

***TRITICUM BOEOTICUM* BOISS. VE *TRITICUM URARTU*
THUM. EX GANDIL. (POACEAE) TÜRLERİNE AİT
POPULASYONLARIN YENİ NESİL DİZİLEME
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF *TRITICUM BOEOTICUM* BOISS
AND *TRITICUM URARTU* THUM. EX GANDIL.
(POACEAE) POPULATIONS WITH THE NEXT
GENERATION SEQUENCING METHOD**

ATA UMUT ÖZSOY

DOÇ. DR BURCU TARIKAHYA HACIOĞLU

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2023

Bu tez çalışmamı rahmetli babam Ahmet Nadir ÖZSOY, sevgili annem Sevim ÖZSOY
ve bilimin ışığında yürüyen her insana ithaf ediyorum.

Ata Umut ÖZSOY

ÖZET

***TRITICUM BOEOTICUM* BOISS. VE *TRITICUM URARTU* THUM. EX GANDIL. (POACEAE) TÜRLERİNE AİT POPÜLASYONLARIN YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

ATA UMUT ÖZSOY

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burcu TARIKAHYA HACIOĞLU

Eylül 2023, 69 sayfa

Bu tez çalışmasında *Triticum baeoticum* Boiss. ve *Triticum urartu* Thum. Ex. Gandil. türlerine ait popülasyonları temsil eden 94 aksesyonun DArTseq dizileme metodu kullanılarak tür içi ve türler arasındaki farklılıklarının ortaya konması amaçlanmıştır. Gerçekleştirilen tez çalışmasında kullanılan 59 adet *Triticum urartu* aksesyonu USDA (U. S. Department of Agriculture)' dan elde edilmiş olup, 34 adet *Triticum baeoticum* aksesyonu ise TTGB (Türkiye Tohum Gen Bankası)'den elde edilmiştir. 94 aksesyona ait tohumlar TTGB iklimlendirme kabininde çimlendirildikten sonra TTGB Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan DNA'lar DArTseq dizilemesinin gerçekleştirilmesi için Diversity Arrays Technologies'e gönderilmiştir. DArT tarafından sağlanan SNP ve SilicoDArT verisetleri genotip verisini 2 farklı şekilde depolayan dosya formatlarıdır. SNP veri seti genotip verisini 0, 1 ve 2 şeklinde depolarken, SilicoDArT verisi 0/1 (var/yok) olarak depolamaktadır. DArT tarafından sağlanan SNP ve SilicoDArT verisetlerinden sırasıyla 56.188 ve 105.260 SNP ve SilicoDArT lokusu elde edilmiştir. Gerekli olan kalite filtrelemeleri sonrasında SNP ve SilicoDArT verisetlerinde bulunan lokus sayısı sırasıyla 16.898 ve 100.103 lokusa düşmüştür. Kalitesi ve tekrarlanabilirlik oranı yüksek olan genotip verileri ile popülasyon yapılarının ortaya çıkarılması için ADMIXTURE programı kullanılmıştır. Çapraz doğrulama hatası en düşük olan K değerine ve loglikelihood değeri en yüksek olan K değerine sahip olan Q matrisleri popülasyon yapısını

incelemek için dendrogramlara dönüştürülmüştür. *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerine ait popülasyonlar arası varyansı ortaya çıkarmak için AMOVA analizi gerçekleştirilmiştir. Popülasyonlar arası ana varyasyon kaynaklarını iki boyutlu düzlemde görselleştirebilmek için PCoA analizi gerçekleştirilmiştir. 94 aksesyon arasındaki evrimsel ilişkinin ortaya konulabilmesi için SNP veri setinden elde edilen FASTA dosyası maksimum olabilirlik (maximum likelihood) istatistiksel metodu ve UPGMA (aritmetik ortalama ile ağırlıksız çift grup yöntemi) kümeleme algoritması kullanılarak dendrogramlara dönüştürülmüş ve iTOL v6.8 kullanılarak görselleştirilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerine ait aksesyonların iki farklı türe ait farklı popülasyonlara olduğu gözlemlenmiştir. Analizler sonucunda, *Triticum urartu* ve *Triticum baeoticum* türleri arasında yüksek düzeyde genetik çeşitliliğin var olduğu gözlemlenmiştir. Bu yüksek çeşitlilik, AMOVA analizindeki yüksek Phi-statistics değeri ve PCoA analizindeki geniş varyans ile de desteklenmektedir. Bunun yanı sıra DArTseq dizileme metodunun birbirinden morfolojik olarak ayırt edilmesi güç türleri moleküler olarak ayırt edebilen, maliyet ve hız açısından güçlü bir teknik olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik, Genomik, DArTSeq, Yeni Nesil Dizileme, *Triticum baeoticum*, *Triticum urartu*.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF *TRITICUM BOEOTICUM* BOISS AND *TRITICUM URARTU* THUM. Ex GANDIL. (POACEAE) POPULATIONS WITH THE NEXT GENERATION SEQUENCING METHOD

Ata Umut OZSOY

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Burcu TARIKAHYA HACIOĞLU

September 2023, 69 pages

In this thesis study, it was aimed to reveal the intra- and inter-species differences among 94 accessions representing the populations of *Triticum baеoticum* Boiss. and *Triticum urartu* Thum. Ex. Gandil. by using the DArTseq sequencing method. The 59 *Triticum urartu* accessions used in the thesis study were obtained from the USDA (U.S. Department of Agriculture), and the 34 *Triticum baеoticum* accessions were obtained from the TTGB (Turkey Seed Gene Bank). After germination in the TTGB climate chamber, DNA isolations were performed at the TTGB Molecular Biology Laboratory. The purified DNAs were sent to Diversity Arrays Technologies for DArTseq sequencing. SNP and SilicoDArT datasets provided by DArT are file formats that store genotype data in two different ways. The SNP dataset stores genotype data as 0, 1, and 2, while SilicoDArT data stores it as 0/1 (presence/absence). A total of 56,188 and 105,260 SNP and SilicoDArT loci were obtained from the SNP and SilicoDArT datasets provided by DArT. After the necessary quality filtering, the number of loci in the SNP and SilicoDArT datasets dropped to 16,898 and 100,103, respectively. The

ADMIXTURE program was used to reveal population structures with high-quality and reproducible genotype data. The Q matrices with the lowest cross-validation error K-value and the highest log-likelihood K-value were transformed into dendrograms for examining population structure. An AMOVA analysis was performed to reveal the variance between the populations of *T. urartu* and *T. baeoticum*. A PCoA analysis was performed to visualize the main sources of variation between populations on a two-dimensional plane. To reveal the evolutionary relationship between the 94 accessions, the FASTA file obtained from the SNP dataset was transformed into dendrograms using the maximum likelihood statistical method and UPGMA clustering algorithm and visualized using iTOL v6.8. As a result of the analyses, it was observed that the accessions of *T. urartu* and *T. baeoticum* belong to different populations of two different species. The analyses showed that there is a high level of genetic diversity between *Triticum urartu* and *Triticum baeoticum* species. This high diversity is also supported by the high Phi-statistics value in the AMOVA analysis and the wide variance in the PCoA analysis. In addition, it was understood that the DArTseq sequencing method is a powerful technique in terms of cost and speed, capable of molecularly distinguishing species that are difficult to morphologically distinguish from each other.

Keywords: Bioinformatic, Genomic, New Generation Sequencing, DArTSeq, *Triticum urartu*, *Triticum baeoticum*.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında düşüncelerimin ve emeklerimin daima arkasında duran, aktardığı bilgi ve birikimleri ile gerçekleştirdiğim çalışmalardaki yaklaşımların gelişmesini sağlayan çok değerli tez danışmanım ve hocam Sn. Doç. Dr. Burcu TARIKAHYA HACIOĞLU'na, tez denemelerim sırasında desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen PERLab üyeleri sevgili arkadaşlarım Cansu KILIÇ, Özge ÇAKMAK, Ezgi KÜÇÜKEL ve Deniz USLU' ya içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar her anımda desteğini hissettiğim sevgili annem Sevim ÖZSOY'a ve manevi desteğini bu süreç zarfında hiçbir zaman eksik etmeyen sevgili kız arkadaşım Elif Nilay DALCI'ya çok teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK' tarafından 1001- Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı kapsamında 123R003 numaralı proje ile desteklenmiştir. Sağladıkları maddi destekten ötürü TÜBİTAK'a, tüm tez denemelerimin gerçekleştirmiş olduğum Türkiye Tarım Gen Bankası'nın Biyoçeşitlilik ve Genetik Kaynaklar Bölümü eski bölüm başkanı Sn. Dr. Şenay BOYRAZ TOPALOĞLUNA'a, yeni bölüm başkanı Sn. Dr. Fatma Rüveyda ALKAN'a, bölüm başkan yardımcısı Sn. Dilek İNCEKÖSE BAĞLAN'a ve diğer tüm Türkiye Tarım Gen Bankası Biyoçeşitlilik ve Genetik Kaynaklar Bölümü çalışanlarına içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	9
2.1. <i>Triticum urartu</i> Thumanjan ex Gandilyan ve <i>Triticum baeoticum</i> Boiss. Türlerine Ait Tohum Materyallerinin Elde Edilmesi.....	9
2.2. Tohum Materyallerinin Vernilizasyonu ve Çimlendirilmesi	12
2.3. Örneklerin Toplanması ve DNA İzolasyonu için Hazırlanması	13
2.4. Taze Yaprak Dokusundan DNA İzolasyonu.....	14
2.5. İzole Edilen DNA'ların Agaroz Jelde Görüntülenmesi	17
2.6. İzole Edilen DNA'ların Saflık ve Konsantrasyon Ölçümü.....	17
2.6.1. DNA Saflık Ölçümü	17
2.7. Saflık ve Miktar Tayini Yapılan DNA'ların Normalizasyonu.....	18
2.8. Normalize Edilen DNA'ların Diversity Array Technologies Firmasına Gönderimi	18
2.8.1. Diversity Array Technologies Firmasına İş Emri Takip Çizelgesinin Oluşturulması.....	18
2.8.2. İş Emrinin Oluşturulması.....	18
2.8.3. DNA Örneklerinin Paketlenmesi ve Gönderilmesi	19
2.9. DArTSeq Dizileme İşleminin Gerçekleştirilmesi	19
2.10. DArTSeq Dizileme Metoduyla Elde Edilen Verilerin DArTSoft Programı ile Skorlanması.....	20

2.11. R Programlama Dilinin ve RStudio Tümüleşik Geliştirme Ortamının Yüklenmesi.....	20
2.12. Skorlanan SilicoDArT ve SNP Veri Setlerinin Belirli Kalite Değerlerine Göre Filtrelenmesi	21
2.13. Popülasyon Yapısı Analizlerinin Gerçekleştirilmesi.....	22
2.14. Moleküler Varyans Analizi	22
2.15. Temel Koordinat Analizi	23
2.16. Filogenetik Analizlerin Gerçekleştirilmesi ve Oluşturulan Filogenetik Ağaçların Görselleştirilmesi	23
3. SONUÇLAR	25
3.1. Taze Yaprak Dokusundan DNA İzolasyonu	26
3.1.1. DArTSoft Programı Aracılığı ile Elde Edilen SNP ve SilicoDArT Belirteçlerinin Filtrelenmesi ve Temel İstatistiklerin Belirlenmesi	29
3.2. Tüm Belirteçlerin Kromozomlara Göre Dağılımı Temel İstatistikler	48
3.3. Popülasyon Yapısı Analizleri	50
3.4. Moleküler Varyans Analizleri	52
3.5. Temel Koordinat Analizleri (PCoA)	53
3.6. Filogenetik Analizler	59
4. TARTIŞMA VE YORUM	62
4.1. <i>T. urartu</i> ve <i>T. baeoticum</i> Aksesyonlarının Türkiye Coğrafi Bölgelerine Dağılımı	62
4.2. Genetik İlişkilerin Ortaya Çıkarılması İçin DArTseq Yönteminin Seçilmesi... ..	62
4.3. Temel İstatistikler	63
4.4. Popülasyon Yapısı Analizleri	63
4.5. Temel Koordinat Analizleri	63
4.6. UPGMA ve Filogenetik Analizler	64
4.7. Yorum	64
5. KAYNAKLAR	66
EKLER.....	70
EK 1 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	70

ÖZGEÇMİŞ	71
----------------	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tohumların yetiştirilmesi için kullanılacak saksıların hazırlanması	12
Şekil 2.2. Ekimi yapılan tohumların iklimlendirme kabineye yerleştirilmesi.....	12
Şekil 2.3. Örnek alımına hazır hale gelen aksesyonlar (<i>Triticum urartu</i>)	13
Şekil 2.4. Örnek alımına hazır hale gelen aksesyonlar (<i>Triticum baeticum</i>).....	14
Şekil 3.1. Filtreleme öncesi SNP lokusa göre çağrı oranı grafiği.....	41
Şekil 3.2. Filtreleme sonrası SNP lokusa göre çağrı oranı grafiği.....	41
Şekil 3.3. Filtreleme öncesi SNP minör allel frekansı dağılım grafiği	42
Şekil 3.4. Filtreleme sonrası SNP minör allel frekansı dağılım grafiği.....	42
Şekil 3.5. Filtreleme öncesi SNP tekrarlanabilirlik oranı grafiği	42
Şekil 3.6. Filtreleme sonrası SNP tekrarlanabilirlik oranı grafiği	43
Şekil 3.7. Filtreleme öncesi SilicoDArT çağrı oranı grafiği.....	43
Şekil 3.8. Filtreleme sonrası SilicoDArT çağrı oranı grafiği.....	44
Şekil 3.9. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı grafiği	44
Şekil 3.10. Filtreleme sonrası SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı grafiği.....	45
Şekil 3.11. Filtreleme öncesi SNP veri seti ısı haritası.....	45
Şekil 3.12. Filtreleme sonrası SNP veri seti ısı haritası.....	46
Şekil 3.13. İmpütasyon sonrası SNP veri seti ısı haritası	46
Şekil 3.14. Filtreleme öncesi SilicoDArT veri seti ısı haritası	47
Şekil 3.15. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti ısı haritası	47
Şekil 3.16. İmpütasyon sonrası SilicoDArT veri seti ısı haritası.....	48
Şekil 3.17. Çapraz doğrulama hatası grafiği.....	51
Şekil 3.18. Popülasyon sayısı (K) 2 iken ADMIXTURE popülasyon atasallık grafiği..	51
Şekil 3.19. Popülasyon sayısı (K) 5 iken ADMIXTURE popülasyon atasallık grafiği..	51
Şekil 3.20. SNP temel koordinat analizi grafiği	58
Şekil 3.21. SilicoDArT temel koordinat analizi grafiği.....	58
Şekil 3.22. SNP verisi ile oluşturulan ML filogenetik ağacı	60
Şekil 3.23. SNP verisi ile oluşturulan UPGMA filogenetik ağacı.....	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. TTGB'den elde edilen <i>T. urartu</i> ve <i>T. baeoticum</i> türlerine ait aksesyonların çalışma kodu, aksesyon kodu ve toplandıkları şehirler.....	9
Çizelge 2.2. USDA'dan elde edilen <i>T. urartu</i> türüne ait aksesyonların çalışma kodu, aksesyon kodu ve toplandıkları şehirler	10
Çizelge 2.3. İklimlendirme kabini yetiştirme koşulları	13
Çizelge 3.1. 94 aksesyondan gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonuçları	26
Çizelge 3.2. Filtreleme öncesi SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı dağılımı	31
Çizelge 3.3. Filtreleme öncesi SNP veri seti çağrı oranı istatistikleri	31
Çizelge 3.4. Filtreleme öncesi SNP veri seti minör allel frekansı dağılımı.....	32
Çizelge 3.5. Filtreleme öncesi SNP veri seti minör allel frekansı istatistikleri	32
Çizelge 3.6. Filtreleme öncesi SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı.....	33
Çizelge 3.7. Filtreleme öncesi SNP veri seti tekrarlanabilirlik istatistikleri.....	33
Çizelge 3.8. Filtreleme sonrası SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı dağılımı	34
Çizelge 3.9. Filtreleme sonrası SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı istatistikleri.....	34
Çizelge 3.10. Filtreleme sonrası SNP veri seti minör allel frekansı dağılımı	35
Çizelge 3.11. Filtreleme sonrası SNP veri seti minör allel frekansı istatistikleri.....	35
Çizelge 3.12. Filtreleme sonrası SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı.....	36
Çizelge 3.13. Filtreleme sonrası SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri	36
Çizelge 3.14. Filtreleme öncesi SilicoDArT veri seti çağrı oranı dağılımı	37
Çizelge 3.15. Filtreleme öncesi SilicoDArT SNP veri seti çağrı oranı istatistikleri	37
Çizelge 3.16. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı dağılımı.....	38
Çizelge 3.17. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri	38
Çizelge 3.18. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti çağrı oranı dağılımı.....	39
Çizelge 3.19. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti çağrı oranı istatistikleri	39
Çizelge 3.20. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı	40
Çizelge 3.21. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri.....	40
Çizelge 3.22. SNP ve SilicoDArT belirteçlerinin kromozomlara göre dağılımı.....	49
Çizelge 3.23. SNP ve SilicoDArT belirteçlerinin temel istatistikleri.....	49

Çizelge 3.24. Admixture Programı kullanılarak gerçekleştirilen analiz sonuçları ...	50
Çizelge 3.25. SNP AMOVA testi sonuç çizelgesi (Metadata nPOP= 2).....	52
Çizelge 3.26. SilicoDArT AMOVA testi sonuç çizelgesi (Metadata nPOP= 2)	53
Çizelge 3.27. SNP Veri setiyle oluşturulan temel bileşenler matrisi	53
Çizelge 3.28. SilicoDArT Veri setiyle oluşturulan temel bileşenler matrisi	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ml	Mililitre
ul	Mikrolitre
gr	Gram
ng	Nanogram
M	Molar
mM	Milimolar
cm	Santimetre
°C	Santigrat derece
w	Moleküler ağırlık
v	Hacim

Kısaltmalar

DArT	Diveristy Arrays Technologies
DArTseq	Diveristy Arrays Technologies Sekanslama
YND	Yeni nesil Dizileme
WGS	Tüm Genom Dizileme
TRS	Hedeflenmiş Bölge Dizilemesi
TTGB	Türkiye Tohum Gen Bankası
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
SilicoDArT	Var/Yok Verisi
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi Verisi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
gDNA	Genomik Deoksiribo Nükleik Asit
CTAB	Setil Trimetilamonyum Bromür

TE	Tris-EDTA Tamponu
TAE	Tris-Asetik Asit-EDTA Tamponu
TBE	Tris-Borik Asit EDTA Tamponu
EB	Absorsiyon Azaltıcı Tampon
MAF	Minör Allel Frekansı
MCMC	Markov Zinciri Monte Carlo
PCoA	Temel Koordinat Analizi
PC	Temel Bileşen

1. GİRİŞ

Poaceae ailesi, Poales takımına bağlı geniş ve çeşitli bir bitki ailesidir. Kendine özgü bir çeşitlilik sunan bu aile, dünya genelinde yaklaşık 12.000 türü barındırmaktadır (Soreng vd., 2015). Daha önce Antonie Laurent de Jussier tarafından 1789 yılında *Genera of Plantarum* kitabının 28.bölümünde "Gramineae" olarak adlandırılan bu aile, 1970'lerde gerçekleştirilen taksonomik revizyonlar sonucunda, taksonomik sınıflandırmanın daha doğru yansıtılması amacıyla "Poaceae" olarak adlandırılmıştır. Hem tarımsal hem de ekosistemsel anlamda büyük bir öneme sahip olan bu aile, küresel tahıl üretiminin büyük bir bölümünü oluşturarak insan beslenmesinde önemli bir rol üstlenmekle beraber hayvansal beslenme için önemli olan bir dizi yem bitkisini de içinde barındırmaktadır (Peng vd., 2011). Poaceae ailesi, tür çeşitliliği açısından çiçekli bitkiler arasında ilk beş içerisinde yer almakta ve Anomochlooideae, Aristidoideae, Arundinoideae, Bambusoideae, Chloridoideae, Danthonioideae, Ehrhartoideae, Micrairoideae, Panicoideae, Pharoideae, Pooideae olmak üzere 12 alt aileden oluşmaktadır (Soreng vd., 2015). Dünyanın her yerine yayılan Poaceae ailesine ait türler, Arktik tundralarından tropik ormanlara, çöllere kadar yüksek dağ zirvelerine kadar çeşitli habitatlarda bulunabilmektedir (Jasechko vd., 2013). Bu geniş habitat yelpazesi, ailenin geniş genetik çeşitliliğini ve evrimsel adaptasyon yeteneğini ön plana çıkarmaktadır. Kuzey ve Güney Kutupları'na yakın bölgelerde, Poaceae ailesinin türleri genellikle kısa, sert ve çok yıllık bitkilerdir. Bu bitkiler, düşük sıcaklık ve yüksek rüzgarlı koşullara dayanabilmek için uyum sağlamışlardır. Bu türlerin yavaş büyüme özelliği, düşük besin seviyelerine adapte olma yeteneği ile birleşmektedir, bu durum bu türlerin soğuk ve sert iklim koşullarına sahip kutup bölgelerinde yaşamalarını sağlamaktadır. Tropikal bölgelerde, Poaceae ailesinin türleri son derece çeşitlidir. Bu türler, yüksek sıcaklık ve nem seviyelerine uyum sağlamışlardır. dolayısıyla bu durum türlerin tropikal yağmur ormanları ve bataklıklar gibi sucul ortamlarda ve nemli topraklarda yaşayabilmelerini sağlamıştır. Çöl ve yarı çöl iklim bölgelerinde, Poaceae türleri su kaynaklarının sınırlı olduğu koşullara adapte olmuşlardır. Bu bitkiler, sıcak ve kuru koşullarda hayatta kalabilmek için su tutma ve su kaybını önleme yetenekleri üzerinde evrimleşmişlerdir. Ayrıca, bu türler, yüksek tuz seviyelerine ve sıcaklık dalgalanmalarına karşı dayanıklıdır. Yüksek irtifa bölgelerinde, Poaceae türleri genellikle düşük oksijen seviyelerine, soğuk ve rüzgarlı koşullara, yüksek ultraviyole

radasyona ve azalan besin seviyelerine adapte olmuşlardır. Bu türler, bu zorlu koşullar altında büyüme ve üreme yeteneğine sahip olan dayanıklı ve esnek bitkilerdir (Kellogg, 2001; Clark ve Londoño, 2013).

Poaceae ailesinin ekonomik öneminin temel belirleyicilerinden biri, birçok türün insanların temel gıda maddelerinin başlıca kaynakları olmasıdır. Bu ailedeki türler arasında *Oryza sativa* L., *Zea mays* L., *Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Desf. (Atlant), *Hordeum vulgare* L., *Secale cereale* L., *Avena sativa* L. ve *Saccharum officinarum* L. gibi önemli tahıl ve tarım ürünleri bulunmaktadır. Dünya genelinde tahıl üretimi ve tüketimi, tüm gıda ürünlerinin üretimi ve tüketimi içinde önemli bir paya sahiptir. Dünya nüfusunun büyük bir kısmı, her gün tahılların sağladığı enerji ve besin maddelerine bağımlı bir şekilde yaşamaktadır. Bu tahıllar ayrıca hayvan yemi olarak da kullanılır ve bu şekilde et, süt ve yumurta üretimi gibi hayvansal üretim temelini oluşturmaktadır (Tzvelev, 1989). Poaceae ailesinin ekonomik önemi sadece gıda üretimi ile sınırlı değildir. Bu ailede bulunan bazı türler biyoyakıtların önemli bir kaynağıdır. Özellikle mısır ve şeker kamışı, etanol üretiminde ana hammadde olarak kullanılır. Biyoyakıtlar, fosil yakıtların çevresel ve ekonomik sorunlarına bir yanıt olarak giderek daha önemli hale gelmektedir. Biyoyakıtlar, sera gazı emisyonlarını azaltabilir ve yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımını artırabilir (Djajadi vd., 2017). Ekonomik önemin yanı sıra, Poaceae ailesi aynı zamanda ekolojik öneme sahip olan bir ailedir. Bu türler, toprak erozyonunu önlemekte, karbon ve su döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır (Wand vd., 1999). Poaceae ailesinin karakteristik morfolojik özellikleri, genellikle yatay olarak büyüyen ve yeni bitkilerin oluşmasına yardımcı olan rizomlar ve stolonlar şeklindeki yer altı srgnleridir. Bu zellik, Poaceae türlerinin geniş alanlara yayılmasını ve çevresel stres koşullarına hızlı bir şekilde cevap verebilmesini sağlamaktadır. Poaceae türlerinin çoğunda, yapraklar iki sıra halindedir. Bu, türlerin güneş işığından maksimum fayda sağlamasını ve fotosentez verimliliğini artırmasını sağlar. Yapraklar genellikle dar ve düzdür, çoğunlukla sivri uçlu ve bazen saçaklı veya tüylüdür. Bu ailedeki türlerin çoğunda çiçekler, salkım veya başak şeklinindedir. Her iek genellikle küçük ve belirgin bir perianth (iek örtüsü) olmaksızın, bir kaliks ve iki brakte içermektedir. Bu iekler genellikle rüzgarla tozlaşır, bu da Poaceae türlerinin geniş alanlara yayılmasını ve genetik çeşitlilik oluşturmasını sağlar (Briggs vd., 2005).

Triticum cinsi, 18 cinsi ve 80 türü bulunan *Triticeae* Dumort. tribusuna aittir. Bu tribus, arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve çavdar (*Secale cereale* L.) gibi ekonomik değeri yüksek tahılları içeren Poaceae ailesinin öne çıkan tribuslarından biridir (Edet, vd. 2018). *Triticum* cinsi, Linne tarafından 1753'te *Aegilops* L. cinsiyle yakın olarak tanımlandığından beri çoğu araştırmacı tarafından ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir (Goncharov, 2011). Türkiye'de *Triticum* cinsi altında 10 tür bulunmaktadır: *T. urartu*, *T. baeoticum*, *T. monococcum*, *T. dicoccon*, *T. dicoccoides*, *T. araraticum*, *T. turgidum* L., *T. carthlicum* Nevski, *T. durum* ve *T. aestivum*'dur (Tan, 1985). Bu türlerden *T. baeoticum*, *T. urartu*, *T. araraticum* ve *T. dicoccoides* Türkiye florasında yabani tür olarak bulunmaktadı. *Triticum* türlerinin teşhisinde en güncel ve sık kullanılan teşhis anahtarları, Türkiye Florası'nın 9. cildinde ve Cabi (2010) 'da belirtilen tür teşhis anahtarlarıdır. Ancak, Türkiye Florası'nın 9. cildinde *T. urartu* ve *T. araraticum* türleri bulunmadığı için bu türler anahtar tür listesinde yer almamıştır. *Triticum* cinsi içerisindeki türlerin morfolojik olarak büyük bir varyasyon gösterdiği bilinmektedir (Cabi, 2010). Kültür bitkilerine genetik olarak yakın olan ve bu bitkilerin özelliklerine katkı sağlama potansiyeli olan yabani bitkiler "kültür bitkilerinin yabani akrabaları" olarak adlandırılır. Tarımın kökeni ve gelişim süreci hakkında ilginin ilk kez 19. yüzyılda Alexander van Humbold, Charles Darwin ve Alphonse de Candolle'un çalışmalarıyla arttığı görülmektedir (Kilian vd., 2009). Tarımın kökeninin ilk olarak Yakın Doğu'da olduğunu iddia eden "Oasis teorisi" 1928'de Childe tarafından ortaya atılmıştır. Bu teoriye göre, tarımın ilk kez başladığı bölge, Robert Braidwood'un "hilly flanks of breasted's 'fertile Crescent'" olarak tanımladığı bölgedir (Braidwood ve Braidwood, 1950; Braidwood vd., 1969). Bu terim daha sonra James Henry Breasted tarafından "Verimli Hilal" olarak literatüre girmiştir (Breasted, 1938). Tarımın dünyada ilk kez verimli hilal bölgesinde başladığı düşünülmektedir (Kilian vd., 2010). Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesi bu verimli hilal içerisinde ve bu bölgede *T. baeoticum*, *T. dicoccoides*, *T. urartu* ve *T. araraticum* türleri doğal olarak yetişmektedir. *T. baeoticum* türünün kültüre alınması sonucunda siyez buğdayı (*T. monococcum* L.-AA), *T. dicoccoides* türünün kültüre alınması sonucunda ise gernik buğdayı (*T. dicoccon* Schrank. ex Schubl.-AABB) ortaya çıkmıştır. *T. dicoccoides* ayrıca ekmeklik buğdayın (*T. aestivum*-AABBDD) atasal türüdür (Özberk vd., 2016). Diploid bir buğday türü olan *T. urartu* ise, *T. aestivum* L. (AABBDD)'un A genomunun atasal progenitörüdür.

Modern biyolojik bilimlerin temel yapı taşı olarak kabul edilen DNA molekülü, son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda büyük önem kazanmış ve bilim dünyasının simgesi haline gelmiştir. Ancak bu hikaye Avery, Macleod ve McCarty'nin gerçekleştirdiği çalışmalarla başlamasının bilinmesinin aksine, İsviçreli biyokimyacı olan Dr. Friedrich Miescher ile başlamaktadır. Miescher, zamanının öncü bir ismi olan Hoppe-Seyler'in Tübingen'deki laboratuvarında insan lökosit hücrelerindeki proteinleri araştırmaya başladı. Yaptığı deneyler sırasında, proteinlerden farklı bir özelliği olan beklenmedik bir madde elde ederek DNA'yı ilk kez saflaştıran bilim insanı oldu. Daha sonra bu maddeyi detaylı olarak inceleyen ve proteinlerden farklı olduğunu gösteren Miescher, bu maddeye hücre çekirdeğinde bulunmasından dolayı "nüklein" adını verdi. Bugün deoksiribonükleik asit (DNA) olarak adlandırılan bu terim, bilim dünyasında hala kullanılmaktadır. F. Miescher'in DNA'yı keşfi, bilim tarihinin en önemli dönüm noktalarından biri olarak kabul edilmektedir (Dahm,2005; Dahm, 2010).

1943 yılında Oswald Avery, Colin MacLeod ve Maclyn McCarty tarafından gerçekleştirilen bir araştırma, DNA'nın bakteriyel transformasyon mekanizmasındaki temel bileşenin DNA olduğunu göstererek, F. Miescher'in keşfinden sonra önemli bir adım atmıştır. Organizmaların işlevsel fonksiyonlarının alt yapısının DNA tarafından oluşturulduğunun anlaşılması, DNA'nın sırlarını çözmek için araştırmacıları cesaretlendirmiştir (Lederberg, 1994). Rosalind Franklin ise, X-ışını kristalografisi tekniğini kullanarak DNA'nın üç boyutlu yapısını analiz eden bir araştırmacı olarak, X-ışınlarına maruz bıraktığı DNA kristallerinden elde ettiği difraksiyon desenlerini inceledikten sonra, DNA molekülünün çift sarmal yapısı hakkında önemli bilgilere ulaşmıştır (Klug, 1968).

Pauling ve Corey' in 1953 yılında Nature dergisinde yayınlanan "A Proposed Structure for the Nucleic Acids" adlı makalesi, nükleik asitlerin yapısı hakkında önemli bir tartışma sunmuştur. Pauling ve Corey, makalede nükleik asitlerin helikal bir yapıya sahip olabileceğini öne sürmüştür. Ancak DNA'nın çift sarmallı heliks yapısını doğru bir şekilde modellendirememiştir. Makale, proteinlerin yapısının keşfine yol açan önemli bir öncü çalışma olan alfa sarmalının tanımlanmasıyla da dikkat çekmiştir. Pauling ve Corey, amino asitlerin polipeptid zincirleri arasındaki bağların doğasını

anlatarak, proteinlerin katlanma özelliklerinin anlaşılmasına katkıda bulunan alfa sarmal yapısını ilk kez tanımlamışlardır (Pauling ve Corey, 1953). Öte yandan, Watson ve Crick'in 1953 yılında yayınladığı makale, DNA'nın çift sarmallı heliks yapısının keşfi için devrim niteliğinde bir adım atmıştır. Bu makale, Rosalind Franklin'in yaptığı çalışmaların da dahil olduğu x-ışını kristalografisi yöntemi kullanılarak elde edilen verilerle DNA'nın iki zincirli bir molekül olduğunu ve bazların hidrojen bağları aracılığıyla birbirine bağlandığını göstermiştir. Watson ve Crick, adenin-guanin ve sitozin-timin gibi baz çiftlerinin özellikleri hakkında da açıklamalar yaparak, DNA'nın yapısının anlaşılmasında önemli bir adım atmıştır (Watson ve Crick, 1953).

DNA dizileme teknolojileri, DNA zincirinin tüm veya belirli bir bölgesinin nükleotit dizilimini belirlemek için kullanılan yöntemlerdir. Bu teknolojiler, insan genomunun tamamının dizilenmesi gibi büyük ölçekli projelerden, bireysel örneklerin hızlı ve ucuz bir şekilde dizilenmesine kadar çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır.

1975 yılında Fredrick Sanger ve Alan Coulson, "plus-minus" dizileme tekniğini geliştirerek DNA'nın çoğaltılması prensibine dayalı yöntemi yayınlamıştır. Bu metot, radyoaktif işaretlenmiş nükleotitlerin kullanımı ve DNA polimeraz I enzimi sayesinde gerçekleştirilmiştir (Sanger ve Coulson, 1975). İki yıl sonra, Allan Maxam ve Walter Gilbert, "Maxam-Gilbert" sekanslama tekniğini bilim dünyasına sunmuşlardır. Bu yöntem, "plus-minus" dizileme tekniğine göre saflaştırılmış DNA'nın kullanımının daha kolay olmasından dolayı daha popüler hale gelmiştir (Maxam ve Gilbert, 1977). Aynı yıl içerisinde, F. Sanger ve çalışma arkadaşları, dideoksi zincir sonlandırma metodunu geliştirerek uzun DNA dizilerinin nükleotit dizilimini belirlemeyi mümkün kılmıştır. Bu yöntem, Sanger'in 1980 yılında 2. Nobel ödülü kazanmasını sağlamıştır. Sanger'in bu yöntemi sayesinde kazandığı Nobel ödülünü, Walter Gilbert ve Allan Maxam ile paylaşması ise bilimsel işbirliğinin önemini vurgulamaktadır. Sanger dizileme tekniği, moleküler biyolojinin temel aracından biri olarak günümüzde de önemli bir yere sahiptir ve birçok keşfin yapılmasına imkan tanımıştır (Sanger vd., 1977).

Fredrick Sanger, bu tekniği kullanarak 1977 yılında *E. coli* bakterisini enfekte eden PhiX174 bakteriyofajının genomunu dizilemiştir. Bu çalışma ilk tüm genom dizileme

çalışması olup, PhiX genomu Fredrick Sanger'e atfen pozitif kontrol genomu olarak kullanılmaktadır (Sanger vd., 1977).

1987 yılında Applied Biosystems (ABI) şirketinde çalışan Leroy Hood ve Michael Hunkapiller, Sanger dizileme yöntemini kullanarak DNA fragment dizilemesinin otomasyonunu sağlayan bir cihaz geliştirdiklerini açıklamışlardır. Leroy Hood ve Michael Hunkapiller tarafından gerçekleştirilen Sanger dizileme otomasyonu, DNA fragmentlerinin hızlı ve otomatik bir şekilde dizilmesini mümkün kılmıştır. Bu, moleküler biyoloji ve genetik araştırmaları için önemli bir adım olmuştur. Otomasyon sayesinde DNA dizileme süreci hızlandığı için daha fazla veri elde edilmesi ve daha kapsamlı çalışmalar yapılması mümkün hale gelmiştir (Hood vd., 1987).

Mostafa Ronaghi ve çalışma arkadaşları, 1996 yılında yayınladıkları makalede DNA molekülünün nükleotit dizisinin, sanger sekanslama tekniğinin bir parçası olan elektroforez işlemine ihtiyaç duymadan, enzimatik luminometrik pirofosfat (ELIDA) ile DNA aktivitelerinin ölçülmesi esasına dayalı bir teknik geliştirdiklerini açıklamıştır. Bu teknik 2005 yılında Roche tarafından sunulan ilk yeni nesil dizileme platformu ile kullanılmıştır (Ronaghi vd., 1996).

1998 yılında Cambridge Üniversitesi'nde bilimsel araştırmacı olarak görev yapan Shankar Balasubramanian ve David Klenerman, Solexa şirketini kurmuştur. Bu şirket başlangıçta "sequencing by synthesis" teknolojisini geliştirme amaçlı bir araştırma şirketi olmakla beraber, bu teknoloji, Illumina dizileme platformlarının temelini oluşturmuştur. Solexa, 2007 yılında Illumina tarafından satın alındıktan sonra bu teknoloji üzerinde çalışmalarını sürdürmüş ve sonuç olarak dünya genelinde en yaygın kullanılan NGS platformlarından biri haline gelmiştir (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001). Günümüzde halen Illumina dizileme platformları hata oranının düşük olmasından dolayı güvenilirliği kanıtlanmış en yaygın olarak kullanılan platformlardır.

Ion Torrent Systems Inc. tarafından DNA Electronics Ltd'den lisanslanan bir teknoloji üzerine geliştirilen hızlı, kompakt ve ekonomik bir dizileme cihazı olan Ion Torrent

dizileme cihazı, Şubat 2010'da piyasaya sürülmüş ve kısa sürede birçok laboratuvar tarafından tercih edilen bir teknoloji haline gelmiştir. Bu cihaz, hem hızı hem de kolay kullanımı ile araştırmacıların ve bilim insanlarının dizileme işlemlerini daha hızlı ve ekonomik bir şekilde yapmalarına olanak tanımıştır (Rothberg ve Leamon, 2008).

Pacific Biosciences, PacBio olarak bilinen, üçüncü nesil DNA dizileme teknolojileri arasında tek bir molekül seviyesinde uzun genomik dizilimleri elde etmek için geliştirilmiş öncü bir teknoloji sağlayıcısıdır. PacBio, gerçek zamanlı tek bir molekül gerçek zamanlı DNA dizileme yöntemini kullanarak üstün kaliteli HiFi verileri elde etmek üzere tasarlanmış bir teknolojidir. PacBio'nun araştırma ve geliştirme çabaları, teknolojinin 2010 yılında piyasaya sürülmesiyle sonuçlanmıştır. Bu teknolojinin ortaya çıkması yaklaşık on yıldır devam eden sürekli geliştirme, yenilikçi yaklaşımlar ve teknolojik atılımlar sayesinde mümkün olmuştur. PacBio, gerçek zamanlı tek bir molekül gerçek zamanlı DNA dizileme (SMRT) teknolojisinin geliştirilmesinde önemli bir isim olan kurucularından biri olan Stephen Turner tarafından 2004 yılında başlatılmıştır (Eid vd., 2009)

İngiltere merkezli Oxford Nanopore Technologies şirketi 2005 yılında, Oxford Üniversitesi'nde biyokimya profesörü olan Hagan Bayley ve iş adamı Spike Willcocks tarafından kurulmuştur. 2014 yılında Oxford Nanopore, taşınabilir bir nanopore tabanlı dizileme cihazı olan MinION'u piyasaya sürmüştür. MinION, araştırmacıların gerçek zamanlı DNA dizilemesini birçok ortamda gerçekleştirmelerine olanak sağlamıştır. Oxford Nanopore, yeni dizileme cihazları geliştirmeye ve teknolojisinin doğruluğunu ve verimliliğini artırmaya devam etmiş ve ayrıca proteinler ve diğer biyomoleküllerin analizi için nanopor tabanlı platformlar geliştirerek uygulama yelpazesini genişletmiş ve nanopor tabanlı dizileme teknolojisinin önde gelen şirketlerinden biri haline gelmiştir (Eisenstein, 2012).

Modern tarımda kullanılan kültür bitkilerinin genetik akrabaları olarak tanımlanan yabancı bitkiler, yararlı kalıtsal özellikleri ile kültürel tarıma katkıda bulunmaktadır. Bu yabancı bitki türleri, genel olarak kültüre alınmamış ama kültüre edilen türlerle genetik ilişkileri olan bitki türleridir. Miller ve Khoury'nin (2018) bahsettiği "gen

havuzu" yaklaşımı, bu konsepti daha da derinleştirmiş ve kültür bitkileri ile kolayca melezlenen taksonları birincil gen havuzu olarak tanımlamışlardır. Tarımın kökenine ve ıslah süreçlerine olan ilgi, 19. yüzyılda Alexander van Humboldt, Charles Darwin ve Alphonse de Candolle'nin çalışmalarıyla başlamıştır (Kilian vd., 2009). Childe'nin 1928'de öne sürdüğü "Oasis teorisi", tarımın Yakın Doğu'da başladığını iddia etmiştir. Braidwood'un Irak'ın Jarmo ve Türkiye'nin Çayönü bölgelerinde yürütülen araştırmaları, "hilly flanks of Breasted's 'fertile Crescent'" terimini ortaya atmıştır (Braidwood ve Braidwood, 1950; Braidwood vd., 1969). Bu terim daha sonra James Henry Breasted tarafından "Fertile Crescent" yani "Verimli Hilal" olarak öne sürülmüştür (Breasted, 1938). Verimli Hilal'in Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsamı ve bu bölgede *Triticum* cinsi (*Triticum baeoticum* Boiss., *T. dicoccoides*, *T. urartu*, ve *T. araraticum*) bitkilerinin doğal olarak yetişiyor olması, verimli hilal bölgesinin tarımın kökeni açısından önemini vurgulamaktadır (Cabi, 2010). *Triticum baeoticum*'un kültüre alınması sonucu siyez buğdayı (*T. monococcum* L.-AA), *T. dicoccoides*'in kültüre alınması sonucu ise gernik buğdayı (*T. dicoccon* Schrank. ex Schubl.-AABB) ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda, *T. dicoccoides*, ekmeçlik buğdayın (*T. aestivum*-AABBDD) atasal donörüdür ve diploid bir buğday türü olan *T. urartu*, *T. aestivum* L. (AABBDD)'un A genomunun atasal genom taşıyıcısıdır (Özberk vd., 2016). Yabani *Triticum* türleri ve yerel çeşitler, ıslah çalışmalarında yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve gen havuzunun genişletilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla, bu türlere ait tohumlarının uzun süreli korunması, tanımlanması ve karakterizasyonları, ıslah çalışmalarında kullanımları için esastır. Tohum gen bankaları, temel bilim çalışmaları ile tarımsal araştırma çalışmaları arasında bir köprü işlevi görmek ve karakterize edilmiş bitki genetik kaynaklarını ekonomik olarak değerlendirilmek üzere hazır bulundurmaya amaçlar. Gen bankalarındaki materyalin karakterizasyonu, bir dizi parametre morfolojik, fizyolojik, moleküler, sitogenetik, anatomik, palinolojik vb. ile gerçekleştirilebilir. Bu karakterizasyonlar, bilimsel araştırmalar ve ıslah için temel sağlar ve genetik materyalin gelecekteki kullanımlarını belirler. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında günümüzde kullanılan kültür buğdaylarının gen havuzunda bulunan ve Türkiye'de doğal olarak yetişen ve morfolojik olarak birbirinden ayırt edilmesi zor olan *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerinin popülasyonlar arası farklılıklarını DArTseq yeni nesil dizileme yöntemi kullanarak ortaya koymaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. *Triticum urartu* Thumanjan ex Gandilyan ve *Triticum baeoticum* Boiss. Türlerine Ait Tohum Materyallerinin Elde Edilmesi

Bu çalışma kapsamında, *Triticum urartu* ve *Triticum baeoticum* türlerine ait tohum örnekleri, genetik çeşitlilik ve yapılacak analizler için gerekli olan veriyi sağlamak amacıyla elde edilmiştir. *Triticum urartu* türüne ait 77 adet aksesyon Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) ve 8 adet aksesyon Türkiye Tohum Gen Bankası'ndan temin edilmiştir. *Triticum baeoticum* türüne ait 45 adet aksesyon ise yine Türkiye Tohum Gen Bankası'ndan sağlanmıştır.

Tohum örneklerinin elde edilmesi sürecinde, her iki türün aksesyonlarının temin edildiği kurumlarla iletişime geçilmiştir. İlgili aksesyon numaraları ve talep edilen miktarlar belirtilerek, tohum örnekleri için resmi başvurular yapılmıştır. Gerekli izinler ve prosedürler tamamlandıktan sonra, aksesyonlar uygun şartlar altında korunarak Hacettepe Üniversitesi Bitki Evrimi Araştırma Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Laboratuvara ulaşan tohum örnekleri, uygun saklama koşullarında muhafaza edilmiştir. USDA ve TTGB'den elde edilen tohumların aksesyon numarası, tür ismi ve toplandığı yer bilgilerini içeren bilgiler Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2 'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. TTGB'den elde edilen *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerine ait aksesyonların çalışma kodu, aksesyon kodu ve toplandıkları şehirler

Çalışma Kodu	Aksesyon Kodu	Tür	Şehir
1	TGB 002016	<i>Triticum baeoticum</i>	Nevşehir
2	TGB 002017	<i>Triticum baeoticum</i>	Aksaray
3	TGB 002444	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
4	TGB 002452	<i>Triticum baeoticum</i>	Bilinmiyor
5	TGB 002453	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
6	TGB 002454	<i>Triticum baeoticum</i>	Diyarbakır
7	TGB 002460	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
8	TGB 045919	<i>Triticum baeoticum</i>	Bilinmiyor
9	TGB 045970	<i>Triticum baeoticum</i>	Bilinmiyor
10	TGB 000119	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
11	TGB 000155	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
12	TGB 000173	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
13	TGB 000181	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
14	TGB 000383	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa

Çizelge 2.1. devam

Çalışma Kodu	Aksesyon Kodu	Tür	Şehir
15	TGB 000640	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
16	TGB 000641	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
17	TGB 000644	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
18	TGB 000670	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
19	TGB 000824	<i>Triticum baeoticum</i>	Ankara
20	TGB 036885	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
21	TGB 037146	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
22	TGB 037370	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
23	TGB 037386	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
24	TGB 037804	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
25	TGB 037815	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
26	TGB 037808	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
27	TGB 038048	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
28	TGB 038278	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
29	TGB 038289	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
30	TGB 038376	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
31	TGB 038381	<i>Triticum baeoticum</i>	Adıyaman
32	TGB 038489	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
33	TGB 039703	<i>Triticum baeoticum</i>	Gaziantep
34	TGB 039707	<i>Triticum baeoticum</i>	Şanlıurfa
35	TGB 000795	<i>Triticum baeoticum</i>	Bilinmiyor

Çizelge 2.2. USDA'dan elde edilen *T. urartu* türüne ait aksesyonların çalışma kodu, aksesyon kodu ve toplandıkları şehirler

Çalışma Kodu	Aksesyon Kodu	Tür	Şehir
36	Cltr 17667	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
37	PI 245726	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
38	PI 427562	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
39	PI 428184	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
40	PI 428185	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
41	PI 428186	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
42	PI 428189	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
43	PI 428191	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
44	PI 428193	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
45	PI 428195	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
46	PI 428196	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
47	PI 428197	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
48	PI 428198	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
49	PI 428199	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
50	PI 428200	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
51	PI 428203	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
52	PI 428204	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa

Çizelge 2.2. (devam)

Çalışma Kodu	Aksesyon Kodu	Tür	Şehir
53	PI 428205	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
54	PI 428207	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
55	PI 428208	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
56	PI 428209	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
57	PI 428210	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
58	PI 428211	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
59	PI 428213	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
60	PI 428214	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
61	PI 428215	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
62	PI 428216	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
63	PI 428217	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
64	PI 428218	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
65	PI 428219	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
66	PI 428220	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
67	PI 428221	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
68	PI 428222	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
69	PI 428223	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
70	PI 428224	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
71	PI 428226	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
72	PI 428227	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
73	PI 428228	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
74	PI 428229	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
75	PI 428230	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
76	PI 428231	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
77	PI 428232	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
78	PI 428233	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
79	PI 428234	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
80	PI 428235	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
81	PI 428236	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
82	PI 428238	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
83	PI 428239	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
84	PI 428240	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
85	PI 428241	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
86	PI 428242	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
87	PI 428243	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
88	PI 428244	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
89	PI 428245	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
90	PI 428246	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
91	PI 428247	<i>Triticum urartu</i>	Şanlıurfa
92	PI 428254	<i>Triticum urartu</i>	Muş
93	PI 428255	<i>Triticum urartu</i>	Mardin
94	PI 428256	<i>Triticum urartu</i>	Gaziantep

2.2. Tohum Materyallerinin Vernilizasyonu ve imlendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında toplam 94 aksesyona ait buğday tohumu üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Olası tohum dormansisi durumuna karşı, her bir aksesyondan 20'şer adet tohum seçilerek vernilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemde, tohumlar +4°C sıcaklıkta 1 ay boyunca bekletilerek tohum dormansisinin oluşma ihtimali azaltılmıştır. 1 aylık vernilizasyon sürecinin ardından, her bir aksesyondan 10'ar tohum 20 cm çapındaki saksılara ekilmiş ve Türkiye Tohum Gen Bankası'nda bulunan iklimlendirme kabinine yerleştirilmiştir (şekil 2.1 ve şekil 2.2). İklimlerme kabinindeki yetiştirme koşulları izelge 2.3'te gösterilmiştir.



şekil 2.1. Tohumların yetiştirilmesi için kullanılacak saksıların hazırlanması



şekil 2.2. Ekimi yapılan tohumların iklimlendirme kabinine yerleştirilmesi

Çizelge 2.3. İklimlendirme kabini yetiştirme koşulları

Parametre	Gündüz	Gece
Sıcaklık (°C)	22	6
Nem (%)	70	70
Süre (Saat)	12	12
Işık Yoğunluğu (Lux)	8000	8000

2.3. Örneklerin Toplanması ve DNA İzolasyonu için Hazırlanması

Taze yaprak örnekleri, bitkiler yapraklanmaya başladıktan sonra sağlıklı bireylerden 5'er adet alınmıştır (Şekil 2.3.1). Genomik DNA izolasyonları taze yaprak dokuları ile hasattan hemen sonra yapılmıştır.



Şekil 2.3. Örnek alımına hazır hale gelen aksesyonlar (*Triticum urartu*)



Şekil 2.4. Örnek alımına hazır hale gelen aksesyonlar (*Triticum baеoticum*)

2.4. Taze Yaprak Dokusundan DNA İzolasyonu

T. baеoticum ve *T. urartu* türlerine ait popülasyonların DNA izolasyonu, Diversity Array Technologies şirketi tarafından sağlanan protokole göre aşağıda verilen şekilde gerçekleştirilmiştir:

DArT DNA İzolasyon Protokolü Gereksinimleri

Ekstraksiyon Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (500 ml)

1. 31,9 gr sorbitol hassas terazide tartılır.
2. 50 ml 1M TrisHCl (pH 8.0) ve 5 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) hazırlanır ve steril bir beher içerisine aktarılır.
3. Daha önce tartılan 31,9 gr sorbitol beher içerisinde bulunan TrisHCl ve EDTA karışımının içerisinde homojenize hale getirilerek çözülür.
4. Toplam hacim 500 ml' ye tamamlanır.

Lizis Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (500 ml)

1. 10 gr CTAB hassas terazide tartılır.
2. 100 ml 1M TrisHCl (pH 8.0), 50 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) ve 200 ml 5 M NaCl hazırlanır ve bir steril beher içerisine aktarılır.

3. Daha önce tartılan 10 gr CTAB karışım içerisinde aktarılır ve homojenize hale getirilerek çözülür.
4. Toplam hacim 500 ml' ye tamamlanır.

Sarkosil Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (%5 (w/v))

1. 5 gr sarkosil hassas terazide tartılır.
2. 5 gr sarkosil 100 ml ddH₂O içerisinde homojenize hale getirilerek çözülür.

Taze Çalışma Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (120 ml)

1. 0,6 gr sodyum metabisülfat (sodyum bisülfat) ve 2,4 gr PVP-40 (K29-32) hassas terazide tartılır.
2. Tartılan kimyasallar 50 ml kullanıma hazır halde bulunan ekstraksiyon tampon çözeltisinin içerisinde aktarılır ve homojenize hale getirilerek çözülür.
3. Ardından 50 ml lizis tampon çözeltisi ve 5 ml sarkosil tampon çözeltisi karışıma eklenir ve karıştırılır.

Tampon Çözeltilerin Son Konsantrasyonları

Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi

0,35 M sorbitol

0,1 M TrisHCl pH 8.0

5 mM EDTA pH 8.0

Lizis Tampon Çözeltisi

0,2 M Tris HCl pH 8.0

0,05 M EDTA pH 8.0

2M NaCl

2% CTAB

Taze Çalışma Tampon Çözeltisi

0,5 % (w/v) sodium metabisulfat (=sodiumdisulfite)

2 % (w/v) PVP-40

DArT DNA İzolasyon Protokolü (2 ml Ependorf Tüplerinin Kullanımı İçin)

1. Yeni hazırlanmış taze çalışma tampon çözeltisi 65°C'de inkübatör veya su banyosu yardımı ile ısıtılır. Isıtılan çözeltiden 1 ml ölçülür ve 2 ml'lik Ependorf tüpe aktarılır. Tüp tekrar 65°C'de inkübatör veya su banyosuna konur.
2. Taze yaprak dokusu sıvı azot kullanılarak ince bir toz haline getirilerek (tüm örneklerde aynı miktar gereklidir) homojenize edilir ve 2 ml'lik Eppendorf tüpe aktarılır.
3. Homojenize edilen örneğin üzerine 65°C'de tutulan 1 ml taze çalışma çözeltisi eklenir (Topaklanma olmamasına dikkat edilir. Gerekli ise vorteks yapılmalıdır.)
4. 1 saat boyunca 65°C'de inkübe edilir. Her 20 dk'da bir ters düz edilir.
5. İnkübasyonun ardından 5 dk. oda sıcaklığında soğutulur ve üzerine 1 ml kloroform:isoamil alkol (24:1) karışımı eklenir.
6. 30 dk boyunca çalkalayıcı yardımı ile karıştırılır.
7. 20 dk boyunca 10.000 x g (9021 rpm)' de santrifüj edilir.
8. Süpernatant yeni bir tüpe aktarılır. Aktarım yapılırken altta kalan pellete dokunulmaması için dikkat edilir. Aktarılan süpernatant hacmi kadar izopropanol (izopropilalkol) eklenir. 10 kere pipetaj yapılır. Bu aşamada nükleik asitler görünür hale gelir.
9. 30 dk boyunca 10.000 x g (9021 rpm)' de santrifüj edilir.
10. Süpernatant atılır ve altta kalan pellet 2 ml %70 EtOH ile yıkanır.
11. EtOH atılır. Ardından altta kalan pellet kurutulur.
12. Pellet 250 µl 1 x TE (10 mM TrisHCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0) tampon çözeltisi içerisinde çözülür.

2.5. İzole Edilen DNA'ların Agaroz Jelde Görüntülenmesi

1. %0,8'lik bir agaroz jel hazırlamak için, 0,8 gram agarozu 100 mL 1X TAE tamponunda eritilir. Agaroz tamamen eriyene kadar karışımı ısıtılır.
2. Eritilmiş agaroz soğumaya bırakılır, ancak katılaşmaması için sıcak tutulur. Bu süre zarfında, jel kalıbını ve taraklar yerleştirilir.
3. Soğumaya bırakılan karışıma 5 ul SYBR™ Safe boyası ilave edilir ve karışım içerisinde homojenize oluncaya kadar karıştırılır.
4. Soğuyan agarozu jel kalıbına dökün ve jel katılaşana kadar beklenir.
5. Katılaşan jel üzerine izole edilen DNA ve SybrSafe boyası karıştırılarak kuyucuklara yüklenir ve 150 V'ta 20 dk DNA'lar jel üzerinde yürütülür.

2.6. İzole Edilen DNA'ların Safılık ve Konsantrasyon Ölçümü

2.6.1. DNA Safılık Ölçümü

Taze yaprak dokularından izole edilen DNA'ların safılık tayini Nanodrop Lite cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Nanodrop Lite cihazında DNA safılık ölçümünün gerçekleştirilmesi için takip edilen protokol aşağıda sırasıyla belirtilmiştir.

1. Nanodrop Lite cihazı açılır ve DNA safılık kuantifikasyonunu seçmek için uygun menü seçenekleri kullanılır.
2. Ölçüm yüzeyi 1-2 µL steril dH₂O (distile su) veya önerilen temizleyici solüsyonu ile temizlenir ve ardından bir kağıt havlu veya hava ile kurutulur.
3. 1-2 µL steril dH₂O veya tampon solüsyon (örneğin, DNA'nın en son çözüldüğü solüsyon) eklenir ve cihazın referans okumasını yapmasını sağlar.
4. Referans okumasından sonra ölçüm yüzeyi temizlenir ve kurutulur. Daha sonra 1-2 µL DNA solüsyonunu örneği doğrudan ölçüm yüzeyine aktarılır.
5. Cihazın örneği okumasını ve DNA konsantrasyonunu belirlenmesi beklenir. Sonuç, ng/µL cinsinden DNA konsantrasyonunu gösterecektir.
6. Her okutmadan sonra ölçüm yüzeyi temizlenir. Bu, örnekler arasında kontaminasyonu önlemeye yardımcı olur. Adım 2'de belirtilen prosedürü tekrarlanır.
7. Her bir yeni örnek için adım 3 ve 6 tekrarlanır.

2.7. Saflık ve Miktar Tayini Yapılan DNA'ların Normalizasyonu

Saflık ve miktar tayini gerçekleştirilen 94 ayrı aksesyondan saflaştırılan DNA örnekleri, Diversity Array Technologies (DArT) firmasının özgün numune alım standartlarına uygun biçimde dikkatlice normalize edilmiştir . Bu normalizasyon süreci, firmadan edinilen detaylı yönergeler doğrultusunda yapılmış olup; restriksiyon enzimi ile reaksiyona girebilen, endonükleazlardan arındırılmış gDNA'nın EB tamponunda (10 mM Tris-Cl, pH 8) çözülmesi ve örnek başına 20 - 30 ul miktarında ve 50 - 100 ng/ul konsantrasyonda olmasını içermektedir. Bu normalizasyon aşaması, genotipleme analizlerinin doğruluğunu ve güvenilirliğini artırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir ve bu sayede DNA örneklerimizin DArT firmasının genotipleme deneyleri için belirlediği kritik özelliklere tam uygunluğu sağlanmıştır.

2.8. Normalize Edilen DNA'ların Diversity Array Technologies Firmasına Gönderimi

2.8.1. Diversity Array Technologies Firmasına İş Emri Takip Çizelgesinin Oluşturulması

1. Diversity Array Technologies firmasının resmi internet sitesinde "Order Services" butonuna tıklanarak iş emri yaratma sayfasına gidilir ve "Create Sample Tracking Template File" seçeneğine tıklanır.
2. "Organizma (Organism)" seçeneği "Wheat (Buğday)" olarak seçildikten sonra "Tercih edilen doku (Preferred tissue)" seçeneği "leaf (yaprak)" olarak seçilir.
3. Gönderilecek Plaka sayısı seçilir ve bilgisayara indirilir.

Not: Bu aşama *Triticum baeoticum* ve *Triticum urartu* türleri için ayrı ayrı olmak üzere gerçekleştirilmiştir.

2.8.2. İş Emrinin Oluşturulması

1. Örnek takip dosyasının oluşturulması tamamlandıktan sonra "New Order (Yeni Emir)" seçeneğine tıklanır.
2. "Organizma (Organism)" seçeneği "Wheat (Buğday)" olarak seçildikten sonra "Ürün (Product)" seçeneği "Wheat DArTseq 1.0" olarak seçilmesinin ardından

"Ürün Varyantı (Product variant)" seçeneği "DArTSeq Yüksek Çözünürlüklü Dizileme (2.5 mil. okuma) (DArTseq High Density Sequencing (2.5 Mln Reads))" seçeneği seçilir.

3. Daha önce bilgisayara indirilen iş takip emri dosyası "Upload Sample File" butonundan sisteme yüklenir ve devam edilir.

2.8.3. DNA Örneklerinin Paketlenmesi ve Gönderilmesi

DNA örneklerinin Diversity Array Technologies firmasına gönderilmeden önce, tüm örneklerin doğru bir şekilde hazırlandığı, plakaların ve tüplerin açıkça etiketlendiği ve güvenli bir şekilde kapatıldığı kontrol edildi. Daha sonra gönderilecek plakalarla ilgili iş emrinin verilmesinden sonra elde edilen iş emri numarası beyaz etiketlere yazılarak plakalara yapıştırıldı ve bu işlem gönderilen her plaka için yapıldı. Paketlenmeye hazır hale getirilen plakalar arasına ayırıcı bir materyal konduktan sonra iş emri çıktısı en üst kısma dahil edildi.

Gereken tüm işlemlerin tamamlanmasının ardından gönderime hazır plakalar, buz aküleri ile paketlenerek gönderildi.

2.9. DArTSeq Dizileme İşleminin Gerçekleştirilmesi

DArTSeq metodu 3 ana temel prensipten oluşmaktadır.

1. **Karmaşıklık Azaltma:** Büyük ve karmaşık genoma sahip olan organizmaların genomunun, belirli restriksiyon enzimlerinin kullanılmasıyla yönetilebilecek düzeye indirgenmesi işlemidir. DArTSeq tekniğinin karmaşıklığı azaltma aşamasında temel olarak PstI restriksiyon enzimleri kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra bazı organizmaların genom boyutları ve karmaşıklığı yüksek olmasından ötürü genellikle PstI restriksiyon enzimi ile birlikte başka bir enzim daha kullanılmaktadır. Literatürde birçok restriksiyon enziminin genomun polimorfik bölgelerini başarılı bir şekilde ortaya çıkarttığı bilinmektedir. Ancak DArTSeq tekniğinde PstI restriksiyon enzimi ile birlikte genellikle CXG (BstNI) ve CG (TaqI) restriksiyon enzimleri kullanılmaktadır.

2. **Genomik Temsillerin Oluşturulması:** Restriksiyon enzimleri ile yönetilebilir boyuta indirgenmiş olan DNA dizilerinin gen havuzundaki en yüksek polimorfizme sahip fragmentleri seçim aşamasıdır.
3. **DArT Testi:** DArT testlerinin çoğu ligasyonu tamamlanan fragmentlerin mikroarray platformunda FAM boyası ile işaretlenmiş olan (Cy3 ve Cy5) referans diziler ile hibridize edilerek gerçekleştirilmektedir. Hibridizasyon sonrasında mikroarray platformunda kullanılan slaytlar belirli solüsyonlar ile yıkandıktan sonra DArTSoft programı ile analiz edilir. DArTSoft programı kullanılarak çoğaltılan fragmentlere ait DNA dizisi ile mikroarray platformunda bulunan referans DNA dizisi arasındaki fark bulunur.

Dizileme ile genotipleme teknolojileri son yıllarda belirteç keşfi için kullanılan tekniklerden birisidir. Bu teknik genellikle Illumina, AB Solid ve Roche 454 dizileme platformlarında gerçekleştirilmektedir.

2.10.DArTSeq Dizileme Metoduyla Elde Edilen Verilerin DArTSoft Programı ile Skorlanması

Çizelge 2.1.1 ve izelge 2.1.2'de gösterilmiş olan *Triticum baeoticum* ve *Triticum urartu* türlerine ait farklı popülasyonları temsil eden aksesyonlar için, DArTSeq dizileme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle elde edilen TIF uzantılı resimler, DArTSoft programı aracılığı ile işlenerek analiz edilebilir ve yorumlanabilir formatta olan SilicoDArT ve SNP veri setlerine dnüştürölmüştür. Her bir belirteç için çeşitli kalite parametreleri de hesaplanarak ham veri dosyalarına işlenmiştir.

2.11.R Programlama Dilinin ve RStudio Tümleşik Geliştirme Ortamının Yüklenmesi

İstatiksel analizlerin gerçekleştirilebilmesi için R programlama dili (v4.3.0), resmi web sitesi adresinde (<https://www.r-project.org>) yer alan ve Türkiye coğrafı konumuna en yakın yerel CRAN (Comprehensive R Archive Network) kaynağından seçilerek, Windows işletim sistemine uygun bir biçimde indirilip kurulmuştur. Bu kurulumun ardından R programlama dilinin kurulumunun doğruluğu ve konfigurasyonu yapılmıştır.

Ek olarak, R programlama dilinin tümleşik geliştirme ortamı (IDE) olan RStudio (v2023.03.01 Build 446), yine resmi web sitesi (<https://posit.co/products/open-source/rstudio>) adresi üzerinden indirilip sisteme entegre edilmiştir. Son aşamada istatistiksel analizlerin gerçekleştirilebilmesi için zorunlu olan R kütüphaneleri (adegenet, ggplot2, dplyr, dartR.data, devtools, directlabels, dismo, doParallel, expm, gdistance, ggtern, gganimate, ggrepel, grid, gtable, ggthemes, gplots, HardyWeinberg, hierfstat, igraph, iterpc, knitr, label.switching, lattice, leaflet, leaflet.minicharts, markdown, mmod, networkD3, parallel, pegas, pheatmap, plotly, poppr, proxy, purrr, qvalue, RColorBrewer, Rcpp, rgl, rmarkdown, rrBLUP, scales, seqinr, shinyBS, shinyjs, shinythemes, shinyWidgets, SIBER, snpStats, stringi, terra, tibble, vcfR, zoo, viridis, testthat) "install.packages" komutu kullanılarak yerel bilgisayara yüklenmiştir. Bu süreçte karşılaşılan her hangi bir yükleme sorunu hızlı bir şekilde çözümlenmiştir ve kütüphaneler tekrar yüklenerek yerel bilgisayara dahil edilmiştir.

2.12. Skorlanan SilicoDArT ve SNP Veri Setlerinin Belirli Kalite Değerlerine Göre Filtrelenmesi

SilicoDArT ve SNP verisetleri Gruber vd. (2017) tarafından geliştirilen dartR kütüphanesinde bulunan "gl.read.dart" ve "gl.read.silicodart" fonksiyonlarının, manuel olarak oluşturulan üst-veri (metadata) dosyasının "ind.metafile" parametresi olarak kullanılmasıyla "genelight" objesine çevrilmiştir. Bu işlemden sonra SilicoDArT ve SNP verisetleri bir sonraki istatistiksel ve filogenetik analizlerin doğruluğunun artırılması için yapılacak olan filtreleme işlemi için hazır hale gelmiştir. SilicoDArT ve SNP verisetlerinde bulunan SNP lokusları minör allel frekansı (MAF) %5, çağrı oranı %85 (call rate) ve tekrarlanabilirlik oranı %95 olacak şekilde filtrelenmiştir. SNP lokuslarında bulunan eksik genotip verileri "gl.impute()" fonksiyonu kullanılarak popülasyonu temsil eden bireylerin her bir lokusunda bulunan ortalama allel frekansına göre doldurulmuştur. Filtreleme öncesi ve sonrasında oluşturulan raporların incelenmesinin ardından SilicoDArT ve SNP verisetleri istatistiksel ve filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesine hazır hale gelmiştir. SNP ve SilicoDArT verileri belirtilen kalite değerlerine göre filtrelenmesinin ardından ileri analizlere hazır hale gelen SNP ve SilicoDArT verisetlerine ait ilişkin temel istatistikler Çizelge 3.22'te belirtilmiştir.

SilicoDArT ve SNP verisetlerine ilişkin temel istatistikler dartR paketinde bulunan “gl.basic.stat()” metodu ile hesaplanarak Çizelge 3.22’te gösterilmiştir.

2.13. Popülasyon Yapısı Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

ADMIXTURE, genetik verileri ışığında popülasyon atasallı analizinde kullanılan bir programdır. Bu program, popülasyonu temsil eden birey veya bireylerin farklı popülasyonlardan ne kadar oranlarda genetik miras aldığını tahmin etmek için kullanılmaktadır. ADMIXTURE programı genellikle PLINK çıktı dosyaları ile çalışmaktadır. R programlama dili ile analize hazır hale getirilen SilicoDArT ve SNP dosyaları, dartR paketinde bulunan "gl2plink" fonksiyonu kullanılarak ".map" ve ".ped" uzantılı dosyalara çevrilmiştir. PLINK v1.07 programı ve "plink --file imputed_gl_SNP --make-bed --out imputed_gl_SNP --noweb" komutu kullanılarak ".bed" uzantılı dosya elde edilmiştir. ADMIXTURE programı kullanılarak allellerin farklı popülasyonlar arasında nasıl dağıldığını bulabilmek için K değerine birden fazla değer atanması gerekmektedir. Aşağıda verilen komut aracılığıyla optimum K değeri, Q ve P matrisleri çapraz validasyon argümanı kullanılarak belirlenmiştir.

```
for K in {1..7}; do admixture --cv=10 imputed_gl_SNP.bed $K | tee log${K}.out;  
done
```

ADMIXTURE programının gerçekleştirmiş olduğu analiz sonucunda her döngü sonunda "log{K}.txt" çıktı dosyası olarak oluşan dosyalar “grep -h CV log*.out > CV_Error.txt” komutu ile TXT uzantılı dosyaya çevrilmiş ve R programlama diline veri aktarılmıştır. Aktarılan bu dosya ile veri çerçevesi oluşturularak en düşük CV hatasına sahip K değerini bulmak için “ggplot2” kütüphanesi kullanılarak görselleştirilmiştir.

2.14. Moleküler Varyans Analizi

AMOVA (Analysis of Molecular Variance), yani moleküler varyans analizi, genetik veri setlerinde popülasyonlar arası ve popülasyon içi genetik varyasyonu ölçmek için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. Bu yöntemin temel amacı, genetik varyansın farklı hiyerarşik seviyelerde nasıl dağıldığını belirlemektir. Bu bağlamda, R programlama dilinde yer alan “StAMPP” paketinin “stampAmova” fonksiyonu kullanılarak, mevcut

SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) ve SilicoDArT belirteçleri üzerinde detaylı bir AMOVA analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz aracılığıyla, söz konusu belirteçlerin genetik çeşitlilik ve populasyonlar arası ya da populasyon içi varyasyonlar üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

2.15. Temel Koordinat Analizi

SilicoDArT ve SNP veri setlerinde bulunan temel öğeler arasındaki mesafelere dair verileri harita tabanlı görselleştirilmesini sağlayan temel koordinat analizi R programlama dilinde bulunan "vegan" paketinde bulunan "vegdist" ve "cmdscale" fonksiyonları ile SilicoDArT ve SNP veri setlerinde bulunan temel bileşen arasındaki mesafe matrisi hesaplandıktan sonra "ggplot2" kütüphanesi kullanılarak görselleştirilmiştir.

2.16. Filogenetik Analizlerin Gerçekleştirilmesi ve Oluşturulan Filogenetik Ağaçların Görselleştirilmesi

Triticum urartu ve *Triticum baеoticum* populasyonlarını temsil eden bireyler arasındaki evrimsel ilişkileri ortaya koymak için SNP veri seti dartR paketinde bulunan "gl2fasta" fonksiyonu ve "method=1" parametresi kullanılarak FASTA formatına dönüştürülmüştür. Dönüştürülen FASTA formatındaki populasyonları temsil eden bireylere ait SNP dizileri bulunmaktadır. Bu dosya MEGA11 programı kullanılarak birey numarasına göre alt alta hizalanmış ve filogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir.

Filogenetik analizler için UPGMA (Unweighted Pair Group with Arithmetic Mean-aritmetik ortalama ile ağırlıksız çift grup yöntemi) ve ML (Maximum-Likelihood) yöntemleri ile test edilmiştir. UPGMA filogenetik ağaç oluşturmak için kullanılan hiyerarşik bir kümeleme yöntemidir. UPGMA, tüm bireyler arasındaki mesafeleri bir mesafe matrisi kullanarak hesaplar ve birbirine en yakın iki grubu bir araya getirerek filogenetik ağaç oluşturur. Maximum-Likelihood ise filogenetik ağaç oluşturulması için istatistiksel yöntemdir. Bu yöntem, verilen bir filogenetik model ve sekans verisi için gözlemlenen verinin olasılığını maksimize eden ağacın hangisi olduğunu belirler. Bir

diğer deyişle hangi ağacın, mevcut sekans verisini üretme olasılığının en yüksek olduğunu bulmaya çalışır.

UPGMA analiz sürecinde, filogeni analizinin gvenirliliğini test etmek amacıyla Bootstrap yöntemi kullanılmış ve 1000 Bootstrap tekrarı (Number of Bootstrap Replications) gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen sekans türü olarak nükleotid seçilmiş, model veya yöntem olarak ise p-mesafe (p-distance) kullanılmıştır. Sekans pozisyonları arası oranlar, Gamma dağılımı ile modellemiştir ve Gamma parametresi 1.00 olarak ayarlanmıştır. Eksik veri ve boşluklar için kısmi silme (Partial Deletion) yöntemi tercih edilmiş ve sekans pozisyonları kapsamı kesme değeri %95 olarak belirlenmiştir. Analizler, 3 iş parçacığı (thread) kullanarak gerçekleştirilmiştir.

ML filogeni testi 100 Bootstrap tekrarı gerçekleştirilmiştir. Yerine geçme türü olarak nükleotid seçilmiş, model veya yöntem olarak ise Genel Zaman Tersinir Modeli (General Time Reversible Model) kullanılmıştır. Nükleotid pozisyonları arası oranlar, Gamma dağılımı ile modellemiştir ve beş ayrı Gamma kategorisi belirlenmiştir. Eksik veri ve boşluklar için 'Tüm Pozisyonları Kullan' (Use all Sites) yöntemi tercih edilmiştir. ML için sezgisel yöntem olarak En Yakın Komşu Değişimi (Nearest-Neighbor-Interchange, NNI) ve başlangıç ağacı olarak da Neighbor-Joining yöntemi seçilmiştir. Analizler, 3 iş parçacığı (thread) kullanarak gerçekleştirilmiştir.

3. SONUÇLAR

Bu bölümde “*Triticum baeoticum* Boiss. ve *Triticum urartu* Thum. ex Gandil (Poaceae) türlerine ait populasyonların yeni nesil dizileme yöntemi ile araştırılması” başlıklı araştırmanın sonuçları ortaya konulacaktır. Bu çalışma için USDA (United States Department of Agriculture)’dan 69 adet *Triticum urartu* aksesyonu, TTGB (Türkiye Tohum Gen Bankası)’den ise 35 adet *Triticum baeoticum* aksesyonu olmak üzere toplamda 94 adet aksesyon kullanılmıştır. *Triticum baeoticum* ve *Triticum urartu* türlerinin sistematik hiyerarşiye göre durumları ve tür betimleri Cabi (2010)’dan Türkçe’ye çevrilerek aşağıda verilmiştir.

Alem (Regnum): Plantae

Bölüm (Divisio): Magnoliophyta

Sınıf (Class): Magnoliopsida

Takım (Ordo): Poales Small

Aile (Familia): Poaceae Barnhart

Cins (Genus): *Triticum* L.

***Triticum baeoticum* Boiss., Diagnoses plantarum orientalium novarum 2(13): 69. 1854.**

Tek yıllık otlar. Gövde küme halinde, 30-120 cm, narin yapılı, yeşil, gövde düğümleri havlı ya da cılız tüylü. Yaprak kınları ülgerli-cılız tüylü. Yaprak ayaları 2-7 mm eninde, ülgerli-cılız tüylü, tüyler yoğun, damarlardaki tüyler daha uzun, kenarlar ince pürüzlü. Başak dik, 5-14 cm, narin, gevşek yapılı, yandan basık. Başak eksenini kırılmalı, düğümlerde ve kenarlarda yoğun tüylü, düğüm arası 3-4 mm, olgunlaşınca düğümlerden kırılır. Başakçıklar 12-17 mm, dikdörtgenimsi, 2-3 çiçekli, 1 ya da 2 çiçek verimli. Dış kavuz (4-)6-10 mm, derimsi, sarımsı siyah-mor, tüysüz ya da havlı cılız tüylü, 2 omurgalı; omurgalar 2 eşitsiz diş şeklinde çıkıntılı, bir omurga belirgin, uca doğru ince pürüzlü. Verimli çiçeklerin iç kavuzu kayık biçimli, 10-14 mm, tüysüz, kılçık boyu 8 cm’e kadar körpürüzlü. Kapçık 8,5-11 mm, olgunlaşınca yarılr. Başakçık şeritsi, yaklaşık 3-5 mm, sarı. Meyve eliptik, 6,5-8 x 2,5-3 mm. Besidoku sert. Haplom Ab. 2n=14.

***Triticum urartu* Thumanjan ex Gandilyan Botaničnyj Žurnal 57(2): 176. 1972.**

Tek yıllık otlar. Gövde 145 cm'ye kadar, düğümler tüylü. Yaprak ayası 7-10 mm eninde, sarı-yeşil, kısa havlı, tüyler eşit uzunlukta, yumuşak. Başaklar dik, 6-12 cm, çiçek eksenini düğümlerde ve kenarlarda yoğun bir şekilde kirpikli; düğümler arası 3-5 mm; olgunlaşınca düğümlerden kırılır. Başakçıklar 12-16 mm, dikdörtgen şeklinde, 2-3 çiçekli, 1-2 tohum oluşturur. Dış kavuz 8-11 mm, derimsi, alt çiçeklere sıkıca yapışık, iki omurgalı, iki dişli, ikinci diş iyi gelişmemiş; iç kavuz 10-13 mm, kılçıklı, altta bulunan 2 iç kavuz üzerindeki kılçıklar 7 cm'ye kadar, üçüncü iç kavuzdaki kılçık 1 cm'ye kadar; kapçık olgunlaşınca ayrılır; başçık 2-4 mm. Dane ve besidoku sert. Haplom Au. 2n=14.

3.1. Taze Yaprak Dokusundan DNA İzolasyonu

Diversity Arrays Technologies firması bünyesinde DArTseq dizilemesinin yapılabilmesi için 94 aksesiyondan Diversity Array Technologies firması tarafından optimize edilen DNA izolasyon protokolü ile gerçekleştirilmiştir. Her bir aksesiyondan tek bir bireyden elde edilen taze yaprak dokusu kullanılarak gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'ların saflık ve konsantrasyon değerleri çizelge 3.1'de verilmiştir. *Triticum urartu* ve *Triticum baeticum* türlerine ait 94 farklı aksesiyonun DNA konsantrasyonu en az 46,5 ng/ul, en fazla ise 547,6 ng/ul olarak ölçülmüştür. Ortalama konsantrasyon değeri yaklaşık 235,5 olarak hesaplanmıştır. Saflık oranları ise minimum 1,76 ve maksimum 2,07 arasında değişkenlik göstermiştir; ortalama saflık oranı ise yaklaşık olarak 1,97'dir.

Çizelge 3.1. 94 aksesiyondan gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonuçları

Çalışma Numarası	DNA Miktarı	Saflık
1	101,8	1,94
2	46,5	1,94
3	60,2	1,95
4	248	1,98
5	401,2	1,99
6	84,9	1,94

Çizelge 3.1. (devam)

Çalışma Numarası	DNA Miktarı	Safılık
7	93,7	1,92
8	241,3	1,91
9	172,3	1,88
10	92,8	1,95
11	192,6	1,97
12	273,2	1,99
13	280,3	1,92
14	245,1	1,96
15	96,4	1,83
16	122,6	1,93
17	162	1,93
18	353,3	1,97
19	270,1	1,95
20	206,8	1,94
21	268,5	1,99
22	322,2	1,99
23	382,9	2,01
24	231,9	2,00
25	173,1	1,99
26	93,3	1,84
27	162,2	1,99
28	327,2	2,01
29	321,3	2,01
30	252,7	1,88
31	317,4	1,97
32	285,1	1,99
33	312,2	2,00
34	173,1	1,91
35	259	1,94
36	156,3	1,96
37	547,6	1,82
38	162,7	2,07

Çizelge 3.1. (devam)

Çalışma Numarası	DNA Miktarı	Safılık
39	192,7	2,02
40	94,5	1,89
41	216,3	1,97
42	172,9	1,98
43	192	2,01
44	209,5	1,98
45	170,9	1,91
46	317,4	2,02
47	154,9	1,92
48	231,6	1,96
49	186,1	2,00
50	158,6	1,77
51	70,7	1,77
52	259,4	2,01
53	291,6	2,03
54	235,2	1,91
55	127	1,81
56	204,2	1,99
57	159,4	1,93
58	362,3	2,06
59	178,5	2,05
60	311,7	1,97
61	455,3	2,00
62	137,5	1,97
63	209,8	2,03
64	189	1,76
65	180,9	2,01
66	212,4	2,02
67	206,1	2,03
68	200,8	1,94
69	91,2	1,97
70	91,3	1,99

Çizelge 3.1. (devam)

Çalışma Numarası	DNA Miktarı	Safılık
71	219,8	1,95
72	147,5	1,98
73	195,9	1,87
74	369,5	2,03
75	199,2	1,94
76	309,1	1,96
77	254	1,96
78	116,2	1,93
79	270,3	1,96
80	152,6	1,95
81	291,6	1,94
82	249,3	1,96
83	292,6	1,93
84	223,3	2,00
85	418,6	1,98
86	209,2	1,96
87	358,1	2,01
88	274,3	1,85
89	142,8	1,94
90	520,8	2,04
91	328,6	1,97
92	182,6	1,94
93	212	1,95
94	247,7	1,95

3.1.1. DArTSoft Programı Aracılığı ile Elde Edilen SNP ve SilicoDArT Belirteçlerinin Filtrelenmesi ve Temel İstatistiklerin Belirlenmesi

DArT firmasına gönderilen 94 aksesyona ait saflaştırılmış DNA örnekleri DArTSeq metodu ile dizilenmesinin ardından SNP ve SilicoDArT verisetleri “**Report_DW23-8346_SilicoDArT_1.csv**”, “**Report_DW23-346-SNP_2.csv**”, “**Report_DW23-8346_SNP_Mapping_2.csv**” dosyaları olarak tarafımıza iletilmiştir. Genomik ve

istatistiksel analizler için ham veri dosyası olan “**DW23-8346**” isimli CSV dosyaları R programlama dilinde bulunan dartR paketi ile filtrelenmiştir. Filtreleme öncesi ve filtreleme sonrası SNP ve SilicoDArT veri setlerinde bulunan belirteçlerin kalite değerleri ve bu kalite değerlerine göre oluşturulan SNP ve SilicoDArT ham veri setlerine ait ısı haritaları aşağıdaki çizelge ve şekillerde gösterilmiştir (Çizelge 3.2.-21, Şekil 3.1.-16.)

DArTSeq dizilemesi sonucunda, SNP veri setinde 56.188 lokus, SilicoDArT (P/A) veri setinde ise 105.260 lokus olduğu görülmüştür. SNP veri kümesi, çağrı oranı, minimum allel frekansı (MAF) ve tekrarlanabilirlik katsayılarına göre filtreleme işlemleri gerçekleştirildikten sonra, toplamda 16.898 SNP ve 100.103 SilicoDArT belirteci elde edilmiştir. Filtreleme sonrasında SNP ve SilicoDArT verisetlerindeki lokus sayısı düşmüş ancak veri kalitesi artmıştır. SNP veri setinde yapılan tüm filtrelemeler sonucunda çağrı oranının ortalama değeri 0,752 iken filtreleme sonrası bu oran 0,961’e, minor allel frekansının 0,162’den 0,264’e, tekrarlanabilirlik oranının ise sabit kaldığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde SilicoDArT veri setinde yapılan filtrelemeler sonucunda çağrı oranının ortalama değeri 0,955 iken filtreleme sonrasında 0,960’a, ortalama tekrarlanabilirlik oranı 0,999’dan 1’e yükselmiştir. Gerçekleştirilen bu filtrelemeler sonrasında SNP ve SilicoDArT verisetlerinde bulunan eksik veriler istatistiksel analizleri etkilemeyecek şekilde doldurulmuştur.

Çizelge 3.2. Filtreleme öncesi SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	9701	17,3	46487	82,7
2	95%	1	9701	17,3	46487	82,7
3	90%	1	9701	17,3	46487	82,7
4	85%	1	9701	17,3	46487	82,7
5	80%	0,989362	13262	23,6	42926	76,4
6	75%	0,978723	15466	27,5	40722	72,5
7	70%	0,968085	17056	30,4	39132	69,6
8	65%	0,93617	20325	36,2	35863	63,8
9	60%	0,904255	22983	40,9	33205	59,1
10	55%	0,861702	25849	46	30339	54
11	50%	0,819149	28241	50,3	27947	49,7
12	45%	0,765957	31017	55,2	25171	44,8
13	40%	0,712766	33919	60,4	22269	39,6
14	35%	0,680851	36656	65,2	19532	34,8
15	30%	0,648936	39922	71,1	16266	28,9
16	25%	0,606383	42308	75,3	13880	24,7
17	20%	0,521277	45282	80,6	10906	19,4
18	15%	0,393617	47855	85,2	8333	14,8
19	10%	0,329787	51583	91,8	4605	8,2
20	5%	0,297872	53681	95,5	2507	4,5
21	0%	0,202128	56188	100	0	0

Çizelge 3.3. Filtreleme öncesi SNP veri seti çağrı oranı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	56188
Birey Sayısı	94
Minimum	0,202128
1. Çeyrek (Q1)	0,606383
Ortanca (Medyan)	0,819149
Ortalama (Mean)	0,7519471
3. Çeyrek (Q3)	0,978723
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,2481

Çizelge 3.4. Filtreleme öncesi SNP veri seti minör allel frekansı dağılımı

	Yüzelik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	0,5	143	0,3	56045	99,7
2	95%	0,409091	2810	5	53378	95
3	90%	0,350575	5625	10	50563	90
4	85%	0,333333	8437	15	47751	85
5	80%	0,324468	11411	20,3	44777	79,7
6	75%	0,305556	14061	25	42127	75
7	70%	0,269231	16881	30	39307	70
8	65%	0,22973	19672	35	36516	65
9	60%	0,190476	22495	40	33693	60
10	55%	0,15	25311	45	30877	55
11	50%	0,115385	28127	50,1	28061	49,9
12	45%	0,087719	30905	55	25283	45
13	40%	0,066667	33741	60,1	22447	39,9
14	35%	0,048611	36523	65	19665	35
15	30%	0,035714	39414	70,1	16774	29,9
16	25%	0,029851	42146	75	14042	25
17	20%	0,02	44987	80,1	11201	19,9
18	15%	0,015385	47805	85,1	8383	14,9
19	10%	0,01087	50645	90,1	5543	9,9
20	5%	0,005814	53386	95	2802	5
21	0%	0,005319	56188	100	0	0

Çizelge 3.5. Filtreleme öncesi SNP veri seti minör allel frekansı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	56188
Birey Sayısı	94
Minimum	0,0053191
1. Çeyrek (Q1)	0,0298508
Ortanca (Medyan)	0,1153846
Ortalama (Mean)	0,1621178
3. Çeyrek (Q3)	0,3055556
Maksimum	0,5
Genel Eksik Veri Oranı	0,25

Çizelge 3.6. Filtreleme öncesi SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı

	Yüzdelerik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	51451	91,6	4737	8,4
2	95%	1	51451	91,6	4737	8,4
3	90%	1	51451	91,6	4737	8,4
4	85%	1	51451	91,6	4737	8,4
5	80%	1	51451	91,6	4737	8,4
6	75%	1	51451	91,6	4737	8,4
7	70%	1	51451	91,6	4737	8,4
8	65%	1	51451	91,6	4737	8,4
9	60%	1	51451	91,6	4737	8,4
10	55%	1	51451	91,6	4737	8,4
11	50%	1	51451	91,6	4737	8,4
12	45%	1	51451	91,6	4737	8,4
13	40%	1	51451	91,6	4737	8,4
14	35%	1	51451	91,6	4737	8,4
15	30%	1	51451	91,6	4737	8,4
16	25%	1	51451	91,6	4737	8,4
17	20%	1	51451	91,6	4737	8,4
18	15%	1	51451	91,6	4737	8,4
19	10%	1	51451	91,6	4737	8,4
20	5%	0,97619	53801	95,8	2387	4,2
21	0%	0,863636	56188	100	0	0

Çizelge 3.7. Filtreleme öncesi SNP veri seti tekrarlanabilirlik istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	56188
Birey Sayısı	94
Minimum	0,863636
1. Çeyrek (Q1)	1
Ortanca (Medyan)	1
Ortalama (Mean)	0,9971766
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,25

Çizelge 3.8. Filtreleme sonrası SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı dağılımı

	Yüzdelerik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	5670	33,6	11228	66,4
2	95%	1	5670	33,6	11228	66,4
3	90%	1	5670	33,6	11228	66,4
4	85%	1	5670	33,6	11228	66,4
5	80%	1	5670	33,6	11228	66,4
6	75%	1	5670	33,6	11228	66,4
7	70%	1	5670	33,6	11228	66,4
8	65%	0,989362	8015	47,4	8883	52,6
9	60%	0,989362	8015	47,4	8883	52,6
10	55%	0,989362	8015	47,4	8883	52,6
11	50%	0,978723	9485	56,1	7413	43,9
12	45%	0,978723	9485	56,1	7413	43,9
13	40%	0,968085	10541	62,4	6357	37,6
14	35%	0,957447	11374	67,3	5524	32,7
15	30%	0,946809	12109	71,7	4789	28,3
16	25%	0,93617	12766	75,5	4132	24,5
17	20%	0,914894	14007	82,9	2891	17,1
18	15%	0,904255	14572	86,2	2326	13,8
19	10%	0,882979	15552	92	1346	8
20	5%	0,861702	16480	97,5	418	2,5
21	0%	0,851064	16898	100	0	0

Çizelge 3.9. Filtreleme sonrası SNP veri seti lokuslara göre çağrı oranı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	16898
Birey Sayısı	94
Minimum	0,851064
1. Çeyrek (Q1)	0,93617
Ortanca (Medyan)	0,978723
Ortalama (Mean)	0,961288
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,0387

Çizelge 3.10. Filtreleme sonrası SNP veri seti minör allel frekansı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	0,5	17	0,1	16881	99,9
2	95%	0,386905	845	5	16053	95
3	90%	0,351064	1723	10,2	15175	89,8
4	85%	0,340426	2574	15,2	14324	84,8
5	80%	0,335106	3846	22,8	13052	77,2
6	75%	0,333333	4298	25,4	12600	74,6
7	70%	0,329787	5591	33,1	11307	66,9
8	65%	0,327957	5957	35,3	10941	64,7
9	60%	0,324468	6788	40,2	10110	59,8
10	55%	0,318681	7658	45,3	9240	54,7
11	50%	0,309524	8466	50,1	8432	49,9
12	45%	0,296296	9303	55,1	7595	44,9
13	40%	0,277108	10141	60	6757	40
14	35%	0,255319	10984	65	5914	35
15	30%	0,225806	11841	70,1	5057	29,9
16	25%	0,191489	12689	75,1	4209	24,9
17	20%	0,150538	13523	80	3375	20
18	15%	0,111702	14378	85,1	2520	14,9
19	10%	0,085106	15231	90,1	1667	9,9
20	5%	0,064516	16066	95,1	832	4,9
21	0%	0,05	16898	100	0	0

Çizelge 3.11. Filtreleme sonrası SNP veri seti minör allel frekansı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	16898
Birey Sayısı	94
Minimum	0,05
1. Çeyrek (Q1)	0,191489
Ortanca (Medyan)	0,309524
Ortalama (Mean)	0,26398
3. Çeyrek (Q3)	0,333333
Maksimum	0,5
Genel Eksik Veri Oranı	0,04

Çizelge 3.12. Filtreleme sonrası SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	14626	86,6	2272	13,4
2	95%	1	14626	86,6	2272	13,4
3	90%	1	14626	86,6	2272	13,4
4	85%	1	14626	86,6	2272	13,4
5	80%	1	14626	86,6	2272	13,4
6	75%	1	14626	86,6	2272	13,4
7	70%	1	14626	86,6	2272	13,4
8	65%	1	14626	86,6	2272	13,4
9	60%	1	14626	86,6	2272	13,4
10	55%	1	14626	86,6	2272	13,4
11	50%	1	14626	86,6	2272	13,4
12	45%	1	14626	86,6	2272	13,4
13	40%	1	14626	86,6	2272	13,4
14	35%	1	14626	86,6	2272	13,4
15	30%	1	14626	86,6	2272	13,4
16	25%	1	14626	86,6	2272	13,4
17	20%	1	14626	86,6	2272	13,4
18	15%	1	14626	86,6	2272	13,4
19	10%	0,977273	15960	94,4	938	5,6
20	5%	0,97619	16244	96,1	654	3,9
21	0%	0,95	16898	100	0	0

Çizelge 3.13. Filtreleme sonrası SNP veri seti tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	16898
Birey Sayısı	94
Minimum	0,95
1. Çeyrek (Q1)	1
Ortanca (Medyan)	1
Ortalama (Mean)	0,9963
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,04

Çizelge 3.14 Filtreleme öncesi SilicoDArT veri seti çağrı oranı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	29437	28,0	75823	72,0
2	95%	1	29437	28,0	75823	72,0
3	90%	1	29437	28,0	75823	72,0
4	85%	1	29437	28,0	75823	72,0
5	80%	1	29437	28,0	75823	72,0
6	75%	1	29437	28,0	75823	72,0
7	70%	0,989362	29437	38,1	65207	61,9
8	65%	0,989362	40053	38,1	65207	61,9
9	60%	0,978723	48335	45,9	56925	54,1
10	55%	0,978723	48335	45,9	56925	54,1
11	50%	0,968085	56609	53,8	48651	46,2
12	45%	0,957447	64889	61,6	40371	38,4
13	40%	0,957447	64889	61,6	40371	38,4
14	35%	0,946809	72154	68,5	33106	31,5
15	30%	0,936170	77616	73,7	27644	26,3
16	25%	0,925532	82045	77,9	23215	22,1
17	20%	0,914894	85961	81,7	19299	18,3
18	15%	0,904255	89475	85,0	15785	15,0
19	10%	0,882979	95769	91,0	9491	9,0
20	5%	0,861702	100092	95,1	5168	4,9
21	0%	0,808511	105260	100	0	0

Çizelge 3.15. Filtreleme öncesi SilicoDArT SNP veri seti çağrı oranı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	105260
Birey Sayısı	94
Minimum	0,808511
1. Çeyrek (Q1)	0,925532
Ortanca (Medyan)	0,968085
Ortalama (Mean)	0,9546474
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,04

Çizelge 3.16. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
2	95%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
3	90%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
4	85%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
5	80%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
6	75%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
7	70%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
8	65%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
9	60%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
10	55%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
11	50%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
12	45%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
13	40%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
14	35%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
15	30%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
16	25%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
17	20%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
18	15%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
19	10%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
20	5%	1,0	103740	98,6	1520	1,4
21	0%	1,0	105260	100	0	0

Çizelge 3.17. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri

Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	105260
Birey Sayısı	94
Minimum	0,95
1. Çeyrek (Q1)	1
Ortanca (Medyan)	1
Ortalama (Mean)	0,9993181
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,05

Çizelge 3.18. Filtreleme sonrası SilicoDART veri seti çağrı oranı dağılımı

	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
2	95%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
3	90%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
4	85%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
5	80%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
6	75%	1,0	29407	29,4	70696	70,6
7	70%	0,989362	39938	39,9	60165	60,1
8	65%	0,989362	39938	39,9	60165	60,1
9	60%	0,978723	48065	48,0	52038	52,0
10	55%	0,978723	48065	48,0	52038	52,0
11	50%	0,968085	56136	56,1	43967	43,9
12	45%	0,968085	56136	56,1	43967	43,9
13	40%	0,957447	64207	64,1	35896	35,9
14	35%	0,946809	71278	71,2	28825	28,8
15	30%	0,946809	71278	71,2	28825	28,8
16	25%	0,936170	76629	76,6	23474	23,4
17	20%	0,925532	80981	80,9	19122	19,1
18	15%	0,904255	88297	88,2	11806	11,8
19	10%	0,893617	91581	91,5	8522	8,5
20	5%	0,872340	96830	96,7	3273	3,3
21	0%	0,851064	100103	100	0	0,0

Çizelge 3.19. Filtreleme sonrası SilicoDART veri seti çağrı oranı istatistikleri

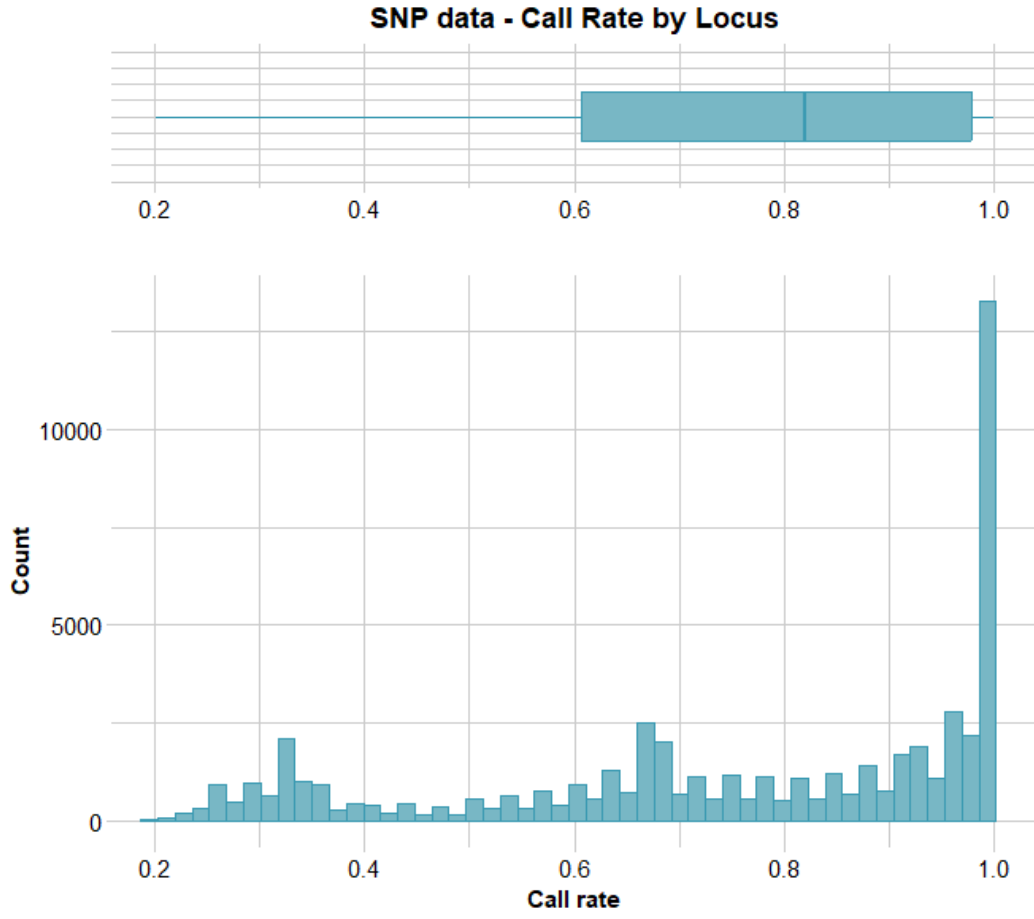
Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	100103
Birey Sayısı	94
Minimum	0,851064
1. Çeyrek (Q1)	0,93617
Ortanca (Medyan)	0,968085
Ortalama (Mean)	0,9596086
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,0404

Çizelge 3.20. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti tekrarlanabilirlik oranı dağılımı

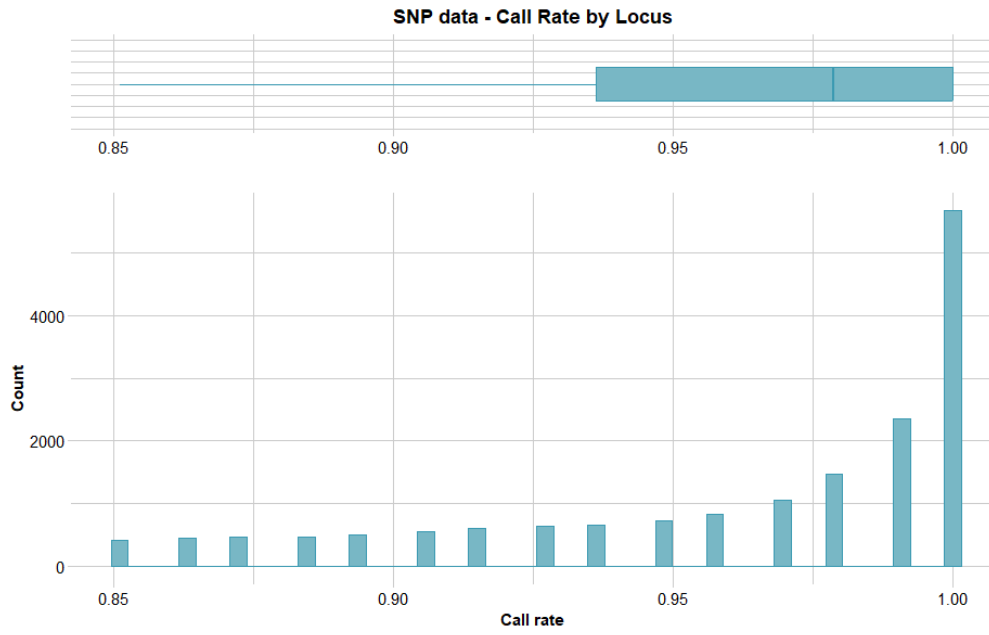
	Yüzdellik	Eşik Değeri	Elde Edilen	Yüzde	Filtrelenen	Yüzde
1	100%	1	100103	100	0	0
2	95%	1	100103	100	0	0
3	90%	1	100103	100	0	0
4	85%	1	100103	100	0	0
5	80%	1	100103	100	0	0
6	75%	1	100103	100	0	0
7	70%	1	100103	100	0	0
8	65%	1	100103	100	0	0
9	60%	1	100103	100	0	0
10	55%	1	100103	100	0	0
11	50%	1	100103	100	0	0
12	45%	1	100103	100	0	0
13	40%	1	100103	100	0	0
14	35%	1	100103	100	0	0
15	30%	1	100103	100	0	0
16	25%	1	100103	100	0	0
17	20%	1	100103	100	0	0
18	15%	1	100103	100	0	0
19	10%	1	100103	100	0	0
20	5%	1	100103	100	0	0
21	0%	1	100103	100	0	0

Çizelge 3.21. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti tekrarlanabilirlik oranı istatistikleri

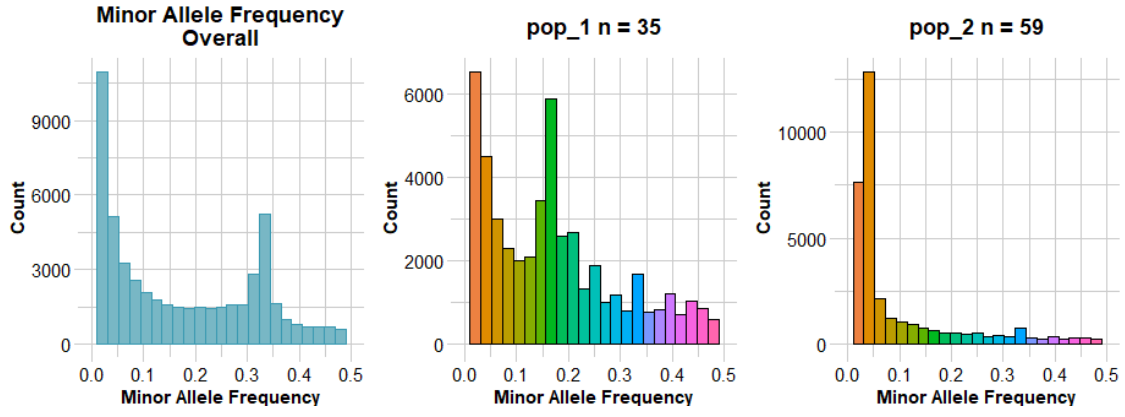
Ölçüm	Değer
Lokus Sayısı	100103
Birey Sayısı	94
Minimum	1
1. Çeyrek (Q1)	1
Ortanca (Medyan)	1
Ortalama (Mean)	1
3. Çeyrek (Q3)	1
Maksimum	1
Genel Eksik Veri Oranı	0,04



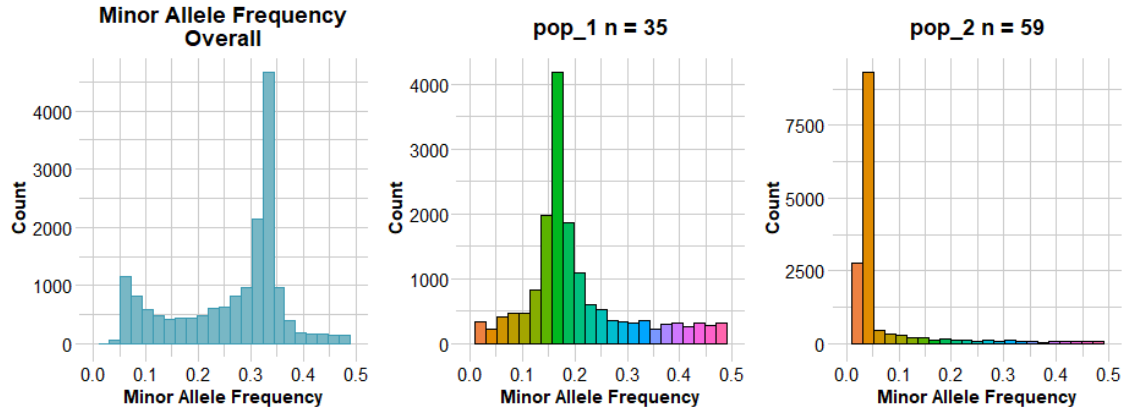
Şekil 3.1. Filtreleme öncesi SNP lokusa göre çağrı oranı grafiği



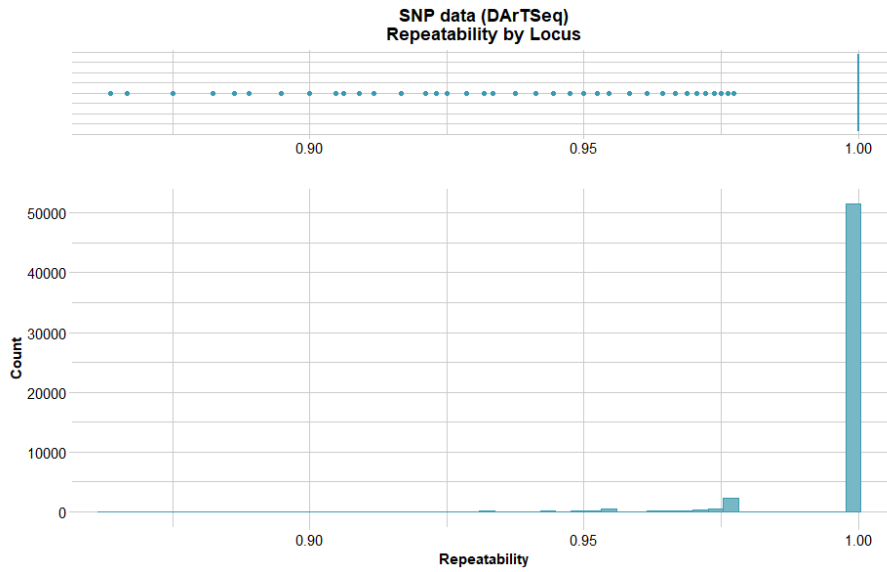
Şekil 3.2. Filtreleme sonrası SNP lokusa göre çağrı oranı grafiği



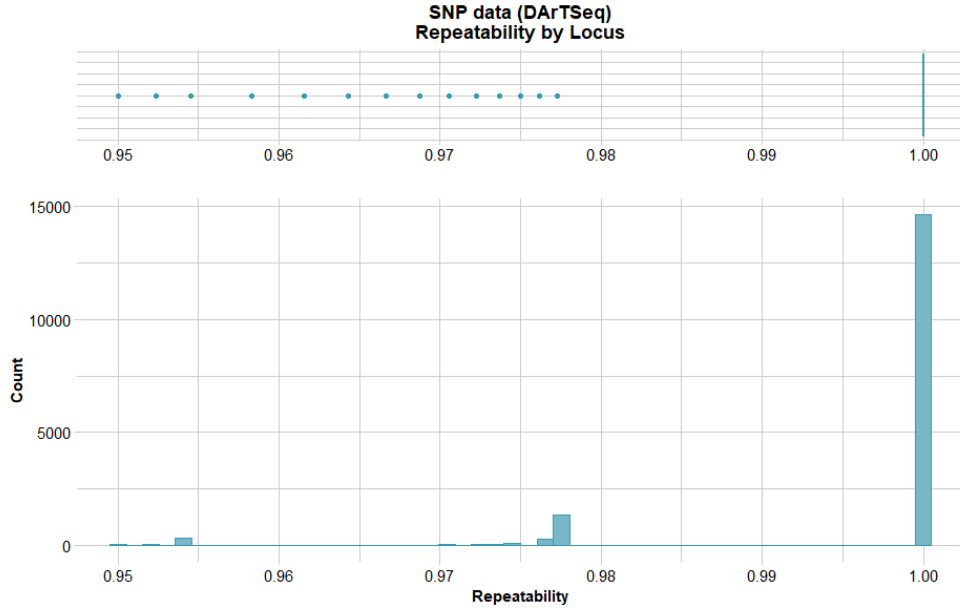
Şekil 3.3. Filtreleme öncesi SNP minör allel frekansı dağılım grafiği



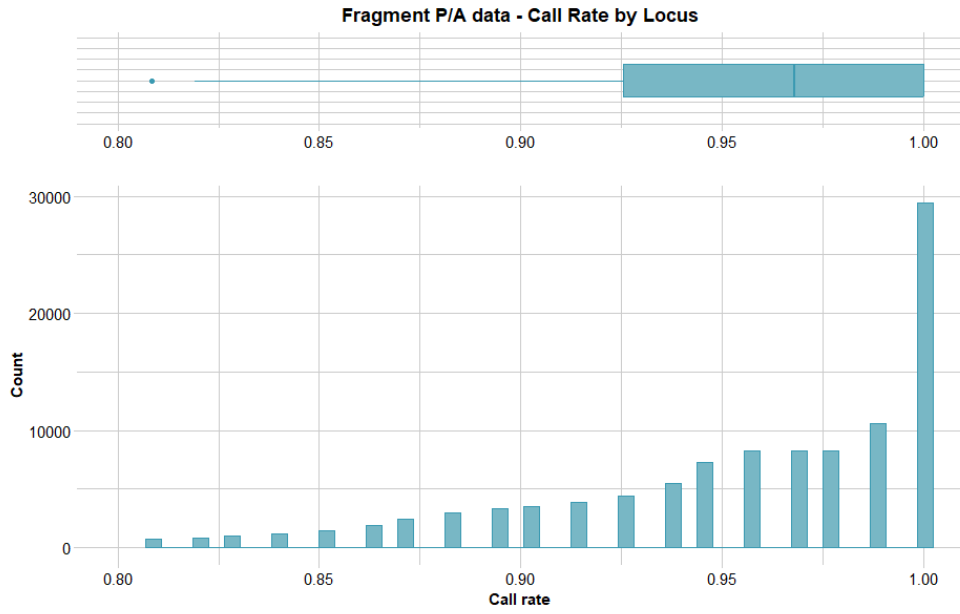
Şekil 3.4. Filtreleme sonrası SNP minör allel frekansı dağılım grafiği



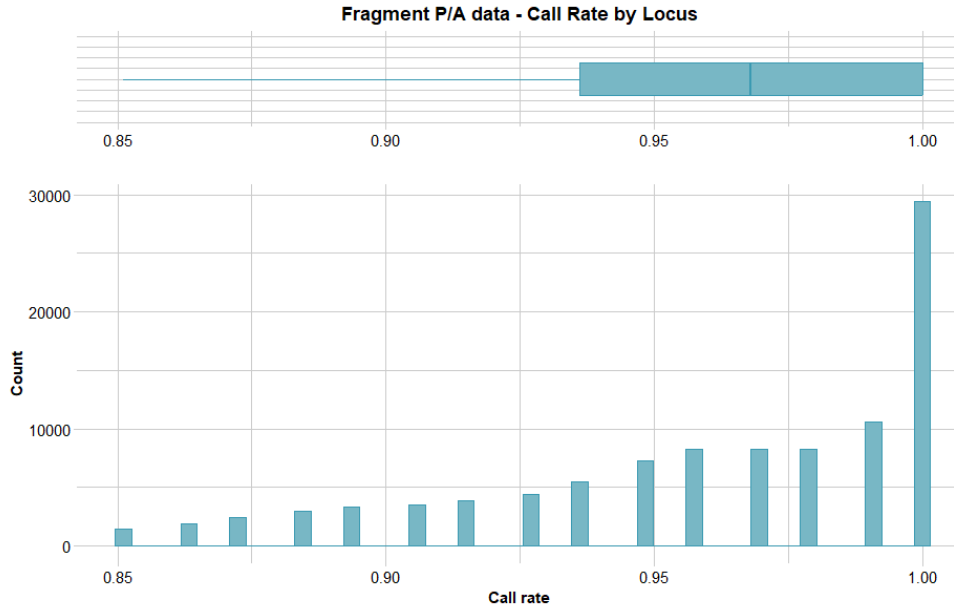
Şekil 3.5. Filtreleme öncesi SNP tekrarlanabilirlik oranı grafiği



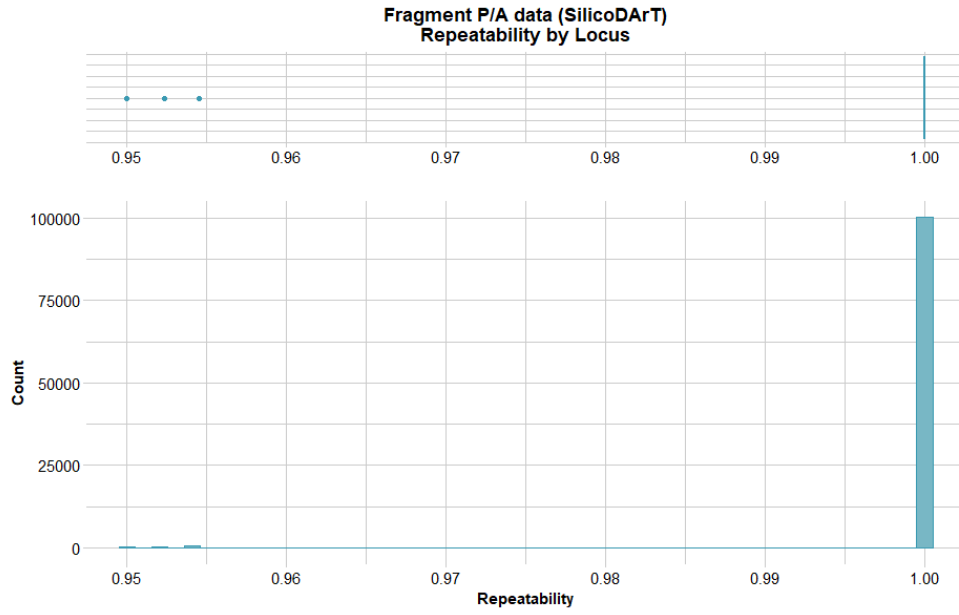
Şekil 3.6. Filtreleme sonrası SNP tekrarlanabilirlik oranı grafiği



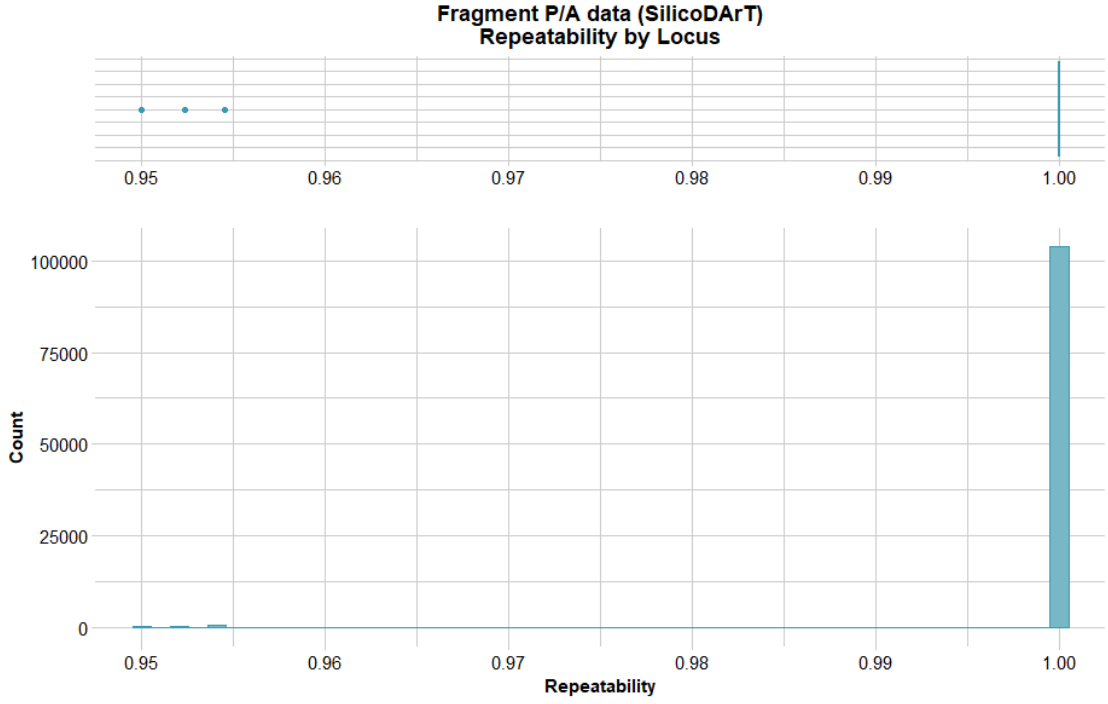
Şekil 3.7. Filtreleme öncesi SilicoDART çağrı oranı grafiği



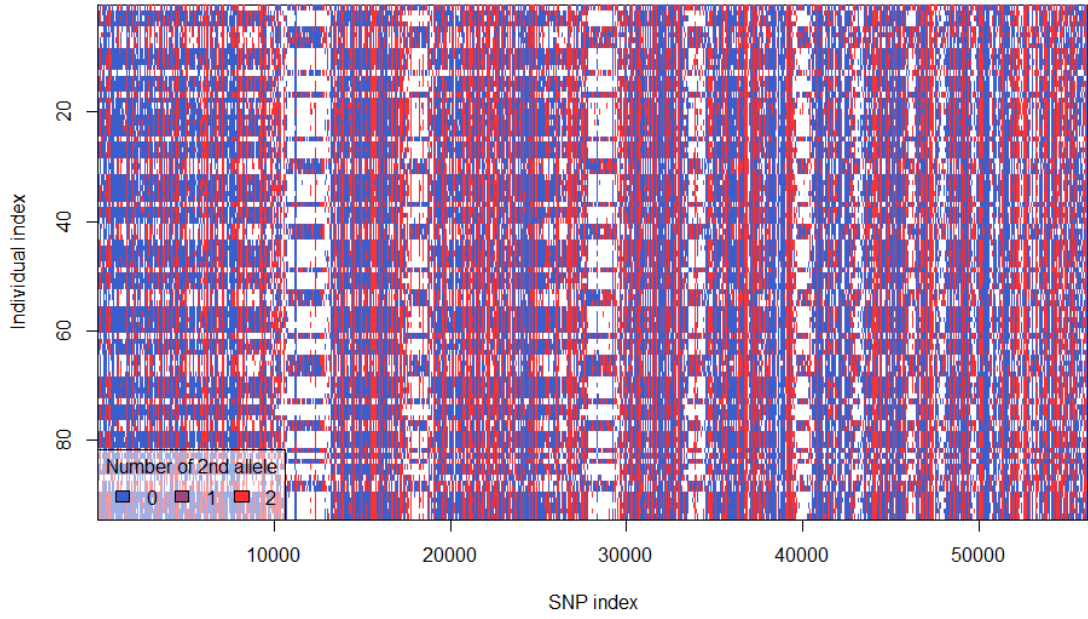
Şekil 3.8. Filtreleme sonrası SilicoDArT çağrı oranı grafiği



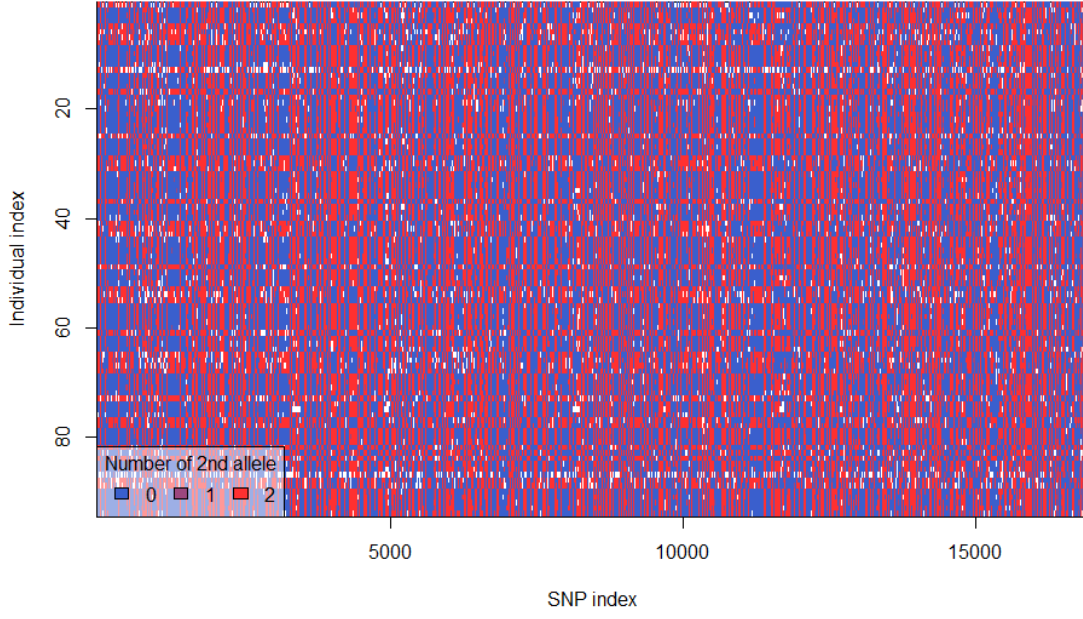
Şekil 3.9. Filtreleme öncesi SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı grafiği



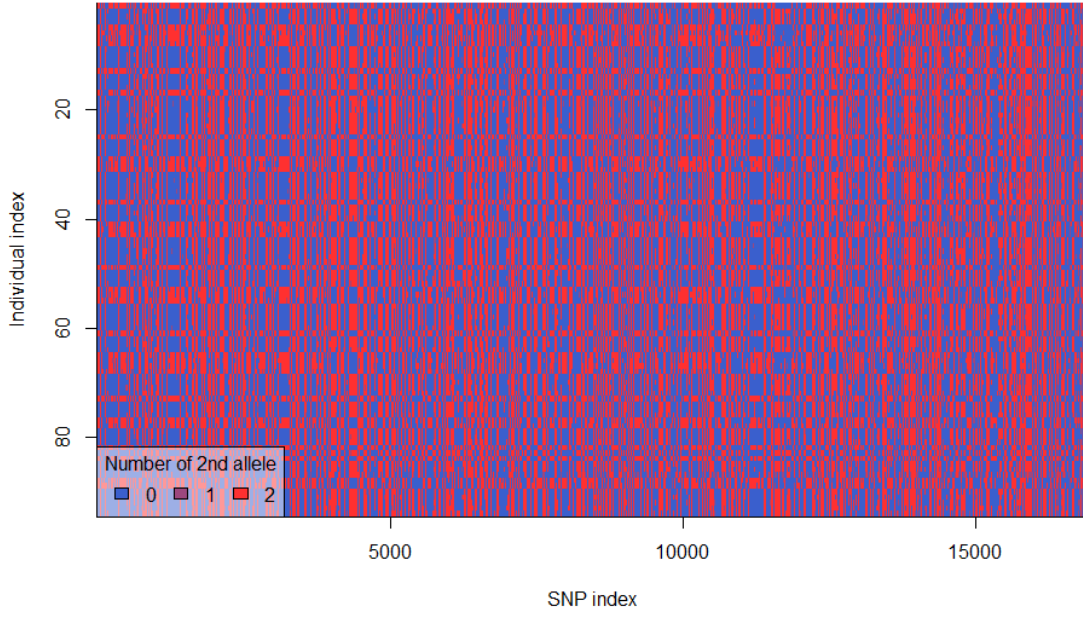
Şekil 3.10. Filtreleme sonrası SilicoDArT tekrarlanabilirlik oranı grafiği



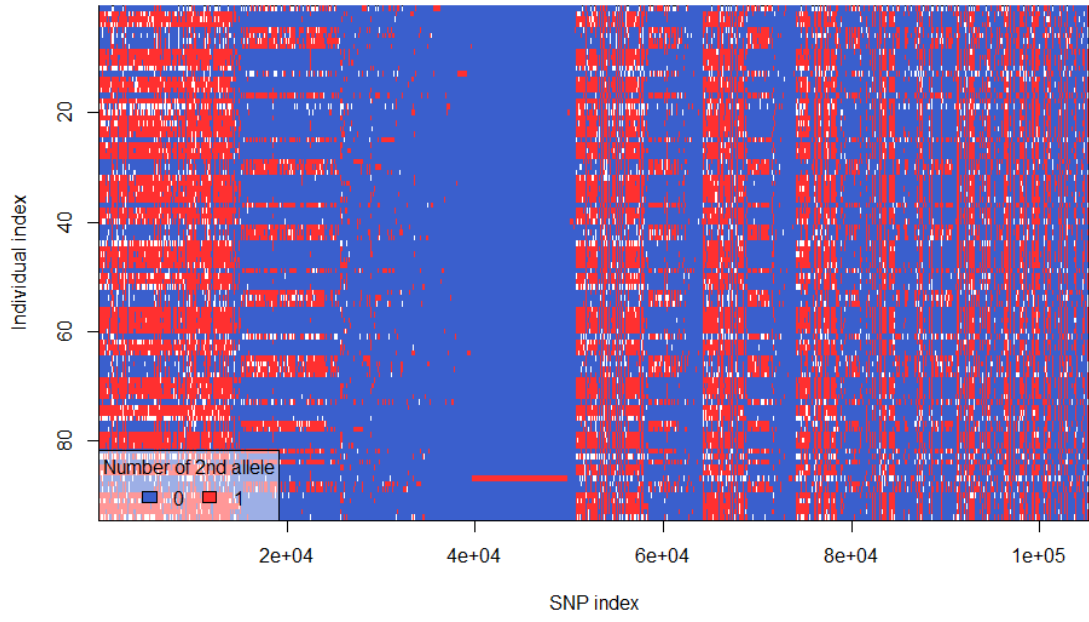
Şekil 3.11. Filtreleme öncesi SNP veri seti ısı haritası



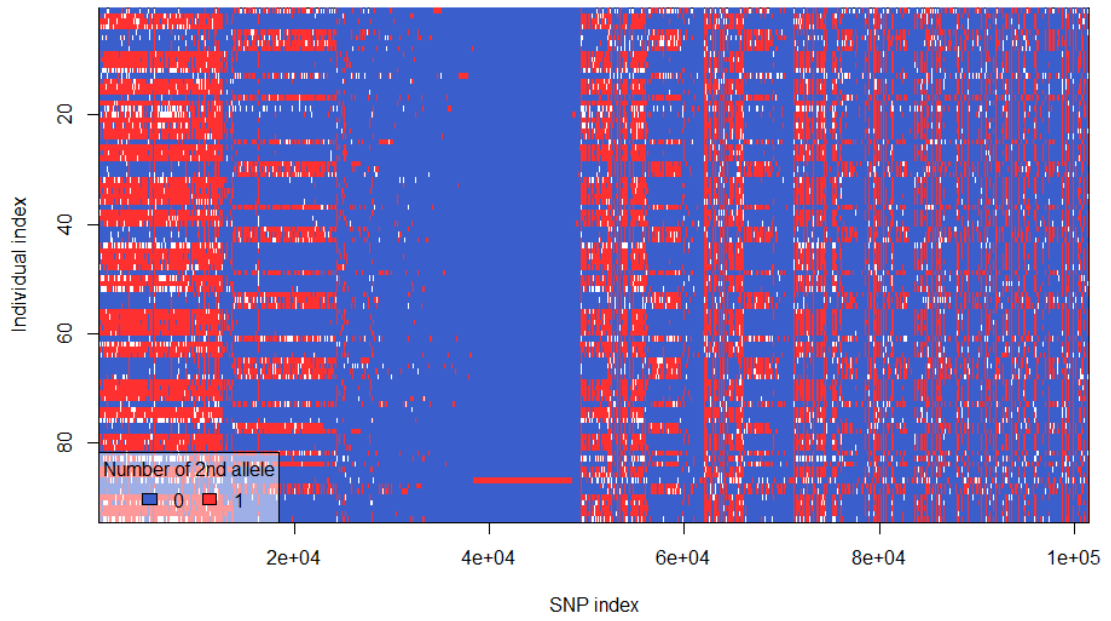
Şekil 3.12. Filtreleme sonrası SNP veri seti ısı haritası



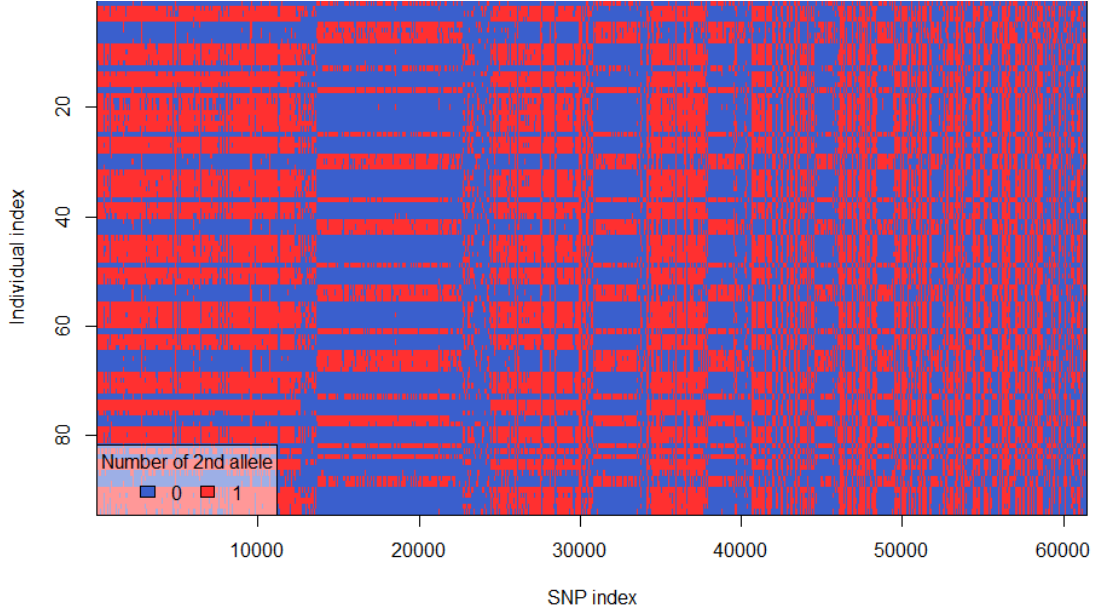
Şekil 3.13. İmpütasyon sonrası SNP veri seti ısı haritası



Şekil 3.14. Filtreleme öncesi SilicoDArT veri seti ısı haritası



Şekil 3.15. Filtreleme sonrası SilicoDArT veri seti ısı haritası



Şekil 3.16. İmpütasyon sonrası SilicoDArT veri seti ısı haritası

3.2. Tüm Belirteçlerin Kromozomlara Göre Dağılımı Temel İstatistikler

SNP ve SilicoDArT belirteçlerinde bulunan popülasyonları temsil eden 94 bireye ait SNP ve SilicoDArT lokuslarının kromozomlara göre dağılım tablosu çizelge 3.22’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.22. SNP ve SilicoDArT belirteçlerinin kromozomlara göre dağılımı

	Chr1A	Chr1B	Chr1D	Chr2A	Chr2B	Chr2D	Chr3A	Chr3B	Chr3D	Chr4A	Chr4B	Chr4D	Chr5A	Chr5B	Chr5D	Chr6A	Chr6B	Chr6D	Chr7A	Chr7B	Chr7D
Filtreleme Öncesi SNP	3886	632	972	4955	970	1244	4650	740	1157	3136	503	645	5006	798	1028	3584	649	900	5944	803	1377
Filtreleme Sonrası SNP	1291	151	377	1679	228	434	1521	168	434	1018	121	264	1776	188	385	1136	150	285	1752	180	413
Filtreleme Öncesi SilicoDArT	5366	1767	1186	6766	2298	1760	6694	2194	1607	5142	1437	870	6833	2202	1430	5559	1883	1338	8367	2281	2072
Filtreleme Sonrası SilicoDArT	5050	1743	1122	6336	2252	1663	6299	2154	1539	4894	1421	827	6381	2181	1356	5265	1863	1280	7942	2258	1992

Çizelge 3.23. SNP ve SilicoDArT belirteçlerinin temel istatistikleri

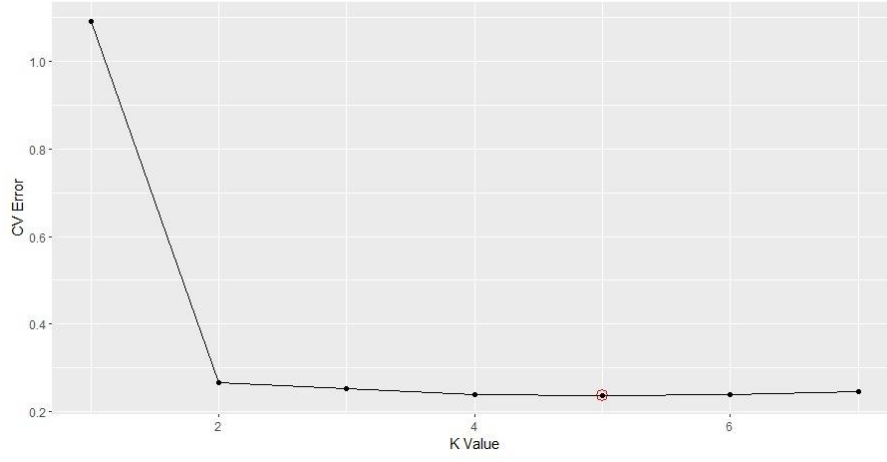
	Ho	Hs	Ht	Dst	Htp	Dstp	Fst	Fstp	Fis	Dest
SNP	0,0282	0,2035	0,4139	0,2104	0,6243	0,4208	0,5084	0,6741	0,8615	0,5283
SilicoDArT	0,2887	0,1835	0,2147	0,0313	0,2460	0,0625	0,1456	0,2542	-0,5736	0,0766

3.3. Popülasyon Yapısı Analizleri

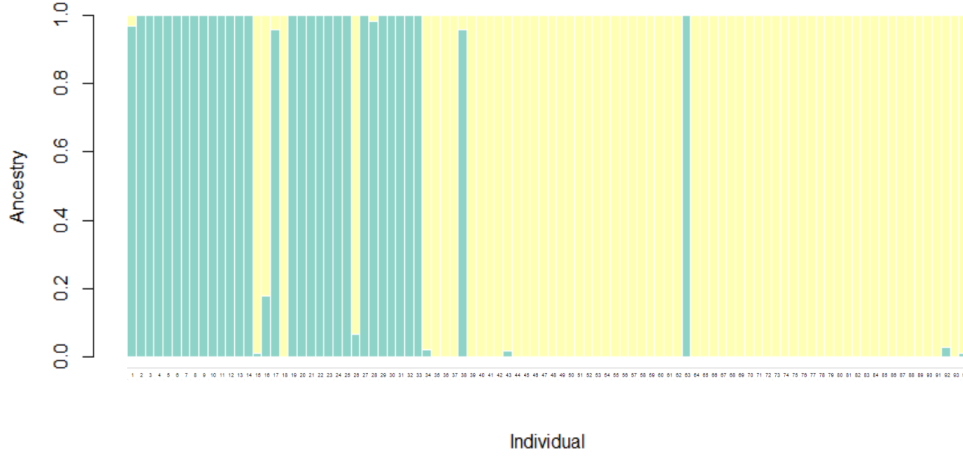
Triticum urartu ve *Triticum baeoticum* popülasyonlarının yapısını tür içi ve türler arası çeşitliliği ADMIXTURE programı kullanılarak analiz edilmiştir. ADMIXTURE programı STRUCTURE programından farklı olarak optimum K değerini hesaplarken bayeziyen bir yaklaşım olan MCMC simülasyon tekniğini kullanırken ADMIXTURE programı maksimum olabilirlik (maximum-likelihood) yaklaşımını kullanmaktadır. ADMIXTURE program ile gerçekleştirilen analizler sonucunda optimum K değerini belirlenebilmesi için K değeri 1 ile 7 arasında test edilmiştir. Gerçekleştirilen bu testler sonucunda çapraz doğrulama değerleri ve en düşük çapraz doğrulama hatasına sahip olan K değeri 5, en yüksek LogLikelihood değerine sahip olan K değeri ise 2 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar K=5 değerinin modelin genelleme kapasitesi açısından, K=2 değerinin ise en düşük çapraz doğrulama hatası oranına sahip olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.24). K=2 ve K=5 değerlerine sahip Q ve P matrisleri R programlama dilinde bulunan “ggplot2” kütüphanesi kullanılarak görselleştirilmiştir.

Çizelge 3.24. Admixture Programı kullanılarak gerçekleştirilen analiz sonuçları

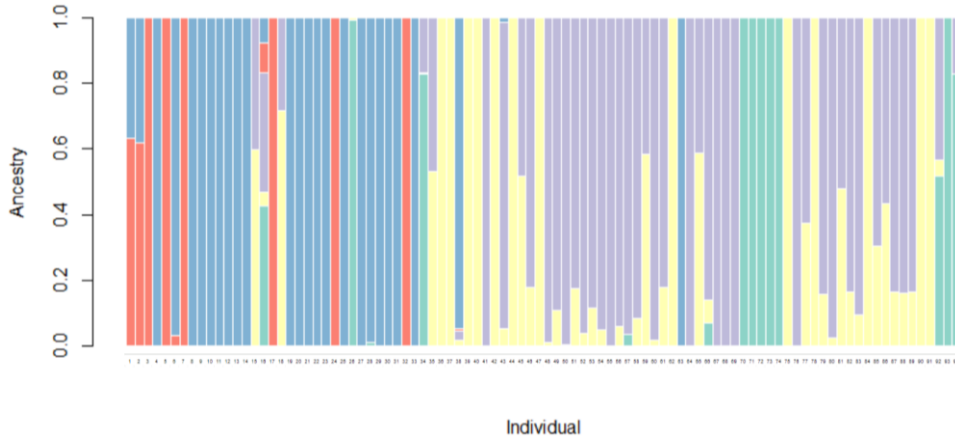
K	CV hatası	LogLikelihood
1	1,09197	-1,75E+06
2	0,26556	-665267
3	0,25306	-938592
4	0,23938	-1,73E+06
5	0,23704	-1,42E+06
6	0,23817	-1,38E+06
7	0,24643	-745397



Şekil 3.17. Çapraz doğrulama hatası grafiği



Şekil 3.18. Popülasyon sayısı (K) 2 iken ADMIXTURE popülasyon atasallık grafiği



Şekil 3.19. Popülasyon sayısı (K) 5 iken ADMIXTURE popülasyon atasallık grafiği

3.4. Moleküler Varyans Analizleri

Moleküler varyans analizi, genetik veri setlerindeki varyansın kaynağını ayrıntılı bir biçimde ortaya koyar. Bu istatistiksel yöntem, özellikle farklı biyolojik gruplar veya popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkları derinlemesine inceler. Ayrıca, bu analiz sayesinde genetik varyansın farklı hiyerarşik düzeylerde, örneğin coğrafi bölgeler, sosyal yapılar veya evrimsel süreçler gibi, nasıl dağıtıldığı anlaşılır. Bu bilgiler, genetik çeşitliliğin altında yatan mekanizmaları çözümlenebilmek ve koruma biyolojisi, tıbbi araştırmalar veya evrimsel biyoloji gibi farklı disiplinlerde uygulanabilir bilgiler sunabilmektedir. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen AMOVA analizi 2 farklı hiyerarşik düzey ele alınarak gerçekleştirilmiştir ve analiz sonuçları aşağıda bulunan çizelgelerde gösterilmiştir. SNP ve SilicoDArT verileri kullanılarak gerçekleştirilen AMOVA testleri sonucunda üst verisi (metadata) 2 popülasyona ayrılan SNP verisi ile gerçekleştirilen AMOVA test sonucunun "pop.names" kategorisinde SSD 27,28645, MSD 27,2864481, p değeri 0, phi istatistiği 0,8282397, serbestlik derecesi (df) 1 ve grup içi varyans değeri (σ^2) 0,61813'tür. "Error" kategorisinde ise SSD 11,79327, MSD 0,1281877, serbestlik derecesi (df) 92 ve grup içi varyans değeri (σ^2) 0,12819 olduğu gözlemlenmiştir. Varyans katsayıları "pop.names" kategorisi için 43,93617 olarak hesaplanmıştır. SilicoDArT verisi ile gerçekleştirilen AMOVA test sonucunun "pop.names" kategorisinde SSD 5,645474, MSD 5,6454739, p değeri 0, phi istatistiği 0,793927, serbestlik derecesi (df) 1 ve grup içi varyans değeri (σ^2) 0,127738'tir. "Error" kategorisinde ise SSD 3,050342, MSD 0,0331559, serbestlik derecesi (df) 92 ve grup içi varyans değeri (σ^2) 0,033156 olduğu gözlemlenmiştir. Varyans katsayıları "pop.names" kategorisi için 43,93617 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.25 ve Çizelge 3.26).

Çizelge 3.25. SNP AMOVA testi sonuç çizelgesi (Metadata nPOP= 2)

Kategori	SSD	MSD	df	σ^2	P.value	Phi-statistics	Variance Coefficients
pop.names	27,28645	27,28645	1	0,61813	0	0,82824	43,93617
Error	11,79327	0,128188	92	0,12819			
Total	39,07972	0,420212	93				

Çizelge 3.26. SilicoDArT AMOVA testi sonuç çizelgesi (Metadata nPOP= 2)

Kategori	SSD	MSD	df	sigma2	P.value	Phi-statistics	Variance Coefficients
pop.names	5,64547	5,645474	1	0,12774	0	0,793927	43,93617
Error	3,05034	0,033156	92	0,03316			
Total	8,69582	0,093503	93				

3.5. Temel Koordinat Analizleri (PCoA)

Temel Koordinat Analizi (PCoA), çok değişkenli verileri iki veya daha fazla boyutta görselleştirmek için kullanılan bir tekniktir. Temel Bileşen Analizi (PCA) gibi, PCoA da yüksek boyutlu veri setlerini daha düşük boyutlu bir uzaya indirger. PCoA, bir benzerlik matrisi veya bir farklılık matrisi gibi yakınlık matrislerini analiz etmenize izin veren güçlü ve popüler bir çok değişkenli analiz yöntemidir. SNP ve SilicoDArT verileri ile gerçekleştirilen temel koordinat analizinde k-means kümeleme algoritması sonucunda elde edilen temel bileşen matrisi Çizelge 3.27’te ve Çizelge 3.28’te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre popülasyonlar arasındaki varyansı en iyi açıklayan temel bileşen PC1 ve PC2 bileşenleri olarak belirlenmiştir. Şekil 3.20 ve Şekil 3.21’de oluşturulan temel koordinat analizi grafikleri PC1 ve PC2 bileşenleri kullanılarak oluşturulmuştur. Bu analizler sonucunda SNP ve SilicoDArT verisine göre popülasyonların 2 ayrı kümede kümelendiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.27. SNP Veri setiyle oluşturulan temel bileşenler matrisi

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
1	63,62979	15,53209	0,292723	-0,14739	26,75403
2	65,0938	15,66925	-0,20616	-0,31983	26,61152
3	66,6112	32,98477	-1,47388	-0,07937	-4,72226
4	72,48765	-9,98217	-0,0119	0,266266	-1,40601
5	66,18338	33,58555	-1,66223	-0,07387	-6,11321
6	71,3466	-8,05105	0,082579	-0,04554	-1,13173
7	66,573	31,48101	-1,43018	0,185039	-5,15555
8	72,41245	-9,43574	-0,05986	0,055439	-2,33342
9	72,12702	-8,60686	0,248402	0,026394	0,168814
10	71,7916	-9,0446	-0,0227	0,112347	-0,77208
11	72,55736	-9,89006	-0,16015	-0,1888	-3,07985

Çizelge 3.27 (devam)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
12	72,66501	-10,2974	0,103419	0,211013	-1,2857
13	72,38078	-10,1681	0,142439	-0,10725	-0,94882
14	72,24394	-9,51725	0,101705	0,077627	-0,95922
15	-34,6009	-0,64691	-5,50013	0,417482	0,082203
16	-14,9431	2,748746	10,15267	-2,71445	12,02045
17	63,45968	31,85335	-1,76918	0,458088	-6,52307
18	-35,7838	-0,42203	-7,53159	4,424099	-0,01778
19	72,10739	-7,78117	-0,15107	0,050486	1,953662
20	72,28005	-9,31364	-0,09465	0,258251	-1,01572
21	71,95854	-7,63493	-0,1776	0,072719	1,968863
22	71,41561	-7,36391	-0,14005	0,060938	-0,56944
23	72,29398	-9,71251	-0,00699	0,043959	-0,85808
24	66,83948	31,41618	-1,59242	-0,08781	-6,12208
25	71,88957	-9,24049	0,120526	-0,4069	-0,87964
26	-26,443	1,627366	15,63367	1,979173	5,213972
27	71,4915	-10,8218	-0,11367	0,285175	-1,87481
28	69,89925	-9,47655	0,424725	-0,12156	-0,24352
29	71,98517	-9,5441	-0,06473	0,048338	-0,67295
30	72,05699	-9,10042	-0,191	0,139199	-0,18938
31	72,60674	-9,89397	-0,10286	-0,20154	-3,11231
32	66,21415	32,24089	-1,67978	0,146998	-4,92898
33	72,61652	-9,27877	-0,02358	0,251226	-0,45805
34	-29,9574	0,541616	15,94664	2,046966	4,517148
35	-35,3478	-0,36621	-4,7437	0,943226	0,026416
36	-36,3296	-0,82433	-10,8835	7,982279	0,547095
37	-36,4009	-0,81215	-10,9706	8,009383	0,542552
38	67,4758	-8,71358	-0,0766	-0,51014	-1,8362
39	-36,3233	-0,78939	-10,9842	7,97325	0,557525
40	-35,6164	-0,84312	-10,9065	7,960942	0,662964
41	-34,7851	-0,05931	3,06787	-6,56214	-0,32216
42	-36,311	-0,79001	-10,8854	7,978626	0,531943
43	-33,3734	-0,38267	0,378366	-6,61806	-0,63148
44	-36,0611	-0,7454	-10,8607	7,67844	0,553155
45	-35,9672	-0,55646	-5,45083	1,039737	-0,05664
46	-35,4301	-0,3282	-1,865	-2,94151	-0,2442
47	-36,2495	-0,79466	-10,595	7,645932	0,525768
48	-35,1805	-0,2548	-0,04464	-8,11155	-0,57165
49	-35,2404	-0,32897	-0,80354	-4,30694	-0,91983
50	-34,6831	-0,15626	3,20835	-7,61549	-0,17655
51	-35,4284	-0,30451	-1,88269	-2,96178	-0,189
52	-35,165	-0,21874	0,819033	-5,53333	-0,45497
53	-35,2155	-0,31937	-0,81931	-4,25399	-0,95265

Çizelge 3.27 (devam)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
--	------------	------------	------------	------------	------------

54	-34,8555	-0,10085	1,21937	-4,71601	-0,16992
55	-34,9768	-0,12873	1,336247	-5,33255	-0,5702
56	-35,3598	-0,40425	-0,09607	-4,97506	-0,69725
57	-34,9143	-0,06453	2,102895	-5,02048	-0,65373
58	-35,1184	-0,19577	-0,26877	-4,03571	-0,18588
59	-35,4043	-0,47966	-5,94016	3,280341	0,808525
60	-34,8514	-0,13162	1,617188	-5,56394	-0,61849
61	-35,5182	-0,37403	-1,90936	-3,01034	-0,2733
62	-36,3363	-0,74451	-10,8713	7,961218	0,51269
63	71,72079	-10,0789	0,027823	-0,06734	-1,30169
64	-34,6341	-0,18073	1,104011	-6,7616	0,084611
65	-35,4959	-0,41624	-6,00785	3,326008	0,818975
66	-35,0739	-0,16907	1,595032	-4,67636	-0,20476
67	-35,1279	-0,216	1,078343	-9,06631	-0,52348
68	-34,8147	-0,14487	3,389633	-8,76014	-0,35572
69	-35,2026	-0,30705	0,904046	-10,194	-0,72115
70	-32,9281	0,696962	21,35536	8,378121	-2,19688
71	-33,1477	0,642619	22,21927	9,837986	-2,73506
72	-33,2725	0,648032	21,73534	10,09389	-2,9073
73	-33,325	0,584316	20,93717	9,89828	-2,79647
74	-33,34	0,603962	20,84412	9,831563	-2,85315
75	-36,3527	-0,77598	-10,8977	7,938261	0,508547
76	-35,2466	-0,2291	1,359182	-10,0539	-0,71107
77	-35,4599	-0,49948	-3,85486	-1,67618	-0,49682
78	-36,3512	-0,79369	-10,9318	7,980147	0,545174
79	-35,6177	-0,43745	-1,54681	-5,75697	-1,92943
80	-35,4911	-0,32604	-0,13172	-8,06107	-0,59159
81	-35,4045	-0,32638	-4,51347	2,120219	0,224437
82	-35,6429	-0,42121	-1,71264	-5,77648	-1,85478
83	-35,2048	-0,30362	-0,07285	-4,76193	-0,12059
84	-36,3681	-0,77426	-10,9353	8,059042	0,560789
85	-35,6373	-0,52181	-3,00169	-2,84469	-0,43599
86	-35,5971	-0,38718	-4,08881	-0,04462	0,298276
87	-35,6211	-0,40712	-1,69215	-5,73984	-1,81493
88	-35,5622	-0,46484	-1,77677	-5,8229	-1,84483
89	-35,6208	-0,44947	-1,69112	-5,8126	-1,90152
90	-36,3596	-0,76951	-10,9296	7,903169	0,520697
91	-36,4097	-0,77408	-10,9809	7,955697	0,484633
92	-30,4104	1,023955	8,121776	-2,20134	2,833147
93	-33,064	0,689313	22,28905	9,825327	-2,81483
94	-30,4595	1,040733	15,83119	1,423318	4,571232

Çizelge 3.28. SilicoDArT Veri setiyle oluşturulan temel bileşenler matrisi

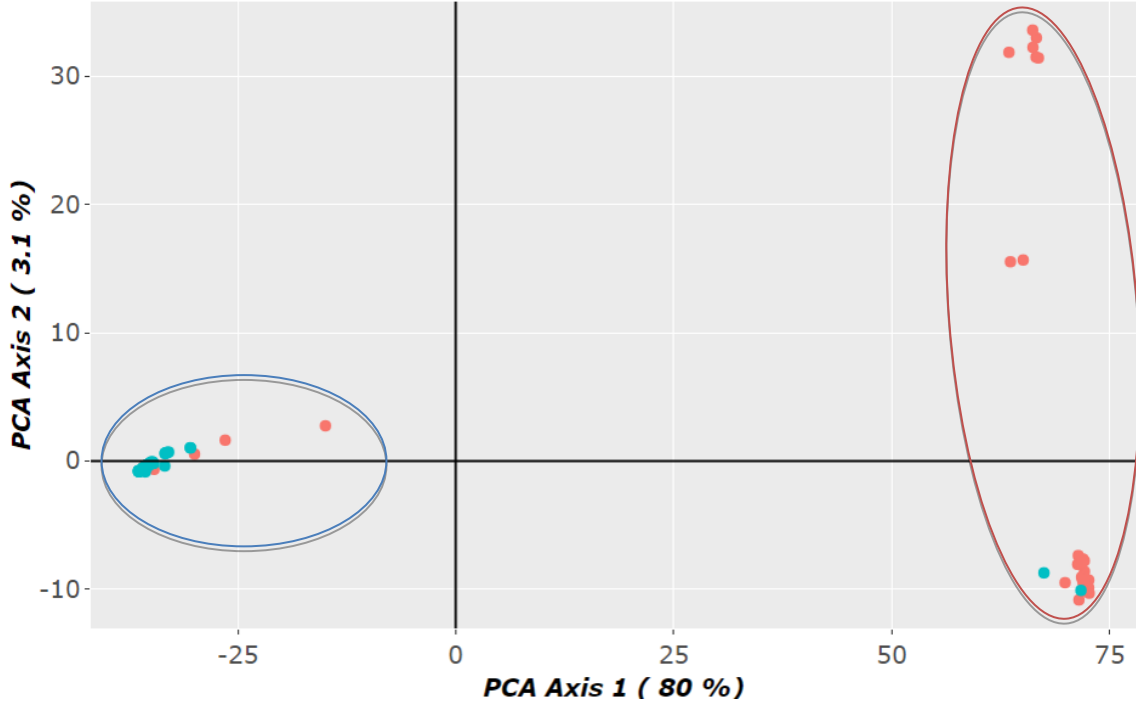
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
1	112,3612	-18,7439	33,75393	-11,9262	41,20071

2	106,8811	-21,7411	34,80421	-14,666	46,69677
3	120,4839	-16,2109	55,04672	12,33649	-14,3921
4	135,7301	8,784051	-16,6623	-0,75375	-1,31921
5	120,5049	-14,9678	53,62997	13,55541	-15,5668
6	134,1225	5,747034	-13,789	-3,61493	4,803835
7	120,6257	-15,387	52,13906	10,6577	-12,3901
8	133,5674	9,656633	-17,5598	0,946875	-3,42485
9	135,1619	7,119901	-13,5213	-0,5624	-1,38974
10	135,449	8,624595	-15,615	-0,13386	-2,1501
11	134,7511	10,16664	-17,4317	1,815842	-2,15963
12	135,7106	7,573325	-16,6587	-1,32694	0,18443
13	135,995	9,761609	-18,1267	-0,66439	-1,96517
14	134,7291	7,172235	-14,4946	-1,06369	0,155033
15	-56,1735	-3,05019	4,533587	-21,6726	8,077524
16	4,506054	-48,6223	9,365382	-43,0883	50,08632
17	121,1457	-16,0878	52,7387	11,46887	-15,1149
18	-68,986	16,983	5,595379	-5,68735	-3,46857
19	133,4905	5,983747	-11,7552	-1,5108	0,739176
20	134,7521	7,225365	-14,518	-1,07131	-0,41669
21	131,9605	4,926918	-11,2987	-2,94264	2,381113
22	134,0365	5,393878	-10,5762	-1,88054	0,599927
23	134,8495	9,410043	-16,2185	0,04528	-2,63437
24	121,9328	-13,4987	49,20012	12,8273	-16,3756
25	133,6011	5,584832	-12,9767	-2,94184	4,008125
26	-39,0206	-50,7628	-7,9064	-28,2299	10,7429
27	135,0108	7,877382	-17,0194	-3,09277	2,542926
28	135,9403	6,909247	-15,0693	-2,39576	1,64143
29	134,5009	7,07089	-15,4738	-2,34232	1,24467
30	135,4258	7,028675	-13,5637	-1,0377	-0,94993
31	134,747	10,0852	-17,4919	1,859784	-2,12586
32	120,7159	-15,7558	52,85736	11,47074	-14,0717
33	135,5394	8,348476	-14,1749	-0,67131	-2,44415
34	-44,3388	-39,0049	-7,99945	-17,3757	9,984757
35	-66,3133	5,591537	1,948196	-3,63883	2,293478
36	-64,748	19,44799	10,71742	-28,7016	-2,57451
37	-71,7226	27,90707	10,18932	-17,5387	-6,11745
38	133,3132	9,659196	-14,6925	2,486295	-4,77937
39	-71,8518	28,52111	10,48279	-18,0712	-6,36677
40	-71,7067	28,35709	10,46224	-18,1243	-6,4157
41	-65,6836	-6,18593	-5,02672	15,0511	4,25332
42	-71,8771	28,63017	10,51561	-17,9854	-6,3223
43	-66,2096	-2,89896	-3,70264	13,98412	3,505972
44	-71,5992	27,78532	10,15437	-17,4821	-6,24207
45	-70,4794	13,37657	2,745514	2,954118	1,960699
46	-68,2738	2,433417	-1,95187	14,44914	6,134235
47	-70,189	26,16828	10,18625	-19,8909	-5,67251

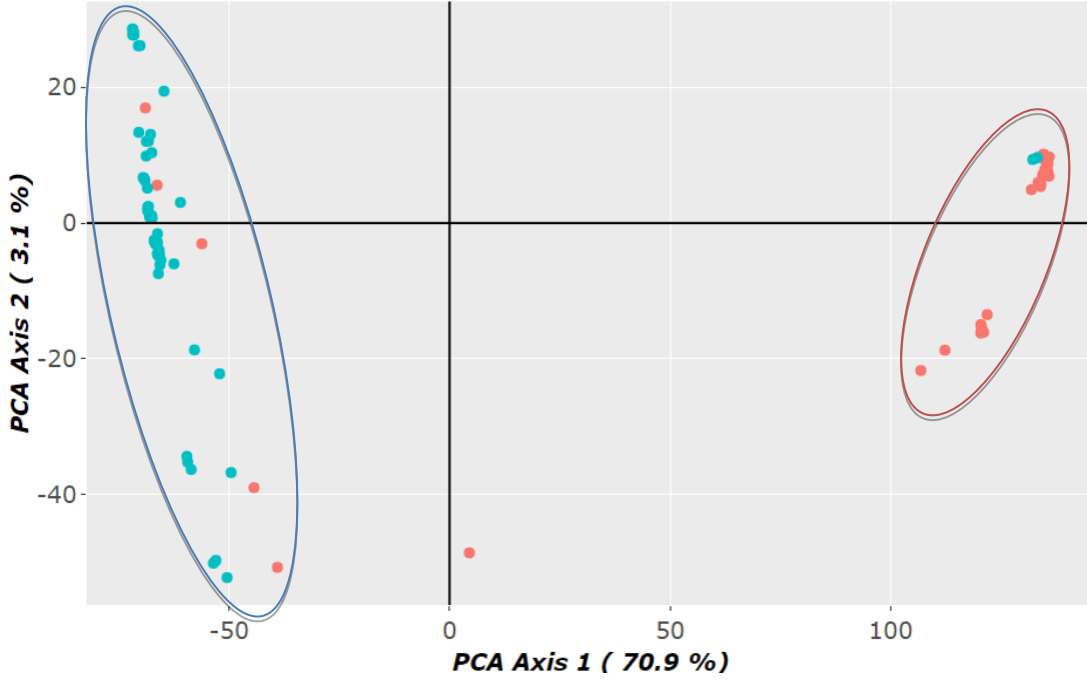
Çizelge 3.28. (devam)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
48	-62,4966	-6,00477	-2,19114	9,51179	12,97031
49	-67,4253	0,798527	-2,76814	13,8243	0,064148

50	-57,8351	-18,6984	-5,57048	4,169653	9,681911
51	-67,5649	1,115288	-1,98903	13,22613	6,786663
52	-65,8537	-4,02154	-3,69419	12,45206	4,538881
53	-67,7802	1,088247	-2,81471	14,32959	-0,09729
54	-65,7914	-4,68148	-4,08702	12,47963	1,655267
55	-66,9831	-2,65247	-3,48349	12,54438	1,519945
56	-68,457	1,812873	-3,00499	15,73944	4,284204
57	-66,6935	-3,07907	-3,50416	12,10276	1,60697
58	-68,0487	1,019657	-2,85923	13,36994	1,925177
59	-68,2735	12,09491	4,343243	-7,1979	-1,28225
60	-66,0805	-4,77935	-4,36284	15,11495	-0,16603
61	-68,4264	2,386677	-2,0074	14,5799	6,257934
62	-71,612	27,72381	10,072	-16,9112	-5,9892
63	132,297	9,377905	-17,5677	0,861675	-2,62889
64	-66,0194	-7,45142	-5,68471	17,2237	5,654785
65	-61,0272	3,044564	4,960693	-18,0798	3,152773
66	-66,2834	-4,49837	-3,97544	10,20287	1,005559
67	-66,2309	-1,57276	-3,06484	15,24374	7,370103
68	-65,4374	-5,48986	-4,22749	12,92824	3,541644
69	-66,9799	-2,5332	-4,63676	21,82797	9,0048
70	-59,3816	-35,2377	-14,6523	-0,50771	-23,4905
71	-50,4516	-52,2696	-15,8331	-20,1234	-24,9608
72	-53,541	-50,1471	-16,7826	-16,5909	-28,1295
73	-58,5948	-36,3331	-14,8107	-2,54466	-25,1814
74	-59,5653	-34,3969	-14,74	-0,43348	-25,1858
75	-71,7809	27,98438	10,2583	-17,3856	-6,19576
76	-66,6359	-2,73404	-4,22812	20,13919	8,65922
77	-67,5176	10,38091	3,275517	-3,57289	0,693246
78	-70,5703	26,12681	10,32554	-19,9122	-5,64676
79	-69,3109	6,569313	-1,59893	20,29055	6,753371
80	-67,9534	0,859256	-2,56883	17,62193	9,990074
81	-67,8084	13,08634	3,69927	-3,35405	-3,08011
82	-69,3146	6,602581	-1,6141	20,37852	6,758602
83	-66,3113	-2,89149	-4,29937	15,66721	5,861772
84	-71,8546	27,80616	10,14601	-17,3293	-5,99902
85	-68,7956	9,878311	1,807685	4,22436	0,669945
86	-68,7393	12,03796	3,16121	-2,61132	-1,01467
87	-69,4868	6,718205	-1,56303	20,44131	6,676472
88	-69,0594	6,268883	-1,59169	20,12469	6,940185
89	-68,517	5,146573	-1,64532	18,48708	7,149024
90	-71,7707	27,74548	10,1375	-17,0383	-6,13543
91	-71,729	28,15493	10,3623	-17,4232	-5,99383
92	-52,1513	-22,2196	-5,56977	-3,13764	3,819538
93	-52,985	-49,7418	-16,2469	-16,8625	-27,124
94	-49,5393	-36,788	-9,10203	-11,9144	6,921529



Şekil 3.20. SNP temel koordinat analizi grafiği



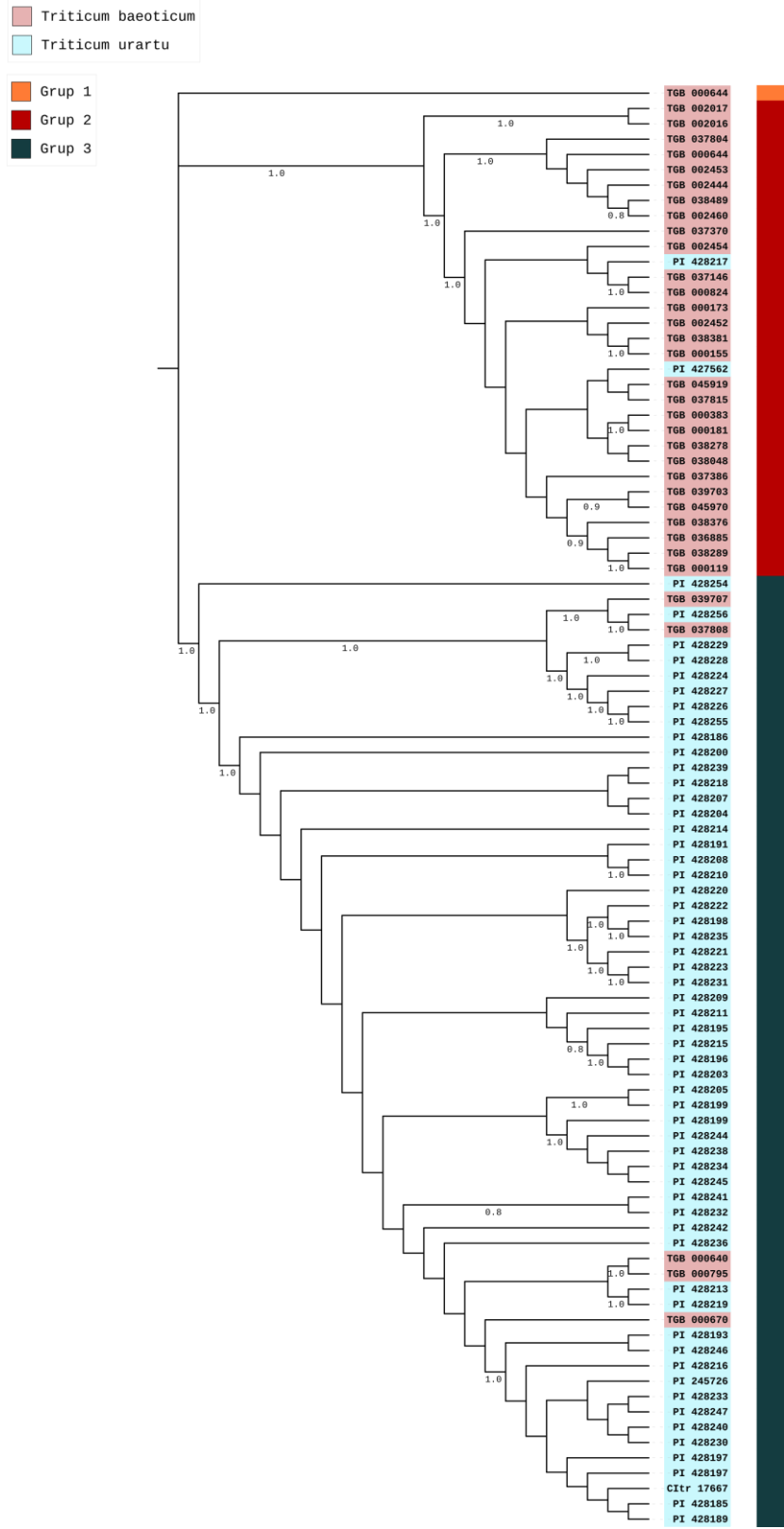
Şekil 3.21. SilicoDArT temel koordinat analizi grafiği

3.6. Filogenetik Analizler

SilicoDArT ve SNP verisetlerinin R programlama dilinde bulunan dartR paketi ile FASTA formatına çevrilmesinin ardından gerçekleştirilen filogenetik analizler maksimum olabilirlik ve UPGMA metotları uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizlere ilişkin araştırma bulguları Şekil 3.22 ve Şekil 3.23'te filogenetik ağaç diagramı olarak sunulmuştur. *Triticum urartu* ve *Triticum baeoticum* türlerine ait popülasyonları temsil eden bireylerin evrimsel ilişkilerini incelemek amacıyla maksimum olabilirlik (maximum-likelihood) istatistiksel metodu ve UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) kümeleme metodu kullanılarak oluşturulan iki farklı filogenetik ağaç dendrogramlarında *Triticum urartu* türlerine ait aksesyonlar açık yeşil, *Triticum baeoticum* türlerine ait aksesyonlar ise açık kırmızı etiketler ile vurgulanmıştır.

ML istatistiksel metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç dendrogramında *Triticum urartu* ve *Triticum baeoticum* türlerine ait bireyler 3 ana gruba ayrılmıştır. Grup 1 turuncu, grup 2, kırmızı ve grup 3 ise koyu yeşil olarak renklendirilmiştir. Grup 1 *Triticum baeoticum* türüne ait 1 aksesyondan, grup 2 *Triticum urartu* türüne ait 2 ve *Triticum baeoticum* türüne ait 29 toplamda 31 aksesyondan, grup 3 ise *Triticum urartu* türüne ait 57 ve *Triticum baeoticum* türüne ait 5 toplamda 62 aksesyondan oluştuğu gözlemlenmiştir.

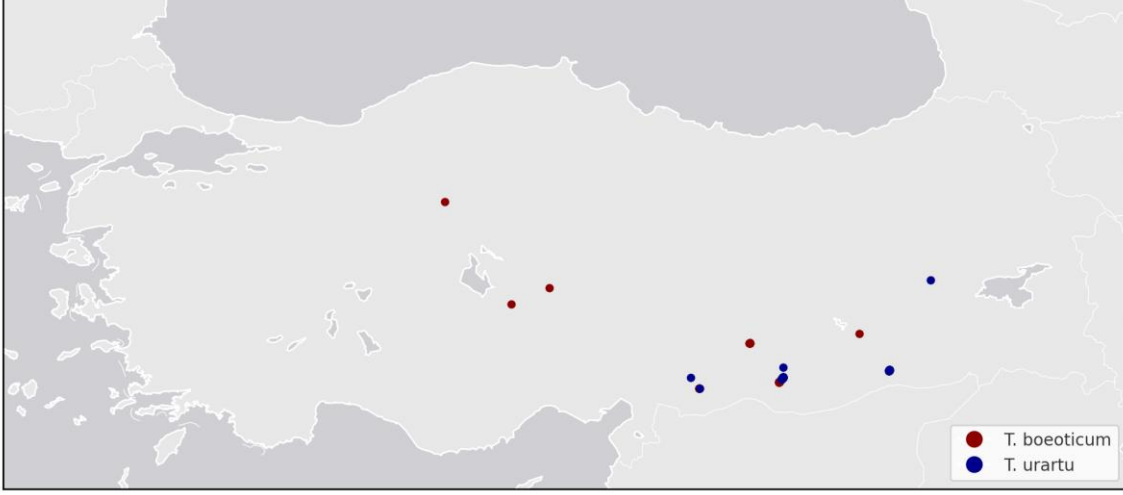
UPGMA kümeleme algoritması ile oluşturulan filogenetik ağaç dendrogramında ise *Triticum urartu* türlerine ait aksesyonlar açık yeşil, *Triticum baeoticum* türlerine ait aksesyonlar ise açık kırmızı etiketler ile vurgulanmıştır. *Triticum urartu* ve *Triticum baeoticum* türlerine ait bireyler 2 ana gruba ayrılmıştır. Grup 1 koyu kırmızı ve grup 2 ise koyu yeşil olarak renklendirilmiştir. Grup 1 *Triticum baeoticum* türüne ait 29 ve *Triticum urartu* türüne ait 2, toplamda 31, grup 2 ise *Triticum urartu* türüne ait 57 ve *Triticum baeoticum* türüne ait 6, toplamda 63 aksesyondan oluştuğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.22. SNP verisi ile oluşturulan ML filogenetik ağacı

4. TARTIŞMA VE YORUM

4.1. *T. urartu* ve *T. baeoticum* Aksesyonlarının Türkiye Coğrafi Bölgelerine Dağılımı



Şekil 3.24. Tez çalışmasında kullanılan aksesyonlarının Türkiye'deki coğrafi dağılımı

Bu tez çalışmasında, toplam *T. urartu* türünden 59 aksesyon USDA'dan, *T. baeoticum* türünden ise 35 aksesyon ise TTGB'den elde edilmiştir. USDA ve TTGB'nin verdiği bilgilere göre *T. baeoticum* türüne ait aksesyonlar 12 aksesyon Şanlıurfa'dan, 8 aksesyon Adıyaman'dan, 7 aksesyon Gaziantep'ten, 1'er aksesyon olacak şekilde Aksaray, Diyarbakır ve Ankara'dan toplanmıştır. *T. urartu* türüne ait aksesyonlar ise 38 aksesyon Şanlıurfa, 19 aksesyon Mardin, 1'er aksesyon Muş ve Gaziantep'ten toplanmıştır.

4.2. Genetik İlişkilerin Ortaya Çıkarılması İçin DArTseq Yönteminin Seçilmesi

Yeni nesil dizileme (YND) metotlarının ve bu metotlar ile geliştirilen dizileme yaklaşımları son yıllarda oldukça çeşitli hale gelmiş durumdadır. Tüm genom dizileme, hedeflenmiş bölge dizilemesi, amplicon dizileme gibi YND metotları organizmalara ait genetik bilgiyi ortaya çıkarmak için sıkça kullanılmaktadır. Ancak YND metotları kullanılarak ortaya çıkarılmak istenilen genetik bilginin organizmaların sahip olduğu genom boyutu ve ploidi seviyeleri arttıkça maliyet ve sonuçlandırma süreci artmaktadır. DArTSeq dizileme ile genotipleme metodu günümüzde genomik ve transkriptomik çalışmalar için kullanılan tüm genom dizileme, hedeflenmiş bölge dizileme, tekli ve

çiftli restriksiyon bölgeleri ile ilişkilendirilmiş DNA belirteç dizilemesi metotlarına (WGS, TRS, RADseq, ddRADseq) göre daha az maliyetli, daha hızlı, belirli özellikler için spesifik belirteç bölgelerine odaklanabilmesi ve referans genoma ihtiyaç duymaması özelliklerine sahip olmasından ötürü *Triticum urartu* ve *Triticum baеoticum* popülasyonlarını temsil eden bireyler arasındaki genetik ilişkiyi ortaya çıkarmak için seçilmiştir.

4.3. Temel İstatistikler

SNP veri setinden elde edilen temel istatistik verilerine göre SNP veri setinde gözlemlenen homozigotluk oranı (H_o) 0,0282 iken, gözlemlenen homozigotluk oranı 0,2035 olması *T. urartu* ve *T. baеoticum* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliğin fazla olduğu anlamına gelmektedir. Dst (popülasyonlar arasındaki genetik fark) ve Dpst (düzeltilmiş popülasyonlar arasındaki genetik fark) verilerinin sırasıyla 0,2104 ve 0,4208 olması bu çıkarımı desteklemektedir. Fis (endogami katsayısı) değerinin 0,8615 olması aynı popülasyon içerisinde üreme eğiliminin yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Temel istatistik verilerinden elde edilen bu verilerden *T. urartu* ve *T. baеoticum* aksesyonlarının farklı iki türe ait popülasyonlara ait olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

4.4. Popülasyon Yapısı Analizleri

SNP belirteçleri kullanılarak gerçekleştirilen ADMIXTURE analizi sonucunda belirlenen K değerlerine göre görselleştirilen Q matrisleri, K=2 değeri için 94 aksesyonu 2 popülasyona, K=5 değeri için ise 5 farklı popülasyona ayırmıştır. K=2 değeri en yüksek maksimum benzerlik oranının logaritmasına, K=5 değeri ise en düşük çapraz doğrulama hatasına sahip olmasından ötürü seçilmiştir. Gerçekleştirilen her iki analiz sonucunda K=2 değerine sahip popülasyon yapısı grafiği *T. urartu* ve *T. baеoticum* aksesyonlarını 2 farklı popülasyona ayırırken, K=5 değerine sahip popülasyon yapısı grafiği bu iki farklı popülasyondan farklı olarak alt popülasyonlara ayrılabilceği hususunda çıkarımlarda bulundurmıştır.

4.5. Temel Koordinat Analizleri

SNP ve SilicoDArT belirteçleri kullanılarak elde edilen PC1 ve PC2 matrisleri kullanılarak gerçekleştirilen her iki PCoA analizi sonucunda *Triticum urartu* ve *Triticum baеoticum* aksesyonları ayrı iki küme olarak kümelenemiştir. PI 428217 ve PI

427562 aksesyona numaralı *T. urartu* aksesyona *T. baeoticum* türüne ait aksesyona larla kümelendirken TGB 039707, TGB 037808, TGB 000640, TGB 000795 ve TGB 000670 aksesyona numaralı *T. baeoticum* aksesyona ları *T. urartu* türüne ait aksesyona lar ile kümelendirmiştir.

4.6. UPGMA ve Filogenetik Analizler

Maksimum Likelihood istatikselsel metodu ile oluşturulan filogenetik ağaçta 94 aksesyona 3 farklı gruba, UPGMA kümeleme algoritması ile oluşturulan filogenetik ağaçta ise 2 gruba ayrılmıştır. ML metoduna göre oluşturulan ağaçta PI 42817 ve PI 427562 aksesyona *T. baeoticum* türleri ile birlikte gruplandırırken, TGB 039707, TGB 037808, TGB 000640, TGB 000795, TGB 000670 aksesyona ları *T. urartu* türleri ile aynı grup içerisinde gruplandırılmıştır.

UPGMA kümeleme algoritması ile oluşturulan filogenetik ağaçta ise 94 aksesyona 2 gruba ayrılmıştır. ML istatikselsel metodu ile oluşturulan filogenetik ağaca benzer şekilde PI 42817 ve PI 427562 aksesyona ları *T. baeoticum* türleri ile birlikte gruplandırırken, TGB 000641, TGB 039707, TGB 037808, TGB 000640, TGB 000795 ve TGB 000670 aksesyona ları *T. urartu* türleriyle birlikte gruplandırılmıştır.

4.7. Yorum

T. urartu ve *T. baeoticum* türleri morfolojik özellikleri açısından birbirine benzer türler olmasından ötürü morfolojik olarak ayırt edilmesi zordur. Daha önceden, Hemmer ve arkadaşları tarafından gerçekleştirdikleri çalışmada IPK (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research)'den elde ettikleri 23 *T. urartu*, 26 *T. monococcum*, 24 *T. baeoticum* türlerine ait aksesyona lar arasındaki moleküler farklılıkları ayırt edebilmek için mikrosatellit belirteçlerini kullanmışlardır. Bu çalışma sonucunda oluşturulan UPGMA dendrogramına göre çalışılan aksesyona ların taksonomik sınıflandırılmasının, aksesyona ların coğrafi kökenleri ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür. *T. monococcum* grubunun *T. baeoticum* grubuna daha yakından ilişkili olduğu görülmüştür. *T. baeoticum* ve *T. urartu* gruplarının birbirinden farklı iki gruba ayrıldığı, *T. baeoticum* türlerine ait aksesyona ların iki alt türe ayrılmış olabileceği desteklenmiştir (Hemmer vd., 2000) Abbasov ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada diploid *Triticum* türleri olan *T. baeoticum*, *T. monococcum* ve *T. urartu* türlerine ait 139 aksesyona ların genetik çeşitliliğini 11 SSR belirteci kullanarak incelemişlerdir. Araştırmada toplam 111 allel, lokus başına ortalama 10 allel olacak şekilde tespit

edilmiştir. Her SSR belirtecinin polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.30 ile 0.90 arasında değişmekte olup, ortalama değeri 0.62 olarak belirlenmiştir. Gerçekleştirilen kümeleme analizi sonucunda 139 buğday aksesyonu tür seviyesinde ayırt edilebilmiştir. En yüksek genetik benzerlik (GS) *T. baeoticum* ile *T. monococcum* aksesyonları arasında (GS = 0.84), en düşük benzerlik *T. urartu* ve *T. monococcum* aksesyonları arasında belirlenmiştir. Gerçekleştirilen PCoA analizinin gruplama deseni kümeleme analizleri ile uyumlu bulunmuştur. Çalışma sonucunda bu üç türün birbirinden farklı türler olduğu sonucuna varılmıştır (Abbasov vd., 2018). Taheri ve arkadaşları, tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise İran'da bulunan *T. urartu* ve *T. baeoticum* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği ve ilişkileri belirlemek amacıyla IRAP ve REMAP belirteçlerini kullanmışlardır. Bu çalışmada *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerine ait 120 aksesyon kullanılmıştır. REMAP belirteçleri ile oluşturulan dendrogram *T. urartu* ve *T. baeoticum* aksesyonlarını farklı iki gruba ayırmıştır. IRAP ve REMAP belirteçleri ile gerçekleştirilen AMOVA testi sonucunda bu iki türe ait popülasyonlar arasındaki genetik varyansın yüksek seviyede olduğu belirtilmiştir (Taheri vd., 2018). Geçmişte yapılan çalışmalar *T. urartu* ve *T. baeoticum* türlerinin birbirlerinden farklı iki tür olduğunu göstermiştir. Ancak yapılan bu çalışmalar, günümüz teknolojisi ile gerçekleştirilen çalışmalar ile kıyaslandığı zaman veri güvenirliliği, zenginliği tekrarlanabilirliği açısından yeni nesil teknolojiler kullanılarak tekrarlanma ihtiyacı oluşturmuştur. Bu yüzden daha önceden gerçekleştirilen çalışmalara ek olarak günümüzde moleküler tekniklerle elde edilen yüksek çözünürlüklü genom verileri ile gerçekleştirilen analizler sonucunda tür teşhislerinin doğrulanması ihtiyacı olduğu görülmektedir. Nitekim elde edilen sonuçlar doğrultusunda USDA'dan elde edilen PI 42817 ve PI 427562 aksesyonları ile TTGB'den elde edilen TGB 039707, TGB 037808, TGB 000640, TGB 000795 ve TGB 000670 aksesyonlarının teşhislerinin yeniden değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu çalışma sonucunda *T. baeoticum* ve *T. urartu* türlerine ait aksesyonlar beraber kümelenecek farklı iki tür olduğu ortaya moleküler teknikler kullanılarak ortaya konmuştur. Bunun yanı sıra yüksek genom verisi kullanılarak elde edilen DArTseq metodunun tür ve popülasyon ayırımında kullanılabilir hızlı, maliyeti düşük ve doğruluğu yüksek olan bir metod olduğu ortaya konmuştur.

5. KAYNAKLAR

1. Soreng, R.J., Peterson, P.M., Romaschenko, K., Davidse, G., Zuloaga, F.O., Judziewicz, E.J., Filgueiras, T.S., Davis, J.I., & Morrone, O. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution*, 53(2), 117-137, **2015**.
2. Peng, J., Sun, D., & Nevo, E., Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. *Molecular Breeding*, 28(3), 281-301., **2011**.
3. Humphreys, M., Genetic improvement of forage crops-past, present and future. *Journal of Agricultural Science*, 143(4), 233-246 **2005**.
4. Brackenridge, G.R., Kandeler, E., & Wienand, K., The role of grasslands in the global carbon cycle. *Grassland Science*, 53(1), 1-10 **2007**.
5. Jasechko, S., Sharp, Z.D., Gibson, J.J., Birks, S.J., Yi, Y., & Fawcett, P.J., Terrestrial water fluxes dominated by transpiration. *Nature*, 496(7445), 347-350 **2013**.
6. Kellogg, E.A., Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiology*, 125(3), 1198-1205 **2001**.
7. Clark, L.G., & Londoño, X., Bamboo taxonomy and habitat. In Gielis, J., & Potters, G. (Eds.), *Compendium of ornamental foliage plant diseases* (pp. 25-32). St. Paul, MN: APS Press., **2013**.
8. Tzvelev, N. N., The System of Grasses (Poaceae) and Their Evolution. *Botanical Review*, 55(3), 141-204, **1989**.
9. Djajadi, D. T., Hansen, A. R., Jensen, A., Thygesen, L. G., Pinelo, M., Meyer, A. S., Jørgensen, H., Surface properties correlate to the digestibility of hydrothermally pretreated lignocellulosic Poaceae biomass feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*, 10, Article 49, **2017**.
10. Wand, S. J. E., Midgley, G. F., Jones M. H., Curtis, P.S. Responses of wild C4 and C3 grass (Poaceae) species to elevated atmospheric CO2 concentration: a meta-analytic test of current theories and perceptions, Vol. 5 (6), 723-741, **1999**.
11. Chen, I., Li, K., Tsang, C. (2020). Silicified bulliform cells of Poaceae: morphological characteristics that distinguish subfamilies. *Botanical Studies*, 61(1), **2020**.
12. Rudall, P.J., Stuppy, W., Cunniff, J., Kellogg, E.A., Briggs, B.G., Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sister-group comparison

- with their putative closest living relatives, Ecdycoleaceae. *American Journal of Botany*, 92(9), 1432-1443, **2005**.
13. Tsujimoto, H., Tsunewaki, K., & Gupta, P.K., DArTseq-based analysis of genomic relationships among species of tribe Triticeae. *Scientific Reports*, 8(1), **2018**.
 14. Goncharov, N.P., Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future. *Plant Systematics and Evolution*, 295(1-4), 1-11, **2011**.
 15. Tan, K., *Triticum* L. In: Davis, P.H. (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. University of Edinburgh Press, 245-255, **1985**.
 16. Cabi, E., *Triticeae dumortier* (Poaceae) oymağının Türkiye'deki revizyonu, Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2010**.
 17. Kilian, B., Özkan, H., Pozzi, C., & Salamini, F., Domestication of the Triticeae in the Fertile Crescent. In *Genetics and Genomics of the Triticeae* (pp. 81-119), **2009**.
 18. Braidwood, R.J., & Braidwood, L., Jarmo: A Village Early Farmers in Iraq. *Antiquity*, 24(96), 189-195, **1950**.
 19. Braidwood, R. J., Çamlıbel, H., Watson, P.J., Prehistoric Investigations in Southeastern Turkey, 164(3885), 1275-1276, **1969**.
 20. Kilian, B., Martin, W., & Salamini, F., Genetic Diversity, Evolution and Domestication of Wheat and Barley in the Fertile Crescent. *Evolution in Action*, 137-166, **2010**.
 21. Özberk, F., Karagöz, A., Özberk, İ., & Atlı, A., Buğday Genetik Kaynaklarından Yerel ve Kültür Çeşitlerine; Türkiye'de Buğday ve Ekmek. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(2), 218-233, **2016**.
 22. Dahm, R., Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental Biology*, 278(2), 274-288, **2005**.
 23. Dahm, R., From discovering to understanding: Friedrich Miescher's attempts to uncover the function of DNA. *EMBO Reports*, 11(2), 153-160. **2010**.
 24. Lederberg, J., The Transformation of Genetics by DNA: An Anniversary Celebration of Avery, Macleod and McCarty (1944). *Genetics*, 136(2), 423-426, **1994**.
 25. Klug, A., Rosalind Franklin and the Discovery of the Structure of DNA. *Nature*, 219, 808-810, **1968**.
 26. Pauling, L., Corey, R.B., A Proposed Structure For The Nucleic Acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 39(2), **1953**.
 27. Watson, J.D., & Crick, F.H.C., Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure

- for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171, 737-738, **1953**.
28. Sanger, F., & Coulson, A.R., A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase, *Journal of Molecular Biology*, 94(3), 441-448, **1975**.
 29. Maxam, A.M., & Gilbert, W., A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(2), 560-564, **1977**.
 30. Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A.R., DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463-5467, **1977**.
 31. Hood, L. E., Hunkapiller, M. W., Smith, L. M., Automated DNA sequencing and analysis of the human genome, *Genomics*, 1(3), 201-212, **1987**.
 32. Ronaghi, M., Karamohamed, S., Pettersson, B., Uhlen M., Nyren, P., Real-Time DNA Sequencing Using Detection of Pyrophosphate Release, *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, 242, 84-89, **1996**.
 33. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860–921, **2001**.
 34. Rothberg, M., Leamon, J., H., The development and impact of 454 sequencing, *Nat Biotechnol*, 26(10), 1117-24, **2008**.
 35. Eid, J., Fehr, A., Gray, J., Luong, K., Lyle, J., Otto, G., Peluso, P., Rank, D., Baybayan, P., Bettman, B., Bibillo, A., Bjornson, K., Chaudhuri, B., Christians, F., Cicero, R., Clark, S., Dalal, R., Dewinter, A., Dixon, J., Foquet, M., ... Turner, S., Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules. *Science (New York, N.Y.)*, 323(5910), 133–138, **2009**.
 36. Eisenstein, M. Oxford Nanopore announcement sets sequencing sector abuzz., *Nat Biotechnol*, 30, 295–296, **2012**.
 37. Abbasov, M., Akparov, Z., Gross, T., Babayeva, S., Izzatullayeva, V., Hajiyev, E., Rustamov, K., Gross, P., Tekin, M., Akar, T., Chao, S., Brueggeman, R., Genetic relationship of diploid wheat (*Triticum* spp.) species assessed by SSR markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65, 1441-1453, **2018**.
 38. Taheri, M., Alavi-Kia, S., Mohammadi, S., Vahed, M., Assessment of genetic diversity and relationships among *Triticum urartu* and *Triticum boeoticum* populations from Iran using IRAP and REMAP markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65, 1867-1868, **2018**.

39. Hammer, K., Filatenko, A., Korzun, V., Microsatellite markers – a new tool for distinguishing diploid wheat species, 47, 497-500, **2000**.
40. Peng, H., J., Sun, D., Nevo, E., Domestication evolution, genetics and genomics in wheat, 28, 281-301, **2011**.
41. Jasechko, S., Sharp, Z., Gibson, J., Birks, S., Yi, Y., Fawcett, P., Terrestrial water fluxes dominated by transpiration, 496, 347-350, **2013**.
42. Judziewicz, E., Londoño, X., Clark, L., TWO NEW NORTHERN ANDEAN SPECIES OF AULONEMIA (POACEAE: BAMBUSOIDEAE: BAMBUSEAE: ARTHROSTYLIDIINAE) WITH VERRUCOSE CULMS, 7, 137-143, **2013**.
43. Djajadi, D., Hansen, A., Jensen, A., Thygesen, L., Pinelo, M., Meyer, A., Jørgensen, H., Surface properties correlate to the digestibility of hydrothermally pretreated lignocellulosic Poaceae biomass feedstocks, 49, **2017**.
44. Wand, S., Midgley, G., Jones, M., Curtis, P., Responses of wild C4 and C3 grass (Poaceae) species to elevated atmospheric CO2 concentration: a meta-analytic test of current theories and perceptions, 5, 723-741, **1999**.
45. Briggs, J., Knapp, A., Blair, J., Heisler, J., Hoch, G., Lett, M., McCarron, J., An Ecosystem in Transition: Causes and Consequences of the Conversion of Mesic Grassland to Shrubland, 55, 243-254, **2005**.