T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

BAL ARILARINDA (*Apis mellifera* L.) RETROTRANSPOZON ANALİZLERİ

Yüksek Lisans Tezi

Cihat Erdem BÜLBÜL

Danışman
Doç. Dr. Levent MERCAN

II. Danışman
Doç. Dr. Sevgi MARAKLI

SAMSUN
2020

TEZ ONAYI

Cihat Erdem BÜLBÜL tarafından hazırlanan "Bal Arılarında (*Apis mellifera* L.) Retrotranspozon Analizleri" adlı tez çalışması 16/06/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Levent MERCAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
İkinci Danışman	Doç. Dr. Sevgi MARAKLI Amasya Üniversitesi Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü

Jüri Üyeleri

Başkan	Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Murat ŞENTÜRK Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Levent MERCAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. …/…/…..

Prof. Dr. Ali BOLAT

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

16/06/2020

Cihat Erdem BÜLBÜL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAL ARILARINDA (*Apis mellifera* L.) RETROTRANSPOZON ANALİZLERİ

Cihat Erdem BÜLBÜL

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Levent MERCAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Sevgi MARAKLI

Retrotranspozonlar genom içinde bulunan hareketli elementlerdir ve farklı canlıların genomlarının büyük bir kısmını oluştururlar. Sistem biyolojisi içerisinde farklı metabolik yolaklardaki genlerin anlatımlarının düzenlenmesinde rol oynayan retrotranspozonların hareketlerinin; türler arası, tür içi ve hatta farklı dokularda bile değişebileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte belirli bir türe özgü retrotranspozonların tamamen farklı bir türde tanımlandığı birçok araştırma da bulunmaktadır.

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) tozlama yoluyla küresel ekolojiye önemli miktarda katkıda bulunan ve sosyal davranışları nedeniyle incelenen model bir organizmadır. Bu tez çalışmasında, Kafkas arısının (*Apis mellifera caucasica*) üç farklı kolonisinde, arpa bitkisine özgü *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonları, IRAP (Retrotranspozonlar Arası Çoğaltım Polimorfizmi) markır tekniği kullanılarak tanımlanmış ve gelişim ile beraber bu retrotranspozonların hareketlerindeki farklılık incelenmiştir. Bu amaçla her koloniden bir kraliçe arı, beş işçi arı ve beş larva ile çalışılmıştır.

Her iki retrotranspozonun, tüm kolonilerin tüm örneklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Bununla beraber polimorfizm oranlarına bakıldığında *Nikita* retrotranspozonunun (%0-100), *Sukkula* retrotranspozonuna kıyasla (%0-67) daha hareketli olduğu görülmüştür. Koloni içindeki kraliçe-işçi (*Nikita* için %0-83, *Sukkula* için %0-63), kraliçe-larva (*Nikita* için %0-83, *Sukkula* için %0-43) ve işçi-larva kıyaslamalarında (*Nikita* için %0-100, *Sukkula* için %0-63) farklı polimorfizm oranlarında sonuçlar elde edilmiştir. Koloniler arası da benzer şekilde farklı polimorfizm yüzdeleri hesaplanmıştır.

Bal arısının gelişimi ile ilgili retrotranspozon bakımından yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu tez çalışmasında ilk defa bir bitkiye ait iki retrotranspozon, arı genomunda tanımlanmış ve farklı gelişim sürecindeki örneklerde retrotranspozon hareketlerinin farklılığını gözlenmiştir. Elde edilen bulguların, retrotranspozonlardaki değişimlerin arı gelişimi üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlaması beklenmektedir.

Haziran 2020, 49 sayfa

Anahtar kelimeler: Bal arısı, *Sukkula*, *Nikita*, Retrotranspozon

ABSTRACT

Master's Thesis

RETROTRANSPOSON ANALYSES IN HONEY BEES (*Apis mellifera* L.)

Cihat Erdem BÜLBÜL

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Levent MERCAN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Sevgi MARAKLI

Retrotransposons are mobile elements found in genome and they constitute major portions of genomes in different living things. It has been reported that movements of retrotransposons playing a role in the regulation of expressions of genes in different metabolic pathways of system biology may change inter-species, intra-species and even different tissues. Furthermore, there are many studies where specific retrotransposons of a particular species are identified in a completely different species.

Honey bee (*Apis mellifera* L.) is a model organism, contributing significantly to the global ecology by pollination and examining due to its social behavior. In this thesis, barley-specific *Sukkula* and *Nikita* retrotransposons were identified using IRAP (Inter-Retrotransposon Amplification Polymorphism) marker technique and difference in the movements of these retrotransposons together with development was examined in three different colonies of the Caucasian bee (*Apis mellifera caucasica*). For this purpose, a queen bee, five worker bees and five larvae from each colony were studied.

It was determined that both retrotransposons were found in all samples of all colonies. In addition, it was observed that *Nikita* retrotransposon (0-100%) was more mobile than *Sukkula* retrotransposon (0-67%). Different polymorphism ratios were obtained as a result of queen-worker (0-83% for *Nikita*, 0-63% for *Sukkula*), queen-larvae (0-83% for *Nikita*, 0-43% for *Sukkula*) and worker-larvae comparisons (0-100% for *Nikita*, 0-63% for *Sukkula*) in colonies. Similarly, different polymorphism percentages among colonies were also calculated.

Studies related to the development of honeybee in terms of retrotransposons are limited. In this thesis, two retrotransposons belonging to a plant were identified in bee genome for the first time and the difference of retrotransposon movements was observed on the samples in different developmental process. The findings are expected to contribute to figure out the effects of changes in retrotransposons on honey bee development.

June 2020, 49 pages

Keywords: Honey bee, *Sukkula*, *Nikita*, Retrotransposon

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak gerçekleştirilmiştir.

"Bal Arılarında (*Apis mellifera* L.) Retrotranspozon Analizleri" konulu bu araştırma için bana çalışma fırsatını veren, bilimsel düşünce, bilgi birikimi ve tecrübelerinden yararlandığım danışmanlarım Doç. Dr. Levent MERCAN'a ve Doç. Dr. Sevgi MARAKLI'ya çok teşekkür ederim.

Tezde kullandığım arı örneklerinin temininde değerli yardımlarından dolayı Prof. Dr. Ahmet GÜLER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Selim BIYIK'a teşekkür ederim.

Ayrıca, tüm deneysel çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen başta Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz KAYA olmak üzere, Arş. Gör. Fatih BİLGİ ile arkadaşlarım Zir. Müh. Kübra ATALAY ve Ziraat Yük. Müh. Süleyman Faruk KIRKINCI'ya da çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca, her konuda maddi ve manevi desteğini hissettiğim, tecrübeleriyle yolumu aydınlatıp bugünlere gelmemde büyük emeği olan aileme teşekkürlerimi arz ederim.

Haziran 2020, Samsun

Cihat Erdem BÜLBÜL

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER VE KISALTMALAR v
ŞEKİLLER LİSTESİ vi
ÇİZELGELER LİSTESİ vii
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÇALIŞMASI 3
2.1. Bal Arısı 3
2.2. Bal Arısının Ekonomik Değeri 4
2.3. Bal Arısı Ürünleri 5
2.3.1. Bal 5
2.3.2. Balmumu 6
2.3.3. Polen 6
2.3.4. Arı sütü 6
2.3.5. Propolis ve arı zehri 7
2.4. Arı Genetiği 7
2.5. Transpozonlar 9
2.5.1. Bitki transpozonları 10
2.5.2. Böcek transpozonları 10
2.5.3. *Nikita* retrotranspozonu 11
2.5.4. *Sukkula* retrotranspozonu 12
2.6. IRAP-PCR Yöntemi 12
3. MATERYAL VE METOT 14
3.1. Genomik DNA İzolasyonu 14
3.2. Genomik DNA'ların Kalitatif ve Kantitatif Analizleri 15
3.3. IRAP-PCR Analizleri 16
3.4. Polimorfizm Analizleri 17
4. BULGULAR 18
4.1. Genomik DNA İzolasyonu 19
4.2. *Nikita* Retrotranspozonunun IRAP-PCR Sonuçları 20
4.3. *Sukkula* Retrotranspozonunun IRAP-PCR Sonuçları 24
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER 27
KAYNAKLAR 31
ÖZGEÇMİŞ 39

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

bç	Baz çifti
gr	Gram
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ml	Mililitre
M	Molar
ng	Nanogram
nm	Nanometre
rpm	Revolutions per minute (Dakika başına devir sayısı)
^{o}C	Santigrat derece

KISALTMALAR

BAC	Bacterial Artificial Chromosome (Bakteri Yapay Kromozomu)
CTAB	Cetyltrimetyl Ammonium Bromide
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
gDNA	Genomic DNA (Genomik DNA)
IRAP	Inter-Retrotransposon Amplification Polymorphism (Retrotranspozonlar Arası Çoğaltım Polimorfizmi)
LTR	Long Terminal Repeat (Uzun Uç Tekrar Dizileri)
ORF	Open Reading Frame (Açık Okuma Çerçevesi)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RNA	Ribonükleik Asit
RNaz	Ribonükleaz
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
TE	Transposable Elements (Transpoze Olabilen Element)
TIR	Terminal Inverted Repeat (Ters Çevrilmiş Tekrarlar)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Transpozon türleri 9
Şekil 2.2. *Nikita* LTR dizisi 11
Şekil 2.3. *Sukkula* LTR dizisi 12
Şekil 4.1. 1. koloninin bireyleri 18
Şekil 4.2. 2. koloninin bireyleri 19
Şekil 4.3. 3. koloninin bireyleri 19
Şekil 4.4. Genomik DNA agaroz jel görüntüsü 20
Şekil 4.5. *Nikita* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonuçları 20
Şekil 4.6. *Sukkula* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonuçları 24

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki 2018 yılına ait üretim verileri 4
Çizelge 2.2. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki koloni sayıları 4
Çizelge 2.3. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki bal üretimi miktarları 5
Çizelge 3.1. CTAB tampon içeriği 15
Çizelge 3.2. *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonlarına ait primerlerin dizileri 16
Çizelge 3.3. IRAP-PCR bileşenleri.....16
Çizelge 3.4. IRAP-PCR koşulları 17
Çizelge 4.1. *Nikita* retrotranspozonu bant sayıları.....21
Çizelge 4.2. *Nikita* retrotranspozonu polimorfizm oranları 23
Çizelge 4.3. *Sukkula* retrotranspozonu bant sayıları.....24
Çizelge 4.4. *Sukkula* retrotranspozonu polimorfizm oranları 26

1. GİRİŞ

Eklem bacaklıların, hayvan türlerinin büyük çoğunluğunu (Zhang, 2013) içerdiği ve milyonlarca eklem bacaklı türü (Stork vd, 2015) olduğu bilinmektedir. Böcekler, eklem bacaklıların en önemli sınıfıdır. Dünya üzerinde tanımlanmış hayvan türlerinin %80'i böcek sınıfına ait türlerdir (Chinery, 1993). Böcekler sınıfına dahil olan arılar (*Apis mellifera* L.), *Apidae* ailesinin zar kanatlılar (*Hymenoptera*) takımındadır. Bal arısına 1758 yılında Linnaeus tarafından bal toplayan anlamına gelen *Apis mellifera* adı verilmiştir (Güler, 2006).

Arıcılık insanoğlunun en eski uğraşlarından biridir. Tahminen M.Ö. 13000 yıllarında kayalara çizilen resimlerden, geç Paleolitik ve hatta Mezolitik dönemdeki çizimlerden, yabani arılar ve bal ile tanıştığı anlaşılan insanoğlu, bilinen en eski gıda üretim yöntemlerinden biri olan arıcılık ile uğraşagelmiştir (Gupta vd, 2014).

Haploit sayıdaki kromozomlarda bulunan toplam DNA dizisi olarak adlandırılan genom, dinamik bir yapıdır. Bilim dünyasında "genom stabildir, değişmez" düşüncesinin uzun yıllar yaygın olmasına rağmen Barbara McClintock'un mısır bitkisinde hareketli genetik elementleri keşfetmesi, bu düşünceyi değiştirmiştir (McClintock, 1950). Transpozonlar, transpozisyon adı verilen bir mekanizma ile genom içinde hareket edebilen DNA dizisi olarak tanımlanır (Montagne, 2015). Hareket mekanizmaları karşılaştırıldığında transpozonlar; Sınıf I (Retrotranspozon) ve Sınıf II (DNA transpozonları) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Retrotranspozonlar; kopyala-yapıştır, DNA transpozonları ise kes-yapıştır mekanizması ile hareket etmektedir (Finnegan, 1989). Transpozonlar, bitki genomlarının yaklaşık %50-90'ını, hayvan genomlarının da %3-60'ını oluştururlar. Prokaryotların çoğunda %1-3 olarak bulunan transpozonlar, mayada (*Saccharomyces cerevisiae*) %3, memelilerde %25-45, insanlarda %45 ve *Graminaceae*'de ve *Liliaceae*'de %90-98'dir (Bowen ve Jordan, 2002; Schulman ve Kalendar, 2005; Wessler, 2006; Mansour, 2007; Wicker vd, 2007; Roberts vd, 2008; Lerat, 2010).

Arılar, ekolojik ve ekonomik önemine ek olarak, sosyal davranışların ve karmaşık bilişsel yeteneklerin gelişiminin incelenmesi için model bir organizmadır. Arı genomu, Bal Arısı Genom Dizileme Konsorsiyumu tarafından 2006 yılında

dizilenmiştir. Bal arısının, 236 Mb büyüklüğünde bir genoma sahip olduğu ve genomun yaklaşık %3'ünün transpozonlardan oluştuğu rapor edilmiştir (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

Yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing, NGS) teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte genomlar ile ilgili daha detaylı bilgilere daha hızlı bir şekilde ulaşılabilmektedir. Elde edilen diziler; canlılar arasındaki farklılığın nedenleri, bu farklılıkların hangi metabolik yolak(lar) veya hangi hastalık(lar) ile ilgili olduğu gibi sistem biyolojinin anlaşılmasında yararlı olmasının yanı sıra canlılar arasında genetik polimorfizmin belirlenmesine yönelik moleküler markırların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Son yıllarda retrotranspozon temelli birçok moleküler markır geliştirilmekte ve genomların yapılarının aydınlatılmasında bu moleküler markırlar kullanılmaktadır (Gozukirmizi vd, 2015; Zhong vd, 2019; Saraswathi vd, 2020).

IRAP (Inter-Retrotransposon Amplification Polymorphism - Retrotranspozonlar Arası Çoğaltım Polimorfizmi) yöntemi, bu moleküler markır yöntemlerinden biri olup, iki komşu retrotranspozon arasında kalan genomik bölgenin PCR ile çoğaltılması ve polimorfizmin belirlenmesinde kullanılır (Roy vd, 2018; Marzang vd, 2020).

Retrotranspozonlar canlılardaki en önemli epigenetik mekanizmalardan biridir. Retrotranspozon dizileri ile ilgili çalışmaların daha çok bitkiler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Hayvanlarda da sınırlı sayıda da olsa çalışma yapılmasına karşın belirli bir türe özgü olan retrotranspozon dizilerinin tamamen farklı bir türün genomunda belirlenmesi ile ilgili araştırmalar oldukça azdır. Ayrıca, arılarda gelişim sürecinde retrotranspozon davranışları ile ilişkili araştırmalar da sınırlıdır. Bu tez çalışmasında, beslenme koşullarıyla büyüme arasındaki ilişkinin belirlenmesinde oldukça uygun bir model organizma olan arıda,

i. önemli bir model bitkisi olan arpaya özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonları arı genomunda tanımlanmış,

ii. çevresel koşulların (beslenme), retrotranspozon hareketlerindeki rolleri, kraliçe arı, işçi arı ve larvada karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÇALIŞMASI

2.1. Bal Arısı

Bal arıları; karıncalar, termitler ve bazı yaban arıları gibi sosyal böceklerdir. Arılar, karıncalar ve eşek arılarının aksine yaşamları için ihtiyaç duydukları protein ve karbonhidratları bitkilerin polen ve nektarından sağlayan herbivor canlılardır (Çelik vd, 2012). Kolonide iş bölümü yapmakta olan üç adet bal arısı sınıfı vardır. Bunlar;

İşçi arılar: Koloninin tüm işlerini yapan, üreme açısından az gelişmiş dişilerdir. Bir kolonide 2.000-60.000 işçi olabilir.

Kraliçe (Ana) arı: Yumurta üretimi için özelleşmiş tamamen verimli bir dişidir. Bir kraliçe öldüğünde veya kaybolduğunda, işçiler birkaç genç işçi larvası seçer ve onlara "arı sütü" adı verilen özel bir yiyecek verir. Bu özel larvalar kraliçelere dönüşür. İşçiler ve kraliçeler arasındaki tek fark larva diyetinin miktarı ve kalitesidir. Koloni başına genellikle sadece bir kraliçe vardır. Kraliçe, diğer arıların davranışlarını düzenleyen "feromon" adı verilen kimyasalları üreterek koloniyi de etkiler.

Erkek arılar: Kolonide genetik varyasyon sağlamak için bulunan erkek bireylerdir. Bir kolonide ilkbahar ve yaz aylarında 0-500 erkek arı olabilir. Erkek arılar kovandan uçarak diğer kolonilerden gelen kraliçelerle havada çiftleşirler.

Bal arıları yaşamlarına yumurta olarak başlar. Ana arının petek gözlerine yumurtladığı döllenmiş yumurtalardan işçi arılar ve ana arılar, dölsüz yumurtalardan ise erkek arılar meydana gelmektedir. Bir arının yaşamında tam başkalaşım söz konusu olduğundan yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere 4 farklı gelişme dönemi bulunmaktadır. Yumurtanın petek gözüne bırakıldığı andan itibaren ergin arı oluncaya kadar geçen süre ana arı için 16, işçi arı için 21 ve erkek arı için 24 gündür (Delaplane, 2006).

Bal arısı, tipik olarak 20.000-100.000 arıdan oluşan oldukça büyük koloni yapısı ile bilinir ve birey sayısının çok olması koloninin güçlü olmasını sağlarken, hastalıkların koloni içinde hızla yayılmasına da yol açar. Bal arısı, hastalığın yayılması ile mücadele etmek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmaları hijyen davranışı olarak isimlendirilmektedir (Patel, 2018).

2.2. Bal Arısının Ekonomik Değeri

Günümüzde küresel iklim sorunları nedeniyle bitki örtüsünde görülen değişim bal arılarını da yakından etkilemektedir (Gupta vd, 2014). FAO'nun (Food and Agriculture Organization – Gıda ve Tarım Örgütü) 2018 yılı verilerine göre Türkiye, arı kolonisi sayısı bakımından dünyada Hindistan ve Çin'den sonra üçüncü sırada yer almakta, bal üretimi bakımından ise Çin'den sonra ikinci sırada gelmektedir (Anonim, 2020). Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki üretim verileri (Çizelge 2.1), koloni sayıları (Çizelge 2.2) ve bal üretim miktarları (Çizelge 2.3) verilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki 2018 yılına ait üretim verileri

Bölge	Koloni Sayısı (Adet)	Verim (Kg)	Üretim (Ton)
Çin	9.173.742	49.8	457.203
Hindistan	13.048.275	5.2	67.442
Türkiye	7.947.687	14.4	114.113
ABD	2.803.000	24.7	69.104
Avrupa	18.960.465	22.5	426.380
Afrika	17.287.677	11.6	200.700
Asya	43.049.855	19.4	835.643
Kuzey Amerika	3.498.744	30.9	108.220
Güney Amerika	5.276.238	31	163.435
Dünya	92.265.141	20.1	1.850.868

Çizelge 2.2. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki koloni sayıları (adet)

Bölge	2014	2015	2016	2017	2018
Çin	9.075.000	9.128.113	9.145.461	9.153.368	9.173.742
Hindistan	11.800.000	12.003.541	12.482.217	12.788.034	13.048.275
Türkiye	7.082.732	7.525.652	7.679.482	7.796.666	7.947.687
ABD	2.740.000	2.660.000	2.775.000	2.683.000	2.803.000
Avrupa	17.769.408	18.231.671	18.590.585	18.624.728	18.960.465
Afrika	16.801.350	16.936.807	17.279.859	17.367.093	17.287.677
Asya	40.515.487	40.571.596	41.867.151	42.496.458	43.049.855
Kuzey Amerika	3.436.267	3.357.857	3.461.706	3.374.212	3.498.744
Güney Amerika	5.140.223	5.200.167	5.308.454	5.294.733	5.276.238
Dünya	87.421.183	88.066.857	90.188.775	90.969.696	92.265.141

Çizelge 2.3. Dünya'nın belli başlı bölgelerindeki bal üretimi miktarları (ton)

Bölge	2014	2015	2016	2017	2018
Çin	474.786	484.726	562.875	549.313	457.203
Hindistan	61.938	62.472	64.899	66.415	67.442
Türkiye	103.525	108.128	105.727	114.471	114.113
ABD	80.862	71.008	73.429	67.576	69.104
Avrupa	373.236	423.963	386.937	405.579	426.380
Afrika	204.251	214.462	199.109	198.668	200.700
Asya	816.244	832.197	908.762	913.795	835.643
Kuzey Amerika	121.612	110.442	112.446	106.504	108.220
Güney Amerika	137.601	129.602	147.642	159.179	163.435
Dünya	1.763.742	1.824.024	1.862.670	1.879.215	1.850.868

2.3. Bal Arısı Ürünleri

2.3.1. Bal

Bal; çiçeklerdeki nektarların veya bitkilerin canlı kesimleriyle beslenen *Hemiptera* takımındaki kimi böceklerin oluşturduğu ikincil metabolit maddelerinin bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, bal midesinde enzimatik reaksiyona uğrayarak peteklere depolanması ve peteklerde olgunlaşması sonucunda ortaya çıkan ürüne denir. Yapısında glikoz ve fruktoz monosakkaritlerini içermektedir. Renksiz ile koyu kahverengi arasında bir renk skalasına sahiptir. Akışkan, koyu kıvamlı veya kristalize olabilir. Tadı ve aroması balın kaynağına ve bitkinin türüne göre değişmekle beraber kendine has kokusu ve tadı da olmalıdır (Güler vd, 2018).

Bal, genellikle %80 şeker ve %17 su içerir. Geriye kalan %3'lük kısım; mineral maddeler, aminoasitler, renk maddeleri (klorofil, karoten, ksantofil), vitamin ve enzimlerden (amilaz, invertaz, katalaz, fosfataz) oluşur. Balı diğer şekerli maddelerden daha kıymetli yapan unsur içerdiği enzimlerdir. Enzimler yüksek sıcaklıklarda zarar göreceğinden yüksek sıcaklıklarda ısıtılmamalıdır.

Bal ilaç kalıntısı içermemelidir. Aksi takdirde yararlı bir gıda özelliğini yitirip, insan sağlığı bakımından tehlike oluşturacaktır. Süzme veya petek olması fark etmeksizin ilaç kalıntısı bulundurmayan ve belli oranlarda enzim ihtiva eden bütün ballar kaliteli ve değerlidir.

Bal, toplandığı bitkiye bağlı olarak zaman içerisinde kristalizasyona uğrayabilir. Balın kristalize olması doğal bir durumdur (Karadal ve Yıldırım, 2012).

2.3.2. Balmumu

Balmumu, 13-18 günlük işçi arıların abdomenindeki son dört çift segment üzerinde bulunan balmumu aynalarından salgılanan ve petek yapımında kullanılan bir maddedir. Sıvı olarak salgılanan balmumu havayla etkileştiğinde katı hale geçerek beyaz bir pulcuk şekline dönüşür. Arı, bacakları vasıtasıyla ağzına taşıdığı pulcuğu çiğneyerek petek örmektedir. Balmumu; çoğunlukla petek yapımı beraberinde, kozmetik ve ilaç sanayisinde, parlatma, cilalama, su geçirmezliğin sağlanması, kalıpçılık ve dişçilik gibi çok farklı sahalarda kullanılmaktadır (Mutlu vd, 2017).

2.3.3. Polen

Polen; arıların gelişimlerinde, sağlıklarının korunmasında ve vazifelerini yerine getirmelerinde kritik payı bulunan bir maddedir. Eğer kolonide polen mevcut değilse yavru gelişimi durur ve kolonide huzursuzluk açığa çıkar. Arılar enerji ihtiyaçlarını balla giderirlerken, diğer gereksinimlerini (aminoasit, vitamin, mineral madde gibi) polenle giderirler. Kısaca polen, arıların ihtiyaç duydukları tüm maddeleri içermekle birlikte, insanlar için de önemli bir besin kaynağıdır. Polen, içerdiği alkalin fosfataz ve fenoloksidaz aktiviteleriyle arı hastalıklarında yaşama oranını yükseltmiştir. Ticari bakımdan ise polen üretiminin, arıcının gelirinde %30 artış sağladığı görülmüştür. Bu bakımdan, daha kazançlı bir arıcılık için arıcılarımızın polen üretimine geçmeleri teşvik ve tavsiye edilmelidir (Di Pasquale vd, 2013).

2.3.4. Arı sütü

Arı sütü, 6-12 günlük genç işçi arıların hipofaringeal bezlerinden salgılanan, besin değeri oldukça yüksek, beyaz renkli, pelte gibi, hafif acımsı bir arı ürünüdür. Bugün için hem dünyada hem de ülkemizde insan sağlığında bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve korunmasında kullanıldığı gibi kolesterol ve tansiyon düşürmede, cinsel fonksiyonları iyileştirmede, hücre yenileyici ve onarıcı etkisinden dolayı cilt ve saç problemlerinde kullanılmaktadır. Bu kapsamda tüm dünyada ve özellikle Çin'de yüksek miktarda arı sütü üretilmekte ve ticareti yapılmaktadır. Polen üretimi gibi arı sütü üretimi de arıcılıktan elde edilen kazancı artırmaktadır (Akyol, 2015).

2.3.5. Propolis ve arı zehri

Propolis, işçi arılar tarafından ağaçlardan toplanan ve yine işçi arılar tarafından kovanda çatlak yerlerin kapatılmasında, kovana giren ve ölen yabancı böceklerin kokuşmasının önlenmesinde, petek hücrelerinin ve kovan iç çeperinin parlatılmasında ve yavru alanlarının hastalıklardan korunmasında kullanılır. Bileşiminde; reçine, polen, balmumu, eterik yağlar, değişik organik ve inorganik bileşikler vardır. Propolis içerisinde çok az miktarda bulunan ve organik çözücülerde çözünen 149 bileşik ve 20 iz element belirlenmiştir. Dermatoloji ve kozmetik alanlarındaki uygulamaları propolis ve özütlerinin en yaygın kullanıldığı yerlerdir. Propolisin doku üzerindeki yenileme ve iyileştirme etkileri araştırılarak mikrop ve mantar öldürücü özellikleri olduğu saptanmıştır (Kutluca vd, 2008).

Arı zehri, işçi arılarda zehir bezi tarafından arının çıkışından 20 günlük oluncaya kadar olan sürede üretilip zehir torbasında depolanan bir maddedir. Arı zehri; arı tarafından savunma amacıyla kullanılırken tıp alanında, arı zehrine karşı immünitenin artırılması ve romatizma hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Arı zehri üretimi için özel mekanizmalar gerekir. Ancak sınırlı kullanım alanından dolayı dünya üzerindeki üretim ve ticaret hacmi de sınırlıdır (Çelik vd, 2012).

2.4. Arı Genetiği

İlk genom projeleri, Sanger verileri ile BAC (Bacterial Artificial Chromosome - Bakteri Yapay Kromozomu) temelli hiyerarşik dizileme modelini ya da tüm genom Shotgun modelini kullanmıştır (Lander vd, 2001; Venter vd, 2001). Her iki durumda da tamamlanmış bir taslak genom, bir dizi omurgasını oluşturan kontigleri (devamlı dizi parçaları) içermekteydi. Kontigler arasındaki eksik diziler ise bu dizilerin tahmini büyüklüklerinin "Ns" olarak temsil edildiği belirsiz bazlardan oluşan genom parçalarını ifade etmektedir. Çok az sayıda Metazoan genomu, bu eksik dizilerin doldurulmasıyla tamamlanmıştır (*C. elegans* Sequencing Consortium, 1998; Celniker vd, 2002; International Human Genome Sequencing Consortium, 2004; Church vd, 2009). Taslak genomlardaki eksik diziler, gen tahmini yöntemleri kullanılarak genlerin özelliklerinin belirlenmesiyle anlamlandırılır yani hangi yolaklarda rol oynadıkları belirlenir (Elsik vd, 2014). GLEAN ile belirlenmiş bir korunmuş gen setinin oluşturduğu ilk Resmi Gen Seti'nde (OGSv1.0); *D. melanogaster* organizmasında

13.600 gen tanımlanmıştır. *Hymenoptera* (parazitik yaban arısı ve yedi karınca türü) genomlarının ise yaklaşık 17.000-18.500 protein kodlayan dizi içerdiği tahmin edilmektedir (Bonasio vd, 2010; Werren vd, 2010; Nygaard vd, 2011; Smith vd, 2011; Suen vd, 2011; Wurm vd, 2011).

Arı genomunun 2006 yılında dizilenmesi ile araştırmacılar, daha az sayıda (10.157) gen belirlemişlerdir. Tüm genom "tilling array" deneylerinde OGSv1.0 genleri için genler arası sinyallerinin saptanmasıyla kayıp genlere dair kanıtlar bulunmuştur. Sonuçta, OGSv1.0 genlerinin genom çapında dağılımının değerlendirilmesi, gen ve genomda o zaman bilinen özellikler için optimize edilmiş algoritmalara dayanan *in siliko* gen tahminleri ile önceden dizilenmiş herhangi bir metazoan genomundan farklı olarak OGSv1.0 genlerinin; ortalama GC içeriğinden (%33) daha düşük GC içeriğinden (%29) oluştuğu ve hatta %11 gibi çok düşük GC içeriği bulunan bölgelerde de yer aldığı belirlenmiştir (The Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006; Elsik vd, 2007).

Ayrıca, bal arısı genomuyla ilgili olarak aşağıdaki temel bulgular da Konsorsiyum tarafından rapor edilmiştir.

i. Genom, dizilenen diğer böcek genomlarına kıyasla yüksek A-T ve CpG içeriğine sahiptir. Ayrıca, birçok transpozon ailesi de genomda bulunmamaktadır.

ii. Evrimsel süreçte, bal arısı genomu, meyve sineği (*D. melanogaster*) ya da sıtmaya neden olan sivrisineğe (*Anopheles mosquito*) kıyasla daha yavaş değişir.

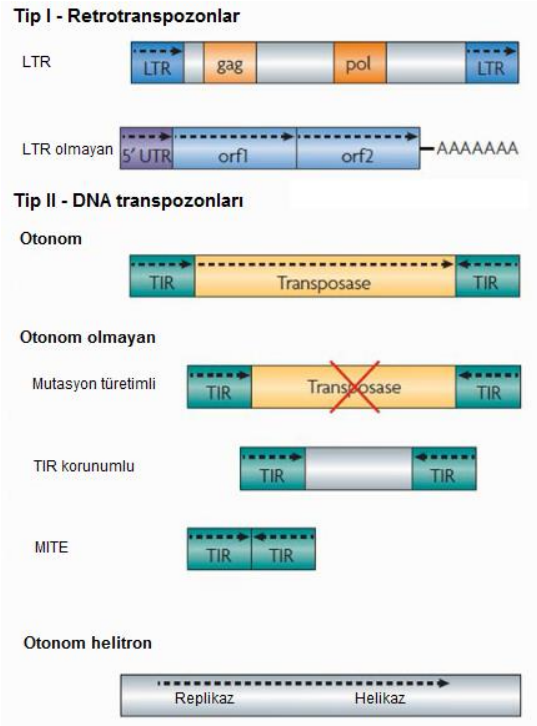
iii. Sirkadiyen ritim, DNA metilasyonu ve diğer birçok gen bakımından, bal arısı genomu, *Drosophila* ve *Anopheles* cinsi böceklerin genomlarından çok omurgalı genomlarına daha çok benzer.

iv. Doğal bağışıklık, detoksifiye enzimler, kütikül oluşumunda rol oynayan proteinler ve tat alma reseptörleri bakımından bal arısı genomunun *Drosophila* ve *Anopheles* genomlarından daha az, bununla birlikte koku reseptörleri, nektar ve polen kullanımı ile ilgili daha fazla gene sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, bal arısı ekolojisi ve sosyal organizasyonu ile uyumlu bulunmuştur (The Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006).

2.5. Transpozonlar

Transpozonlar, genomda bir bölgeden diğer bölgeye hareket etme yeteneğine sahip dizilerdir. 1989 yılında ilk defa Finnegan, transpoze olabilen elementleri, aracı moleküle göre sınıflandırma sistemini önermiştir. Bu sistemde, hareketli elementler transpozisyon mekanizmasına göre iki sınıfa ayrılmıştır: RNA (Sınıf I veya retrotranspozonlar) ya da DNA (Sınıf II veya DNA transpozonları). Sınıf I retrotranspozonlarının transpozisyon mekanizması; kopyala ve yapıştır, Sınıf II'nin ise kes ve yapıştır olarak isimlendirilir (Finnegan, 1989). Retrotranspozonlar, LTR (Long Terminal Repeat - Uzun Uç Tekrar Dizileri) dizileri ile sınırlandırılırken; DNA transpozonlarının uç kısımlarında TIR (Terminal Inverted Repeat - Ters Çevrilmiş Tekrarlar) dizileri bulunur.

Transpozonlar ayrıca kendi transpozisyonları için gerekli olan enzimleri üretip üretmemelerine göre otonom ve otonom olmayan transpozonlar olarak da sınıflandırılmışlardır (Şekil 2.1). Otonom elementler kendi transpozisyonları için gerekli enzimleri, özellikle transpozazı kodlayabilen transpozonlardır. Otonom olmayan transpoze olabilen elementler ise otonom olan elementlerde bulunan ve kodlanan dizilerden bazılarını içerebilirler veya otonom elementler aracılığı ile hareket ederler (Tanskanen vd, 2007).



Şekil 2.1. Transpozon türleri (Slotkin ve Martienssen, 2007)

Yatay gen aktarımı, farklı türler arasında genetik materyalin geçişi olarak ifade edilmektedir. Transpoze olabilen elementlerin (TE) farklı genomlarda bulunması yatay gen aktarımına kanıt olarak gösterilmektedir (Kidwell, 1992). Bununla birlikte, TE'lerin yatay aktarımı çoğunlukla hayvanlarda (Gilbert vd, 2010; Zhang vd, 2014) ve çok az sayıda bitkide (Wallau vd, 2012) tanımlanmıştır. Transpozonların yatay aktarımları genellikle üç kriter kullanılarak tespit edilir:

- Konakçı ve transpoze olabilen elementler arasında filogenetik uyumsuzluk,
- Filogenilerde TE'lerin bulunma oranının farklı olması,
- Uzak ilişkili türlerin genomunda yüksek benzerlikte TE dizilerin bulunmasıdır (Panaud, 2016).

2.5.1. Bitki transpozonları

Bitki genomlarında; retrotranspozonlar, DNA transpozonlarına kıyasla daha yüksek oranda bulunur. Retrotranspozonlar; LTR, DIRS, PLE, LINE ve SINE olmak beş farklı takımda toplamda 17 süper aileden oluşmaktadır (Wicker vd, 2007). DNA transpozonları ise TIR dizilerine ek olarak (Kapitonov ve Jurka, 2001; Morgante vd, 2005; Du vd, 2009; Yang ve Bennetzen, 2009; Yuan ve Wessler, 2011; Xiong vd, 2014) Helitron adı verilen ikinci bir TE sınıfı bulundurmaktadır. Bu sınıfta; a. PIF/Harbinger/Tourist, b. Ac/Ds/hAT veya DTA, c. CACTA veya DTC, d. Tc1/Mariner/Stowaway veya DTT ve e. Mutator/MULE ya da DTM dizileri yer almaktadır (McClintock, 1950; Robertson, 1978; McGinnis vd, 1983; Coen vd, 1986; Pereira vd, 1986; Bureau ve Wessler, 1994; Kapitonov ve Jurka, 2000; Zhang vd, 2001; Feschotte vd, 2003; Jiang vd, 2003; Wicker vd, 2003). Bugüne kadar altı tanesi özellikle çiçekli bitkilerde yapılan çalışmalarda olmak üzere bitkilerde toplam 12 tane DNA transpozon süper ailesi bildirilmiştir (Sahebi vd, 2018).

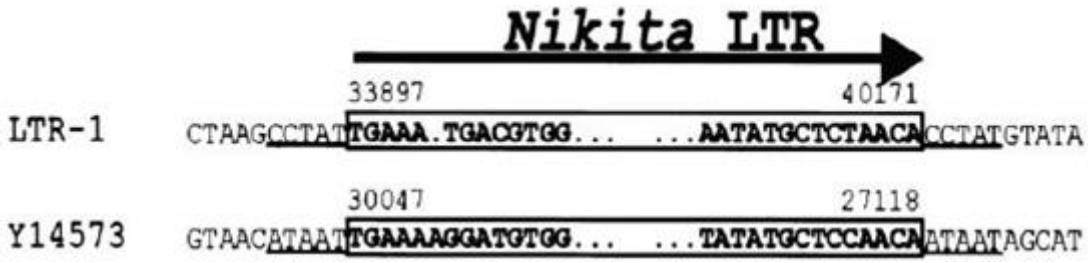
2.5.2. Böcek transpozonları

Tanımlanan transpozonların neredeyse tamamı eklem bacaklılarda, diğer hayvanlarda ve ilişkili bitkilerde, protistlerde ve bakterilerde yaygın olan *Mariner* ailesinin üyeleridir (Robertson, 1993; Robertson ve MacLeod, 1993; Robertson ve Lampe, 1995; Craig vd, 2002) . *Mariner* transpozonlarının, yeni *AmMar1*'in kopya dizileri ile eski *AmMar5* ve *AmMar6* dizilerinin kopyalarını içerdiği belirlenmiştir (Ebert vd, 1995; Lampe vd, 2003).

Genomda, birçok retrotranspozon bulunmasına karşın aktif TE dizilerinin varlığı ile ilgili kanıtlar azdır. Ayrıca, LTR retroviral benzeri birçok retrotranspozonun kalıntıları da genomda bulunmaktadır. Bu kalıntılara bir *Copia* ailesi dizisinin 15 kısmi dizisi ve yüksek oranda bozulmuş kopyaları, *A. gambiae*'nin kodlama yapan BEL12 elementi ile eşleşen 6 kısmi dizi (Eiglmeier vd, 2005) ve bir DIRS retrotranspozonun yüksek derecede bozulmuş 3 kopyası örnek olarak verilebilir (Goodwin vd, 2004). Ayrıca, *Drosophila*'da tanımlanan 11 tane LTR ve 7 tane LTR olmayan retrotranspozon kalıntısının da arı genomunda bulunduğu belirlenmiştir (Kaminker vd, 2002). Bal arılarının *R2* ailesinin aktif LTR olmayan retrotranspozonlarını içerdiği tanımlanmış olmasına karşın *R1* hattının bulunmadığı görülmüştür (Gillespie vd, 2006). Bununla birlikte, *B. mori*'nin *R1Bm* elementine en çok benzeyen *R1* benzeri bir elementin en az beş kısa bozulmuş kopyasının bulunması *R1* elementlerinin de bir zamanlar arı genomunda bulunduğunu göstermektedir (Xiong vd, 1988). Retrotranspozonların bu göreceli eksikliği, diğer böcek genlerinde hem LTR hem de LTR olmayan retrotranspozonların çeşitliliğini, kopya sayısını ve aktivitesini aydınlatma yönünden önemli bir bulgudur (Bigot vd, 1992; Varricchio vd, 1995; McAllister ve Werren, 1997; Krieger ve Ross, 2003; The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

2.5.3. *Nikita* retrotranspozonu

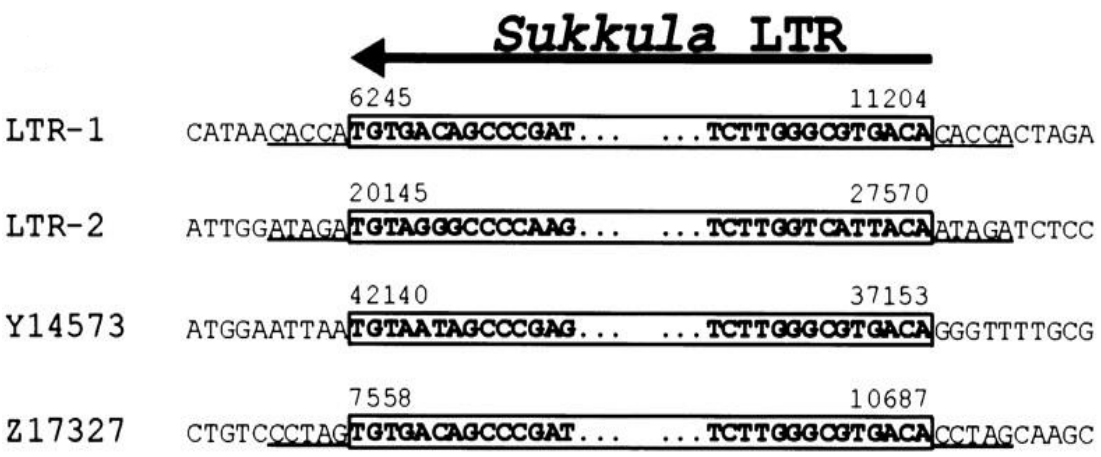
Nikita, arpada 33.897 ve 40.171 nükleotit pozisyonu arasında yerleşmiş olan solo LTR elementidir. *Nikita* dizisi Mlo lokusundaki 3 kb uzunluğundaki bir diziyle (30.047 ve 27.118 arasındaki nt pozisyonu) yüksek derecede ilişkidedir. *RarI* lokusundaki *Nikita* iki tane *BARE-1* retrotranspozonunun LTR'si (LTR-3 ve LTR-4) tarafından bölünmüştür. Şekil 2.2.'de, *Nikita*'nın terminal LTR dizisi kutu içine alınmıştır ve komşu olan 5 baz çiftinin altı çizilerek belirtilmiştir. DNA dizilerinin üzerindeki numaralar ise nt pozisyonlarını belirtmektedir (Shirasu vd, 2000).



Şekil 2.2. *Nikita* LTR dizisi (Shirasu vd, 2000)

2.5.4. *Sukkula* retrotranspozonu

Sukkula, arpada 6.245 ve 11.204 nükleotit pozisyonu arasında yerleşmiş olan solo LTR elementidir. *Sukkula* dizisi Mlo lokusundaki genler arasındaki dizilere ve bir *BARE-1* elementinin 3' LTR'sinde bulunan bir insersiyon dizisine benzerlik gösterir. 1.788 bç'lik bir parça, *BARE-1* LTR'de bulunan kopyadan silinmiş gibi görünmektedir. *BARE-1* LTR'ye yerleştirme, retroelement bölgelerine özgü 5 bç'lik doğrudan tekrar CCTAG ile çevrilidir. Benzer şekilde, *RarI* lokusundaki 5 kb'lık dizi ve 5 baz çiftlik direkt tekrarlar, bu durumda CACCA dizisi ile çevrelenmiştir, bu da ilgili 5 kb'lık dizilerin retrotranspozon türevlerini temsil ettiğini göstermektedir (Shirasu vd, 2000) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Sukkula* LTR dizisi (Shirasu vd, 2000)

2.6. IRAP-PCR Yöntemi

Retrotranspozonların genomdaki hareketleri, genomik DNA (gDNA) ile LTR dizileri arasında bağ oluşturduklarından, bu diziler moleküler markır olarak kullanılmaktadırlar (Gozukirmizi vd, 2015). IRAP (Inter-retrotransposon amplification polymorphism – Retrotranspozonlar Arası Çoğaltım Polimorfizmi) yöntemi, retrotranspozon temelli geliştirilen moleküler markırlardan biridir ve çalışma prensibi herhangi bir restriksiyon enzimine veya ligasyon aşamasına ihtiyaç duymaksızın PCR aracılığıyla polimorfizmin belirlenmesine dayanır (Kalendar ve Schulman, 2006).

Bu amaçla, çalışılacak retrotranspozonun LTR dizisinin 5' veya 3' ucuyla eşleşen, tek bir primer veya iki primer tasarlanır. Retrotranspozonların LTR dizileri çoğu zaman % 90-95 oranında benzerlik gösterdikleri için PCR'da tek bir primer, hem ileri hem de geri olarak kullanılabilir. Bu primerler kullanılarak retrotranspozon dizileri arasındaki genomik DNA bölgeleri çoğaltılır. Retrotranspozonlar, kopyala-yapıştır mekanizması ile hareket ettikleri için genomda ne kadar hareket ederlerse o kadar kendilerini kopyalar ve sonuçta IRAP-PCR'da çoğaltılan genomik DNA bölgeleri o kadar çoğalır (Kalendar ve Schulman, 2006).

Bu tez çalışmasında gelişim sürecinin beslenme ile ilişkisi bakımından model bir organizma olan bal arısında, arpa bitkisinde özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonlarının hareketleri IRAP yöntemi kullanarak araştırılmıştır. Elde edilen bant profilleri; kraliçe arı, işçi arı ve larvada karşılaştırılarak analiz edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışmasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Arıcılık İşletmesi'nden alınan *Apis mellifera caucasica* ırkı arılar kullanılmıştır. Tezde, 3 farklı koloninin birer ana arısı, 5'er işçisi ve 5'er larvası olmak üzere toplam 33 arıda; *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonlarının hareketleri IRAP-PCR yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

3.1. Genomik DNA İzolasyonu

İzolasyon sırasında kullanılacak havan - havanelleri, santrifüj tüpleri ve pipet uçları 121ºC'de 20 dakika süre ile otoklavlanarak steril edilmiştir. Örneklerin gDNA'ları, CTAB (Cetyltrimetyl Ammonium Bromide) yöntemine göre izole edilmiştir (Evans vd, 2013). İzolasyon protokolü aşağıda gösterildiği şekilde uygulanmıştır.

1. Sıvı azotla muamele edilen örnekler 1.5 ml'lik bir santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
2. Tüplere 500 µl CTAB (Çizelge 3.1) ve 2 µl β-merkaptoetanol [(%0.2) (v/v)] eklenmiştir.
3. 2.5 µl proteinaz K (20 µg/µl) ve 25 µl RNaz karışımı da tüplere konulmuştur ve kısa bir süre vortekslenmiştir.
4. Örnekler 55-65°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Örnekler, inkübasyon aşamasının ilk iki saati boyunca her 30 dakikada bir defa ters düz edilmiştir.
5. İnkübasyondan sonra tüpler, +4ºC'de 14.000 rpm hızda 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir.
6. Süpernatant, yeni tüplere aktarılmış ve üzerine eşit hacimde fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) eklenmiştir.
7. Karıştırmak için birkaç kez (10-20 kez) ters düz edilen tüpler, bu işlemin ardından 2 dakika boyunca buzda bekletilmiştir.
8. Tüpler, +4ºC'de 14.000 rpm hızda 15 dakika süresince tekrar santrifüj edilmiştir.
9. Süpernatant, yeni tüplere aktarılmış ve tüplere, 500 µl soğuk izopropanol ve 50 µl 3 M NaOAc (Sodyum asetat) eklenmiştir.
10. Vortekslenen tüpler, bu işlemin ardından 4°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra +4ºC'de 14.000 rpm hızda 30 dakika süresince santrifüj edilmiştir.

11. Pellet, 1 ml %75'lik EtOH (etanol) ile yıkanmış ve +4ºC'de 14.000 rpm hızda 3 dakika süresince santrifüj edilmiştir.
12. Yıkama işleminin ardından alkol uzaklaştırılmış ve tüpler, alkolün buharlaşması için oda sıcaklığında 10 dakika kurumaya bırakılmıştır.
13. Alkol uzaklaştıktan sonra pelletlerin üzerine 75 µl nükleaz içermeyen su eklenmiş ve pelletler çözdürülmüştür.
14. Elde edilen gDNA örneklerinin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.1. CTAB tampon içeriği

Çözelti	Molarite/Yüzde miktarı (Son konsantrasyon)
Tris-HCl	100 Mm
NaCl	1.4 M
EDTA	20 Mm
CTAB	%2 w/v (ağırlık/hacim)

3.2. Genomik DNA'ların Kalitatif ve Kantitatif Analizleri

Nükleik asit (DNA, RNA) örnekleri 260 nm, proteinler ise 280 nm dalga boylarında maksimum absorbansa sahiptirler. Bu iki dalga boyunda elde edilen absorbansların oranı saflık derecesini vermektedir. Nükleik asitler için saflık değerini 260/280 oranı verir. Beklenen saflık değeri; DNA ölçümleri için yaklaşık 1.8, RNA ölçümleri için yaklaşık 2.0 kabul edilmektedir (Budak, 2018). Bu çalışmada, gDNA örnekleri, spektrofotometrede (ThermoScientific Nanodrop 2000c, ABD) 260 nm'de ölçülerek konsantrasyonları belirlenmiştir. Ayrıca, nükleik asit saflık değerini verdiği için 260/280 nm ölçüm aralığındaki oran kullanılarak, bu aralıktaki değerler dikkate alınarak çalışılmıştır.

Örneklerin kantitatif analizi spektrofotometrede yapıldıktan sonra kalitatif analiz için elektroforez yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, %1'lik (w/v) agaroz jel hazırlamak için 10 gr agaroz tartılmış ve behere konulmuştur. Beher üzerine 10X TBE (Tris Borik Asit EDTA) (0.89 M Tris-borat, 0.89 M Borik asit ve 0.02 M EDTA, pH 8.0) tamponunun sulandırılması ile elde edilen 1X TBE tamponundan 100 ml eklenerek mikrodalga fırında homojen bir karışım elde edilene kadar çözdürülmüştür. Çözünme işleminin tamamlanmasının ardından homojen karışımın sıcaklığının yaklaşık 50˚C'ye düşmesi beklenmiştir.

İstenilen sıcaklığa ulaşan çözeltiye UV ışık altında DNA'ya bağlanarak bantların görüntülenmesine yardımcı olan etidyum bromürden (EtBr) 8 µl (10 mg/l) eklenerek karışıma dağılması sağlanmıştır. Tanka dökülen jele, taraklar yerleştirilmiş ve ardından jelin polimerizasyonunun gerçekleşmesi beklenmiştir. Polimerizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. 1X TBE tamponu içinde bulunan jele, 6X yükleme tamponu (R0611, Thermo Scientific) ile karıştırıldıktan DNA markırı (Gene Ruler, SM1331, Thermo Scientific) ve gDNA örnekleri yüklenmiştir. Jel, 120 V'da 120 dk olacak şekilde yürütüldükten sonra UV transilluminatör cihazı (ChemiDoc™ XRS+, 1708265, BioRad) kullanılarak görüntülenmiştir.

3.3. IRAP-PCR Analizleri

Kraliçe arı, işçi arı ve larvalardan izole edilen gDNA'lar kalıp olarak kullanılarak arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonlarının hareketleri IRAP-PCR yöntemiyle incelenmiştir. PCR'da kullanılan primerler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonlarına ait primerlerin dizileri

Primer adı	Primer dizileri	Bağlanma sıcaklığı (^{o}C)	Referans
Nikita	5'ACCCCTCTAGGCGACATCC3'	54	Leigh vd, 2003
Sukkula	3'GGAACGTCGGCATCGGGCTG5'		

Her iki retrotranspozonun da LTR dizileri benzer olduğu için tek bir primer kullanılmıştır. Reaksiyonda kullanılan bileşenler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. IRAP-PCR bileşenleri

PCR Bileşeni	Miktar (µl)	Final konsantrasyonu
DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)	12.5	1X
Primer (10 µM)	4	1.6 µM
Kalıp DNA (20 ng/µL)	4	3.2 ng/µL
Nükleaz İçermeyen Su	4.5	
Toplam	25	

Çizelge 3.3'te verilen bileşenler, tüplere konulmuş ve Çizelge 3.4'te verilen koşullarda PCR gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. IRAP-PCR koşulları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3'	1
Denatürasyon	95	30"	
Bağlanma	54	30"	35
Uzama	72	1'	
Son Uzama	72	5'	1

* *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonları için bağlanma sıcaklığı aynıdır.

IRAP-PCR sonrasında elde edilen ürünler, DNA markır ile birlikte %1'lik (w/v) jele yüklendi. Jel, Bölüm 3.2'de belirtildiği gibi hazırlandı. PCR ürünleri ve DNA markırı (Gene Ruler, SM1331, Thermo Scientific), 6X yükleme tamponuyla (R0611, Thermo Scientific) karıştırıldıktan sonra jele yüklendi. Jel, 120V'da 120 dk süresince yürütüldü. Yürütme sonrasında, bant profilleri UV transillüminatörde görüntülendi.

3.4. Polimorfizm Analizleri

Kraliçe arı, işçi arı ve larvalara ait bant profilleri, her bir örnek için tek tek incelenerek monomorfik ve polimorfik bantlar belirlendi. Örnekler arasındaki polimorfizm oranı Jaccard benzerlik indeksi kullanılarak hesaplandı (Jaccard, 1908).

J (Jaccard Benzerlik Katsayısı) = $M_{AB}/(M_A+M_B+M_{AB})$

M_A: A bireyinde var olan, B bireyinde olmayan bant sayısı

M_B: A bireyinde olmayan, B bireyinde var olan bant sayısı

M_{AB}: Hem A, hem de B bireyinde var olan bant sayısı

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, 3 farklı koloniye ait örnekler kullanılmıştır. Bireyler arasında doğal olarak meydana gelen bir polimorfizm olup olmadığını belirlemek için 5 işçi arı ve 5 larva ile her bir kolonide 1 kraliçe olmak üzere toplamda 33 arı örneği kullanılmıştır. Örnekler aşağıda gösterildiği gibi sembolize edilmiştir.

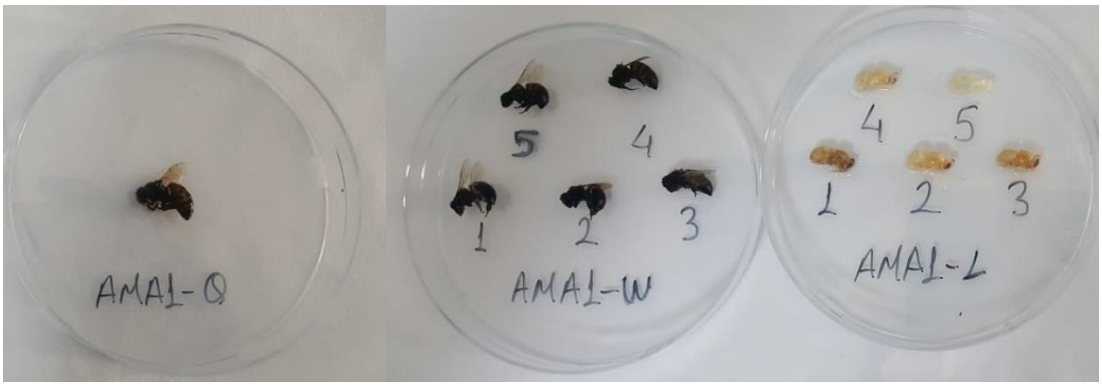
1K: 1. koloninin kraliçe arısı
1İ1: 1. koloninin 1. işçi arısı
1İ2: 1. koloninin 2. işçi arısı
1İ3: 1. koloninin 3. işçi arısı
1İ4: 1. koloninin 4. işçi arısı
1İ5: 1. koloninin 5. işçi arısı
1L1: 1. koloninin 1. larvası
1L2: 1. koloninin 2. larvası
1L3: 1. koloninin 3. larvası
1L4: 1. koloninin 4. larvası
1L5: 1. koloninin 5. larvası

2K: 2. koloninin kraliçe arısı
2İ1: 2. koloninin 1. işçi arısı
2İ2: 2. koloninin 2. işçi arısı
2İ3: 2. koloninin 3. işçi arısı
2İ4: 2. koloninin 4. işçi arısı
2İ5: 2. koloninin 5. işçi arısı
2L1: 2. koloninin 1. larvası
2L2: 2. koloninin 2. larvası
2L3: 2. koloninin 3. larvası
2L4: 2. koloninin 4. larvası
2L5: 2. koloninin 5. larvası

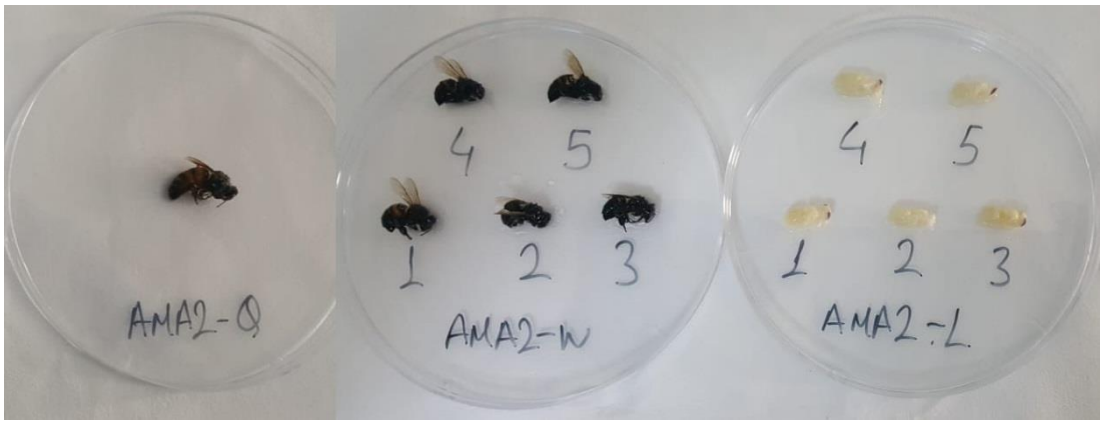
3K: 3. koloninin kraliçe arısı

3İ1: 3. koloninin 1. işçi arısı
3İ2: 3. koloninin 2. işçi arısı
3İ3: 3. koloninin 3. işçi arısı
3İ4: 3. koloninin 4. işçi arısı
3İ5: 3. koloninin 5. işçi arısı
3L1: 3. koloninin 1. larvası
3L2: 3. koloninin 2. larvası
3L3: 3. koloninin 3. larvası
3L4: 3. koloninin 4. larvası
3L5: 3. koloninin 5. larvası

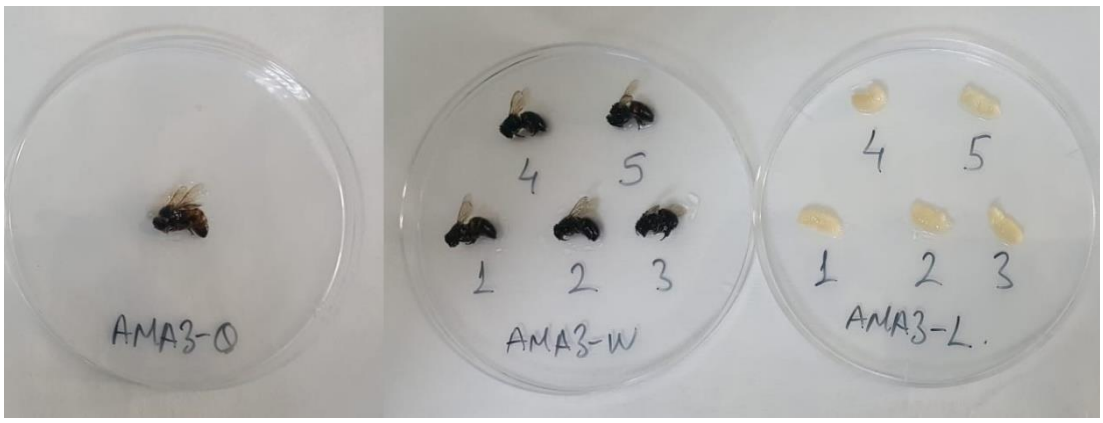
Her bir kolonide tek bir kraliçe arı olduğu için tek bir kraliçe ile, işçi ve larva örneklerinden ise 5 farklı biyolojik tekrar ile çalışılmıştır. 1. koloninin bireyleri Şekil 4.1'de, 2. koloninin bireyleri Şekil 4.2'de, 3. koloninin bireyleri Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 1. koloninin bireyleri (Q, kraliçe; W, işçi; L, larva)



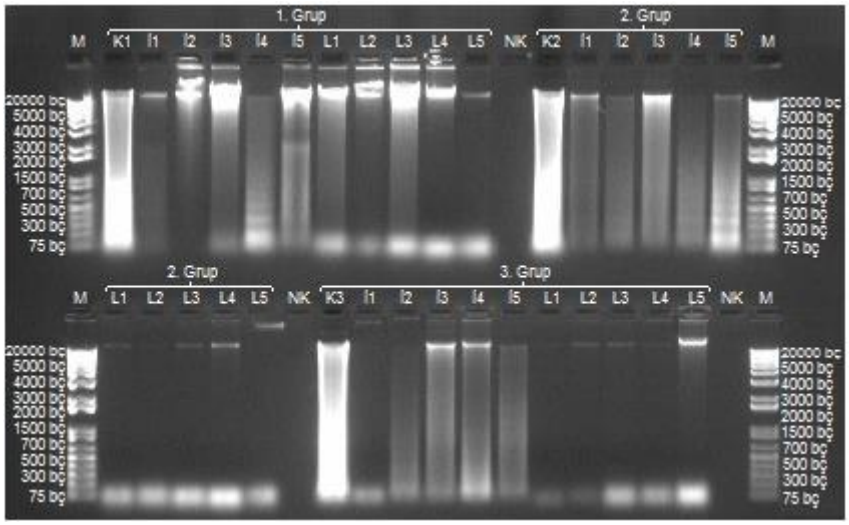
Şekil 4.2. 2. koloninin bireyleri (Q, kraliçe; W, işçi; L, larva)



Şekil 4.3. 3. koloninin bireyleri (Q, kraliçe; W, işçi; L, larva)

4.1. Genomik DNA İzolasyonu

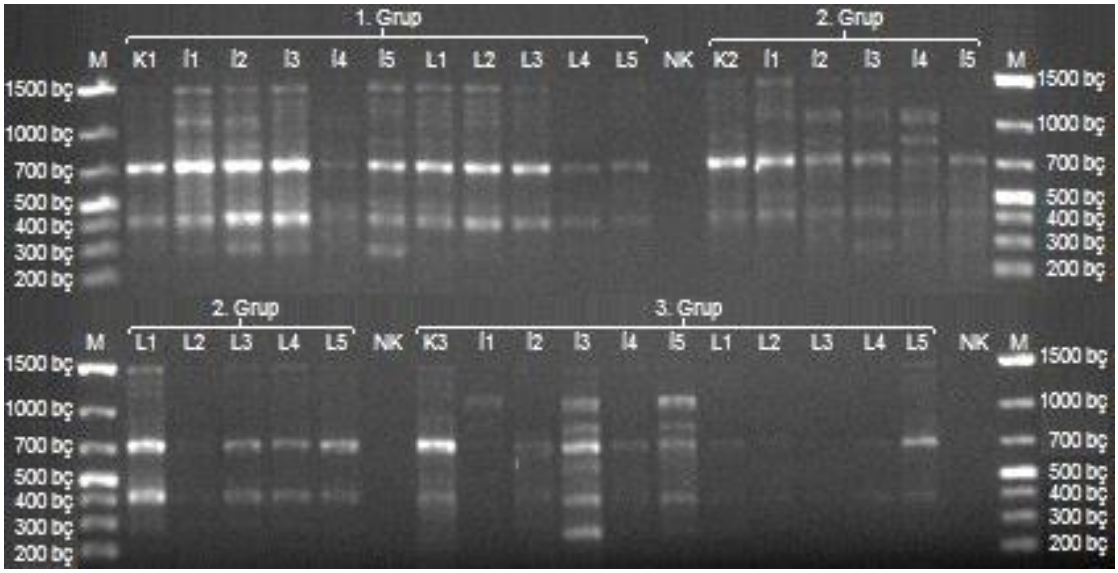
İzole edilen gDNA'ların kalitatif ve kantitatif analizleri sonucunda DNA'ların IRAP-PCR işlemlerinde kullanılabilecek kalitede ve saflıkta olduğu görülmüştür. Örneklerin gDNA'larına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Genomik DNA agaroz jel görüntüsü (M, markır; K, kraliçe; İ işçi; L, larva; NK, Negatif kontrol)

4.2. *Nikita* Retrotranspozonunun IRAP-PCR Sonuçları

Arpa bitkisine özgü *Nikita* retrotranspozonu; kraliçe arı, işçi arı ve larvalarda belirlenmiştir. Örnekler; IRAP-PCR sonucunda, 200-1500 bç aralığında bir bant profili göstermişlerdir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *Nikita* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonuçları (M, markır; K, kraliçe; İ işçi; L, larva; NK, Negatif kontrol)

Agaroz jel üzerinde görülen bantlar analiz edildiğinde, 123'ü homomorfik ve 108'i polimorfik olmak üzere toplamda 231 bandın bulunduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Bu sayılar kullanılarak örnekler arası polimorfizm oranları hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1. *Nikita* retrotranspozonu bant sayıları (+, homomorfik; -, polimorfik bant)

Bant / Örnek	+	-		+	-		+	-
1K	3	4	2K	4	3	3K	6	1
1İ1	7	0	2İ1	4	3	3İ1	1	6
1İ2	7	0	2İ2	5	2	3İ2	1	6
1İ3	7	0	2İ3	5	2	3İ3	7	0
1İ4	2	5	2İ4	4	3	3İ4	1	6
1İ5	7	0	2İ5	2	5	3İ5	3	4
1L1	6	1	2L1	6	1	3L1	1	6
1L2	6	1	2L2	2	5	3L2	1	6
1L3	5	2	2L3	3	4	3L3	1	6
1L4	2	5	2L4	3	4	3L4	1	6
1L5	2	5	2L5	2	5	3L5	6	1

Örnekler arasında *Nikita* retrotranspozonunun polimorfizmi hesaplanırken

i. tek tek her bir kolonide,

ii. koloni içerisindeki kraliçe arı, işçi arılar ve larvalar arasında

iii. koloniler arası kraliçeler, koloniler arası işçiler ve koloniler arası larvalar arasında analizler yapılmıştır.

Nikita retrotranspozonu tüm örneklerde belirlenmesinin yanı sıra çok yüksek bir polimorfizm yüzdesi (%0-100) göstermiştir. Ayrıca kolonilere tek tek bakıldığında, 1. koloninin bireyleri arasında, %0-71; 2. koloninin bireyleri arasında, %0-60 ve 3. koloninin bireyleri arasında %0-100 aralığında polimorfizm görülmüştür.

Koloni içindeki oranlara bakıldığında 1. kolonide kraliçe ile işçi arılar arasında ve kraliçe ile larvalar arasındaki polimorfizm oranlarının aynı olduğu görülmüştür (%0-71). Ayrıca işçi arılar ve larvalar arasında da %14-71 arası polimorfizm belirlenmiştir. 2. koloni incelendiğinde; kraliçe ile işçi arılar arasında %0-50 ve kraliçe ile larvalar arasında %0-57 polimorfizm oranı bulunurken bu oranın işçi arılar ve larvalar arasında da %67'ye çıktığı gözlenmiştir. 3 koloni arasından en fazla polimorfik bant 3. kolonide belirlenmiştir. Doğru orantılı olarak da polimorfizm oranları en yüksek olan koloninin 3. koloni olduğu belirlenmiştir. 3. kolonide, 1.

kolonide olduğu gibi kraliçe ile işçi arılar arasında ve kraliçe ile larvalar arasındaki polimorfizm oranlarının aynı ama daha yüksek olduğu görülmüştür (%0-83). Bununla beraber, işçi ve larvalar arasında da %0-100 polimorfizm belirlenmiştir.

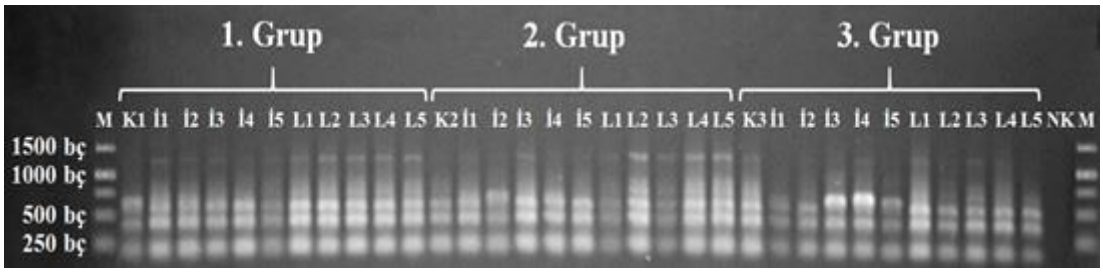
Koloniler arası polimorfizm oranları incelendiğinde 3 kraliçe arasında %25-33, işçi arılar arası %0-100 ve larvalar arası %0-83 oranlarında polimorfizm belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Hem koloni içinde hem de koloniler arasında farklı oranlarda polimorfizm tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. *Nikita* retrotranspozonu polimorfizm oranları

	1K	1İ1	1İ2	1İ3	1İ4	1İ5	1L1	1L2	1L3	1L4	1L5	2K	2İ1	2İ2	2İ3	2İ4	2İ5	2L1	2L2	2L3	2L4	2L5	3K	3İ1	3İ2	3İ3	3İ4	3İ5	3L1	3L2	3L3	3L4	3L5
1K	**0**																																
1İ1	**57**	**0**																															
1İ2	**57**	**0**	**0**																														
1İ3	**57**	**0**	**0**	**0**																													
1İ4	**33**	**71**	**71**	**71**	**0**																												
1İ5	**57**	**0**	**0**	**0**	**71**	**0**																											
1L1	**50**	**14**	**14**	**14**	**67**	**14**	**0**																										
1L2	**50**	**14**	**14**	**14**	**67**	**14**	**0**	**0**																									
1L3	**40**	**29**	**29**	**29**	**60**	**29**	**17**	**17**	**0**																								
1L4	**33**	**71**	**71**	**71**	**0**	**71**	**67**	**67**	**60**	**0**																							
1L5	**33**	**71**	**71**	**71**	**0**	**71**	**67**	**67**	**60**	**33**	**0**																						
2K	25	43	43	43	50	43	33	33	50	50	50	**0**																					
2İ1	25	43	43	43	50	43	33	33	20	50	50	**40**	**0**																				
2İ2	40	29	29	29	60	29	17	17	33	60	60	**20**	**20**	**0**																			
2İ3	40	29	29	29	60	29	43	43	33	60	60	**50**	**20**	**33**	**0**																		
2İ4	60	43	43	43	50	43	33	33	50	50	50	**40**	**40**	**20**	**50**	**0**																	
2İ5	33	71	71	71	0	71	67	67	60	0	0	**50**	**50**	**60**	**60**	**50**	**0**																
2L1	50	14	14	14	67	14	29	29	17	67	67	**57**	**33**	**43**	**17**	**57**	**67**	**0**															
2L2	33	71	71	71	0	71	67	67	60	0	0	**50**	**50**	**60**	**60**	**50**	**0**	**67**	**0**														
2L3	0	57	57	57	33	57	50	50	40	33	33	**25**	**25**	**40**	**40**	**60**	**33**	**50**	**33**	**0**													
2L4	0	57	57	57	33	57	50	50	40	33	33	**25**	**25**	**40**	**40**	**60**	**33**	**50**	**33**	**0**	**0**												
2L5	33	71	71	71	0	71	67	67	60	0	0	**50**	**50**	**60**	**60**	**50**	**0**	**67**	**0**	**33**	**33**	**0**											
3K	50	14	14	14	67	14	0	0	17	67	67	33	33	17	43	33	67	29	67	50	50	67	**0**										
3İ1	100	86	86	86	100	86	83	83	80	100	100	100	100	100	100	100	100	83	100	100	100	100	**83**	**0**									
3İ2	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**								
3İ3	57	0	0	0	71	0	14	14	29	71	71	43	43	29	29	43	71	14	71	57	57	71	**14**	**86**	**86**	**0**							
3İ4	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**	**86**	**0**						
3İ5	50	57	57	57	33	57	71	71	67	33	33	60	60	67	40	60	33	50	33	50	50	33	**71**	**100**	**67**	**57**	**67**	**0**					
3L1	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**	**86**	**0**	**67**	**0**				
3L2	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**	**86**	**0**	**67**	**0**	**0**			
3L3	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**	**86**	**0**	**67**	**0**	**0**	**0**		
3L4	67	86	86	86	50	86	83	83	80	50	50	75	75	80	80	75	50	83	50	67	67	50	**83**	**100**	**0**	**86**	**0**	**67**	**0**	**0**	**0**	**0**	
3L5	50	14	14	14	67	14	0	0	17	67	67	33	33	17	43	33	67	29	67	50	50	67	**0**	**83**	**83**	**14**	**83**	**71**	**83**	**83**	**83**	**83**	**0**

4.3. *Sukkula* Retrotranspozonunun IRAP-PCR Sonuçları

Sukkula retrotranspozonu, çalışılan tüm örneklerde ilk defa belirlenmiştir. Tüm örneklerin bant profillerinin 250-1500 bç aralığında dağıldığı görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Sukkula* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonuçları (M, markır; K, kraliçe; İ işçi; L, larva; NK, Negatif kontrol)

Bant profilleri incelendiğinde, 184'ü homomorfik ve 80'i polimorfik olmak üzere toplamda 264 bant incelenmiştir (Çizelge 4.3). Bu sayılar kullanılarak örnekler arası polimorfizm oranları hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. *Sukkula* retrotranspozonu bant sayıları (+, homomorfik; -, polimorfik bant)

Bant / Örnek	+	-		+	-		+	-
1K	4	4	2K	6	2	3K	7	1
1İ1	5	3	2İ1	5	3	3İ1	4	4
1İ2	5	3	2İ2	4	4	3İ2	4	4
1İ3	5	3	2İ3	5	3	3İ3	4	4
1İ4	5	3	2İ4	4	4	3İ4	5	3
1İ5	5	3	2İ5	4	4	3İ5	4	4
1L1	7	1	2L1	5	3	3L1	7	1
1L2	7	1	2L2	7	1	3L2	5	3
1L3	7	1	2L3	7	1	3L3	8	0
1L4	7	1	2L4	7	1	3L4	5	3
1L5	7	1	2L5	7	1	3L5	6	2

Polimorfizm analizleri, *Nikita* retrotranspozonunda olduğu gibi

i. tek tek her bir kolonide,

ii. koloni içerisindeki kraliçe arı, işçi arı ve larvalar arasında

iii. koloniler arası kraliçeler, koloniler arası işçiler ve koloniler arası larvalar arasında yapılmıştır.

Genel olarak bakıldığında *Sukkula* retrotranspozonu için tüm kolonilerin bireyleri arasındaki polimorfizm oranları % 0-67 aralığında tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 1. koloninin bireyleri arasındaki polimorfizm oranları % 0-43 aralığında, 2. koloninin bireyleri arasındaki polimorfizm oranları % 0-63 aralığında ve 3. koloninin bireyleri arasındaki polimorfizm oranları % 0-63 aralığında tespit edilmiştir.

Koloni içindeki oranlara bakıldığında 1. kolonide en yüksek polimorfizm oranı, kraliçe ile larvalar arasında (%43) belirlenmiştir. Ayrıca kraliçe ve işçi arılar arasında %20, işçi ve larvalar arasında %29 olmak üzere daha az polimorfizm tespit edilmiştir. 2. koloni incelendiğinde, 1. koloniden farklı olarak en düşük polimorfizm oranı kraliçe ile larvalar arasında (%14) görülmüştür. Kraliçe ile işçi arılar arasında %33-57 ile işçi ile larvalar arasında ise %0-63 oranında olmak üzere yüksek oranda polimorfizm belirlenmiştir. 3. kolonide ise kraliçe ile larvalar arasında %0-38, kraliçe ile işçi arılar arasında %43-63 ve işçi ile larvalar arasında ise %20-63 oranında olmak üzere yüksek oranda polimorfizm görülmüştür.

Koloniler arası polimorfizm oranları incelendiğinde 3 kraliçe arasında %14-57, işçiler arası %20-50 ve larvalar arası %0-43 oranlarında polimorfizm belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Hem koloni içinde hem de koloniler arasında farklı oranlarda polimorfizm tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Sukkula* retrotranspozonu polimorfizm oranları

	1K	1İ1	1İ2	1İ3	1İ4	1İ5	1L1	1L2	1L3	1L4	1L5	2K	2İ1	2İ2	2İ3	2İ4	2İ5	2L1	2L2	2L3	2L4	2L5	3K	3İ1	3İ2	3İ3	3İ4	3İ5	3L1	3L2	3L3	3L4	3L5
1K	**0**																																
1İ1	**20**	**0**																															
1İ2	**20**	**0**	**0**																														
1İ3	**20**	**0**	**0**	**0**																													
1İ4	**20**	**0**	**0**	**0**	**0**																												
1İ5	**20**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**																											
1L1	**43**	**29**	**29**	**29**	**29**	**29**	**0**																										
1L2	**43**	**29**	**29**	**29**	**29**	**29**	**0**	**0**																									
1L3	**43**	**29**	**29**	**29**	**29**	**29**	**0**	**0**	**0**																								
1L4	**43**	**29**	**29**	**29**	**29**	**29**	**0**	**0**	**0**	**0**																							
1L5	**43**	**29**	**29**	**29**	**29**	**29**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**																						
2K	57	43	43	43	43	43	14	14	14	14	14	**0**																					
2İ1	20	0	0	0	0	0	29	29	29	29	29	**43**	**0**																				
2İ2	67	50	50	50	50	50	63	63	63	63	63	**57**	**50**	**0**																			
2İ3	20	0	0	0	0	0	29	29	29	29	29	**43**	**0**	**50**	**0**																		
2İ4	40	20	20	20	20	20	43	43	43	43	43	**33**	**20**	**40**	**20**	**0**																	
2İ5	40	20	20	20	20	20	43	43	43	43	43	**33**	**20**	**40**	**20**	**0**	**0**																
2L1	20	0	0	0	0	0	29	29	29	29	29	**43**	**0**	**50**	**0**	**20**	**20**	**0**															
2L2	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	**14**	**29**	**63**	**29**	**43**	**43**	**29**	**0**														
2L3	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	**14**	**29**	**63**	**29**	**43**	**43**	**29**	**0**	**0**													
2L4	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	**14**	**29**	**63**	**29**	**43**	**43**	**29**	**0**	**0**	**0**												
2L5	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	**14**	**29**	**63**	**29**	**43**	**43**	**29**	**0**	**0**	**0**	**0**											
3K	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	14	29	63	29	43	43	29	0	0	0	0	**0**										
3İ1	40	20	20	20	20	20	43	43	43	43	43	33	20	40	20	0	0	20	43	43	43	43	**43**	**0**									
3İ2	40	20	20	20	20	20	43	43	43	43	43	33	20	40	20	0	0	20	43	43	43	43	**43**	**0**	**0**								
3İ3	67	50	50	50	50	50	63	63	63	63	63	57	50	0	50	40	40	50	63	63	63	63	**63**	**40**	**40**	**0**							
3İ4	50	33	33	33	33	33	50	50	50	50	50	63	33	20	33	50	50	33	50	50	50	50	**50**	**50**	**50**	**20**	**0**						
3İ5	40	20	20	20	20	20	43	43	43	43	43	33	20	40	20	0	0	20	43	43	43	43	**43**	**0**	**0**	**40**	**50**	**0**					
3L1	43	29	29	29	29	29	0	0	0	0	0	14	29	63	29	43	43	29	0	0	0	0	**0**	**43**	**43**	**63**	**50**	**43**	**0**				
3L2	50	33	33	33	33	33	29	29	29	29	29	17	33	50	33	20	20	33	29	29	29	29	**29**	**20**	**20**	**50**	**57**	**20**	**29**	**0**			
3L3	50	38	38	38	38	38	13	13	13	13	13	25	38	50	38	50	50	38	13	13	13	13	**13**	**50**	**50**	**50**	**38**	**50**	**13**	**38**	**0**		
3L4	20	0	0	0	0	0	29	29	29	29	29	43	0	50	0	20	20	0	29	29	29	29	**29**	**20**	**20**	**50**	**33**	**20**	**29**	**33**	**38**	**0**	
3L5	57	43	43	43	43	43	38	38	38	38	38	29	43	33	43	33	33	43	38	38	38	38	**38**	**33**	**33**	**33**	**43**	**33**	**38**	**17**	**25**	**43**	**0**

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonları; kraliçe arı, işçi arılar ve larvalarda ilk defa tanımlanmış ve bu retrotranspozonların hareketleri IRAP-PCR yöntemiyle ilk defa analiz edilmiştir. Her iki retrotranspozonda da polimorfik bantlar gözlenmesine karşın *Nikita* retrotranspozonunun daha polimorfik olduğu belirlenmiştir.

Transpozonların keşfi Mendel ve Morgan'ın çalışmalarından ortaya çıkan genomun statik olduğu görüşünde devrime neden olmuş, günümüzde geçerli olan "dinamik" genom kavramını açığa çıkarmıştır. Biyoinformatik yöntemlerin gelişmesi sonucunda yürütülen genom dizileme çalışmaları transpoze olabilen elementlerin birçok canlı türünde mevcut olduğunu göstermiştir. Bitki transpozonları genomun %50'sinden fazlasını oluştururken bu oranın insan genomlarında %45, hayvan genomlarında %3-60 olduğu görülmektedir. Bununla birlikte arılarda transpozon oranı %3 olarak tespit edilmiştir (Elsik vd, 2014; Lee ve Kim, 2014; Canapa vd, 2015).

Canlıların genomlarında farklı yüzdelerde bulunan bu hareketli diziler kullanılarak iki retrotranspozon arasındaki genomik DNA'nın çoğalması prensibine dayanan IRAP moleküler markırının yanı sıra retrotranspozon ve mikrosatellit dizilerinin kullanıldığı REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism), restriksiyon enzimleri ile kesim sonrası oluşan bölge ve transpozon arasındaki ilişkinin incelendiği SSAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism), retrotranspozonun genomda hareket ettiği bölgenin incelendiği RBIP (Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism), RAPD moleküler markırı ve retrotranspozonun birleştirildiği RRAP (RAPD-Retrotransposon Amplified Polymorphism) ve primer bağlanma bölgelerine (PBS) özgü primerlerin kullanılarak çoğaltım yapan iPBS (Inter-Primer Binding Site) olmak üzere birçok moleküler markır geliştirilmiştir (Gozukirmizi vd, 2015). Bu farklı markırlar kullanılarak transpozonların özellikle çok önemli bir yere sahip olan retrotranspozonların; tür tayinindeki rolleri, aynı türün farklı bireylerindeki farklılıkları, aynı canlıda organ farklılaşmasında ve/veya gelişimdeki rolleri, abiyotik/biyotik streslere karşı dirençteki rolleri gibi farklı yolaklardaki işlevleri yaygın olarak çalışılmaktadır (Bonchev vd, 2019; Zong vd, 2019).

Bu tez çalışmasında da *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonları tamamen farklı bir genom olan bal arısı genomunda tanımlanmıştır. Bu iki retrotranspozon ilk olarak arpa bitkisinde tanımlanmış olup, literatürde bu bitki kullanılarak yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu raporlardan birinde arpa doku kültürüyle oluşturulan 30, 60 ve 90 günlük kalluslar incelenmiş ve kalluslar arası polimorfizm oranlarının farklı olduğu görülmüştür (Bayram vd, 2012). Aynı çalışma grubu tarafından 40 ve 80 günlük kalluslarda da bir çalışma yapılmıştır. Kalluslar arasında %0-61 arasında polimorfizm bulunmuştur. Ayrıca kontrol olarak kullanılan arpa embriyosunda da %14 oranında polimorfizm belirlenmiştir (Kartal-Alaçam vd, 2014). Her iki çalışma da arpa bitkisinin farklı büyüme zamanlarından alınan örneklerde gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde farklı zaman dilimlerinde beslenme sonucunda farklı büyüme kapasitelerine sahip arılar kullanılmıştır. Örnekler arasında, *Sukkula* (%0-67) ve *Nikita* (%0-100) retrotranspozonlarında yüksek polimorfizm oranları belirlenmiştir ve sonuçlar yapılan önceki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Retrotranspozonların önemli özelliklerinden birisi de belirlendikleri genoma özgün olmamalarıdır. Belirli bir bitkiye özgün bir retrotranspozonun farklı bir bitkide tespit edildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonu anason bitkisinde çalışılmıştır. Her iki retrotranspozon bakımından herhangi bir polimorfizm tespit edilememesine karşın bu retrotranspozonların anason genomundaki varlığı kanıtlanmıştır (Maraklı, 2018). Karaçam bitkisinin iki varyetesinde (*Pinus nigra* var. *pyramidata* and *Seneriana*) yapılan başka bir çalışmada *Sukkula* retrotranspozonu, *pyramidata* çeşidinde %0-76 oranında polimorfizm gösterirken *Seneriana* çeşidinde polimorfizm tespit edilmemiştir. *Nikita* retrotranspozonunda ise benzer şekilde sadece *pyramidata* çeşidinde (%0-56) polimorfizm saptanmıştır (Marakli vd, 2019).

Bitkiye özgü retrotranspozonların insan genomunda tanımlandığı birçok çalışma bulunmaktadır. *Sukkula* retrotranspozonunu kullanarak IRAP-PCR yöntemiyle yapılan bir çalışmada; insanlar arasında %8-100 oranında polimorfizm tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada kadınlar arasında %10-91 oranında polimorfizm gözlenirken; erkekler arasında %13-100 oranında polimorfizm gözlendiği bildirilmiştir (Cakmak vd, 2017). Benzer şekilde insanda yapılan bir diğer çalışmada (Çakmak-Güner, 2018) *Nikita* retrotranspozonu bakımından %0-36 oranında polimorfizm tespit edilmiştir.

Bal arısı genomunda bitkilere kıyasla çok az miktarda transpozon bulunmaktadır. Gillespie vd. (2006) yaptıkları çalışmada bal arılarının ribozomal DNA (rDNA) birimlerinin *R2* ailesinin aktif LTR olmayan retrotranspozonlarını içerdiklerini ortaya koymuşlardır. Elsik vd. (2014) ise bal arılarının genomlarında; *copia, R2* ve *I* retrotranspozonları ile *mariner* ve *piggyBac* transpozonlarının bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında arpaya özgü iki retrotranspozon kraliçe arı, işçi arılar ve larvalarda tanımlanmıştır. Ayrıca her iki retrotranspozonun bu örnekler arasında farklı polimorfizm oranları gösterdiği de belirlenmiştir. Benzer şekilde Wang vd. (2017) yaptıkları çalışmada ana arıların ve erkek arıların farklı oranlarda *mariner, piggyBac, R2, copia, Bel-Pao* ve *I* transpozonlarını içerdiğini ancak işçi arıların sadece *mariner, piggyBac* ve *R2* transpozonlarını içerdiğini tespit etmişlerdir.

Lampe vd. (2003), farklı böcek türlerinde yaptıkları çalışmada *mariner* transpozon ailesinin üyeleri olan *Famar1, Ammar1, Ccmar1, Ccmar2* ve *Efmar1* transpozonlarını kullanarak arıda (*Apis mellifera*) ve üç böcek türünde (*Forficula auricularia, Ceratitis capitata* ve *Epicauta funebris*) HTT incelemiş ve transfer oranının yüksek olmadığını, genetik farklılıkların atasal gen geçişi nedeniyle birikimli olarak meydana geldiğini bildirmişlerdir. Oliveira vd. (2012), *mariner* transpozon ailesinin böceklerde yaygın olarak bulunduğunu, bununla birlikte yaklaşık 150 milyon yıldır, arıların ve karıncaların atasal *mariner* dizilerine sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Wu ve Lu (2019) ise 14 böcek türünde transpozonların türlerin farklılaşmasına etkisini incelemişlerdir. İnceledikleri *Hymenoptera* türleri arasında *Apis mellifera, Apis cerana* ve *Bombus terrestris* bulunmaktadır. *Apis mellifera* ve *Apis cerana* türlerinde kodlama yapmayan transpozon parçaları bulunduğunu ve birkaç *mariner* transpozonunun korunduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, *Bombus terrestris* türünde daha fazla korunmuş transpozon bulunduğunu bildirmişlerdir.

Farklı çalışmalarda, aileler arası ve hatta alemler arasından transpozon hareketleri belirlenmesine karşın hayvan ve bitki alemleri arasındaki transpozon transferi ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır (Lin vd, 2016). Meyerowitz (2002) yaklaşık 1.600 milyon yıl önce bitkilerin ve hayvanların ortak bir atadan köken alarak ayrıldıklarını bildirmiştir. Hayvan ve bitki arasında transpozonların yatay transferi (Horizontal Transfer of Transposon – HTT) ile ilgili detaylı bilgilerin elde edilmesindeki en önemli basamak fazla sayıda genomun dizilenmesidir. Gao vd.

(2018), hayvan ve çiçekli bitkiler arasında ilk potansiyel HTT örneğini, dizileme, filogenetik analiz ve evrimsel ilişkiyi belirleyerek rapor etmiştir.

Bu tez çalışmasında, arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonları; kraliçe arı, işçi arılar ve larvalarda ilk defa tanımlanmış ve bu retrotranspozonların hareketleri IRAP-PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Retrotranspozonların, stres koşullarında, tür tayininde, büyüme sırasında organ farklılaşmasında rol oynadıklarının ve retrotranspozon temelli moleküler markırlar kullanılarak bu dizilerin hareketlerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, arı genomunda HTT ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır ve ayrıca farklı gelişim dönemlerindeki retrotranspozon aktivitesinin bakıldığı çalışma da yok denecek kadar azdır. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, arı gelişiminde *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozon hareketlerinin farklılığını göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların, arı gelişimi üzerine etkili olan genetik faktörlerin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlaması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

Anonim, 2020. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#data (Erişim tarihi: 08.05.2020)

Akyol, E. 2015. Arı Sütünün Yapısı, İnsanlar ve Arılar İçin Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 15:1, 16-21.

Bayram, E., Yilmaz, S., Hamat-Mecbur, H., Kartal-Alacam, G. and Gozukirmizi, N. 2012. 'Nikita' retrotransposon movements in callus cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Omics*, 5:3, 211.

Bigot, Y., Lutcher, F., Hamelin, M.-H. and Périquet, G. 1992. The 28S ribosomal RNA-encoding gene of *Hymenoptera*: inserted sequences in the retrotransposon-rich regions. *Gene*, 121:2, 347-352.

Bonasio, R., Zhang, G., Ye, C., Mutti, N. S., Fang, X., Qin, N., Donahue, G., Yang, P., Li, Q. and Li, C. 2010. Genomic comparison of the ants *Camponotus floridanus* and *Harpegnathos saltator*. *Science*, 329:5995, 1068-1071.

Bonchev, G., Dušinský, R., Hauptvogel, P., Gaplovská-Kyselá, K. and Švec, M. 2019. On the diversity and origin of the barley complex agriocrithon inferred by iPBS transposon markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66:7, 1573-1586.

Bowen, N. J. and Jordan, I. K. 2002. Transposable elements and the evolution of eukaryotic complexity. *Current Issues in Molecular Biology*, 4, 65-76.

Budak, M. 2018. Karayaka ve Bafra koyunlarında süt verimi ile ilişkili bazı lokusların araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 109, Samsun.

Bureau, T. E. and Wessler, S. R. 1994. Stowaway: a new family of inverted repeat elements associated with the genes of both monocotyledonous and dicotyledonous plants. *The Plant Cell*, 6:6, 907-916.

Cakmak, B., Marakli, S. and Gozukirmizi, N. 2017. *Sukkula* retrotransposon movements in the human genome. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31:4, 756-760.

Canapa, A., Barucca, M., Biscotti, M. A., Forconi, M. and Olmo, E. 2015. Transposons, genome size, and evolutionary insights in animals. *Cytogenetic and Genome Research*, 147:4, 217-239.

Celniker, S. E., Wheeler, D. A., Kronmiller, B., Carlson, J. W., Halpern, A., Patel, S., Adams, M., Champe, M., Dugan, S. P. and Frise, E. 2002. Finishing a whole-genome shotgun: Release 3 of the *Drosophila melanogaster* euchromatic genome sequence. *Genome Biology*, 3:12, research0079.1.

Chinery, M. 1993. *Pareys Buch der Insekten*. Auflage edn. Parey, 326, Hamburg, Germany.

Church, D. M., Goodstadt, L., Hillier, L. W., Zody, M. C., Goldstein, S., She, X., Bult, C. J., Agarwala, R., Cherry, J. L. and DiCuccio, M. 2009. Lineage-specific biology revealed by a finished genome assembly of the mouse. *PLOS Biology*, 7:5. doi: 10.1371/journal.pbio.1000112

Coen, E. S., Carpenter, R. and Martin, C. 1986. Transposable elements generate novel spatial patterns of gene expression in *Antirrhinum majus*. *Cell*, 47:2, 285-296.

C. elegans Sequencing Consortium, 1998. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. S*cience*, 2012-2018.

Craig, N. L., Craigie, R., Gellert, M. and Lambowitz, A. M. 2002. *Mobile DNA II*. American Society of Microbiology, Washinhgton, USA.

Çakmak-Güner, B. 2018. İnsan genomunda retrotranspozon ve endojen retrovirüs analizleri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 104, İstanbul.

Çelik, K., Çoşkun, B., Kalmış, H., Demir, E., İleri, C., Benek, S., Timmers, B., Länsipuro, J.,Mucsi , I., Deconinck, K., Canalicchio, M., Amoroso, W., Gardi, T., Dymacz, M., Czerantiowicz, W. and Verdyt, S. 2012. Arıcılık El Kitabı. *Beekeeping European Environmental Sustainability 'Bees' projesi.* Erişim Adresi: *http://issuu. com/tudas-alapitvany/docs/bees-turkish*.

Delaplane, K. S. 2006. *Honey bees and beekeeping: A year in the life of an apiary*. University of Georgia, Georgia Center for Continuing Education, Athens, Georgia.

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J. L. and Alaux, C. 2013. Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter?. *PLOS One*, *8*:8, e72016. doi:10.1371/journal.pone.0072016

Du, C., Fefelova, N., Caronna, J., He, L. and Dooner, H. K. 2009. The polychromatic Helitron landscape of the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106:47, 19916-19921.

Ebert, P., Hileman IV, J. and Nguyen, H. 1995. Primary sequence, copy number, and distribution of mariner transposons in the honey bee. *Insect Molecular Biology*, 4:2, 69-78.

Eiglmeier, K., Wincker, P., Cattolico, L., Anthouard, V., Holm, I., Eckenberg, R., Quesneville, H., Jaillon, O., Collins, F. H. and Weissenbach, J. 2005. Comparative analysis of BAC and whole genome shotgun sequences from an *Anopheles gambiae* region related to *Plasmodium* encapsulation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35:8, 799-814.

Elkin, P. L. 2003. Primer on medical genomics part V: bioinformatics. *Mayo Clinic Proceedings*, *Elsevier*, 57-64.

Elsik, C. G., Mackey, A. J., Reese, J. T., Milshina, N. V., Roos, D. S. and Weinstock, G. M. 2007. Creating a honey bee consensus gene set. *Genome Biology*, 8:1, R13.

Elsik, C. G., Worley, K. C., Bennett, A. K., Beye, M., Camara, F., Childers, C. P., de Graaf, D. C., Debyser, G., Deng, J. and Devreese, B. 2014. Finding the missing honey bee genes: lessons learned from a genome upgrade. *BMC Genomics*, 15:1, 86.

Evans, J. D., Schwarz, R. S., Chen, Y. P., Budge, G., Cornman, R. S., De la Rua, P., de Miranda, J. R., Foret, S., Foster, L., Gauthier, L., Gisder, S., Jarosch, A., Kucharski, R., Lopez, D., Man-Lun, C., Moritz, R. F. A., Maleszka, R., Muñoz,

I., Pinto, M. A. and Genersch, E. 2013. Standard methods for molecular research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52:4, 1-54.

Feschotte, C., Swamy, L. and Wessler, S. R. 2003. Genome-wide analysis of mariner-like transposable elements in rice reveals complex relationships with stowaway miniature inverted repeat transposable elements (MITEs). *Genetics*, 163:2, 747-758.

Finnegan, D. J. 1989. Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends in Genetics*, 5, 103-107.

Gao, D., Chu, Y., Xia, H., Xu, C., Heyduk, K., Abernathy, B., Ozias-Akins, P., Leebens-Mack, J. H. and Jackson, S. A. 2018. Horizontal transfer of non-LTR retrotransposons from arthropods to flowering plants. *Molecular Biology and Evolution*, 35:2, 354-364.

Gilbert, C., Schaack, S., Pace II, J. K., Brindley, P. J. and Feschotte, C. 2010. A role for host–parasite interactions in the horizontal transfer of transposons across phyla. *Nature*, 464:7293, 1347-1350.

Gillespie, J., Johnston, J., Cannone, J. and Gutell, R. 2006. Characteristics of the nuclear (18S, 5.8 S, 28S and 5S) and mitochondrial (12S and 16S) rRNA genes of *Apis mellifera* (Insecta: *Hymenoptera*): structure, organization, and retrotransposable elements. *Insect Molecular Biology*, 15:5, 657-686.

Goodwin, T., Poulter, R., Lorenzen, M. and Beeman, R. 2004. DIRS retroelements in arthropods: identification of the recently active *TcDirs1* element in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Molecular Genetics and Genomics*, 272:1, 47-56.

Gozukirmizi, N., Yilmaz, S., Marakli, S. and Temel, A. 2015. Retrotransposon-based molecular markers; Tools for variation analysis in plants. *Research Signpost*, 19-45.

Gupta, R. K., Reybroeck, W., van Veen, J. W. and Gupta, A. 2014. *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security*. Springer, 665, Netherlands.

Guler, A., Ekinci, D., Biyik, S., Garipoglu, A. V., Onder, H. and Kocaokutgen, H. 2018. Effects of Feeding Honey Bees (*Hymenoptera*: *Apidae*) With Industrial Sugars Produced by Plants Using Different Photosynthetic Cycles (Carbon C3 and C4) on the Colony Wintering Ability, Lifespan, and Forage Behavior. *Journal of Economic Entomology*, 111:5, 2003-2010.

Güler, A. 2006. *Bal Arısı (Apis mellifera)*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No: 55, 47, Samsun.

International Human Genome Sequencing Consortium, 2004. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431:7011, 931.

Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-270.

Jiang, N., Bao, Z., Zhang, X., Hirochika, H., Eddy, S. R., McCouch, S. R. and Wessler, S. R. 2003. An active DNA transposon family in rice. *Nature*, 421:6919, 163-167.

Kalendar, R. and Schulman, A. H. 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*, 1:5, 2478.

Kaminker, J. S., Bergman, C. M., Kronmiller, B., Carlson, J., Svirskas, R., Patel, S., Frise, E., Wheeler, D. A., Lewis, S. E. and Rubin, G. M. 2002. The transposable elements of the *Drosophila melanogaster* euchromatin: a genomics perspective. *Genome Biology*, 3:12, research0084.1.

Kapitonov, V. V. and Jurka, J. 2000. *Transposable Elements and Genome Evolution*. Springer, 27-37.

Kapitonov, V. V. and Jurka, J. 2001. Rolling-circle transposons in eukaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98:15, 8714-8719.

Karadal, F. ve Yıldırım, Y. 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 9:3, 197-209.

Kartal-Alacam, G., Yilmaz, S., Marakli, S. and Gozukirmizi, N. 2014. Sukkula retrotransposon insertion polymorphisms in barley. *Russian Journal of Plant Physiology*, 61:6, 828-833.

Kidwell, M. G. 1992. Horizontal transfer. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2:6, 868-873.

Krieger, M. and Ross, K. 2003. Molecular evolutionary analyses of mariners and other transposable elements in fire ants (*Hymenoptera*: *Formicidae*). *Insect Molecular Biology*, 12:2, 155-165.

Kutluca, S., Genç, F. ve Korkmaz, A. 2008. Propolis. *Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, 57*.

Lampe, D. J., Witherspoon, D. J., Soto-Adames, F. N. and Robertson, H. M. 2003. Recent horizontal transfer of mellifera subfamily *mariner* transposons into insect lineages representing four different orders shows that selection acts only during horizontal transfer. *Molecular Biology and Evolution*, 20:4, 554-562.

Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M. and FitzHugh, W. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921.

Lee, S. I., and Kim, N. S. 2014. Transposable elements and genome size variations in plants. *Genomics & Informatics*, 12:3, 87-97.

Leigh, F., Kalendar, R., Lea, V., Lee, D., Donini, P. and Schulman, A. H. 2003. Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques. *Molecular Genetics and Genomics*, 269:4, 464-474.

Lerat, E. 2010. Identifying repeats and transposable elements in sequenced genomes: how to find your way through the dense forest of programs. *Heredity*, 104:6, 520.

Lin, X., Faridi, N. and Casola, C. 2016. An ancient transkingdom horizontal transfer of *Penelope-like* retroelements from arthropods to conifers. *Genome Biology and Evolution*, 8:4, 1252-1266.

Mansour, A. 2007. Epigenetic activation of genomic retrotransposons. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 6:2, 99-107.

Marakli, S. 2018. Transferability of Barley Retrotransposons (*Sukkula* and *Nikita*) to Investigate Genetic Structure of *Pimpinella anisum* L. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 30:3, 299-304.

Marakli, S., Calis, A. and Gozukirmizi, N. 2019. Determination of barley-specific retrotransposons' movements in *Pinus nigra ssp. pallasiana* varieties: *pyramidata* and *Seneriana*. *Russian Journal of Genetics*, *55*:1, 71-78.

Marzang, N., Mandoulakani, B. A., Shaaf, S., Ghadmizadeh, M., Bernousi, I., Holasou, H. A. and Sadeghzadeh, B. 2020. IRAP and REMAP-Based Genetic Diversity among Iranian, Turkish, and International Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural Science & Technology*, 22:1, 271-285.

McAllister, B. F. and Werren, J. H. 1997. Phylogenetic analysis of a retrotransposon with implications for strong evolutionary constraints on reverse transcriptase. *Molecular Biology and Evolution*, 14:1, 69-80.

McClintock, B. 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 36:6, 344-355.

McGinnis, W., Shermoen, A. W. and Beckendorf, S. K. 1983. A transposable element inserted just 5′ to a *Drosophila* glue protein gene alters gene expression and chromatin structure. *Cell*, 34:1, 75-84.

Meyerowitz, E. M. 2002. Plants compared to animals: the broadest comparative study of development. *Science*, 295:5559, 1482-1485.

Montagne, A. 2015. Etude de l'expression d'une transposase domestiquée: SETMAR. Université de Tours, 90, Tours, France.

Morgante, M., Brunner, S., Pea, G., Fengler, K., Zuccolo, A. and Rafalski, A. 2005. Gene duplication and exon shuffling by helitron-like transposons generate intraspecies diversity in maize. *Nature Genetics*, 37:9, 997-1002.

Mutlu, C., Erbaş, M. ve Tontul, S. A. 2017. Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 15:1, 75-83.

Nygaard, S., Zhang, G., Schiøtt, M., Li, C., Wurm, Y., Hu, H., Zhou, J., Ji, L., Qiu, F. and Rasmussen, M. 2011. The genome of the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior* suggests key adaptations to advanced social life and fungus farming. *Genome Research*, 21:8, 1339-1348.

Oliveira, S. G., Bao, W., Martins, C. and Jurka, J. 2012. Horizontal transfers of *Mariner* transposons between mammals and insects. *Mobile DNA*, 3:1, 14.

Panaud, O. 2016. Horizontal transfers of transposable elements in eukaryotes: the flying genes. *Comptes Rendus Biologies*, 339:7-8, 296-299.

Patel, H. 2018. Searching for the genetic basis of hygienic behavior and overwintering in the honeybee (*Apis mellifera*). Master Thesis, York University, 69, Toronto, Ontario, Canada.

Pereira, A., Cuypers, H., Gierl, A., Schwarz-Sommer, Z. and Saedler, H. 1986. Molecular analysis of the *En/Spm* transposable element system of *Zea mays*. *The EMBO Journal*, 5:5, 835-841.

Roberts, A. P., Chandler, M., Courvalin, P., Guédon, G., Mullany, P., Pembroke, T., Rood, J. I., Smith, C. J., Summers, A. O. and Tsuda, M. 2008. Revised nomenclature for transposable genetic elements. *Plasmid*, 60:3, 167-173.

Robertson, D. S. 1978. Characterization of a mutator system in maize. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 51:1, 21-28.

Robertson, H. M. 1993. The *mariner* transposable element is widespread in insects. *Nature*, 362:6417, 241-245.

Robertson, H. M. and Lampe, D. J. 1995. Distribution of transposable elements in arthropods. *Annual Review of Entomology*, 40:1, 333-357.

Robertson, H. M. and MacLeod, E. 1993. Five major subfamilies of *mariner* transposable elements in insects, including the Mediterranean fruit fly, and related arthropods. *Insect Molecular Biology*, 2:3, 125-139.

Roy, N. S., Lee, S. I., Nkongolo, K. and Kim, N. S. 2018. Retrotransposons in *Betula nana*, and interspecific relationships in the *Betuloideae*, based on inter-retrotransposon amplified polymorphism (IRAP) markers. *Genes & Genomics*, 40:5, 511-519.

Sahebi, M., Hanafi, M. M., van Wijnen, A. J., Rice, D., Rafii, M., Azizi, P., Osman, M., Taheri, S., Bakar, M. F. A. and Isa, M. N. M. 2018. Contribution of transposable elements in the plant's genome. *Gene*, 665, 155-166.

Saraswathi, M. S., Uma, S., Ramaraj, S., Durai, P., Mustaffa, M. M., Kalaiponmani, K. and Chandrasekar, A. 2020. Inter retrotransposon based genetic diversity and phylogenetic analysis among the Musa germplasm accessions. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 29:1, 114-124.

Schulman, A. H. and Kalendar, R. 2005. A movable feast: diverse retrotransposons and their contribution to barley genome dynamics. *Cytogenetic and Genome Research*, 110:1-4, 598-605.

Shirasu, K., Schulman, A. H., Lahaye, T. and Schulze-Lefert, P. 2000. A contiguous 66-kb barley DNA sequence provides evidence for reversible genome expansion. *Genome Research*, 10:7, 908-915.

Slotkin, R. K. and Martienssen, R. 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics*, 8:4, 272-285.

Smith, C. D., Zimin, A., Holt, C., Abouheif, E., Benton, R., Cash, E., Croset, V., Currie, C. R., Elhaik, E. and Elsik, C. G. 2011. Draft genome of the globally widespread and invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108:14, 5673-5678.

Stork, N. E., McBroom, J., Gely, C. and Hamilton, A. J. 2015. New approaches narrow global species estimates for beetles, insects, and terrestrial arthropods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112:24, 7519-7523.

Suen, G., Teiling, C., Li, L., Holt, C., Abouheif, E., Bornberg-Bauer, E., Bouffard, P., Caldera, E. J., Cash, E. and Cavanaugh, A. 2011. The genome sequence of the leaf-cutter ant *Atta cephalotes* reveals insights into its obligate symbiotic lifestyle. *PLOS Genetics*, 7:2. doi:10.1371/journal.pgen.1002007

Tanskanen, J. A., Sabot, F., Vicient, C. and Schulman, A. H. 2007. Life without GAG: The *BARE-2* retrotransposon as a parasite's parasite. *Gene*, 390:1-2, 166-174.

The Honeybee Genome Sequencing Consortium. 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443:7114, 931-949.

Varricchio, P., Gargiulo, G., Graziani, F., Manzi, A., Pennacchio, F., Digilio, M., Tremblay, E. and Malva, C. 1995. Characterization of *Aphidius ervi* (*Hymenoptera*, *Braconidae*) ribosomal genes and identification of site-specific insertion elements belonging to the non-LTR retrotransposon family. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25:5, 603-612.

Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A. and Holt, R. A. 2001. The sequence of the human genome. *Science*, 291:5507, 1304-1351.

Wallau, G. L., Ortiz, M. F. and Loreto, E. L. S. 2012. Horizontal transposon transfer in eukarya: detection, bias, and perspectives. *Genome Biology and Evolution*, 4:8, 801-811.

Wang, W., Ashby, R., Ying, H., Maleszka, R. and Forêt, S. 2017. Contrasting sex-and caste-dependent piRNA profiles in the transposon depleted haplodiploid honeybee *Apis mellifera*. *Genome Biology and Evolution*, 9:5, 1341-1356.

Werren, J. H., Richards, S., Desjardins, C. A., Niehuis, O., Gadau, J., Colbourne, J. K. and Group, N. G. W. 2010. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species. *Science*, 327:5963, 343-348.

Wessler, S. R. 2006. Transposable elements and the evolution of eukaryotic genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103:47, 17600-17601.

Wicker, T., Guyot, R., Yahiaoui, N. and Keller, B. 2003. CACTA transposons in *Triticeae*. A diverse family of high-copy repetitive elements. *Plant Physiology*, 132:1, 52-63.

Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J. L., Capy, P., Chalhoub, B., Flavell, A., Leroy, P., Morgante, M. and Panaud, O. 2007. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nature Reviews Genetics*, 8:12, 973-982.

Wu, C. and Lu, J. 2019. Diversification of Transposable Elements in Arthropods and Its Impact on Genome Evolution. *Genes*, 10:5, 338.

Wurm, Y., Wang, J., Riba-Grognuz, O., Corona, M., Nygaard, S., Hunt, B. G., Ingram, K. K., Falquet, L., Nipitwattanaphon, M. and Gotzek, D. 2011. The genome of the fire ant Solenopsis invicta. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108:14, 5679-5684.

Xiong, W., He, L., Lai, J., Dooner, H. K. and Du, C. 2014. HelitronScanner uncovers a large overlooked cache of Helitron transposons in many plant genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111:28, 10263-10268.

Xiong, Y., Burke, W. D., Jakubczak, J. L. and Eickbush, T. H. 1988. Ribosomal DNA insertion elements *R1Bm* and *R2Bm* can transpose in a sequence specific manner to locations outside the 28S genes. *Nucleic Acids Research*, 16:22, 10561-10573.

Yang, L. and Bennetzen, J. L. 2009. Distribution, diversity, evolution, and survival of Helitrons in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106:47, 19922-19927.

Yuan, Y.-W. and Wessler, S. R. 2011. The catalytic domain of all eukaryotic cut-and-paste transposase superfamilies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108:19, 7884-7889.

Zhang, H.-H., Feschotte, C., Han, M.-J. and Zhang, Z. 2014. Recurrent horizontal transfers of *Chapaev* transposons in diverse invertebrate and vertebrate animals. *Genome Biology and Evolution*, 6:6, 1375-1386.

Zhang, X., Feschotte, C., Zhang, Q., Jiang, N., Eggleston, W. B. and Wessler, S. R. 2001. P instability factor: an active maize transposon system associated with the amplification of Tourist-like MITEs and a new superfamily of transposases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98:22, 12572-12577.

Zhang, Z.-Q. 2013. Phylum Arthropoda. In: Zhang, Z.-Q.(Ed.) Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013). *Zootaxa*, 3703:1, 17-26.

Zong, Y., Kang, H., Fang, Q., Chen, X., Zhou, M., Ni, J., Zhang, Y., Wang, L., Zhu, Y. and Guo, W. 2019. Phylogenetic relationship and genetic background of blueberry (*Vaccinium* spp.) based on retrotransposon-based SSAP molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 247, 116-122.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı	: Cihat Erdem BÜLBÜL
Doğum Yeri	: Ladik/SAMSUN
Doğum Tarihi	: 23.07.1989
Yabancı Dili	: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise	: Namık Kemal Anadolu Lisesi (2006)
Lisans	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü (2018)
Yüksek Lisans	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı (2020)