



Kafkas Arısı'nda (*Apis mellifera caucasica* G.) Farnesoik Asit O-metiltransferaz Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

Fatmanur Dursun^{1*} , Fatih Bilgi¹ , Cihat Erdem Bülbül¹ , Gamze Nur Atıl Taş¹ ,
Selim Bıyık¹ , Levent Mercan¹ 

ÖZET

Polinasyon aracılığıyla ekosistemin dengesine ve sürdürülebilirliğine önemli katkılar sağlayan bal arıları, aynı zamanda tarımsal üretim açısından yüksek ekonomik değere sahiptir. Morfolojik ve fizyolojik özellikler bakımından diğer bal arısı ırklarından ayrılan Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*, G.), düşük sıcaklıklara kolayca adapte olabilmesi ve üstün kışlama yeteneğine sahip bir bal arısı ırkıdır. Juvenil hormon bal arılarında başkalaşımın kontrol edilmesi, larval gelişim, ergin dişi böceklerde üreme gibi fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol almaktadır. Bu çalışmada juvenil hormon biyosentezinde rol oynayan juvenil hormon esteraz, farnesoik asit O-metiltransferaz, metil farnesoat epoksidaz ve farnesol dehidrogenaz genlerinin çeşitli ekzon bölgelerindeki DNA polimorfizmlerinin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 30 farklı Kafkas arısı kolonisinden alınan örneklerden genomik DNA izole edilmiştir. Kafkas arı ırkında farnesoik asit O-metiltransferaz geninin 111 bp büyüklüğündeki FAMET bölgesinde mutasyon tespit edilmiştir. Juvenil hormon biyosentezinde rol alan farnesoik asit O-metiltransferaz geninde tespit edilen Kafkas arısına özgü fizyolojik ve davranışsal özellikler üzerine etkili olabileceğini düşündürmüştür. Juvenil hormon biyosentezinde görev alan genlerin Kafkas ırkında daha detaylı çalışılmasına gereksinim bulunmaktadır.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

16 Ağustos 2025

Kabul

16 Eylül 2025

ANAHTAR KELİMELER

Biyosentez,
Polimorfizm,
Juvenil hormon,
Kafkas arısı,
PCR-RFLP

Determination of Farnesoic acid O-methyltransferase Gene Polymorphism in Caucasian Bee (*Apis mellifera caucasica*, G.)

ABSTRACT

Honeybees are crucial in maintaining ecosystem balance and sustainability through pollination and providing substantial economic value in agricultural production. The Caucasian honeybee (*Apis mellifera caucasica* G.) differs from other honeybee breeds in morphological and physiological characteristics, is well adapted to low temperatures and exhibits superior overwintering ability. Juvenile hormone (JH) is a key regulator of physiological processes in honeybees, including metamorphosis, larval development, and reproduction in adult females. The present study aimed to identify DNA polymorphisms within exon regions of four genes involved in JH biosynthesis—juvenile hormone esterase, farnesic acid O-methyltransferase (FAMET), methyl farnesoate epoxidase, and farnesol dehydrogenase—using the PCR-RFLP method. Genomic DNA was extracted from 30 Caucasian honeybee colonies for analysis. A mutation was identified in the 111 bp region of the farnesic acid O-methyltransferase gene in the Caucasian honeybee. This gene, which contributes to JH biosynthesis, appeared specific to this subspecies, suggesting a potential role in shaping its physiological and behavioural traits. These findings underscore the need for further detailed investigations into the genes associated with JH biosynthesis in the Caucasian honeybee.

ARTICLE HISTORY

Received

16 August 2025

Accepted

16 September 2025

KEY WORDS

Biosynthesis,
Caucasian bee,
Polymorphism,
Juvenile hormone,
PCR-RFLP

¹ Samsun Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, Samsun / Türkiye.

*Corresponding Author: fatmanurdursun13@gmail.com

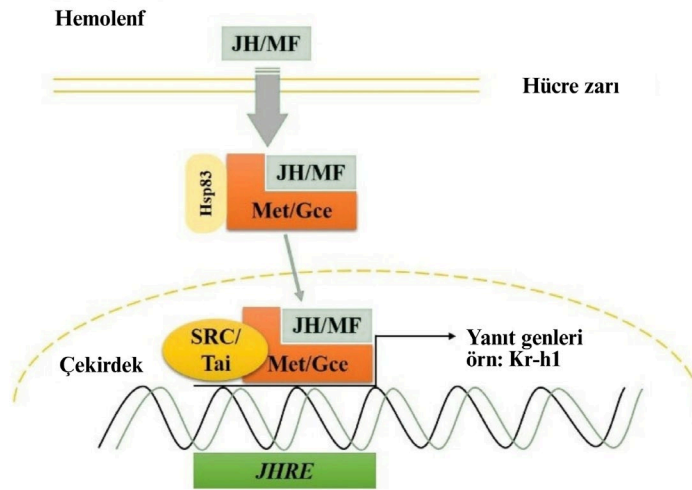
Giriş

Bal arısı (*Apis mellifera* L.); ekolojik dengenin korunmasında, sürdürülebilir tarımsal üretimde ve insanların beslenmesinde, tarıma eşsiz katkılar sunan özel bir böcek türüdür [1, 2]. Sosyal böcekler arasında yer alan bal arıları, beslenme amacı ile bitkilerden nektar ve polen toplarken aynı zamanda bu bitkilerin tozlaşmasını sağlayarak hem tarımsal üretime hem de ekolojik devamlılığa katkı sağlamaktadır [1,3].

Dünyanın en önemli bal arısı ırklarından biri olan Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica* G.); düşük sıcaklıklara kolayca adapte olabilme, üstün kışlama, uzun dil, iri vücut ve yumurtlama süresi gibi farklı morfolojik ve fizyolojik özellikleri ile diğer bal arısı ırklarından ayrılmaktadır [4, 5].

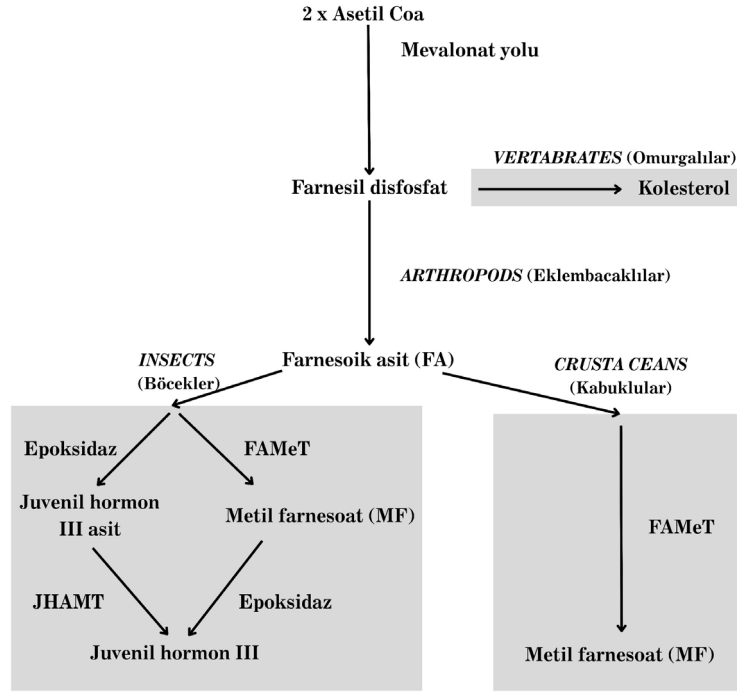
Başkalaşım (metamorfoz) hormonlarından birisi olan juvenil hormon (JH); gelişim, metamorfoz, üreme, sosyal böceklerde iş paylaşımı ve sınıfsal farklılaşma (işçi arı, kraliçe arı) gibi post-embriyonik yaşamın birçok alanında temel olarak yer alan bir endokrin hormondur [6, 7, 8, 9, 10]. Böceklerde JH0, JH1, 4-metil JH1, JH2 ve JH3 gibi farklı homologları bulunan JH'nin, bal arısındaki tek izoformu JH3'tür [6]. JH oranının, bakıcı arılarda düşük toplayıcı arılarda ise yüksek olduğu; ayrıca JH oranında meydana gelen artışın, bal arılarında davranışsal gelişimi desteklemekte ve yiyecek aramayı başlatmakta etkili olduğu gözlemlenmiştir [9,11]. Yapılan çalışmalarda, işçi arılar ve ana arı arasında homolenf içeriğindeki JH oranında farklılıklar olduğu belirlenmiş ve ana arı benzeri karakterlerin gelişiminde JH'nin temel belirleyicilerden biri olduğu iddia edilmiştir [3, 6, 12, 13]. Genel olarak ergin böceklerde JH'nin, üremenin ana düzenleyicileri arasında yer aldığı ve yumurta üretimi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [8, 14]. JH'nin yüksek konsantrasyonunun yüksek yumurta üretimiyle, düşük konsantrasyonunun ise yumurta üretiminin düşüklüğü ve yağ depolamasının artması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [8, 15, 16].

Juvenil hormon III'ün doğrudan öncüsü olan metil farnesoatın (MF) biyosentezinde, farnesoik asidin metilasyonunu katalize eden juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferazın (FAMET) rol oynadığı öne sürülmektedir [17, 18]. Böceklerde gelişim sırasında O-metiltransferaz aktivitesindeki değişimlerin, JH biyosentezinin düzenlenmesinde önemli bir bileşen olduğu vurgulanmaktadır [17]. MF biyosentezinin negatif düzenlenmesinin kısmen FAMET aktivitesinin inhibisyonu yoluyla olduğu belirtilmektedir [17]. Dolayısıyla FAMET aktivitesinin hem JH'nin biyosentezi sürecinde hem de bu sentezin kontrolünde düzenleyici olduğu düşünülmektedir [17]. Arthropoda (eklembacaklılar) şubesine dahil olan bal arılarına ait JH sinyal yolu Şekil 1 ve Şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 1 Eklembacaklılarda seskiterpenoid hormon sinyal yolu [19' dan değiştirilmiştir]

Fig 1 The sesquiterpenoid hormone signaling pathway in arthropods [19, modified]



Şekil 2 Eklem bacaklılar ve omurgalıların seskiterpenoid hormon sistemi şeması [20' den değiştirilmiştir]

Fig 2 Schematic of sesquiterpenoid hormone systems in *arthropods* and *vertebrates* [20, modified]

Mevsimsel olarak değişen JH düzeylerinin; işçi arılarda sonbahar ve kış dönemlerinde azalmaktadır. Sıcaklığın azalmasıyla birlikte karşılaşılan düşük JH düzeyi, metabolizma hızını yavaşlatıp besin ihtiyacını azaltarak Kafkas arısının kışlama yeteneğine katkıda bulunabileceğini bildirilmektedir [21, 22]. Bu çalışmada, Türkiye'nin en önemli genetik kaynaklarından biri olan Kafkas arısında, JH'nin biyosentezinden sorumlu juvenil hormon esterase, metil farnesoat epoksidaz, farnesoal dehidrojenaz ve juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferaz genlerinin birer ekzon bölgesindeki muhtemel tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Örnekleme ve DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan hayvan materyalini, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Arıcılık Araştırma ve Uygulama Ünitesi'nde yetiştiriciliği yapılan Kafkas ırkına ait 30 koloniden alınan işçi arılar oluşturmuştur. Örneklerin genomik DNA izolasyonları, bal arısı için optimize edilmiş olan CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide) protokolü ile yapılmıştır [23]. İzolasyon işlemine kullanılan CTAB tamponunun içeriğinde; 50 mM Tris-HCl, 1 M NaCl (pH: 7.6), 10 mM Na₂EDTA, %2 w/v⁻¹ (ağırlık/hacim) CTAB ve %2 β-merkaptotanol bulunmaktadır. Elde edilen genomik DNA'ların saflık ve miktar tayinleri NanoDrop™ (Thermo Scientific, ABD) cihazı ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

PCR İşlemleri

JH biyosentezinde görev alan metil farnesoat epoksidaz, juvenil hormon esterase, juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferaz ve farnesol dehidrojenaz genlerinin sırasıyla dördüncü, altıncı, yedinci ve birinci ekzonları araştırılmak üzere seçilmiş ve ilgili bölgelere ait nükleotid dizileri NCBI (National Center for Biotechnology Information, ABD)'dan alınmıştır. Çalışılan genlerin NCBI erişim numaraları ve moleküler işlevleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 Çalışmada kullanılan juvenil hormon biyosentezinden sorumlu gen bölgeleri

Table 1 Gene regions responsible for juvenile hormone biosynthesis used in this study

Gen sembolü	Gen ismi (NCBI)	Diğer isimlendirmeler (KEGG veya NCBI)	NCBI erişim numarası (gene ID)	NCBI- protein ID	Moleküler işlevi (KEGG, UniProt)
-------------	-----------------	--	--------------------------------	------------------	----------------------------------

LOC551179	Metil farnesoat epoksidaz	CYP15A	551179	NP_001314895	Metil farnesoat epoksidaz/farnesoat epoksidaz
LOC724216	Juvenil hormon esteraz	Jhe; Est; Dpa; GB15327	406066	NP_001011563	Hidrolaz
LOC551405	Juvenil hormon asit (Farnesoik asit) O-metiltransferaz	jhamt	724216	NP_001314896	Metiltransferaz
LOC725489	Farnesol dehidrojenaz		725489	XP_016773395	Farnesol dehidrojenaz (NADP+)

Primerlerin tasarımı Primer3 programı ile elde edilen NM_001011563.1 erişim numaralı JHE, NC_37648.1 erişim numaralı MFE ve NC_37638.1 erişim numaralı FDH primer dizileri [24] ile Bomtorin ve ark., (2014) [25] tarafından bildirilen NC_37642.1 erişim numaralı FAMET primer dizisi kullanılmıştır. JH biyosentezinden sorumlu gen bölgeleri için tasarlanan primerler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2 Juvenil hormon biyosentezinden sorumlu gen bölgeleri için tasarlanmış primerler

Table 2 Primers designed for gene regions responsible for juvenile hormone biosynthesis

Seri no	Oligo name	Baz dizisi (5'-3')	Baz sayısı	Tm (°C)	GC (%)
20230118-94	NM_0010111563.1 6 Ekzon- JHE F:	TTTAGTATTTAAAATGTC	18	40	17
20230118-95	NM_0010111563.1 6 Ekzon- JHE R:	CATATTTTAAGTCTAAGTTT	20	45	20
20230118-96	NC_37642.1 7 Ekzon- FAMET F:	GTAAAGAAGGTGAGCCAAGTG	21	58	48
20230118-97	NC_37642.1 7 Ekzon- FAMET R:	CGATTAACCATTCACCAGAAG	21	56	43
20230118-98	NC_37648.1 4 Ekzon- MFE F:	ATATAAAGAAGCTAAATTC	19	44	21
20230118-99	NC_37648.1 4 Ekzon- MFE R:	CAACAAGCAAAAAATAAT	18	42	22
20230118-100	NC_37638.1 1 Ekzon- FDH F:	GCTCTCAACCCAGAAAGTGT	20	57	50
20230118-101	NC_37638.1 1 Ekzon- FDH R:	CATTCACATTGCGAAGAGTT	20	53	40

Çalışmada yapılan PCR reaksiyonlarının toplam hacmi 20 µl (4 µl genomik DNA (4 µM) + 1 µl Forward Primer (1 µM) + 1 µl Reverse Primer (1 µM) + 10 µl PCR Master Mix + 4 µl Steril Saf Su = 20 µl) olarak ayarlanmıştır. PCR işlemlerinde kullanılan primerlerin optimum bağlanma sıcaklıkları gradient PCR yöntemi ile belirlenmiştir. Gradient PCR sonrasında elde edilen ürünler yatay agaroz jel elektroforezine tabii tutulmuştur ve görüntülenmiştir, elde edilen jel görüntüsü Şekil 3’te verilmiştir. Yapılan PCR reaksiyonlarının protokolü; 95 °C’de 5 dk süren ilk denatürasyon aşaması, ardından 95 °C’de 30 sn denatürasyon, 40-58 °C’de 30 sn bağlanma ve 72 °C’de 1 dk uzama şeklinde 35 döngüden oluşan bir aşama ve son olarak 72 °C’de 10 dk süren son uzama aşamasından oluşmaktadır.

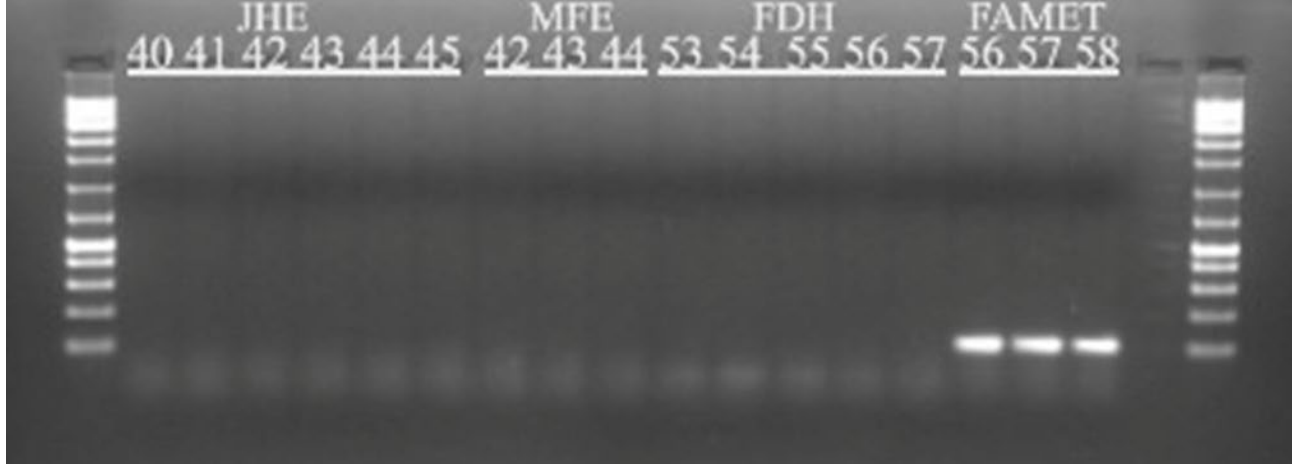
PCR işlemlerinde çoğaltılan DNA fragmentleri, kontrol amaçlı ölçülmek üzere %2’lik agaroz jel kullanılarak yatay elektroforez sisteminde 90 V’ta 120 dakika süreyle yürütülmüştür. Etidyum bromür ile boyanmış olan DNA fragmentleri, bant profillerinin gözlemlenebilmesi için UV transillüminatör (ChemiDoc™ XRS+, 1708265, BioRad) sistemi ile görüntülenmiştir.

Restriksiyon Endonükleaz Enzimleri ile Kesim İşlemleri

Çalışmada kullanılan kolonilere ait Kafkas arısı örnekleri arasındaki DNA polimorfizmini belirlemek için PCR işlemi ile çoğaltılan bölgeler *HhaI*, *HhaII*, *HindIII* ve *HinfI* restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. Reaksiyonun toplam hacmi 30 µl (17 µl Nükleaz Free Water + 2 µl 10X FastDigest Yeşil Tampon + 10 µl genomik DNA (10 µM) + 1 µl FastDigest enzimi = 30 µl) olarak ayarlanmıştır. *HinfI* ile kesilen ürünler daha sonrasında yatay jel elektroforez sistemi kullanılarak agaroz jelde yürütülmüş ve UV transillüminatör cihazı (ChemiDoc™ XRS+, 1708265, BioRad) kullanılarak görüntülenmiştir.

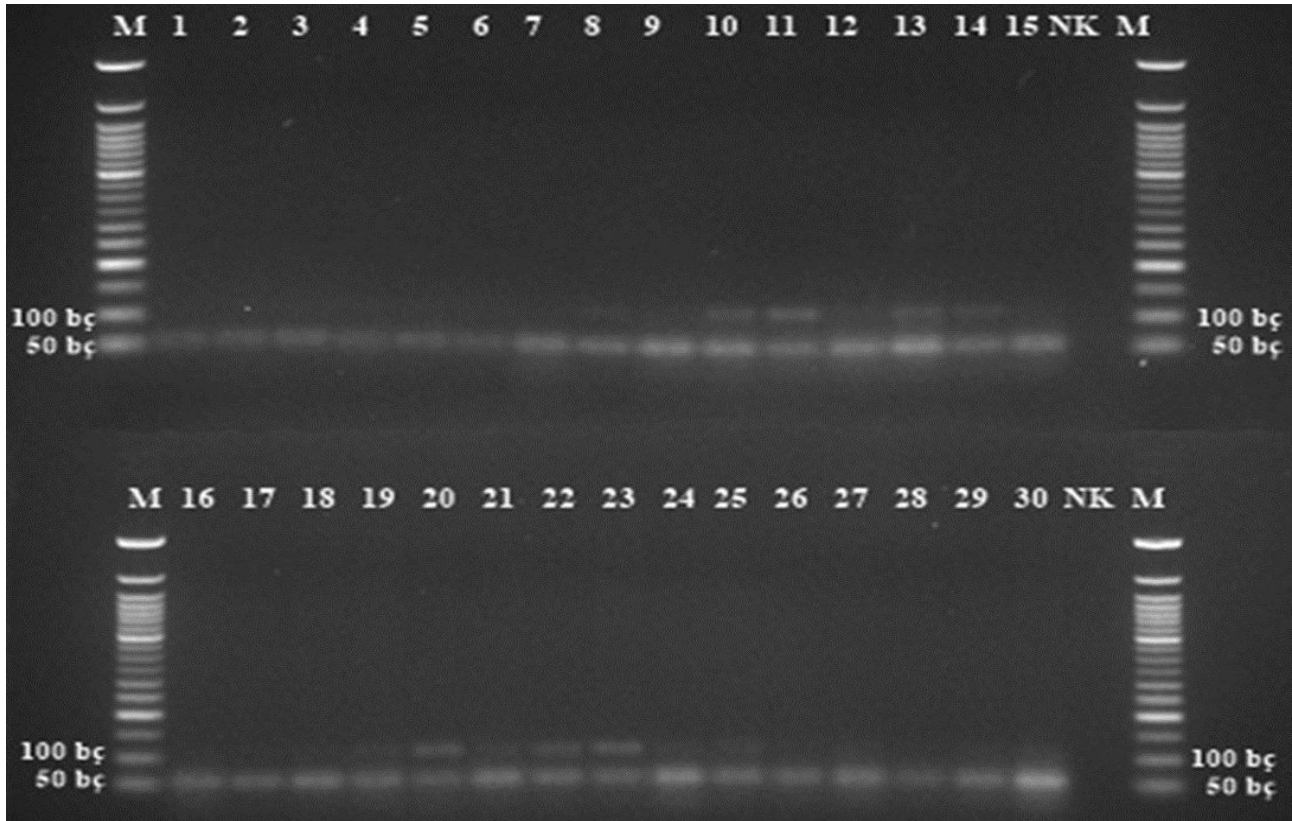
Bulgular

Tekrarlı analizlere rağmen tasarlanan JHE, MFE ve FDH primerleri ile amplifikasyon elde edilememiştir. Juvenil hormon asit (Farnesoik asit) O-metiltransferaz geninin 7. ekzonu için tasarlanan FAMET primeri ile elde edilen ampikon PCR-RFLP çalışmasında kullanılabilir nitelikte olduğu belirlenmiştir. Yapılan gradient PCR işlemlerine ait örnek agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3 Gradient PCR analizine ait örnek bir jel görüntüsü
Fig 3 An example gel image of a gradient PCR analysis

FAMET primeri ile çoğaltılan ekzon bölgesine ait PCR ürünleri seçilmiş restriksiyon enzimler ile kesim işlemine tabi tutulmuş ancak yalnızca *Hin*I enzimi ile kesim yapılabildiği görülmüştür. RFLP analizi sonucunda 50-55 baz çifti aralığında fragmentler elde edilmiştir. Kesim işlemleri sonucunda elde edilen ürünlerine ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4 *Hin*I enzimi ile yapılan kesim işlemlerine ait agaroz jel görüntüsü
Fig 4 Agarose gel image of the digests made with *Hin*I enzyme

Elde edilen bulgular juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferaz geninin 7. ekzonunda polimorfizmik varyantların bulunduğunu göstermektedir.

Tartışma

Juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferazın (FAMET); kofaktör S-adenosil-L-metiyonini kullanarak, farnesoik asidin JH III'ün doğrudan öncüsü olan metil farnesoata metilasyonunu katalize ettiği düşünülmektedir. FAMET'in katalitik aktivitesinin kesin rolü henüz tanımlanmamış olmasına rağmen, JH biyosentetik yolunda hız sınırlayıcı bir adımda etkili olduğu düşünülmektedir [18]. FAMET geninin çok yüksek miktarda ifade edildiği bilinen meyve sineklerinde (*Drosophila* sp.); FAMET geninin ifadesinde olası bir kesinti sonucunda JH III geninin ifadesinde de önemli bir düşüş gözlemlendiği tespit edilmiştir. Lepidoptera familyasında; metil farnesoat üretmek için farnesoik asidin metilasyonu ve ardından gerçekleşen epoksidasyonu yerine, önce JH asidi oluşturmak için epoksidasyon meydana gelir ve ardından oluşan bu ürün JH III'e dönüştürülür [27]. FAMET'in, JH III üretiminde aktif olarak yer aldığı fakat JH III salınımında herhangi bir etkisinin bulunmadığı anlaşılmaktadır. Diğer böceklerde görülen bu durum FAMET yolağına alternatif bir yol önermektedir. Bu nedenle çalışmada FAMET geninde tespit edilen mutasyonun majör etkiye sahip olmadığı söylenebilir ancak bal arılarında FAMET yolağına alternatif bir mekanizma bulunamamıştır. Luo vd. (2022) [27] yaptıkları çalışmada, İtalyan arıları (*Apis mellifera ligustica*, L.) tarafından özel olarak sentezlenen juvenil hormon III (JH III) stereoizomerlerinin bal arılarının sosyal davranışlarının düzenlenmesindeki biyolojik aktivitesini, Batı bal arısı (*Apis mellifera*) ve Doğu bal arısı (*Apis cerana*) türleri üzerinde araştırmışlardır. Yürüttükleri deneylerin sonucunda, bal arılarının sosyal etkileşimlerinin JH III titreleri ile ilişkili ve sosyal yapılarının JH III'ün stereoizomerlerine bağlı olduğunu tespit etmişlerdir [27]. JH III'ün farklı stereoizomerlerinin, bal arılarının etkileşimini (antennasyon ve trofalaksi) moleküler fonksiyonlar ve metabolik yollar aracılığıyla düzenlediğini aktarmışlardır. Bu sürecin, metabolizma ve biyosentez içerisinde bulunan algılama ve sinyalleşme sistemlerini içerdiğini tespit etmişlerdir. Batı bal arısı işçi arılarının her zaman kolonide hoş karşılandığını ve bu nedenle bal arılarının, sosyal etkileşim sistemlerinde güvence için JH III'ün farklı izomerlerini sentezlediğini bildirmişlerdir [27]. Ferreira vd. (2023) [28] yaban arısında (*Vespula vulgaris*) iş bölümünü ve davranışsal olgunlaşmayı düzenlemede JH'nin korunmuş rolünü belirlemek için yaptıkları çalışmada, ana arının feromon sinyallerini etkilediği ve üremeyi düzenlediği bilinen JH'nin, iş bölümü sırasında da etkili olup olmadığı incelemişlerdir. JH'nin yaşa bağlı iş bölümünü düzenlediğini, JH analog metopren uygulanan işçi arıların davranışsal olgunlaşmasının hızlandığını ve böylelikle yuva içinde harcadıkları zamanın azaldığını tespit etmişlerdir. Bal arılarının sosyal davranışlarında ve yaşa bağlı iş bölümünde etkili olduğu bilinen JH III'ün sentezinde görev aldığı bilinen juvenil hormon asit (farnesoik asit) O-metiltransferaz geninin 7. ekzonunda yapılan çalışmada gözlenen polimorfizmin, Kafkas arısında JH III'ün ekspresyonunu da etkilediği düşünülebilir [28]. Huang ve Robinson (1995) [29]. JH'daki mevsimsel farklılıkların fotoperiyot değişiklikleriyle değil, sırayla endokrin ve davranış gelişimini etkileyen sıcaklık ve/veya koloni sosyal yapısındaki değişimler ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, kış sonu ve ilkbahar başında aktif yiyecek arayan arıların, ilkbahar sonunda aktif yiyecek arayan arılardan daha düşük JH seviyelerine sahip olduğunu bildirmiştir. Kafkas arısı doğal yayılım alanı olan ve yüksek adaptasyon gösterdiği soğuk iklime sahip bölgelerde, kışlamanın ardından zayıf bir koloni yapısıyla ortaya çıkmasına rağmen, kolonileri hızla geliştirebilmektedir [29]. Tespit edilen mutasyonun aynı zamanda mevsimsel etkilerle ekspresyonu değişen JH'un kışlama döneminden zayıf olarak çıkan Kafkas arısının koloni gelişimini ve tarlacıların besin aramasındaki etkinliğini etkileyebileceği düşünülebilir.

Sonuç

Juvenil hormonun biyosentezi, bir dizi enzimatik katalitik reaksiyonla gerçekleşen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, organizmanın çeşitli fizyolojik evrelerinde kritik öneme sahiptir. JH sentezi, yalnızca genetik değil, aynı zamanda beslenme gibi çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Ayrıca, bu biyosentez süreci birçok farklı genin ifade profilince de düzenlenmektedir. Bu nedenle, JH biyosentezinde rol oynayan veya bu süreçle ilişkili olduğu düşünülen aday gen lokuslarının kapsamlı bir şekilde incelenmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada tespit edilen mutasyonun, JH geninin ifadesinde etkili olma potansiyeli bulunmaktadır. Çalışılan genin DNA dizi analizi ve ifade profili durumunu ortaya koyacak ileri analizlere gereksinim bulunmaktadır. Bu açıdan çalışmada kullanılan ve Türkiye'nin önemli genetik kaynaklarından biri olan Kafkas arısında, JH III geninin ifade seviyesi ile ilişkili gen bölgeleri ve içerdikleri polimorfizmlerin tespiti, bunların morfolojik ve fizyolojik özellikler ile ilişkisinin belirlenmesi uygun olacaktır.

Abbreviations/Kısaltmalar

%GC: Guanine-cytosine ratio/Guanin-sitozin oranı, °C: Centigrade degrees/Santigrat derece, CTAB: Cetyltrimethyl ammonium bromide/Setiltrimetil amonyum bromür, dk: Minute/Dakika, DNA: Deoxyribose nucleic acid/Deoksiriboz nükleik asit, FAME: Juvenile hormone acid (farnesoid acid) O-methyltransferase/Juvenil hormon asit (Farnesoik asit) O-metiltransferaz, İndel: Insertion-deletion /İnsersiyon-delesyon, JH: Juvenile hormone/Juvenil hormon, KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes/Kyoto, Gen ve Genom Ansiklopedisi, M: Molar/Molar, MF: Methyl farnesate /Metil farnesoat, mM: Millimoles/Milimolar, Na₂EDTA: Ethylenediaminetetraacetic Acid, Disodium Salt/Etilendiamintetraasetik asit, disodyum tuzu, NaCl: Sodium chloride/Sodyum klorür, NCBI: National Center for Biotechnology Information/Ülusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, PCR: Polymerase chain reaction /Polimeraz zincir reaksiyonu, RFLP: Restriction fragment length polymorphism /Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi, sn: Second/Saniye, SNP: Single nucleotide polymorphism / ek nükleotit polimorfizmi, Tm: Primer Melting Temperature/Primer Erime Sıcaklığı, Tris-HCl: Tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride/Tris(hidroksimetil)aminometan hidroklorür, UniProt: Universal Protein Resource/Evrensel Protein Kaynağı, UV: Ultraviolet/ Ultraviole, V: Volt/Volt, vd.: Et al/Ve diğerleri, w/v: Weight/volume/Ağırlık/hacim, µl: Microliter/Mikrolitre, µM: Micromolar/Mikromolar

Acknowledgments / Teşekkürler Funding / Fon desteği

This research has been supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) under project number 1919B012204913.

Bu araştırma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1919B012204913 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Data Availability statement / Veri Kullanılabilirliği bildirimi

The author confirms that the data supporting this study are cited in the article.

Yazar, bu çalışmayı destekleyen verilere makalede atıfta bulunulduğunu onaylamaktadır.

Compliance with ethical standards / Etik standartlara uyum

Conflict of interest / Çıkar çatışması

The author declare no conflict of interest.

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Ethical standards / Etik standartlar

The study is proper with ethical standards.

Çalışma etik standartlara uygundur.

Authors' contributions / Yazar katkıları

Çalışma Dr. Levent MERCAN tarafından tasarlanmıştır. Çalışmaya ait örnekler Fatmanur DURSUN ve Dr. Selim BIYIK tarafından toplanmıştır. Çalışmaya ait laboratuvar analizleri Fatmanur DURSUN, Gamze Nur ATIL TAŞ ve Dr. Fatih BİLGİ tarafından, istatistik analizler ise Fatmanur DURSUN ve Cihat Erdem BÜLBÜL tarafından yapılmıştır. Tüm yazarlar makalenin oluşturulmasına eşit derecede katkı yapmıştır.

The study was designed by Dr. Levent MERCAN. Samples for the study were collected by Fatmanur DURSUN and Dr. Selim BIYIK. Laboratory analyses for the study were performed by Fatmanur DURSUN, Gamze Nur ATIL TAŞ, and Dr. Fatih BİLGİ, while statistical analyses were performed by Fatmanur DURSUN and Cihat Erdem BÜLBÜL. All authors contributed equally to the creation of the article.

Kaynaklar

1. Güler, A. (2017). Bal arısı (*Apis mellifera* L.) yetiştiriciliği hastalıkları ve ürünleri. Basım. Azim Matbaacılık. Ankara, 419.
2. Karakaş, G. (2022). Pestisit Kullanımının Bal Verimi Üzerine Etkisi; Panel Veri Analizi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25(5), 1163-1167. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.849861>
3. Luo, J., Liu, S., Hou, J., Chen, L., Li, H., Liao, S., ... & Li, X. (2021). The comparison of juvenile hormone and transcriptional changes between three different juvenile hormone analogs insecticides on honey bee worker larval's development. Agronomy, 11(12), 2497. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122497>
4. Güler, A., Bek, Y., Genç, O., Nisbet, C., Konak, F., Hs, E., ... Öztürk, H.(2013). Change level of hygienic behaviour in the caucasian honey bee *A M Caucasia* G subspecies . 43. International Apicultural Congress, KIYEV, Ukraine
5. Gül, A., & Nergiz, R. (2022). Kafkas Bal Arısı (*Apis mellifera caucasia*) gen merkezinin bozulmasına neden olan etmenler ve çözüm önerileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25(Ek Sayı 2), 545-554. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1084184>

6. Li, W., Huang, Z. Y., Liu, F., Li, Z., Yan, L., Zhang, S., ... & Su, S. (2013). Molecular cloning and characterization of juvenile hormone acid methyltransferase in the honey bee, *Apis mellifera*, and its differential expression during caste differentiation. PloS one, 8(7), e68544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068544>
7. Pandey, A., & Bloch, G. (2015). Juvenile hormone and ecdysteroids as major regulators of brain and behavior in bees. Current Opinion in Insect Science, 12, 26-37. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.09.006>
8. Santos, C. G., Humann, F. C., & Hartfelder, K. (2019). Juvenile hormone signaling in insect oogenesis. Current opinion in insect science, 31, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.07.010>
9. Brejcha, M., Prušáková, D., Šabová, M., Peska, V., Černý, J., Kodrík, D., ... & Frydrychová, R. Č. (2023). Seasonal changes in ultrastructure and gene expression in the fat body of worker honey bees. Journal of insect physiology, 146, 104504. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2023.104504>
10. Ando, H., Ukena, K., & Nagata, S. (Eds.). (2021). Handbook of hormones: comparative endocrinology for basic and clinical research. Academic Press. Doi: 10.1016/C2013-0-15395-0
11. Villalobos-Sambucaro, M. J., Nouzova, M., Ramirez, C. E., Eugenia Alzugaray, M., Fernandez-Lima, F., Ronderos, J. R., & Noriega, F. G. (2020). The juvenile hormone described in *Rhodnius prolixus* by Wigglesworth is juvenile hormone III skipped bisepoxide. Scientific Reports, 10(1), 3091. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59495-1>
12. Barchuk, A. R., Cristino, A. S., Kucharski, R., Costa, L. F., Simões, Z. L., & Maleszka, R. (2007). Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*. BMC developmental biology, 7, 1-19. <https://doi.org/10.1186/1471-213x-7-70>
13. Domínguez, C. V., & Maestro, J. L. (2018). Expression of juvenile hormone acid O-methyltransferase and juvenile hormone synthesis in *Blattella germanica*. Insect science, 25(5), 787-796. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12467>
14. Li, K., Jia, Q. Q., & Li, S. (2019). Juvenile hormone signaling—a mini review. Insect science, 26(4), 600-606. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12614>
15. Nur Aliah, N. A., Ab-Rahim, S., Moore, H. E., & Heo, C. C. (2021). Juvenile hormone: Production, regulation, current application in vector control and its future applications. <https://doi.org/10.47665/tb.38.3.066>
16. Tian, Z., Guo, S., Li, J. X., Zhu, F., Liu, W., & Wang, X. P. (2021). Juvenile hormone biosynthetic genes are critical for regulating reproductive diapause in the cabbage beetle. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 139, 103654. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2021.103654>
17. Gunawardene, Y. S., Tobe, S. S., Bendena, W. G., Chow, B. K. C., Yagi, K. J., & Chan, S. M. (2002). Function and cellular localization of farnesoic acid O-methyltransferase (FAMeT) in the shrimp, *Metapenaeus ensis*. European Journal of Biochemistry, 269(14), 3587-3595. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03048.x>
18. Burtenshaw, S. M., Su, P. P., Zhang, J. R., Tobe, S. S., Dayton, L., & Bendena, W. G. (2008). A putative farnesoic acid O-methyltransferase (FAMeT) orthologue in *Drosophila melanogaster* (CG10527): Relationship to juvenile hormone biosynthesis?. Peptides, 29(2), 242-251. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.10.030>
19. Qu, Z., Bendena, W. G., Tobe, S. S., & Hui, J. H. (2018). Juvenile hormone and sesquiterpenoids in *arthropods*: biosynthesis, signaling, and role of MicroRNA. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 184, 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.01.013>
20. Hui, J. H., Hayward, A., Bendena, W. G., Takahashi, T., & Tobe, S. S. (2010). Evolution and functional divergence of enzymes involved in sesquiterpenoid hormone biosynthesis in crustaceans and insects. Peptides, 31(3), 451-455. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.10.003>
21. Elekonich, M. M., Schulz, D. J., Bloch, G., & Robinson, G. E. (2001). Juvenile hormone levels in honey bee (*Apis mellifera* L.) foragers: foraging experience and diurnal variation. Journal of Insect Physiology, 47(10), 1119-1125. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(01\)00090-7](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(01)00090-7)
22. Dostáľková, S., Dobeš, P., Kunc, M., Hurychová, J., Škrabišová, M., Petřivalský, M., ... & Danihlík, J. (2021). Winter honeybee (*Apis mellifera*) populations show greater potential to induce immune responses than summer populations after immune stimuli. Journal of Experimental Biology, 224(3), jeb232595. <https://doi.org/10.1242/jeb.232595>
23. Evans, J. D., Schwarz, R. S., Chen, Y. P., Budge, G., Cornman, R. S., De la Rua, P., ... & Pinto, M. A. (2013). Standard methods for molecular research in *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 52(4), 1-54. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.11>
24. Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., & Rozen, S. G. (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. Nucleic acids research, 40(15), e115-e115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>
25. Bomtorin, A. D., Mackert, A., Rosa, G. C. C., Moda, L. M., Martins, J. R., Bitondi, M. M. G., ... & Simões, Z. L. P. (2014). Juvenile hormone biosynthesis gene expression in the corpora allata of honey bee (*Apis mellifera* L.) female castes. PloS one, 9(1), e86923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086923>
26. Yagi, K. J., Konz, K. G., Stay, B., & Tobe, S. S. (1991). Production and utilization of farnesoic acid in the juvenile hormone biosynthetic pathway by corpora allata of larval *Diptera punctata*. General and comparative endocrinology, 81(2), 284-294. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(91\)90013-V](https://doi.org/10.1016/0016-6480(91)90013-V)
27. Luo, J., Yi, G., Liu, S., Mei, Y., Chen, W., Hou, J., ... & Li, X. (2022). Juvenile Hormone III R Stereoisomer Is Specifically Synthesized by Honeybees (*Apis mellifera ligustica*) and Shows a Higher Biological Activity in

- Regulating Their Social Behavior. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(20), 6097-6107. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00762>
28. Ferreira, H. M., Di Pietro, V., Wenseleers, T., & Oi, C. A. (2023). Conserved role of juvenile hormone in regulating behavioural maturation and division of labour in a highly eusocial wasp. *Animal Behaviour*, 200, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2023.03.013>
29. Huang, Z. Y., & Robinson, G. E. (1995). Seasonal changes in juvenile hormone titers and rates of biosynthesis in honey bees. *Journal of Comparative Physiology B*, 165, 18-28. <https://doi.org/10.1007/BF00264682>