



Yeni Nesil İnsektisit Flupyradifurone'un *Bombus terrestris* İşçi Arılarının Öğrenme ve Hafıza Davranışına Etkisi

İsmail Yaşhan BULUŞ^{*1}, Ayhan GÖSTERİT²

¹Muş Alparslan Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Hayvansal Üretim ve Teknolojileri Bölümü, 49250, Muş-Türkiye

²Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 32260, Isparta-Türkiye

İsmail Yaşhan BULUŞ, ORCID No: [0000-0003-4418-588X](https://orcid.org/0000-0003-4418-588X), Ayhan GÖSTERİT, ORCID No: [0000-0001-9686-7992](https://orcid.org/0000-0001-9686-7992)

MAKALE BİLGİSİ

ÖZ

Araştırma Makalesi

Sunulan bu çalışma doktora tezinden özetlenmiştir.

Geliş: 10.01.2025

Kabul: 24.03.2025

Anahtar Kelimeler

Bombus arısı
Bombus terrestris
Flupyradifurone
Öğrenme ve hafıza

* Sorumlu Yazar

y.bulus@alparslan.edu.tr

Bu çalışmada, yeni nesil insektisit olarak tanımlanan Flupyradifurone'un (FPF) *Bombus terrestris* işçi arılarının öğrenme ve hafıza yetenekleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, FPF'nin önerilen uygulama dozunu (60 ml/100 L.su) farklı oranlarda (0, 1/100, 1/10, 1/1, 2/1) içeren şeker şurubu ile beslenen arıların öğrenme ve hafıza performansları test edilmiştir. Araştırma kapsamında, işçi arıların lavanta kokusuna klasik koşullandırma yöntemiyle tepkileri ve belirli zaman dilimlerinde hafızalarını test eden uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Bulgulara göre, FPF'ye maruz kalan arıların öğrenme ve hafıza yeteneklerinin önemli ölçüde etkilenmediği belirlenmiştir. Ancak, en yüksek doz uygulanan grupta öğrenme hızının ve hafıza yeteneğinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, FPF'nin nörotoksik etkilerini ve bombus arılarının tarlacılık yeteneklerini olumsuz etkileyebileceğini ortaya koyarak, çevre dostu olarak sunulan insektisitlerin ekolojik risklerini vurgulamaktadır. Çalışma sonuçları, FPF'nin çevresel etkileri üzerine daha kapsamlı araştırmalara duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır.

Effect of Flupyradifurone Insecticides on Memory and Learning Behavior in *Bombus terrestris* Workers

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Research Article

This study is summarized from a doctoral dissertation.

Received : 10.01.2025

Accepted : 24.03.2025

Keywords

Bumblebee
Bombus terrestris
Flupyradifurone
Learning and memory

This study aimed to determine the effects of Flupyradifurone (FPF), identified as a novel insecticide, on the learning and memory abilities of *Bombus terrestris* workers. In the research, the learning and memory performance of workers fed with sugar syrup containing different concentrations of FPF (0, 1/100, 1/10, 1/1, 2/1 of the recommended application dose of 60 ml/100 L water) was tested. The study involved applications that assessed the worker bees' responses to lavender scent through classical conditioning and tested their memory at specific time intervals. The findings revealed that exposure to FPF did not significantly impair the bees' learning and memory abilities. However, the group exposed to the highest concentration demonstrated slower learning rates and reduced memory performance. This study highlights the potential neurotoxic effects of FPF and its negative impact on the foraging abilities of bumblebees, emphasizing the ecological risks of

Lütfen aşağıdaki şekilde atıf yapınız / Please cite this paper as following;

Buluş, İ.Y., Gösterit, A., 2025. Yeni nesil insektisit Flupyradifurone'un *Bombus terrestris* işçi arılarının öğrenme ve hafıza davranışına etkisi, Journal of Animal Science and Products (JASP) 8 (1):1-11. DOI: [10.51970/jasp.1617297](https://doi.org/10.51970/jasp.1617297)

*** Corresponding Author**

y.bulus@alparslan.edu.tr

insecticides marketed as environmentally friendly. The results underscore the need for further comprehensive research on the environmental impacts of FPF.

Giriş

Dünya genelinde tarımsal amaçlı yetiştiriciliği yapılan yaklaşık 300 bitkisel ürünün neredeyse %85'inin tozlaşmasında böcekler rol oynamaktadır. Dünya gıda üretiminin 1/3'üne tekabül eden meyvelerin, sebzelerin, yağlı tohumların, baklagillerin ve yem bitkilerinin tozlaşmasında en etkin böcekler bal arılarıdır (Klein ve ark., 2007; Allsopp ve ark., 2008). *Bombus* arıları bal arılarının ardından en etkili tozlayıcılar olarak kabul edilmektedir. *Bombus* arılarının tozlaşmadaki rolü, özellikle tarım alanlarında verimliliğin artırılmasında kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, *bombus* arıları entansif tarım yapan işletmelerin en vazgeçilmez girdilerinden birisi olarak değerlendirilmektedir (Gösterit ve Erkan, 2021).

Entansif tarımın bir diğer önemli girdisi ise, başta insektisitler olmak üzere pestisitlerdir. FAO (2024)'nın pestisit kullanımı ve ticareti ile ilgili raporuna göre, dünya genelinde 1990 yılında 1.8 milyon ton pestisit tüketilirken, 2022 yılında bu miktar 3.7 milyon tona yükselmiştir. Türkiye'de ise 1990 yılında 29.9 bin ton olan pestisit kullanımı, 2022 yılında 53.5 bin tona çıkmıştır. Pestisitler içerisinde en çok kullanılan bitki koruma ürünleri tarım zararlıları ile savaşmada kullanılan insektisitlerdir. Bu insektisitler içerisinde de en yaygın olanı neonikotinoid grubunda yer alan kimyasallardır. Neonikotinoidler, nikotinik asetilkolin reseptörlerde (nAChR) asetilkolin bağlanma bölgesine bağlanarak, hiper-uyarılmadan uyuşukluk ve felce kadar değişen bir dizi semptoma neden olmaktadır (IRAC, 2024). Neonikotinodlerin arılar üzerindeki olumsuz etkilerine yönelik çalışmalarda, arıların yuva bulma davranışlarının (Stanley ve ark., 2016; Monchanin ve ark., 2019; Keodara ve ark., 2024), hayatta kalma oranlarının (Iwasa ve ark., 2004; Samson-Robert ve ark., 2017; Macias-Macias ve ark., 2020; Buluş ve ark., 2020), beyin ve bağışıklık sistemlerinin (Annoscia ve ark., 2020; Brandt ve ark., 2016; Çakıcı ve ark., 2023a, 2003b), yavru üretimlerinin ve gelişimlerinin (Laycock ve ark., 2012; Morfin ve ark., 2019; Stuligross ve Williams, 2021; Chen ve ark., 2024) olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

Bombus arılarında, tıpkı bal arılarında olduğu gibi, yuvaya nektar ve polen taşıma görevi tarlacı işçi arılar tarafından yerine getirilmektedir (Akçay ve Erkan, 2024). Tarmacı arılar, besin arama faaliyetleri sırasında insektisitlere maruz kalabilmekte ve topladıkları besinlerde de insektisit bulaşığı içerebilmektedir. Nörotoksik etkileri olan bu insektisitler, arıların tarlacılık yeteneklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Arıların bu tarlacılık yeteneği, temel olarak öğrenme ve hafıza işlevlerine dayanmaktadır. Başka bir ifadeyle, öğrenme ve hafıza yeteneği tarlacı işçi arıların besin kaynakları ve yuva yerini öğrenip hatırlayabilmesi, besin ile yuva arasındaki turlarını başarılı bir şekilde tamamlayabilmeleri için gereklidir. Arılarda öğrenme mekanizması, tarlacı işçi arıların bir çiçeğe konduklarında nektar tarafından uyarılan tarsus, anten veya ağız kısımlarındaki tat alma reseptörleri aracılığıyla refleks olarak dillerini uzatmalarıyla başlamaktadır. Bu refleks, nektarın alınmasına olanak sağlarken aynı zamanda çiçek kokularının hafızaya alınmasına yardımcı olmaktadır (Menzel, 1993). Kokuların hafızaya alınması, sonraki tarlacılık faaliyetlerinde çiçeklerin tanınmasında kritik bir rol oynamaktadır.

Arıların öğrenme ve hafıza yeteneklerinin araştırılması amacıyla klasik koşullandırma adı verilen yöntem kullanılmaktadır (Mc Cabe ve ark., 2007; van Nest, 2018). Bu yöntem sayesinde arıların tarlacılık aktivitelerini anlamak ve bu arıları yönlendirerek farklı çiçekleri ziyaret etmelerini sağlamak mümkün olabilmektedir. Ayrıca farklı araştırmacılar bu yöntemle nörotoksik insektisitlere maruz kalan arıların öğrenme ve hafıza yeteneklerini çeşitli deney düzenekleri oluşturarak test etmişlerdir. Bu kapsamda yapılan bazı çalışmalarda, neonikotinoid grubundaki insektisitler dahil yaklaşık 20 pestisit davranışsal etkileri araştırılmıştır (Desneux ve ark., 2007). Arıların akut maruziyeti klasik koşullandırma öncesinde, sırasında veya sonrasında yapılabilmektedir (Decourtye ve ark., 2004). Ancak, uzun süreli maruziyet neonikotinoid bileşikler için daha uygun olup kovan içinde insektisit bulaşığı olan gıda ile beslenen ve yeni yiyecek arama görevlerine başlamış olan arıların durumu ile ilgilidir. İmidacloprid, 5-OH-İmidacloprid ve Acetamiprid ile oral uygulamalardan, Thiamethoxam ile ise topikal uygulamalardan sonra 11 gün hayatta kalan arılarda, öğrenme performanslarının azaldığı görülmüştür (Aliouane ve ark., 2009). PER testi, kimyasal işlemlerin hafıza sürecine nasıl müdahil olabileceğini araştırabilmektedir (Decourtye ve ark., 2004). Acetamiprid'in oral olarak alınmasının uzun süreli hafıza bozukluğuna neden olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (El Hassani ve ark., 2008). Aliouane ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada, Thiamethoxam'a kronik olarak maruz kalan arılardaki (0.1 µg/arı) öğrenme davranışı incelenmiş ve Thiamethoxam'a maruz kalan arılarda, ilk 24 saatte hafızanın zayıfladığı ancak uygulamanın ardından 48. saatte hafızanın düzeldiği ve uzun süreli hafıza bozukluğunun ortadan kalktığı bildirilmiştir. Buluş ve ark. (2024), Acetamiprid etken maddeli insektisit bombus arısı bireylerindeki öğrenme ve hafıza çalışmalarını inceledikleri çalışmada, Acetamiprid etken maddeli neonikotinoid insektisit bombus arısı bireylerinin öğrenme ve hafıza yeteneklerini farklı düzeylerde etkilediğini bildirmişlerdir.

Son yıllarda bazı neonikotinoidlerin kullanımına yönelik Avrupa Birliği'nde ve Amerika'da kısıtlamalar getirilmiştir (Stokstad, 2013; Li ve ark., 2020). Bu kısıtlamalardan kaçınmak ve pazar paylarını korumak isteyen üreticiler, çevreye daha az zarar veren ve “doğa dostu” olarak nitelendirilen alternatif bitki koruma ürünleri üzerine yoğunlaşmışlardır. Bu kapsamda değerlendirilen ürünlerden biri de, doğal bir bileşik olan stemofolinin modifikasyonu ile elde edilen Flupyradifurone (FPF)'dur. FPF, tıpkı neonikotinoidler gibi nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) etki ederek arıların sinir sisteminde olumsuzluklara yol açmaktadır (Nauen ve ark., 2015). Farklı bir kimyasal yapıya sahip olması nedeniyle, bu bileşik butenoloid grubunda sınıflandırılmış ve yeni nesil bir insektisit olarak kullanıma sunulmuştur. Ancak, etki mekanizması neonikotinoidlerle benzer olduğu için hedef dışı organizmalara karşı benzer etkiler göstermesi beklenmektedir. Hesselbach ve Scheiner (2018)'in çalışmasında, FPF'a maruz bırakılan bal arılarının bilişsel performansları ve şeker tatma istekleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, sadece en yüksek doza maruz kalan arıların öğrenme ve iştah performanslarında bir azalma olduğunu göstermiştir. Koku öğrenmesinin test edildiği bir başka çalışmada, *Apis cerena* işçi arı larvaları ve ergin bireyleri, FPF'nin 3 farklı dozuna maruz bırakılarak öğrenme ve hafıza yetenekleri test edilmiştir (Tan ve ark., 2017). Araştırma bulguları incelendiğinde, daha düşük olan doza maruz kalan arılar kontrol grubu ile kıyaslandığında, öğrenme yeteneğinin larva aşamasında %74, ergin halde ise %48 azaldığı bildirilmiştir. Hafıza yeteneklerinin ise yine kontrol grubuna göre larva aşamasında %48, ergin aşamada ise %22 oranında azaldığı bildirilmiştir. FPF'ye kronik olarak maruz bırakılan bal

arılarının tarlacılık performanslarının test edildiği diğer bir araştırmada, FPF'nin maksimum arazi uygulama dozuna tekabül eden doza (yaklaşık 1.0 µg/arı/gün) 10 gün boyunca maruz kalan arıların kontrol grubu işçi arılara göre daha önce tarlacılık faaliyetine çıktığı belirlenmiştir (Hesselbach ve ark., 2020). Siviter ve Muth (2022), FPF'ye akut oral yollardan maruz kalmanın bombus arılarının koku ve renk öğrenme yeteneklerini azalttığını ve maruz kalan arıların besin tüketme konusunda daha isteksiz olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan bir başka çalışmada Gray ve ark. (2024), bombus arılarını bireysel olarak yüksek veya düşük sükröz içerikli FPF'ye maruz bırakmışlar ve sırasıyla karbonhidrat açısından zengin (%50 (w/w) veya fakir (%15 (w/w) diyetler ile beslemişlerdir. Araştırmacıların elde ettikleri bulgulara göre maruziyet sonucunda, sükröze karşı olan isteğin azaldığı ve uzun dönem hafızalarının olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

Flupyradifurone (FPF), çevreye daha az zarar veren bir neonikotinoid alternatifi olarak geliştirilmiş olsa da nikotinik asetilkolin reseptörlerine etki mekanizması benzerliği nedeniyle arılar üzerinde olumsuz etkileri olduğu yönünde bilimsel bulgular söz konusudur. Araştırmalar, FPF'nin bal arılarında öğrenme, hafıza, iştah ve tarlacılık performansını olumsuz etkilediğini ve bombus arılarında koku ve renk öğrenme yeteneklerini azalttığını ortaya koymuştur. Ancak, FPF'nin gerek bal arısı gerekse de bombus arısı üzerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılan öğrenme ve hafıza çalışmalarının sayısının az olması, bu konuda kesin bir yargıya varılmasını zorlaştırmaktadır. Bu çalışma ile, konu hakkında bilimsel bilgi üretilmesine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırma Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü bünyesinde yer alan Arıcılık Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada kimyasal materyal olarak tavsiye dozu 60 mL/100 L su olan Flupyradifurone (FPF) etken maddeli insektisit (Sivanto, Bayer) kullanılmıştır. Araştırmanın arı materyalini oluşturan *Bombus terrestris* kolonileri, üretici ticari bir firmadan temin edilmiştir. Bu çalışma için etik kurul belgesine ihtiyaç yoktur.

Yöntem

Grupların oluşturulması

Çalışmanın planlanması aşamasında yapılan ön çalışmadan elde edilen sonuçlar ve çiftçilerin tarım ilaçlarından beklenen etkiyi garanti etmek amacıyla tavsiye dozunun üzerinde doz uyguladıkları bilgisi birlikte değerlendirilmiş (Özkan ve ark., 2002) ve araştırmada FPF etken maddeli insektisit (Sivanto, Bayer) farklı dozları kullanılarak aşağıdaki 5 farklı grup oluşturulmuştur.

Kontrol: Normal şeker şurubu ile besleme (kontrol grubu)

FPF 1/100: Önerilen uygulama dozunun 1/100'ü oranında FPF içeren şeker şurubu ile besleme

FPF 1/10: Önerilen uygulama dozunun 1/10'u oranında FPF içeren şeker şurubu ile besleme

FPF 1/1: Önerilen uygulama dozunun 1/1'i oranında FPF içeren şeker şurubu ile besleme

FPF 2/1: Önerilen uygulama dozunun 2/1'i oranında (2x) FPF içeren şeker şurubu ile besleme

Her bir grupta 100 adet işçi arı, toplamda ise 500 adet işçi arı kullanılmıştır. Bu işçi arılar rastgele 5 gruba ayrılarak, standart bombus arısı yetiştirme koşullarında 24 saat boyunca yer aldıkları gruba göre FPF etken maddesi içeren 50 brikslik şeker şurubu ile *ad-libitum* beslenmişlerdir.

İşçi arıların elde edilmesi

Çalışma kapsamında 8-12 günlük yaştaki *B. terrestris* işçi arılar materyal olarak kullanılmıştır. Bu amaçla farklı kolonilerden toplanan kuluçka döneminin sonuna yaklaşmış işçi arı pupaları boş yetiştirme kutularına konulmuş ve bu pupaların bakımı için her bir yetiştirme kutusuna yaklaşık 25-30 adet işçi arı ilave edilmiştir. Yeni ergin hale gelen işçi arıların ayırt edilebilmesi için kutulara konulan bakıcı yaşlı işçi arılar ana arı boyama kalemi kullanılarak göğüs bölümlerinden boyanmıştır. Şeker şurubu ve polen ile standart yetiştirme yöntemlerine göre beslenen bu yapay koloniler, 5 gün sonra kontrol edilerek bütün kutulardaki yeni çıkmış genç boyasız işçi arılar alınmış ve bu işçi arılar 7 gün daha ayrı kutularda beslenmiştir (Buluş ve ark., 2020).

Öğrenme ve hafıza çalışmaları

Gruplara ayrılmış işçi arılar, bir süreliğine soğuk hava deposuna konularak (2.5 °C) hareketsiz hale gelmeleri sağlandıktan sonra antenleri, ön ayakları ve ağız parçaları rahatça hareket edecek şekilde özel olarak tasarlanmış arı sabitleme aparatlarına yerleştirilmiştir. Bu aşamada açlık yaşanmaması için çalışmada kullanılan işçi arılara kulak temizleme çöplerine emdirilmiş 50 Brikslik normal (ilaçsız) şeker şurupları ile besleme yapılmıştır. Böylece işçi arılarda olası açlıktan kaynaklanabilecek davranış değişimleri engellenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada, işçi arıların öğrenme ve hafıza testleri için ticari olarak satılan lavanta uçucu yağı kullanılmıştır. Bu aşamalardan sonra, işçi arıların çalışmanın yapılacağı ortama alışmaları ve sakinleşmeleri için bir süre beklenilmiştir. Çalışmada dil uzatma davranışı ile ilgili testler Bitterman ve ark. (1983) tarafından bildirilen protokolün modifiye haliyle gerçekleştirilmiştir (Tan ve ark., 2015). Bu kapsamda, lavanta kokusuna klasik koşullandırma yöntemi ile koşullandırılan her bir birey klasik koşullandırma düzeneğinin önüne konulmuştur. Düzeneğin önüne konulan sabitlenmiş her bir işçi arıya önce 15 saniye boyunca kokusuz hava üflenerek arının etkilenebileceği diğer kokular arının etrafından uzaklaştırılmıştır. Bu işlemi takiben (16. saniye ile 22. saniye arasında) lavanta kokulu hava üflenmiştir. Bu esnada normal şeker şurubuna batırılmış kulak temizleme çöpleri 19. ve 22. saniyeler arasındaki sürede işçi arıların antenlerine dokundurulmuştur. Bu işleme tepki veren yani dilini çıkaran işçi arılara ödül beslemesi yapılmıştır. Bu uygulama 10 dakika arayla 5 kez tekrar edilerek işçi arıların öğrenmesi pekiştirilemeye çalışılmış ve her bir tekrarda dil uzatan arıların sayıları kaydedilmiştir. Öğrenme uygulamaları tamamlandıktan sonra koşullandırılan işçi arıların hafızalarının test edildiği aşamaya geçilmiştir. Hafıza testi uygulamaları, işçi arılara lavanta kokusunun öğretilme işlemleri bittikten sonraki 1., 2., 6. ve 12. saatlerde yapılmış ve lavanta kokusuna tepki veren işçi arı sayıları kaydedilmiştir. Hafıza testi aşamasında öğrenme testi aşamasındaki uygulamaya benzer işlemler yapılmıştır. Ancak öğrenme testinde lavanta kokusu üflendikten sonra ödül beslenmesi yapılırken, hafıza testinde lavanta kokusu üflendikten sonra dil uzatan işçi arılara ödül beslenmesi yapılmamış ve dil uzatan işçi arı sayısı kaydedilmiştir.

İstatistik analiz

Çalışmada kullanılan işçi arıların öğrenme süreleri dikkate alınarak yaşam analizlerinden Kaplan-Meier yaşam analizi uygulanmış ve gruplarda yer alan işçi arıların ortalama öğrenme süreleri tahmin edilmiştir. Grupların tahmin edilen öğrenme süreleri ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde Log-Rank yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

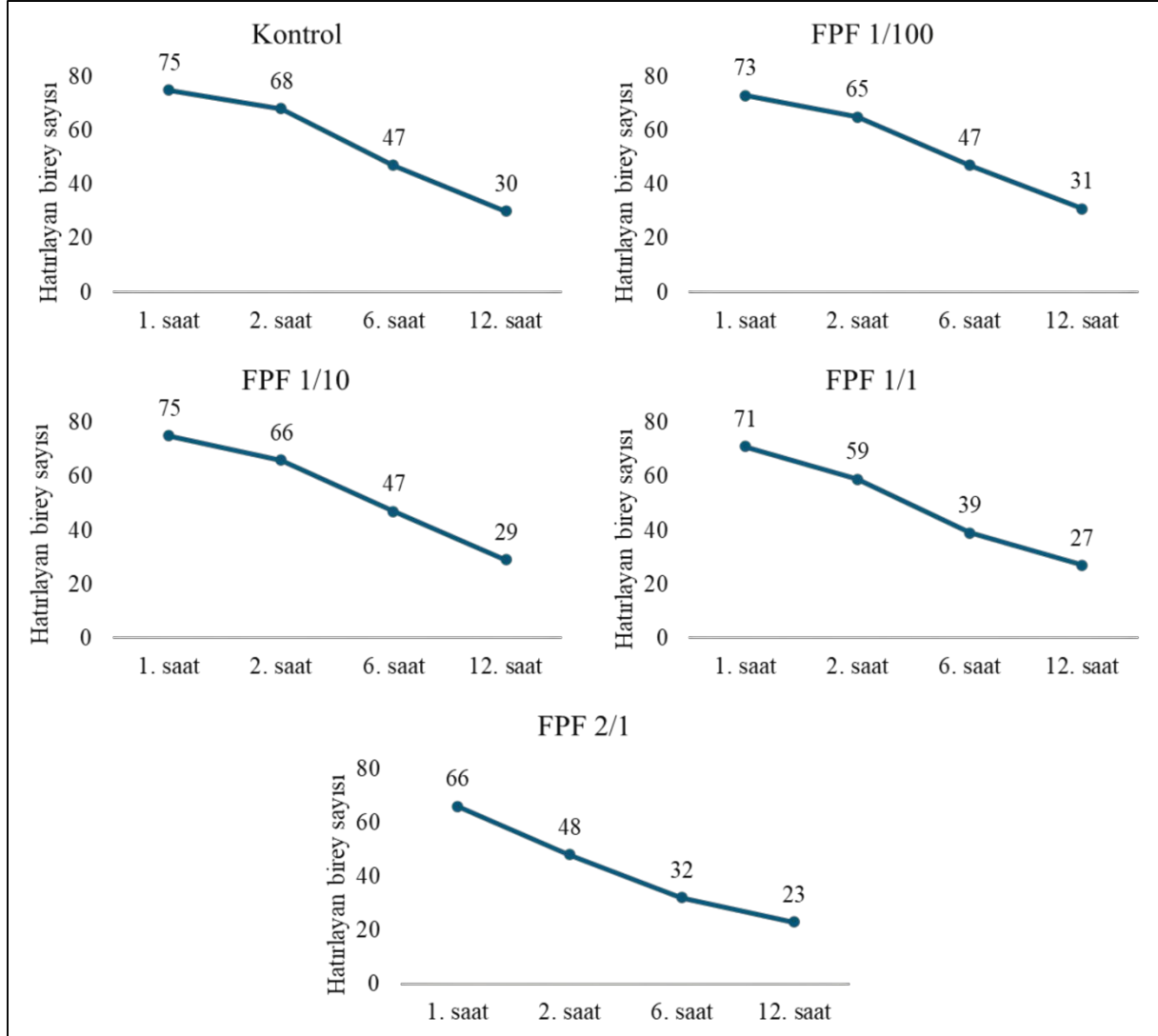
Bombus arılarının bal arılarına göre daha yavaş öğrendiği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ichikawa ve Sasaki, 2003; Laloï ve Pham-Delègue, 2004; Riveros ve Gronenberg, 2009). Ayrıca genç *bombus* arılarının, genç bal arılarından daha hızlı öğrendiği bilinmektedir (Riveros ve Gronenberg, 2009). *Bombus terrestris* türünde işçi arıların erken yaşta tarlacılık faaliyetine katılmaları, öğrenme hızında etken olarak değerlendirilmektedir (Gill ve Raine, 2014). Ayrıca, arıların vücut büyüklüğünün öğrenme performansları ile ilişkili olup olmadığı yönünde görüş ayrılıkları da mevcuttur (Worden ve ark., 2005; Raine ve Chittka 2008; Riveros ve Gronenberg, 2009). Arıların bireysel öğrenme ve hafıza yetenekleri, besin miktarı ve kalitesi, hastalık ve zararlılara maruziyeti, habitat kayıpları, iklim değişikliği ve çevre kirliliği gibi faktörler ve bunların kombine etkilerinden çeşitli şekil ve düzeyde etkilenmektedir (Henry ve ark., 2012; Hendriksma ve Shafir, 2016; Koch ve ark., 2017; Branchiccela ve ark., 2019; Belsky ve Joshi, 2019; Goulson ve Nicholls, 2022). Bunlara ilave olarak, pestisitlerin de arıların öğrenme ve hafıza yeteneklerini olumsuz etkilemesi göz ardı edilemez bir durumdur. Özellikle nörotoksik insektisitler hem bal hem de *bombus* arılarının koku ve görsel öğrenmesini olumsuz etkilemesinin yanı sıra öğrenilen bilginin geri çağırılmasını (hatırlanmasını) da olumsuz etkilemektedir (Tan ve ark., 2017; Hesselbach ve Scheiner, 2018; Siviter ve ark., 2021; Bell ve ark., 2020; Siviter ve Muth, 2022; Paoli ve ark., 2024).

Sunulan çalışmada kullanılan nörotoksik insektisit FPF'nin arazi kullanım dozunu farklı oranlarda içeren (Kontrol (0), 2/1, 1/1, 1/10, 1/100) şeker şuruplarına 24 saat boyunca ad-libitum olarak maruz kalan arıların öğrenme ve hafıza performansı araştırılmıştır. Araştırmada kullanılan bireylerin koşullanması yani öğrenmesi için gerekli tekrar sayıları ile ilgili bulgular Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmadan elde edilen verilere göre, gruplar arasında görülen fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($df=4$, $\chi^2=2,954$, $P=0.566$). Siviter ve Muth (2022) *B. impatiens* arılarının serbestçe hareket edebildikleri bir yöntemle (Free-Moving Proboscis Extension Response (FMPER) dil uzatma davranışlarını inceledikleri çalışmalarında, kullanılan FPF'nin, arıların koku ve renk öğrenmelerini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada, FPF'ye maruz kalan *B. impatiens* arılarının uzun dönem hafızalarının olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Gray ve ark., 2024). Bu çalışmada, literatürdeki diğer bulgularla farklılık gösteren bir sonuca ulaşılmıştır. Bu sonucun kullanılan arı türü ve uygulama yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Öğrenme çalışmalarından sonra hafıza testine tutulan *B. terrestris* işçi arılarının 1., 2., 6. ve 12. saatteki hafıza performansları Şekil 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. FPF'ye maruz kalan *B. terrestris* işçi arılarının koşullandırılması için gerekli tekrar sayıları

Table 1. Number of repetitions required for conditioning *B. terrestris* workers exposed to FPF

Gruplar	N	Ortalama $\pm$ S.H
Kontrol	100	3.90 $\pm$ 0.17
FPF 1/100	100	3.86 $\pm$ 0.18
FPF 1/10	100	3.92 $\pm$ 0.17
FPF 1/1	100	4.12 $\pm$ 0.17
FPF 2/1	100	4.18 $\pm$ 0.17



Şekil 1. Flupyradifurone'nun farklı dozlarına maruz kalan işçi arıların zamana bağlı hafıza performansları (adet)

Figure 2. Time-dependent memory performance of workers exposed to different doses of Flupyradifurone

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada, yeni nesil insektisit Flupyradifurone'un (FPF) *Bombus terrestris* işçi arılarının öğrenme ve hafıza yetenekleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Araştırma

bulguları, FPF'nin önerilen dozlarda kullanılmasının arıların öğrenme ve hafıza performansını önemli ölçüde etkilemediğini göstermiştir. Ancak, önerilen dozun üzerinde FPF uygulamalarında, özellikle en yüksek doz grubunda (FPF 2/1) öğrenme hızı ve hafıza yeteneğinin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Çalışma, FPF'nin bombus arıları üzerindeki nörotoksik etkilerini gösterirken, bu insektisit arıların tarlacılık faaliyetlerini ve ekosistem üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini de ortaya koymaktadır.

Sunulan bu çalışma sonuçlarından FPF'nin çevresel etkileri, farklı arı türleri ve diğer tozlayıcılar üzerindeki uzun vadeli etkileriyle ilgili daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Özellikle yüksek dozlarda, çevresel etkiler göz önünde bulundurularak sınırlandırıcı düzenlemeler yapılması gerekmektedir. Çalışma ile ayrıca, FPF'nin diğer pestisitlerle kombinasyon etkilerini inceleyen çalışmaların yapılması, sinerjistik etkilerinin değerlendirilmesi ve FPF gibi kimyasalların tarımsal uygulamadaki kullanımının, arılar gibi kritik tozlayıcıların yaşam döngüsünü destekleyecek şekilde düzenlenmesi gibi gerekliliklerin önemi vurgulanmaya çalışılmıştır.

Teşekkür

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsünde hazırlanan doktora tezinin bir bölümünü kapsayan bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir (Proje no: 123O208).

Etik Kurul

Bu çalışma için etik kurul belgesine ihtiyaç yoktur.

Kaynaklar

- Akçay, A., Erkan, C., 2024. Bombus Arılarında Polen Tercihi. Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi. 7(2): 112-120.
- Aliouane, Y., El Hassani, A. K., Gary, V., Armengaud, C., Lambin, M., Gauthier, M., 2009. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal. 28(1): 113-122.
- Allsopp, M. H., De Lange, W. J., Veldtman, R., 2008. Valuing insect pollination services with cost of replacement. PloS One. 3(9): e3128.
- Annoscia, D., Di Prisco, G., Becchimanzi, A., Caprio, E., Frizzera, D., Linguadoca, A., Pennacchio, F., 2020. Neonicotinoid Clothianidin reduces honey bee immune response and contributes to Varroa mite proliferation. Nature Communications. 11(1): 5887.
- Bell, H. C., Montgomery, C. N., Benavides, J. E., Nieh, J. C., 2020. Effects of *Nosema ceranae* (Dissociodihaplophasida: Nosematidae) and flupyradifurone on olfactory learning in honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Insect Science. 20(6): 29.
- Belsky, J., Joshi, N. K., 2019. Impact of biotic and abiotic stressors on managed and feral bees. Insects. 10(8): 233.
- Bitterman, M. E., Menzel, R., Fietz, A., Schäfer, S., 1983. Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). Journal of Comparative Psychology. 97(2): 107.

- Branchiccela, B., Castelli, L., Corona, M., Díaz-Cetti, S., Invernizzi, C., Martínez De La Escalera, G., Antúnez, K., 2019. Impact of nutritional stress on the honeybee colony health. *Scientific Reports*. 9(1): 10156.
- Brandt, A., Gorenflo, A., Siede, R., Meixner, M., Büchler, R., 2016. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*. 86: 40-47.
- Buluş, İ. Y., Uzun, A., Demirözer, O., Gösterit, A., 2020. Acetamipridin *Bombus (Bombus terrestris* L.) Arılarında Kuluçka Gelişimi Üzerine Etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*. 15(1): 91-99.
- Buluş, İ. Y., Timuroğlu, S., Gösterit, A., 2024. Neonikotinoid İnsektisitlerin *Bombus (Bombus terrestris* L.) Arısı Bireylerinde Hafıza ve Öğrenme Davranışına Etkisi. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*. 7(1): 30-41.
- Çakıcı, Ö., Uysal, M., Demirözer, O., Gösterit, A., 2023a. Effects of thiamethoxam on brain structure of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) workers. *Chemosphere*. 338: 139595.
- Çakıcı, Ö., Uysal, M., Demirözer, O., & Gösterit, A., 2023b. Sublethal effects of thiamethoxam on immune system cells in the workers of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Environmental Science and Pollution Research*. 30(37): 87424-87432.
- Chen, Y. R., Tzeng, D. T., Lin, S. S., Yang, E. C., 2024. Sublethal imidacloprid administration to honey bee workers is more lethal to the queen larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 43(10): 2232-2242.
- Decourtye, A., Armengaud, C., Renou, M., Devillers, J., Cluzeau, S., Gauthier, M., Pham-Delègue, M. H., 2004. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 78(2): 83-92.
- Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J. M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*. 52(1): 81-106.
- El Hassani, A. K., Dacher, M., Gary, V., Lambin, M., Gauthier, M., Armengaud, C., 2008. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 54: 653-661.
- FAO, 2024. Pesticides use and trade – 1990–2022. FAOSTAT Analytical Briefs, No. 89. Rome.
- Gill, R. J., Raine, N. E., 2014. Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Functional Ecology*. 28(6): 1459-1471.
- Goulson, D., Nicholls, E., 2022. Anthropogenic influences on bee foraging. *Science*. 375(6584): 970-972.
- Gösterit, A., Erkan, C., 2021. Growth characteristics of commercial bumblebee colonies in open field conditions may be evidence for their invasion potential. *Bee Studies*. 13(1): 5-8.
- Gray, L. K., Hulsey, M., Siviter, H., 2024. A novel insecticide impairs bumblebee memory and sucrose responsiveness across high and low nutrition. *Royal Society Open Science*. 11(5): 231798.
- Hendriksma, H. P., Shafir, S., 2016. Honey bee foragers balance colony nutritional deficiencies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 70: 509-517.

- Henry, M., Beguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J. F., Aupinel, P., Decourtye, A., 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*. 336(6079): 348-350.
- Hesselbach, H., Scheiner, R., 2018. Effects of the novel pesticide flupyradifurone (Sivanto) on honeybee taste and cognition. *Scientific Reports*. 8(1): 4954.
- Hesselbach, H., Seeger, J., Schilcher, F., Ankenbrand, M., Scheiner, R., 2020. Chronic exposure to the pesticide flupyradifurone can lead to premature onset of foraging in honeybees *Apis mellifera*. *Journal of Applied Ecology*. 57(3): 609-618.
- Ichikawa, N., Sasaki, M., 2003. Importance of social stimuli for the development of learning capability in honeybees. *Applied Entomology and Zoology*. 38(2): 203-209.
- IRAC, Insecticide Resistance Action Committee. <https://irac-online.org/mode-of-action/classification-online/> Erişim Tarihi: 11.12.2024.
- Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J. T., Roe, R. M., 2004. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*. 23(5): 371-378.
- Keodara, A., Jeker, L., Straub, L., Grossar, D., Müller, J., Christen, V., 2024. Novel fungicide and neonicotinoid insecticide impair flight behavior in pollen foraging honey bees, *Apis mellifera*. *Scientific Reports*. 14(1): 22865.
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Tscharntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 274(1608): 303-313.
- Koch, H., Brown, M. J., Stevenson, P. C., 2017. The role of disease in bee foraging ecology. *Current Opinion in Insect Science*. 21: 60-67.
- Laloi, D., Pham-Delègue, M. H., 2004. Bumble bees show asymmetrical discrimination between two odors in a classical conditioning procedure. *Journal of Insect Behavior*. 17: 385-396.
- Laycock, I., Lenthall, K. M., Barratt, A. T., Cresswell, J. E., 2012. Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). *Ecotoxicology*. 21: 1937-1945.
- Li, Y., Miao, R., Khanna, M., 2020. Neonicotinoids and decline in bird biodiversity in the United States. *Nature Sustainability*. 3(12): 1027-1035.
- Macias-Macias, J. O., Tapia-Rivera, J. C., De la Mora, A., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., Petukhova, T., ..., Guzman-Novoa, E., 2020. *Nosema ceranae* causes cellular immunosuppression and interacts with thiamethoxam to increase mortality in the stingless bee *Melipona colimana*. *Scientific Reports*. 10(1): 17021.
- Menzel, R., 1993. Associative learning in honey bees. *Apidologie*. 24(3): 157-168.
- Mc Cabe, S. I., Hartfelder, K., Santana, W. C., Farina, W. M., 2007. Odor discrimination in classical conditioning of proboscis extension in two stingless bee species in comparison to Africanized honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*. 193: 1089-1099.
- Monchanin, C., Henry, M., Decourtye, A., Dalmon, A., Fortini, D., Bœuf, E., ..., Fourrier, J., 2019. Hazard of a neonicotinoid insecticide on the homing flight of the honeybee depends on climatic conditions and Varroa infestation. *Chemosphere*. 224: 360-368.

- Morfin, N., Goodwin, P. H., Correa-Benitez, A., Guzman-Novoa, E. 2019. Sublethal exposure to clothianidin during the larval stage causes long-term impairment of hygienic and foraging behaviours of honey bees. *Apidologie*. 50: 595-605.
- Nauen, R., Jeschke, P., Velten, R., Beck, M. E., Ebbinghaus-Kintscher, U., Thielert, W., ..., Raupach, G., 2015. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. *Pest Management Science*. 71(6): 850-862.
- Özkan, B., Akçaöz, H. V., Karaman, S., Taşcıoğlu, Y., 2002. Antalya ilinde serada sebze üretiminde pestisit kullanımının ekonomik açıdan değerlendirilmesi. *Bahçe*. 31(1): 9-16.
- Paoli, M., Giurfa, M., 2024. Pesticides and pollinator brain: How do neonicotinoids affect the central nervous system of bees?. *European Journal of Neuroscience*. 60: 5927–5948
- Raine, N. E., Chittka, L., 2008. The correlation of learning speed and natural foraging success in bumble-bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 275(1636): 803-808.
- Riveros, A. J., Gronenberg, W., 2009. Olfactory learning and memory in the bumblebee *Bombus occidentalis*. *Naturwissenschaften*. 96: 851-856.
- Samson-Robert, O., Labrie, G., Chagnon, M., Fournier, V., 2017. Planting of neonicotinoid-coated corn raises honey bee mortality and sets back colony development. *PeerJ*. 5: e3670.
- Siviter, H., Johnson, A. K., Muth, F., 2021. Bumblebees exposed to a neonicotinoid pesticide make suboptimal foraging decisions. *Environmental Entomology*. 50(6): 1299-1303.
- Siviter, H., Muth, F., 2022. Exposure to the novel insecticide flupyradifurone impairs bumblebee feeding motivation, learning, and memory retention. *Environmental Pollution*. 307: 119575.
- Stanley, D. A., Russell, A. L., Morrison, S. J., Rogers, C., Raine, N. E., 2016. Investigating the impacts of field-realistic exposure to a neonicotinoid pesticide on bumblebee foraging, homing ability and colony growth. *Journal of Applied Ecology*. 53(5): 1440-1449.
- Stokstad, E., 2013. Pesticides under fire for risks to pollinators. *Science*. 340: 674–676.
- Stuligross, C., Williams, N. M., 2021. Past insecticide exposure reduces bee reproduction and population growth rate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 118(48): e2109909118.
- Tan, L., Li, Q., Xie, X. S., 2015. Olfactory sensory neurons transiently express multiple olfactory receptors during development. *Molecular Systems Biology*. 11(12): 844.
- Tan, K., Wang, C., Dong, S., Li, X., Nieh, J. C., 2017. The pesticide flupyradifurone impairs olfactory learning in Asian honey bees (*Apis cerana*) exposed as larvae or as adults. *Scientific Reports*. 7(1): 17772.
- van Nest, B. N., 2018. The olfactory proboscis extension response in the honey bee: a laboratory exercise in classical conditioning. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education*. 16(2): A168.
- Worden, B. D., Skemp, A. K., Papaj, D. R., 2005. Learning in two contexts: the effects of interference and body size in bumblebees. *Journal of Experimental Biology*. 208(11): 2045-2053.