinde tespit edilen kemoreseptör repertuarı Şekil 4.5.'de özetlenmiş olup, her bir gen ailesi alt başlıklar altında incelenmiştir. *B. soroensis* ve *B. fragrans* türlerinde tespit edilen transkriptlere ait detaylı bilgiler Ek1-6'da sunulmuştur.



Şekil 4.5. *Bombus* arılarında kemoreseptör repertuarı. *B. terrestris* Sadd ve ark. (2015) çalışmasından alınmıştır.

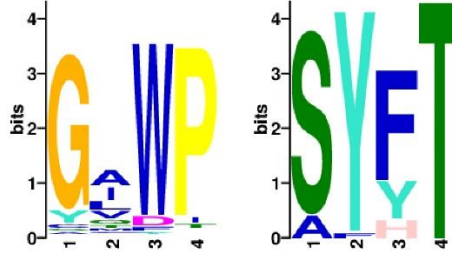
4.8.1. Koku Reseptörleri (OR)

B. terrestris türünde 166 OR tespit edilmiş olup (237 – 479 amino asit uzunluğunda), bunlardan 4 tanesi pseudogendir (Sadd ve ark., 2015). Anten transkriptom kütüphanesine dayalı OR anotasyonunda *B. fragrans* türünde 107 OR, *B. soroensis* türünde ise 96 OR tespit edilmiş (EK 1), NCBI veri tabanında bulunan transkriptom kütüphanelerinde *B. impatiens*, *B. vosnesenskii*, *B. bifarius* ve *B. vancouverensis* türlerinde sırası ile 100, 100, 98 ve 94 OR'nin homoloğu belirlenmiştir (Şekil 4.5.). Annotasyon çalışmaları gerçekleştirilirken PF02949 (7tm Odorant receptor) Pfam domaini içermesi dikkate alınarak filtreleme işlemleri gerçekleştirilip, yerel kütüphanede en iyi homoloji gösterdiği OR dizisi ile hizalanarak kontrol edilmiştir.

Altı tür için ortalama aminoasit uzunlukları 390-398 arasında tespit edilmiş olup TMHMM (Anonim 3) tarafından tahminlenen transmembran alanları sayısı 5,55-5,75 aralığındadır. İlgili hesaplamalar karşılaştırma yapmak için OR amino asit dizileri daha önce yayınlanmış olan *B. terrestris* (Sadd ve ark., 2015) türü için yapılmış ve ilgili türün ortalama amino asit uzunluğu 396, transmembran alanlarının sayısı ise 5,80 olarak tahminlenmiştir (Çizelge 4.5.). Ayrıca OR amino asit dizilerinin N-terminalinde GhWP ve C-terminalinde ise SYFT korunmuş motifi tespit edilmiştir (Şekil 4.6.).

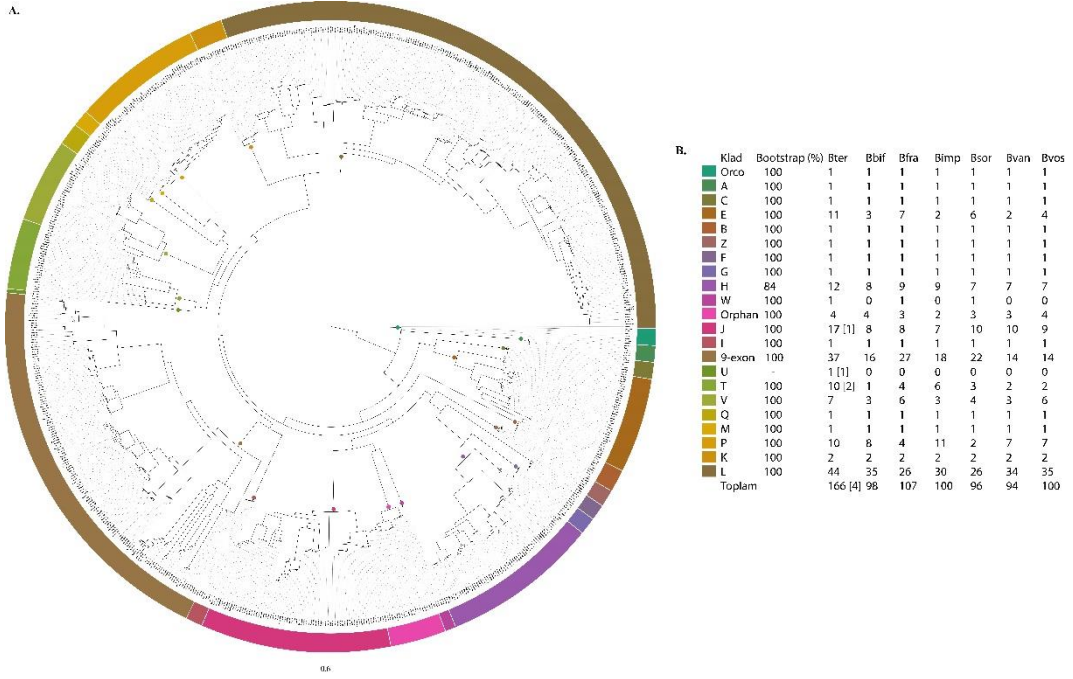
Çizelge 4.5. Yedi *Bombus* türünde koku reseptörlerinin ortalama aminoasit uzunluğu (\pm SS) ve TMHMM tarafından tahmin edilen ortalama transmembran alanları (\pm SS) (*B. terrestris* karşılaştırma için eklenmiştir.)

Tür	Ortalama Uzunluk	Ortalama TMHMM
<i>B. terrestris</i>	396,54 \pm 14,78	5,80 \pm 1,21
<i>B. bifarius</i>	397,22 \pm 24,93	5,55 \pm 1,23
<i>B. fragrans</i>	395,21 \pm 25,90	5,75 \pm 1,17
<i>B. impatiens</i>	390,69 \pm 30,00	5,46 \pm 0,11
<i>B. soroensis</i>	394,49 \pm 26,12	5,63 \pm 1,27
<i>B. vancouverensis</i>	398,17 \pm 24,33	5,63 \pm 1,13
<i>B. vosnesenskii</i>	395,03 \pm 24,87	5,58 \pm 1,20



Şekil 4.6. *Bombus* türleri OR amino asit dizilerinin N-terminalde GhWP ve C-terminalde SYFT korunmuş motifi.

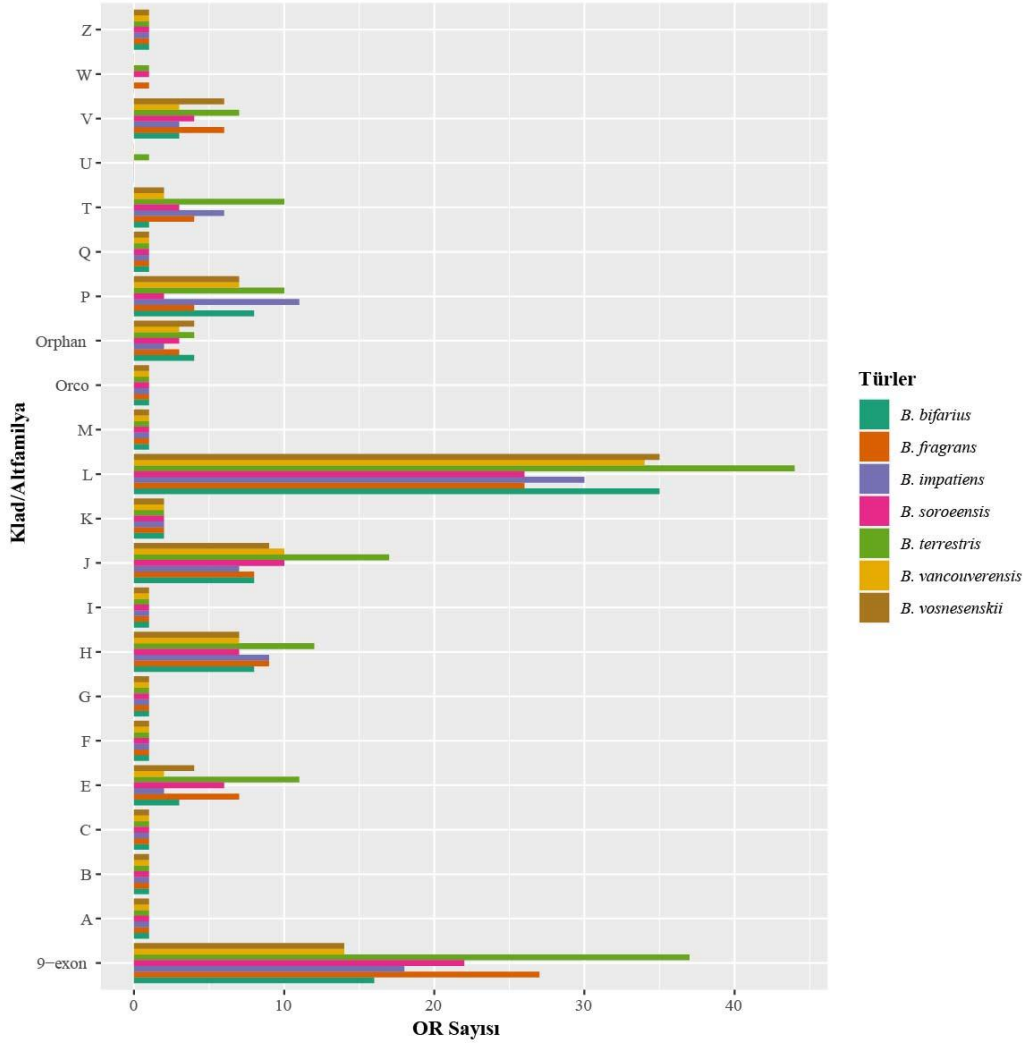
Yedi *Bombus* türünde OR amino asit dizilerinin MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanmıştır. Filogenetik analiz için N-terminal ve C-terminal bölgeleri değişen uzunluklarda ve zayıf hizalama gösterdiğinden trimAl yazılımında (Capella-Gutiérrez, Silla-Martínez ve Gabaldón, 2009) kırılması sonucu 602 amino asit uzunluğunda veri matrisi elde edilmiştir. Elde edilen bu veri matrisinden JTT+G4+F substitüsyon modeli altında 100 bootstrap ile filogeni inşası gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.7.). Hymenoptera takımında OR ile gerçekleştirilen çalışmalarla (Engsontia ve ark., 2015; Zhou ve ark., 2015) 30 klad belirlenmiş ve *A. mellifera* OR'leri (*AmOR117* hariç) 21 klad içerisinde tespit edilmiştir. Yedi *Bombus* türünün OR peptid dizilerinden elde edilen ML ağacında 22 klad belirlenmiş olup (Şekil 4.8.) yüksek bootstrap değeri ile desteklenmiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. A. *Bombus* türlerinde OR gen ailesi filogenisi. Dendogram Orco kladından köklendirilmiştir. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır. Bter: *B. terrestris*, Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

İlgili ağaçta *AmOR121* ve *BtOR113PSE*'nin bulunduğu U kladında *B. fragrans* ve *B. soroensis* işçi bireylerinin anteninde ifade edilen herhangi bir OR tespit edilmemiştir. *Orco* hariç tek bir OR içeren 11 kladın (A-OR115; B-OR108; C-OR96; F-OR114; G-OR117; I-OR111; M-OR50; Q-OR112; W-OR109 ve Z-OR110) hepsinde *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinin 1:1 ortologları tespit edilmiştir (Şekil 4.8.). *B. terrestris* türünde en geniş alt aile olan L kladında (44 OR içermektedir) *B. bifarius* ve *B. vosnesenskii* türlerinde 35 OR, *B. vancouverensis* türünde 34 OR, *B. impatiens* türünde 30 OR, *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde ise 26 OR belirlenmiştir. En geniş ikinci klad olan 9-exon kladında (37 OR içermektedir) en fazla *B. fragrans* türünde 27 OR belirlenmiş olup; *B. soroensis*, *B. impatiens*, *B. bifarius*, *B. vancouverensis*, *B. vosnesenskii* türlerinde sırasıyla 22, 18, 16, 14, 14 OR tespit edilmiştir. Diğer taraftan T kladında yer alan ve *B. terrestris* türünde pseudogen olan *OR90* ile homoloji gösteren *B. fragrans* türüne ait bir

transkript belirlenmiş olup ilgili dizi kısmı (internal) olarak elde edildiği için pseudogen olup olmadığı belirsizdir.

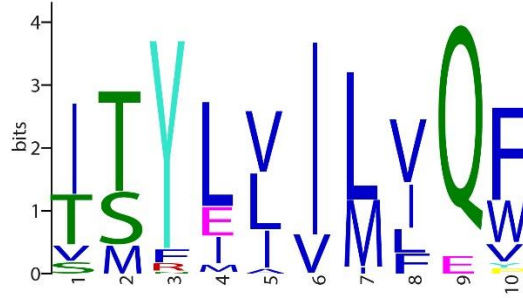


Şekil 4.8. Bombus arılarında OR kladlarının boyutu. *B. terrestris* Sadd ve ark. (2015) çalışmasından alınmıştır.

4.8.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR)

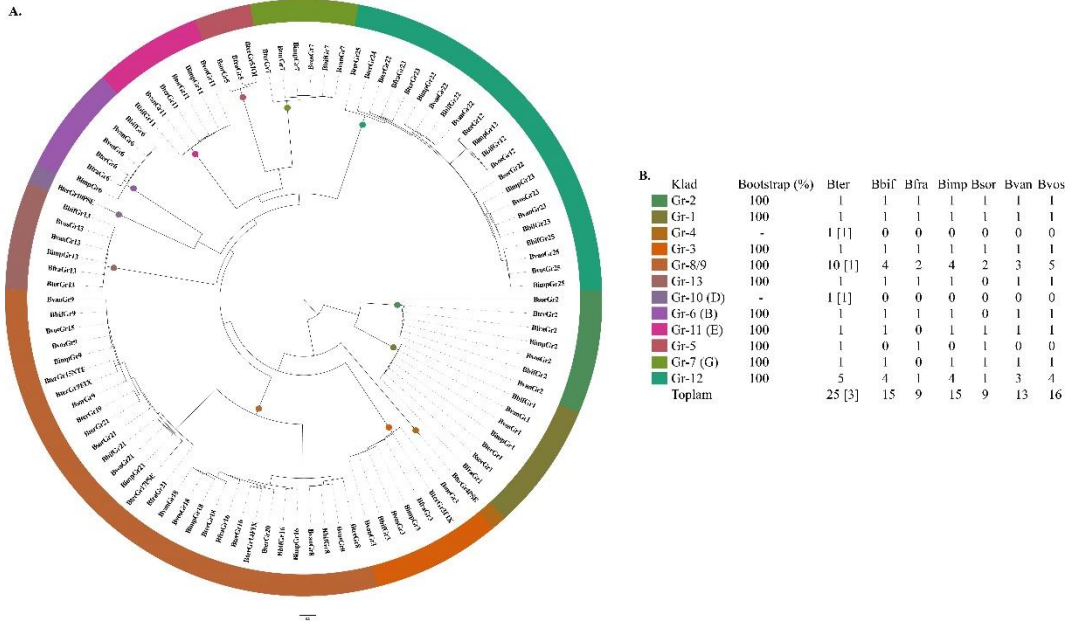
B. terrestris türünde 25 *Gr* tanımlanmış olup (310 – 458 amino asit uzunluğunda) bunlardan 3 tanesi pseudogendir (Sadd ve ark., 2015). *B. fragrans* ve *B. soroensis* anten transkriptom verisinde dokuz GR tespit edilmiştir (EK 2). İlgili genlerin uzunlukları 311 – 480 amino asit aralığında değişmekte olup *Gr13* hariç tamamında PF08395 (7th Chemosensory Receptor) korunmuş domaini (E değeri aralığı: 3E-12 – 3E-40; bit skor

aralığı: 46,4 – 138,4); *Gr1* ve *Gr2* genlerinde PF06151 (Trehalose receptor) korunmuş domaini de tespit edilmiştir (E değeri aralığı: 2E-94 – 6E-111; bit skor aralığı: 316,1–371,0). Ayrıca ilgili amino asitlerin C-terminalinde TYhhhhhQF korunmuş motifi belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *Bombus* türleri GR amino asit dizilerinin C-terminalinde korunmuş TYhhhhhQF motifi.

GR aminoasit dizilerinin MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanması ve trimAl yazılımında (Capella-Gutiérrez, Silla-Martínez ve Gabaldón, 2009) kırılması sonucu 722 amino asitlik veri matrisi elde edilmiştir. JTT+G4+F substitüsyon modeli altında 100 bootstrap ile filogeni inşası gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.10.). Hymenoptera takımında GR ile gerçekleştirilen çalışmalarla (Zhou ve ark., 2015) 20 klad belirlenmiştir. Bu çalışmada inşa edilen ML ağacında *Bombus* türlerinde bootstrap destek değerleri %98-100 aralığında olan 10 klad belirlenmiş olup diğer iki klad *BtGr4PSE* ve *BtGr10PSE*'nin bulunduğu kladdır.



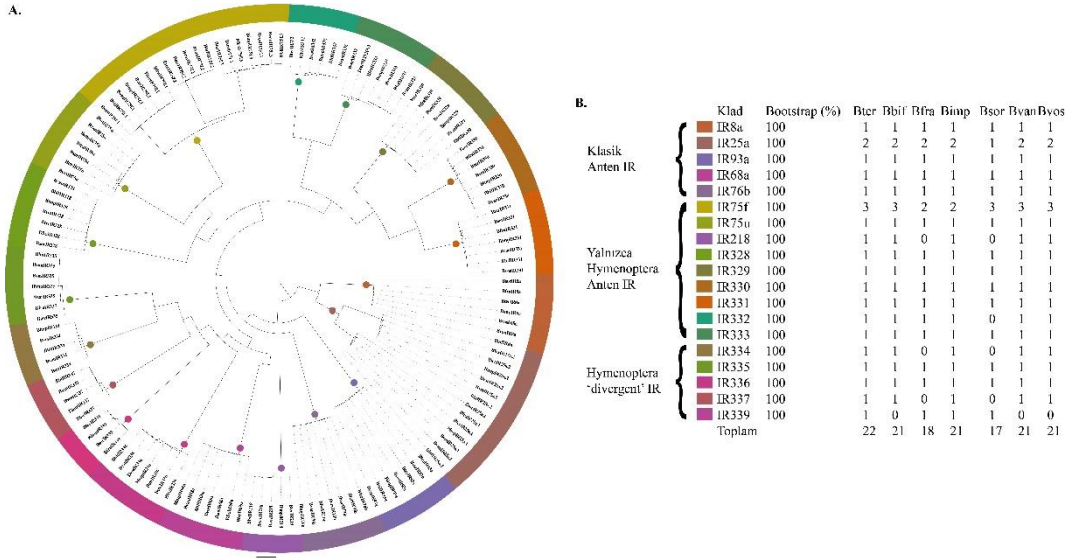
Şekil 4.10. A. *Bombus* türlerinde GR gen ailesi filogenisi. Dendogram Gr-1/Gr-2 kladından köklendirilmiştir. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır. Bter: *B. terrestris*, Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

4.8.3. İyonotropik Reseptörler (IR)

B. terrestris türünde IR gen ailesinden 22 gen tanımlanmış olup (406 – 943 amino asit uzunluğunda), 11 tanesi antende görev alan genlerdir (Sadd ve ark., 2015). Yapılan annotasyon çalışmaları sonucunda *B. fragrans* türünde 18 IR ve *B. soroensis* türünde 17 IR tespit edilmiştir (EK 3). IR koreseptörleri olarak kabul edilen *IR25a*, *B. terrestris* türünde bu proteinin yalnızca ikinci yarısını kodlayan bir duplike gen olan *IR25a.2*'ye sahip olup bu proteini kodlayan gen yalnızca *B. soroensis* türünde tespit edilememiş olup, *B. fragrans* türünde ise N-terminali eksik olarak belirlenmiştir. Diğer klasik anten IR'lerinin ise 1:1 ortologları tespit edilmiştir. Yalnızca Hymenoptera anten IR'ler ve Hymenoptera 'divergent' IR'lerde de *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde farklı genlerin ifadesi belirlenmiştir.

İlgili genlerin uzunlukları 327-923 amino asit aralığında değişmektedir. *IR75f.2*, *IR75f.3*, *IR334* ve *IR335*'de korunmuş Pfam domaini tespit edilememiş olup, diğer tüm proteinlerde PF00060 (Ionotropic glutamate receptor) (E değeri aralığı: 2E-05 – 4E-45; bit skor aralığı: 23,0 – 155,4) korunmuş domaini tespit edilmiştir.

IR amino asit dizilerinin MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanması ve trimAl yazılımında (Capella-Gutierrez ve Silla-Martínez, 2009) kırılması sonucunda 1481 amino asitlik veri matrisi elde edilmiş ve JTT+G4+F substitüsyon modeli altında 100 bootstrap ile filogeni inşası gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.11.). Elde edilen ML ağacında Obiero ve ark. (2021) Apoidea üst familyasında yaptığı çalışmada belirlediği 24 IR kladından 19 tanesi belirlenmiş olup, her klad inşa edilen ML ağacında %100 bootstrap destek değeri ile desteklenmiştir.

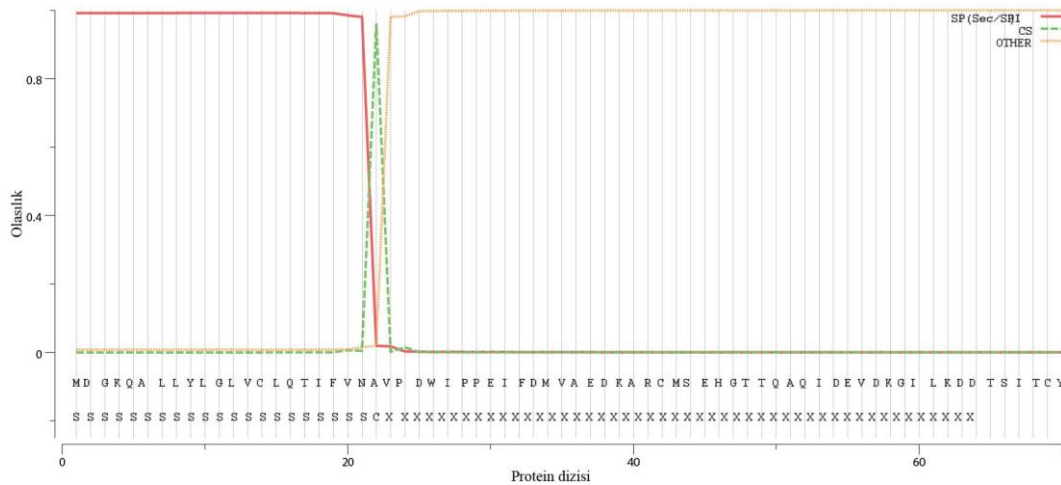


Şekil 4.11. A. *Bombus* türlerinde IR gen ailesi filogenisi. Dendogram IR25a-IR8a kladından köklendirilmiştir B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Bter: *B. terrestris*, Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

4.8.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP)

B. terrestris türünde 16 OBP (132 – 152 amino asit uzunluğunda) bulunmaktadır (Sadd ve ark., 2015). Annotasyon çalışmaları sonucunda, *B. fragrans* türünde 10, *B. soroensis* türünde 11 OBP olduğu, uzunluklarının 111-156 amino asit aralığında değiştiği belirlenmiştir (EK 4).

OBP genlerinin tamamında PF01395 (feromon bağlayıcı protein/koku bağlayıcı protein PBP/GOBP) korunmuş domainleri yer almaktadır (E değeri aralığı: $1E-5$ - $8.9E-25$; bit skor aralığı: 32,6 – 88,4). N-terminali eksik genler (*BfraOBP11*) haricinde, diğer tüm OBP'lerin 17 - 27 amino asit aralığında değişen N-terminal sinyal peptit dizisine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12., EK 7).



Şekil 4.12. *B. fragrans* OBP2 amino asit dizisinde SignalP yazılımı kullanılarak tespit edilen sinyal dizisi.

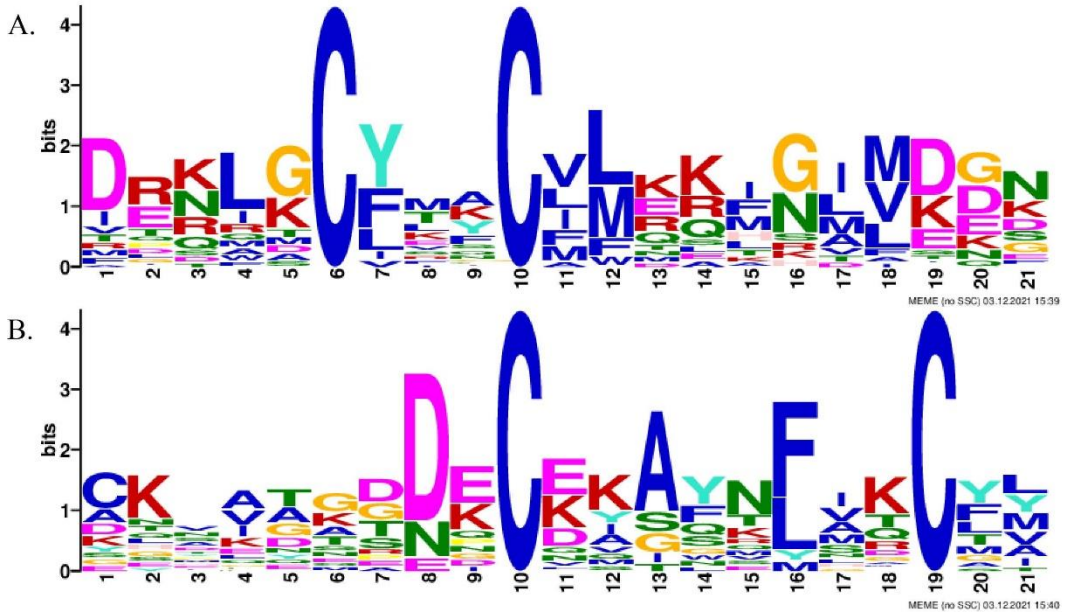
Tüm böcek OBP'leri, yüksek oranda korunmuş altı sistein kalıntısına sahip olup ikinci ve üçüncü sisteinler arasındaki amino asitlerin sayısı üç; beşinci ve altıncı sisteinler arasındaki amino asit sayısı ise sekizdir. Annotasyonu gerçekleştirilen OBP genlerinin hepsinde altı sistein kalıntısı (Şekil 4.13.), ikinci ve üçüncü sisteinler arasında üç ve beşinci altıncı sisteinler arasında sekiz amino asit (Şekil 4.14.) örüntüsü elde edilmiş olup, sistein kalıntısı bakımından incelendiğinde ise klasik OBP'ler içerisinde yer aldıkları belirlenmiştir

```

SDTQLKQHGSLTIADL-----PSLARDNSPEVA-RRRGQLEAVHQRKMGML-NGNVINTQRIDELEDLNDILPFDG-ENK---EIVRNHVHQAARDA---ANDDQELVAQNFAGGLEHLK
SETQLKQHGSLVFDL-----GNLIRDNTPEGI-RTRGQFEGQLMQRKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-EKK---DIIRDVTVHQAAYS---ANDDQVVAQNFGRGLDQLR
SETQLKQHGSLTIFDL-----GNLIRDTSPEGI-RTRGQFESLHQKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-EKK---DIIRDVTVHQAAYS---ANDDQVVAQNFGRGLDQLR
SETQLKQHGSLTVFDL-----GNLIRDNSPEGI-RTRGQFEGQLMQRKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-EKK---DIIRDVTVHQAAYS---ANDDQVVAQNFGRGLDQLR
SDTQLKQMDLSIADL-----SSLVQDNSPEVA-KRRGQLEAVMQRKMGML-DGNVINTQRIDELEDLNDILPFDG-ENK---ETVRNVTVHQAARDA---ANDDQELVAQNFAGGLEHLK
SDTQLKQLGLSIADL-----PSLVQDNSPEVA-RRRGQLEAVIQRMGML-DGNVINTQRIDELEDLNDILPFDG-ENK---EIVRNHVHQAARDA---ANDDQELVAQNFAGGLEHLK
SETQLKQHGSLIFDL-----EHLNRDYSQGGI-RRRGQFEAQLMQRKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-HKR---DSIRETLHQQAARA---ASDDQMVVAGKFAKGVLDLLK
SETQLKQHGSLTIFDL-----GNLIRDTSPEGI-RTRGQFEGQLMQRKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-EKK---DIIRDVTVHQAAYS---ANDDQVVAQNFGRGLDQLR
SETQLKQHGSLTIFDL-----GNLIRDTSPEGI-RTRGQFEGQLMQRKIGLM-DGNVINLRKIDEQIDRAYPDS-EKK---DIIRDVTVHQAAYS---ANDDQVVAQNFGRGLDQLR
RASQITETSIDPNLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS
RASQITETSIDPKLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS
RASQITETSIDPKLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS
RASQITETSIDPKLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS
RASQITETSIDPKLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS
RASQITETSIDPKLI-----QGAKGIIISKAD-ERLGGYTYMLRKKGIVEENGRLVNV--IAKRQLITYGA--DA---LMADEMVMNKHIA---GGNEKQASNLIQFLEIRS

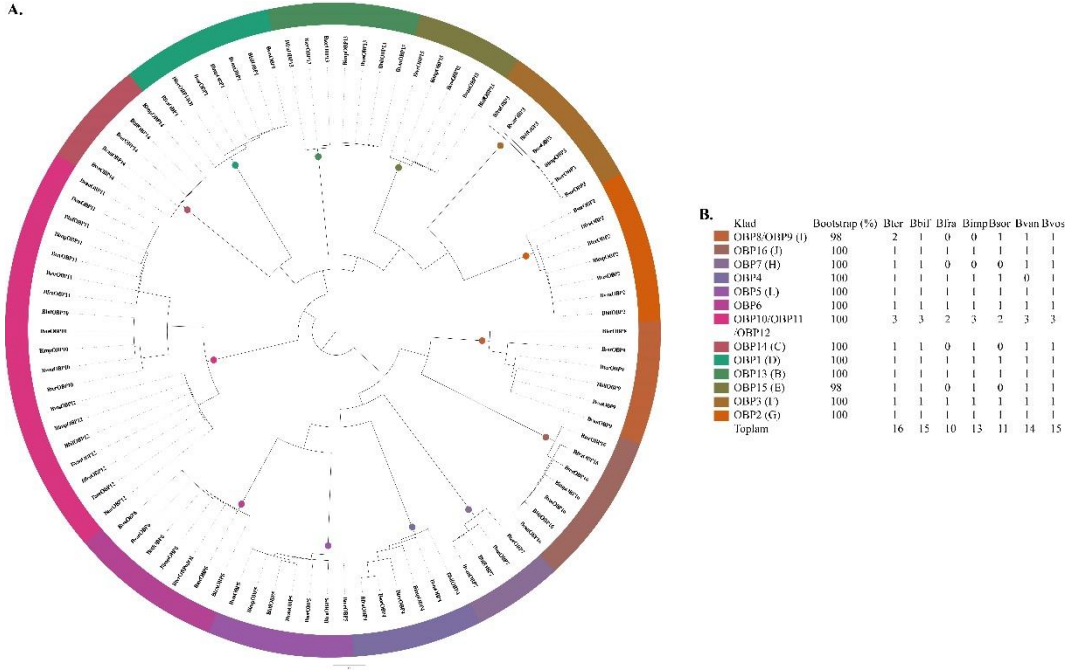
```

Şekil 4.13. Koku bağlayıcı proteinlerde altı sistein kalıntısı



Şekil 4.14. *Bombus* türlerinin koku bağlayıcı proteinlerinde tespit edilen A. C2-X3-C3 B. C5-X8-C6 motifi

Bombus türlerinde OBP amino asit dizilerinin hizalanması sonucunda 186 amino asitlik veri matrisi elde edilmiş ve JTT+I+G4 substitüsyon modeli altında 100 bootstrap ile filogeni inşası gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.15.). Obiero ve ark., (2021) Apoidea üst familyasında yaptığı çalışmada belirlediği 11 OBP kladı elde edilen ML ağacında %96-100 bootstrap destek değeri ile belirlenmiş olup K kladı (*OBP4* ve *OBP6*) tespit edilemediği için ayrı kladlar olarak değerlendirilmiştir.

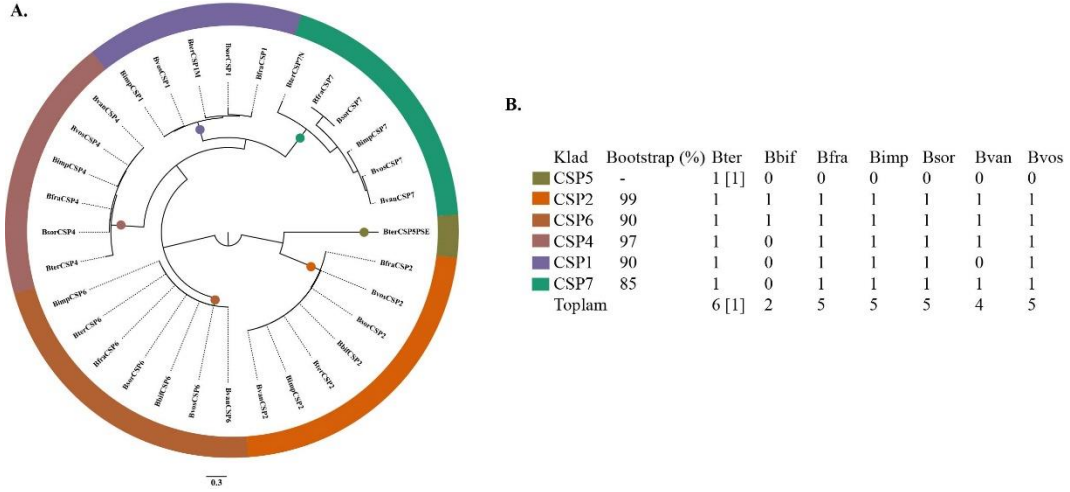


Şekil 4.15. A. *Bombus* türlerinde OBP gen ailesi filogenisi. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Bter: *B. terrestris*, Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

4.8.5. Kemosensör Proteinler (CSP)

B. terrestris türünde bir tanesi pseudogen olmak üzere (88 amino asit uzunluğunda) altı CSP (109 – 130 amino asit uzunluğunda) bulunmaktadır (Brand ve Ramírez, 2017). Annotasyon çalışmaları sonucunda, *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde beş CSP tespit edilmiş olup ilgili genler 113-150 amino asit uzunluğunda değişkenlik göstermektedir (EK 5).

CSP genlerinin tamamında PF03392 (böcek feromon bağlayıcı ailesi A10/OS-D) domaini belirlenmiştir (E değeri aralığı: $3E-14$ – $7E-39$; bit skor aralığı: 52,9 – 133,6). Tüm türlerdeki CSP'ler, 16 - 24 amino asit aralığında değişen N-terminal sinyal peptid dizisi (Şekil 4.16., EK 8) ve C1-X₆-C2-X₁₈-C3-X₂-C4 ile yüksek oranda korunmuş dört sistein kalıntısı (Şekil 4.17.) içermektedir.

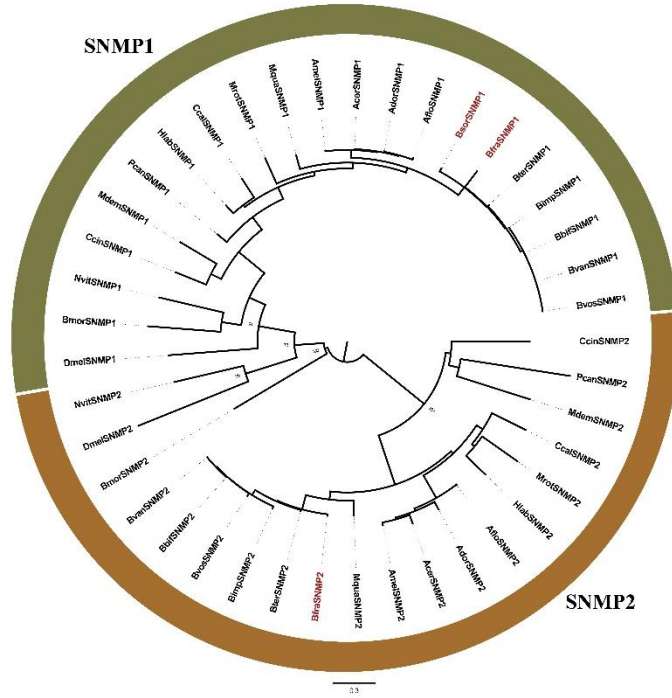


Şekil 4.18. A. *Bombus* türlerinde CSP gen ailesi filogenisi. B. Kladlar, filogenetik ağacın etrafındaki renk şeritleri ile belirtilmiştir ve bootstrap destek değerleri verilmiştir. Köşeli parantez içindeki değerler pseudogen sayısıdır. Bter: *B. terrestris*, Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

4.8.6. Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP)

B. fragrans ve *B. soroensis* türlerinde yapılan çalışmalar ile birlikte her iki türde de kısmi *SNMP1* dizisi belirlenmiş olup, *B. fragrans* türünde *SNMP2* dizisi de kısmi olarak belirlenmiştir (EK 6). İlgili genlerin PF01130 (CD36) korunmuş domaini içerdiği tespit edilmiştir (E değeri aralığı: 2E-87 - 6E-127; bit skor aralığı: 293,3 - 423,9).

GenBank veri tabanından temin edilen (EK 9) farklı türlere ait *SNMP1* ve *SNMP2* amino asit dizilerinin MAFFT 7.480 (Kato ve Standley, 2013) yazılımında hizalanması ve trimAl yazılımında (Capella-Gutiérrez, Silla-Martínez ve Gabaldón, 2009) kırılması sonucunda 320 amino asitlik veri matrisi elde edilmiş ve LG+I+G4 substitüsyon modeli altında 100 bootstrap ile filogeni inşası gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.19.). *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerine ait diziler Hymenoptera türlerinin oluşturduğu *SNMP1* ve *SNMP2* peptit dizileri ile aynı dalda yer almaktadır ve *Bombus terrestris* ile %95 homoloji sergilemektedir.

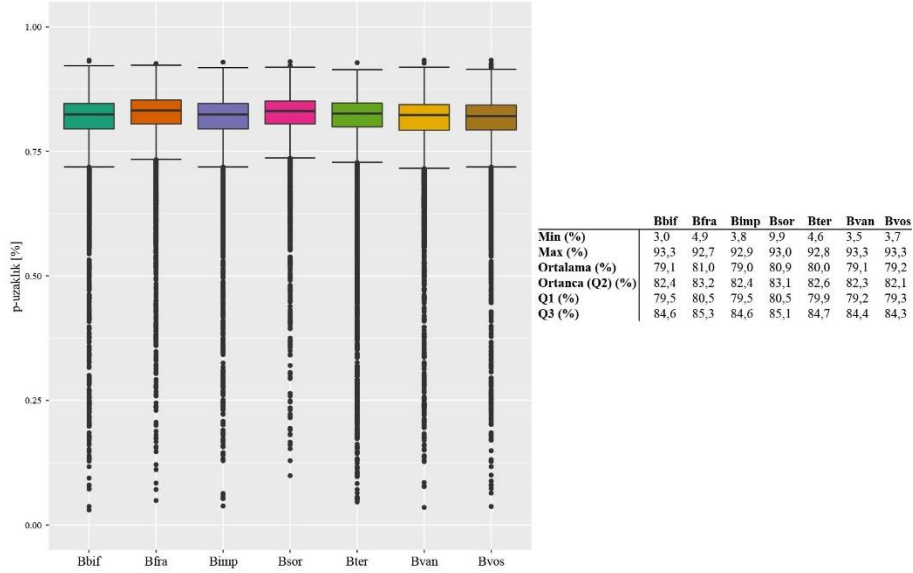


Şekil 4.19. Farklı türlere ait SNMP gen ailesi filogenisi. *B. fragrans* ve *B. soroensis* anten transkriptom verisinde tespit edilen SNMP'ler kırmızı olarak belirtilmiştir.

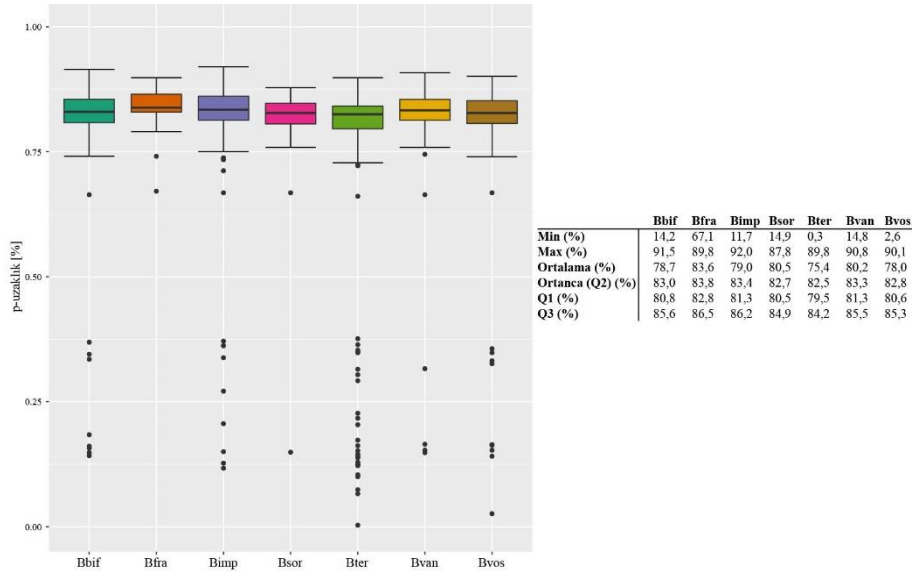
4.9. Genetik Uzaklık Çalışmaları

Her bir türde tespit edilen gen ailelerinin amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları, ikili p-uzaklık değerleri hesaplanmıştır. Her bir gen ailesi için her bir türde benzer farklılaşma örüntüleri belirlenmiştir. Koku almada rol alan reseptör ailelerinden OR gen ailesinde amino asit tabanlı genetik uzaklık %3,0-93,3 aralığında değişkenlik gösterirken, ortalama değer %79,0-%81,0, ortanca değer (Q2) ise %82,1-83,2 aralığında değişmektedir (Şekil 4.20.). GR gen ailesinde amino asit tabanlı genetik uzaklık %0,3-%92,0 aralığında değişkenlik gösterirken, ortalama değer %78,7-%83,6, ortanca değer (Q2) ise %82,5-83,8 aralığında değişmektedir (Şekil 4.21.). *B. terrestris* türünde görülen %0,3'lük uzaklık değeri *BtGR9FIX* ve N-terminali eksik olan *BtGR15NTE* amino asit dizileri arasında görülür iken, bu *GR15* homologu reseptör diğer türlerde tespit edilememiş olup; ortalama ve ortanca değerler tüm türlerde benzer farklılaşma örüntüsüne sahiptir. IR gen ailesinde ise amino asit tabanlı genetik uzaklık %52,5-%90,7 aralığında değişkenlik gösterirken; ortalama değer %82,7-%83,6, ortanca değer (Q2) ise %83,0-%83,8 aralığında

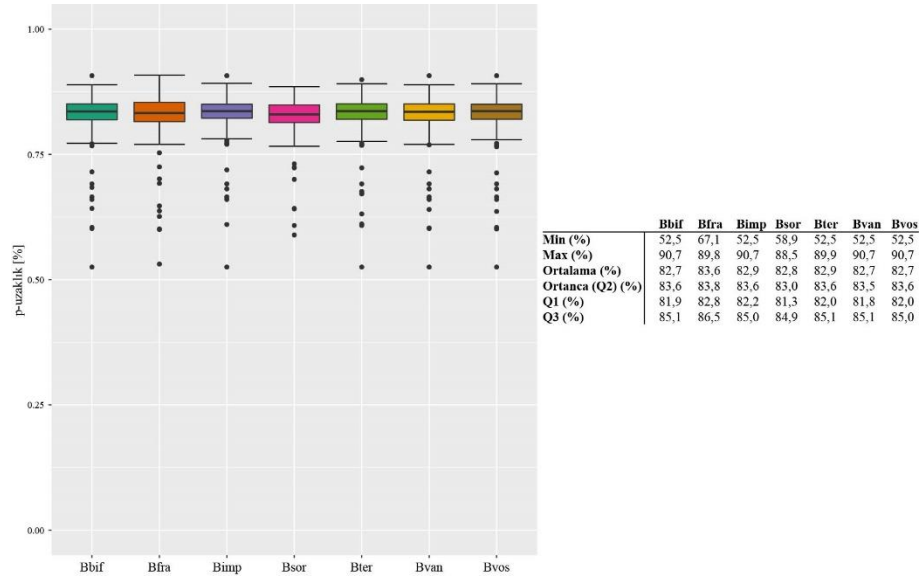
değişmektedir (Şekil 4.22.). Koku almada rol alan reseptör ailelerinin farklılaşma oranlarının her bir tür için benzer örüntüler sergilediği görülmektedir.



Şekil 4.20. OR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bter: *B. terrestris*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

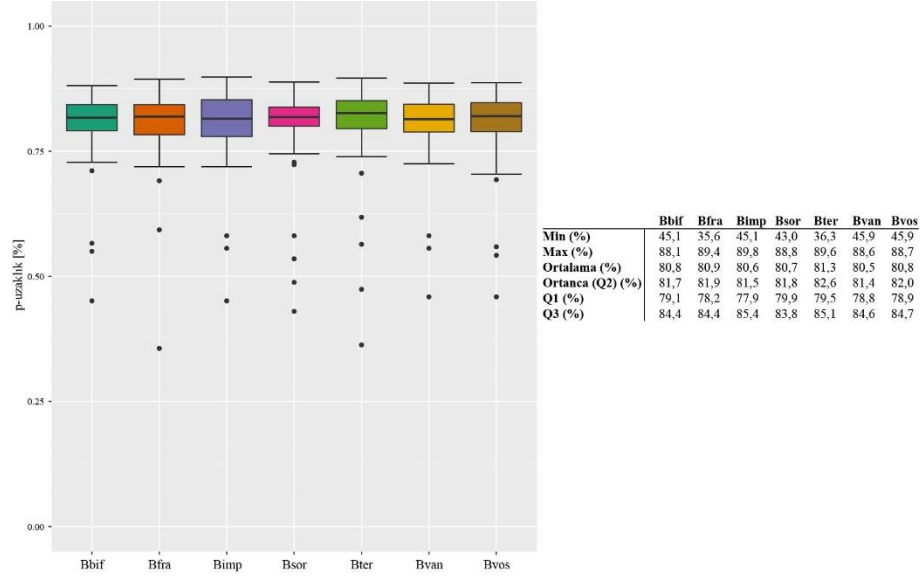


Şekil 4.21. GR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bter: *B. terrestris*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

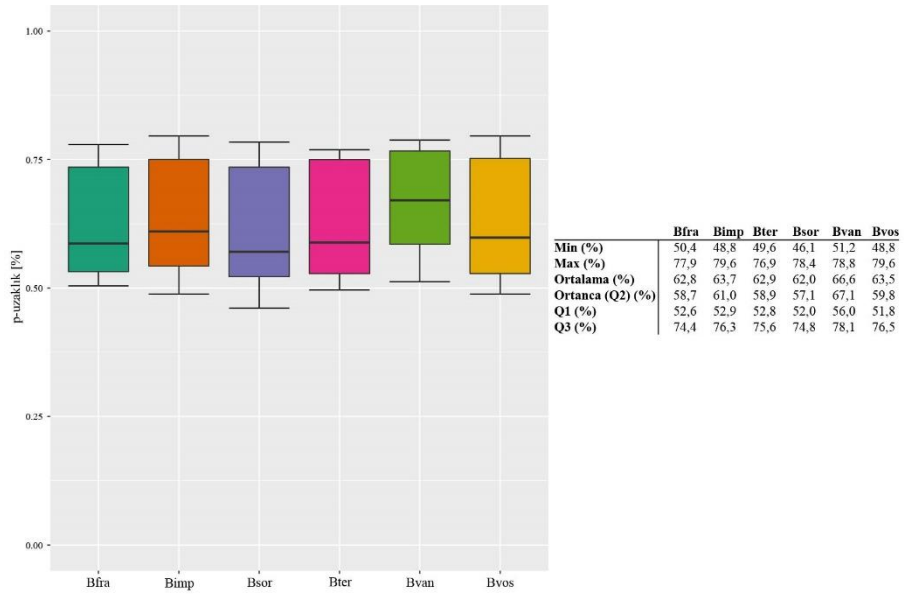


Şekil 4.22. IR gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bter: *B. terrestris*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

Reseptör aileleri dışında koku almada rol alan gen ailelerinden OBP’de amino asit tabanlı genetik uzaklık %35,6-89,4 aralığında değişkenlik gösterirken, ortalama değer %80,5-%81,3, ortanca değer (Q2) ise %81,4-82,6 aralığında değişmektedir (Şekil 4.20.) (Şekil 4.23.). CSP gen ailesinde amino asit tabanlı genetik uzaklık %48,8-%51,2 aralığında değişkenlik gösterirken, ortalama değer %62,9-%66,6, ortanca değer (Q2) ise %58,9-%67,1 (Şekil 4.24.) aralığında değişmektedir. Ortalama uzaklık ve ortanca değer ele alındığında görece daha korunmuş olan gen ailesinin CSP olduğu diğer gen ailelerinin ise benzer örüntüler sergilediği görülmektedir.



Şekil 4.23. OBP gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bbif: *B. bifarius*, Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bter: *B. terrestris*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

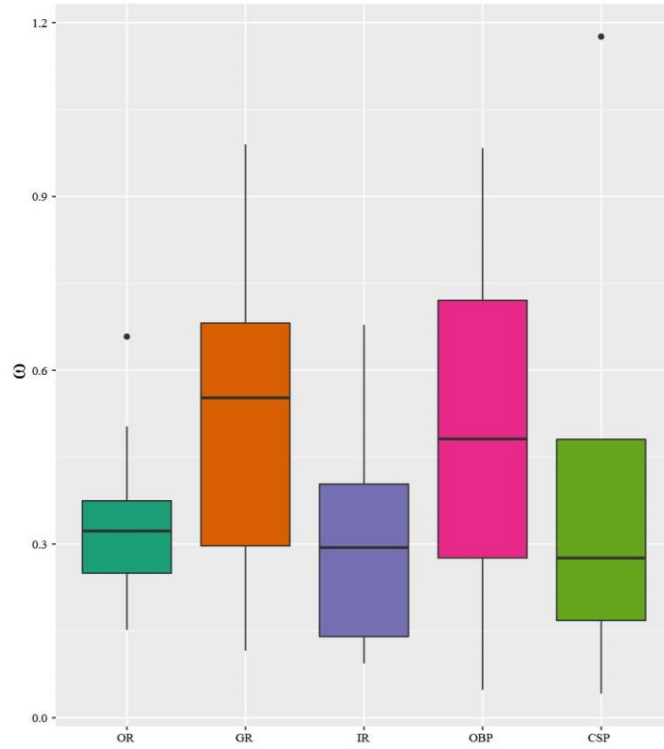


Şekil 4.24. CSP gen ailesinde amino asit dizilerinin genetik uzaklıkları. Bfra: *B. fragrans*, Bimp: *B. impatiens*, Bsor: *B. soroensis*, Bter: *B. terrestris*, Bvan: *B. vancouverensis*, Bvos: *B. vosnesenskii*.

4.10. Seçilim Analizleri

Kemoreseptörlerin dizi düzeyindeki evrimini araştırmak için, her bir koku gen ailesinde belirlenen kladların global ω (dN/dS) değerleri incelenmiştir (Şekil 4.25; EK 10). Reseptör ailelerinden OR gen ailesinde en düşük ω değerinin *Orco* ($\omega = 0,15196$) ve Q (*OR112*; $\omega = 0,18999$) kladında, en yüksek ω değerinin ise F (*OR114*; $\omega = 0,65809$) kladında; GR gen ailesinde en düşük ω değeri muhtemel şeker reseptörlerini kodlayan *GR1* ($\omega = 0,11597$) ve *GR2* ($\omega = 0,15997$) kladında, en yüksek ω değeri ise *GR7* kladında ($\omega = 0,98971$); IR gen ailesinde ise en düşük ω değerinin *IR93a* ($\omega = 0,094$) kladında, en yüksek ω değerinin *IR333* ($\omega = 0,67833$) kladında olduğu belirlenmiştir.

Koku iletiminde rol alan OBP gen ailesinde ise, en düşük ω değeri *OBP14* ($\omega = 0,04822$) kladında, en yüksek ω değerinin ise *OBP7* ($\omega = 0,98339$) ve *OBP16* ($\omega = 0,98081$) kladlarında; CSP gen ailesinde en düşük ω değeri *CSP6* ($\omega = 0,04194$), en yüksek ω değeri ise *CSP7* ($\omega = 1,17598$) kladında olduğu belirlenmiştir. SNMP gen ailesinde ise *SNMP1* ω değeri 0,223 belirlenirken, *SNMP2* ω değeri ise 0,901 olarak hesaplanmıştır. Her gen ailesinde en yüksek ve en düşük ω değerlerin görüldüğü bu kladlar 1:1 ortologların yer aldığı kladlardır. OR gen ailesinde 20 kladdan üçünün; GR gen ailesinde dokuz kladdan altısının; IR gen ailesinde 17 kladdan üçünün; OBP gen ailesinde 13 kladdan altısının ve CSP gen ailesinde beş kladdan bir tanesinin ω değerleri 0,5'den yüksek olduğu görülmektedir.



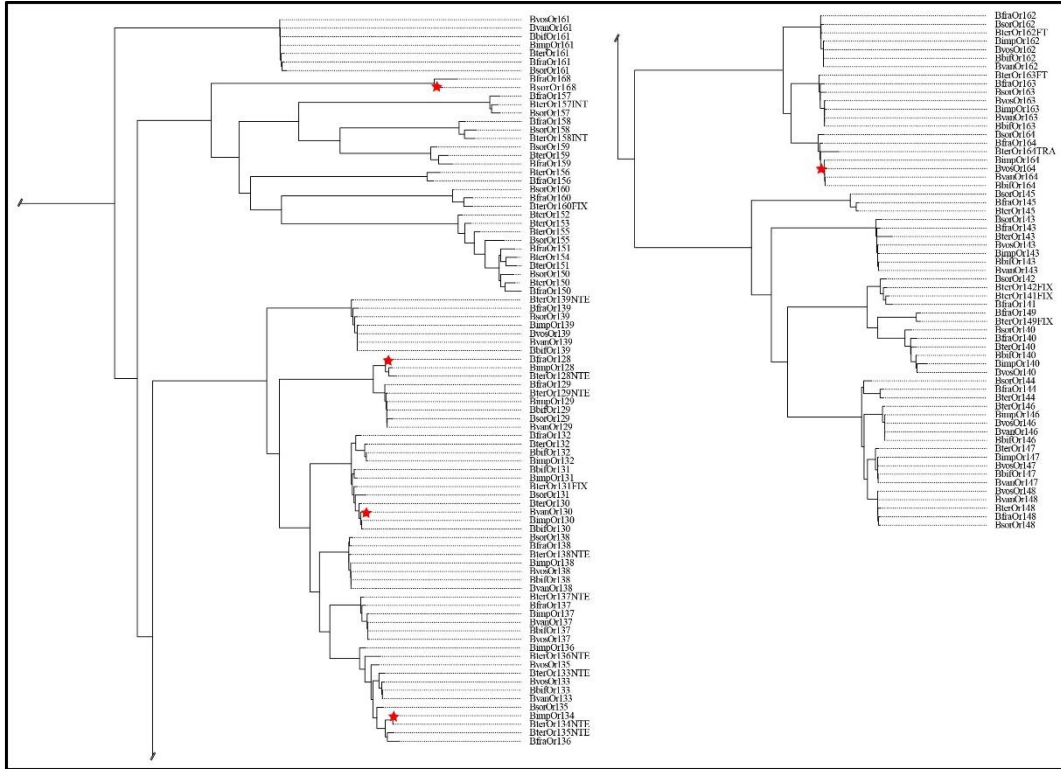
Şekil 4.25. Her bir gen ailesinde belirlenen kladların global ω oranı.

Bombus arılarında kemosenör gen ailelerinin evrimini şekillendiren seçilim baskılarını belirlemek için filogeni analizinden elde edilen ve en az dört ortolog ve/veya paralogdan oluşan kladlarda bulunan dalların epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali açısından testi aBSREL algoritması (Smith ve ark., 2015) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.6.).

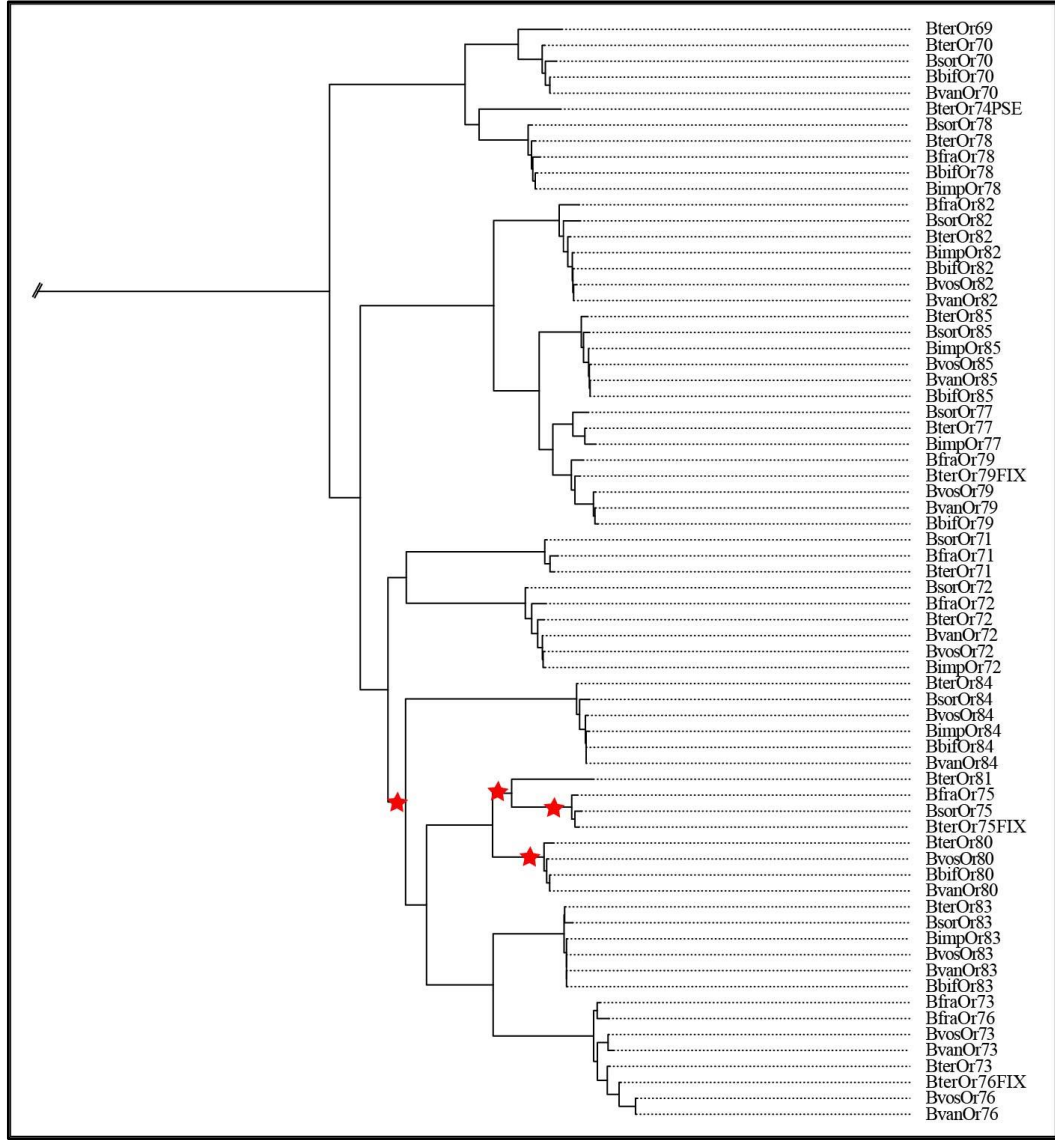
Çizelge 4.6. Yedi *Bombus* türünde her kemosenör gen ailesi için pozitif seçilim altındaki dal sayısı ve yüzdeleri.

Gen ailesi	Test edilen dal sayısı	$p \leq 0.05$
OR	1307	15 (%1,14)
GR	138	4 (%2,17)
IR	208	0 (%0)
OBP	135	1 (%0,74)
CSP	39	1 (%2,56)
SNMP	19	0 (%0)

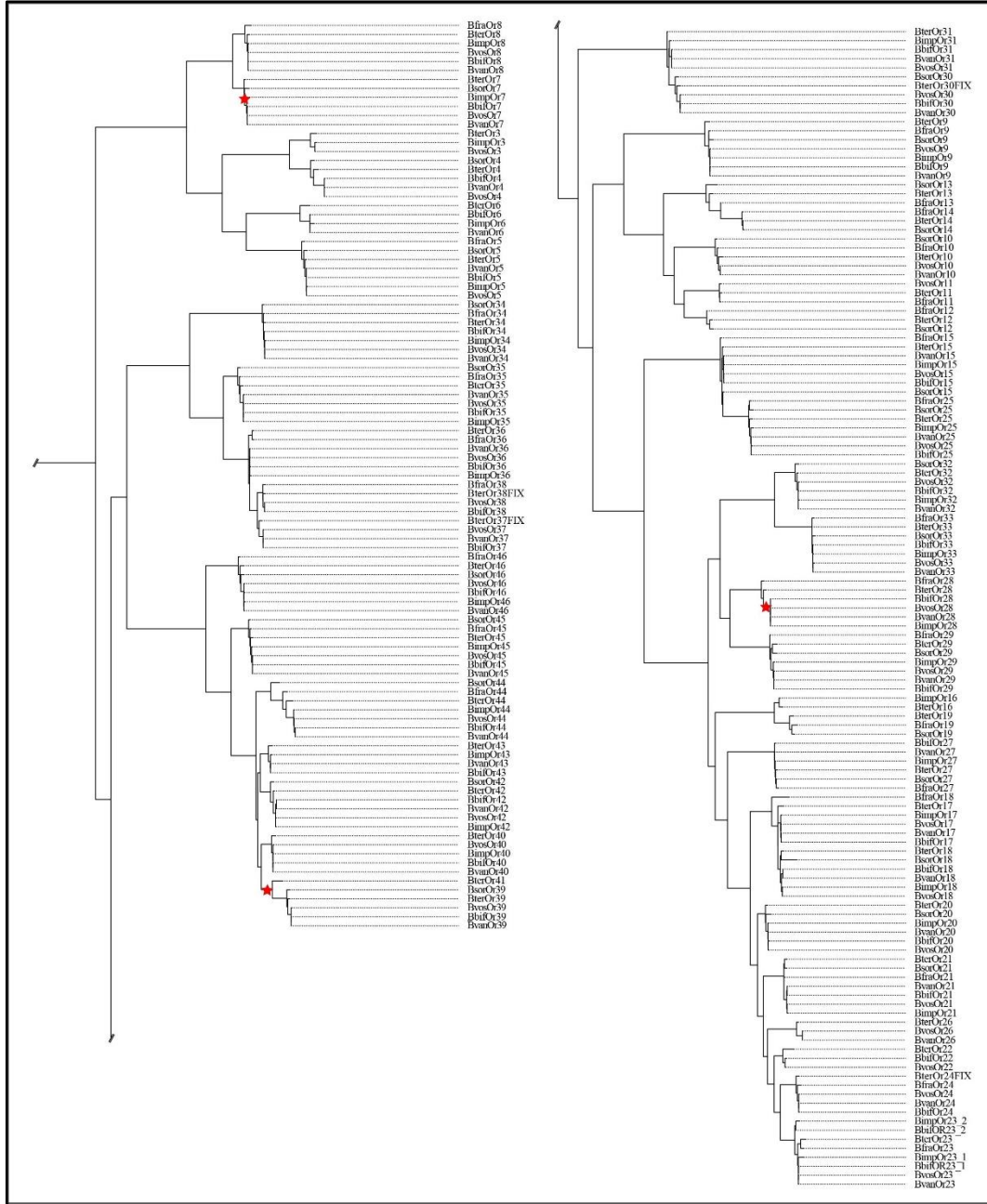
OR gen ailesinde 15 dalda epizodik pozitif seçilim sinyali tespit edilmiştir; 5 dal 9-exon kladında (241 dalın %2,07'si) (Şekil 4.26); 4 dal J kladında (131 dalın %3,05'i) (Şekil 4.27); 3 dal L kladında (432 dalın %0,69'u) (Şekil 4.28), 1 dal H kladında (98 dalın %1,02'si) (Şekil 4.29.A.), 1 dal V kladında (54 dalın %1,85'i) (Şekil 4.29.B.) ve 1 dal Orphan (Şekil 4.29.C) kladında (41 dalın %2,43'ü). J kladında özellikle diğer kladlara göre tespit edilen sinyal daha derinde yer alan dallarda bulunmaktadır.



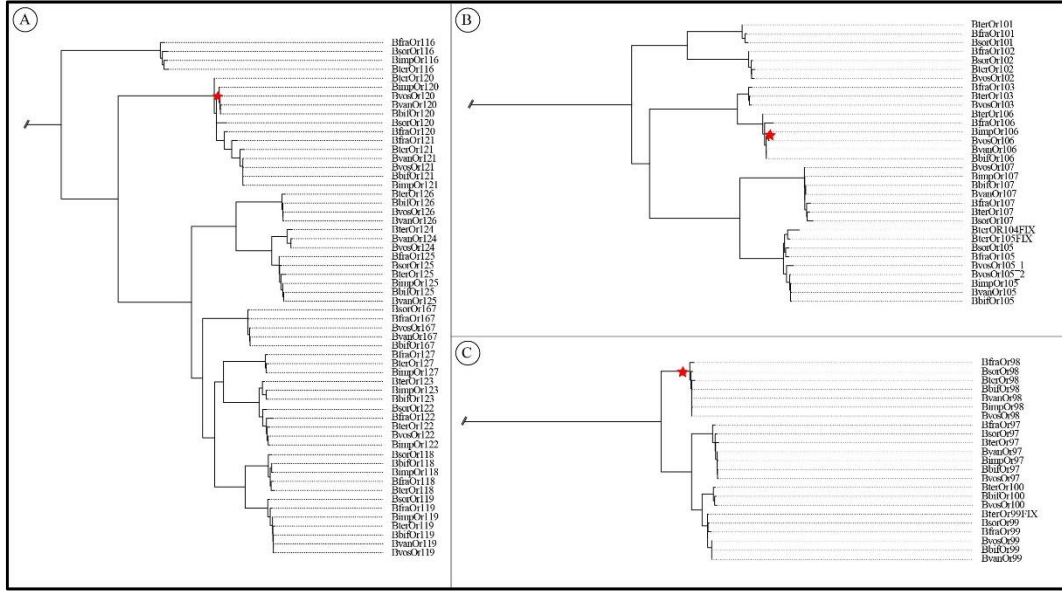
Şekil 4.26. OR gen ailesi 9-exon kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.



Şekil 4.27. OR gen ailesi J kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.

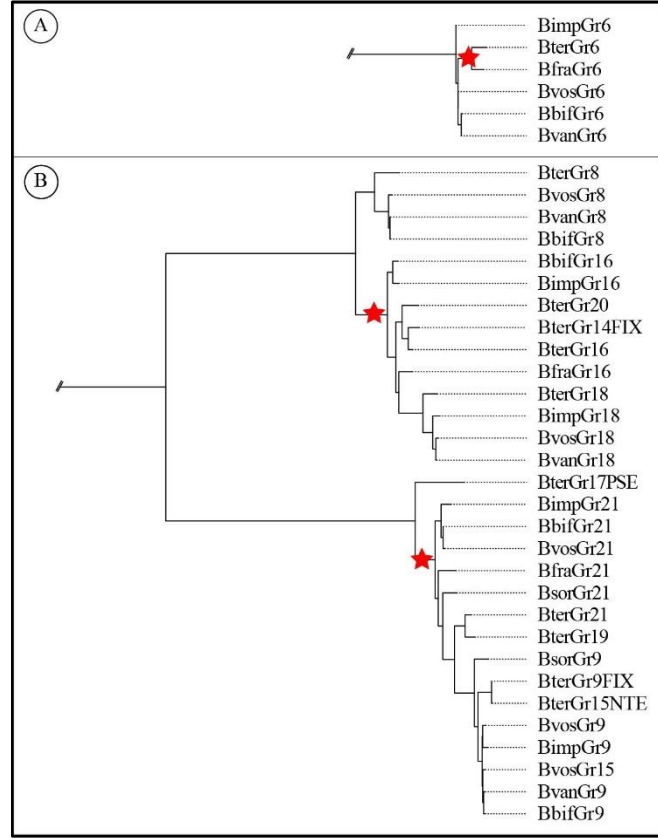


Şekil 4.28. OR gen ailesi L kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.

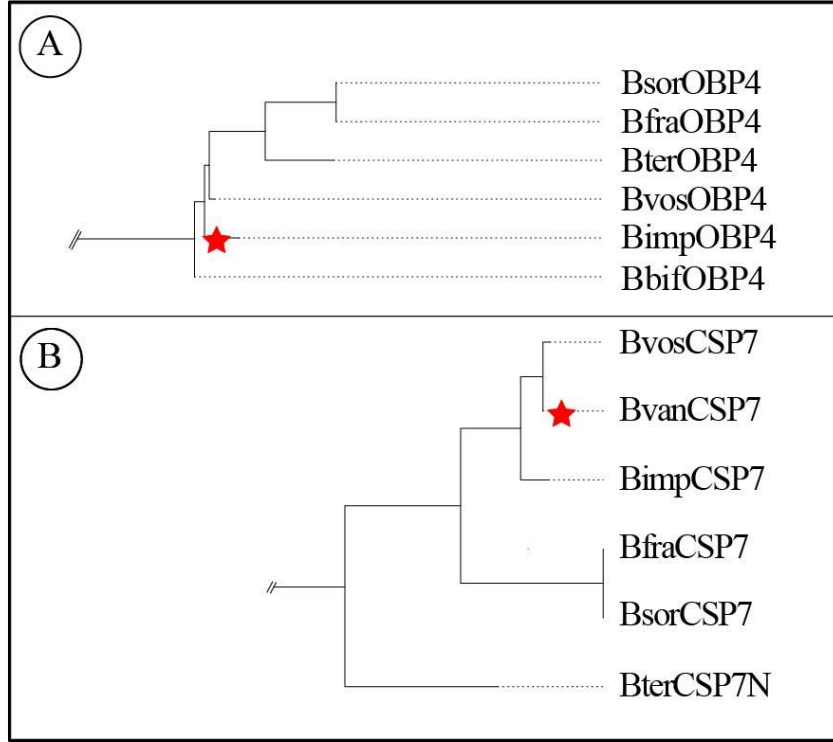


Şekil 4.29. OR gen ailesi A. H kladı B. V kladı C. Orphan kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.

GR gen ailesinde, Gr-6 kladında bir dal (Şekil 4.30.A) ve Gr-8/9 kladında iki dal (Şekil 4.30.B.) olmak üzere toplam üç dalda (%2,17) epizodik çeşitlendirici seçim sinyali tespit edilmiştir.



Şekil 4.30. GR gen ailesi A. Gr-6 kladı B. Gr-8/9 kladı. epizodik çeşitlendirici seçim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.



Şekil 4.31. A. *OBP4* kladı B. *CSP7* kladı. Yıldızlar epizodik çeşitlendirici seçim sinyali tespit edilen dalları göstermektedir.

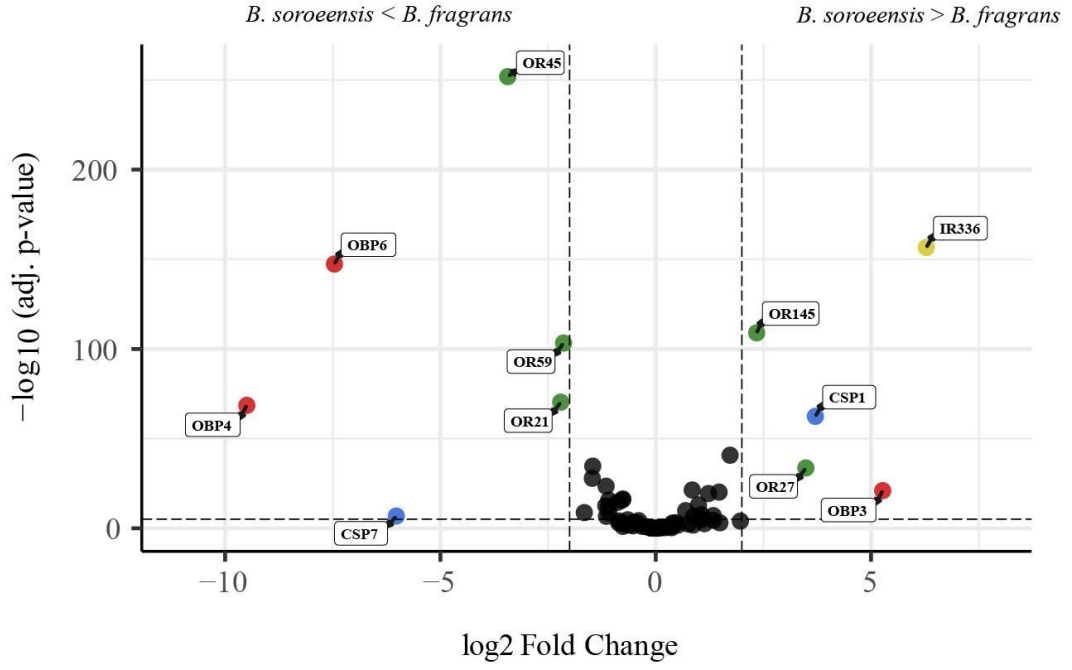
4.11. İfade Analizleri

B. fragrans ve *B. soroensis* anten transkriptom verisinde ifadesi gerçekleşen genler, anotasyonu gerçekleştirilen genler olmakla birlikte, özellikle OR gen ailesi incelendiğinde türlere özgü farklı ifade patterni tespit edilmiştir. OR gen ailesinde iki büyük klad olan L kladında her iki türünde 26 geni ifade edildiği belirlenirken, 9-exon kladında *B. fragrans* anteninde 27, *B. soroensis* anteninde ise 22 genin ifadesi belirlenmiştir. Diğer taraftan H ve J kladları incelendiğinde *B. soroensis* anteninde J kladında daha fazla gen ifade edilirken, *B. fragrans* anteninde ise H kladında daha fazla gen ifade eğilimindedir.

Koku alma ile ilişkili altı gen ailesinin tür içi ifade karşılaştırmalarında TPM ile normalize edilmiş veri seti dikkate alınmıştır. Bu kapsamda OR gen ailesi için *B. fragrans* ve *B. soroensis* anten transkriptomunda en yüksek ifade gösteren gen koreseptör olarak işlev gören *Orco*'dur. Diğer taraftan ifadesi en yüksek (TPM >100) genler incelendiğinde *B. fragrans* anteninde dokuz gen (*OR45*, *OR57*, *OR62*, *OR64*, *OR59*, *OR105*, *OR124*,

OR130 ve *OR144*), *B. soroensis* anteninde ise iki gen (*OR82* ve *OR54*) öne çıkmaktadır. GR gen ailesi diğer gen aileleri ile karşılaştırıldığı zaman ifadesi her iki gen ailesinde de en düşük olarak belirlenmiştir. *IR75u*, *IR76b*, *IR329*, *OBP1*, *OBP2* ve *CSP4* her iki tür için de ilgili gen ailelerinin anteninde ifadesi en yüksek genler olarak belirlenmiştir. *IR332* ifadesi yalnızca *B. fragrans* anteninde tespit edilirken *IR75f.2* ve *OBP9* ifadesi yalnızca *B. soroensis* anteninde tespit edilmiştir.

B. soroensis ve *B. fragrans* anten transkriptom verisinde 1:1 ortolog olan 71 genin dört farklı metot ile karşılaştırılması sonucunda 11 gende türler arası ifade farklılığı ($\log_2FC \geq 2$, adjusted p-value ≤ 0.01) tespit edilmiştir (Şekil 4.32.). Her iki tür karşılaştırmasında *B. soroensis* anteninde *OBP3*, *B. fragrans* anteninde ise *OBP4* ve *OBP6* ifadesi en yüksek genlerdir. *OR27* (klad L) ve *OR145* (klad 9-exon) *B. soroensis* anteninde daha yüksek ifade edilirken; *OR21* (klad L), *OR45* (klad L) ve *OR59* (klad E) ise *B. fragrans* anteninde daha yüksek ifadeye sahiptir. IR gen ailesinde *IR336* *B. soroensis* anteninde daha yüksek seviyede ifade edilmektedir. *CSP1* *B. soroensis*, *CSP7* ise *B. fragrans* anteninde ifadesi daha yüksek olan proteinler arasındadır.



Şekil 4.32. *B. fragrans* ve *B. soroensis* anten transkriptom verisinde kemosensör ile ilgili farklı ifade ($\log_2\text{FC} \geq 2$, adjusted p-value < 0.01) profili gösteren genlerin volkan grafiği. Koku reseptörleri (Or) (yeşil), iyonotropik reseptörler (IR) (sarı), koku bağlayıcı proteinler (OBP) (kırmızı) ve kemosensör proteinler (CSP) (mavi) renk ile gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Genetik ve moleküler biyoloji alanlarında büyük ilerlemeler, *Bombus* türlerine ait genomik ve transkriptomik bilgiler çeşitli çevresel faktörlere karşı bombus arılarının tepkilerini anlamada yeni fırsatlar sunmaktadır (Colgan ve ark., 2011, 2019; Xu ve ark., 2013; Kent ve ark., 2018; Liu ve ark., 2020; Heraghty ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020; Crowley, Waterhouse ve Brown, 2021). Polinatör böcekler içerisinde tür zenginliği ve popülasyon yoğunluğundaki azalmalara en çok dikkat çekilen türler olan bombus arılarının koku alma mekanizmaları hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır.

Gen anotasyonu doğruluğunda genom ve transkriptom veri seti açısından hiçbir farklılık gözlemlenmez iken, transkriptom verileri için gen sayısı daha düşük olma eğilimindedir (Grosse-Wilde ve ark., 2011; Brand ve ark., 2015; Brand ve Ramírez, 2017). Kemosensör gen aileleri arılarda yaşam evresine ve kasta özgü ifade profili sergilemektedir (Colgan ve ark., 2011; Karpe ve ark., 2016). Nektar ve polen toplama sosyal arı türlerinde işçi arılar tarafından gerçekleştirildiğinden, besin tercihlerinde rol oynayan gen ailelerindeki ifade farklılaşmasını belirleyebilmek için kısa-dilli *B. soroensis* ve uzun-dilli *B. fragrans* işçi bireylerinin antenlerinde *de novo* transkriptom dizileme yaklaşımı tercih edilmiştir. Bu kapsamda, *B. soroensis* işçi bireylerinin anteninde 96 OR, 9 GR, 17 IR, 11 OBP, 5 CSP ve 1 SNMP; *B. fragrans* işçi bireylerinin antenin de ise 107 OR, 9 GR, 18 IR, 10 OBP, 5 CSP ve 2 SNMP ifadesi tespit edilmiştir. Tez kapsamında bombus arılarında besin tercihi mekanizmasına dahil olan genlerin evrimsel süreçlerini şekillendiren seçici baskıların belirlenmesini de hedeflediği için genom ve transkriptom verisi yayınlanmış türler de çalışmaya dahil edilmiştir.

5.1. Koku Reseptörleri (OR)

B. fragrans ve *B. soroensis* işçi bireylerinin anten transkriptom verisinde L kladında 26 OR geninin ifadesi belirlenmiştir (Şekil 4.7.). İlgili klad, *B. terrestris* türünde en büyük klad olup 44 OR içermektedir (Şekil 4.8.). Bu kladda *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde 1:1 ortolog olan 12 genin karşılaştırmalı ifade analizinde üç gen (*OR21*, *OR27* ve *OR45*) hariç, ifade düzeyleri benzer seviyelerde tespit edilmiştir (Şekil 4.32.). L kladı zorunlu ileri sosyal bal arıları; *Melipona quadrifasciata* ve karıncalarda, zorunlu primitif

eusocial bombus arıları ve orkide arılarına göre daha fazla OR sayısına sahiptir (Sadd ve ark., 2015; Zhou ve ark., 2015; Brand ve Ramírez, 2017). Korbikulat arılar içerisinde yer almayan arılarda ise bu sayı neredeyse bal arılarının üçte biri kadardır (Karpe ve ark., 2017). Bu kladda yer alan *A. mellifera* *OR11* reseptörünün kraliçe mandibular feromonları (QMP) arasında yer alan 9-oxo-2-decenoic asiti (9-ODA) tespit ettiği ve *A. mellifera* ve *A. florea* erkeklerinin antenlerinde *OR11*'in işçi arılara göre daha fazla ifade edildiği belirlenmiştir (Wanner ve ark., 2007; Karpe ve ark., 2016). 9-ODA, koloni içindeki işçi arıları çeken kısa menzilli bir sosyal feromon ve çiftleşme uçuşlarında erkek arıları çeken uzun menzilli bir seksüel feromon olarak işlev gören bileşiklerden biridir (Trhlin ve Rajchard, 2011; Liu ve ark., 2019). Arılarda ilgili reseptörlerin genişlemesinin sosyalliğin derecesi ile korelasyon göstermesi koloni içinde özellikle kraliçe tarafından üretilen mandibular feromonları tanımadaki rolünün önemini ortaya koymakta; ancak ilgili kladda yer alan reseptörlerin ifadesinin genel olarak erkek arılarda daha fazla olması (Karpe ve ark., 2016) seksüel feromon yanıtındaki rolünü öne çıkarmaktadır. Bombus arılarında bu klad içerisinde yer alan OR'ler, bal arısı kraliçesi mandibular bez feromonlarına benzer ligandların tanınmasında rol oynayabilir. Bu çalışmada, *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde ifadesi benzer olan reseptörlerin benzer ligandları bağladığına dair ön bulgular tespit edilmiş olup, türe özgü farklı ifade profillerinin belirlenmesi de bu kladın türler arası farklılıklarını ortaya koymakta ve türlerin evrimleşme süreçlerinde koloni içi sosyal feromon duyarlılıklarındaki farklılıklara işaret etmektedir.

9-exon kladında *B. fragrans* işçi bireylerinin anteninde 27 OR, *B. soroensis* işçi bireylerinin anteninde ise 22 OR geninin ifadesi belirlenmiştir (Şekil 4.7.). Bu klad *B. terrestris* türünde 37 OR içermesi ile ikinci en büyük kladı temsil etmektedir (Şekil 4.8.). *B. fragrans* ve *B. soroensis* türlerinde 9-exon kladında 1:1 ortolog olan 14 genin ifade düzeyleri benzer seviyelerde tespit edilmiştir (*OR145* hariç) (Şekil 4.32.). 9-exon kladında yer alan OR'lerin kimyasal iletişimde temel sinyalleri oluşturan uzun zincirli hidrokarbonları (CHC) tespit ettiği belirlenmiştir (Blomquist ve Bagnères, 2010; Pask ve ark., 2017; Slone ve ark., 2017). Farklı böcek türleri CHC bileşiminde oldukça farklılık göstermekle birlikte tür içerisinde de CHC profilleri açısından farklılıklar görülmektedir (Sprenger ve Menzel, 2020). CHC profili abiyotik ve biyotik koşullara bağlı olarak da fenotipik plastisite sergilemektedir (Otte, Hilker ve Geiselhardt, 2018). CHC'ler çok yönlü semiokimyasallar olarak, üreme durumu (Lommelen ve ark., 2006; Smith ve

Liebig, 2017), tür bağlantısı/ilişkisi (Mas ve Jallon, 2005; Peterson ve ark., 2007), cinsiyet (Butterworth ve ark., 2020), yaş (Zhang ve ark., 2022) dahil çok çeşitli bilgilerin kodlanması ve iletiminde rol oynar. Sosyal böceklerde ise, CHC'ler yuvadaki diğer bireyleri ve kasti tanıma ipuçlarının temelini oluşturmaktadır (Leonhardt ve ark., 2016; Leonhardt, 2017). 9-exon kladında yer alan OR'lerin işçilerde daha yüksek ifade edilmesi (Zhou ve ark., 2015; Karpe ve ark., 2016; McKenzie ve ark., 2016) sosyal Hymenoptera türlerinde yaşam tarzı ile bağlantılı olarak kimyasal iletişimde kritik rol oynadığını düşündürmekle birlikte, Hymenoptera'da 9-exon kladında görülen genişleme sosyalliğin derecesi ile ilişkili değildir (Robertson ve ark., 2010; Zhou ve ark., 2015; Karpe ve ark., 2017; Obiero ve ark., 2021). *B. fragrans* ve *B. soroensis* işçi bireylerinin antenlerinde tespit edilen 9-exon kladında ifadesi görülen OR'ler CHC'ler dışında farklı bir kokuyu tespit etmiyor ise koloni içi iletişimde bombus arılarına dair benzerlikleri ve farklılıkları yansıtmaktadır. İlgili genlerin benzer ligandları bağladığı ve korunmuş olabileceği düşünülmektedir. Farklı ifadeye sahip genlerde görülen farklılığın türün evrimleşme sürecinde görülen farklılık olduğu düşünülmekte ancak bu benzerlik ve farklılık gösteren ifade desenleri hakkında kesin yargıya varabilmek için daha fazla türe ait veri gerekmektedir.

H kladında *B. fragrans* anten transkriptomunda dokuz OR, *B. soroensis* anten transkriptomunda ise yedi OR geninin ifadesi belirlenmiş (Şekil 4.7.) olup ilgili kladda 1:1 ortolog olan *OR116* ifade düzeyinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.32.). Bal arılarında H kladında yer alan iki reseptörün linalool ve diğer çiçek kokularını tespit ettiği belirlenmiştir (Claudianos ve ark., 2014). İlgili kladın arılarda oldukça genişlemiş olduğu (*A. mellifera* 16 OR; *A. florea* 15 OR; *Melipona quadrifaciata* 22 OR; *Euglossa dilemma* 16 OR; *Nasonia vitripennis* 1 OR) görülmekte ancak, oligolektik beslenen arılarda (*Dufourea noveangliae* 3 OR, *Habropoda laboriosa* 5 OR) bal arılarına oranla daha az OR sayısına sahip olması çiçek ve polen kokusu tespitinde önemli olabileceğini desteklemektedir (Robertson ve Wanner, 2006; Brand ve Ramírez, 2017; Karpe ve ark., 2017). *B. fragrans* anten transkriptomunda daha fazla sayıda H kladına ait OR ifadesi belirlenmiş olması, özellikle uzun dilli ve kısa-dilli bombus arılarının beslenme tercihlerinde rol alan çiçek kokularına karşı duyarlılıklarındaki farklılığı ortaya koymaktadır. Ancak bu klad içerisinde yer alan reseptörlerin *Bombus* cinsinde hangi kokuları tespit ettiğine dair bir bilgi bulunmamaktadır.

J kladında *B. soroensis* anten transkriptomunda 10, *B. fragrans* anten transkriptomunda ise sekiz OR geninin ifadesi belirlenmiştir (Şekil 4.7.). J kladı karıncalar (*Harpegnathos saltator* 3 OR; *Solenopsis invicta* 1 OR) (Zhou ve ark., 2012, 2015) ve vasplar (*N. vitripennis* 3 OR; *Ampulex compressa* 5 OR) (Robertson, Gadau ve Wanner, 2010; Obiero ve ark., 2021) soliter arılar (*D. noveangliae* 12 OR; *H. laboriosa* 15 OR) (Karpe ve ark., 2017) ve sosyal arılar (*A. mellifera* 23 OR; *A. florea* 21 OR; *Eufriesea mexicana* 28 OR) (Robertson ve Wanner, 2006; Karpe ve ark., 2016; Brand ve Ramírez, 2017) ile karşılaştırıldığında arılarda genişlemiş olduğu görülürken, sosyal yaşam tarzı ile ilişki barındırmamaktadır. Bu bulgular doğrultusunda ilgili kladın terpenoid olmayan çiçek kokuları ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Karpe ve ark., 2017). İlgili klad terpenoid olmayan çiçek kokusu tespitinde rol oynuyor ise H kladına oranla *B. soroensis* türünde bu kladın daha fazla OR ifadesi göstermesi ve epizodik pozitif seçilim sinyali taşınması (Şekil 4.27.) bu kladın besin seçimi konusunda türe özgü kimyasal sinyalleri algılamak için yönlü seçilime daha fazla maruz kaldığına dair ön bulgu sağlayabilir.

Klad Orco, klad A, klad B, klad C, klad F, klad G, klad I, klad M, klad Q ve klad Z tek kopya şeklinde tespit edilmiş (Şekil 4.7.) ve 1:1 ortolog olan bu kladların *B. fragrans* ve *B. soroensis* işçi bireylerinin antenlerinde benzer düzeyde ifade edildikleri belirlenmiştir (Şekil 4.32.). İlgili kladların kesin işlevi bilinmemekle birlikte daha önce yapılan çalışmalar (Sadd ve ark., 2015; Zhou ve ark., 2015; Karpe ve ark., 2016; Brand ve Ramírez, 2017; Karpe ve ark., 2017) göz önüne alındığında *Bombus* cinsinde bu kladların daha atasal olduğu düşünülmektedir.

Klad E, Klad V, Klad T ve Klad P'de *B. fragrans* anteninde *B. soroensis* türüne göre daha fazla OR ifadesi belirlenmiş olup (Şekil 4.7.) ilgili kladlarda yer alan reseptörlerin ligand spesifiklikleri bilinmemektedir. Klad E'de yer alan *OR59* hariç 1:1 ortolog olan genlerin ifade düzeyleri ilgili türler arasında benzer seviyededir (Şekil 4.32.).

OR'lerin dizi düzeyindeki evrimini araştırmak için, tüm kladlar için global ω (dN/dS) hesaplamaları yapılarak her klad için çeşitli ω değerleri edilmiştir. Tek gen kopyasına sahip olan Orco kladında ($\omega = 0,15196$) arındırıcı seçilim tespit edilmiştir (EK 10). Tek gen kopyası ile temsil edilen ve 0,5'den büyük ω değerine sahip olan klad Z, klad, I ve

klad F (EK 10) dizi evriminden negatif seçilimin esnetilmesinin veya pozitif seçilimin yoğunlaştırılmasının sorumlu olduğu anlamına gelmektedir (Wertheim ve ark., 2015). HyPhy aBSREL ile bu kladlarda herhangi bir dalda epizodik pozitif seçilim sinyali tespit edilememiş olması bu kladlarda daha çok esnetilmiş seçilim varlığına işaret etmektedir.

aBSREL modeli ile elde ettiğimiz sonuçlarda, genişlemeler olan OR kladlarının bazılarında (L, 9-exon, H, J, V ve Orphan) epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilmesi (Şekil 4.26 – Şekil 4.29.) bu kladlarda gen duplikasyonunun, selektif baskının duplike genleri serbest bıraktığı ve duplike sekansların diğer evrimsel optimumlara doğru gelişmesine izin verdiği hipotezini desteklemektedir (Saad ve ark., 2018).

5.2. Tat/Temas Reseptörleri (GR)

GR1, *GR2* ve *GR3* reseptörlerinin *B. soroensis* ve *B. fragrans* bireylerinin anteninde ifadesi belirlenmiş olup (Şekil 4.10.) uzun- ve kısa-dilli türler arasında ifade düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 4.32.). *A. mellifera*'da tespit edilen *GR1* ve *GR2*, *Drosophila* sekiz şeker reseptörü genine homologtur (Robertson ve Wanner, 2006). Jung ve ark., (2015) gerçekleştirdikleri çalışmada *AmelGR1*'in bal arılarında sükröz, glukoz, trehaloz ve maltozu tespit ettiğini; *AmelGR2*'nin tek başına şekerlere yanıt vermediğini ve bu dört şeker karşı duyarlılığın *GR1* ve *GR2* birlikte ifade edildiğinde ortaya çıktığını belirlemiştir. Bu durum *Drosophila* GR genlerine benzer heterodimerik komplekse işaret etmektedir (Jiao ve ark., 2008; Lee, Moon ve Montell, 2009). *A. mellifera GR3* çeşitli böcek taksonlarındaki fruktoz reseptör genlerinin (*Heliothis virescens* - *GR4*; *B. mori* - *GR9*; *Ae. aegypti* - *GR25* ve *D. melanogaster* - *GR43a*) ortoloğudur (Robertson ve Wanner, 2006). *A. mellifera GR3* ile yapılan deneysel çalışmalarda, bal arılarında da bu reseptörün fruktozu tespit ettiği (Takada ve ark., 2018; Değirmenci ve ark., 2020) belirlenmiştir. *AmelGR3* fruktoz tespitinin yanı sıra *Drosophila* ile benzer şekilde (Miyamoto ve ark., 2012) şeker alımını düzenleyici bir sistemin de parçasıdır (Simcock ve ark., 2017). Arıların temel enerji kaynağı olan çiçek nektarı, bitki-böcek etkileşimini oluşturan önemli bağlantılardan biridir ve nektarın kimyasal içeriği (bileşimi ve şeker konsantrasyonu) çiçeği ziyaret eden böceklerde farklılaşmalara neden olmaktadır (Petanidou, 2005; Nicolson, 2011). Tez çalışması kapsamında şeker tespitinde rol alan bu genlerin dil uzunluğuna bağlı olarak ifadelerinde

anlamalı farklılık bulunmaması şeker alımını düzenleyici mekanizmanın dil uzunluğundan etkilenmediğine ve türler arası korunmuş olabileceğine işaret etmektedir.

Bombus türlerinde oldukça karmaşık homoloji sergileyen Gr-8/9 ve Gr-12 kladlarında *B. soroensis* ve *B. fragrans* anteninde yalnızca üç genin ifadesi belirlenirken; 1:1 ortolog olan *GR7*, *GR11* *B. soroensis* anteninde; *GR6* ve *GR13* ifadesi *B. fragrans* anteninde, *GR5* ifadesi ise her iki türde tespit edilmiştir (Şekil 4.10.). Bu kladların acı/keskin (bitter) bileşikler tespit etme potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir (Sadd ve ark., 2015). Uzun- ve kısa-dilli türler arasında özellikle acı/keskin bileşik tespitinde rol aldığı düşünülen bu genlerin ifadelerinde ve buna bağlı olarak duyarlılıklarında farklılık görülmekle birlikte, bu GR'lerin karakterizasyona ihtiyacı bulunmaktadır.

Seçilim analizlerinde bombus arılarında GR gen ailesi için genişlemiş bu kladlardan Gr-8/9 kladında (Şekil 4.30.B.) benzer şekilde epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilmiş olup, bu genlerin fonksiyon kazanmasında itici güç olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan GR kladları içerisinde 0,5'den yüksek ω değerine sahip Gr-3, Gr-6, Gr-7, Gr-11, Gr-12 ve Gr-13 (EK 10) kladlarında Gr-6 (Şekil 4.30.A.) hariç epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali tespit edilmemesi bu kladlarda esnetilmiş seçilimin tat tespiti için yeni tepki spektrumları geliştirmesine dair kanıt sağlamaktadır.

OR ve IR gen ailesi ile karşılaştırıldığında GR gen ailesi antende ifadesi en düşük reseptörlerdir. Reseptörlerin ifade seviyelerindeki azalma, antende daha az nöronda veya nöronlar içinde daha düşük seviyelerde olduğunu yansıtmakla birlikte her iki durumda da reseptörlerin bağladıkları ligand açısından duyarlılık azalmaktadır.

5.3. İyonotropik Reseptörler (IR)

Klasik anten IR'leri içerisinde yer alan *IR25a.2* yalnızca *B. soroensis* anteninde tespit edilememiş olup diğer reseptörlerin 1:1 ortologları (*IR8a*, *IR25a.1*, *IR93a* ve *IR76b*) hem *B. soroensis* hem *B. fragrans* işçi bireylerinin anteninde tespit edilmiş (Şekil 4.11.) ve türler arasında ifade düzeylerinin benzer olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.32.). Klasik anten IR'lerinden *IR8a* ve *IR25a* koreseptör işlevine sahip iken (Croset ve ark., 2010) *IR25a*'nın

iki gen kopyası *B. terrestris* genomunda ilk kez belirlenmiş olup *IR25a.2* proteinin ikinci yarısını kodlamaktadır (Sadd ve ark., 2015). Daha sonra gelen çalışmalarla birlikte bu genin duplikasyonları farklı Hymenoptera türlerinde de tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2011; Obiero ve ark., 2021).

IR25a ve *IR8a*, koku bağlayan diğer IR'ler ile kokuya duyarlı bir iyon kanalı oluşturur. Örneğin, *Drosophila*'da bazı IR'ler, koreseptör olarak *IR8a*'ya ihtiyaç duyarken, bazıları *IR25a* ile fonksiyonel bir kompleks oluşturur (Benton ve ark., 2009). Bazı OSN'lerin hem *IR8a* hem de *IR25a* proteinini ifade ettiği de gösterilmiştir (Abuin ve ark., 2011). *Drosophila*'da elektrofizyolojik tepkilerde *IR25a* ve *IR76b*, aminlere (Hussain ve ark., 2016), *IR8a*'nın ise asitlere tepki verdiği belirlenmiştir (Abuin ve ark., 2011). *Drosophila* *IR25a* koku alma, tat alma, higrosensasyon, termosensasyon ve CO₂ çekiciliği gibi birçok fonksiyonda yer alırken (Zhang, Ni ve Montell, 2013; Chen ve ark., 2015; Enjin ve ark., 2016; Knecht ve ark., 2016; Ahn, Chen ve Amrein, 2017; van Breugel, Huda ve Dickinson, 2018), *IR8a* yalnızca kokuları tespit etmede rol oynamaktadır (Ai ve ark., 2010, 2013; Abuin ve ark., 2011; van Breugel, Huda ve Dickinson, 2018). Neme duyarlı nöronlarda *IR25a* ve *IR93a*'nın görev aldığı belirlenmiştir (Knecht ve ark., 2017).

Arılar için polen protein, lipid, mineral ve vitamin gereksinimlerini karşılayan temel besin kaynağıdır (Day ve ark., 1990; Loidl ve Crailsheim, 2001). Bombus arıları antenleri ile tespit edebildikleri amino asitlerin konsantrasyonlarını başarılı bir şekilde ayırt edebilse de bazı amino asit (alanin, lösin, prolin ve valin) içeriklerini antenleri ile tespit edememektedir (Ruedenauer ve ark., 2019). Prolini tespit edemeyen bombus arılarının aksine *A. mellifera* ise prolin konsantrasyonu yüksek nektar içeriklerine sahip bitkilerden nektar toplama eğilimindedir (Carter ve ark., 2006). *IR76b*, *B. fragrans* ve *B. soroensis* anteninde IR gen ailesi içerisinde en yüksek ifade edilen genler arasında yer almakta ve iki tür açısından anten ifadelerinde anlamlı fark bulunmamaktadır (Şekil 4.32.). İlgili reseptör bombus arılarının çiçekte bulunan genel serbest amino asit bileşimini değerlendirmede rol oynama potansiyeline sahip olmakla birlikte, böcek taksonlarınca korunmuş olan bu reseptörün ve diğer reseptörlerin (*IR25a*, *IR8a*, *IR75u* ve *IR98a*) arılardaki işlevine dair yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte ilgili genlerin her

iki türün anten ifadesinde fark tespit edilememiş olması, bombus arılarında da olası korunmuş rollerine dikkat çekmektedir.

Yalnızca Hymenoptera'da bulunan ve bu soya özgü olan IR'lerden sadece *IR336*'nın *B. fragrans* anteninde ifadesi anlamlı olarak düşük bulunmuş (Şekil 4.32.), *IR75f.2* ifadesi tespit edilememiş ve *B. soroeensis* türüne göre ilgili ligandı açısından duyarlılığının daha az olduğu belirlenmişken, *IR332* ifadesi yönünden duyarlılığının daha fazla (Şekil 4.11.) olduğu belirlenmiştir ancak bu reseptörlerin görevleri bilinmemektedir.

5.4. Koku Bağlayıcı Proteinler (OBP), Kemosensör Proteinler (CSP) ve Duyusal Nöron Membran Proteinleri (SNMP)

B. fragrans anteninde 10 OBP ve beş CSP ifadesi belirlenirken *B. soroeensis* anteninde 11 OBP ve beş CSP ifadesi belirlenmiştir (Şekil 4.15 ve Şekil 4.18.). Korbikulat arılarda yapılan çalışmalarda türlerde bulunan OBP gen sayısı 11-21; CSP gen sayısı ise 5-7 aralığındadır (Sadd ve ark., 2015; Brand ve ark., 2015; Brand ve Ramírez, 2017). *A. mellifera* anteninde dokuz OBP (Forêt ve Maleszka, 2006) - 4 CSP (Forêt, Wanner ve Maleszka, 2007), *E. dilemma* anteninde 10 OBP - beş CSP (Brand ve ark., 2015) ve *E. viridissima* anteninde ise 11 OBP - altı CSP (Brand ve ark., 2015) ifadesi belirlenmiş olup, bu çalışma kapsamında tespit edilen sonuçlar ile literatür bilgileri arasında paralellik bulunmaktadır.

OBP gen ailesinde PF01395 (feromon bağlayıcı protein/koku bağlayıcı protein PBP/GOBP), CSP gen ailesinde PF03392 (böcek feromon bağlayıcı ailesi A10/OS-D) korunmuş domaini saptanmış; OBP'lerde karakteristik olan C2-X₃-C3 ve C5-X₈-C6 motifi (Şekil 4.14.) ; CSP'lerin karakteristiği olan Cys-X₆-Cys-X₁₈-Cys-X₂-Cys motifi (Şekil 4.17.) tespit edilmiştir. Bombus arılarında OBP'lerde 17 - 27 amino asit (EK 7); CSP'lerde ise 16 – 24 amino asit gibi değişen uzunluklarda sinyal peptit dizilerine (EK 8) sahip olması, bu proteinlerin salgı proteinleri olduğuna işaret etmektedir. OBP ve CSP'lerde yer alan sinyal peptitleri, salgılama amacıyla endoplazmik retikuluma protein translokasyonunda rol oynar (Ghavami, Khoeini ve Djadid, 2020).

Koku maddesinin tespiti için, OBP ve OR doğru kombinasyonunun oluşması gerekmektedir (Chang ve ark., 2015). Çalışma kapsamında *B. soroeensis* ve *B. fragrans* işçilerinin antenlerinde *OBP1* ve *OBP2*, her iki türün anteninde oldukça yüksek ve türler arası benzer seviyelerde ifade edilmektedir (Şekil 4.32.). *OBP5*, *OBP11*, *OBP12*, *OBP13* ve *OBP16* ifadelerinde de türler arasında farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.32.). *OBP4* ve *OBP6* *B. fragrans* anteninde; *OBP3* ise *B. soroeensis* anteninde yüksek ifade seviyelerine sahiptir (Şekil 4.32.). *OBP9* ifadesi ise, yalnızca *B. soroeensis* anteninde belirlenmiştir (Şekil 4.15.). Diğer yandan *CSP1* *B. soroeensis* anteninde, *CSP7* ise *B. fragrans* anteninde daha yüksek seviyelerde ifade edilirken diğer üç CSP arasında anlamlı bir ifade farklılığı bulunmamıştır (Şekil 4.32.). Ergin (tarlacı, kraliçe ve erkek) *A. mellifera* anteninde *OBP3*, *OBP9*, *OBP10* ve *OBP13* ifadesi bulunmamakla birlikte; *OBP11* ise yalnızca tarlacı ve kraliçe anteninde ifade edilmektedir (Forêt ve Maleszka, 2006). *A. mellifera* altı CSP genine sahip olmakla birlikte dört tanesinin ifadesi (*CSP1*, *CSP2*, *CSP3* ve *CSP4*) ergin bireylerinin anteninde görülmektedir (Forêt, Wanner ve Maleszka, 2007). *OBP1*, *OBP2*, *OBP3*, *OBP4*, *OBP6* ve *OBP13* *B. terrestris* erginlerinin hepsinde (işçi, erkek ve kraliçe); *OBP9* erkek bireylerde, *OBP11* ise erkek ve kraliçede ifade edilmektedir (Colgan ve ark., 2011). Hem OBP hem de CSP gen ailelerinde elde edilen bu sonuçlar bazı durumlarda gen ifadelerinin korunduğunu, bazı durumlarda ise muhtemelen taksona özgü seçilim süreçlerine yanıt olarak farklılaştığı görülmekte ve bu farklı ifade seviyeleri ilgili liganda karşı duyarlılığı değiştirmektedir.

Bu gen ailelerinde en güçlü arındırıcı seçilim *OBP14* ($\omega = 0,04822$) ve *CSP6* ($\omega = 0,04194$)'da tespit edilir iken; *OBP16* ($\omega = 0,98081$)'da epizodik pozitif seçilime dair sinyal tespit edilememesi esnetilmiş seçilime işaret etmektedir (EK 10). Diğer taraftan *OBP4* ($\omega = 0,92478$) ve *CSP7*'de ($\omega = 1,17598$) epizodik çeşitlendirici seçilim sinyali taşımaktadır (Şekil 4.31.).

Tez çalışmasında gerçekleştirilen filogenetik analiz ile, *BfraSNMP1* - *BsorSNMP1* ve *BfraSNMP2*'nin iki farklı alt aileye ait olduğunu göstermiştir (Şekil 4.19.). Hymenoptera'daki SNMP'lerin yüksek dizi benzerlikleri bu türlerde korunan rollerini önermektedir. *SNMP1*'in, yetişkin arıların ve diğer böceklerin anteninde yüksek gen ifadesi kemosenör davranışındaki önemli rollerini gösteren bir olgu (Shan ve ark., 2020)

olmakla birlikte, yaptığımız çalışmada anten transkriptom verisinde *B. soroensis* ve *B. fragrans* *SNMP1* ifadesi yüksek seviyelerde tespit edilmekle birlikte iki tür arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.32.). Bu bulgular kapsamında SNMP geninin birçok böcek türünün hayatta kalmasının belirlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Cassau ve Krieger, 2021).

5.5. Sonuç

Bu çalışma kapsamında kısa-dilli *B. soroensis* ve uzun-dilli *B. fragrans* işçi bireylerinin anten transkriptom verisinden ifade edilen kemosensör gen aileleri tespit edilmiş ve bu genlerin ait oldukları kladlar/altfamilyalar literatür çalışmaları kapsamında belirlenmiştir. Kemosensör genlerin benzerlik ve farklılıkları ortaya konularak, *Bombus* cinsinde farklı seçici baskılarla fonksiyon kazandıkları belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen kısa- ve uzun-dilli bombus arılarında OR gen ailesinde belirlenen en önemli farklılık çiçek kokusu ile ilişkilendirilen H ve J kladında ifade edilen reseptörlerin sayısıdır. Kısa-dilli *B. soroensis* anteninde J kladında daha fazla genin ifadesi belirlenirken; uzun-dilli *B. fragrans* anteninde H kladında daha fazla gen ifadesi tespit edilmiştir. GR gen ailesi bakımından her iki türün anteninde duyarlılığının oldukça azaltılmış olduğu; acı ve besin değeri olmayan, potansiyel olarak tehlikeli maddelerin tespitinde rol alan reseptörlerde türler arası ifade edilen genler açısından farklılık olduğu belirlenmiştir. *IR75f.2*, *IR336*, *OBP3*, *OBP9*, *CSPI*'in kısa-dilli olan *B. soroensis* anteninde; *IR332*, *OBP4*, *OBP6*, *CSP7*'nin uzun-dilli *B. fragrans* anteninde daha yüksek ifade edildiğinin belirlenmesi, türe özgü ligand duyarlılıklarındaki ve buna bağlı olarak besin tercih süreçlerindeki farklılıkları ortaya koymaktadır.

Çalışma kapsamında farklı dil uzunluğuna sahip bombus arılarının anten transkriptom verisinden elde edilen bu bulgular dil uzunluğuna bağlı olarak beslenme tercihi çalışmalarına önemli bir veri sağlamaktadır. Dil uzunluğuna bağlı olarak polen toplama eğilimlerinde gerçekleşen farklılaşmanın moleküler düzeyde koku ve tat tespiti ile olan ilişkisinin doğrudan etkisini belirlemek için bu çalışma kapsamında öne çıkan ifade eğilimi farklılıklarının deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Beslenme tercihlerinde görülen farklılaşmalarda özellikle çiçek kokularının belirlenmesi, bu çiçek kokularını tespit eden reseptörlerin elektrofizyolojik, gen susturma gibi deneysel

çalışmalarla karakterizasyonu gerçekleştirilmelidir. Diğer taraftan kokuların ilgili reseptörlere aktarımından sorumlu olan OBP ve CSP'lerin bağladıkları ligandların da belirlenmesi gerekmektedir.

Tozlaştırıcı arıların azalmasının nedenlerini belirlemek genel olarak arıların korunması için ilk adımı oluşturmaktadır. Oldukça farklı biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalan karmaşık sosyal yaşama sahip arıların, Antroposen'de nasıl hayatta kalacaklarına dair daha iyi bir anlayış bütünsel bir yaklaşım ile kavranabilecektir. Koruma genomiği, hedeflenen türlerin genomları, metagenomları ve transkriptomlarını incelemek için yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında üretilen veriler, *Bombus* türlerinin davranışı, sosyal yapısı ve ekolojik ihtiyaçları hakkında bilgi sağlamakla birlikte gelecek olan çalışmalarda kullanılabilir olması açısından da önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abuin, L., Bargeton, B., Ulbrich, M. H., Isacoff, E. Y., Kellenberger, S., Benton, R., Functional Architecture of Olfactory Ionotropic Glutamate Receptors, *Neuron*, 69 (1), 44–60, **2011**.
- Agnihotri, A. R., Roy, A. A., Joshi, R. S., Gustatory receptors in Lepidoptera: chemosensation and beyond, *Insect molecular biology*, 25 (5), 519–529, 2016.
- Ahn, J. E., Chen, Y., Amrein, H., Molecular basis of fatty acid taste in *Drosophila*, *eLife*, 6, e30115, **2017**.
- Ai, M., Min, S., Grosjean, Y., Leblanc, C., Bell, R., Benton, R., Suh, G. S. B., Acid sensing by the *Drosophila* olfactory system, *Nature*, 468 (7324), 691–695, **2010**.
- Ai, M., Blais, S., Park, J. Y., Min, S., Neubert, T. A., Suh, G. S. B., Ionotropic glutamate receptors IR64a and IR8a form a functional odorant receptor complex in *Vivo* in *Drosophila*, *Journal of Neuroscience*, 33 (26), 10741–10749, **2013**.
- Aizen, M. A., Smith-Ramírez, C., Morales, C. L., Vieli, L., Sáez, A., Barahona-Segovia, R. M., Arbetman, M. P., Montalva, J., Garibaldi, L. A., Inouye, D. W., Harder, L. D., Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: The case of alien bumblebees in South America, *Journal of Applied Ecology*, 56 (1), 100–106, **2019**.
- Almagro Armenteros, J. J., Tsirigos, K. D., Sønderby, C. K., Petersen, T. N., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., Nielsen, H., SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks, *Nature Biotechnology*, 37 (4), 420–423, **2019**.
- Anfora, G., Rigosi, E., Frasnelli, E., Ruga, V., Trona, F., Vallortigara, G., Lateralization in the Invertebrate Brain: Left-right asymmetry of olfaction in bumble bee, *Bombus terrestris*, *PLoS ONE*, 6(4), e18903, **2011**.
- Angeli, S., Ceron, F., Scaloni, A., Monti, M., Monteforti, G., Minnocci, A., Petacchi, R., Pelosi, P., Purification, structural characterization, cloning and

- immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*, *European Journal of Biochemistry*, 262 (3), 745–754, **1999**.
- Anonim 1, Bumblebees of the world, <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/bombus/index.html> (Erişim tarihi: **10.04.2022**).
- Anonim 2, The IUCN Red List of Threatened Species, <https://www.iucnredlist.org/>, (Erişim tarihi: **10.04.2022**)
- Anonim 3, Prediction of transmembrane helices in proteins, <https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0> (Erişim tarihi: **10.04.2022**).
- Arbetman, M. P., Gleiser, G., Morales, C. L., Williams, P., Aizen, M. A., Global decline of bumblebees is phylogenetically structured and inversely related to species range size and pathogen incidence, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284 (1859), 20170204, **2017**.
- Ascher, J., Pickering, J., Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila), **2015**.
- Austin, M. W., Dunlap, A. S., Intraspecific variation in worker body size makes North American bumble bees (*Bombus* spp.) less susceptible to decline, *American Naturalist*, 194 (3), 381–394, **2019**.
- Badisco, L., Huybrechts, J., Simonet, G., Verlinden, H., Marchal, E., Huybrechts, R., Schoofs, L., de Loof, A., Vanden Broeck, J., Transcriptome analysis of the desert locust central nervous system: Production and annotation of a *Schistocerca gregaria* EST database, *PLoS ONE*, 6 (3), e17274, **2011**.
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E., Noble, W. S., The MEME Suite, *Nucleic Acids Research*, 43 (W1), W39–W49, **2015**.
- Ban, L., Scaloni, A., Brandazza, A., Angeli, S., Zhang, L., Yan, Y., Pelosi, P., Chemosensory proteins of *Locusta migratoria*, *Insect Molecular Biology*, 12 (2), 125–134, **2003**.
- Benton, R., Sachse, S., Michnick, S. W., Vosshall, L. B., Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors in vivo, *PLoS Biology*, 4 (2), e20, **2006**.

- Benton, R., Vannice, K. S., Vosshall, L. B., An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*, *Nature*, 450 (7167), 289–293, **2007**.
- Benton, R., Vannice, K. S., Gomez-Diaz, C., Vosshall, L. B., Variant Ionotropic Glutamate Receptors as Chemosensory Receptors in *Drosophila*, *Cell*, 136 (1), 149–162, **2009**.
- Biesmeijer, J. C., Slaa, E. J., Information flow and organization of stingless bee foraging, *Apidologie*, 35, 143–157, **2004**.
- Biessmann, H., Andronopoulou, E., Biessmann, M. R., Douris, V., Dimitratos, S. D., Eliopoulos, E., Guerin, P. M., Iatrou, K., Justice, R. W., Kröber, T., Marinotti, O., Tsitoura, P., Woods, D. F., Walter, M. F., The *Anopheles gambiae* odorant binding protein 1 (AgamOBP1) mediates indole recognition in the antennae of female mosquitoes, *PLoS ONE*, 5 (3), e9471, **2010**.
- Blomquist, G., Bagnères, A., *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*. Cambridge University Press, **2010**.
- Boto, T., Gomez-Diaz, C., Alcorta, E., Expression analysis of the 3 G-protein subunits, $G\alpha$, $G\beta$, and $G\gamma$, in the olfactory receptor organs of adult *Drosophila melanogaster*, *Chemical Senses*, 35 (3), 183–193, **2010**.
- Brand, P., Ramírez, S. R., Leese, F., Quezada-Euan, J. J. G., Tollrian, R., Eltz, T., Rapid evolution of chemosensory receptor genes in a pair of sibling species of orchid bees (Apidae: Euglossini), *BMC Evolutionary Biology*, 15 (176), 1–16, **2015**.
- Brand, P., Ramírez, S. R., The evolutionary dynamics of the odorant receptor gene family in corbiculate bees, *Genome Biology and Evolution*, 9 (8), 2023–2036, **2017**.
- Brand, P., Robertson, H. M., Lin, W., Pothula, R., Klingeman, W. E., Jurat-Fuentes, J. L., Johnson, B. R., The origin of the odorant receptor gene family in insects, *eLife*, 7, e38340, **2018**.
- Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P., Pachter, L., Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification, *Nature Biotechnology*, 34 (5), 525–527, **2016**.
- Breer, H., Fleischer, J., Pregitzer, P., Krieger, J., Olfactory Concepts of Insect Control - Alternative to insecticides, *Olfactory Concepts of Insect Control - Alternative to insecticides*, 93–114, **2019**.

- Brito, N. F., Moreira, M. F., Melo, A. C. A., A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception, *Journal of Insect Physiology*, 95, 51–65, **2016**.
- Buchmann, S. L., Buzz pollination in angiosperms, **1983**.
- Buschiazzo, E., Ritland, C., Bohlmann, J., Ritland, K., Slow but not low: genomic comparisons reveal slower evolutionary rate and higher dN/dS in conifers compared to angiosperms, *BMC Evolutionary Biology*, 8, 1–15, **2012**.
- Butterworth, N. J., Wallman, J. F., Drijfhout, F. P., Johnston, N. P., Keller, P. A., Byrne, P. G., The evolution of sexually dimorphic cuticular hydrocarbons in blowflies (Diptera: Calliphoridae), *Journal of Evolutionary Biology*, 33 (10), 1468–1486, **2020**.
- Cameron, S. A., Williams, P. H., Phylogeny of bumble bees in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): Congruence of molecular and morphological data, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28 (3), 552–563, **2003**.
- Cameron, S. A., Hines, H. M., Williams, P. H., A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*), *Biological Journal of the Linnean Society*, 91 (1), 161–188, **2007**.
- Cameron, S. A., Lozier, J. D., Strange, J. P., Koch, J. B., Cordes, N., Solter, L. F., Griswold, T. L., Patterns of widespread decline in North American bumble bees, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (2), 662–667, **2011**.
- Cameron, S. A., Lim, H. C., Lozier, J. D., Duennes, M. A., Thorp, R., Test of the invasive pathogen hypothesis of bumble bee decline in North America, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113 (16), 4386–4391, **2016**.
- Cameron, S. A., Sadd, B. M., Global trends in bumble bee health, *Annual Review of Entomology*, 65, 209–232, **2020**.
- Campanacci, V., Lartigue, A., Hällberg, B. M., Jones, T. A., Giudici-Orticoni, M. T., Tegoni, M., Cambillau, C., Moth chemosensory protein exhibits drastic conformational changes and cooperativity on ligand binding, *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America, 100 (9), 5069–5074, **2003**.
- Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez, J. M., Gabaldón, T., trimAl: A tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses, *Bioinformatics*, 25 (15), 1972–1973, **2009**.
- Carey, A. F., Carlson, J. R., Insect olfaction from model systems to disease control, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (32), 12987–12995, **2011**.
- Carter, C., Shafir, S., Yehonatan, L., Palmer, R. G., Thornburg, R., A novel role for proline in plant floral nectars, *Naturwissenschaften*, 93 (2), 72–79, **2006**.
- Cassau, S., Krieger, J., The role of SNMPs in insect olfaction, *Cell and Tissue Research*, 383 (1), 21–33, **2021**.
- Chang, H., Liu, Y., Yang, T., Pelosi, P., Dong, S., Wang, G., Pheromone binding proteins enhance the sensitivity of olfactory receptors to sex pheromones in *Chilo suppressalis*, *Scientific Reports*, 5 (1), 1–12, **2015**.
- Chen, C., Buhl, E., Xu, M., Croset, V., Rees, J. S., Lilley, K. S., Benton, R., Hodge, J. J. L., Stanewsky, R., *Drosophila* Ionotropic Receptor 25a mediates circadian clock resetting by temperature, *Nature*, 527 (7579), 516–520, **2015**.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J., Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, *Bioinformatics*, 34 (17), i884–i890, **2018**.
- Claudianos, C., Lim, J., Young, M., Yan, S., Cristino, A. S., Newcomb, R. D., Gunasekaran, N., Reinhard, J., Odor memories regulate olfactory receptor expression in the sensory periphery, *European Journal of Neuroscience*, 39 (10), 1642–1654, **2014**.
- Clyne, P. J., Warr, C. G., Freeman, M. R., Lessing, D., Kim, J., Carlson, J. R., A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in *Drosophila*, *Neuron*, 22 (2), 327–338, **1999**.
- Colgan, T. J., Carolan, J. C., Bridgett, S. J., Sumner, S., Blaxter, M. L., Brown, M. J. F., Polyphenism in social insects: Insights from a transcriptome-wide analysis of gene expression in the life stages of the key pollinator, *Bombus terrestris*, *BMC Genomics*, 12, 1–20, **2011**.

- Colgan, T. J., Fletcher, I. K., Arce, A. N., Gill, R. J., Ramos Rodrigues, A., Stolle, E., Chittka, L., Wurm, Y., Caste- and pesticide-specific effects of neonicotinoid pesticide exposure on gene expression in bumblebees, *Molecular Ecology*, 28 (8), 1964–1974, **2019**.
- Croset, V., Rytz, R., Cummins, S. F., Budd, A., Brawand, D., Kaessmann, H., Gibson, T. J., Benton, R., Ancient protostome origin of chemosensory ionotropic glutamate receptors and the evolution of insect taste and olfaction, *PLoS Genetics*, 6 (8), e1001064, **2010**.
- Crowley, L., Waterhouse, R., Brown, S., The genome sequence of the garden bumblebee , *Bombus hortorum* (Linnaeus , 1761) [version 1 ; peer review : 3 approved], *Wellcome Open Res*, 6, 1–12, **2021**.
- Cruden, R. W., Pollen grains: why so many?, *Pollen and Pollination*, 143–165, **2000**.
- Dahanukar, A., Lei, Y. T., Kwon, J. Y., Carlson, J. R., Two Gr Genes Underlie Sugar Reception in *Drosophila*, *Neuron*, 56 (3), 503–516, **2007**.
- Danforth, B. N., Sipes, S., Fang, J., Brady, S. G., The history of early bee diversification based on five genes plus morphology, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (41), 15118–15123, **2006**.
- Darriba, Di., Posada, D., Kozlov, A. M., Stamatakis, A., Morel, B., Flouri, T., ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models, *Molecular Biology and Evolution*, 37 (1), 291–294, **2020**.
- Day, S., Mercer, A., Beyer, R., Ogden, S., The Nutrient Composition of Honeybee-Collected Pollen in Otago, New Zealand, *Journal of Apicultural Research*, 29 (3), 138–146, **1990**.
- De Freitas Fernandes, F., Pimenta, P. F. P., Linardi, P. M., Antennal sensilla of the new world screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), *Journal of Medical Entomology*, 41 (4), 545–551, **2004**.
- Değirmenci, L., Geiger, D., Rogé Ferreira, F. L., Keller, A., Krischke, B., Beye, M., Steffan-Dewenter, I., Scheiner, R., CRISPR/Cas 9-Mediated Mutations as a New Tool for Studying Taste in Honeybees, *Chemical Senses*, 45 (8), 655–666, **2020**.
- Dehon, M., Engel, M. S., Gérard, M., Aytakin, A. M., Ghisbain, G., Williams, P. H., Rasmont, P., Michez, D., Morphometric analysis of fossil bumble bees

- (Hymenoptera, apidae, bombini) reveals their taxonomic affinities, *ZooKeys*, 891, 71–118, **2019**.
- Dietz, A., Humphreys, W. J., Scanning Electron Microscopic Studies of Antennal Receptors of the Worker Honey Bee,¹ including Sensilla Campaniformia², *Annals of the Entomological Society of America*, 64 (4), 919–925, **1971**.
- Dobritsa, A. A., Van Der Goes Van Naters, W., Warr, C. G., Steinbrecht, R. A., Carlson, J. R., Integrating the molecular and cellular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna, *Neuron*, 37 (5), 827–841, **2003**.
- Dogterom, M. H., Winston, M. L., Mukai, A., Effect of pollen load size and source (self, outcross) on seed and fruit production in highbush blueberry cv. “Bluecrop” (*Vaccinium corymbosum*; Ericaceae), *American Journal of Botany*, 87 (11), 1584–1591, **2000**.
- Dohmen, E., Kremer, L. P. M., Bornberg-Bauer, E., Kemena, C., DOGMA: Domain-based transcriptome and proteome quality assessment, *Bioinformatics*, 32 (17), 2577–2581, **2016**.
- Dweck, H., Talross, G., Wang, W., Carlson, J., Evolutionary shifts in taste coding in the fruit pest *Drosophila suzukii*, *Elife*, 10, e64317, **2021**.
- Dweck, H. K. M., Carlson, J. R., Molecular Logic and Evolution of Bitter Taste in *Drosophila*, *Current Biology*, 30 (1), 17-30, **2020**.
- Dyer, A. G., Boyd-Gerny, S., Shrestha, M., Lunau, K., Garcia, J. E., Koethe, S., Wong, B. B. M., Innate colour preferences of the Australian native stingless bee *Tetragonula carbonaria* Sm., *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 202 (9–10), 603–613, **2016**.
- Eardley, C., Roth, D., Clarke, J., Buchmann, S., Gemmill, B., Pollinators and pollination: a resource book for policy and practice. Agricultural Research Council (ARC), **2006**.
- Emms, D. M., Kelly, S., OrthoFinder: solving fundamental biases in whole genome comparisons dramatically improves orthogroup inference accuracy, *Genome Biology*, 16 (1), 1–14, **2015**.

- Engel, M. S., Monophyly and extensive extinction of advanced eusocial bees: Insights from an unexpected Eocene diversity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (4), 1661–1664, **2001**.
- Engsontia, P., Sangket, U., Robertson, H. M., Satasook, C., Diversification of the ant odorant receptor gene family and positive selection on candidate cuticular hydrocarbon receptors, *BMC Research Notes*, 8 (1), 1–13, **2015**.
- Enjin, A., Zaharieva, E. E., Frank, D. D., Mansourian, S., Suh, G. S. B., Gallio, M., Stensmyr, M. C., Humidity sensing in drosophila, *Current Biology*, 26 (10), 1352–1358, **2016**.
- Faddeeva-Vakhrusheva, A., Derks, M. F. L., Anvar, S. Y., Agamennone, V., Suring, W., Smit, S., van Straalen, N. M., Roelofs, D., Gene family evolution reflects adaptation to soil environmental stressors in the genome of the collembolan *orchesella cincta*, *Genome Biology and Evolution*, 8 (7), 2106–2117, **2016**.
- Faddeeva-Vakhrusheva, A., Kraaijeveld, K., Derks, M. F. L., Anvar, S. Y., Agamennone, V., Suring, W., Kampfraath, A. A., Eilers, J., Le Ngoc, G., van Gestel, C. A. M., Mariën, J., Smit, S., van Straalen, N. M., Roelofs, D., Coping with living in the soil: The genome of the parthenogenetic springtail *Folsomia candida*, *BMC Genomics*, 18 (1), 1–14, **2017**.
- Farina, W. M., Grüater, C., Díaz, P. C., Social learning of floral odours inside the honeybee hive, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272, 1923–1928, **2005**.
- Faucher, C., Forstreuter, M., Hilker, M., De Bruyne, M., Behavioral responses of *Drosophila* to biogenic levels of carbon dioxide depend on life-stage, sex and olfactory context, *Journal of Experimental Biology*, 209 (14), 2739–2748, **2006**.
- Faucheux, M. J., Kristensen, N. P., Yen, S. H., The antennae of neopseustid moths: Morphology and phylogenetic implications, with special reference to the sensilla (Insecta, Lepidoptera, Neopseustidae), *Zoologischer Anzeiger*, 245 (2), 131–142, **2006**.
- Finn, R. D., Clements, J., Eddy, S. R., HMMER web server: Interactive sequence similarity searching, *Nucleic Acids Research*, 39, W29–W37, **2011**.

- Fleischer, J., Pregitzer, P., Breer, H., Krieger, J., Access to the odor world: olfactory receptors and their role for signal transduction in insects, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75 (3), 485–508, **2018**.
- Forêt, S., Maleszka, R., Function and evolution of a gene family encoding odorant binding-like proteins in a social insect, the honey bee (*Apis mellifera*), *Genome Research*, 16 (11), 1404–1413, **2006**.
- Forêt, S., Wanner, K. W., Maleszka, R., Chemosensory proteins in the honey bee: Insights from the annotated genome, comparative analyses and expressional profiling, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37 (1), 19–28, **2007**.
- Forstner, M., Gohl, T., Gondesen, I., Raming, K., Breer, H., Krieger, J., Differential expression of SNMP-1 and SNMP-2 proteins in pheromone-sensitive hairs of moths, *Chemical Senses*, 33 (3), 291–299, **2008**.
- Forstner, M., Breer, H., Krieger, J., A receptor and binding protein interplay in the detection of a distinct pheromone component in the silkworm *Antheraea polyphemus*, *International Journal of Biological Sciences*, 5 (7), 745–757, **2009**.
- Free, J. B., *Insect Pollination of Crops*, 2nd ed. Academic Press Ltd., San Diego, California, USA, **1993**.
- Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., Vaissière, B. E., Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline, *Ecological Economics*, 68 (3), 810–821, **2009**.
- Gereau, R., Swanson, G., *The glutamate receptors*. Springer Science & Business Media, **2008**.
- Ghavami, M. B., Khoeini, S., Djadid, N. D., Molecular characteristics of odorant-binding protein 1 in *Anopheles maculipennis*, *Malaria Journal*, 19 (1), 1–10, **2020**.
- Goldman, A. L., Van Der Goes Van Naters, W., Lessing, D., Warr, C. G., Carlson, J. R., Coexpression of two functional odor receptors in one neuron, *Neuron*, 45 (5), 661–666, **2005**.
- Gomez-Diaz, C., Bargeton, B., Abuin, L., Bukar, N., Reina, J. H., Bartoi, T., Graf, M., Ong, H., Ulbrich, M. H., Masson, J. F., Benton, R., A CD36 ectodomain mediates insect pheromone detection via a putative tunnelling mechanism, *Nature Communications*, 7 (1), 1–17, **2016**.

- Gong, L., Luo, Q., Rizwan-Ul-Haq, M., Hu, M. Y., Cloning and characterization of three chemosensory proteins from *Spodoptera exigua* and effects of gene silencing on female survival and reproduction, *Bulletin of Entomological Research*, 102 (5), 600–609, **2012**.
- González, D., Zhao, Q., McMahan, C., Velasquez, D., Haskins, W. E., Sponsel, V., Cassill, A., Renthal, R., The major antennal chemosensory protein of red imported fire ant workers, *Insect Molecular Biology*, 18(3), 395–404, **2009**.
- Goulson, D., *Bumblebees: their behaviour and ecology*. Oxford University Press, USA, **2003**.
- Goulson, D., Darvill, B., Niche overlap and diet breadth in bumblebees; are rare species more specialized in their choice of flowers?, *Apidologie*, 35 (1), 55–63, **2004**.
- Goulson, D., Hanley, M. E., Darvill, B., Ellis, J. S., Knight, M. E., Causes of rarity in bumblebees, *Biological Conservation*, 122 (1), 1–8, **2005**.
- Goulson, D., Hanley, M. E., Darvill, B., Ellis, J. S., Biotope associations and the decline of bumblebees (*Bombus* spp.), *Journal of Insect Conservation*, 10 (2), 95–103, **2006**.
- Goulson, D., Lye, G. C., Darvill, B., Decline and conservation of bumble bees, *Annual Review of Entomology*, 53:191–208, **2008**.
- Goulson, D., *Bumblebees: behaviour, ecology, and conservation*. Oxford University Press on Demand, **2010**.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., Rotheray, E. L., Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers, *Science*, 347 (6229), 1–16, **2015**.
- Grabherr, M. G., Haas, B. J., Yassour, M., Levin, J. Z., Thompson, D. A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., Zeng, Q., Chen, Z., Mauceli, E., Hacohen, N., Gnirke, A., Rhind, N., Di Palma, F., Birren, B. W., Nusbaum, C., Lindblad-Toh, K. vd., Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome, *Nature Biotechnology*, 29 (7), 644–652, **2011**.
- Graystock, P., Blane, E. J., McFrederick, Q. S., Goulson, D., Hughes, W. O. H., Do managed bees drive parasite spread and emergence in wild bees?, *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5 (1), 64–75, **2016**.

- Grosse-Wilde, E., Kuebler, L. S., Bucks, S., Vogel, H., Wicher, D., Hansson, B. S., Antennal transcriptome of *Manduca sexta*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (18), 7449–7454, **2011**.
- Große-Wilde, E., Svatoš, A., Krieger, J., A Pheromone-binding protein mediates the bombykol-induced activation of a pheromone receptor in vitro, *Chemical Senses*, 31 (6), 547–555, **2006**.
- Gu, S. H., Wang, S. Y., Zhang, X. Y., Ji, P., Liu, J. T., Wang, G. R., Wu, K. M., Guo, Y. Y., Zhou, J. J., Zhang, Y. J., Functional characterizations of chemosensory proteins of the alfalfa plant bug *adelphocoris lineolatus* indicate their involvement in host recognition, *PLoS ONE*, 7 (8), e42871, **2012**.
- Gu, S. H., Yang, R. N., Guo, M. B., Wang, G. R., Wu, K. M., Guo, Y. Y., Zhou, J. J., Zhang, Y. J., Molecular identification and differential expression of sensory neuron membrane proteins in the antennae of the black cutworm moth *Agrotis ipsilon*, *Journal of Insect Physiology*, 59 (4), 430–443, **2013**.
- Gullan, P. J., Cranston, P. S., *The insects: an outline of entomology*. John Wiley & Sons, **2014**.
- Guo, M., Krieger, J., Große-Wilde, E., Mißbach, C., Zhang, L., Breer, H., Variant Ionotropic receptors are expressed in olfactory sensory neurons of coeloconic sensilla on the antenna of the desert locust (*Schistocerca gregaria*), *International Journal of Biological Sciences*, 10 (1), 1–14, **2014**.
- Guo, W., Wang, X., Ma, Z., Xue, L., Han, J., Yu, D., Kang, L., CSP and takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust, *PLoS Genetics*, 7 (2), e1001291, **2011**.
- Haas, B., Zimmermann, B., Crusoe, M., Plessy, C., MacManes, M., *TransDecoder*, **2015**. (<https://github.com/TransDecoder/TransDecoder>)
- Hallem, E. A., Ho, M. G., Carlson, J. R., The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna, *Cell*, 117 (7), 965–979, **2004**.
- Hallem, E. A., Carlson, J. R., Coding of Odors by a Receptor Repertoire, *Cell*, 125 (1), 143–160, **2006**.
- Hallmann, C. A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D., De Kroon, H., More than 75

- percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas, *PLoS ONE*, 12 (10), e0185809, **2017**.
- Hammer, O., PAST paleontological statistics v. 4.03, Reference Manual. Oslo: University of Oslo, **2020**.
- Hammer, Ø., Harper, D., Ryan, P., PAST: Paleontological Statistics Software Package For Education And Data Analysis, *Palaeontologia Electronica*, 4 (1), 1–9, **2001**.
- Hansson, B. S., Stensmyr, M. C., Evolution of insect olfaction, *Neuron*, 72 (5), 698–711, **2011**.
- Harder, L. D., Functional differences of the proboscides of short- and long-tongued bees (Hymenoptera, Apoidea), *Canadian Journal of Zoology*, 61 (7), 1580–1586, **1983**.
- Hedges, S. B., Dudley, J., Kumar, S., TimeTree: A public knowledge-base of divergence times among organisms, *Bioinformatics*, 22 (23), 2971–2972, **2006**.
- Heraghty, S. D., Sutton, J. M., Pimsler, M. L., Fierst, J. L., Strange, J. P., Lozier, J. D., De novo genome assemblies for three North American bumble bee species: *Bombus bifarius*, *bombus vancouverensis*, and *bombus vosnesenskii*, *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10 (8), 2585–2592, **2020**.
- Hines, H. M., Historical biogeography, divergence times, and diversification patterns of bumble bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*), *Systematic Biology*, 57 (1), 58–75, **2008**.
- Howard, S. R., Shrestha, M., Schramme, J., Garcia, J. E., Avarguès-Weber, A., Greentree, A. D., Dyer, A. G., Honeybees prefer novel insect-pollinated flower shapes over bird-pollinated flower shapes, *Current Zoology*, 65 (4), 457–465, **2019**.
- Hurst, L. D., Fundamental concepts in genetics: Genetics and the understanding of selection, *Nature Reviews Genetics*, 10 (2), 83–93, **2009**.
- Hussain, A., Zhang, M., Üçpınar, H. K., Svensson, T., Quillery, E., Gompel, N., Ignell, R., Grunwald Kadow, I. C., Ionotropic Chemosensory Receptors Mediate the Taste and Smell of Polyamines, *PLoS Biology*, 14 (5), e1002454, **2016**.
- Inoue, M. N., Yokoyama, J., Washitani, I., Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae), *Journal of Insect Conservation*, 12 (2), 135–146, **2008**.

- Jacobson, M. M., Tucker, E. M., Mathiasson, M. E., Rehan, S. M., Decline of bumble bees in northeastern North America, with special focus on *Bombus terricola*, *Biological Conservation*, 217, 437–445, **2018**.
- Jacquín-Joly, E., Vogt, R. G., François, M. C., Nagnan-Le Meillour, P., Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Mamestra brassicae*, *Chemical Senses*, 26 (7), 833–844, **2001**.
- Jaeger, A. H., Stanley, M., Weiss, Z. F., Musso, P. Y., Chan, R. C. W., Zhang, H., Feldman-Kiss, D., Gordon, M. D., A complex peripheral code for salt taste in *Drosophila*, *eLife*, 7, e37167, **2018**.
- Javorek, S. K., Mackenzie, K. E., Vander Kloet, S. P., Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (*Ericaceae: Vaccinium angusifolium*), *Annals of the Entomological Society of America*, 95 (3), 345–351, **2002**.
- Jiao, Y., Seok, J. M., Montell, C., A *Drosophila* gustatory receptor required for the responses to sucrose, glucose, and maltose identified by mRNA tagging, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (35), 14110–14115, **2007**.
- Jiao, Y., Moon, S. J., Wang, X., Ren, Q., Montell, C., Gr64f Is Required in Combination with Other Gustatory Receptors for Sugar Detection in *Drosophila*, *Current Biology*, 18 (22), 1797–1801, **2008**.
- Jones, W. D., Cayirlioglu, P., Grunwald Kadow, I., Vosshall, L. B., Two chemosensory receptors together mediate carbon dioxide detection in *Drosophila*, *Nature*, 445 (7123), 86–90, **2007**.
- Joseph, R. M., Carlson, J. R., *Drosophila* Chemoreceptors: A Molecular Interface Between the Chemical World and the Brain, *Trends in Genetics*, 31 (12), 683–695, **2015**.
- Jung, J. W., Park, K. W., Ahn, Y. J., Kwon, H. W., Functional characterization of sugar receptors in the western honeybee, *Apis mellifera*, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18 (1), 19–26, **2015**.

- Karpe, S. D., Jain, R., Brockmann, A., Sowdhamini, R., Identification of complete repertoire of *Apis florea* odorant receptors reveals complex orthologous relationships with *Apis mellifera*, *Genome Biology and Evolution*, 8 (9), 2879–2895, **2016**.
- Karpe, S. D., Dhingra, S., Brockmann, A., Sowdhamini, R., Computational genome-wide survey of odorant receptors from two solitary bees *Dufourea novaeangliae* (Hymenoptera: Halictidae) and *Habropoda laboriosa* (Hymenoptera: Apidae), *Scientific Reports*, 7 (1), 1–13, **2017**.
- Katoh, K., Standley, D. M., MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability, *Molecular Biology and Evolution*, 30 (4), 772–780, **2013**.
- Kawakita, A., Sota, T., Ito, M., Ascher, J. S., Tanaka, H., Kato, M., Roubik, D. W., Phylogeny, historical biogeography, and character evolution in bumble bees (*Bombus*: Apidae) based on simultaneous analysis of three nuclear gene sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31 (2), 799–804, **2004**.
- Kent, C. F., Dey, A., Patel, H., Tsvetkov, N., Tiwari, T., MacPhail, V. J., Gobeil, Y., Harpur, B. A., Gurtowski, J., Schatz, M. C., Colla, S. R., Zayed, A., Conservation genomics of the declining North American bumblebee *Bombus terricola* reveals inbreeding and selection on immune genes, *Frontiers in Genetics*, 9, 1–12, **2018**.
- Kent, L. B., Robertson, H. M., Evolution of the sugar receptors in insects, *BMC Evolutionary Biology*, 9 (1), 1–20, **2009**.
- Kerr, J. T., Pindar, A., Galpern, P., Packer, L., Potts, S. G., Roberts, S. M., Rasmont, P., Schweiger, O., Colla, S. R., Richardson, L. L., Wagner, D. L., Gall, L. F., Sikes, D. S., Pantoja, A., Climate change impacts on bumblebees converge across continents, *Science*, 349 (6244), 177–180, **2015**.
- Kessler, S. C., Tiedeken, E. J., Simcock, K. L., Derveau, S., Mitchell, J., Softley, S., Stout, J. C., Wright, G. A., Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides, *Nature*, 521 (7550), 74–76, **2015**.
- Kitabayashi, A. N., Arai, T., Kubo, T., Natori, S., Molecular cloning of cDNA for p10, a novel protein that increases in the regenerating legs of *Periplaneta americana*

- (American cockroach), *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28 (10), 785–790, **1998**.
- Kleijn, D., Raemakers, I., A retrospective analysis of pollen host plant use by stable and declining bumble bee species, *Ecology*, 89 (7), 1811–1823, **2008**.
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Tscharntke, T., Importance of pollinators in changing landscapes for world crops, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274 (1608), 303–313, **2007**.
- Knecht, Z. A., Silbering, A. F., Ni, L., Klein, M., Budelli, G., Bell, R., Abuin, L., Ferrer, A. J., Samuel, A. D. T., Benton, R., Garrity, P. A., Distinct combinations of variant ionotropic glutamate receptors mediate thermosensation and hygrosensation in *Drosophila*, *eLife*, 5, e17879, **2016**.
- Knecht, Z. A., Silbering, A. F., Cruz, J., Yang, L., Croset, V., Benton, R., Garrity, P. A., Ionotropic receptor-dependent moist and dry cells control hygrosensation in *Drosophila*, *eLife*, 6, e26654, **2017**.
- Koethe, S., Fischbach, V., Banysch, S., Reinartz, L., Hrnčir, M., Lunau, K., A Comparative Study of Food Source Selection in Stingless Bees and Honeybees: Scent Marks, Location, or Color, *Frontiers in Plant Science*, 1, 156, **2020**.
- Kohl, J., Huoviala, P., Jefferis, G. S. X. E., Pheromone processing in *Drosophila*, *Current Opinion in Neurobiology*, 34, 149–157, **2015**.
- Kosakovsky Pond, S. L., Poon, A. F., Velazquez, R., Weaver, S., Hepler, N. L., Murrell, B., Shank, S. D., Magalis, B. R., Bouvier, D., Nekrutenko, A., Wisotsky, S., Spielman, S. J., Frost, S. D. W., Muse, S. V., HyPhy 2.5 - A Customizable Platform for Evolutionary Hypothesis Testing Using Phylogenies, *Molecular Biology and Evolution*, 37 (1), 295–299, **2020**.
- Koutroumpa, F. A., Kárpáti, Z., Monsempes, C., Hill, S. R., Hansson, B. S., Jacquin-Joly, E., Krieger, J., Dekker, T., Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer, *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2, 1–12, **2014**.

- Kozlov, A. M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B., Stamatakis, A., RAxML-NG: A fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference, *Bioinformatics*, 35 (21), 4453–4455, **2019**.
- Krieger, J., Klink, O., Mohl, C., Raming, K., Breer, H., A candidate olfactory receptor subtype highly conserved across different insect orders, *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 189 (7), 519–526, **2003**.
- Kuwabara, M., Takeda, K., On the hygroreceptor of the honey bee, *Apis mellifera* L., *Physiol. Ecol.*, 7, 1–6, **1956**.
- Langmead, B., Salzberg, S. L., Fast gapped-read alignment with Bowtie 2, *Nature Methods*, 9 (4), 357–359, **2012**.
- Le Féon, V., Schermann-Legionnet, A., Delettre, Y., Aviron, S., Billeter, R., Bugter, R., Hendrickx, F., Burel, F., Intensification of agriculture, landscape composition and wild bee communities: A large scale study in four European countries, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 137 (1–2), 143–150, **2010**.
- Leal, W. S., Nikonova, L., Peng, G., Disulfide structure of the pheromone binding protein from the silkworm moth, *Bombyx mori*, *FEBS Letters*, 464 (1–2), 85–90, **1999**.
- Lee, Y., Moon, S. J., Montell, C., Multiple gustatory receptors required for the caffeine response in *Drosophila*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (11), 4495–4500, **2009**.
- Leonhardt, S. D., Menzel, F., Nehring, V., Schmitt, T., Ecology and Evolution of Communication in Social Insects, *Cell*, 164 (6), 1277–1287, **2016**.
- Leonhardt, S. D., Chemical Ecology of Stingless Bees, *Journal of Chemical Ecology*, 43 (4), 385–402, **2017**.
- Li, X., Lu, D., Liu, X., Zhang, Q., Zhou, X., Ultrastructural characterization of olfactory sensilla and immunolocalization of odorant binding and chemosensory proteins from an ectoparasitoid *Scleroderma guani* (Hymenoptera: Bethylinidae), *International Journal of Biological Sciences*, 7 (6), 848–868, **2011**.
- Liu, F., Xiong, C., Liu, N., Chemoreception to aggregation pheromones in the common bed bug, *Cimex lectularius*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 82, 62–73, **2017**.

- Liu, J. F., Yang, L., Li, M., He, X. J., Wang, Z. L., Zeng, Z. J., Cloning and expression pattern of odorant receptor 11 in Asian honeybee drones, *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae), *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22, 110–116, **2019**.
- Liu, R., He, X., Lehane, S., Lehane, M., Hertz-Fowler, C., Berriman, M., Field, L. M., Zhou, J. J., Expression of chemosensory proteins in the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* is related to female host-seeking behaviour, *Insect Molecular Biology*, 21 (1), 41–48, **2012**.
- Liu, Y., Zhao, H., Luo, Q., Yang, Y., Zhang, G., Zhou, Z., Naeem, M., An, J., De Novo transcriptomic and metabolomic analyses reveal the ecological adaptation of high-altitude *bombus pyrosoma*, *Insects*, 11 (9), 1–14, **2020**.
- Loidl, A., Crailsheim, K., Free fatty acids digested from pollen and triolein in the honeybee (*Apis mellifera carnica* Pollmann) midgut, *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 171 (4), 313–319, **2001**.
- Lommelen, E., Johnson, C. A., Drijfhout, F. P., Billen, J., Wenseleers, T., Gobin, B., Cuticular hydrocarbons provide reliable cues of fertility in the ant *Gnamptogenys striatula*, *Journal of Chemical Ecology*, 32 (9), 2023–2034, **2006**.
- Losey, J. E., Vaughan, M., The economic value of ecological services provided by insects, *BioScience*, 56 (4), 311–323, **2006**.
- Love, M. I., Huber, W., Anders, S., Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2, *Genome Biology*, 15 (12), 1–21, **2014**.
- Lu, T., Qiu, Y. T., Wang, G., Kwon, J. Y., Rutzler, M., Kwon, H. W., Pitts, R. J., van Loon, J. J. A., Takken, W., Carlson, J. R., Zwiebel, L. J., Odor Coding in the Maxillary Palp of the Malaria Vector Mosquito *Anopheles gambiae*, *Current Biology*, 17 (18), 1533–1544, **2007**.
- Lunau, K., Maier, E. J., Innate colour preferences of flower visitors, *Journal of Comparative Physiology A*, 177 (1), 1–19, **1995**.
- Maleszka, J., Forêt, S., Saint, R., Maleszka, R., RNAi-induced phenotypes suggest a novel role for a chemosensory protein CSP5 in the development of embryonic integument in the honeybee (*Apis mellifera*), *Development Genes and Evolution*, 217 (3), 189–196, **2007**.

- Maleszka, R., Stange, G., Molecular cloning, by a novel approach, of a cDNA encoding a putative olfactory protein in the labial palps of the moth *Cactoblastis cactorum*, *Gene*, 202, 39–43, **1997**.
- Mas, F., Jallon, J. M., Sexual isolation and cuticular hydrocarbon differences between *Drosophila santomea* and *Drosophila yakuba*, *Journal of Chemical Ecology*, 31(11), 2747–2752, **2005**.
- Matsuo, T., Sugaya, S., Yasukawa, J., Aigaki, T., Fuyama, Y., Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*, *PLoS Biology*, 5 (5), e118, **2007**.
- Matthews, B. J., McBride, C. S., DeGennaro, M., Despo, O., Vossahl, L. B., The neurotranscriptome of the *Aedes aegypti* mosquito, *BMC Genomics*, 17 (1), 1–20, **2016**.
- McKenzie, S. K., Fetter-Pruneda, I., Ruta, V., Kronauer, D. J. C., Transcriptomics and neuroanatomy of the clonal raider ant implicate an expanded clade of odorant receptors in chemical communication, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113 (49), 14091–14096, **2016**.
- McKenna, M. P., Hekmat-Safe, D. S., Gaines, P., Carlson, J. R., Putative drosophila pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system, *Journal of Biological Chemistry*, 269 (23), 16340–16347, **1994**.
- Michener, C., *The bees of the world*, Second Edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **2007**.
- Missbach, C., Dweck, H. K. M., Vogel, H., Vilcinskas, A., Stensmyr, M. C., Hansson, B. S., Grosse-Wilde, E., Evolution of insect olfactory receptors, *eLife*, 3, e02115, **2014**.
- Miura, N., Atsumi, S., Tabunoki, H., Sato, R., Expression and localization of three G protein α subunits, G α , G α q, and G α s, in adult antennae of the silkworm (*Bombyx mori*), *Journal of Comparative Neurology*, 485 (2), 143–152, **2005**.
- Miyamoto, T., Slone, J., Song, X., Amrein, H., A fructose receptor functions as a nutrient sensor in the drosophila brain, *Cell*, 151 (5), 1113–1125, **2012**.
- Molet, M., Chittka, L., Raine, N. E., How floral odours are learned inside the bumblebee (*Bombus terrestris*) nest, *Naturwissenschaften*, 96 (2), 213–219, **2009**.

- Montell, C., A taste of the *Drosophila* gustatory receptors, *Current Opinion in Neurobiology*, 19 (4), 345–353, **2009**.
- Must, A., Merivee, E., Mänd, M., Luik, A., Heidemaa, M., Electrophysiological responses of the antennal campaniform sensilla to rapid changes of temperature in the ground beetles *Pterostichus oblongopunctatus* and *Poecilus cupreus* (tribe Pterostichini) with different ecological preferences, *Physiological Entomology*, 31 (3), 278–285, **2006**.
- Nagnan-Le Meillour, P., Cain, A. H., Jacquin-Joly, E., François, M. C., Ramachandran, S., Maida, R., Steinbrecht, R. A., Chemosensory proteins from the proboscis of *Mamestra brassicae*, *Chemical Senses*, 25 (5), 541–553, **2000**.
- Nakagawa, T., Vosshall, L. B., Controversy and consensus: noncanonical signaling mechanisms in the insect olfactory system, *Current Opinion in Neurobiology*, 19 (3), 284–292, **2009**.
- Nakagawa, T., Pellegrino, M., Sato, K., Vosshall, L. B., Touhara, K., Amino acid residues contributing to function of the heteromeric insect olfactory receptor complex, *PLoS ONE*, 7 (3), e32372, **2012**.
- Nation, J. L., *Insect physiology and biochemistry*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **2002**.
- Nei, M., Kumar, S., *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, USA, **2000**.
- Ni, L., Klein, M., Svec, K. V., Budelli, G., Chang, E. C., Ferrer, A. J., Benton, R., Samuel, A. D. T., Garrity, P. A., The ionotropic receptors IR21a and IR25a mediate cool sensing in *Drosophila*, *eLife*, 5, e13254, **2016**.
- Nichols, Z., Vogt, R. G., The SNMP/CD36 gene family in Diptera, Hymenoptera and Coleoptera: *Drosophila melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, and *Tribolium castaneum*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38 (4), 398–415, **2008**.
- Nicolson, S. W., Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two, *African Zoology*, 46 (2), 197–204, **2011**.
- Nielsen, R., Molecular signatures of natural selection, *Annual Review of Genetics*, 39, 197–218, **2005**.

- Ning, C., Yang, K., Xu, M., Huang, L. Q., Wang, C. Z., Functional validation of the carbon dioxide receptor in labial palps of *Helicoverpa armigera* moths, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 73, 12–19, **2016**.
- Nomura, A., Kawasaki, K., Kubo, T., Natori, S., Purification and localization of p10, a novel protein that increases in nymphal regenerating legs of *Periplaneta americana* (American cockroach), *International Journal of Developmental Biology*, 36 (3), 391–398, **1992**.
- Obiero, G. F., Pauli, T., Geuverink, E., Veenendaal, R., Niehuis, O., Große-Wilde, E., Chemoreceptor Diversity in Apoid Wasps and Its Reduction during the Evolution of the Pollen-Collecting Lifestyle of Bees (Hymenoptera: Apoidea), *Genome biology and evolution*, 13 (3), 1–18, **2021**.
- Obiero, G. F. O., Mireji, P. O., Nyanjom, S. R. G., Christoffels, A., Robertson, H. M., Masiga, D. K., Odorant and Gustatory Receptors in the Tsetse Fly *Glossina morsitans morsitans*, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8 (4), e2663, **2014**.
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S., How many flowering plants are pollinated by animals?, *Oikos*, 120 (3), 321–326, **2011**.
- Ollerton, J., Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48, 353–376, **2017**.
- Otte, T., Hilker, M., Geiselhardt, S., Phenotypic Plasticity of Cuticular Hydrocarbon Profiles in Insects, *Journal of Chemical Ecology*, 44 (3), 235–247, **2018**.
- Owen, R. E., Otterstatter, M. C., Cartar, R. V., Farmer, A., Colla, S. R., O’Toole, N., Significant expansion of the distribution of the bumble bee *Bombus moderatus* (Hymenoptera: Apidae) in Alberta over 20 years, *Canadian Journal of Zoology*, 90 (1), 133–138, **2012**.
- Özbek, H., Erzurum civarında yonca (*Medicago sativa* L.) ve korunga (*Onobrychis sativa* L.)’daki polinatör arılar (Apoidea: Hym.) bunların faaliyetleri, meyve ve tohum bağlamaya etkileri. Atatürk Üniversitesi Yayınları, **1979**.
- Özbek, H., Doğu Anadolu’nun Bazı Yörelerinde Bombinae (Hymenoptera: Apoidea, Bombidae) Türleri Üzerinde Taksonomik ve Bazı Biyolojik Çalışmalar. Atatürk Üniversitesi Basımevi, **1983**.

- Özbek, H., Bumblebees fauna of Turkey with distribution map (Hymenoptera: Apidae: Bombinae) Part 1: *Alpigenobombus* Skorlkov, *Bombias* Robertson and *Bombus* Latreille, *Turkish Journal of Entomology*, 21 (1), 37–56, **1997**.
- Özbek, H., On the bumblebee fauna of Turkey:II. The genus *Pyrobombus* (Hymenoptera, Apidae, Bombinae), *Zoology In The Middle East* 16, 89-106, **1998**.
- Pask, G. M., Slone, J. D., Millar, J. G., Das, P., Moreira, J. A., Zhou, X., Bello, J., Berger, S. L., Bonasio, R., Desplan, C., Reinberg, D., Liebig, J., Zwiebel, L. J., Ray, A., Specialized odorant receptors in social insects that detect cuticular hydrocarbon cues and candidate pheromones, *Nature Communications*, 8 (1), 1–10, **2017**.
- Pěalva-Arana, D. C., Lynch, M., Robertson, H. M., The chemoreceptor genes of the waterflea *Daphnia pulex*: Many Grs but no Ors, *BMC Evolutionary Biology*, 9 (1), 8–11, **2009**.
- Peat, J., Tucker, J., Goulson, D., Does intraspecific size variation in bumblebees allow colonies to efficiently exploit different flowers?, *Ecological Entomology*, 30(2), 176–181, **2005**.
- Pelosi, P., Perireceptor events in olfaction, *Journal of Neurobiology*, 30 (1), 3–19, **1996**.
- Pelosi, P., Zhou, J. J., Ban, L. P., Calvello, M., Soluble proteins in insect chemical communication, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63 (14), 1658–1676, **2006**.
- Pelosi, P., Iovinella, I., Felicioli, A., Dani, F. R., Soluble proteins of chemical communication: An overview across arthropods, *Frontiers in Physiology*, 5, 1–13, **2014**.
- Pelosi, P., Iovinella, I., Zhu, J., Wang, G., Dani, F. R., Beyond chemoreception: diverse tasks of soluble olfactory proteins in insects, *Biological Reviews*, 93 (1), 184–200, **2018**.
- Petanidou, T., Sugars in Mediterranean floral nectars: An ecological and evolutionary approach, *Journal of Chemical Ecology*, 31 (5), 1065–1088, **2005**.
- Peterson, M. A., Dobler, S., Larson, E. L., Juárez, D., Schlarbaum, T., Monsen, K. J., Francke, W., Profiles of cuticular hydrocarbons mediate male mate choice and sexual isolation between hybridising *Chrysochus* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Chemoecology*, 17 (2), 87–96, **2007**.

- Pikielny, C. W., Hasan, G., Rouyer, F., Rosbash, M., Members of a family of drosophila putative odorant-binding proteins are expressed in different subsets of olfactory hairs, *Neuron*, 12 (1), 35–49, **1994**.
- Pitts, R. J., Fox, A. N., Zwiebeil, L. J., A highly conserved candidate chemoreceptor expressed in both olfactory and gustatory tissues in the malaria vector *Anopheles gambiae*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (14), 5058–5063, **2004**.
- Ponchau, O., Iserbyt, S., Verhaeghe, J. C., Rasmont, P., Is the caste-ratio of the oligolectic bumblebee *Bombus gerstaeckeri* Morawitz (Hymenoptera: Apidae) biased to queens?, *Annales de la Societe Entomologique de France*, 42 (2), 207–214, 2006.
- Potter, S. C., Luciani, A., Eddy, S. R., Park, Y., Lopez, R., Finn, R. D., HMMER web server: 2018 update, *Nucleic Acids Research*, 46 (W1), W200–W204, 2018.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W. E., Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers, *Trends in Ecology and Evolution*, 25 (6), 345–353, **2010**.
- Pregitzer, P., Greschista, M., Breer, H., Krieger, J., The sensory neurone membrane protein SNMP1 contributes to the sensitivity of a pheromone detection system, *Insect Molecular Biology*, 23 (6), 733–742, **2014**.
- Prÿs-Jones, O., Ecological studies of foraging and life history in bumblebees (Doctoral dissertation, University of Cambridge), **1982**.
- Raine, N. E., Chittka, L., The adaptive significance of sensory bias in a foraging context: Floral colour preferences in the bumblebee *Bombus terrestris*, *PLoS ONE*, 2 (6), e556, **2007**.
- Raji, J. I., Melo, N., Castillo, J. S., Gonzalez, S., Saldana, V., Stensmyr, M. C., DeGennaro, M., *Aedes aegypti* Mosquitoes Detect Acidic Volatiles Found in Human Odor Using the IR8a Pathway, *Current Biology*, 29 (8), 1253–1262, **2019**.
- Ranwez, V., Douzery, E. J. P., Cambon, C., Chantret, N., Delsuc, F., MACSE v2: Toolkit for the alignment of coding sequences accounting for frameshifts and stop codons, *Molecular Biology and Evolution*, 35 (10), 2582–2584, **2018**.

- Rasmont, P., Coppee, A., Michez, D., De Meulemeester, T., An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae), *Annales de la Societe Entomologique de France*, 44 (2), 243–250, **2008**.
- Rasmont P., Aytekin A.M., Kaftanoğlu O. Flagothier D., The bumblebees of Turkey. Atlas Hymenoptera, Université de Mons, Gembloux Agro-Biotech, Mons, Gembloux, **2009**. (<http://www.atlashymenoptera.net/page.aspx??ID=103>)
- Rebora, M., Piersanti, S., Almaas, T. J., Gaino, E., Hygroreceptors in the larva of *Libellula depressa* (Odonata: Libellulidae), *Journal of Insect Physiology*, 53 (6), 550–558, **2007**.
- Robertson, H. M., Martos, R., Sears, C. R., Todres, E. Z., Walden, K. K. O., Nardi, J. B., Diversity of odourant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae, *Insect Molecular Biology*, 8 (4), 501–518, **1999**.
- Robertson, H. M., Wanner, K. W., The chemoreceptor superfamily in the honey bee, *Apis mellifera*: Expansion of the odorant, but not gustatory, receptor family, *Genome Research*, 16 (11), 1395–1403, **2006**.
- Robertson, H. M., Kent, L. B., Evolution of the gene lineage encoding the carbon dioxide receptor in insects, *Journal of Insect Science*, 9 (19), 19, **2009**.
- Robertson, H. M., Gadau, J., Wanner, K. W., The insect chemoreceptor superfamily of the parasitoid jewel wasp *Nasonia vitripennis*, *Insect Molecular Biology*, 19, 121–136, **2010**.
- Robertson, H. M., Molecular evolution of the major arthropod chemoreceptor gene families, *Annual Review of Entomology*, 64, 227–242, **2019**.
- Robinson, M. D., McCarthy, D. J., Smyth, G. K., edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data, *Bioinformatics*, 26 (1), 139–140, **2010**.
- Rogers, M. E., Sun, M., Lerner, M. R., Vogt, R. G., Snmp-1, a novel membrane protein of olfactory neurons of the silk moth *Antheraea polyphemus* with homology to the CD36 family of membrane proteins, *Journal of Biological Chemistry*, 272 (23), 14792–14799, **1997**.

- Rogers, M. E., Krieger, J., Vogt, R. G., Antennal SNMPS (sensory neuron membrane proteins) of lepidoptera define a unique family of invertebrate CD36-like proteins, *Journal of Neurobiology*, 49 (1), 47–61, **2001**.
- Ruedenauer, F. A., Leonhardt, S. D., Lunau, K., Spaethe, J., Bumblebees are able to perceive amino acids via chemotactile antennal stimulation, *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 205 (3), 321–331, **2019**.
- Rützler, M., Lu, T., Zwiebel, L. J., $G\alpha$ encoding gene family of the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae*, *The Journal of Comparative Neurology*, 499 (4), 533–545, **2006**.
- Saad, R., Cohanin, A. B., Kosloff, M., Privman, E., Neofunctionalization in ligand binding sites of ant olfactory receptors, *Genome Biology and Evolution*, 10 (9), 2490–2500, **2018**.
- Sadd, B. M., Barribeau, S. M., Bloch, G., de Graaf, D. C., Dearden, P., Elsik, C. G., Gadau, J., Grimmeliikhuijzen, C. J. P., Hasselmann, M., Lozier, J. D., Robertson, H. M., Smagghe, G., Stolle, E., Van Vaerenbergh, M., Waterhouse, R. M., Bornberg-Bauer, E., Klasberg, S., Bennett, A. K., Câmara, F. vd., The genomes of two key bumblebee species with primitive eusocial organization, *Genome Biology*, 16 (1), 1–32, **2015**.
- Sakurai, T., Nakagawa, T., Mitsuno, H., Mori, H., Endo, Y., Tanoue, S., Yasukochi, Y., Touhara, K., Nishioka, T., Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (47), 16653–16658, **2004**.
- Sanchez-Bayo, F., Goka, K., Pesticide residues and bees - A risk assessment, *PLoS ONE*, 9 (4), e94482, **2014**.
- Sánchez-Bayo, F., Wyckhuys, K. A. G., Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers, *Biological Conservation*, 232, 8–27, **2019**.
- Sánchez-Gracia, A., Vieira, F. G., Rozas, J., Molecular evolution of the major chemosensory gene families in insects, *Heredity*, 103 (3), 208–216, **2009**.

- Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Nakagawa, T., Vosshall, L. B., Touhara, K., Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels, *Nature*, 452 (7190), 1002–1006, **2008**.
- Scaloni, A., Monti, M., Angeli, S., Pelosi, P., Structural analysis and disulfide-bridge pairing of two odorant-binding proteins from *Bombyx mori*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 266 (2), 386–391, **1999**.
- Shan, S., Wang, S. N., Song, X., Khashaveh, A., Lu, Z. Y., Dhiloo, K. H., Li, R. J., Gao, X. W., Zhang, Y. J., Molecular characterization and expression of sensory neuron membrane proteins in the parasitoid *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae), *Insect Science*, 27 (3), 425–439, **2020**.
- Shanbhag, S., Müller, B., Steinbrecht, R., Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster* 1. Types, external organization, innervation, *Intl J Ins Morph Emb*, 28, 377–397, **1999**.
- Sharkey, M. J., Phylogeny and classification of hymenoptera, *Zootaxa*, 1668, 521–548, **2007**.
- Shimizu, A., Dohzono, I., Nakaji, M., Roff, D. A., Miller, D. G., Osato, S., Yajima, T., Niitsu, S., Utsugi, N., Sugawara, T., Yoshimura, J., Fine-tuned bee-flower Coevolutionary state hidden within multiple pollination interactions, *Scientific Reports*, 4, 1–9, **2014**.
- Silbering, A. F., Rytz, R., Grosjean, Y., Abuin, L., Ramdya, P., Jefferis, G. S. X. E., Benton, R., Complementary function and integrated wiring of the evolutionarily distinct *Drosophila* olfactory subsystems, *Journal of Neuroscience*, 31 (38), 13357–13375, **2011**.
- Simcock, N. K., Wakeling, L. A., Ford, D., Wright, G. A., Effects of age and nutritional state on the expression of gustatory receptors in the honeybee (*Apis mellifera*), *PLoS ONE*, 12 (4), e0175158, **2017**.
- Slone, J., Daniels, J., Amrein, H., Sugar Receptors in *Drosophila*, *Current Biology*, 17 (20), 1809–1816, **2007**.
- Slone, J. D., Pask, G. M., Ferguson, S. T., Millar, J. G., Berger, S. L., Reinberg, D., Liebig, J., Ray, A., Zwiebel, L. J., Functional characterization of odorant receptors

- in the ponerine ant, *Harpegnathos saltator*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114 (32), 8586–8591, **2017**.
- Smadja, C., Shi, P., Butlin, R. K., Robertson, H. M., Large gene family expansions and adaptive evolution for odorant and gustatory receptors in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, *Molecular Biology and Evolution*, 26 (9), 2073–2086, **2009**.
- Smith, A. A., Liebig, J., The evolution of cuticular fertility signals in eusocial insects, *Current Opinion in Insect Science*, 22, 79–84, **2017**.
- Smith, M. D., Wertheim, J. O., Weaver, S., Murrell, B., Scheffler, K., Kosakovsky Pond, S. L., Less is more: An adaptive branch-site random effects model for efficient detection of episodic diversifying selection, *Molecular Biology and Evolution*, 32 (5), 1342–1353, **2015**.
- Snodgrass, R. E., *Anatomy of the honey bee*. Comstock Publishing Association, Ithaca, NY, USA, **1956**.
- Sobolevsky, A. I., Rosconi, M. P., Gouaux, E., X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor, *Nature*, 462 (7274), 745–756, **2009**.
- Sokolinskaya, E. L., Kolesov, D. V., Lukyanov, K. A., Bogdanov, A. M., *Molecular Principles of Insect Chemoreception*, *Acta Naturae*, 12 (3), 81–91, **2020**.
- Sponsler, D., Kallnik, K., Requier, F., Classen, A., Maihoff, A. F., Sieger, J., Steffan-Dewenter, I., Negative relationship between interspecies spatial association and trait dissimilarity, *Oikos*, 3, e08902, **2022**.
- Sprenger, P. P., Menzel, F., Cuticular hydrocarbons in ants (Hymenoptera: Formicidae) and other insects: How and why they differ among individuals, colonies, and species, *Myrmecological News*, 30, 1–26, **2020**.
- Stanley, D. A., Garratt, M. P. D., Wickens, J. B., Wickens, V. J., Potts, S. G., Raine, N. E., Neonicotinoid pesticide exposure impairs crop pollination services provided by bumblebees, *Nature*, 528 (7583), 548–550, **2015**.
- Staton, E., *Hmmer2Go*, **2018**. (<https://github.com/sestaton/HMMER2GO>)
- Steinbrecht, R. A., Are odorant-binding proteins involved in odorant discrimination?, *Chemical Senses*, 21 (6), 719–727, **1996**.

- Stephens, M., False discovery rates: a new deal, *Biostatistics*, 18 (2), 275–294, **2017**.
- Stork, N. E., How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?, *Annual Review of Entomology*, 63, 31–45, **2018**.
- Suh, E., Bohbot, J. D., Zwiebel, L. J., Peripheral olfactory signaling in insects, *Current Opinion in Insect Science*, 6, 86–92, **2014**.
- Sun, L., Gu, S. H., Xiao, H. J., Zhou, J. J., Guo, Y. Y., Liu, Z. W., Zhang, Y. J., The Preferential Binding of a Sensory Organ Specific Odorant Binding Protein of the Alfalfa Plant Bug *Adelphocoris lineolatus* AlinOBP10 to Biologically Active Host Plant Volatiles, *Journal of Chemical Ecology*, 39 (9), 1221–1231, **2013**.
- Takada, T., Sasaki, T., Sato, R., Kikuta, S., Inoue, M. N., Differential expression of a fructose receptor gene in honey bee workers according to age and behavioral role, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 97 (2), 1–9, **2018**.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Molecular Biology and Evolution*, 28 (10), 2731–2739, **2011**.
- Tarazona, S., García, F., Ferrer, A., Dopazo J, Conesa A, NOIseq: a RNA-seq differential expression method robust for sequencing depth biases, *EMBnet. journal*, 17.B, 18–19, **2011**.
- Thakur, M., Bees as pollinators - biodiversity and conservation, *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 2 (1), 1–7, **2012**.
- Trhlin, M., Rajchard, J., Chemical communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.): A review, *Veterinari Medicina*, 56(6), 265–273, **2011**.
- van Breugel, F., Huda, A., Dickinson, M. H., Distinct activity-gated pathways mediate attraction and aversion to CO₂ in *Drosophila*, *Nature*, 564 (7736), 420–424, **2018**.
- Velthuis, H. H. W., Van Doorn, A., A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination, *Apidologie*, 37 (4), 421–451, **2006**.

- Vereecken, N. J., A phylogenetic approach to conservation prioritization for Europe's bumblebees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*), *Biological Conservation*, 206, 21–30, **2017**.
- Vieira, F. G., Rozas, J., Comparative genomics of the odorant-binding and chemosensory protein gene families across the arthropoda: Origin and evolutionary history of the chemosensory system, *Genome Biology and Evolution*, 3 (1), 476–490, **2011**.
- Vogt, R. G., Riddiford, L. M., Pheromone binding and inactivation by moth antennae, *Nature*, 293 (5828), 161–163, **1981**.
- Vogt, R. G., Biochemical diversity of odor detection-14: OBPs, ODEs and SNMPs, *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*, 391–445, **2003**.
- Vogt, R. G., Miller, N. E., Litvack, R., Fandino, R. A., Sparks, J., Staples, J., Friedman, R., Dickens, J. C., The insect SNMP gene family, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39 (7), 448–456, **2009**.
- von Frisch, K., Frisch, K., The dance language and orientation of bees. Harvard University Press, Cambridge, **1967**.
- Wanner, K. W., Nichols, A. S., Walden, K. K. O., Brockmann, A., Luetje, C. W., Robertson, H. M., A honey bee odorant receptor for the queen substance 9-oxo-2-decenoic acid, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (36), 14383–14388, **2007**.
- Wanner, K. W., Robertson, H. M., The gustatory receptor family in the silkworm moth *Bombyx mori* is characterized by a large expansion of a single lineage of putative bitter receptors, *Insect Molecular Biology*, 17 (6), 621–629, **2008**.
- Waterhouse, R. M., Seppey, M., Simao, F. A., Manni, M., Ioannidis, P., Klioutchnikov, G., Kriventseva, E. V., Zdobnov, E. M., BUSCO applications from quality assessments to gene prediction and phylogenomics, *Molecular Biology and Evolution*, 35 (3), 543–548, **2017**.
- Wenner, A. M., Wells, P. H., Johnson, D. L., Honey bee recruitment to food sources: olfaction or language?, *Science*, 164 (3875), 84–86, **1969**.
- Wertheim, J. O., Murrell, B., Smith, M. D., Pond, S. L. K., Scheffler, K., RELAX: Detecting relaxed selection in a phylogenetic framework, *Molecular Biology and Evolution*, 32 (3), 820–832, **2015**.

- Wicher, D., Schäfer, R., Bauernfeind, R., Stensmyr, M. C., Heller, R., Heinemann, S. H., Hansson, B. S., *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels, *Nature*, 452 (7190), 1007–1011, **2008**.
- Wickham, H., Chang, W., Package *ggplot2*: An Implementation of the Grammar of Graphics, **2016**.
- Williams, P., Does specialization explain rarity and decline among British bumblebees? A response to Goulson et al., *Biological Conservation*, 122 (1), 33–43, **2005**.
- Williams, P. H., A preliminary cladistic investigation of relationships among the bumble bees (Hymenoptera, Apidae), *Systematic Entomology*, 10 (2), 239–255, **1985**.
- Williams, P. H., An annotated checklist of bumble bees with an analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini), *Bulletin of The Natural History Museum Entomology Series*, 67 (1), 79–152, **1998**.
- Williams, P. H., Osborne, J. L., Bumblebee vulnerability and conservation world-wide, *Apidologie*, 40 (3), 367–387, **2009**.
- Williams, P. P. H., Cameron, S. A. S., Hines, H. M. H., Cederberg, B., Rasmont, P., A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*), *Apidologie*, 39 (1), 46–74, **2008**.
- Wood, T. J., Ghisbain, G., Rasmont, P., Kleijn, D., Raemakers, I., Praz, C., Killewald, M., Gibbs, J., Bobiwash, K., Boustani, M., Martinet, B., Michez, D., Global patterns in bumble bee pollen collection show phylogenetic conservation of diet, *Journal of Animal Ecology*, 90 (10), 2421–2430, **2021**.
- Wright, G. A., Mustard, J. A., Simcock, N. K., Ross-Taylor, A. A. R., McNicholas, L. D., Popescu, A., Marion-Poll, F., Parallel reinforcement pathways for conditioned food aversions in the honeybee, *Current Biology*, 20 (24), 2234–2240, **2010**.
- Wu, C., Jordan, M. D., Newcomb, R. D., Gemmell, N. J., Bank, S., Meusemann, K., Dearden, P. K., Duncan, E. J., Grosser, S., Rutherford, K., Gardner, P. P., Crowhurst, R. N., Steinwender, B., Tooman, L. K., Stevens, M. I., Buckley, T. R., Analysis of the genome of the New Zealand giant collembolan (*Holacanthella duospinosa*) sheds light on hexapod evolution, *BMC Genomics*, 18 (1), 1–19, **2017**.

- Xu, J., Strange, J. P., Welker, D. L., James, R. R., Detoxification and stress response genes expressed in a western North American bumble bee, *Bombus huntii* (Hymenoptera: Apidae), *BMC Genomics*, 14, 1–13, **2013**.
- Xu, P., Atkinson, R., Jones, D. N. M., Smith, D. P., *Drosophila* OBP LUSH is required for activity of pheromone-sensitive neurons, *Neuron*, 45 (2), 193–200, **2005**.
- Xu, W., Anderson, A., Carbon dioxide receptor genes in cotton bollworm *Helicoverpa armigera*, *Science of Nature*, 102 (3–4), **2015**.
- Xu, W., Papanicolaou, A., Zhang, H. J., Anderson, A., Expansion of a bitter taste receptor family in a polyphagous insect herbivore, *Scientific Reports*, 6, 1–10, **2016**.
- Xu, W., Liu, N., Liao, Y., Anderson, A., Bell, J., Molecular characterization of sugar taste receptors in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*, *Genome*, 60 (12), 1037–1044, **2017**.
- Xu, W., How do moth and butterfly taste?—Molecular basis of gustatory receptors in Lepidoptera, *Insect Science*, 27 (6), 1148–1157, **2020**.
- Yang, S., Cao, D., Wang, G., Liu, Y., Identification of Genes Involved in Chemoreception in *Plutella xylostella* by Antennal Transcriptome Analysis, *Scientific Reports*, 7 (1), 1–16, **2017**.
- Yang, Y., Krieger, J., Zhang, L., Breer, H., The olfactory co-receptor Orco from the migratory locust (*Locusta migratoria*) and the desert locust (*Schistocerca gregaria*): Identification and expression pattern, *International Journal of Biological Sciences*, 8 (2), 159–170, **2012**.
- Yang, Z., Nielsen, R., Codon-substitution models for detecting molecular adaptation at individual sites along specific lineages, *Molecular Biology and Evolution*, 19 (6), 908–917, **2002**.
- Yao, C. A., Ignell, R., Carlson, J. R., Chemosensory coding by neurons in the coeloconic sensilla of the *Drosophila* antenna, *Journal of Neuroscience*, 25 (37), 8359–8367, **2005**.
- Ye, J., Zhang, Y., Cui, H., Liu, J., Wu, Y., Cheng, Y., Xu, H., Huang, X., Li, S., Zhou, A., Zhang, X., Bolund, L., Chen, Q., Wang, J., Yang, H., Fang, L., Shi, C., WEGO 2.0: A web tool for analyzing and plotting GO annotations, 2018 update, *Nucleic Acids Research*, 46 (W1), W71–W75, **2018**.

- Zhang, H., Xu, W., Chen, Q., Sun, L., Anderson, A., Xia, Q., Papanicolaou, A., Functional characterization of sensory neuron membrane proteins (SNMPs), *BioRxiv*, 262154, **2013**.
- Zhang, H. J., Xu, W., Chen, Q. mei, Sun, L. N., Anderson, A., Xia, Q. Y., Papanicolaou, A., A phylogenomics approach to characterizing sensory neuron membrane proteins (SNMPs) in Lepidoptera, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 118, 103313, **2020**.
- Zhang, J., Liu, Y., Walker, W. B., Dong, S. L., Wang, G. R., Identification and localization of two sensory neuron membrane proteins from *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), *Insect Science*, 22 (3), 399–408, **2015**.
- Zhang, J., Bisch-Knaden, S., Fandino, R. A., Yan, S., Obiero, G. F., Grosse-Wilde, E., Hansson, B. S., Knaden, M., The olfactory coreceptor IR8a governs larval feces-mediated competition avoidance in a hawkmoth, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116 (43), 21828–21833, **2019**.
- Zhang, Y. V., Ni, J., Montell, C., The molecular basis for attractive salt-taste coding in *Drosophila*, *Science*, 340 (6138), 1334–1338, **2013**.
- Zhang, X., Shang, Y., Ren, L., Qu, H., Zhu, G., Guo, Y., A Study of Cuticular Hydrocarbons of All Life Stages in *Sarcophaga peregrina* (Diptera: Sarcophagidae), *Journal of medical entomology*, 59 (1), 108–119, **2022**.
- Zhao, Y. J., Li, G. C., Zhu, J. Y., Liu, N. Y., Genome-based analysis reveals a novel SNMP group of the Coleoptera and chemosensory receptors in *Rhaphuma horsfieldi*, *Genomics*, 112 (4), 2713–2728, **2020**.
- Zhou, J. J., He, X. L., Pickett, J. A., Field, L. M., Identification of odorant-binding proteins of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*: Genome annotation and comparative analyses, *Insect Molecular Biology*, 17 (2), 147–163, **2008a**.
- Zhou, J. J., Odorant-binding proteins in insects, *Vitamins and Hormones*, 83, 241–272, **2010**.
- Zhou, S. H., Zhang, J., Zhang, S. G., Zhang, L., Expression of chemosensory proteins in hairs on wings of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae), *Journal of Applied Entomology*, 132 (6), 439–450, **2008b**.

- Zhou, X., Slone, J. D., Rokas, A., Berger, S. L., Liebig, J., Ray, A., Reinberg, D., Zwiebel, L. J., Phylogenetic and Transcriptomic Analysis of Chemosensory Receptors in a Pair of Divergent Ant Species Reveals Sex-Specific Signatures of Odor Coding, *PLoS Genetics*, 8 (8), e1002930, **2012**.
- Zhou, X., Rokas, A., Berger, S. L., Liebig, J., Ray, A., Zwiebel, L. J., Chemoreceptor evolution in Hymenoptera and its implications for the evolution of eusociality, *Genome Biology and Evolution*, 7 (8), 2407–2416, **2015**.
- Zhou, Y., Zhu, J., Tong, T., Wang, J., Lin, B., Zhang, J., A statistical normalization method and differential expression analysis for RNA-seq data between different species, *BMC Bioinformatics*, 20 (1), 1–10, **2019**.
- Zhu, J., Iovinella, I., Dani, F. R., Pelosi, P., Wang, G., Chemosensory proteins: a versatile binding family. In *Olfactory concepts of insect control-alternative to insecticides*, Picimbon, J. F. (Eds),. Springer, Cham, 147-169, **2019**.

EKLER

EK 1 – Koku reseptörlerine (OR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri

OR	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx				Yerel kütüphane blastp					
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	İsim	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)
BsorORCO	480	tam	XP_033199103.1	ORCO	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	892	0,00E+00	96,87	BtORCO	909	0,00E+00	96,5
BsorOr1	427	tam	XP_020724018.1	Or67c-like	<i>B. terrestris</i>	790	0,00E+00	97,04	BtOr1	778	2,60E-288	97,0
BsorOr2	433	tam	XP_033352093.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	860	0,00E+00	96,30	BtOr2	768	2,20E-284	95,8
BsorOr4	405	tam	XP_033352086.1	Or2-like	<i>B. vosnesenskii</i>	665	0,00E+00	90,35	BtOr4	723	7,10E-267	93,8
BsorOr5	399	tam	XP_033302009.1	Or4-like	<i>B. bifarius</i>	761	0,00E+00	96,48	BtOr5	754	2,00E-279	96,7
BsorOr7	402	tam	XP_033174387.1	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	793	0,00E+00	96,01	BtOr7	751	7,50E-278	96,5
BsorOr9	410	tam	XP_003484574.1	Or85f-like	<i>B. impatiens</i>	825	0,00E+00	96,58	BtOr9	753	9,60E-279	93,1
BsorOr10	403	tam	XP_033301952.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	763	0,00E+00	95,27	BtOr10	753	1,60E-278	94,9
BsorOr12	413	tam	XP_020722344.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	814	0,00E+00	96,35	BtOr12	777	4,20E-288	96,4
BsorOr13	406	tam	XP_020723934.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	743	0,00E+00	90,12	BtOr13	724	1,90E-267	90,3
BsorOr14	406	tam	XP_003393905.1	Or22c-like	<i>B. terrestris</i>	830	0,00E+00	99,01	BtOr14	796	8,50E-296	99,0
BsorOr15	410	tam	XP_033302052.1	Or4-like	<i>B. bifarius</i>	808	0,00E+00	98,04	BtOr15	778	1,20E-288	98,0
BsorOr18	404	tam	XP_003393999.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	770	0,00E+00	89,83	BtOr18	741	3,20E-274	89,8
BsorOr19	406	tam	XP_033174396.1	Or85c-like	<i>B. impatiens</i>	731	0,00E+00	86,42	BtOr19	752	2,90E-278	94,6
BsorOr20	381	5'eksik	XP_003393910.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	743	0,00E+00	95,53	BtOr20	726	1,20E-268	95,5
BsorOr21	405	tam	XP_012246636.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	806	0,00E+00	96,53	BtOr21	745	8,20E-276	95,8
BsorOr25	410	tam	XP_033191774.1	Or4-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	823	0,00E+00	96,33	BtOr25	774	8,10E-287	95,6
BsorOr27	406	tam	XP_003393913.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	761	0,00E+00	98,27	BtOr27	764	5,40E-283	98,3
BsorOr29	406	tam	XP_033352076.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	737	0,00E+00	95,13	BtOr29	770	2,80E-285	94,8
BsorOr30	435	tam	XP_033352124.1	Or83a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	779	0,00E+00	95,85	BtOr30FIX	782	1,50E-289	95,6
BsorOr32	408	tam	XP_003394005.1	Or22c-like	<i>B. terrestris</i>	818	0,00E+00	96,07	BtOr32	795	2,90E-295	96,1
BsorOr33	407	tam	XP_003393918.1	Or82a-like	<i>B. terrestris</i>	758	0,00E+00	98,03	BtOr33	807	5,00E-300	98,0

EK 1 – Devam

BsorOr34	411	tam	XP_033302048.1	Or49a-like	<i>B. bifarius</i>	801	0,00E+00	97,80	BtOr34	792	6,00E-294	97,3
BsorOr35	411	tam	XP_003393921.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	824	0,00E+00	95,85	BtOr35	783	2,80E-290	95,9
BsorOr39	406	tam	XP_003394007.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	816	0,00E+00	96,54	BtOr39	778	8,70E-289	96,5
BsorOr42	411	tam	XP_012175714.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	802	0,00E+00	95,85	BtOr42	793	2,10E-294	95,9
BsorOr44	411	tam	XP_012241397.1	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	741	0,00E+00	85,09	BtOr44	706	5,70E-260	83,9
BsorOr45	442	5'eksik	XP_024223603.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	855	0,00E+00	96,17	BtOr45	798	1,20E-295	96,6
BsorOr46	411	tam	XP_012175609.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	818	0,00E+00	95,37	BtOr46	783	1,90E-290	95,4
BsorOr50	401	tam	XP_033344628.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	774	0,00E+00	96,75	BtOr50	747	1,90E-276	96,3
BsorOr53	421	5'eksik	XP_020722597.1	Or2	<i>B. terrestris</i>	639	0,00E+00	79,08	BtOR53FIX	391	8,5E-219	76,5
BsorOr54	395	tam	XP_033206038.1	Or47a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	768	0,00E+00	95,18	BtOr54FIX	704	9,60E-260	93,4
BsorOr59	256	5'eksik	XP_033346323.1	Or4-like	<i>B. vosnesenskii</i>	266	4,00E-85	97,79	BtOr59	424	1,10E-151	67,6
BsorOr60	373	tam	XP_033319030.1	Or46a-like	<i>B. bifarius</i>	717	0,00E+00	97,04	BtOr60	710	9,00E-263	96,5
BsorOr62	372	tam	XP_033199747.1	Or1-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	718	0,00E+00	98,65	BtOr62FIX	713	5,00E-264	99,2
BsorOr65	358	tam	XP_033175459.1	Or94b-like	<i>B. impatiens</i>	610	0,00E+00	94,35	BtOr65	657	5,10E-242	93,8
BsorOr66	390	tam	XP_033175465.1	Or1-like	<i>B. impatiens</i>	732	0,00E+00	93,33	BtOr66	725	2,70E-268	94,1
BsorOr67	370	3'eksik	XP_033346120.1	Or1-like	<i>B. vosnesenskii</i>	665	0,00E+00	91,33	BtOr67	662	7,90E-244	90,8
BsorOr70	405	tam	XP_033361962.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	770	0,00E+00	94,78	BtOr70	763	9,70E-283	94,8
BsorOr71	409	tam	XP_003401565.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	816	0,00E+00	96,32	BtOr71	795	3,10E-295	96,3
BsorOr72	428	tam	XP_033203188.1	Or30a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	837	0,00E+00	93,91	BtOr72	807	3,60E-299	93,2
BsorOr75	403	5'eksik	KOX69022.1	Or13	<i>Melipona quadrifasciata</i>	552	0,00E+00	71,22	BtOr75FIX	791	7,50E-294	96,5
BsorOr77	357	3'eksik	XP_003494285.1	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	669	0,00E+00	88,52	BtOr77	643	4,10E-236	90,5
BsorOr78	404	tam	XP_003494267.1	Or30a-like	<i>B. impatiens</i>	815	0,00E+00	96,28	BtOr78	792	4,90E-294	96,3
BsorOr82	408	tam	XP_003401521.1	Or4	<i>B. terrestris</i>	779	0,00E+00	92,14	BtOr82	742	3,10E-274	92,1
BsorOr83	409	tam	XP_033203273.1	Or13a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	815	0,00E+00	96,32	BtOr83	780	3,90E-289	97,1
BsorOr84	407	tam	XP_033362120.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	758	0,00E+00	64,09	BtOr84	769	5,70E-285	95,5
BsorOr85	298	3'eksik	XP_003494119.1	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	594	0,00E+00	95,96	BtOr85	565	4,50E-206	94,9
BsorOr87	393	tam	XP_012167489.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	773	0,00E+00	95,15	BtOr87	721	1,40E-266	95,1

EK 1 – Devam

BsorOr92	403	tam	XP_033194244.1	Or9a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	736	0,00E+00	96,27	BtOr92NTE	760	1,60E-281	95,7
BsorOr93	377	3'eksik	XP_033350841.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	684	0,00E+00	95,21	BtOr93	712	4,00E-263	93,9
BsorOr96	299	3'eksik	XP_033307628.1	Or2-like	<i>B. bifarius</i>	587	0,00E+00	94,98	BtOr96FIX	570	4,00E-208	95,0
BsorOr97	402	tam	XP_033186518.1	Or4-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	802	0,00E+00	97,51	BtOr97	770	1,40E-285	96,5
BsorOr98	402	tam	XP_033186598.1	Or67c-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	815	0,00E+00	98,25	BtOr98	771	3,50E-286	96,3
BsorOr99	403	tam	XP_033186599.1	Or92a	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	806	0,00E+00	96,52	BtOr99FIX	784	3,60E-291	98,3
BsorOr101	388	tam	XP_020723334.1	Or85b-like	<i>B. terrestris</i>	739	0,00E+00	96,58	BtOr101	708	9,00E-262	96,6
BsorOr102	385	tam	XP_033362444.1	Or85b-like	<i>B. vosnesenskii</i>	762	0,00E+00	97,14	BtOr102	704	4,40E-260	96,6
BsorOr105	375	tam	XP_033365525.1	Or4-like	<i>B. vosnesenskii</i>	681	0,00E+00	93,07	BtOr105FIX	697	1,20E-257	94,7
BsorOr107	376	tam	XP_020720644.1	Or13a	<i>B. terrestris</i>	740	0,00E+00	95,20	BtOr107	700	7,30E-259	95,2
BsorOr108	278	3'eksik	XP_033199328.1	Or1-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	495	4,00E-173	86,91	BtOr108	513	5,00E-186	94,9
BsorOr109	329	3'eksik	XP_012171435.2	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	577	0,00E+00	97,52	BtOr109	602	2,30E-220	97,5
BsorOr110	439	tam	XP_003401155.2	Or13a	<i>B. terrestris</i>	806	0,00E+00	94,75	BtOr110	809	7,40E-300	94,7
BsorOr111	388	tam	XP_003491416.1	Or13a-like	<i>B. impatiens</i>	735	0,00E+00	94,83	BtOr111	703	1,70E-259	93,5
BsorOr112	424	tam	XP_003393433.2	Or82a-like	<i>B. terrestris</i>	811	0,00E+00	97,40	BtOr112	730	1,60E-269	97,7
BsorOr114	298	5'eksik	XP_003493307.2	Or24a-like	<i>B. impatiens</i>	507	6,00E-178	93,27	BtOr114	553	1,20E-201	94,3
BsorOr115	397	tam	XP_020720570.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	687	0,00E+00	88,13	BtOr115	673	2,60E-247	88,1
BsorOr116	271	3'eksik	XP_020722072.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	501	2,00E-176	93,70	BtOr116	495	1,20E-179	93,7
BsorOr117	374	tam	XP_033201886.1	uncharacterized protein	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	753	0,00E+00	97,59	BtOr117	701	4,40E-259	96,8
BsorOr118	372	tam	XP_020720441.1	Or4	<i>B. terrestris</i>	692	0,00E+00	94,61	BtOr118	701	2,70E-259	94,6
BsorOr119	372	tam	XP_003487314.1	Or85b-like	<i>B. impatiens</i>	738	0,00E+00	96,23	BtOr119	708	6,80E-262	95,4
BsorOr120	381	tam	XP_033343155.1	Or49b-like	<i>B. vosnesenskii</i>	651	0,00E+00	92,37	BtOr120	702	2,70E-259	92,9
BsorOr122	378	tam	XP_012173466.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	709	0,00E+00	93,85	BtOr122	683	3,90E-252	93,9
BsorOr125	378	tam	XP_024224207.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	727	0,00E+00	97,34	BtOr125	705	1,30E-260	95,8
BsorOr129	434	tam	XP_033189867.1	uncharacterized protein	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	871	0,00E+00	96,30	BtOr129NTE	739	9,80E-273	87,8
BsorOr131	392	tam	XP_033314060.1	Or9a-like	<i>B. bifarius</i>	702	0,00E+00	89,95	BtOr131FIX	698	2,30E-257	90,3
BsorOr135	335	3'eksik	XP_033348865.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	579	0,00E+00	90,72	BtOr135NTE	587	3,20E-214	86,2

EK 1 – Devam

BsorOr138	377	3'eksik	XP_033190334.1	uncharacterized protein	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	684	0,00E+00	97,07	BtOr138NTE	714	6,80E-264	97,6
BsorOr139	262	3'eksik	XP_033189987.1	Or9a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	445	8,00E-155	95,28	BtOr139NTE	460	1,50E-165	39,3
BsorOr140	253	5'eksik	XP_033347279.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	439	1,00E-152	92,95	BtOr140	442	1,40E-158	90,5
BsorOr143	392	tam	XP_033347285.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	661	0,00E+00	95,14	BtOr143	626	4,30E-229	84,9
BsorOr144	322	5'eksik	XP_033199955.1	Or13a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	595	0,00E+00	88,40	BtOr144	538	1,40E-195	84,6
BsorOr145	390	tam	XP_020721563.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	564	0,00E+00	94,61	BtOr145	726	1,30E-268	95,1
BsorOr148	391	tam	XP_033364548.1	Or4-like	<i>B. vosnesenskii</i>	767	0,00E+00	97,61	BtOr148	744	1,00E-275	96,9
BsorOr150	389	tam	XP_033175165.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	318	9,00E-105	81,02	BtOr150	642	1,40E-235	84,0
BsorOr155	389	tam	XP_033347552.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	352	0,00E+00	70,52	BtOr155	621	3,40E-227	80,2
BsorOr157	403	tam	XP_043580608.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	575	0,00E+00	91,42	BtOr157INT	619	1,10E-226	80,6
BsorOr158	384	tam	XP_043580607.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	547	0,00E+00	80,86	BtOr158INT	630	6,00E-231	86,2
BsorOr159	401	tam	XP_043580617.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	534	0,00E+00	84,72	BtOr159	624	6,80E-228	85,0
BsorOr160	395	tam	XP_043580630.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	679	0,00E+00	88,83	BtOr160FIX	665	3,00E-244	87,6
BsorOr161	397	tam	XP_012176465.2	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	784	0,00E+00	94,95	BtOr161	738	4,40E-273	94,9
BsorOr162	459	5'eksik	XP_012171977.1	Or13a	<i>B. terrestris</i>	677	0,00E+00	96,67	BtOr162FT	765	1,30E-282	97,1
BsorOr163	422	tam	XP_033202651.1	uncharacterized protein	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	647	0,00E+00	94,55	BtOr163FT	738	1,80E-272	94,8
BsorOr164	338	5'eksik	XP_033354965.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	608	0,00E+00	86,11	BtOr164TRA	561	7,10E-204	86,9
BsorOr167	373	tam	XP_043591762.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	713	0,00E+00	98,12	MquaOR160	476	1,70E-170	66,7
BsorOr168	393	tam	XP_043580612.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	616	0,00E+00	80,87	BtOr156	120	8,40E-32	25,3
BfraORCO	480	tam	XP_003494153.1	ORCO	<i>B. impatiens</i>	931	0,00E+00	97,91	BtORCO	924	0,00E+00	97,7
BfraOr1	413	tam	XP_020724018.1	Or67c-like	<i>B. terrestris</i>	800	0,00E+00	97,57	BtOr1	789	1,20E-292	97,6
BfraOr2	433	tam	XP_033352093.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	871	0,00E+00	97,45	BtOr2	776	2,80E-287	96,8
BfraOr5	399	tam	XP_033302009.1	Or4-like	<i>B. bifarius</i>	750	0,00E+00	95,48	BtOr5	740	6,20E-274	95,5
BfraOr8	402	tam	XP_024220341.1	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	762	0,00E+00	94,01	BtOr8	725	9,70E-268	93,8
BfraOr9	410	tam	XP_003484574.1	Or85f-like	<i>B. impatiens</i>	789	0,00E+00	98,53	BtOr9	762	3,00E-282	94,8
BfraOr10	412	tam	XP_033352137.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	790	0,00E+00	97,57	BtOr10	778	1,40E-288	95,9
BfraOr11	404	tam	XP_033352135.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	818	0,00E+00	98,01	BtOr11	778	1,10E-288	98,3

EK 1 – Devam

BfraOr12	413	tam	XP_020722344.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	819	0,00E+00	96,59	BtOr12	782	4,40E-290	96,6
BfraOr13	406	tam	XP_020723934.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	751	0,00E+00	91,58	BtOr13	742	1,80E-274	91,6
BfraOr14	406	tam	XP_003393905.1	Or22c-like	<i>B. terrestris</i>	829	0,00E+00	98,77	BtOr14	793	9,90E-295	98,8
BfraOr15	283	3'eksik	XP_003393998.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	526	0,00E+00	88,67	BtOr15	529	2,50E-192	88,7
BfraOr18	404	tam	XP_033191681.1	Or67c-like	<i>B. vanouwerensis nearcticus</i>	719	0,00E+00	84,86	BtOr18	682	6,50E-251	84,4
BfraOr19	303	3'eksik	XP_012246637.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	592	0,00E+00	94,67	BtOr19	555	2,10E-202	92,7
BfraOr21	405	tam	XP_012246636.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	808	0,00E+00	97,03	BtOr21	747	2,00E-276	96,3
BfraOr23	395	5'eksik	XP_033191777.1	uncharacterized protein	<i>B. vanouwerensis nearcticus</i>	786	0,00E+00	95,94	BtOr23	748	8,40E-277	95,4
BfraOr24	328	3'eksik	XP_012175705.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	644	0,00E+00	94,50	BtOr24FIX	618	9,10E-227	94,5
BfraOr25	410	tam	XP_033191774.1	Or4-like	<i>B. vanouwerensis nearcticus</i>	833	0,00E+00	97,31	BtOr25	782	5,10E-290	96,6
BfraOr27	406	tam	XP_003393913.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	775	0,00E+00	97,04	BtOr27	761	4,40E-282	97,0
BfraOr28	407	tam	XP_024226621.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	756	0,00E+00	94,49	BtOr28	773	1,30E-286	95,6
BfraOr29	406	tam	XP_033301943.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	750	0,00E+00	97,18	BtOr29	771	6,90E-286	95,3
BfraOr33	407	tam	XP_003393918.1	Or82a-like	<i>B. terrestris</i>	759	0,00E+00	98,77	BtOr33	808	1,70E-300	99,0
BfraOr34	411	tam	XP_033352128.1	Or49a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	836	0,00E+00	98,78	BtOr34	797	4,40E-296	98,3
BfraOr35	412	tam	XP_003393921.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	836	0,00E+00	97,32	BtOr35	797	6,80E-296	97,3
BfraOr36	406	tam	XP_003393920.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	827	0,00E+00	98,02	BtOr36	793	2,00E-294	98,0
BfraOr38	406	tam	XP_033302194.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	751	0,00E+00	90,86	BtOr38FIX	787	4,00E-292	97,3
BfraOr44	410	tam	XP_012175716.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	786	0,00E+00	91,69	BtOr44	754	4,90E-279	91,7
BfraOr45	414	tam	XP_033352069.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	814	0,00E+00	98,06	BtOr45	803	4,10E-298	97,6
BfraOr46	411	tam	XP_012175609.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	812	0,00E+00	95,85	BtOr46	773	1,20E-286	95,9
BfraOr48	393	3'eksik	XP_033177347.1	Or2-like	<i>B. impatiens</i>	716	0,00E+00	92,86	BtOr48	689	1,10E-253	93,4
BfraOr50	411	tam	XP_033344628.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	773	0,00E+00	96,75	BtOr50	751	4,10E-278	96,3
BfraOr51	363	internal	XP_033344625.1	Or9a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	646	0,00E+00	89,47	BtOr51	564	7,00E-205	83,4
BfraOr53	395	tam	XP_033177351.1	Or47a-like	<i>B. impatiens</i>	743	0,00E+00	92,88	BtOr49	631	8,30E-231	81,7

EK 1 – Devam

BfraOr57	393	3'eksik	XP_033344625.1	Or9a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	677	0,00E+00	86,05	BtOr57	656	9,30E-241	90,7
BfraOr59	371	tam	XP_033199754.1	Or46a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	530	0,00E+00	97,60	BtOr59	701	1,70E-259	97,3
BfraOr60	373	tam	XP_033319030.1	Or46a-like	<i>B. bifarius</i>	738	0,00E+00	95,70	BtOr60	706	2,10E-261	95,7
BfraOr62	372	tam	XP_033199747.1	Or1-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	714	0,00E+00	98,38	BtOr62FIX	707	1,40E-261	98,4
BfraOr63	374	tam	XP_012174398.2	Or2a-like	<i>B. terrestris</i>	630	0,00E+00	80,16	BtOr63	640	5,20E-235	83,9
BfraOr64	374	tam	XP_012171125.2	Or46a	<i>B. terrestris</i>	749	0,00E+00	97,59	BtOr64	705	6,60E-261	97,6
BfraOr65	372	tam	XP_033175459.1	Or94b-like	<i>B. impatiens</i>	663	0,00E+00	96,77	BtOr65	702	1,30E-259	95,7
BfraOr66	390	tam	XP_033175465.1	Or1-like	<i>B. impatiens</i>	749	0,00E+00	95,20	BtOr66	741	1,10E-274	95,4
BfraOr71	409	tam	XP_003401565.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	818	0,00E+00	96,08	BtOr71	797	3,80E-296	96,1
BfraOr72	428	tam	XP_020722621.1	Or30a	<i>B. terrestris</i>	820	0,00E+00	92,04	BtOr72	797	3,30E-295	92,0
BfraOr73	411	tam	XP_020722449.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	795	0,00E+00	93,17	BtOr73	758	1,10E-280	93,2
BfraOr75	511	tam	XP_043601328.1	Or13a-like	<i>B. pyrosoma</i>	638	0,00E+00	83,58	BtOr75FIX	753	6,60E-277	95,4
BfraOr76	411	tam	XP_033362101.1	Or13a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	786	0,00E+00	91,95	BtOr76FIX	756	8,90E-280	93,7
BfraOr78	404	tam	XP_003494267.1	Or30a-like	<i>B. impatiens</i>	818	0,00E+00	96,53	BtOr78	788	1,60E-292	96,0
BfraOr79	410	tam	XP_033203184.1	Or4-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	760	0,00E+00	89,00	BtOr79FIX	749	6,50E-277	93,4
BfraOr82	408	tam	XP_003401521.1	Or4	<i>B. terrestris</i>	766	0,00E+00	90,17	BtOr82	727	1,90E-268	90,2
BfraOr87	397	5'eksik	XP_012167489.1	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	768	0,00E+00	95,87	BtOr87	729	7,50E-270	95,9
BfraOr90	369	internal	XP_012167616.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	629	0,00E+00	92,46	BtOr90PSE	634	1,50E-232	93,7
BfraOr92	403	tam	XP_003492337.3	Or9a-like	<i>B. impatiens</i>	735	0,00E+00	96,02	BtOr92NTE	762	2,00E-282	96,2
BfraOr95	409	tam	XP_012167493.1	Or4	<i>B. terrestris</i>	684	0,00E+00	96,51	BtOr95	738	5,40E-273	96,7
BfraOr96	413	tam	XP_033307628.1	Or2-like	<i>B. bifarius</i>	787	0,00E+00	95,15	BtOr96FIX	783	1,60E-290	94,4
BfraOr97	402	tam	XP_003485159.3	Or4-like	<i>B. impatiens</i>	799	0,00E+00	95,76	BtOr97	761	4,60E-282	94,8
BfraOr98	402	tam	XP_033186598.1	Or67c-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	804	0,00E+00	96,26	BtOr98	768	8,30E-285	95,0
BfraOr99	403	tam	XP_033186599.1	Or92a	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	765	0,00E+00	95,52	BtOr99FIX	770	2,20E-285	96,8
BfraOr101	386	tam	XP_020723334.1	Or85b	<i>B. terrestris</i>	743	0,00E+00	97,11	BtOr101	711	5,00E-263	97,1
BfraOr102	385	tam	XP_033362444.1	Or85b-like	<i>B. vosnesenskii</i>	759	0,00E+00	96,61	BtOr102	701	1,00E-258	96,1

EK 1 – Devam

BfraOr103	388	tam	XP_020720864.1	Or22c-like	<i>B. terrestris</i>	709	0,00E+00	96,90	BtOr103	708	1,70E-261	96,9
BfraOr105	359	3'eksik	XP_033365524.1	Or4-like	<i>B. vosnesenskii</i>	660	0,00E+00	92,22	BtOr105FIX	669	8,10E-247	93,9
BfraOr106	387	tam	XP_012168558.1	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	691	0,00E+00	93,52	BtOr106	688	9,10E-254	93,5
BfraOr107	376	tam	XP_024222884.1	Or13a-like	<i>B. impatiens</i>	736	0,00E+00	96,53	BtOr107	705	7,70E-261	95,7
BfraOr108	416	tam	XP_033312420.1	Or1-like	<i>B. bifarius</i>	816	0,00E+00	92,43	BtOr108	726	7,70E-268	91,1
BfraOr109	395	tam	XP_012171435.2	Or13a-like	<i>B. terrestris</i>	680	0,00E+00	95,30	BtOr109	728	2,40E-269	97,2
BfraOr110	387	tam	XP_003401155.2	Or13a	<i>B. terrestris</i>	668	0,00E+00	93,35	BtOr110	683	6,00E-251	93,6
BfraOr111	390	tam	XP_033188216.1	Or13a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	778	0,00E+00	96,92	BtOr111	723	3,20E-267	95,9
BfraOr112	424	tam	XP_003393433.2	Or82a	<i>B. terrestris</i>	815	0,00E+00	98,11	BtOr112	731	4,00E-270	98,2
BfraOr114	401	tam	XP_003493307.2	Or24a-like	<i>B. impatiens</i>	734	0,00E+00	96,75	BtOr114	702	1,20E-258	91,5
BfraOr115	401	tam	XP_033365487.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	769	0,00E+00	92,50	BtOr115	702	1,20E-258	91,5
BfraOr116	378	tam	XP_020722072.1	Or2-like	<i>B. terrestris</i>	708	0,00E+00	95,23	BtOr116	682	1,80E-251	93,4
BfraOr117	356	3'eksik	XP_033201886.1	uncharacterized protein	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	724	0,00E+00	98,03	BtOr117	675	2,40E-249	97,2
BfraOr118	372	tam	XP_020720441.1	Or4	<i>B. terrestris</i>	709	0,00E+00	97,04	BtOr118	721	2,20E-267	97,0
BfraOr119	372	tam	XP_003487314.1	Or85b-like	<i>B. impatiens</i>	748	0,00E+00	97,57	BtOr119	722	1,10E-267	96,8
BfraOr120	381	tam	XP_033343155.1	Or49b-like	<i>B. vosnesenskii</i>	655	0,00E+00	91,84	BtOr120	700	1,50E-258	92,9
BfraOr121	381	tam	XP_003487292.1	Or49b-like	<i>B. impatiens</i>	622	0,00E+00	86,05	BtOr121	676	4,90E-249	90,4
BfraOr122	375	tam	XP_012173466.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	698	0,00E+00	94,39	BtOr122	695	9,20E-257	94,4
BfraOr125	377	5'eksik	XP_024224207.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	762	0,00E+00	98,13	BtOr125	706	3,00E-261	96,3
BfraOr127	429	5'eksik	XP_003402379.2	Or24a-like	<i>B. terrestris</i>	840	0,00E+00	95,79	BtOr127	704	1,70E-259	97,1
BfraOr128	391	5'eksik	XP_020721192.1	Or9a	<i>B. terrestris</i>	738	0,00E+00	88,38	BtOr128NTE	694	5,90E-256	88,4
BfraOr129	397	5'eksik	XP_033189868.1	Or9a-like	<i>B. Vancouverensis nearcticus</i>	815	0,00E+00	98,23	BtOr129NTE	774	3,00E-287	98,2
BfraOr132	411	tam	XP_033314060.1	Or9a-like	<i>B. bifarius</i>	693	0,00E+00	90,64	BtOr132	712	2,30E-262	90,1
BfraOr135	402	tam	XP_020721189.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	695	0,00E+00	88,75	BtOr135NTE	725	6,90E-268	89,3
BfraOr136	402	tam	XP_033314058.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	662	0,00E+00	84,46	BtOr136NTE	696	3,70E-256	87,8
BfraOr137	403	tam	XP_012169044.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	771	0,00E+00	95,75	BtOr137NTE	741	5,30E-274	95,5

EK 1 – Devam

BfraOr138	406	tam	XP_033180583.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	694	0,00E+00	97,95	BtOr138NTE	769	3,70E-285	97,3
BfraOr139	404	tam	XP_033189987.1	Or9a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	674	0,00E+00	93,84	BtOr139NTE	753	1,20E-278	94,5
BfraOr140	391	tam	XP_033310538.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	600	0,00E+00	89,24	BtOr140	702	5,80E-259	92,6
BfraOr141	374	3'eksik	XP_043596067.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	675	0,00E+00	92,23	BtOr141FIX	674	3,70E-248	93,6
BfraOr143	392	tam	XP_033347285.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	738	0,00E+00	96,93	BtOr143	634	3,90E-232	85,9
BfraOr144	392	tam	XP_012247254.2	Or13a-like	<i>B. impatiens</i>	675	0,00E+00	80,51	BtOr144	734	9,90E-272	95,7
BfraOr145	427	tam	XP_020721563.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	606	0,00E+00	96,97	BtOr145	740	2,50E-274	97,1
BfraOr148	340	5'eksik	XP_033364548.1	Or4-like	<i>B. vosnesenskii</i>	665	0,00E+00	97,85	BtOr148	644	5,30E-237	97,1
BfraOr149	391	tam	XP_033364551.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	489	0,00E+00	92,94	BtOr149FIX	725	2,90E-268	95,1
BfraOr150	373	5'eksik	XP_043604625.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	526	0,00E+00	72,26	BtOr151	590	2,70E-215	81,7
BfraOr151	389	tam	XP_043580621.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	416	2,00E-142	84,06	BtOr151	634	2,20E-232	82,2
BfraOr156	397	tam	XP_033175173.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	352	4,00E-117	87,96	BtOr156	668	1,60E-245	87,9
BfraOr157	403	tam	XP_043580608.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	529	0,00E+00	90,10	BtOr157INT	600	6,20E-219	78,9
BfraOr158	384	tam	XP_043580607.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	566	0,00E+00	84,27	BtOr158INT	626	2,80E-229	86,2
BfraOr159	417	tam	XP_043580617.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	550	0,00E+00	79,23	BtOr159	634	1,40E-231	80,5
BfraOr160	395	tam	XP_043580630.1	uncharacterized protein	<i>B. pyrosoma</i>	678	0,00E+00	87,06	BtOr160FIX	681	1,20E-250	89,1
BfraOr161	397	tam	XP_012176465.2	Or4-like	<i>B. terrestris</i>	797	0,00E+00	96,72	BtOr161	747	9,60E-277	96,7
BfraOr162	421	tam	XP_012171977.1	Or13a	<i>B. terrestris</i>	689	0,00E+00	97,50	BtOr162FT	770	4,20E-285	97,8
BfraOr163	417	tam	XP_033202651.1	uncharacterized protein	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	660	0,00E+00	95,82	BtOr163FT	772	8,00E-286	96,2
BfraOr164	435	tam	XP_033176746.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	616	0,00E+00	94,22	BtOr164TRA	654	3,30E-239	86,0
BfraOr167	373	tam	XP_033361879.1	Or22c-like	<i>B. vosnesenskii</i>	714	0,00E+00	98,12	MquaOR160	475	5,00E-170	67,6
BfraOr168	407	5'eksik	XP_012164627.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	614	0,00E+00	92,45	Mqua190	574	2,00E-208	79,1

EK 2 – Tat/Temas reseptörlerine (GR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri

GR	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx					Yerel kütüphane blastp				
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	İsim	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)
BsorGr1	484	tam	XP_020723089.1	GR64f-like	<i>B. terrestris</i>	948	0,00E+00	95,45	BtGr1	820	2,60E-300	95,9
BsorGr2	473	tam	XP_020723090.1	GR64f-like	<i>B. terrestris</i>	917	0,00E+00	95,5	BtGr2	848	5,2E-314	94,0
BsorGr3	334	tam	XP_012173302.1	Gr43a	<i>B. terrestris</i>	508	0,00E+00	92,45	BtGr3FIX	608	9,8E-222	95,2
BsorGr5	418	tam	XP_043514996.1	Gr25b	<i>Frieseomelitta varia</i>	478	3,00E-164	58,77	BtGr5JOI	775	8,00E-287	95,2
BsorGr7	423	tam	XP_003397918.2	GR28b	<i>B. terrestris</i>	716	0,00E+00	86,97	BtGr7	712	5,50E-262	86,8
BsorGr9	402	tam	XP_033346160.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	596	0,00E+00	81,89	BtGr9FIX	674	9,90E-248	85,1
BsorGr11	390	5'eksik	XP_012172381.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	782	0,00E+00	96,67	BterGr11	751	4,90E-278	96,7
BsorGr21	403	tam	XP_020721952.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	363	3,00E-126	84,86	BtGr21	666	2,1E-244	83,8
BsorGr22	452	tam	XP_033302999.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	734	0,00E+00	82,71	BtGr22	739	1,50E-271	84,7
BfraGr1	480	tam	XP_020723089.1	GR64f-like	<i>B. terrestris</i>	945	0,00E+00	95,26	BtGr1	811	1,80E-299	96,3
BfraGr2	468	tam	XP_020723090.1	GR64f-like	<i>B. terrestris</i>	931	0,00E+00	96,57	BtGr2	848	5,2E-314	96,3
BfraGr3	245	tam	XP_012173302.1	Gr43a	<i>B. terrestris</i>	351	3,00E-121	92,06	BtGr3FIX	443	2,4E-158	95,5
BfraGr5	420	3'eksik	XP_043514996.1	GR28-b	<i>Frieseomelitta varia</i>	481	3,00E-165	57,73	BtGr5JOI	758	2,80E-280	91,8
BfraGr6	422	tam	XP_003394407.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	747	0,00E+00	88,54	BtGr6	749	1,10E-276	88,8
BfraGr13	311	tam	XP_020721458.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	572	0,00E+00	96,13	BtGr13	590	1,30E-217	96,1
BfraGr16	393	tam	XP_020721953.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	613	0,00E+00	80,77	BtGr16	633	2,5E-231	86,5
BfraGr21	408	tam	XP_033319185.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	668	0,00E+00	88,28	BtGr21	653	2,80E-239	82,8
BfraGr23	314	3'eksik	XP_033302999.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	476	1,00E-164	84,94	BtGr23	518	1,00E-186	86,9

EK 3 – İyonotropi reseptörlerine (IR) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri

IR	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx				Yerel kütüphane blastp					
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	İsim	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)
BsorIR25a.1	701	tam	XP_033310229.1	Ir25a	<i>B. bifarius</i>	1424	0,00E+00	97,29	BtIR25a.1	1373	0,00E+00	94,0
BsorIR328	685	5'eksik	XP_003395261.3	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	1302	0,00E+00	97,95	BtIR328	1306	0,00E+00	97,8
BsorIR329	388	tam	XP_033308118.1	glutamate receptor U1-like	<i>B. bifarius</i>	740	0,00E+00	94,99	BtIR329	706	7,00E-257	95,7
BsorIR330	575	5'eksik	XP_033356327.1	glutamate receptor 1-like	<i>B. vosnesenskii</i>	1075	0,00E+00	94,31	BtIR330	1040	0,00E+00	93,8
BsorIR331	660	tam	XP_020724047.1	glutamate receptor ionotropic, delta-2-like	<i>B. terrestris</i>	1234	0,00E+00	96,05	BtIR331	1244	0,00E+00	96,1
BsorIR333	477	3'eksik	XP_003397302.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	702	0,00E+00	95,64	BtIR333INT	755	2,00E-278	81,7
BsorIR335	711	tam	XP_033344984.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	1264	0,00E+00	96,06	BtIR335	1327	0,00E+00	93,9
BsorIR336	583	tam	XP_012171984.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	1110	0,00E+00	90,88	BtIR336	1070	0,00E+00	90,9
BsorIR339	629	5'eksik	XP_024224226.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	1131	0,00E+00	94,22	BtIR339	1116	0,00E+00	93,1
BsorIR68a	634	tam	XP_033312478.1	IR21a-like	<i>B. bifarius</i>	1202	0,00E+00	98,50	BtIR68a	1159	0,00E+00	97,8
BsorIR75f.1	652	tam	XP_033205835.1	IR75a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	1264	0,00E+00	97,85	BtIR75f.1	1057	0,00E+00	97,3
BsorIR75f.2	634	tam	XP_033351197.1	IR75a-like	<i>B. vosnesenskii</i>	1210	0,00E+00	92,60	BtIR75f.2	1178	0,00E+00	97,0
BsorIR75f.3	350	tam	XP_020718981.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	661	0,00E+00	95,09	BtIR75f.3	648	3,10E-234	95,1
BsorIR75u	647	tam	XP_012168644.1	glutamate receptor 1	<i>B. terrestris</i>	1191	0,00E+00	94,83	BtIR75u	1203	0,00E+00	94,8
BsorIR76b	546	tam	XP_033320511.1	glutamate receptor ionotropic, delta-2	<i>B. bifarius</i>	1058	0,00E+00	96,15	BtIR76b	1051	0,00E+00	96,3
BsorIR8a	895	tam	XP_003491771.1	IR25a	<i>B. impatiens</i>	1752	0,00E+00	97,87	BtIR8a	1722	0,00E+00	96,4
BsorIR93a	475	5'eksik	XP_020722638.1	IR93a	<i>B. terrestris</i>	986	0,00E+00	98,95	BtIR93a	955	0,00E+00	98,9
BfraIR25a.1	924	tam	XP_033310229.1	IR25a	<i>B. bifarius</i>	1877	0,00E+00	97,40	BtIR25a.1	1808	0,00E+00	94,9
BfraIR25a.2	378	5'eksik	XP_033186003.1	IR25a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	663	0,00E+00	93,63	BtIR25a.2	715	3,90E-263	94,7
BfraIR328	599	tam	XP_003395261.3	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	993	0,00E+00	98,31	BtIR328	1005	0,00E+00	98,3
BfraIR329	646	tam	XP_024221185.1	glutamate receptor U1-like	<i>B. impatiens</i>	1281	0,00E+00	99,0	BtIR329	1169	0,00E+00	92,2
BfraIR330	328	5'eksik	XP_012175690.2	glutamate receptor 1-like	<i>B. terrestris</i>	634	0,00E+00	99,0	BtIR330	606	7,00E-219	93,4
BfraIR331	531	5'eksik	XP_020724047.1	glutamate receptor ionotropic, delta-2-like	<i>B. terrestris</i>	988	0,00E+00	95,85	BtIR331	1005	0,00E+00	95,8
BfraIR332	440	3'eksik	XP_033353047.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	793	0,00E+00	94,08	BtIR332	823	3,20E-305	93,7

EK 3 – Devam

BfraIR333	479	tam	XP_003397302.2	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	728	0,00E+00	94,13	BtIR333INT	740	2,80E-272	80,1
BfraIR335	350	internal	XP_033299049.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	681	0,00E+00	95,91	BtIR335	656	1,80E-236	94,0
BfraIR336	459	tam	XP_033197798.1	uncharacterized protein	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	870	0,00E+00	90,83	BtIR336	842	4,1E-310	90,4
BfraIR339	632	5'eksik	XP_024224226.1	uncharacterized protein	<i>B. impatiens</i>	1136	0,00E+00	93,90	BtIR339	1119	0,00E+00	93,1
BfraIR68a	384	5'eksik	XP_033359195.1	IR21a-like	<i>B. vosmesenskii</i>	779	0,00E+00	99,74	BtIR68a	733	1,70E-266	98,7
BfraIR75f.1	569	5'eksik	XP_033205835.1	IR75a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	1103	0,00E+00	97,89	BtIR75f.1	1016	0,00E+00	97,7
BfraIr75f.3	651	tam	XP_020718981.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	1276	0,00E+00	95,68	BtIr75f.3	1253	0,00E+00	95,7
BfraIR75u	561	3'eksik	XP_012168644.1	glutamate receptor 1	<i>B. terrestris</i>	1035	0,00E+00	94,46	BtIR75u	1057	0,00E+00	94,5
BfraIR76b	546	tam	XP_033320511.1	glutamate receptor ionotropic, delta-2	<i>B. bifarius</i>	1096	0,00E+00	96,70	BtIR76b	1053	0,00E+00	96,5
BfraIR8a	896	tam	XP_003491771.1	IR25a	<i>B. impatiens</i>	1760	0,00E+00	98,32	BtIR8a	1721	0,00E+00	97,0
BfraIR93a	861	5'eksik	XP_020722638.1	IR93a	<i>B. terrestris</i>	1759	0,00E+00	98,02	BtIR93a	1697	0,00E+00	98,0

EK 4 – Koku bağlayıcı proteinlere (OBP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri

OBP	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx				Yerel kütüphane blastp						
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	İsim	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	
BsorOBP1	142	tam	XP_003490621.1	GOBP83a-like	<i>B. impatiens</i>	278	3,00E-94	95,74	BtOBP1JOI	285	1,70E-102	97,9	
BsorOBP2	143	tam	XP_033193956.1	GOBP56d-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	284	2,00E-96	93,66	BtOBP2	275	3,50E-98	93,0	
BsorOBP3	147	tam	XP_033350892.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	265	1,00E-88	97,26	BtOBP3	287	6,20E-103	95,9	
BsorOBP4	149	tam	XP_003397906.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	215	2,00E-69	77,94	BtOBP4	219	1,30E-76	77,9	
BsorOBP5	137	tam	XP_033350897.1	GOBP19d	<i>B. vosnesenskii</i>	259	1,00E-86	92,65	BtOBP5	249	3,70E-88	89,7	
BsorOBP6	143	tam	XP_033304671.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	246	2,00E-81	95,20	BtOBP6JOI	271	8,30E-97	92,3	
BsorOBP9	136	tam	XP_003397885.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	212	4,00E-68	74,07	BtOBP9	212	1,00E-73	74,1	
BsorOBP11	134	tam	XP_003401480.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	261	1,00E-87	93,98	BtOBP11	258	9,20E-92	94,0	
BsorOBP12	137	tam	XP_03494618.1	GOBP56d-like	<i>B. impatiens</i>	276	4,00E-92	97,06	BtOBP12	269	4,30E-96	96,3	
BsorOBP13	133	tam	XP_003401135.1	GOBP83a	<i>B. terrestris</i>	266	2,00E-89	96,21	BtOBP13	265	1,50E-94	96,2	
BsorOBP16	153	tam	XP_003399482.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	271	3,00E-95	84,21	BtOBP16	274	1,5E-97	84,2	
BfraOBP1	142	tam	XP_033187718.1	GOBP83a-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	279	2,00E-94	95,04	BtOBP1JOI	283	2,00E-101	95,7	
BfraOBP2	143	tam	XP_033193956.1	GOBP56d-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	291	2,00E-99	97,89	BtOBP2	282	6,30E-101	97,2	
BfraOBP3	147	tam	XP_033350892.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	266	6,00E-89	97,26	BtOBP3	290	5,30E-104	95,9	
BfraOBP4	135	tam	XP_003397906.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	215	2,00E-69	77,94	BtOBP4	219	1,30E-76	77,9	
BfraOBP5	158	5'eksik	XP_033350897.1	GOBP19d	<i>B. vosnesenskii</i>	264	3,00E-88	93,38	BtOBP5	254	1,10E-89	91,9	
BfraOBP6	143	tam	XP_033304671.1	uncharacterized protein	<i>B. bifarius</i>	254	2,00E-84	96,85	BtOBP6JOI	276	8,60E-99	95,1	
BfraOBP11	111	5'eksik	XP_003401480.1	uncharacterized protein	<i>B. terrestris</i>	184	2,00E-57	89,0	BtOBP11	184	4,70E-63	89,0	
BfraOBP12	137	tam	XP_003494618.1	GOBP56d-like	<i>B. impatiens</i>	268	3,00E-90	94,85	BtOBP12	265	2,10E-94	94,1	
BfraOBP13	133	tam	XP_033344662.1	GOBP56d-like	<i>B. vosnesenskii</i>	235	5,00E-77	95,45	BtOBP13	264	3,10E-94	95,5	
BfraOBP16	153	tam	XP_033354486.1	uncharacterized protein	<i>B. vosnesenskii</i>	281	9,00E-95	92,76	BtOBP16	282	6,60E-101	85,5	

EK 5 – Kemosensör proteinlere (CSP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX ve blastP eşleşmeleri

CSP	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx				Yerel kütüphane blastp					
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)	İsim	Skor	E-değeri	Benzerlik (%)
BsorCSP1	113	3'eksik	XP_003396495.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. terrestris</i>	184	5,00E-58	86,27	BterCSP1M	181	4,10E-62	85,3
BsorCSP2	118	tam	XP_003393718.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. terrestris</i>	237	9,00E-79	99,15	BterCSP2	219	2,90E-77	99,1
BsorCSP4	131	tam	XP_033205514.1	ejaculatory bulb-specific protein 3-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	267	4,00E-90	99,23	BterCSP4	230	4,90E-81	84,6
BsorCSP6	126	tam	XP_003489944.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. impatiens</i>	224	3,00E-79	99,20	BterCSP6	249	1,60E-88	98,4
BsorCSP7	150	tam	XP_033358012.1	ejaculatory bulb-specific protein 3-like	<i>B. vosnesenskii</i>	246	2,00E-81	77,03	MquaCSP3	171	6,10E-57	59,3
BfraCSP1	126	tam	XP_033364412.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. vosnesenskii</i>	233	6,00E-77	89,60	BterCSP1M	228	3,90E-80	87,1
BfraCSP2	118	tam	XP_003393718.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. terrestris</i>	209	2,00E-67	99,15	BterCSP2	217	2,40E-76	99,1
BfraCSP4	131	tam	XP_033205514.1	ejaculatory bulb-specific protein 3-like	<i>B. vancouverensis nearcticus</i>	267	4,00E-90	99,23	BterCSP4	230	4,90E-81	84,6
BfraCSP6	126	tam	XP_003489944.1	ejaculatory bulb-specific protein 3	<i>B. impatiens</i>	226	7,00E-74	100,0	BterCSP6	251	1,40E-89	99,2
BfraCSP7	150	tam	XP_033358012.1	ejaculatory bulb-specific protein 3-like	<i>B. vosnesenskii</i>	246	2,00E-81	77,03	MquaCSP3	171	6,10E-57	59,3

EK 6– Duyusal nöron membran proteinlerine (SNMP) ait dizi bilgisi ve en iyi blastX eşleşmeleri

SNMP	ORF uzunluğu (aa)	ORF bütünlüğü	NCBI Nr veri bankası blastx					Benzerlik (%)
			Erişim Numarası	Açıklama	Tür	Skor	E-değeri	
BsorSNMP1	527	tam	XP_012168192.1	SNMP1	<i>B. terrestris</i>	1031	0,00E+00	94,30
BfraSNMP1	383	3'eksik	XP_012168192.1	SNMP1	<i>B. terrestris</i>	669	0,00E+00	95,83
BfraSNMP2-like	409	3'eksik	XP_020718450.1	SNMP2-like	<i>B. terrestris</i>	793	0,00E+00	95,01

EK 7– Koku bağlayıcı proteinlerde (OBP) SignalP ile tahmin edilen sinyal ve kesim dizilerine ait bilgiler

OBP	Tahmin	SP(Sec/SPI)	Diğer	Kesim bölgesi
BsorOBP1	SP(Sec/SPI)	0,994211	0,005789	CS pos: 22-23. VNA-VP. Pr: 0,9636
BsorOBP2	SP(Sec/SPI)	0,998457	0,001543	CS pos: 22-23. AES-AT. Pr: 0,8378
BsorOBP3	SP(Sec/SPI)	0,990452	0,009548	CS pos: 24-25. TES-KK. Pr: 0,8133
BsorOBP4	SP(Sec/SPI)	0,996596	0,003404	CS pos: 18-19. VIC-DD. Pr: 0,9348
BsorOBP5	SP(Sec/SPI)	0,998241	0,001759	CS pos: 19-20. IQA-DF. Pr: 0,9730
BsorOBP6	SP(Sec/SPI)	0,996224	0,003776	CS pos: 19-20. ARG-MD. Pr: 0,7415
BsorOBP9	SP(Sec/SPI)	0,998506	0,001494	CS pos: 20-21. VTA-DD. Pr: 0,9490
BsorOBP11	SP(Sec/SPI)	0,995731	0,004269	CS pos: 17-18. TLA-FS. Pr: 0,5410
BsorOBP12	SP(Sec/SPI)	0,994533	0,005467	CS pos: 17-18. ALA-LT. Pr: 0,5545
BsorOBP13	SP(Sec/SPI)	0,850104	0,149896	CS pos: 23-24. GKT-DI. Pr: 0,6646
BsorOBP16	SP(Sec/SPI)	0,970763	0,029237	CS pos: 26-27. SHA-KH. Pr: 0,5629
BfraOBP1	SP(Sec/SPI)	0,991741	0,008259	CS pos: 22-23. VNA-VP. Pr: 0,9615
BfraOBP2	SP(Sec/SPI)	0,998742	0,001258	CS pos: 22-23. AES-AT. Pr: 0,8403
BfraOBP3	SP(Sec/SPI)	0,991826	0,008174	CS pos: 24-25. TES-KK. Pr: 0,8256
BfraOBP4	SP(Sec/SPI)	0,996596	0,003404	CS pos: 18-19. VIC-DD. Pr: 0,9348
BfraOBP5	SP(Sec/SPI)	0,998179	0,001821	CS pos: 19-20. IQA-DF. Pr: 0,9730
BfraOBP6	SP(Sec/SPI)	0,994678	0,005322	CS pos: 19-20. VRG-MD. Pr: 0,9496
BfraOBP11	Diğer	0,002629	0,997371	
BfraOBP12	SP(Sec/SPI)	0,995098	0,004902	CS pos: 17-18. ALA-LT. Pr: 0,5607
BfraOBP13	SP(Sec/SPI)	0,986213	0,013787	CS pos: 23-24. GNA-DI. Pr: 0,9523
BfraOBP16	SP(Sec/SPI)	0,951588	0,048412	CS pos: 26-27. SHA-KR. Pr: 0,6186

EK 8– Kemosensör proteinlerde (CSP) SignalP ile tahmin edilen sinyal ve kesim dizilerine ait bilgiler

CSP	Tahmin	SP(Sec/SPI)	Diğer	Kesim bölgesi
BsorCSP1	SP(Sec/SPI)	0,997345	0,002655	CS pos: 16-17. TLA-EK. Pr: 0,8519
BsorCSP2	SP(Sec/SPI)	0,986563	0,013437	CS pos: 21-22. VMA-ES. Pr: 0,6269
BsorCSP4	SP(Sec/SPI)	0,999294	0,000706	CS pos: 21-22. VHS-ED. Pr: 0,976
BsorCSP6	SP(Sec/SPI)	0,999304	0,000696	CS pos: 18-19. VTA-ED. Pr: 0,9249
BsorCSP7	SP(Sec/SPI)	0,98293	0,01707	CS pos: 23-24. ALA-RP. Pr: 0,6388
BfraCSP1	SP(Sec/SPI)	0,992765	0,007235	CS pos: 16-17. NLA-EK. Pr: 0,5807
BfraCSP2	SP(Sec/SPI)	0,990068	0,009932	CS pos: 21-22. VMA-ES. Pr: 0,6346
BfraCSP4	SP(Sec/SPI)	0,999294	0,000706	CS pos: 21-22. VHS-ED. Pr: 0,976
BfraCSP6	SP(Sec/SPI)	0,999304	0,000696	CS pos: 18-19. VTA-ED. Pr: 0,9249
BfraCSP7	SP(Sec/SPI)	0,98293	0,01707	CS pos: 23-24. ALA-RP. Pr: 0,6388

EK 9– Şekil 4.19.’da belirtilen filogenetik ağaç inşasında kullanılan ve NCBI’den alınan dizilere ait erişim bilgileri.

Kod	GenBank Erişim No.	Tür
AcerSNMP1	XP_016917631.1	<i>Apis cerana</i>
AcerSNMP2	XP_016914160.1	<i>Apis cerana</i>
AdorSNMP1	XP_006609952.1	<i>Apis dorsata</i>
AdorSNMP2	XP_006614718.1	<i>Apis dorsata</i>
AfloSNMP1	XP_012339100.1	<i>Apis florea</i>
AfloSNMP2	XP_003694668.1	<i>Apis florea</i>
AmelSNMP1	XP_006562934.1	<i>Apis mellifera</i>
AmelSNMP2	XP_016767241.1	<i>Apis mellifera</i>
BbifSNMP1	XP_033307558.1	<i>Bombus bifarius</i>
BbifSNMP2	XP_033296938.1	<i>Bombus bifarius</i>
BimpSNMP1	XP_033175887.1	<i>Bombus impatiens</i>
BimpSNMP2	XP_033178732.1	<i>Bombus impatiens</i>
BmorSNMP1	NP_001037186.1	<i>Bombyx mori</i>
BmorSNMP2	XP_037870755.1	<i>Bombyx mori</i>
BterSNMP1	XP_012168192.1	<i>Bombus terrestris</i>
BterSNMP2	XP_020718450.1	<i>Bombus terrestris</i>
BvanSNMP1	XP_033193214.1	<i>Bombus vancouverensis nearcticus</i>
BvanSNMP2	XP_033188254.1	<i>Bombus vancouverensis nearcticus</i>
BvosSNMP1	XP_033351531.1	<i>Bombus vosnesenskii</i>
BvosSNMP2	XP_033351759.1	<i>Bombus vosnesenskii</i>
CcalSNMP1	XP_017881173.1	<i>Ceratina calcarata</i>
CcalSNMP2	XP_017881163.1	<i>Ceratina calcarata</i>
CcinSNMP1	XP_015587038.1	<i>Cephus cinctus</i>
CcinSNMP2	XP_015590128.1	<i>Cephus cinctus</i>
DmelSNMP1	AAF55863	<i>Drosophila melanogaster</i>
DmelSNMP2	EU189152	<i>Drosophila melanogaster</i>
HlabSNMP1	XP_017795434.1	<i>Habropoda laboriosa</i>
HlabSNMP2	XP_017796759.1	<i>Habropoda laboriosa</i>
MdemSNMP1	XP_008543234.2	<i>Microplitis demolitor</i>
MdemSNMP2	XP_008549356.1	<i>Microplitis demolitor</i>
MquaSNMP1	KOX80885.1	<i>Melipona quadrifasciata</i>
MquaSNMP2	KOX75036.1	<i>Melipona quadrifasciata</i>
MrotSNMP1	XP_003699727.1	<i>Megachile rotundata</i>
MrotSNMP2	XP_012141978.1	<i>Megachile rotundata</i>
NvitSNMP1	XP_001606602.1	<i>Nasonia vitripennis</i>
NvitSNMP2	XP_016840413.1	<i>Nasonia vitripennis</i>
PcanSNMP1	XP_014608006.1	<i>Polistes canadensis</i>
PcanSNMP2	XP_014614558.1	<i>Polistes canadensis</i>

EK 10– Gen ailelerine ait kladlarda tespit edilen global ω değerleri

OR		GR		IR		OBP		CSP		SNMP	
Klad	ω (dN/dS)	Klad	ω (dN/dS)	Klad	ω (dN/dS)	Klad	ω (dN/dS)	Klad	ω (dN/dS)	Klad	ω (dN/dS)
9-exon	0,42721	GR1	0,11597	IR218	0,40356	OBP1	0,20604	CSP1	0,27575	SNMP1	0,223
A	0,49365	GR2	0,15997	IR25a	0,154	OBP2	0,27587	CSP2	0,16788	SNMP2	0,901
B	0,3025	GR3	0,52121	IR328	0,15771	OBP3	0,27285	CSP4	0,48052		
C	0,31114	GR6	0,55224	IR330	0,34454	OBP4	0,92478	CSP6	0,04194		
E	0,33378	GR7	0,98971	IR331	0,37633	OBP5	0,62509	CSP7	1,17598		
F	0,65809	GR8-9	0,68149	IR332	0,54962	OBP6	0,32126				
G	0,20932	GR11	0,29696	IR333	0,67833	OBP7	0,98339				
H	0,35166	GR12	0,72915	IR334	0,50253	OBP8/OBP9	0,72065				
I	0,50311	GR13	0,62626	IR335	0,43273	OBP10/OBP11/OBP12	0,43102				
J	0,35698			IR336	0,14037	OBP13	0,4814				
K	0,26513			IR337	0,38677	OBP14	0,04822				
L	0,2941			IR68a	0,12257	OBP15	0,68115				
M	0,2542			IR75f	0,13366	OBP16	0,98081				
Orco	0,15196			IR75u	0,22916						
Orphan	0,34703			IR76b	0,29385						
P	0,33499			IR8a	0,14037						
Q	0,18999			IR93a	0,094						
T	0,23608										
V	0,21514										
Z	0,50141										